

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA
LA MOLINA**

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



**“OBTENCIÓN DE HARINA DE QUINUA ROJA MEDIANTE
FERMENTACIÓN CON CLORURO DE SODIO Y GLUTAMATO
MONOSÓDICO POR *Monascus purpureus*”**

Presentada por:

EVELYN MICHELLE QUISPE RIVERA

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

Lima - Perú

2024

Evelyn Michelle Quispe Rivera

INFORME DE ORIGINALIDAD

1 %	0 %	0 %	1 %
INDICE DE SIMILITUD	FUENTES DE INTERNET	PUBLICACIONES	TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1	Submitted to Universidad Nacional Agraria La Molina Trabajo del estudiante	<1 %
2	www.mdpi.com Fuente de Internet	<1 %
3	Submitted to Universidad Nacional del Centro del Peru Trabajo del estudiante	<1 %
4	Eman Alamri, Amany Basuny, Hala Bayomy. "Quinoa Seeds (Chenopodium Quinoa): Nutritional Value and Potential Biological Effects on Hyperglycemic Rats", Journal of King Saud University - Science, 2022 Publicación	<1 %
5	repositorio.unsch.edu.pe Fuente de Internet	<1 %

Excluir citas

Activo

Excluir coincidencias

- 30 words

Excluir bibliografía

Activo

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA
LA MOLINA**

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

**“OBTENCIÓN DE HARINA DE QUINUA ROJA MEDIANTE
FERMENTACIÓN CON CLORURO DE SODIO Y GLUTAMATO
MONOSÓDICO POR *Monascus purpureus*”**

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

Presentada por:

EVELYN MICHELLE QUISPE RIVERA

Sustentada y aprobada ante el siguiente jurado:

Ph.D. Marianela Inga Guevara
PRESIDENTE

Dr. Marcial Silva Jaimes
ASESOR

Dr. Eduardo Morales Soriano
MIEMBRO

Mg.Sc. Beatriz Hatta Sakoda
MIEMBRO

Dr. Christian Encina Zelada
CO-ASESOR

DEDICATORIA

Esta tesis está dedicada a:

A mis maravillosos padres Carmen y Bill, por confiar en todo lo que hago y siempre apoyarme en cada etapa de mi vida.

A mi querida hermana Alison, por todas las experiencias compartidas, inspirarme y motivarme.

A mi tío Pedro, por el apoyo incesante y consejos de vida.

A mi compañero de vida Franz, por todos los momentos vividos, metas cumplidas y dar lo mejor de cada uno.

AGRADECIMIENTO

A mi asesor el Dr. Marcial Silva por darme la oportunidad de formar parte del equipo de investigación, su apoyo, consejos, confianza y enseñanzas.

A mi co- asesor el Dr. Christian Encina por su apoyo en el análisis estadístico de la tesis y consejos para realizar mi pasantía a Portugal.

A los miembros de mi jurado integrado por: Ph.D. Marianela Inga, Dr. Eduardo Morales y Mg. Sc. Beatriz Hatta; por su apoyo y aportes en la revisión y culminación de la presente investigación.

A los Ph.D. Úrsula Gonzales-Barrón y Ph.D. Vasco Cadavez por su apoyo en la estructura de la tesis y análisis estadístico, además de los consejos, enseñanzas, hospitalidad y gratos momentos en mi estancia en Portugal y España.

A los equipos de investigadores del Centro de Investigaçãõ de Montanha y del Centro tecnolóxico da Carne.

A mi maestro Blgo. Juan Juscamaita por todo el apoyo, consejos, amistad y experiencias compartidas.

A Sonia Quiroz por siempre estar dispuesta a apoyar en el Laboratorio de Microbiología de Alimentos.

A mis queridos futuros suegros Gladys y Felipe, por todo el cariño, apoyo y consejos que me brindan.

A mis amigos del Laboratorio de Microbiología de Alimentos, del Laboratorio de Biotecnología Ambiental-Biorremediación y de la Maestría de Tecnología de Alimentos, por los momentos compartidos, su amistad y apoyo para culminar con la presente tesis. En especial a Natalia, Michel, Naysha, Elton, Williams, Cristina, Kevin, Samanta y Yessenia.

A 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”, por el financiamiento para el desarrollo de la presente investigación.

ÍNDICE GENERAL

I.	INTRODUCCIÓN	1
II.	REVISIÓN DE LITERATURA.....	3
2. 1.	Quinoa	3
2. 1. 1.	Clasificación taxonómica y descripción botánica.....	3
2. 1. 2.	Características generales.....	4
2. 1. 3.	Valor nutricional de las semillas de quinua	5
2. 1. 4.	Efecto de la quinua en la salud humana.....	8
2. 1. 5.	Uso en la gastronomía y sector alimentario.....	9
2. 2.	<i>Monascus purpureus</i>	10
2. 2. 1.	Taxonomía	10
2. 2. 2.	Morfología	10
2. 2. 3.	Reproducción sexual y asexual de <i>Monascus</i>	13
2. 2. 4.	Importancia en la gastronomía y uso medicinal	14
2. 3.	Fermentación en estado solido	15
2. 4.	Pigmentos.....	18
2. 4. 1.	Generalidades de pigmentos	18
2. 4. 2.	Clases de pigmentos microbianos.....	19
2. 4. 3.	Pigmento <i>Monascus</i>	21
2. 4. 4.	Biosíntesis de los pigmentos de <i>Monascus</i>	22
2. 4. 5.	Factores que afectan la producción de pigmentos de <i>Monascus</i>	24
2. 5.	Análisis por colorimetría.....	25
III.	MATERIALES Y METODOS	27
3. 1.	Lugar de ejecución	27
3. 2.	Material biológico	27
3. 2. 1.	Hongo filamentoso.....	27

3. 2. 2.	Material vegetal	27
3. 3.	Materiales de laboratorio, equipos y reactivos.....	27
3. 3. 1.	Materiales de laboratorio	27
3. 3. 2.	Equipos	28
3. 3. 3.	Reactivos.....	29
3. 4.	Metodología experimental.....	29
3. 4. 1.	Preparación de cepa fúngica y medios de cultivo	29
3. 4. 2.	Preparación de suspensión de esporas	29
3. 4. 3.	Fermentación en estado sólido I:	30
3. 4. 4.	Fermentación en estado sólido II:	30
3. 4. 5.	Obtención de harina de quinua fermentada	30
3. 5.	Metodología analítica.....	31
3. 6.	Diseño experimental y análisis estadístico.....	34
IV.	RESULTADOS Y DISCUSION.....	38
4. 1.	Determinación del tiempo de fermentación por <i>M. purpureus</i>	38
4. 2.	Optimización de parámetros de color para la obtención de la mejor harina de quinua roja a diferentes niveles de pH, concentraciones de cloruro de sodio y glutamato monosódico.....	46
4. 3.	Determinación de la composición proximal y propiedades tecnofuncionales de la mejor harina de quinua roja.	64
V.	CONCLUSIONES	69
VI.	RECOMENDACIONES	70
VII.	BIBLIOGRAFIA.....	71
VIII.	ANEXOS.....	83

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.	Clasificación taxonómica de la quinua.....	3
Tabla 2.	Composición química proximal y contenido de minerales de las semillas de quinua.....	6
Tabla 3.	Composición de aminoácidos de las semillas de quinua.....	7
Tabla 4.	Contenido de vitaminas en las semillas de quinua.....	8
Tabla 5.	Taxonomía de <i>Monascus purpureus</i>	10
Tabla 6.	Ventajas biotecnológicas de la fermentación en estado sólido a escala de laboratorio con hongos	16
Tabla 7.	Subproductos agroindustriales utilizados para producir pigmentos naranja y rojo a partir de cepas de <i>Monascus</i>	17
Tabla 8.	Producción microbiana de pigmentos	21
Tabla 9.	Valores máximos y mínimos de tres factores en el diseño Box-Behnken para la obtención de la mejor harina de quinua roja en el menor tiempo de fermentación.....	35
Tabla 10.	Matriz de diseño experimental Box-Behnken para las tres variables independientes con valores reales y codificados utilizados para la obtención de la mejor harina de quinua roja en el menor tiempo de fermentación	36
Tabla 11.	Efecto del tiempo (día) sobre L*, a*, b*, C* y h° durante 14 días de fermentación.....	38
Tabla 12.	Efecto del NaCl sobre L*, a*, b*, C* y h° en el día 8.....	44
Tabla 13.	Diseño Box-Behnken de tres factores: pH, NaCl (% p/p) y GMS (% p/p) y resultados de L*, a*, b*, C* y h° para la obtención de la mejor harina roja por fermentación de <i>M. purpureus</i>	47
Tabla 14.	Modelo cuadrático de las variables respuesta L*, a*, b*, C* y h°	48
Tabla 15.	Composición química proximal y propiedades tecnofuncionales de la harina de quinua fermentada y harina de quinua sin fermentar	65

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Sección longitudinal del grano de quinua. Pericarpio (PE) cubre la semilla	4
Figura 2. Compuestos bioactivos y actividades biológicas de la quinua.....	9
Figura 3. Morfología de <i>Monascus</i>	11
Figura 4. Caracteres culturales de especies de <i>Monascus</i> en diferentes medios de agar y condiciones de incubación.....	12
Figura 5. Ciclo de vida de las especies de <i>Monascus</i>	13
Figura 6. Estructura de los colorantes clásicos de azafilona de <i>Monascus</i>	23
Figura 7. Espacio de color CIELAB.....	26
Figura 8. Etapas del diseño experimental para obtener harina de quinua roja por fermentación en estado sólido suplementada con cloruro de sodio y glutamato monosódico por <i>M. purpureus</i>	37
Figura 9. Comportamiento de L* (A), a* (B), b* (C), C*(D) y h°(E) a diferentes concentraciones de NaCl (0.05%, 0.1%, 0.2% y 0.4%) por día durante 14 días de fermentación.....	42
Figura 10. Gráficos de superficie respuesta y gráficos de contorno que muestran los efectos de las variables (pH: potencial de hidrogeno; NaCl: cloruro de sodio; GMS: glutamato monosódico) en la respuesta L*	50
Figura 11. Gráficos de superficie respuesta y gráficos de contorno que muestran los efectos de las variables (pH: potencial de hidrogeno; NaCl: cloruro de sodio; GMS: glutamato monosódico) en la respuesta a*	52
Figura 12. Gráficos de superficie respuesta y gráficos de contorno que muestran los efectos de las variables (pH: potencial de hidrogeno; NaCl: cloruro de sodio; GMS: glutamato monosódico) en la respuesta b*	54
Figura 13. Gráficos de superficie respuesta y gráficos de contorno que muestran los efectos de las variables (pH: potencial de hidrogeno; NaCl: cloruro de sodio; GMS: glutamato monosódico) en la respuesta C*	56

Figura 14. Gráficos de superficie respuesta y gráficos de contorno que muestran los efectos de las variables (pH: potencial de hidrogeno; NaCl: cloruro de sodio; GMS: glutamato monosódico) en la respuesta h° 58

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Efecto de la interacción de NaCl x Día sobre L* durante 14 días de fermentación	83
Anexo 2. Efecto de la interacción de NaCl x Día sobre a* durante 14 días de fermentación	84
Anexo 3. Efecto de la interacción de NaCl x Día sobre b* durante 14 días de fermentación	85
Anexo 4. Efecto de la interacción de NaCl x Día sobre C* durante 14 días de fermentación	86
Anexo 5. Efecto de la interacción de NaCl x Día sobre h° durante 14 días de fermentación	87
Anexo 6. ANOVA para la optimización de L*	88
Anexo 7. ANOVA para la optimización de a*	88
Anexo 8. ANOVA para la optimización de b*	89
Anexo 9. ANOVA para la optimización de C*	89
Anexo 10. ANOVA para la optimización de h°	90
Anexo 11. ANOVA para proteína de harina de quinua fermentada y sin fermentar	90
Anexo 12. ANOVA para ceniza de harina de quinua fermentada y sin fermentar	91
Anexo 13. ANOVA para grasa de harina de quinua fermentada y sin fermentar	91
Anexo 14. ANOVA para carbohidrato de harina de quinua fermentada y sin fermentar ..	92
Anexo 15. ANOVA para humedad de harina de quinua fermentada y sin fermentar	92
Anexo 16. ANOVA para materia seca de harina de quinua fermentada y sin fermentar ...	93
Anexo 17. ANOVA para capacidad de absorción de agua de harina de quinua fermentada y sin fermentar	93
Anexo 18. ANOVA para capacidad de absorción de aceite de harina de quinua fermentada y sin fermentar	94
Anexo 19. ANOVA para actividad emulsificante de harina de quinua fermentada y sin fermentar	94

Anexo 20. ANOVA para estabilidad de la emulsión de harina de quinua fermentada y sin fermentar.....	95
Anexo 21. ANOVA para la capacidad de formación de espuma de harina de quinua fermentada y sin fermentar	95
Anexo 22. ANOVA para la estabilidad de la espuma de harina de quinua fermentada y sin fermentar.....	96

RESUMEN

En el presente estudio se obtuvo harina de quinua roja por fermentación en estado sólido suplementada con cloruro de sodio y glutamato monosódico por *Monascus purpureus* en tres etapas. En la primera, el mejor tiempo de fermentación se determinó evaluando los efectos de NaCl a los niveles de 0.05, 0.1, 0.2 y 0.4% y GMS al 1% durante los días 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12 y 14 según los parámetros de color L*, a*, b*, C* y h°. En la segunda etapa se realizó un Diseño de Box-Behnken con superficie de respuesta para GMS (0.5, 1.0 y 1.5%), NaCl (0.05, 0.10 y 0.15%) y pH (5, 6 y 7) en el mejor tiempo de fermentación para obtener la mejor harina de quinua roja por fermentación optimizándose los valores de L*, a*, b*, C* y h°. En la última etapa se evaluaron las propiedades tecnofuncionales de la harina de quinua fermentada. Los resultados demostraron que el mejor tiempo para llevar a cabo la fermentación en estado sólido de granos de quinua por *M. purpureus* es al día 8. En cuanto a la mejor harina según los parámetros óptimos de L*, a*, b*, C* y h° fue la harina de quinua roja obtenida con los niveles óptimos de GMS (1.33%), NaCl (0.1%) y pH (6.38). Con respecto a las propiedades tecnofuncionales, demostró tener buena capacidad de absorción de agua, capacidad de absorción de aceite, actividad emulsificante y estabilidad de la emulsión, así como un buen valor nutritivo. Por lo tanto, este nuevo sustrato producido por fermentación de *M. purpureus* junto a suplementos como glutamato monosódico y cloruro de sodio promovieron la síntesis de pigmentos principalmente rojos dando así una coloración roja al sustrato final que promete dar buenos resultados si se incorpora en productos alimenticios.

Palabras clave: *Chenopodium quinoa*, pigmentos naturales, propiedades tecnofuncionales, DBB, superficie respuesta.

ABSTRACT

In the present study, red quinoa flour was obtained by solid-state fermentation supplemented with sodium chloride and monosodium glutamate by *Monascus purpureus* in three stages. In the first stage, the best fermentation time was determined by evaluating the effects of NaCl at levels of 0.05, 0.1, 0.2 and 0.4% and MSG at 1% during days 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12 and 14 according to the colour parameters L*, a*, b*, C* and h°. In the second stage, a Box-Behnken Design with response surface for MSG (0.5, 1.0 and 1.5%), NaCl (0.05, 0.10 and 0.15%) and pH (5, 6 and 7) at the best fermentation time was carried out to obtain the best red quinoa flour by fermentation, optimising the values of L*, a*, b*, b*, C* and h°. In the last stage, the techno-functional properties of the fermented quinoa flour were evaluated. The results showed that the best time to carry out solid-state fermentation of quinoa grains by *M. purpureus* is at day 8. The best flour according to the optimal parameters of L*, a*, b*, C* and h° was the red quinoa flour obtained with the optimal levels of MSG (1.33%), NaCl (0.1%) and pH (6.38). With respect to the techno-functional properties, it showed good water absorption capacity, oil absorption capacity, emulsifying activity and emulsion stability, as well as good nutritional value. Therefore, this new substrate produced by fermentation of *M. purpureus* together with supplements such as monosodium glutamate and sodium chloride promoted the synthesis of mainly red pigments thus giving a red colouring to the final substrate that promises to give good results if incorporated in food products.

Key words: *Chenopodium quinoa*, natural pigments, technofunctional properties, DBB, surface response.

I. INTRODUCCIÓN

Los consumidores aceptan un determinado producto según su color, debido a que es la señal más importante al momento de la elección ya que repercute en las expectativas del olor y sabor, por ello se dice que el consumidor “compra con los ojos” (Nabi *et al.*, 2023; Nyitrai *et al.*, 2022).

M. purpureus una especie predominante de hongos comestibles, es muy utilizada para la producción de pigmentos rojos tradicionalmente en China (Lin *et al.*, 2023). Estos metabolitos secundarios son reconocidos por sus diversas actividades biológicas que tienen aplicaciones potenciales como colorantes alimentarios y nutraceúticos que protegen a enfermedades degenerativas relacionadas con el estrés oxidativo (Pailliè-Jiménez *et al.*, 2020).

La industria alimentaria produce pigmentos rojos de *M. purpureus* por fermentación en estado sólido (FES) utilizando diversos sustratos entre ellos los cereales (Ren *et al.*, 2022). Este tipo de proceso de fermentación tiene ventajas como un mayor rendimiento, menor costo, sin variaciones estacionales y disponibilidad de materia prima (Aberoumand, 2011).

Sin embargo, es fundamental considerar factores como temperatura, humedad, composición del medio, pH, sales, fuente nitrogenada y tiempo de fermentación debido a que influyen en la producción de productos de interés (Muthumani & Kumar, 2007; Pineda-Insuasti *et al.*, 2016). Para la producción de pigmentos rojos por *Monascus* es esencial tener en cuenta una buena fuente de nitrógeno, siendo el más efectivo el GMS (Silbir & Goksungur, 2019). Así como utilizar NaCl, una sal que causa estrés osmótico, induciendo la conidiación, con ello el aumento en la producción de pigmentos (Babitha *et al.*, 2007a).

La quinua es considerada como un cultivo alternativo a los cereales por su excelente valor nutricional, donde sus semillas pueden molerse y ser utilizados como harina (Repo-Carrasco-Valencia *et al.*, 2010), que a su vez tienen propiedades tecnofuncionales adecuadas para su aplicación en la industria alimentaria (James, 2009).

Las propiedades tecnofuncionales manifiestan la interacción entre la composición, conformación molecular, estructura y propiedades fisicoquímicas de los alimentos en su entorno. Su evaluación permite predecir como las proteínas, grasas y carbohidratos se comportarán en sistemas específicos (Chandra *et al.*, 2015).

Por lo tanto, el objetivo de la presente investigación es obtener harina de quinua roja por fermentación en estado sólido suplementada con cloruro de sodio y glutamato monosódico por *Monascus purpureus*. Los objetivos específicos son: (1) Determinar el tiempo de fermentación por *M. purpureus* donde se obtiene un mayor valor de harina de quinua roja, (2) obtener la mejor harina de quinua roja según el valor óptimo de a^* como variable respuesta a diferentes niveles de pH, concentraciones de cloruro de sodio y glutamato monosódico, (3) determinar la composición proximal y propiedades tecnofuncionales de la mejor harina de quinua roja.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2. 1. Quinoa

2. 1. 1. Clasificación taxonómica y descripción botánica

La descripción taxonómica de la quinoa se menciona en la Tabla 1. El género *Chenopodium* es el más grande de la familia Chenopodiaceae y tiene una distribución mundial de 250 especies (Valencia-Chamorro, 2015).

Tabla 1: Clasificación taxonómica de la quinoa

Posición taxonómica de la quinoa	
Reino	Vegetal
División	Fanerógamas
Clase	Dicotiledoneas
Sub clase	Angiospermas
Orden	Centrospermales
Familia	Chenopodiaceae
Genero	<i>Chenopodium</i>
Sección	Chenopodía
Subsección	Cellulata
Especie	<i>Chenopodium quinoa</i> Willdenow

Fuente: Apaza *et al.* (2013)

La planta de quinoa es ginomonoica anual, que puede crecer hasta 3 m de altura según su variedad y el entorno. Sus raíces tienen una profundidad de 0.3 m, su tallo es cilíndrico (0.03-0.05 m de diámetro) puede ser recto y tener ramas con color variable. La morfología de sus hojas es similar a las patas de ganso, con peciolos acanalados por el haz y la lámina es polimorfa. La inflorescencia es una panícula (0.15 – 0.70 m). Las flores son incompletas, hermafroditas y no tienen pétalos (Valencia-Chamorro, 2015).

Su fruto es un aquenio, cubierto por una membrana llamada perigonio de coloración variable que es del mismo color que la planta: blanco, amarillo, gris, marrón claro, rosado, negro o rojo que se desprende a la madurez cuando se seca (Valencia-Chamorro, 2015).

La semilla es el fruto maduro sin perigonio, son pequeñas de forma circular de 1.5 a 4 mm (1.5×10^{-3} a 4.0×10^{-3} m) de diámetro, en promedio se obtiene de 250 a 500 semillas por gramo. Su color varía dependiendo de la variedad, puede ser blanco, rojo, amarillo o negro (Valencia-Chamorro, 2015). La sección longitudinal se muestra en la Figura 1.

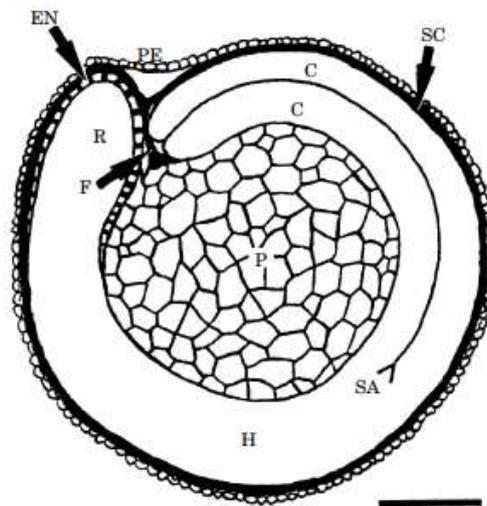


Figura 1: Sección longitudinal del grano de quinua. Pericarpio (PE) cubre la semilla. El embrión consta de hipocótilo (H) y dos cotiledones (C). Capa de semilla (SC); endospermo (EN); funículo (F); perispermo (P); radícula (R); brote apical (SA). Barra $\bar{500 \mu\text{m}}$

Fuente: Tomado de Prego *et al.* (1998)

2. 1. 2. Características generales

La quinua, originaria de América del Sur, que cubre territorios de los países Colombia, Perú, Ecuador, Bolivia, Chile y Argentina, desde los 5° de latitud norte hasta los 43° de latitud sur donde son tolerantes al frío y sequía, se pueden cultivar hasta los 4000 m s. n. m. (Apaza *et al.*, 2013; Repo-Carrasco-Valencia *et al.*, 2010). En el Perú hay una gran variedad de quinua, pero la más comercializada es la quinua blanca, donde su producción es mayor en los Andes peruanos y meridionales (Cabanillas *et al.*, 2021).

Por mucho tiempo el cultivo de quinua fue parte de las miles de plantas poco conocidas y utilizadas (Bedoya-Perales *et al.*, 2018), ahora en las últimas décadas la quinua ha adquirido un interés comercial debido a sus características nutricionales y ausencia de gluten (Bedoya-Perales *et al.*, 2018; Vera *et al.*, 2019).

En reconocimiento a las prácticas ancestrales de los habitantes andinos, tolerancia a condiciones ambientales extremas y sus propiedades nutricionales y biológicas la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) declaró el 2013 como el "Año Internacional de la Quinua" (Romano *et al.*, 2020) y definida como "uno de los granos del siglo 21". (Vilcacundo & Hernández-Ledesma, 2017).

Conocida como un pseudocereal o pseudograno debido a que no es parte de la familia de las gramíneas, sin embargo, puede usarse como un cultivo de cereales, y sus semillas pueden molerse y ser utilizados como harina (Repo-Carrasco-Valencia *et al.*, 2010), que a su vez tiene propiedades funcionales (tecnológicas) o tecno-funcionales como capacidad de retención de agua, capacidad de retención de aceite, capacidad de formación de espuma, actividad emulsionante, que permiten tener una aplicación en la industria alimentaria más diversificada con usos novedosos como un nuevo alimento funcional debido a todas sus propiedades (James, 2009).

2. 1. 3. Valor nutricional de las semillas de quinua

La composición química proximal de las semillas de quinua se muestra en la Tabla 2, donde los valores de humedad, proteína, grasa, fibra, ceniza y carbohidratos son 11.20%, 13.64%, 5.89%, 6.7%, 3.1% y 70.67% respectivamente (Alamri *et al.*, 2022).

Tabla 2: Composición química proximal y contenido de minerales de las semillas de quinua

Composición química proximal (%)	Semillas de quinua
Humedad	11.20 ± 0.33
Proteína	13.64 ± 0.36
Grasa	5.89 ± 0.21
Fibra	6.70 ± 0.25
Ceniza	3.10 ± 0.01
Carbohidratos	70.67 ± 4.13
Minerales (mg/100g)	
Ca	650 ± 6.73
Na	176 ± 4.11
K	830 ± 0.71
P	122 ± 0.10
Fe	14.50 ± 1.43
Zn	45.0 ± 0.70
Mg	326 ± 5.62
Mn	194 ± 4.31

Fuente Alamri *et al.* (2022)

En la Tabla 3, se registra la composición de aminoácidos esenciales y no esenciales de las semillas de quinua, siendo los valores totales de 4.88 y 8.24 mg/100g de quinua respectivamente (Alamri *et al.*, 2022).

Tabla 3: Composición de aminoácidos de las semillas de quinua

Aminoácidos		Semillas de quinua (mg/100g de quinua)
Aminoácidos esenciales	Isoleucina	0.64 ± 0.10
	Leucina	1.16 ± 0.12
	Lisina	0.43 ± 0.10
	Metionina	0.25 ± 0.10
	Fenilalanina	0.69 ± 0.11
	Triptófano	0.35 ± 0.01
	Treonina	0.40 ± 0.15
	Valina	0.78 ± 0.06
	Cistina	0.18 ± 0.03
Aminoácidos esenciales totales		4.88
Aminoácidos no esenciales	Glutámico	1.69 ± 0.37
	Arginina	1.76 ± 0.11
	Aspártico	1.45 ± 0.19
	Alanina	0.64 ± 0.08
	Cisteína	0.19 ± 0.05
	Tirosina	0.52 ± 0.21
	Serina	0.47 ± 0.01
	Glicina	0.30 ± 0.05
	Prolina	0.86 ± 0.01
	Histidina	0.36 ± 0.01
Aminoácidos no esenciales totales		8.24

Fuente: Alamri *et al.* (2022)

Las semillas de quinua contienen numerosas vitaminas (Tabla 4) indispensables para la salud humana, donde a diferencia de otros cereales como el trigo, cebada y arroz el contenido es significativamente mayor (Alamri *et al.*, 2022).

Tabla 4: Contenido de vitaminas en las semillas de quinua

Vitaminas	Semillas de quinua (mg/100g)
Vitamina A (carotenoides)	55.40 ± 2.71
Vitamina D2 (ergocalciferol)	15.06 ± 0.58
Vitamina C (ácido ascórbico)	10.20 ± 0.53
Vitamina B1 (tiamina)	1.50 ± 0.11
Vitamina B2 (riboflavina)	2.17 ± 0.25
Vitamina B3 (niacina)	1.10 ± 0.13
Vitamina B5 (ácido pantoténico)	5.60 ± 0.13
Vitamina B6 (piridoxina)	0.32 ± 0.00
Vitamina B9 (Folato)	6.50 ± 0.32
Vitamina B12 (Cobalamina)	0.23 ± 0.04

Fuente Alamri *et al.* (2022)

2. 1. 4. Efecto de la quinua en la salud humana

La quinua es conocida por su alto valor nutricional como proteínas, lípidos, fibra, vitaminas, minerales, aminoácidos esenciales, además de fitoesteroles, fitoecdisteroides, péptidos activos, que ejercen efectos beneficiosos a nivel cardiovascular y gastrointestinal, por lo tanto, una porción de 40g es recomendada para su consumo diario, debido a que tiene actividad biológica y diferentes compuestos bioactivos (ver Figura 2) que ayudan a promover la salud humana donde a su vez reduce riesgos de trastornos crónicos (Vilcacundo & Hernández-Ledesma, 2017).

Resultados obtenidos de un estudio realizado por Alamri *et al.* (2022) en ratas diabéticas que consumieron semillas de quinua tuvo un efecto hipoglucémico además causo mejores cambios con respecto a los niveles de colesterol, HDL y LDL, así que las semillas de quinua se consideran un agente terapéutico complementario contra la diabetes. Sin embargo, se necesitan más estudios que incluyan ensayos clínicos en humanos para un mayor entendimiento de las propiedades biológicas como el mecanismo de acción, biodisponibilidad e interacciones de fitoquímicos (Vilcacundo & Hernández-Ledesma, 2017).

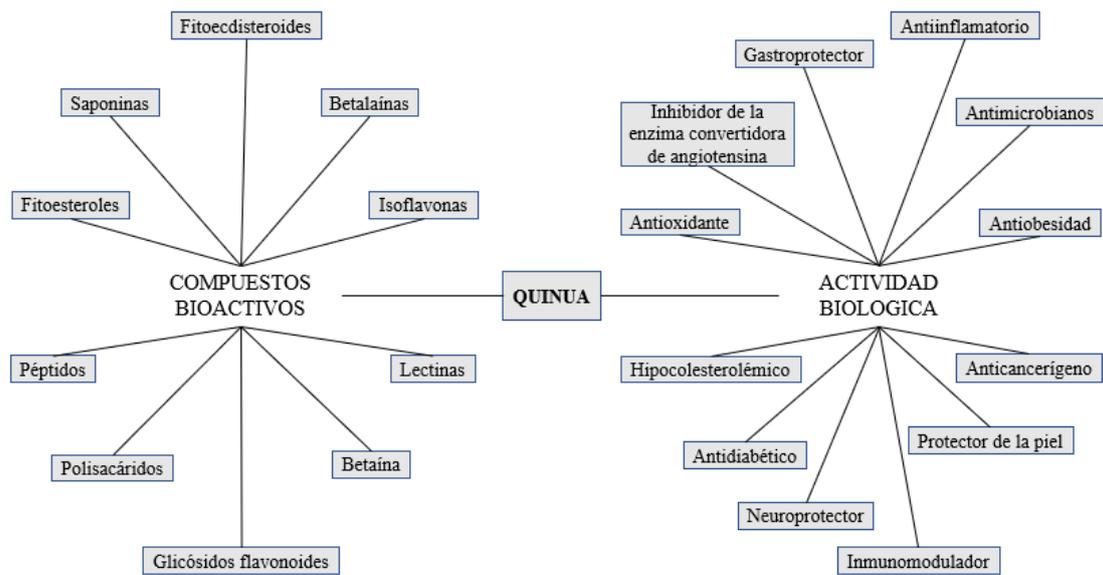


Figura 2: Compuestos bioactivos y actividades biológicas de la quinua

Fuente: Adaptado de Vilcacundo *et al.* (2017)

2. 1. 5. Uso en la gastronomía y sector alimentario

En países como Perú, Ecuador, Bolivia y Chile, usan las semillas cocidas ya que se hinchan hasta tres veces su tamaño original, principalmente se consumen en sopas, en lugar de arroz de platos principales, en guisos, en desayuno, compota para bebés incluso los granos se pueden germinar y ser agregados en ensaladas. Además de las semillas de quinua, también se consumen los tallos y hojas por sus propiedades medicinales, antiinflamatorias, cicatrizantes, analgésicas y desinfectantes (Repo-Carrasco-Valencia *et al.*, 2010; Valencia-Chamorro, 2015).

Un producto conocido como *tempeh* elaborado principalmente con soja también se hace con quinua en un proceso de fermentación en estado sólido con el hongo *Rhizopus oligosporus* tiene un alto aporte proteico ideal para su consumo (Valencia-Chamorro, 2015).

En China la quinua en presentación de harina tiene mucha demanda (Huang *et al.*, 2021), debido a su gran aporte nutricional y que aún conserva sus beneficios se usa como un ingrediente versátil en la incorporación de alimentos y bebidas funcionales (Romano *et al.*, 2020), sin embargo, aún son limitadas las investigaciones (Huang *et al.*, 2021). Valencia-Chamorro (2015) menciona que la harina de quinua se puede mezclar con otras harinas como

la de maíz o trigo para la elaboración de pan (10-13 % de harina de quinua), fideos y pasta (30-40 % de harina de quinua), y galletas dulces (60 % de harina de quinua).

2. 2. *Monascus purpureus*

2. 2. 1. Taxonomía

En 1884 el científico francés Van Tieghem clasificó y nombró al género *Monascus* (Pan & Hsu, 2014). En la American-Type Culture Collection se han registrado 58 cepas de *Monascus*, y la mayoría de las cepas pertenecen a sólo tres especies: *Monascus pilosus*, *Monascus purpureus* y *Monascus ruber* (Pan & Hsu, 2014).

Los caracteres fenotípicos todavía delimitan las especies de *Monascus* y los estudios taxonómicos que incluyen datos de secuencia son limitados (Barbosa *et al.*, 2017). En la Tabla 5 se describe la taxonomía completa de *M. purpureus*.

Tabla 5: Taxonomía de *Monascus purpureus*

Taxonomía	
Dominio	Eukaryota eukaryotes
Reino	Fungi
Subreino	Dikarya
Filium	Ascomycota
Subfilium	Pezizomycotina
Clase	Eurotiomycetes
Subclase	Eurotiomycetidae
Orden	Euritiales
Familia	Monascaceae
Genero	<i>Monascus</i>

Fuente: Velázquez, (2013).

2. 2. 2. Morfología

Es frecuente el cultivo de *M. purpureus* en los laboratorios con el medio agar papa dextrosa a 30°C durante 7 días, normalmente produce colonias compactas de micelio donde acumula gran cantidad de pigmentos (Manan *et al.*, 2017). En la Figura 3 se observa su desarrollo en placa, en tubo inclinado con medio sólido y una vista al microscopio.

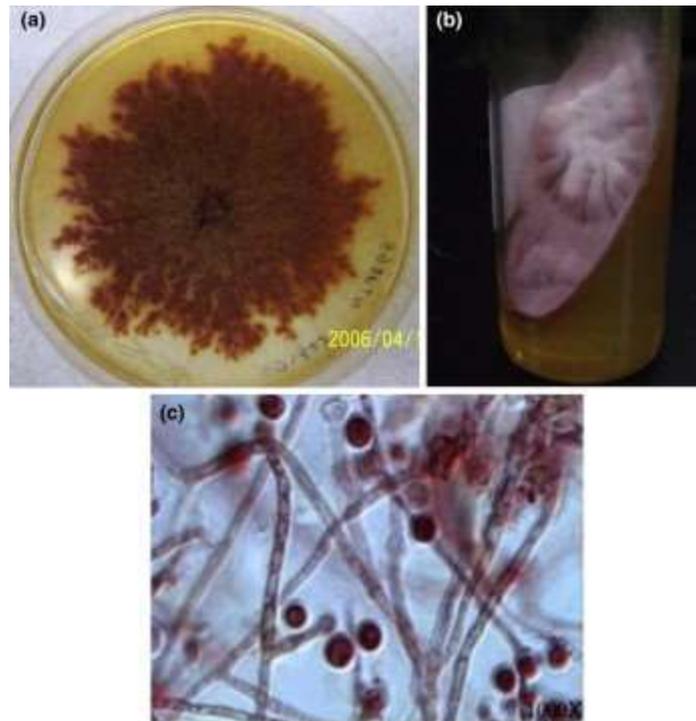


Figura 3: Morfología de *Monascus*. Aspecto de *Monascus* en (a) placa e (b) inclinado, (c) *Monascus* bajo el microscopio.

Fuente: tomada de Pan & Hsu (2014).

Según caracteres morfológicos *Monascus* se puede dividir en dos grupos: el clado *M. floridanus* que se distinguen porque crecen restringidos en agar extracto de malta (MEA), agar papa dextrosa (PDA), agar extracto de levadura Czapek (CYA), agar harina de maíz (CMA), agar avena (OA) y agar extracto de levadura sacarosa (YES), sus conidios son marrones y el micelio va del color blanco a marrón oliváceo; mientras que el clado *M. ruber* se diferencia porque presentan un crecimiento más rápido en los medios MEA, PDA, CYA, CMA, OA y YES, sus colonias cuando son jóvenes son de tono blanco, después de 7 a 10 días de incubación se vuelven tonos marrón-rojo o naranja-rojo (Barbosa *et al.*, 2017). En la Figura 4 se presenta diferentes caracteres culturales de especies de *Monascus* desarrollados en los medios de agar mencionados a diferentes condiciones de cultivo.

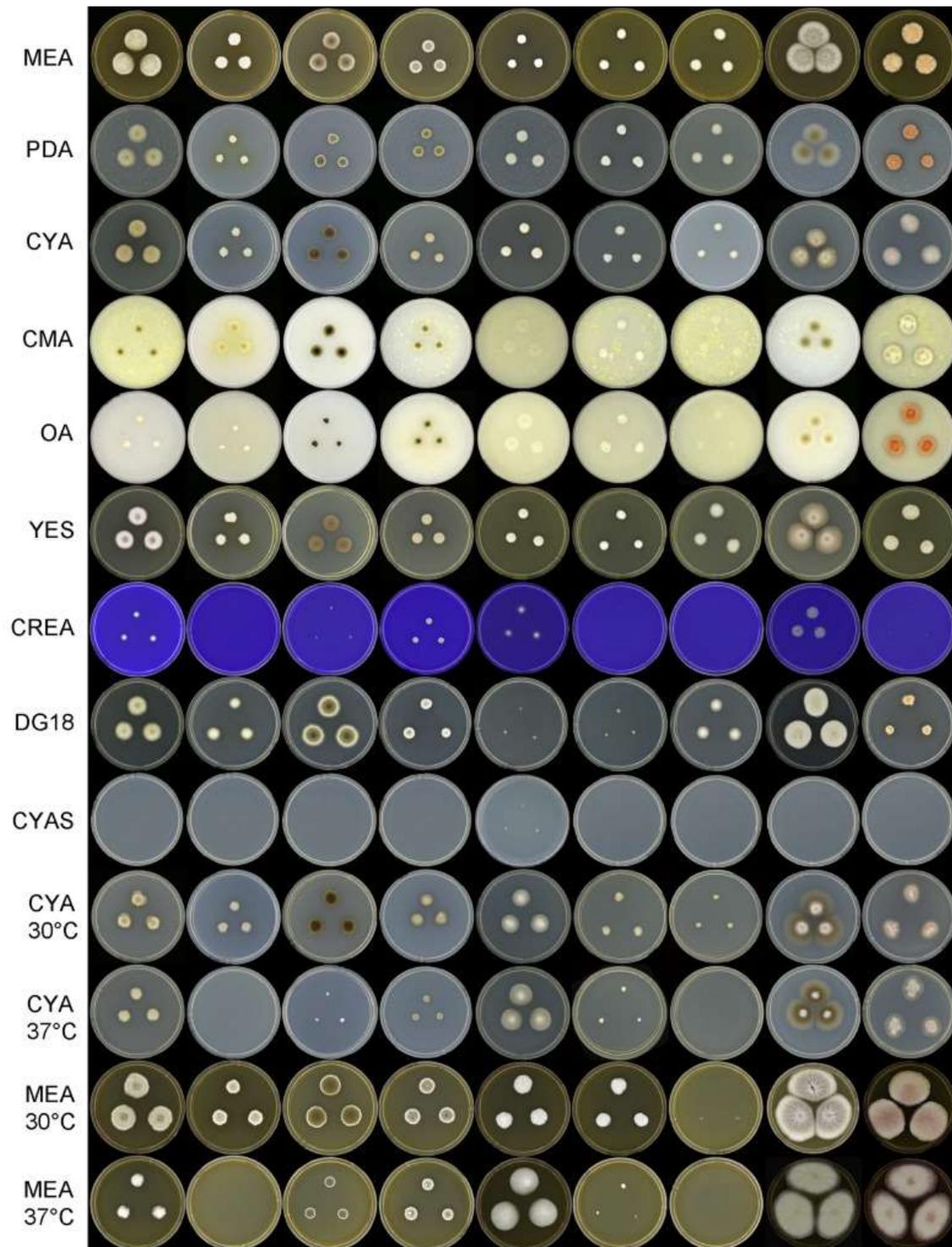


Figura 4: Caracteres culturales de especies de *Monascus* en diferentes medios de agar y condiciones de incubación. De izquierda a derecha: *M. lunisporas*, *M. flavipigmentosus*, *M. recifensis*, *M. mellicola*, *M. pallens*, *M. floridanus*, *M. argentinensis*, *M. ruber* y *M. purpureus*.

Fuente: Barbosa *et al.* (2017)

2. 2. 3. Reproducción sexual y asexual de *Monascus*

M. purpureus es homotálico y se reproduce sexualmente formando cleistotecio con ascosporas, y asexualmente formando conidios; tanto la formación de esporas sexuales y asexuales es una estrategia de crecimiento (Manan *et al.*, 2017).

El ciclo de vida de *Monascus* se observa en la Figura 5.

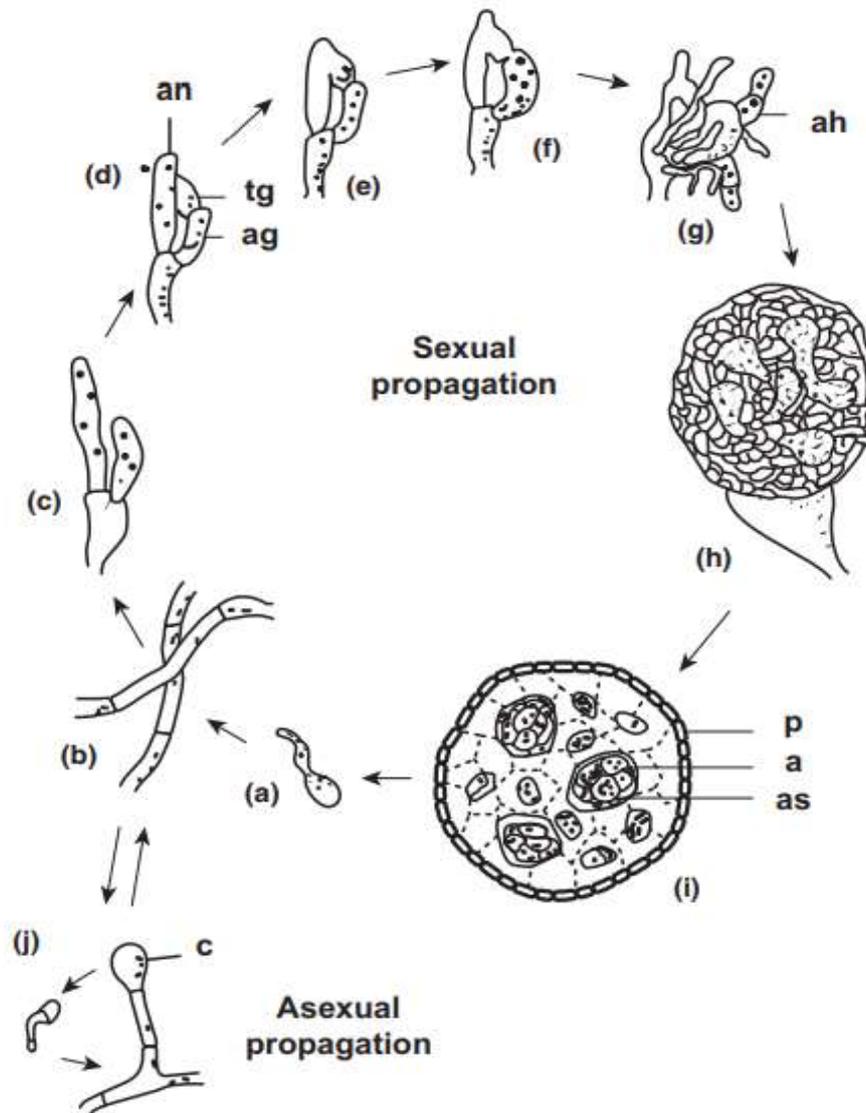


Figura 5: Ciclo de vida de las especies de *Monascus*. (a) y (b): la ascospora forma hifas vegetativas; (c)-(g): formación del órgano reproductor y desarrollo de hifas ascógenas; (h) e (i): ascogonio maduro; y (j): reproducción asexual de conidios unicelulares. an, anteridios; p, células de la pared peridial; ag, ascogonio; a, ascos; tg, tricogeo; as, ascospora; ah, hifas ascógenas; c, conidios.

Fuente: Tomada de Pan & Hsu (2014).

Los pasos implicados en la reproducción sexual de las especies de *Monascus* consisten en: 1) Los anteridios, forman una célula multinúcleo de tipo tubo-extendido; 2) aparece el ascogonio en la parte inferior de los anteridios a partir de las células hifales; 3) las partes superior e inferior del ascogonio se separan y forman el tricogonio; 4) tras la fusión de los anteridios y el tricogonio, el núcleo de los anteridios entra en el tricogonio y, mientras tanto, los núcleos existentes en el tricogonio desaparecen antes de que entre el núcleo de los anteridios; 5) los anteridios vacíos comienzan a marchitarse y el núcleo del tricogonio se desplaza al ascogonio a través de pequeños poros; 6) el ascogonio se agranda y los núcleos están en pares y se forman 11 hifas ascógenas y generan un pequeño número de ascus; 7) bajo el órgano sexual hay células de la pared peridial que generan hifas ascógenas descubiertas en una o dos capas y forman un ascus totalmente cerrado. En momento, la membrana del ascus y las hifas ascógenas se funden y desaparecen. Las ascosporas aisladas se depositan en ascogonio y finalmente se liberan a través de la regeneración de paredes celulares peridiales (Pan & Hsu, 2014), para comenzar un nuevo ciclo de vida (ver Figura 5).

2. 2. 4. Importancia en la gastronomía y uso medicinal

Los hongos filamentosos producen una gran cantidad de metabolitos aplicados en la industria como alimentos, textiles, cosméticos, medicina, papel, biodegradación, entre otros (Venkatachalam *et al.*, 2018). *M. purpureus* es un hongo filamentosos ascomiceto, conocido por producir metabolitos de interés industrial (De Almeida *et al.*, 2021). Al hongo *Monascus* se le encuentra en diferentes partes como organismos de deterioro, en el suelo, sedimentos superficiales de ríos, raíces de pinos, en granos, pescado seco (Barbosa *et al.*, 2017; Pan & Hsu, 2014).

Desde hace miles de años, en países asiáticos se utiliza *Monascus* principalmente en su gastronomía como alimentos fermentados y se le conoce con diferentes nombres: Hon-Chi, Hong Qu, Dan Qu, Anka, Ankak rice, Beni-Koji, red koji, red arroz rojo chino, arroz de levadura roja y arroz de moho rojo (RMR) (Barbosa *et al.*, 2017; Pan & Hsu, 2014). También se utiliza como medicina tradicional, debido a que los productos fermentados con el hongo proporciona metabolitos secundarios de interés como pigmentos, monacolina, ácido γ -aminobutírico y ácido dimerúmico, estos metabolitos han demostrado efectos beneficiosos para la salud como antioxidantes, antitumorales y antiinflamatorio, además de ser

preventivos o mejora de ciertas enfermedades como la hipercolesterolemia, hiperlipidemia, hipertensión, diabetes, obesidad, enfermedad de Alzheimer y numerosos tipos de cáncer (Pan & Hsu, 2014).

2.3. FERMENTACIÓN EN ESTADO SOLIDO

La fermentación en estado sólido (FES) es cualquier proceso en el que se utilizan sustratos en estado de partículas sólidas (Mitchell *et al.*, 2000) donde estos sustratos contienen suficiente humedad sin agua libre, para apoyar el crecimiento microbiano (Keivani & Jahadi, 2022), a su vez pueden ser utilizados como fuente de carbono y energía, condición que se asemeja más al entorno natural de los microorganismos (Pandey *et al.*, 2000).

La FES requiere comprensión de aspectos de ingeniería bioquímica del procesamiento, como el modelamiento matemático para el diseño y operación de los biorreactores, preparación de sustratos, preparación de inóculos, introducción de enzimas, oxigenación, transferencia de calor, fermentación, eliminación de desechos; sin embargo la mayoría de investigaciones se centran en la etapa de fermentación (Mitchell *et al.*, 2000).

Las ventajas biotecnológicas de la FES son una mayor concentración de producto final, mayor productividad de fermentación, mayor estabilidad del producto, menor represión catabólica, menor demanda de esterilidad por la baja actividad de agua (Hölker *et al.*, 2004; Keivani & Jahadi, 2022), por lo tanto, es económica y efectiva (Ren *et al.*, 2022).

La FES si bien se lleva a cabo a pequeña escala cuenta con ventajas de importancia económica y ecológica en comparación con la Fermentación Sumergida (FS) (Hölker *et al.*, 2004). En la Tabla 6 se muestran las ventajas de la FES a escala de laboratorio.

Tabla 6: Ventajas biotecnológicas de la fermentación en estado sólido a escala de laboratorio con hongos

Ventajas	Consecuencias	Problemas a resolver
Ventajas biológicas		
Baja demanda de agua	Menos aguas residuales	Construcción de gradientes de humedad
Alta concentración del producto final	Menores costos posteriores	
La represión catabólica es significativamente menor	Fermentación en presencia de glucosa	
Utilización de sustrato sólido	Alta concentración de los sustratos de crecimiento	Construcción de gradientes de sustrato Construcción de gradientes de pH
Menores demandas de esterilidad	Cultivos mixtos de microorganismos fermentadores	
Soporte sólido para microorganismos		
Simulación del entorno natural	Mejor rendimiento de los microorganismos cultivados	
Fermentación de sustratos sólidos insolubles en agua		
Cultivo mixto de microorganismos	Sinergismo del rendimiento metabólico	
Ventajas del procedimiento		
Productividad de alto volumen	Volúmenes de fermentadores más pequeños	
Baja demanda de energía para calefacción		Construcción de gradientes de temperatura
Fácil aireación		Construcción de gradientes de oxígeno a gran escala
Utilización de fuentes de carbono que de otro modo serían inutilizables	Fuentes de carbono baratas y abundantes	
Sin productos químicos antiespumantes	No hay pérdida de microorganismos durante la fermentación	

Fuente: Hölker *et al.* (2004)

La FES se usa como un ambiente natural para el desarrollo del hongo debido a que crece en la superficie de sustratos en su mayoría residuos agroindustriales de bajo costo con el propósito de obtener metabolitos (Keivani & Jahadi, 2022). Uno de estos hongos es *M. purpureus* que produce metabolitos funcionales con un color característico que es el rojo violáceo, este hongo filamentoso se usa con frecuencia para fermentar arroz donde el producto tiene múltiples funciones para la salud (Huang *et al.*, 2020). Así que la industria alimentaria produce pigmentos rojos a partir de *M. purpureus* por FES utilizando sustratos baratos (Keivani & Jahadi, 2022), además de cereales (Ren *et al.*, 2022).

Sustratos que han sido utilizados para producir pigmentos rojos de *Monascus* bajo la FES reportados son el arroz (entero y harina), maíz (mazorca, salvado), grano de sorgo integral, grano de sorgo descascarillado, salvado de sorgo, residuos de dátiles, orujo de papa, semilla de jaca y hojas de palma aceitera (Keivani & Jahadi, 2022). En la Tabla 7 se muestran algunos subproductos agroindustriales utilizados para producir pigmentos naranja y rojo a partir de cepas de *Monascus*.

Tabla 7: Subproductos agroindustriales utilizados para producir pigmentos naranja y rojo a partir de cepas de *Monascus*.

Cepa	Sustrato	Proceso
<i>M. ruber</i> LEB -A4-5	Licor de maíz fermentado	FS, 30°C, 300 rpm
<i>M. purpureus</i> NRRL 1992	Residuos de uva	FS, 25°C, 100 rpm
<i>M. ruber</i> MTCC2326	Arroz partido	FES
<i>M. purpureus</i> CMU001	Harina de maíz, maní, soja, residuos de coco	FES, 30°C, 14 días
<i>M. purpureus</i> NRRL 1992	Bagazo de caña de azúcar	FS, 27°C, 125 rpm
<i>M. purpureus</i> ATCC 16436	Mazorca de maíz + glicerol	FES, 30°C, 150 rpm
<i>M. purpureus</i> ATCC 16365	Cáscara de naranja	FES
<i>M. purpureus</i> LQ-6	Hidrolizado de paja de arroz	FS, 30°C, 150 rpm
<i>M. purpureus</i> CMU001	Grano sobrante obtenido de la elaboración de cerveza.	FS, pH 6.5, 350 rpm
<i>M. purpureus</i> FTC5357	Hoja de palma aceitera	FES, 30°C

Fuente: adaptado de Paillière-Jiménez *et al.* (2020)

En la fermentación existen factores que afectan la producción de pigmentos como son la temperatura, oxigenación, composición del medio de cultivo (fuentes de carbono y nitrógeno), pH, intensidad luminosa y humedad (Da Costa & Vendruscolo, 2017).

La obtención de pigmentos por un proceso de fermentación tiene ventajas como un mayor rendimiento, menor costo, extracción más fácil del metabolito, sin variaciones estacionales y disponibilidad de materia prima (Aberoumand, 2011).

2. 4. PIGMENTOS

2. 4. 1. Generalidades de pigmentos

Los pigmentos naturales son compuestos importantes debido a sus atributos nutricionales y funcionales, y se utilizan como aditivos para mejorar el color o sabor de los productos alimentarios (Nabi *et al.*, 2023); al contrario de los artificiales son menos tóxicos para la salud y seguros para el medio ambiente, por otro lado, son criticados debido a su baja solubilidad al agua e inestabilidad a la luz, calor o pH debido a que no son tan puros por la presencia de proteínas, azúcares, entre otros (De Oliveira *et al.*, 2022).

Los pigmentos sintéticos tienen efectos secundarios que son dañinos como los azoicos y bencidina, por ello los científicos han optado por investigar en rutas químicamente más ecológicas de producción de pigmentos (Rather *et al.*, 2022). Los pigmentos sintéticos como los azoicos se derivan de la anilina, esta a su vez se deriva del petróleo frecuentemente relacionado a la toxicidad ambiental y problemas en la salud; sin embargo, para la industria tienen ventajas frente a los naturales, por sus tonos atractivos y alta estabilidad (De Oliveira *et al.*, 2022). La presencia de pigmentos sintéticos de bajo costo en el mercado hace que sea desafiante el desarrollo de pigmentos microbianos, pero a pesar de ello actualmente están ganando más atención debido a sus aplicaciones versátiles en las industrias no solo alimentaria, sino en la farmacéutica, cosmética y textil (Rather *et al.*, 2022).

Actualmente los consumidores prefieren novedosas soluciones y productos donde se utilicen pigmentos naturales, es por ello que las industrias alimentarias los utilizan en alimentos y bebidas, como una alternativa frente a los efectos nocivos e indeseables de los pigmentos artificiales (Nabi *et al.*, 2023) utilizando como una opción a los pigmentos microbianos ya que su producción es ecoamigable a través de procesos biotecnológicos, no representan riesgos ambientales y son descomponibles (Pailliè-Jiménez *et al.*, 2020), sin embargo la producción de pigmentos a partir de microorganismos aún es parte de estudios de investigación que se encuentran en una etapa temprana, para ello es necesario aumentar la viabilidad industrial (Rather *et al.*, 2022).

En comparación con las plantas, los microorganismos presentan una menor simplicidad genética, por ello son una mejor fuente para estudiar los mecanismos biosintéticos y modificarlos, así mejorar los rendimientos de producción de pigmentos (Pailliè-Jiménez *et al.*, 2020). Algunos microorganismos, entre ellos hongos filamentosos, levaduras y bacterias producen pigmentos naturales como: flavinas, melaninas, carotenoides, quinonas, monascinas, entre otros (Dufossé, 2006), que cumplen funciones en los microorganismos de: protección UV, antioxidante, actividad antimicrobiana frente a otros microorganismos, protección contra calor o frío (Liu & Nizet, 2009).

Las aplicaciones versátiles en las industrias alimentaria, farmacéutica, textil y cosmética de los pigmentos microbianos han ganado mucha atención, a pesar de que existe una mayor presencia de los pigmentos sintéticos en el mercado (Rather *et al.*, 2022). Aunque a la actualidad lo más preocupante para la industria alimentaria es la escasez de los pigmentos rojos naturales, por ello una alternativa es el uso de hongos filamentosos, ya que las antocianinas de origen vegetal y el extracto de carmín de cochinilla son los más utilizados (De Oliveira *et al.*, 2022). Los hongos filamentosos como *Monascus* producen pigmentos del tipo azafilonas, que tiene aplicaciones en la industria alimentaria como colorantes alimentarios, antimicrobianos, antioxidantes, emulsionantes y antiinflamatorios (De Oliveira *et al.*, 2022). Y como solución para aumentar el rendimiento de la producción de pigmentos se utilizan tecnologías modernas como: suplementación con co-sustrato, desarrollo de cepas, ingeniería genética, entre otros (Rather *et al.*, 2022).

2. 4. 2. Clases de pigmentos microbianos

Pigmentos de hongos filamentosos

Los hongos filamentosos como ascomicetos y basidiomicetos producen pigmentos naturales como carotenoides, azafilonas, melaninas, flavinas, quinonas, antraquinonas, hidroxiantraquinonas, oxopolieno, fenazinas y naftoquinona, que poseen una amplia gama de colores con propiedades biológicas (Rather *et al.*, 2022).

Pigmentos de levaduras

Las levaduras son una fuente rica de pigmentos naturales, por ello diferentes industrias biotecnológicas están interesadas en los pigmentos como tororeno, torularhodin, astaxantina, melaninas, biliverdina y principalmente carotenoides por sus propiedades antimutagénicas y

antioxidantes. La síntesis de carotenoides por levaduras está influenciada por factores como fuente de carbono, luz, temperatura, iones metálicos, grado de aireación y agentes químicos (Rather *et al.*, 2022).

Pigmentos de bacterias

En Asia los pigmentos bacterianos son parte de investigaciones exhaustivas y uso tradicional debido a sus aplicaciones en la industria como alimentos, cosméticos, productos farmacéuticos y textiles (Venil *et al.*, 2020).

Los carotenoides, fenazinas, bacterioclorofilas, melaninas, quinonas, flavinas, monascinas, violaceína, prodigiosina e índigo son compuestos naturales producidos por bacterias (Dufossé, 2009).

Pigmentos de cianobacterias

Las cianobacterias (algas azul-verdosas) producen pigmentos que absorben la luz, como las clorofilas, carotenoides y ficobiliproteínas (Asker *et al.*, 2007).

Pigmentos de algas

Dentro de los principales colorantes naturales se encuentran los carotenoides que comprenden pigmentos amarillos, anaranjados y rojos que se encuentran en el cloroplasto y cromoplasto de algas y son utilizadas en varias aplicaciones industriales (Asker *et al.*, 2007).

En la Tabla 8 se menciona el estado en el que se encuentra el uso de algunos pigmentos alimentarios naturales o con gran potencial en este campo.

Tabla 8: Producción microbiana de pigmentos

Microorganismo	Color	Estado*
Levadura		
<i>Rhodotorula</i> sp.	Anaranjado-rojo	FD
<i>Saccharomyces neoformans</i> var. nigricans	Negro	PYI
<i>Xanthophyllomyces dendrorhous</i> , antes <i>Phaffia rhodozyma</i>	Rosado rojo	FD
Bacteria		
<i>Paracoccus carotinifaciens</i>	Rosado rojo	PYI
<i>Agrobacterium aurantiacum</i>	Rosado rojo	PYI
<i>Streptomyces echinoruber</i>	Rojo	FD
<i>Flavobacterium</i> sp.	Amarillo	FD
<i>Paracoccus zeaxanthinifaciens</i>	Amarillo	PYI
<i>Bradyrhizobium</i> sp.	Rojo oscuro	PYI
Hongos filamentosos		
<i>Monascus</i> sp.	Amarillo-Anaranjado-rojo	PDI
<i>Blakeslea trispora</i>	Amarillo-anaranjado	PDI
<i>Fusarium sporotrichioides</i>	Amarillo-anaranjado-rojo	PYI
<i>Mucor circinelloides</i>	Amarillo-anaranjado	FD
<i>Neurospora crassa</i>	Amarillo-anaranjado	PYI
<i>Phycomyces blakesleeanus</i>	Amarillo-anaranjado	PYI
<i>Penicillium purpurogenum</i>	Rojo	FD
<i>Penicillium oxalicum</i>	rojo	PDI
<i>Paecilomyces sinclairii</i>	Rojo	PYI
<i>Ashbya gossypi</i>	Amarillo	PDI
<i>Cordyceps unilateralis</i>	Rojo sangre intenso	PYI
<i>Blakeslea trispora</i>	rojo	FD

*Producción industrial (PDI), fase de desarrollo (FD), proyecto de investigación (PYI)

Fuente: Adaptado de Dufossé (2006).

2. 4. 3. Pigmento *Monascus*

Monascus se cultiva en países asiáticos con el fin de obtener un pigmento rojo conocido como anka, que se utiliza en su gastronomía, mientras que en occidente aún no se explota comercialmente los pigmentos *Monascus*, ya sea por desconocimiento o reticencia a su incorporación en los alimentos consumidos con frecuencia (Dufossé, 2009).

Este hongo produce una mezcla de pigmentos del tipo azafilonas compuesta principalmente de pigmentos amarillos, anaranjados y rojos (Shi *et al.*, 2015). En la industria alimentaria algunos pigmentos sintéticos utilizados son reemplazados por los pigmentos de *Monascus*, donde cada uno exhibe un gran potencial de aplicación según sus actividades biológicas (Duan *et al.*, 2022; Shi *et al.*, 2015). Se utilizan principalmente los pigmentos rojos intracelulares, mientras que los extracelulares se producen con bajo rendimiento por ello son inadecuados en la producción industrial a gran escala (Huang *et al.*, 2022). Actualmente por fermentación no es posible controlar la producción de un pigmento puro, pero si se puede controlar la composición de los medios de cultivo y las condiciones en las que se desarrolla la fermentación, con ello se obtienen diferentes mezclas de pigmentos amarillo, anaranjado y/o rojo (Shi *et al.*, 2015).

2. 4. 4. Biosíntesis de los pigmentos de *Monascus*

Los hongos filamentosos ascomicetos son conocidos por producir colorantes policétidos, como las azafilonas que están compuestos por un grupo de estructuras pirano-quinonas con una alta tensión aceptora de electrones determinante de la sensibilidad del oxígeno en el anillo primario y un centro quiral, produciéndose γ -piridonas, que cuenta con propiedades cromóforas, por lo tanto, los colores van a depender de su estructura química (De Oliveira *et al.*, 2022).

Monascus produce principalmente seis pigmentos: rojo (rubropunctamina y monascorubramina); anaranjado (rubropunctin y monascorubrin) y amarillo (monascina y ankaflavina); todos estos pigmentos son hidrófobos, y se acumulan intracelularmente, con una proporción que depende en gran parte por los nutrientes del medio de cultivo, condiciones de pH, temperatura y estrés osmótico (De Oliveira *et al.*, 2022).

En la Figura 6 se muestra la estructura de los colorantes amarillos, anaranjados y rojos más comunes de *Monascus*.

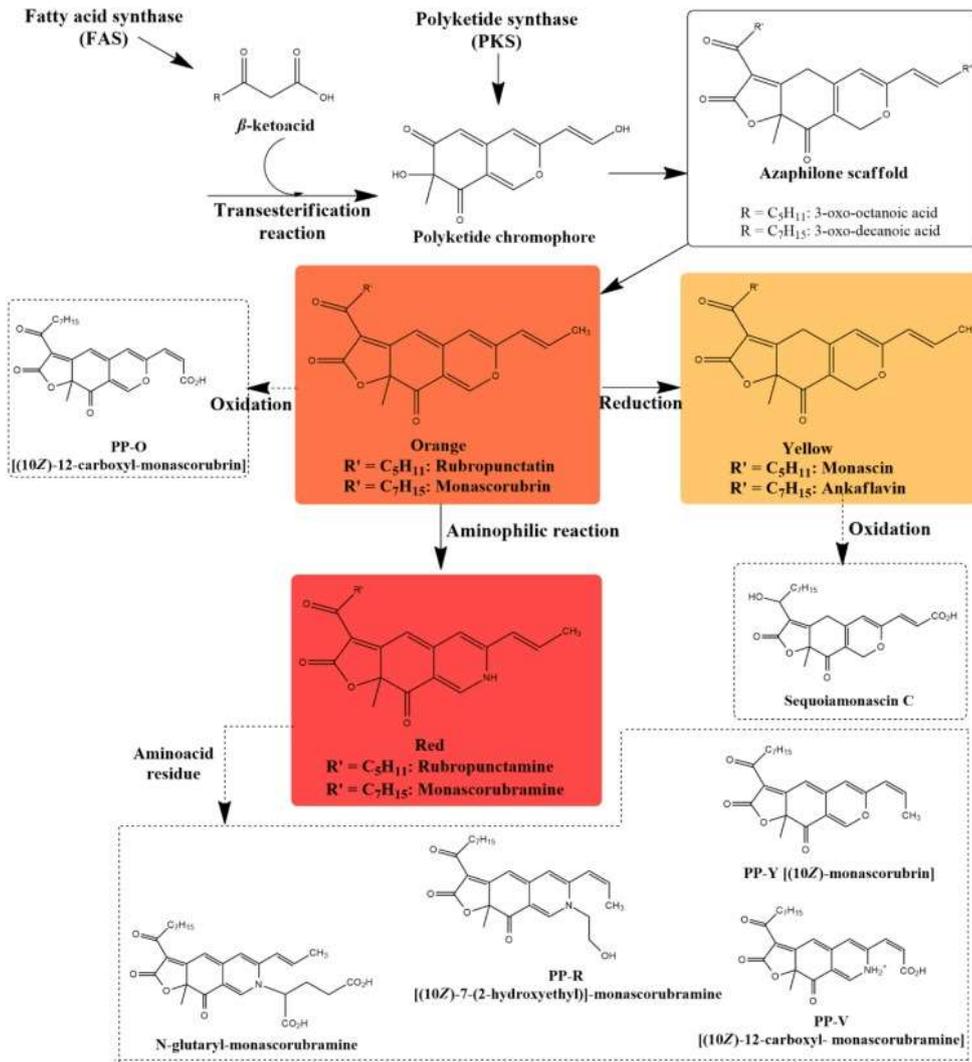


Figura 6: Estructura de los colorantes clásicos de azafilona de *Monascus*: colorantes amarillos (monascina y ankaflavina), anaranjados (rubropunctina y monascorubrina), rojos (rubropunctamina y monascorubramina) y sus derivados.

Fuente: De Oliveira *et al.* (2022)

La biosíntesis de los pigmentos de *Monascus* sigue una vía de policétido donde la policétido sintasa (PKS) y la sintasa de ácidos grasos (SAF) participan en la formación de colorantes anaranjados por transesterificación de un cromóforo policétido y un β -cetoácido, luego se derivan los pigmentos amarillo y rojo. Por hidrogenación, los pigmentos anaranjados pueden transformarse a amarillos. Los pigmentos anaranjados y amarillos tienen un núcleo bicíclico pirano-quinona que están oxigenados, el oxígeno presente en el anillo primario reacciona con aminas, a esto se le conoce como reacción aminofílica donde ocurre el intercambio de oxígeno pirano con nitrógeno, como resultado se tiene un cambio de color a rojo. Adicionalmente, los aminoácidos pueden reaccionar con el NH intracíclico del pigmento

monascorrubramina (rojo) a través de un enlace amida, con ello se forma complejos rojos solubles en agua (De Oliveira *et al.*, 2022).

2. 4. 5. Factores que afectan la producción de pigmentos de *Monascus*

A) Temperatura

La temperatura de incubación es un factor que afecta la producción de pigmentos. *Monascus* requiere una temperatura de 25-30°C (De Almeida *et al.*, 2021; Joshi *et al.*, 2003)

B) pH

El pH del medio afecta el crecimiento y la producción de pigmentos de *Monascus*, el tono del color varía con un ligero cambio en el pH. El pH óptimo es 5.5-6.5 (Joshi *et al.*, 2003)

La formación de pigmentos rojos se da a valores cercanos al pH neutro, mientras que un pH bajo promueve la formación de pigmentos amarillos, y si el pH es relativamente alto junto a la fuente nitrogenada glutamato monosódico se promueve la transformación de pigmentos intracelulares en derivados de pigmentos rojos extracelulares (Shi *et al.*, 2015).

C) Fuente de Carbono

La fuente de carbono influye en el crecimiento micelial de *Monascus*, entre ellas están: glucosa, maltosa, fructosa, lactosa, galactosa, etc. Para la producción de pigmentos se recomienda usar glucosa y sus oligosacáridos; el almidón y dextrina se usan para la formación volumétrica de pigmentos (Joshi *et al.*, 2003).

D) Fuente de nitrógeno

La producción de pigmentos de *Monascus* está relacionada con la fuente de nitrógeno, los más empleados son el cloruro de amonio, glutamato monosódico, nitrato de amonio y peptona (Joshi *et al.*, 2003).

La combinación de los factores a diferentes niveles pueden ser optimizados para una mayor producción de metabolitos como los pigmentos de *M. purpureus*, como Keivani & Jahadi (2022) quienes estudiaron la producción de pigmentos rojos de *Monascus* por fermentación en estado sólido utilizando harina de soja como sustrato, optimizando las variables como la concentración de ZnSO₄·7H₂O (0-0,02 g/L), harina de soja (0-100%) y el tiempo de estrés

térmico de la suspensión de esporas a 70 °C (50-90 s). Por otro lado, para optimizar la producción de pigmentos rojos por *M. purpureus* se determinó la mejor concentración de salvado de maíz y peptona (De Almeida *et al.*, 2021). Adicionalmente Babitha *et al.* (2007b) optimizaron también los parámetros como el contenido de humedad inicial, temperatura de incubación, concentración de inóculo y pH inicial para la producción de pigmentos rojos por *M. purpureus* en fermentación en estado sólido. Por lo tanto, para una optimización por más que se desee estudiar un mismo metabolito no hay factores que siempre van a ser evaluados, ello dependerá posiblemente de los recursos que se tengan y del interés del equipo investigador.

2. 5. ANÁLISIS POR COLORIMETRÍA

El color de los alimentos puede reflejar la calidad e influir en la evaluación sensorial, mejorando la aceptabilidad en las personas; ahora que los consumidores prefieren colores naturales debido a que la demanda de alimentos saludables ha aumentado, sin embargo, los pigmentos sintéticos aún no son reemplazados del todo por los pigmentos naturales debido a que son poco estables y costosos en su mayoría (Zhou *et al.*, 2022).

El sistema de espacio de color CIELAB (Commission internationale de l'éclairage [Comisión Internacional de Iluminación] $L^* a^* b^*$) se aproxima a la forma en la que el ojo humano percibe los colores, basándose en la teoría del oponente del color, donde debido a la naturaleza de nuestros fotorreceptores de cono, no podemos percibir al mismo tiempo colores rojo y verde, amarillo y azul, o blanco y negro (McGrath *et al.*, 2017). Los datos cuantitativos de CIELAB puede ser representado utilizando coordenadas cartesianas tridimensionales (McGrath *et al.*, 2017).

El valor de luminancia o brillo de una muestra se representa con L^* y está en el rango de 0 (negro) a 100 (blanco), mientras los tonos son más vibrantes el valor de L^* aumenta, el valor de a^* es positivo y negativo cuando se correlaciona con rojo y verde respectivamente, estos valores oscilan entre $[-100, 100]$, un valor de b^* es positivo cuando corresponde al amarillo y negativo cuando se correlaciona con azul, los valores también oscilan entre $[-100, 100]$ (Yee *et al.*, 2023). El croma (C^*) se puede considerar como la fuerza de un color, refleja la desviación del color de un estándar blanco o gris, es decir se considera como la distancia desde un color neutro, con valores de a^* y b^* (0,0) hacia el valor real medido de ese color,

entonces un color por poco C^* serán más blanco, gris o apagado en el interior del eje a^* o b^* y será mayor cuando el color sea más vibrante es decir se acerca al exterior del eje a^* o b^* (McGrath *et al.*, 2017). El ángulo de tono (h°) se considera como el indicador de color medido a lo largo del perímetro de la rueda de colores es decir de los ejes a^* y b^* (McGrath *et al.*, 2017). En la Figura 7 se muestra el espacio de color CIELAB.

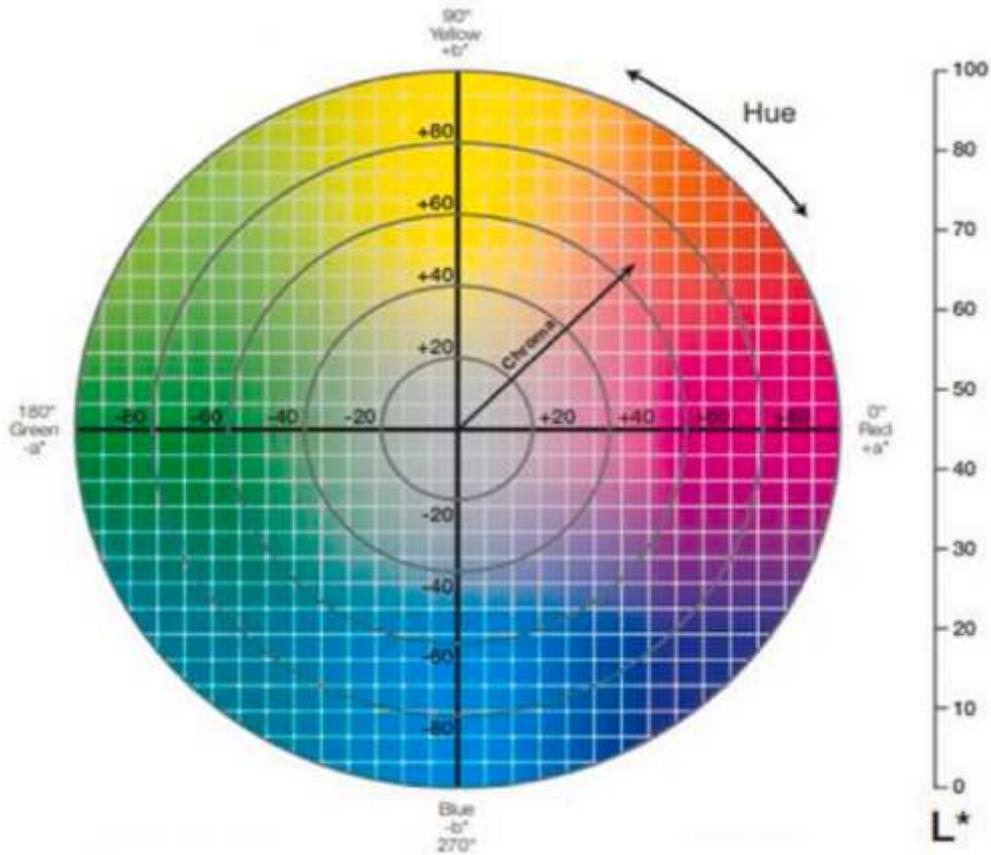


Figura 7: Espacio de color CIELAB

Fuente: tomada de Yee *et al.* (2023)

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3. 1. LUGAR DE EJECUCIÓN

El presente trabajo de investigación se realizó en el Laboratorio de Microbiología de Alimentos y Laboratorio de Investigación e Instrumentación de la Facultad de Industrias Alimentarias- UNALM, en el Laboratorio de Biotecnología Ambiental- Biorremediación de la Facultad de Ciencias-UNALM y en el Centro de Investigação de Montanha- Bragança- Portugal.

3. 2. MATERIAL BIOLÓGICO

3. 2. 1. Hongo filamentoso

Cepa *Monascus purpureus* 2955, proveniente de la Colección Española de Cultivos Tipo (CECT).

3. 2. 2. Material vegetal

Semillas de *Chenopodium quinoa* var. Blanca de Juli (sin saponina) procedentes del distrito de Juli, provincia de Chucuito, Puno-Perú.

3. 3. MATERIALES DE LABORATORIO, EQUIPOS Y REACTIVOS

3. 3. 1. Materiales de laboratorio

Algodón

Asa de siembra estériles desechables

Bolsas ziploc

Cámara de Neubauer (Boeco, Alemania)

Cartuchos de celulosa

Crisoles de porcelana

Desecador

Gasa

Gradillas

Guantes de nitrilo (Ultrasoft)

Matraces Erlenmeyer de 250 y 500 mL (Boeco, Alemania)

Micropipetas (100-1000 μ L y 20-200 μ L) (Dragon Lab, China)

Papel aluminio (U-Thil)

Papel Kraft (S/M)

Parafilm (Bemis™)

Pinzas de metal

Placas de Petri 100x15 mm (Normax)

Probetas de 100 y 1000mL (Boeco, Alemania)

Tamiz (60 mesh)

Tips de micropipetas (100-1000 μ L y 20-200 μ L)

Tubos de centrifuga base redonda

Tubos de digestión (100 mL)

Vaso de precipitado de vidrio de 100, 500 y 1000 mL (Boeco, Alemania)

Vasos de aluminio (100 mL)

3. 3. 2. Equipos

Agitador magnético (Isolab, Alemania)

Agitador rotatorio (OHAUS, USA)

Agitador Vortex (Digital Vortex-Genie®2, SCIENTIFIC INDUSTRIES, USA)

Autoclave (PRESOCLAVE III 80, J.P. SELECTA, s.a., España)

Balanza analítica (AA-200, ADAM EQUIPMENT CO., Inglaterra)

Cámara de flujo laminar (BSC-1100IIA2, BIOBASE, China)

Centrífuga (MPW 352R, MPW Med. Instruments, Polonia)

Sistema completo Kjeldahl (K24, Behr-Labor behrotest®, Alemania)

Espectrocolorímetro (CM-5, Konica Minolta, Japón)

Estufa (J.P. SELECTA, s.a., España)

Horno mufla (J.P. SELECTA, s.a., España)

Incubadora (ILW, Pol Eko, Polonia)

Molino (CS-1000, SHANG-JUN, China)

Potenciómetro (Microprocessor 2.1, Hanna®, Italia)

Refrigeradora (BPR-5V360, BIOBASE, China)

3.3.3. Reactivos

Ácido bórico (J.T. Baker, México)

Ácido clorhídrico 1M (J.T. Baker, México)

Agua destilada marca ALKOFARMA

Azul de lactofenol (Sigma Aldrich, India)

Cloruro de sodio (J.T. Baker, USA)

Etanol 40, 50 y 60 % (v/v) (J.T. Baker, USA)

Éter de petróleo (J.T. Baker, México)

Glutamato monosódico (J.T. Baker, USA)

H₂SO₄ concentrado (J.T. Baker, México)

Hidróxido de sodio (J.T. Baker, México)

Pastillas catalizadoras Kjeldahl (marca PanReac AppliChem, España)

Tween-80 0.01% (Sigma Aldrich, India)

3.4. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

3.4.1. Preparación de cepa fúngica y medios de cultivo

La cepa se resuspendió y se sembró en PDA (Potato Dextrose Agar HiMedia) en placa de Petri a 30°C durante 7 días, luego se sembró en un medio formulado de quinua, nombrado como AHQ (Agar Harina de Quinua) (harina de quinua 50g, agar 15g/L de agua destilada) se ajustó a pH 6, y se incubó a 30°C durante 7 días; transcurrido el tiempo se volvió a cultivar la cepa por estrías en placas de Petri con el medio AHQ a 30 °C durante 7 días, para preparar la suspensión de esporas (Quispe-Rivera *et al.*, 2022).

3.4.2. Preparación de suspensión de esporas

Se adicionaron 10 mL de 0.01% de Tween-80 por placa de Petri, luego las esporas se rasparon en condiciones asépticas con la ayuda de una espátula de Drigalski, se filtró, y se llevó a un agitador vortex por 5 minutos, después se realizó el conteo en una cámara de Neubauer con azul de lactofenol y se ajustó a 1.0 x10⁶ esporas/mL (Ketkaeo *et al.*, 2022; Nimnoi & Lumyong, 2011). La suspensión de esporas se utilizó como inóculo en todos los demás ensayos de la investigación.

3. 4. 3. Fermentación en estado sólido I:

La FES se llevó a cabo en matraces de 250 mL donde se adicionaron 30 g de granos de quinua (sin saponinas), glutamato monosódico 1% (p/p), cloruro de sodio (0.05, 0.1, 0.2 y 0.4 % p/p) y 25 mL de agua destilada. Se ajustó el pH a 6 y se esterilizó a 121°C y 15 psi durante 15 min. Transcurrido el tiempo se retiraron los matraces del autoclave, se agitaron uniformemente para evitar que los granos de quinua se apelmacen al enfriarse, y se dejó enfriar a temperatura ambiente.

Se inocularon 1000 µL de suspensión de esporas (1.0×10^6 esporas/mL) de *M. purpureus* por cada matraz con sustrato estéril, se taparon con tapones de algodón estériles y se agitaron uniformemente, se incubaron a 30°C durante 2, 4, 6, 8, 10, 12 y 14 días.

Las muestras obtenidas siguieron la metodología del acápite 3. 4. 5. para la obtención de harina de quinua fermentada.

3. 4. 4. Fermentación en estado sólido II:

Los experimentos se realizaron utilizando el diseño Box-Behnken con tres variables independientes (Tabla 9) incluyendo 14 corridas (Tabla 10). La FES se realizó en matraces de 250 mL donde se adicionaron 30 g de granos de quinua, glutamato monosódico, cloruro de sodio y 25 mL de agua destilada. Se ajustó el pH y se esterilizó a 121°C y 15 psi durante 15 min. Transcurrido el tiempo se retiraron los matraces del autoclave, se agitaron y se dejó enfriar a temperatura ambiente. Se inocularon con 1000 µL de suspensión de esporas (1.0×10^6 esporas/mL) a cada matraz con sustrato estéril, se taparon con tapones de algodón y se agitaron uniformemente, se incubaron a 30°C durante el tiempo de fermentación con el mejor resultado.

3. 4. 5. Obtención de harina de quinua fermentada

Los granos de quinua fermentados se secaron en una estufa a 60°C durante 24 h donde alcanzó el peso constante (Srianta *et al.*, 2016). Luego se molieron para obtener harina fermentada y pigmentada.

3.5. METODOLOGÍA ANALÍTICA

3.5.1 Análisis por colorimetría de las muestras de harina

El color de las harinas de quinua fermentada y pigmentadas rojas se analizó a 25°C con un colorímetro CM-5 (Minolta Camera Co., Osaka, Japón), con una fuente de luz D65 y un ángulo de observación de 10°. Se calibró con una placa blanca estándar antes de tomar las medidas siguiendo las instrucciones del fabricante. Se realizó una lectura (disparo) por cada muestra colocada dentro de la placa Petri, siendo cuatro muestras por tratamiento. Las determinaciones fueron hechas en el espacio de color CIELAB (L^* , a^* , b^*) y los resultados se expresaron como L^* (luminosidad) de 0 (negro) a 100 (blanco); a^* de $-a^*$ (verde) a $+a^*$ (rojo) y b^* de $-b^*$ (azul) a $+b^*$ (amarillo). Croma (saturación o intensidad del color; 0 - color impuro y 60 - color puro) y el Ángulo de matiz (0° rojo; 90° amarillo; 180° verde; 270° azul y 360° negro). Los valores de croma (C^*) y ángulo de matiz ($^{\circ}h$) se calcularon de la siguiente manera (Huang *et al.*, 2021):

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

$$\text{Ángulo de matiz } (^{\circ}h) = \arctan\left(\frac{b^*}{a^*}\right)$$

3.5.2 Determinación de materia seca

Se pesó 1g de muestra de harina y se procedió a secar en una estufa a 105°C durante 3 horas, luego se llevó a un desecador por 20 minutos y finalmente se pesó la muestra seca en una balanza analítica. La fórmula para calcular la materia seca fue la siguiente (AOAC, 1990):

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

3.5.3 Determinación de humedad

El contenido de humedad cumple la siguiente fórmula (AOAC, 1990):

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

3.5.4 Determinación de cenizas

La muestra proveniente de la determinación de materia seca se introdujo en un horno mufla y se incineró completamente la materia orgánica a 550°C durante 3 horas, luego se llevó a un desecador para enfriar la muestra durante 20 minutos y se pesó en una balanza analítica. Se usó la siguiente fórmula (AOAC, 1990):

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

3.5.5 Determinación de grasa

Se pesaron 3g de muestra de harina en cartuchos de celulosa, se cubrió con algodón hidrófilo y se llevó al equipo Soxhlet donde previamente se adicionaron 50 mL de éter de petróleo en el vaso de aluminio secado y pesado. Se realizó el proceso de extracción de grasa durante 60 minutos a una temperatura de 110°C, seguidamente se evaporó el solvente y las muestras se llevaron a una estufa a 105°C durante 8 horas para eliminar los residuos de éter, transcurrido el tiempo se dejó enfriar el vaso en el desecador durante 20 minutos, luego se pesó en la balanza analítica. Para la determinación de la grasa se utilizó la siguiente fórmula (AOAC, 1990):

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

3.5.6 Determinación de proteína

Se pesaron en un tubo de digestión 0.2g de muestra seca de harina y se adicionaron una pastilla catalizadora con 7 mL de ácido sulfúrico concentrado, se llevó a realizar la digestión en tres etapas hasta alcanzar 400°C durante 150 minutos, terminada la fase de digestión, se dejó enfriar a temperatura ambiente y se pasó a la fase de destilación luego a la fase de titulación con HCl 0.1N.

El cálculo de proteína fue el siguiente (AOAC, 1990):

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

Donde:

V2= Volumen (mL) de la solución de HCl gastado por muestra

V1= Volumen (mL) de la solución de HCl gastado para el blanco

N= Normalidad de la solución de HCl al 0.1

F= Factor de conversión relacionado la cantidad de nitrógeno presente en los aminoácidos de las proteínas de la harina.

P= Peso de la muestra

3.5.7 Determinación de carbohidratos

La determinación de carbohidratos se calculó por diferencia (Delgado-García *et al.*, 2022) tanto para las muestras fermentadas y sin fermentar siguiendo la siguiente fórmula:

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

3.5.8 Determinación de la capacidad de absorción de agua (CAAg)

Se siguió la metodología de Elkhalfa & Bernhardt (2010) donde se pesó un gramo de muestra de harina en un tubo de centrifuga de 50 mL de capacidad previamente pesado, luego se adicionaron 10 mL de agua destilada a 25°C. La muestra se llevó a un agitador vortex por un minuto, se dejó reposar 30 minutos, luego se centrifugó a 10000 rpm durante 25 minutos. Transcurrido el tiempo se invirtió el tubo de centrifuga para decantar el exceso de agua sobre papel absorbente y se dejó drenar durante 5 minutos. La capacidad de absorción de agua se expresó como el peso ganado por gramo de muestra (g/g).

3.5.9 Determinación de la capacidad de absorción de aceite (CAAc)

La capacidad de absorción de aceite de cada muestra de harina de quinua se evaluó de manera similar que la capacidad de absorción de agua (Elkhalfa & Bernhardt, 2010), con la diferencia de que en lugar de agua se utilizaron 10 mL de aceite de girasol refinado. La capacidad de absorción de aceite se expresó como el peso ganado por gramo de muestra (g/g).

3.5.10 Determinación de la actividad emulsionante (AE) y estabilidad (EEm)

Se siguió el método de Elkhalfa & Bernhardt (2010), donde la emulsión se preparó en un tubo de centrifuga graduado de 50 mL, con 2 g de harina de quinua roja fermentada, 20 mL de aceite de girasol refinado y 20 mL de agua destilada (4°C), se agitó en vortex por 1 minuto, luego se centrifugó a 10000 rpm durante 10 minutos. Después de la centrifugación se midió la actividad de la emulsión utilizando la siguiente fórmula:

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

La estabilidad de la emulsión se midió luego de calentar a 80°C durante 30 minutos cada muestra anteriormente evaluada, luego se enfrió a temperatura ambiente (25°C) durante 20 minutos. Finalmente, los tubos se centrifugaron nuevamente a 10000 rpm durante 10 minutos. Para calcular la estabilidad emulsificante se utilizó la siguiente fórmula:

$$\text{EEm (\%)} = \frac{\text{altura de la capa de emulsión después de calentar}}{\text{altura de toda la capa}} \times 100$$

3.5.11 Determinación de la capacidad de formación de espuma (CFE) y estabilidad (EEs)

Se siguió el método de Elkhalfa & Bernhardt (2010) para la determinación de la capacidad espumante de las muestras, se pesaron 2 g y se transfirieron a una licuadora eléctrica, luego se adicionaron 100 mL de agua destilada (25°C), la suspensión se mezcló durante 1 minuto a temperatura ambiente. El contenido se transfirió inmediatamente a una probeta graduada de 250 mL y se registró el volumen de la espuma. La capacidad de formación de espuma se expresó como el aumento porcentual en volumen utilizando la siguiente fórmula:

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

La estabilidad de la espuma se determinó monitoreando la caída del volumen de la espuma en función del tiempo durante 60 minutos, se expresó utilizando la siguiente fórmula:

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

3.6 DISEÑO EXPERIMENTAL Y ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El diseño Box-Behnken comprende un conjunto específico de las combinaciones factoriales de 3k, además los puntos experimentales se sitúan en una hiperesfera equidistante del punto central. A su vez es muy utilizado en los procesos alimentarios por su diseño económico (Yolmeh & Jafari, 2017).

El diseño experimental se detalla en la Figura 8, donde la obtención de harina de quinua roja por fermentación en estado sólido suplementada con cloruro de sodio y glutamato monosódico por *M. purpureus* se realizó en tres etapas.

En la primera etapa se determinó el tiempo de fermentación realizando la fermentación en estado sólido I (acápice 3. 4. 3.) donde los factores fueron cloruro de sodio (0.05, 0.1, 0.2 y 0.4%) y días de fermentación (2, 4, 6, 8, 10, 12 y 14) con n=4 por cada día, es decir que por tiempo de fermentación, se tenían un total de 16 muestras para analizar las variables respuestas que fueron L*, a*, b*, C* y h° donde los resultados obtenidos se evaluaron mediante Análisis de varianza (ANOVA) multifactorial con un $\alpha = 0.05$ con el software R (versión 4.3.1, R Foundation for Statistical Computing, Viena, Austria).

En la segunda etapa se obtuvo la mejor harina de quinua fermentada por *M. purpureus* siguiendo el diseño Box-Behnken como se muestra en la Tabla 9 y 10 para la fermentación en estado sólido II (acapice 3. 4. 4.) con un n=3. Se realizó la optimización de las variables respuestas L*, a*, b*, C* y h° para el mejor tiempo de fermentación.

Todos los resultados obtenidos de las variables respuesta (L*, a*, b*, C* y h°) se evaluaron mediante Análisis de varianza (ANOVA) con un $\alpha = 0.05$ con el software R (versión 4.3.1, R Foundation for Statistical Computing, Viena, Austria).

Tabla 9: Valores máximos y mínimos de tres factores en el diseño Box-Behnken para la obtención de la mejor harina de quinua roja en el menor tiempo de fermentación.

Factor	Nivel bajo	Nivel medio	Nivel alto
Nivel de pH	5	6	7
Cloruro de sodio (%) p/p	0.05	0.10	0.15
Glutamato monosódico (%) p/p	0.5	1.0	1.5

Se utilizó un modelo de regresión polinómica de segundo orden, donde los términos no significativos ($p > 0.05$) se eliminaron del modelo. El modelo es el que se muestra a continuación:

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

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 .

Tabla 10: Matriz de diseño experimental Box-Behnken para las tres variables independientes con valores reales y codificados utilizados para la obtención de la mejor harina de quinua roja en el menor tiempo de fermentación

Corrida	Valores reales			Valores codificados		
	Nivel de pH	Cloruro de sodio (%)	Glutamato monosódico (%)	Nivel de pH	Cloruro de sodio	Glutamato monosódico
1	6	0.05	0.5	0	-1	-1
2	5	0.15	1.0	-1	+1	0
3	7	0.10	1.5	+1	0	+1
4	6	0.15	0.5	0	+1	-1
5	6	0.15	1.5	0	+1	+1
6	6	0.10	1.0	0	0	0
7	6	0.10	1.0	0	0	0
8	5	0.05	1.0	-1	-1	0
9	7	0.10	0.5	+1	0	-1
10	5	0.10	0.5	-1	0	-1
11	5	0.10	1.5	-1	0	+1
12	6	0.05	1.5	0	-1	+1
13	7	0.15	1.0	+1	+1	0
14	7	0.05	1.0	+1	-1	0

En la tercera etapa se evaluaron las características tecnofuncionales y composición proximal a la muestra del mejor tratamiento obtenida de la segunda etapa y al control. Los resultados obtenidos por triplicado se evaluaron mediante One-Way (ANOVA) con un $\alpha = 0.05$ con el software R (versión 4.3.1, R Foundation for Statistical Computing, Viena, Austria).

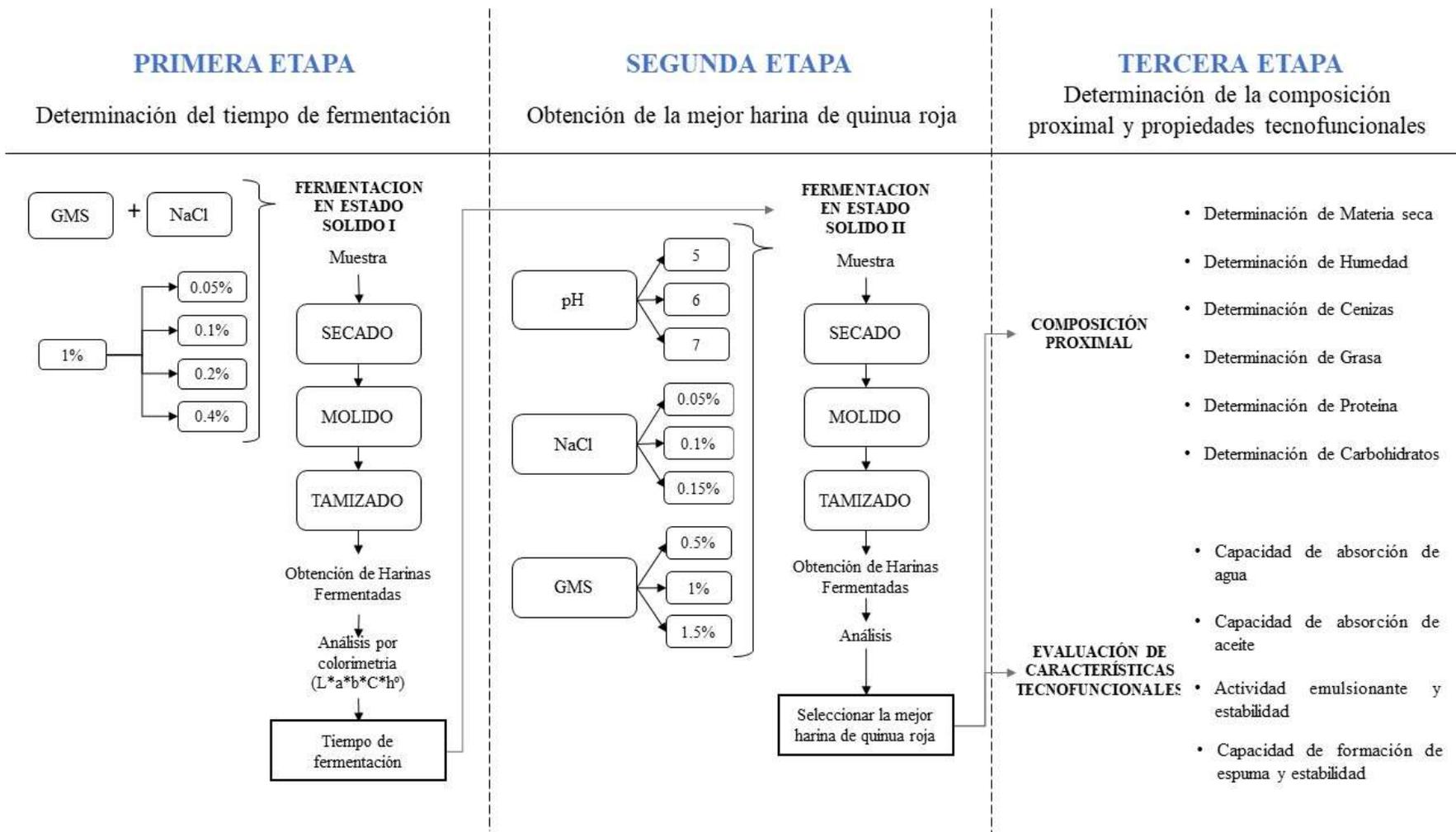


Figura 8: Etapas del diseño experimental para obtener harina de quinua roja por fermentación en estado sólido suplementada con cloruro de sodio y glutamato monosódico por *M. purpureus*.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. DETERMINACIÓN DEL TIEMPO DE FERMENTACIÓN POR *M. purpureus*

La variable L* (luminosidad) varía desde 0 (negro) a 100 (blanco), los valores se obtuvieron a los días 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12 y 14 como se muestran en la Tabla 11 donde los resultados presentan diferencias significativas ($p < 0.05$), obteniéndose al día 0 una media de 64.24 ± 1.457 debido a que al inicio del proceso de fermentación los granos de quinua son más cercanos al color blanco debido a que aún no presentan invasión fúngica, sin embargo, al transcurrir los días los valores de L* disminuyen debido a que la quinua está siendo invadida con mayor velocidad mostrando diferencias significativas en los días 0, 2, 4 y 6, mientras que en los días 8, 10, 12 y 14 las medias no presentan diferencias significativas. Esto debido a que el crecimiento de *Monascus* aumenta hasta el día 6, luego ocurre la fase estacionaria hasta el día 12 y a partir del día 14 comienza la fase de muerte (Puspitadewi *et al.*, 2016).

Tabla 11: Efecto del tiempo (día) sobre L*, a*, b*, C* y h° durante 14 días de fermentación.

Día	L*	a*	b*	C*	h°
0	64.24 ± 1.457^e	6.52 ± 0.290^a	27.72 ± 0.205^e	28.48 ± 0.237^{bcd}	76.78 ± 0.533^e
2	61.34 ± 1.650^d	7.80 ± 0.408^b	27.78 ± 0.632^e	28.85 ± 0.706^{cde}	74.33 ± 0.515^d
4	55.93 ± 2.200^c	14.25 ± 0.868^c	25.65 ± 0.984^d	29.35 ± 1.091^e	60.94 ± 1.420^c
6	49.14 ± 2.725^b	19.33 ± 1.026^{ef}	21.99 ± 1.442^c	29.31 ± 1.058^{de}	48.65 ± 2.753^b
8	45.95 ± 2.334^a	19.79 ± 1.064^f	20.28 ± 0.857^b	28.35 ± 0.937^{bc}	45.71 ± 2.031^a
10	46.33 ± 1.950^a	19.17 ± 0.985^{ef}	19.99 ± 1.079^b	27.72 ± 0.740^b	46.19 ± 2.585^a
12	46.13 ± 2.819^a	18.50 ± 1.211^{de}	18.75 ± 0.770^a	26.36 ± 0.986^a	45.42 ± 2.271^a
14	46.97 ± 2.335^a	17.93 ± 0.865^d	18.95 ± 0.999^a	26.10 ± 0.807^a	46.57 ± 2.304^{ab}

Los valores de la variable a^* oscilan entre $[-100, 100]$, si es positivo se correlaciona con el color rojo y si es negativo se correlaciona con el color verde (Yee *et al.*, 2023). Todos los valores obtenidos presentaron una media positiva (Tabla 11) cuando se evaluó el efecto del tiempo sobre a^* durante los días 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12 y 14 con un $p < 0.05$ mostrando que existen diferencias significativas, donde los valores oscilan entre 6.516 ± 0.2902 a 19.79 ± 1.064 correspondientes al día 0 y 8 respectivamente, como es de esperarse el valor más bajo es al día 0, porque los granos de quinua aún no han sido invadidos por *Monascus*, mientras que al día 8 el valor es mayor posiblemente debido a que la producción de pigmentos rojos por parte del hongo producto de la fermentación es máxima.

Los valores de b^* oscilan entre $[-100, 100]$ y se tendrá tendencia al amarillo y azul si el valor es positivo y negativo respectivamente (Yee *et al.*, 2023). En la Tabla 11 las medias presentaron diferencias significativas cuando se analizaron con un $p < 0.05$, además se observa que todos los valores son positivos en el rango 18.75 ± 0.7701 a 27.78 ± 0.6318 es decir presentan una tendencia al amarillo siendo mayor en los primeros días de fermentación y disminuyendo a medida que transcurren los 14 días, este comportamiento se puede explicar debido a que al inicio (ver acápite 3.4.3.) el sustrato de quinua pasa por un proceso de esterilización por vapor a una presión de 15 lb durante 15 minutos cambiando ligeramente el color blanco inicial por un color más amarillo a simple vista luego del proceso de esterilización, pero a medida que el hongo fermenta el sustrato sólido ya no se observa el color inicial de la quinua.

Croma (C^*) es considerado como la fuerza de color o pureza, mientras sea poco el valor será apagado, blanco o gris, por otro lado, si el croma es mayor será más vibrante debido a que se acerca al exterior del eje a^* o b^* (McGrath *et al.*, 2017). En la Tabla 11, los resultados de las medias oscilan entre 26.1 hasta 29.35 donde presentan diferencias significativas al evaluar el efecto del tiempo sobre C^* durante los 14 días de fermentación; los valores más altos corresponden a los primeros días 2, 4 y 6, mientras que los valores más bajos corresponden a los días 12 y 14. Estos resultados demostrarían que a medida que ocurre la fermentación del sustrato sólido, el croma es menos puro, menos vibrante, es decir más apagado.

El ángulo de tono (h°) es el indicador de color medido en el perímetro de la rueda de colores (ejes a^* y b^*) (McGrath *et al.*, 2017), donde 0° corresponde al eje $+a^*$ y 90° corresponde al eje $+b^*$, entonces en la Tabla 11 se observa que al evaluar el efecto del tiempo sobre h° durante los 14 días de fermentación se tienen diferencias significativas ($p < 0.05$), al día 0 la media de h° es 76.78 ± 0.5331 presentando una tonalidad más cercana a amarilla y ello se debe posiblemente al pardeamiento por esterilización al vapor con presión de los granos de quinua. Al día 2 la media es 74.33 ± 0.5151 , menor al día 0 donde el h° disminuyó debido a que el hongo muy ligeramente empezó a invadir el sustrato con micelio de color blanco. Al día 4 con media 60.94 ± 1.42 el hongo ya invadió el sustrato donde se evidenció el color blanco del micelio en gran parte de la superficie de los granos de quinua. Al día 6 se obtuvo una media de 48.65 ± 2.753 donde se observó pigmento rojo en gran parte del sustrato. Al día 8, 10, 12 y 14 no se evidenciaron diferencias significativas en las medias de h° y los valores fueron los menores reportados dando a entender que la tonalidad roja aumentó y se corroboró visualmente con una mayor producción de pigmentos rojos.

La interacción de Día x NaCl presenta diferencias significativas con un $p < 0.05$ (Anexo 1), si bien los valores más altos oscilan entre 61.91 a 66.08 correspondiente al día 2 con 0.1% y al día 0 con 0.2 % de NaCl respectivamente, ello indica que las muestras de harina en proceso de fermentación están más cerca al color blanco debido a que el hongo aun no invade el sustrato por ende no produjo pigmentos en el inicio de la fermentación, situación similar se observa en la Tabla 11; por otro lado los menores valores de medias van desde 43.66 hasta 48.48 que corresponde al día 12 con 0.1% y día 8 con 0.05% de NaCl respectivamente, esto indicaría que las muestras son menos blancas que al inicio del proceso debido a que el hongo ya invadió el sustrato de quinua. La interacción de ambos factores se complementa con la Figura 9A.

En la Figura 9A se observa como la variable luminosidad desciende a medida que ocurre el proceso de fermentación de los granos de quinua con *M. purpureus*, desde el día 0 hasta el día 8 se mostraron diferencias significativas (Tabla 11), a partir del día 8 hasta el día 14 no se presentaron diferencias significativas. Por lo tanto, se eligió el día 8 para hacer la comparación de medias de las diferentes concentraciones de NaCl (Tabla 12).

Se observan las medias del efecto de la interacción de NaCl x Día al evaluar a^* durante los 14 días de fermentación donde los valores más bajos que oscilan entre 6.076 a 8.247

comprenden a los cuatro niveles de NaCl de los días 0 y 2 donde no presentan diferencias significativas, los datos al ser positivos tienen tendencia al rojo sin embargo son valores muy bajos que se puede deber a que en los primeros días de la fermentación la producción de pigmentos rojos no es perceptible, por otro lado los valores más altos de las medias oscilan entre 17.98 a 20.47 que abarcan principalmente a los cuatro niveles de NaCl de los días 6, 8 y 10 (Anexo 2). Este comportamiento se observa en la Figura 9B donde se observa que la variable a^* asciende a medida que los días de fermentación transcurren, como se mencionó en la descripción de la Tabla 11, los días 0 y 2 presentaron diferencias significativas, así como cuando se compara entre el día 2 y 4 si hay diferencias significativas con un incremento exponencial debido a que a partir del día 4 el hongo *Monascus* empieza a producir una mayor cantidad de pigmentos como metabolito secundario, luego comparando los días 4 y 6 también existe diferencias significativas quiere decir que la producción de pigmentos está aumentando y eso se ve reflejado cuando se mide por colorimetría las muestras de harina pigmentada; más adelante cuando se comparan los días 6, 8 y 10 se observan que no existen diferencias significativas siendo estos días los que presentan las medias más altas que el resto de días de fermentación, luego hay una ligera disminución de a^* para ciertas concentraciones de NaCl en los días 12 y 14, esto puede deberse a otros factores no analizados en esta primera etapa como el efecto de la exposición prolongada a la temperatura de 30°C.

En el análisis de los valores obtenidos sobre el efecto de la interacción de NaCl x Día las medias presentan diferencias significativas, como se esperaba, los valores más altos corresponden a los días 0 y 2, y los resultados más bajos corresponden a los días 12 y 14 como se observó en la Tabla 11 (Anexo 3). El comportamiento de la variable estudiada se complementa con la Figura 9C.

En la Figura 9C (Anexo 3) se corrobora el comportamiento de b^* , señalado en la comparación de datos donde los días que presentan la mayor tendencia a amarillo es principalmente en los días 0 y 2, y menor en los últimos dos días de evaluación 12 y 14, sin embargo comparando la concentración de 0.05% de los días 12 y 14 muestran que no tienen diferencias significativas al día 8 a la misma concentración, permitiendo así elegir este día para el siguiente análisis (Tabla 12) siendo conveniente ya que anteriormente se analizaron las variables L^* y a^* al día 8.

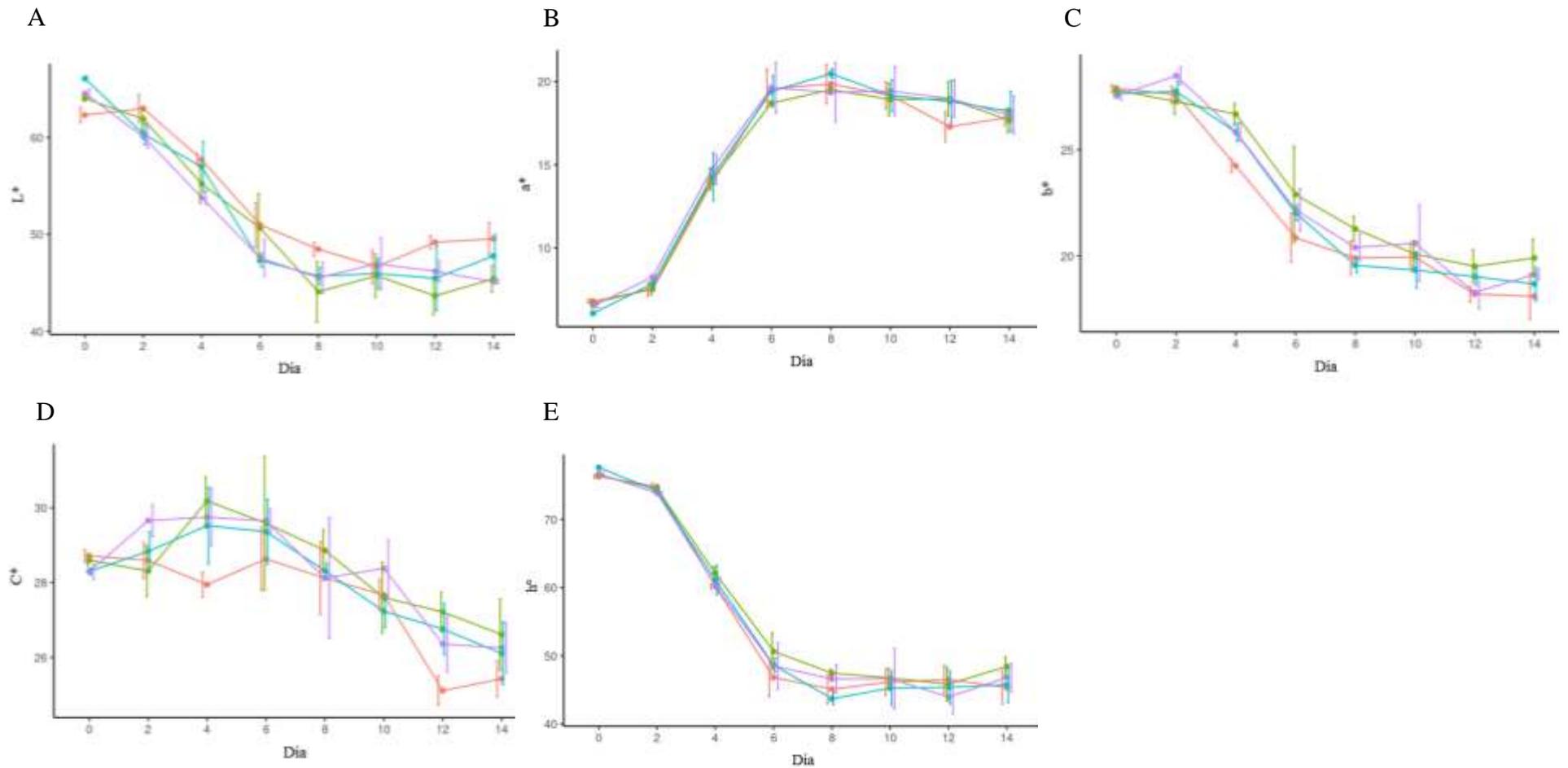


Figura 9: Comportamiento de L* (A), a* (B), b* (C), C*(D) y h°(E) a diferentes concentraciones de NaCl (● 0.05%, ● 0.1%, ● 0.2% y ● 0.4%) por día durante 14 días de fermentación.

La interacción de NaCl x Día sobre croma durante los 14 días de fermentación por *Monascus* presentaron diferencias significativas con un $p < 0.05$. Los primeros días presentaron valores de croma más altos, es decir que la fermentación inicia con un croma más vibrante y a medida que transcurre el tiempo (días 12 y 14) suele ser más apagado, estos resultados fueron similares cuando se analizó solo el efecto de NaCl (Tabla 11, Anexo 4).

En la Figura 9D se observa el comportamiento de C^* durante los días de fermentación, al inicio (día 0) las muestras inoculadas no mostraron diferencias significativas, así como en el día 2, mientras que al día 4 se observó diferencias del croma cuando se comparó entre los cuatro niveles de concentración de NaCl, y la tendencia es disminuir a medida que ocurre la fermentación hasta que llega al día 12 y 14 donde ambos no mostraron diferencias significativas cuando se compararon las concentraciones 0.05, 0.1, 0.2 y 0.4% de sal. Debido a que el C^* presentó mayor variación respecto a las variables ya estudiadas previamente (L^* , a^* y b^*) y no ser determinante para la elección de la mejor harina es que se eligió continuar con el análisis al día 8 (Tabla 12), además de que en la Tabla 11 las medias de croma de los días 8 y 10 no presentaron diferencias significativas entre ambos.

Al evaluar el efecto de la interacción de NaCl x Día sobre la variable h° se observa que en los primeros días 0 y 2 no hay diferencias significativas ($p > 0.05$) en los cuatro niveles de sal 0.05, 0.1, 0.2 y 0.4% donde el ángulo de tono es cercano a 90° , esto es una tonalidad amarilla. Mientras que en los últimos días este valor disminuye a un rango entre 43.69 a 48.64 dando una tonalidad roja-amarilla. El comportamiento de la variable h° se observa en la Figura 9E (Anexo 5) al evaluar los niveles de NaCl durante los 14 días de fermentación con una disminución abrupta entre el día 2 al 6 cambiando de tonalidad amarilla a rojo-amarilla respectivamente. Esta disminución de h° ya no se presenta en los días 8, 10, 12 y 14 por lo tanto se eligió para el siguiente análisis el día 8 ya que no mostró diferencias significativas con los siguientes días mencionados.

En la Tabla 12 se observan las medias de la concentración de NaCl analizadas al día 8, con un $p < 0.05$ estos resultados indican que existen diferencias significativas cuando se compara el valor de luminosidad más alto 48.48 ± 0.7133 con el valor más bajo 44.09 ± 3.146 que corresponden a las concentraciones de 0.05 y 0.1 respectivamente. Ambas concentraciones pertenecen a los niveles más bajos de NaCl siendo conveniente debido a que se economiza la adición de este suplemento al proceso fermentativo.

Tabla 12: Efecto del NaCl sobre L*, a*, b*, C* y h° en el día 8.

NaCl (%)	L*	a*	b*	C*	h°
0.05	48.48 ± 0.713 ^b	19.85 ± 1.174 ^a	19.9 ± 0.775 ^a	28.12 ± 0.974 ^a	45.09 ± 2.098 ^{ab}
0.1	44.09 ± 3.146 ^a	19.51 ± 0.198 ^a	21.26 ± 0.592 ^b	28.86 ± 0.553 ^a	47.46 ± 0.573 ^b
0.2	45.70 ± 0.890 ^{ab}	20.47 ± 0.289 ^a	19.56 ± 0.349 ^a	28.32 ± 0.199 ^a	43.69 ± 0.823 ^a
0.4	45.53 ± 1.615 ^{ab}	19.35 ± 1.780 ^a	20.39 ± 0.638 ^{ab}	28.12 ± 1.617 ^a	46.59 ± 2.042 ^{ab}
Pr(>F)	0.0373	0.4918	0.0101	0.6913	0.0228

Se eligió comparar el efecto de NaCl sobre a* al día 8 (Tabla 12) considerando los resultados provenientes de la Tabla 11 donde se obtuvo el mayor valor de media de a* 19.79 ± 1.064 al día 8 como uno de los días con mayor producción de pigmentos. Se observó que en este día no existen diferencias significativas comparando las medias de la sal al evaluar la variable a*, por lo tanto, es preferible considerar el nivel más bajo (0.05 %) ya que produce el mismo efecto que las concentraciones 0.1, 0.2 y 0.4 %.

El efecto del NaCl sobre b* presenta diferencias significativas cuando se comparan las medias en el día 8 (Tabla 12) la menor tendencia al amarillo es menor con las concentraciones de 0.05, 0.2 y 0.4, así que se consideró la concentración más baja (0.05%) debido a que tiene el mismo efecto.

El efecto de la sal sobre el croma al día 8 no resultó significativo cuando se compararon las cuatro concentraciones con un $p < 0.05$, por lo tanto, el nivel elegido 0.05% de NaCl resulta más conveniente para el proceso de fermentación debido a que los resultados son similares (Tabla 12).

El efecto de la sal sobre h° fue evaluado al día 8 como se muestra en la Tabla 12, donde las medias mostraron diferencias significativas ($p < 0.05$), encontrándose en el rango de 43.69 a 47.46. Sin embargo, las concentraciones 0.05, 0.2 y 0.4% no presentaron diferencias, así que una buena elección sería a la concentración de 0.05% ya que presenta el mismo efecto con una tonalidad roja- amarilla de las muestras fermentadas.

Según los resultados de L^* , a^* , b^* , C^* y h° obtenidos del análisis colorimétrico de las muestras de harinas rojas provenientes de la fermentación en estado sólido por *M. purpureus* sobre granos de quinua suplementados con cloruro de sodio y glutamato monosódico, se determinó que el mejor tiempo de fermentación corresponde al día 8. Una investigación similar fue realizada por Monteiro *et al.* (2021) donde obtuvieron harina roja por FES de granos de trigo modificado por *M. ruber* durante 14 días de incubación a 30°C, con el de pigmentos rojos por *Monascus* es el arroz, donde Shetty *et al.* (2021) realizaron este proceso propósito de utilizar la harina fermentada en sustitución parcial al 5, 10 y 15% para la elaboración de panes.

Con respecto al tiempo de fermentación otras investigaciones prefirieron utilizar el sustrato en harina o polvo para la producción de pigmentos rojos por *M. purpureus* en FES como Keivani & Jahadi, (2022) quienes usaron harina de soja en FES durante un tiempo de incubación de 21 días y Babitha *et al.* (2007) quienes investigaron sobre la viabilidad de utilizar harina de semilla de jaca como sustrato en FES en un periodo de investigación de 7 días, produciendo un sustrato con pigmentos estables posiblemente a la naturaleza amortiguadora del sustrato teniendo un buen alcance en aplicaciones alimentarias.

Sin embargo, otras investigaciones se centran en utilizar subproductos de la industria alimentaria por su bajo costo y luego extraen los pigmentos rojos producidos por *M. purpureus* en FES, como en el estudio de Velmurugan *et al.* (2011) que consistió en utilizar mazorca de maíz y evaluaron el rendimiento de pigmentos rojos durante 11 días siendo el de mejor resultado el tiempo de fermentación de 7 días. Además, Chen *et al.* (2021) utilizaron orujo de papa en polvo en un tiempo de incubación de 7 días, donde se observó un intenso color rojo purpura.

Se conoce que tradicionalmente el sustrato más utilizado en FES para la producción en un tiempo de fermentación de 10 días.

El tiempo de fermentación es importante ya que su aumento o disminución pueden provocar una mala calidad del producto de interés (Muthumani & Kumar, 2007). Por lo tanto, en esta primera etapa de la investigación se determinó que el tiempo de fermentación de 8 días es cercano a los reportados por investigaciones que se centran en la FES de sustratos ya sea

para su aplicación completa o parcial como harina, o para la extracción de pigmentos rojos y ser aplicados en la industria alimentaria.

4. 2. OPTIMIZACIÓN DE PARÁMETROS DE COLOR PARA LA OBTENCIÓN DE LA MEJOR HARINA DE QUINUA ROJA A DIFERENTES NIVELES DE PH, CONCENTRACIONES DE CLORURO DE SODIO Y GLUTAMATO MONOSÓDICO

A partir de los resultados de las muestras incubadas por 8 días se empleó el DBB para tres niveles de los factores: pH, NaCl y GMS con un total de 14 corridas por triplicado que fueron realizadas en orden aleatorio, como se observa en la Tabla 13.

Los resultados presentados en la Tabla 13 varían entre 47.22 a 54.77; 19.22 a 26.12; 17.34 a 20.15; 26.46 a 31.66 y 33.62 a 43.42 para L*, a*, b*, C* y h° respectivamente. Los valores observados para cada variable dependiente se ajustaron a un modelo polinómico de segundo orden que se muestra en la Tabla 14.

Tabla 13: Diseño Box-Behnken de tres factores: pH, NaCl (% p/p) y GMS (% p/p) y resultados de L*, a*, b*, C* y h° para la obtención de la mejor harina roja por fermentación de *M. purpureus*.

Corrida	pH	NaCl (%)	GMS (%)	L*	a*	b*	C*	h°
1	5	0.05	1.0	48.40 ± 1.081	19.22 ± 0.379	18.18 ± 0.097	26.46 ± 0.261	43.42 ± 0.630
2	5	0.10	0.5	49.16 ± 0.900	26.12 ± 0.217	17.52 ± 0.261	31.46 ± 0.253	33.86 ± 0.411
3	5	0.10	1.5	54.77 ± 0.707	21.98 ± 0.240	19.48 ± 0.410	29.38 ± 0.433	41.55 ± 0.394
4	5	0.15	1.0	52.82 ± 0.217	21.31 ± 0.347	19.19 ± 0.210	28.68 ± 0.401	42.00 ± 0.159
5	6	0.05	0.5	48.92 ± 0.230	26.08 ± 0.315	17.34 ± 0.495	31.33 ± 0.055	33.62 ± 1.068
6	6	0.05	1.5	53.49 ± 0.285	22.69 ± 0.291	18.53 ± 0.149	29.30 ± 0.141	39.25 ± 0.579
7	6	0.10	1.0	54.14 ± 0.121	25.04 ± 0.240	19.09 ± 0.173	31.49 ± 0.092	37.33 ± 0.513
8	6	0.10	1.0	54.12 ± 0.393	25.01 ± 0.211	19.40 ± 0.368	31.66 ± 0.391	37.81 ± 0.294
9	6	0.15	0.5	52.80 ± 0.837	24.49 ± 0.616	18.21 ± 0.386	30.52 ± 0.712	36.64 ± 0.250
10	6	0.15	1.5	53.87 ± 0.196	21.62 ± 0.529	20.15 ± 0.064	29.56 ± 0.372	43.00 ± 0.745
11	7	0.05	1.0	47.22 ± 0.497	22.81 ± 0.066	18.20 ± 0.198	29.18 ± 0.080	38.59 ± 0.377
12	7	0.10	0.5	51.45 ± 1.404	25.07 ± 0.385	18.16 ± 0.222	30.96 ± 0.232	35.93 ± 0.699
13	7	0.10	1.5	52.45 ± 1.555	24.03 ± 0.227	19.58 ± 0.235	31.01 ± 0.318	39.18 ± 0.165
14	7	0.15	1.0	50.49 ± 0.031	21.65 ± 0.295	19.33 ± 0.361	29.04 ± 0.454	41.76 ± 0.230

Tabla 14: Modelo cuadrático de las variables respuesta L*, a*, b*, C* y h°

Modelo cuadrático	R ²
$L^* = -60.81 + 30.55(\text{pH}) + 231.15(\text{NaCl}) + 20.38(\text{GMS}) - 830.93(\text{NaCl})^2 - 2.39(\text{pH})^2 - 2.30(\text{pH})(\text{GMS}) - 35.10(\text{GMS})(\text{NaCl})$	89.29%
$a^* = -38.57 + 267.58(\text{NaCl}) + 19.86(\text{pH}) - 19.16(\text{GMS}) - 871.83(\text{NaCl})^2 - 1.60(\text{pH})^2 + 3.50(\text{GMS})^2 - 16.25(\text{NaCl})(\text{pH}) + 1.55(\text{pH})(\text{GMS})$	92.91%
$b^* = 6.68 + 30.13(\text{NaCl}) + 2.48(\text{pH}) + 3.78(\text{GMS}) - 130.50(\text{NaCl})^2 - 0.20(\text{pH})^2 - 1.45(\text{GMS})^2 + 7.57(\text{NaCl})(\text{GMS})$	90.30%
$C^* = -25.86 + 225.42(\text{NaCl}) + 16.92(\text{pH}) - 11.48(\text{GMS}) - 751.83(\text{NaCl})^2 - 1.36(\text{pH})^2 + 1.93(\text{GMS})^2 - 11.87(\text{NaCl})(\text{pH}) + 1.06(\text{pH})(\text{GMS})$	90.18%
$h^\circ = +97.16 - 291.30(\text{NaCl}) - 21.00(\text{pH}) + 32.08(\text{GMS}) + 874.50(\text{NaCl})^2 + 1.69(\text{pH})^2 - 6.51(\text{GMS})^2 + 22.95(\text{NaCl})(\text{pH}) - 2.22(\text{pH})(\text{GMS})$	93.39%

El análisis de varianza (ANOVA) de cada modelo cuadrático obtenido a partir del DBB con los términos lineales, cuadráticos y/o sus interacciones que mostraron diferencias significativas ($p < 0.05$) se consideraron para las ecuaciones mostradas en la Tabla 14 (Anexos 6-10), los demás términos no significativos se eliminaron del modelo. Además, para cada modelo cuadrático se observa el coeficiente de determinación (R^2) que establece el porcentaje de la variabilidad de los resultados que es explicado por el modelo cuadrático respectivo.

Posteriormente, se utilizó el método de superficie respuesta (MSR) que es metodología muy eficaz, confiable y rápida que sirve para evaluar la importancia de múltiples factores y sus interacciones donde se necesitan menos ensayos experimentales en comparación con el estudio de una variable a la vez (Abdel-Raheem *et al.*, 2022; Chang *et al.*, 2002). Cada vez es más utilizado para procesos de optimización en fermentación, con ello obtener el mejor proceso (Zhao *et al.*, 2021; Zhou *et al.*, 2009).

Para la interacción se fija un factor en su nivel central, luego los efectos de interacción de los otros dos factores se describen con los gráficos tridimensionales de superficie respuesta y gráficos de contorno (Wu *et al.*, 2022).

En la Figura 10 se observan los gráficos tridimensionales de superficie respuesta y los gráficos de contorno que muestran el efecto de los tres factores: pH, NaCl y GMS sobre la variable respuesta de Luminosidad (L^*) de las muestras de harina de quinua fermentada. En la Figura 10A el gráfico de contorno se consideró en el nivel central de GMS (1%) para estimar la variable respuesta L^* en función de los factores NaCl y pH. Paralelamente en la gráfica tridimensional de superficie de respuesta se tiene el valor óptimo de GMS igual a 0.17%, donde el factor pH presenta un efecto de tendencia positiva sobre L^* cuando aumenta de 5 a 6, sin embargo la tendencia es negativa cuando los valores de pH siguen aumentando de 6 a 7 produciendo un aumento y una disminución de los valores de L^* respectivamente; respecto al factor NaCl presenta una tendencia positiva ya que cuando aumenta de 0.05 a 0.15% también aumentan los valores de L^* .

En la Figura 10B se graficó considerando el nivel central del factor NaCl (0.1%) con el propósito de estimar la variable L^* en función de las variables independientes pH y GMS. Además, se observa el gráfico de superficie respuesta que muestra el valor óptimo de NaCl igual a 0.14%, donde la variable GMS presenta un efecto positivo sobre L^* a medida que aumenta de 0.5 a 1.5%, mientras que el factor pH muestra que tiene una tendencia positiva a medida que se acerca al valor central y luego es negativa a medida que el valor de pH aumenta a 7.

En la Figura 10C se graficó considerando el nivel central de pH (6) para estimar la variable respuesta L^* en el gráfico de contorno en función de los factores NaCl y GMS. También se observa la gráfica tridimensional de superficie respuesta con el valor óptimo de pH igual a 6.27, donde el factor GMS presenta una tendencia positiva a medida que aumenta de 0.5 a 1.5% para L^* , de igual manera ocurre con el factor NaCl a medida que aumenta de 0.05 a 0.15%.

Por lo tanto, el valor óptimo de L^* fue 53.01 en función de los factores GMS, NaCl y pH con los valores de 0.17%, 0.14% y 6.27 respectivamente.

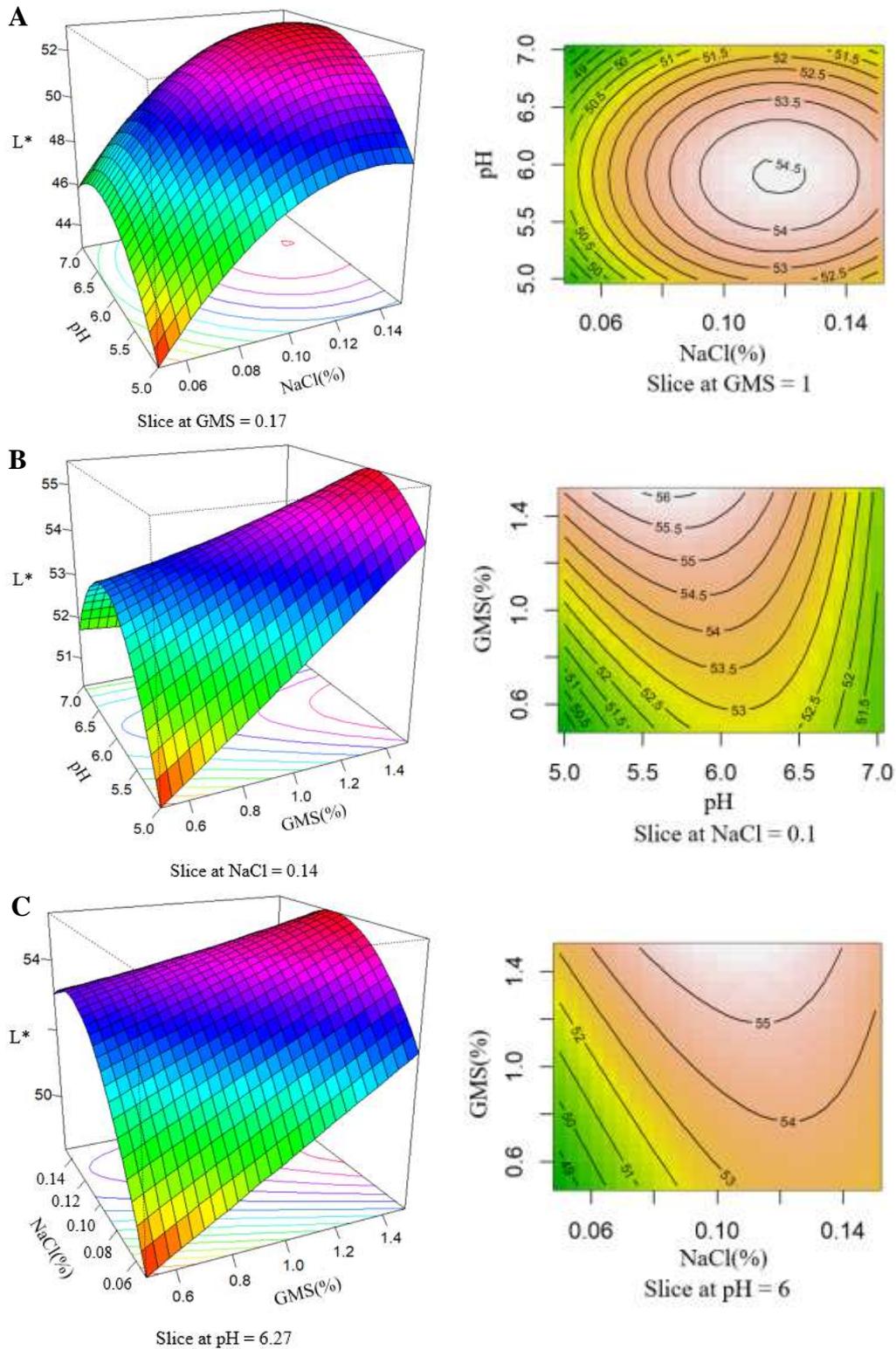


Figura 10: Gráficos de superficie respuesta y gráficos de contorno que muestran los efectos de las variables (pH: potencial de hidrogeno; NaCl: cloruro de sodio; GMS: glutamato monosódico) en la respuesta L*

En la Figura 11 se analizó la optimización de la variable respuesta a^* que representa al color rojo para valores positivos, donde se observan los gráficos tridimensionales de superficie respuesta y los gráficos de contorno que muestran el efecto de los tres factores: pH, NaCl y GMS sobre la variable respuesta de a^* de las muestras de harina de quinua fermentada. En la Figura 11A el gráfico de contorno se analizó en el nivel central de GMS (1%) para estimar la variable respuesta a^* en función de los factores NaCl y pH. Paralelamente en la gráfica tridimensional de superficie de respuesta se tiene el valor óptimo de GMS igual a 1.33%, donde el factor NaCl presenta un efecto de tendencia positiva sobre a^* cuando aumenta de 0.05 a 0.1%, sin embargo la tendencia es negativa cuando los valores de NaCl siguen aumentando de 0.1 a 0.15% produciendo un aumento y una disminución de los valores de a^* respectivamente; respecto al pH se puede mencionar que presenta una tendencia positiva ya que cuando aumenta de 5 a 7 también aumentan los valores de a^* .

En la Figura 11 B se graficó considerando el nivel central del factor NaCl (0.1%) con el propósito de estimar la variable a^* en función de las variables independientes pH y GMS. Además, se observa el gráfico de superficie respuesta que muestra el valor óptimo de NaCl igual a 0.1%, donde la variable GMS presenta un efecto negativo sobre a^* ya que a medida que aumenta de 0.5 a 1.5% disminuyen los valores de a^* , mientras que el factor pH muestra que tiene una tendencia positiva a medida que se acerca al valor central y luego es negativa a medida que el valor de pH aumenta a 7.

En la Figura 11 C se graficó considerando el nivel central de pH igual a 6 para estimar la variable respuesta a^* en el gráfico de contorno en función de los factores NaCl y GMS. También se observa la gráfica de superficie respuesta con el valor óptimo de pH igual a 6.38, donde el factor GMS presenta una tendencia negativa ya que a medida que aumenta de 0.5 a 1.5% para a^* sus valores tienen a disminuir. Por otro lado, el factor NaCl tiene una tendencia positiva y negativa a medida que se acerca y se aleja del valor central 0.1% respectivamente.

Por lo tanto, el valor óptimo de a^* fue 24.69 en función de los factores GMS, NaCl y pH con los valores de 1.33%, 0.1% y 6.38 respectivamente.

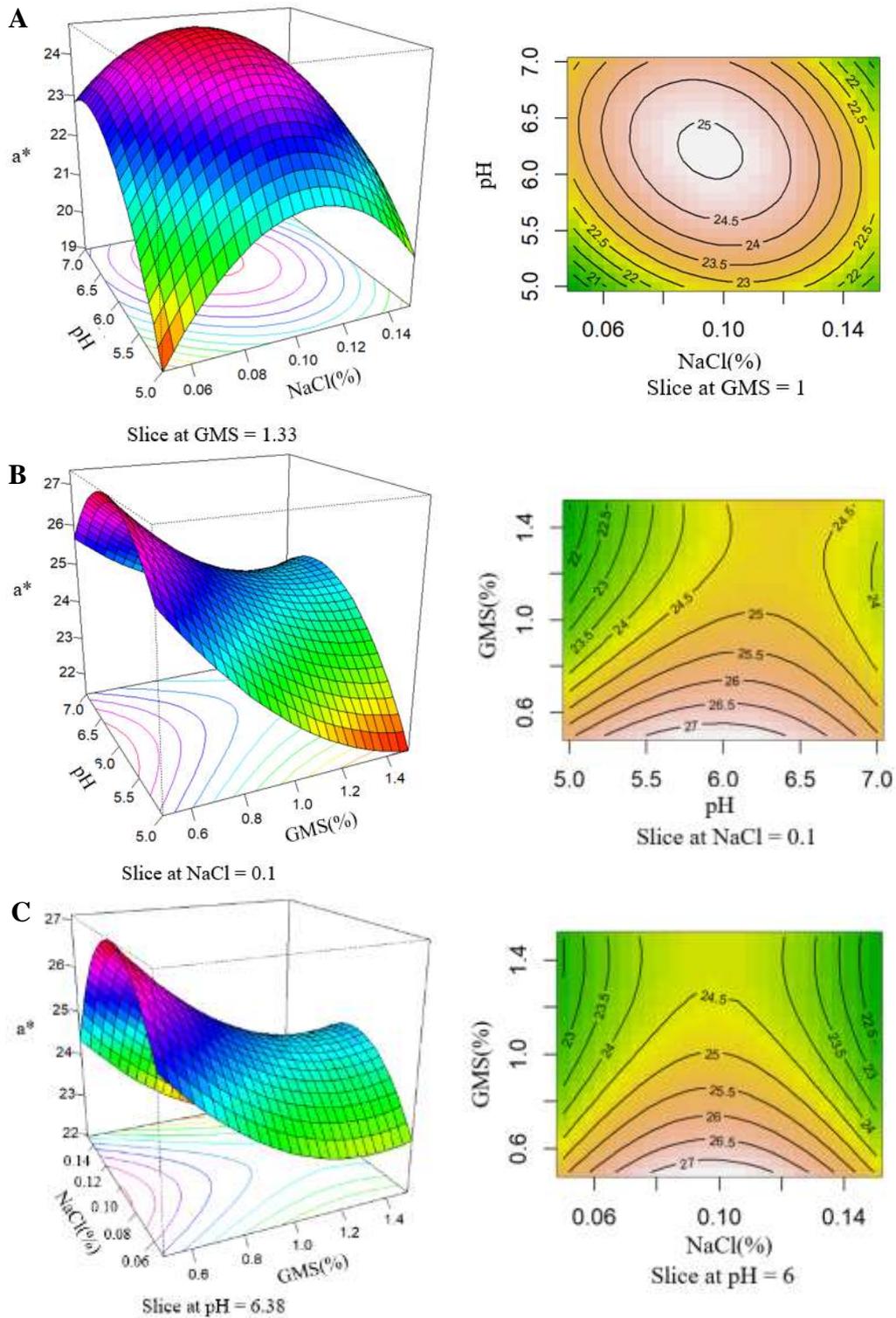


Figura 11: Gráficos de superficie respuesta y gráficos de contorno que muestran los efectos de las variables (pH: potencial de hidrogeno; NaCl: cloruro de sodio; GMS: glutamato monosódico) en la respuesta a^*

En la Figura 12 se observan los gráficos tridimensionales de superficie respuesta y los gráficos de contorno que muestran el efecto de los tres factores: pH, NaCl y GMS sobre la variable respuesta b^* de las muestras de harina de quinua fermentada por *M. purpureus*. En la Figura 12A el gráfico de contorno se consideró en el nivel central de GMS igual a 1% para estimar la variable respuesta b^* en función de las variables independientes NaCl y pH. A su vez, en la gráfica tridimensional de superficie de respuesta se tiene el valor óptimo de GMS igual a 1.74%, donde el factor pH presenta un efecto de tendencia positiva sobre b^* cuando aumenta de 5 a 6, sin embargo la tendencia es negativa cuando los valores de pH siguen aumentando de 6 a 7 produciendo un ligero aumento y una disminución de los valores de b^* respectivamente; respecto al factor NaCl presenta una tendencia positiva ya que cuando aumenta de 0.05 a 0.15% también aumentan los valores de b^* .

En la Figura 12B se observa el gráfico de contorno que se consideró en el nivel central del factor NaCl (0.1%) con el propósito de estimar la variable b^* en función de las variables independientes pH y GMS. Además, se observa el gráfico de superficie respuesta que muestra el valor óptimo de NaCl igual a 0.17%, donde la variable GMS presenta un efecto positivo sobre b^* a medida que aumenta de 0.5 a 1.5%, mientras que los niveles evaluados del factor pH no muestra mucha variación con respecto a b^* .

En la Figura 12C se graficó considerando el nivel central de pH (6) para estimar la variable respuesta b^* en el gráfico de contorno en función de los factores NaCl y GMS. También se observa la gráfica tridimensional de superficie respuesta con el valor óptimo de pH igual a 5.89, donde el factor GMS presenta una tendencia positiva a medida que aumenta de 0.5 a 1.5% para b^* , de igual manera ocurre con el factor NaCl a medida que aumenta de 0.05 a 0.15%.

A partir de estos resultados, se evidenció que la concentración de NaCl y GMS son los principales factores que influyen en el valor óptimo de b^* . El valor óptimo de b^* fue 20.21 en función de los factores GMS, NaCl y pH con los valores de 1.74%, 0.17% y 5.89 respectivamente.

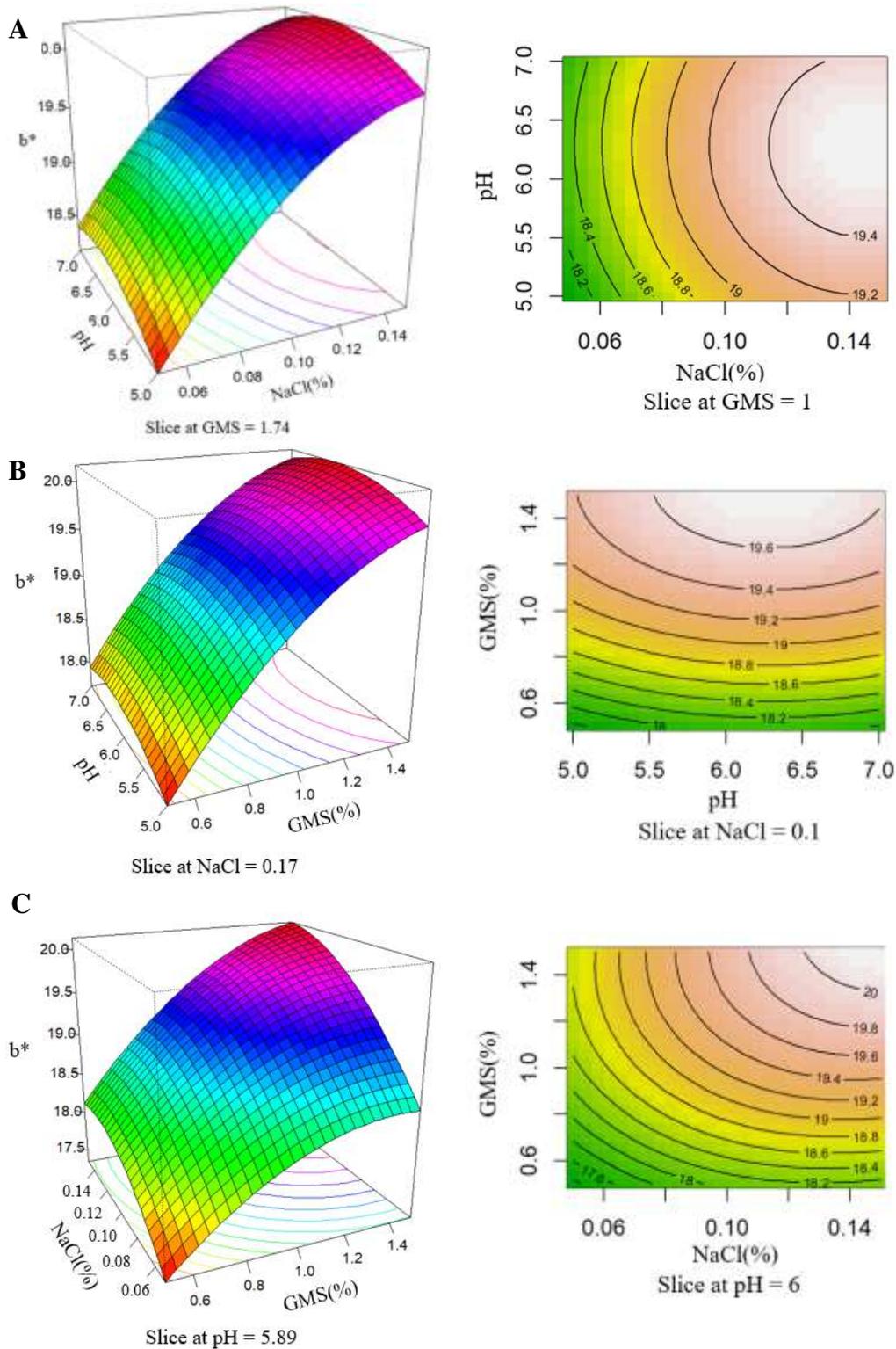


Figura 12: Gráficos de superficie respuesta y gráficos de contorno que muestran los efectos de las variables (pH: potencial de hidrogeno; NaCl: cloruro de sodio; GMS: glutamato monosódico) en la respuesta b^*

En la Figura 13 se analizó la optimización de la variable respuesta Croma (C^*) donde se observan los gráficos tridimensionales de superficie respuesta y los gráficos de contorno que muestran el efecto de los tres factores: pH, NaCl y GMS sobre la variable respuesta de C^* de las muestras de harina de quinua fermentada. En la Figura 13A el gráfico de contorno se cortó en el nivel central de GMS (1%) para estimar la variable respuesta C^* en función de los factores NaCl y pH. Paralelamente en la gráfica tridimensional de superficie de respuesta se tiene el valor óptimo de GMS igual a 1.24%, donde el factor NaCl presenta un efecto de tendencia positiva sobre C^* cuando aumenta de 0.05 a 0.1%, sin embargo, la tendencia es negativa cuando los valores de NaCl siguen aumentando de 0.1 a 0.15% produciendo un aumento y una disminución de los valores de C^* respectivamente. En caso del factor pH se puede mencionar que presenta una tendencia positiva de 5 a 6 donde aumentan los valores de C^* .

En la Figura 13 B se observa el gráfico de contorno que se consideró en el nivel central del factor NaCl (0.1%) con el propósito de estimar la variable C^* en función de las variables independientes pH y GMS. Además, se observa el gráfico de superficie respuesta que muestra el valor óptimo de NaCl igual a 0.1%, donde la variable GMS presenta un efecto negativo sobre C^* ya que a medida que aumenta de 0.5 a 1.5% disminuyen los valores de C^* , mientras que el factor pH muestra que tiene una tendencia positiva a medida que se acerca al valor central y luego es negativa a medida que el valor de pH aumenta a 7.

En la Figura 13 C se consideró al nivel central de pH igual a 6 para estimar la variable respuesta C^* en el gráfico de contorno en función de los factores NaCl y GMS. También se observa la gráfica de superficie respuesta con el valor óptimo de pH igual a 6.28, donde el factor GMS presenta una tendencia negativa ya que a medida que aumenta de 0.5 a 1.5% para C^* sus valores tienen a disminuir. Por otro lado, el factor NaCl tiene una tendencia positiva y negativa a medida que se acerca y se aleja del valor central 0.1% respectivamente.

Entonces, el valor óptimo de C^* fue 31.49 en función de los factores GMS, NaCl y pH con los valores de 1.24%, 0.1% y 6.28 respectivamente.

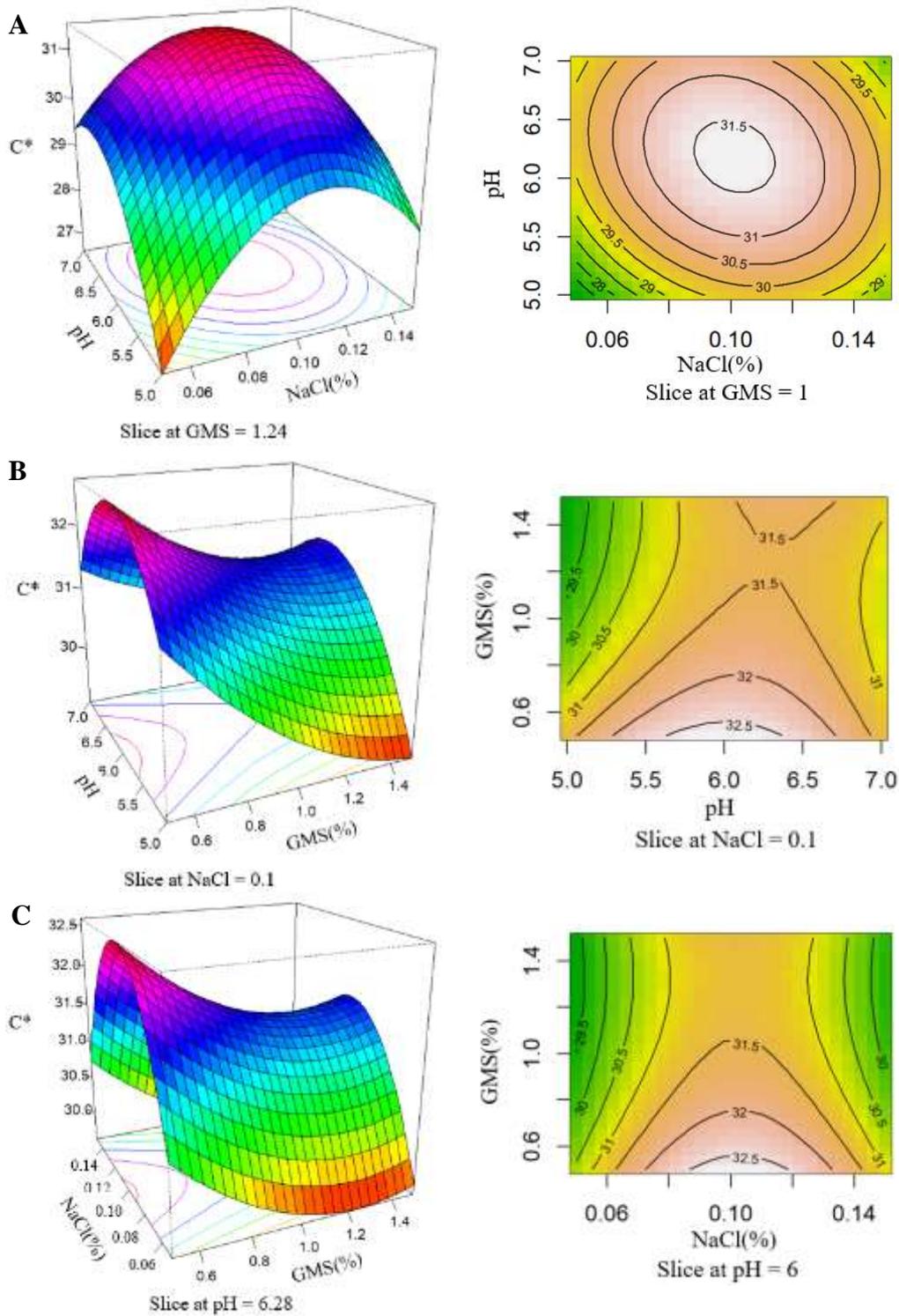


Figura 13: Gráficos de superficie respuesta y gráficos de contorno que muestran los efectos de las variables (pH: potencial de hidrogeno; NaCl: cloruro de sodio; GMS: glutamato monosódico) en la respuesta C*

En la Figura 14 se observan los gráficos tridimensionales de superficie respuesta y los gráficos de contorno que muestran el efecto de los tres factores: pH, NaCl y GMS sobre la variable respuesta ángulo de tono (h°) de las muestras de harina de quinua fermentada por *M. purpureus*. En la Figura 14A el gráfico de contorno se consideró en el nivel central de GMS (1%) para estimar la variable respuesta h° en función de los factores NaCl y pH. Paralelamente en la gráfica tridimensional de superficie de respuesta se tiene el valor óptimo de GMS igual a 1.33%, donde el factor pH presenta un efecto de tendencia positiva sobre h° cuando aumenta de 5 a 7, respecto al factor NaCl presenta una tendencia negativa y positiva mientras se acerca al valor de 0.1% disminuyendo y aumentando los valores de h° respectivamente.

En la Figura 14B se observa el gráfico de contorno que se consideró en el nivel central del factor NaCl igual a 0.1% con el propósito de estimar la variable h° en función de las variables independientes pH y GMS. Además, se observa el gráfico de superficie respuesta que muestra el valor óptimo de NaCl igual a 0.08%, donde la variable GMS presenta un efecto positivo sobre h° a medida que aumenta de 0.5 a 1.5%, mientras que el factor pH muestra los valores más altos de h° en sus niveles extremos.

En la Figura 14C se graficó considerando el nivel central de pH (6) para estimar la variable respuesta h° en el gráfico de contorno en función de los factores NaCl y GMS. También se observa la gráfica tridimensional de superficie respuesta con el valor óptimo de pH igual a 6.56, donde el factor GMS presenta una tendencia positiva a medida que aumenta de 0.5 a 1.5% para h° , mientras que el factor NaCl muestra los valores más altos de h° en sus niveles extremos de 0.05 y 0.15% sobre todo cerca a este último nivel.

Por lo tanto, el valor óptimo de h° fue 38.16 en función de los factores GMS, NaCl y pH con los valores de 1.33%, 0.08% y 6.56 respectivamente.

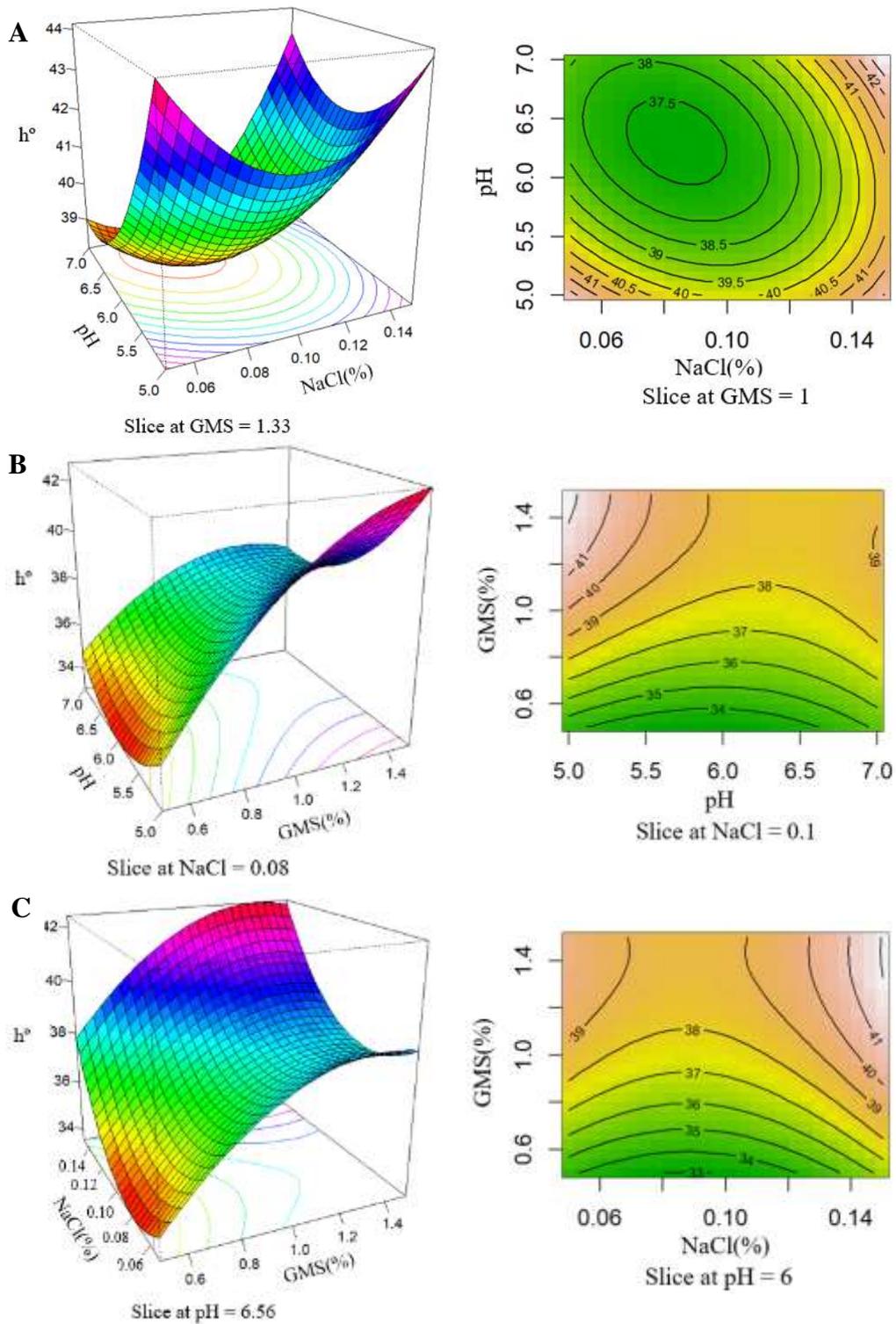


Figura 14: Gráficos de superficie respuesta y gráficos de contorno que muestran los efectos de las variables (pH: potencial de hidrogeno; NaCl: cloruro de sodio; GMS: glutamato monosódico) en la respuesta h°

Debido a que el objetivo de esta segunda etapa de la investigación consistió en obtener la mejor harina de quinua roja fermentada por *M. purpureus* es que se consideró más importante optimizar la variable respuesta a^* ya que está relacionado con el color rojo cuando tiende a ser positivo, sin embargo se consideró necesario analizar las otras variables respuesta de L^* , b^* , C^* y h° debido a que la quinua es un nuevo sustrato empleado para la FES por el hongo variando niveles de pH utilizando una sal NaCl y glutamato monosódico como fuente nitrogenada, ya que no se cuenta con información precedente de estos parámetros.

Los pigmentos de *Monascus* son los responsables de producir color en el sustrato fermentado, como bien se mencionó, en esta etapa se consideró más importante el color rojo por ende los pigmentos rojos. El inicio de la síntesis de pigmentos está relacionado con la formación de cleistotecios, donde los principales factores que influyen son el medio de composición, temperatura, oxígeno, pH y fuente de nitrógeno, la interacción de ellos da como resultado la producción de pigmentos rojos además de anaranjados y amarillos en el sustrato sólido donde se lleva a cabo la fermentación dando diferentes tonalidades de color amarillo-naranja-rojo (Pineda-Insuasti *et al.*, 2016). Actualmente se sabe que no es posible producir un tipo de pigmento puro de *Monascus* por fermentación, lo que si se obtiene son mezclas de pigmentos con diferentes características de color como rojo, anaranjado y amarillo que se pueden modular controlando las condiciones de cultivo y composición de los medios (Shi *et al.*, 2015). Por ello es que se obtuvieron diferentes tipos de color rojo en las 14 corridas cuando se variaron los diferentes factores como pH, NaCl y GMS a tres niveles cada uno.

El uso de la colorimetría en la evaluación de harinas no es frecuentemente reportado, sin embargo, su aplicación ha sido reportada como una herramienta útil, funcional y económica para investigar la adulteración de harina de yuca con colorantes de la cúrcuma y tartrazina analizando los parámetros L^* , a^* y b^* (De Matos *et al.*, 2021).

Por otro lado, también se han utilizado los parámetros L^* , a^* y b^* para analizar harinas de maní bambara (*Vigna subterranea*) que al inicio dio resultados de $L^*=89.25$, $a^*=0.67$ y $b^*=11.35$, luego se sometieron a diversos tratamientos para mejorar el color como harina fermentada, calentada por infrarrojos, malteada y tostada donde los valores oscilaron entre 66.15 – 87.51, 0.72 – 8.84 y 12.61 – 22.12 para L^* , a^* y b^* respectivamente, siendo el

proceso de tostado el que presentó harinas más enrojecidas, señalando así que esta característica puede ser importante en algunos productos (Oladimeji & Adebo, 2024).

Otros autores analizan los parámetros L^* , a^* , b^* , C^* y h° de los productos terminados preparados con harinas, como es el caso de la elaboración de galletas saladas por sustitución parcial de harina de trigo por harina de cebada, semilla de uva, hueso de aceituna, altramuz y garbanzo donde los valores oscilaron entre 29.71 – 74.12, 4.22 – 13.00, 8.33 – 41.39, 12.15 – 42.88 y 43.26 – 82.61 para L^* , a^* , b^* , C^* y h° respectivamente (Giannoutsos *et al.*, 2023).

Sin embargo, el estudio más cercano al realizado en la presente investigación fue realizada por Monteiro *et al.* (2021) quienes analizaron los mismos parámetros de color L^* , a^* , b^* , C^* y h° determinados por un colorímetro en muestras de harina de trigo fermentadas por *M. ruber*, donde los valores de L^* , a^* , b^* , C^* y h° fueron 52.29, 11.43, 10.22, 15.33 y 0.73, mientras que para la harina de trigo sin fermentar fueron: 93.19, 0.06, 9.17, 9.17 y 1.56 respectivamente.

Shi *et al.* (2015) también estudiaron los mismos parámetros de color, con la diferencia que fueron muestras provenientes de una fermentación sumergida a diferentes niveles de pH y fuentes de nitrógeno, evaluaron las características de color de las soluciones de pigmentos dentro del espacio CIELAB (L^* , a^* , b^*), C^* y h° donde obtuvieron diferentes colores visuales de rojo desde el amarillo brillante hasta el rojo intenso, los valores de los parámetros de los diferentes colores de rojo estuvieron en los siguientes rangos : L^* (30.01-52.76), a^* (19.20-39.16), b^* (16.46-34.73), C^* (39.68-49.65) y h° (22.80-61.07), las diferentes tonalidades de rojo tuvieron en común el pH entre 6 a 6.5, la diferencia radicó principalmente en el tipo de sustrato, comparando con la presente etapa los valores óptimos para L^* (53.01), a^* (24.69), b^* (20.21), C^* (31.49) y h° (38.16) obtenidos a partir de 14 tratamientos de harinas rojas en el rango de pH de 5 a 7.

En caso del factor pH se han reportado diferentes investigaciones como lo es el de Embaby *et al.* (2018) quienes produjeron pigmentos rojos por *M. purpureus* a través de FES, donde mencionan que el pH inicial del medio de producción es un factor clave para el éxito de un bioproceso, pero la diferencia en el pH óptimo para cada proceso puede deberse a la cepa fúngica o a la composición del medio; en caso de su investigación los niveles significativos más altos de pigmentos rojos así como de anaranjados se alcanzaron a pH de 4.5 a 5, pero a

niveles más bajos y más altos disminuyeron significativamente la producción de los metabolitos secundarios. También se han reportado trabajos de interacciones entre factores como el de los investigadores Shi *et al.* (2015) quienes demostraron que el pH y las fuentes nitrogenadas afectaron sinérgicamente la producción de pigmentos rojos de *M. purpureus*, donde el papel de la fuente de nitrógeno se hace más significativo a un pH más alto (cerca de 6.5). Adicionalmente Dikshit & Tallapragada, (2011) investigaron las condiciones de pH y temperatura en la producción de pigmentos de *M. purpureus* en arroz, un sustrato sólido muy usado sobre todo en Asia, donde obtuvieron que la máxima producción de pigmentos rojos se dio a los 16 días de fermentación, a pH de 5.5 y a una temperatura de 30° C, este último valor fue considerado en todo el proceso de fermentación por la presente investigación. Ello no quiere decir que *Monascus* no crezca bien a otras temperaturas o que sus pigmentos no sean estables, esto lo demostraron De Almeida *et al.* (2021) quienes investigaron la producción de pigmentos de *M. purpureus* dentro de 40 a 80 °C donde los pigmentos fueron estables térmicamente y a pH de 4 a 7, por lo tanto, los autores consideraron que los metabolitos secundarios producidos pueden tener un uso alternativo en la industria alimentaria.

Por otro lado, Thiyam *et al.* (2020) estudiaron también a un hongo filamentoso productor de pigmentos rojos como es el caso de *Talaromyces purpureogenus*, demostraron que a pH inicial de 5 fue significativamente mayor en la producción de pigmentos rojos que el de amarillos, resaltando que existe una fuerte relación entre el pH inicial y los diferentes tipos de pigmentos que se producen en una fermentación. Por lo tanto, es un factor importante para la producción de pigmentos a pesar que se sea un hongo diferente a *Monascus*.

El valor óptimo de pH en la presente investigación es 6.38 cuando se considera la variable respuesta a* óptima, encontrándose dentro del rango según las investigaciones mencionadas que oscila entre 4 a 7.

La fuente de nitrógeno es esencial para el desarrollo de los hongos principalmente para la producción de metabolitos primarios como secundarios, entre ellos los pigmentos, donde la adición de compuestos nitrogenados al medio de cultivo puede fomentar el aumento de la cantidad de pigmentos (Abdel-Raheem *et al.*, 2022).

El factor GMS es una fuente de nitrógeno muy utilizada para la producción y aumento de pigmentos especialmente rojos por *M. purpureus* en FES (Shi *et al.*, 2015; Silbir & Goksungur, 2019; Silveira *et al.*, 2008). Sin embargo, su costo no es tan barato, a pesar de ello sigue siendo muy utilizado por el rendimiento de los pigmentos. Una evaluación de otras alternativas de fuente nitrogenada para el reemplazo de GMS fue realizada por (Silbir & Goksungur, 2019) quienes usaron equivalentes al GMS (0.8% p/v) empleando extracto de levadura, peptona, licor de maíz, urea y brotes de malta, a pesar de ello la mayor formación de pigmentos rojos siguió siendo con GMS.

Diversos estudios utilizaron este suplemento en procesos fermentativos por *M. purpureus*, como Babitha *et al.* (2006) quienes realizaron FES y se demostró que la adición de compuestos nitrogenados externos como GMS mejoró la producción de pigmentos solubles en agua. La cantidad empleada es fundamental, una cantidad cercana al nivel más bajo (0.5%) estudiada en esta etapa fue cercana a la evaluada por Chatterjee *et al.* (2009) quienes utilizaron GMS (0.3%) para complementar el medio de fermentación para *M. purpureus* con el fin de producir masa celular y pigmentos rojos. Por otro lado, una cantidad cercana al nivel central (1%) fueron estudiadas por Dikshit & Tallapragada (2011) quienes tuvieron la mejor producción de pigmentos rojos y crecimiento micelial de *M. purpureus* cuando se utilizó el GMS al 1 %, de igual forma obtuvieron los mejores valores de estas variables respuestas Musaalbakri *et al.* (2005) con GMS al 1.2%. También hay reportes sobre el uso de valores cercanos incluso iguales al nivel más alto (1.5%) como Joshi *et al.* (2003); Tong *et al.* (2022) e Ismail *et al.* (2021) quienes utilizaron 1.5% de GMS en el medio de cultivo para *M. purpureus* y se obtuvo un atractivo color rojo.

Valores de GMS alejados a los estudiados, fueron reportados por Kongruang, (2011) quienes estudiaron a cuatro cepas de *M. purpureus* utilizando 3% de glutamato monosódico como fuente de nitrógeno durante 7 días de fermentación, demostrando que la fuente GMS permite aun la producción de pigmentos. Otra investigación donde utilizaron un valor muy alto de GMS fue realizada por Kraboun *et al.* (2013) donde estudiaron el efecto del GMS al 12.08% para la fermentación por *Monascus*, que dio como resultado un aumento en la intensidad de pigmento, contenido de glucosamina y actividad antioxidante.

Por lo tanto, el rango de la concentración de GMS utilizado por diversos autores es amplio, pero considerando que es un suplemento costoso se propone la concentración de 1.33% obtenida para optimizar la variable respuesta a*, siendo este valor cercano a los resultados de varios estudios mencionados.

Si bien, tanto el pH como las fuentes de nitrógeno afectan significativamente a la composición de los pigmentos de *Monascus*. Sin embargo, el efecto sinérgico de las fuentes de pH y nitrógeno en la composición de los pigmentos nunca se ha investigado por completo. Además, hasta la fecha, no hay informes sobre una estrategia efectiva para producir pigmentos de *Monascus* con diferente composición y diferentes características de color (Shi *et al.*, 2015). Es así que la presente investigación aporta información con respecto a la interacción de ambos factores.

Un tercer factor estudiado fue NaCl, una sal utilizada como agente estresante y su importancia se debe a que los microorganismos se exponen todo el tiempo a un medioambiente cambiante por lo tanto han desarrollado estrategias de sobrevivencia ante condiciones adversas, el estrés producido trae consigo la bioconversión de metabolitos primarios en secundarios como estrategia bioquímica con el fin de contar con fuentes de energía y metabolitos esenciales para tener mejores condiciones de vida, cuando en su medio hay una alta concentración de un ingrediente o similar el crecimiento microbiano se inhibe así como la productividad de un determinado producto fermentativo (Sweeny *et al.*, 1981).

El NaCl también ha sido estudiado por su influencia en la producción de pigmentos rojos, como Sweeny *et al.* (1981) quienes estudiaron la influencia del estrés osmótico en la producción de pigmentos en *M. purpureus* en FES adicionando diferentes concentraciones de NaCl, donde observaron cambios significativos en la producción de pigmentos ya que a medida que la concentración de NaCl aumenta induce la conidiación pero disminuye la biomasa fúngica. También Babitha *et al.* (2007a) investigaron el efecto de las condiciones de estrés en la producción de pigmentos por *M. purpureus* en FES durante 12 días, demostrando que el cultivo de *Monascus* en diferentes concentraciones de sal en condiciones de fermentación produjo un desplazamiento espectral de la región naranja a rojo, es decir se produjo más pigmentos rojos a altas concentraciones de sal del 10%, demostrando que el estrés salino desequilibra el potencial osmótico de las células fúngicas generando un déficit

hídrico, además la afluencia del sodio puede ser tóxico para el metabolismo del hongo haciendo que se reduzca su biomasa.

Por otro lado, un valor cercano al reportado por la presente investigación (0.1%) fue estudiada por Zhen *et al.* (2019) quienes midieron el vínculo de NaCl con la producción de metabolitos secundarios de *M. purpureus* adicionando al medio de cultivo concentraciones de NaCl al 0, 0.06, 0.12, 0.6, 1.2 y 2.4%; el mejor resultado se obtuvo al décimo día de cultivo donde los pigmentos rojos, naranjas y amarillos aumentaron en 1.4, 1.4 y 1.7 respectivamente a una concentración de 0.12%. Entonces se puede producir colores a elección entre rojo, anaranjado o amarillo aumentando el rendimiento de los pigmentos variando el nivel de NaCl, así repercutir en su aplicación dentro de la industria alimentaria (Sweeny *et al.*, 1981).

Gran parte de los estudios de pigmentos rojos producidos por *Monascus* se centra en el reaprovechamiento de sustratos no comestibles, con ello realizan diversos protocolos de extracción de estos metabolitos secundarios, sin embargo esta investigación no se centra en la extracción de pigmentos que posteriormente serían utilizados, sino que se centra principalmente en producir una harina de quinua roja por fermentación del hongo, ya que lo ideal es que los pigmentos producidos por *Monascus* en FES sean utilizados junto al sustrato alimenticio fermentado, ahorrando costos y disminuyendo la contaminación ambiental por el uso de solventes (Vendruscolo *et al.*, 2016).

4.3. COMPOSICIÓN PROXIMAL Y PROPIEDADES TECNOFUNCIONALES DE LA MEJOR HARINA DE QUINUA ROJA

Las propiedades tecnofuncionales son las propiedades de un alimento sin considerar su valor nutricional que afecta su utilización donde las más estudiadas son: la capacidad de retención de agua, capacidad de absorción de aceite, capacidad emulsificante, capacidad de formación de espuma y capacidad de gelificación (Boye *et al.*, 2010; Mshayisa *et al.*, 2022). La evaluación es importante debido a que influyen en las características organolépticas de los sistemas alimenticios siendo vitales en el procesamiento de los alimentos, ya sea en bebidas, postres, confitería, panadería, galletería, productos cárnicos, entre otros (Boye *et al.*, 2010; Mshayisa *et al.*, 2022). Estas propiedades reflejan la interacción de la composición, conformación, estructura y propiedades fisicoquímicas de los componentes de los alimentos

junto al entorno asociado, así permite una predicción de como las proteínas, grasas, carbohidratos se comportan en determinado sistema en específico (Chandra *et al.*, 2015). Se evaluaron las propiedades tecnofuncionales a la mejor harina obtenida a partir de los valores sugeridos por la optimización de la segunda etapa de investigación, así como a la harina sin fermentar, estos valores promedio y desviaciones estándar se observan en la Tabla 15 (Anexos 17-22).

Tabla 15: Composición química proximal y propiedades tecnofuncionales de la harina de quinua fermentada y harina de quinua sin fermentar

	Harina fermentada	Harina sin fermentar
Proteína	21.63 ± 0.17 ^a	12.44 ± 0.09 ^b
Ceniza	4.12 ± 0.01 ^a	1.80 ± 0.01 ^b
Grasa	5.15 ± 0.24 ^a	4.19 ± 0.03 ^b
Carbohidratos	61.08 ± 0.88 ^a	78.84 ± 0.11 ^b
Humedad	8.02 ± 0.79 ^a	2.74 ± 0.06 ^b
Materia Seca	91.98 ± 0.79 ^a	97.26 ± 0.08 ^b
CAAg (g/g)	2.43 ± 0.10 ^a	1.02 ± 0.03 ^b
CAAc (g/g)	1.06 ± 0.05 ^a	1.07 ± 0.02 ^a
AE (%)	57.12 ± 0.86 ^a	58.22 ± 0.11 ^a
EEm (%)	53.62 ± 0.84 ^a	55.48 ± 0.24 ^b
CFE (%)	4 ± 1 ^a	12 ± 2 ^b
EEs (%)	41.11 ± 8.39 ^a	80.24 ± 5.36 ^b

Las propiedades tecnofuncionales son: Capacidad de absorción de agua (CAAg), capacidad de absorción de aceite (CAAc), actividad emulsionante (AE), estabilidad emulsionante (EEm), capacidad de formación de espuma (CFE) y estabilidad de la espuma (EEs). Los valores son medias ± DE. Los valores con letras diferentes en el superíndice entre columnas muestran diferencias significativas ($p < 0,05$).

M. purpureus es muy conocido en la industria alimentaria como en la gastronómica por su aplicación, pero pocos estudios se enfocan en las características de los sustratos pigmentados y su uso en la industria alimentaria (De Almeida *et al.*, 2021).

Los resultados de las propiedades tecnofuncionales mostradas en la Tabla 15 muestran que solo existen diferencias significativas entre CAAg, EEm, CFE y EEs cuando se compara a la harina de quinua fermentada roja y la harina de quinua sin fermentar.

Además, todos los valores de la composición proximal entre ambas harinas muestran diferencias significativas ($p < 0,05$) (Anexos 11-16), los resultados fueron para proteína,

ceniza, grasa, carbohidrato, humedad y materia seca: 1.7, 2.3, 1.2, 0.8, 2.9 y 0.9 veces respecto a la harina fermentada en comparación con la harina de quinua sin fermentar; estos resultados permiten comprender mejor las propiedades tecnofuncionales.

La CAAg se refiere a la capacidad de la harina para retener agua sometido a la fuerza de gravedad centrífuga, donde los carbohidratos y proteínas por sus cadenas laterales hidrofílicas permiten que aumente la absorción (Villar, 2021). Los valores fueron 2.43 ± 0.10 y 1.02 ± 0.03 para la harina fermentada y sin fermentar respectivamente, el valor es mayor para la harina roja, debido posiblemente a la cantidad de proteínas y carbohidratos que es 1.7 y 0.8 veces entre ambas. La cantidad de proteínas en la harina roja es 1.7 veces mayor respecto a la harina sin fermentar, debido a que las proteínas provienen también del hongo *Monascus*. Estas proteínas tanto de la quinua como de *Monascus* tienen naturaleza hidrofílica e hidrofóbica, por ello pueden interactuar con el agua más fácilmente en los alimentos respecto a la harina de quinua sin fermentar (Chandra *et al.*, 2015). También la CAAg está relacionada con el contenido de aminoácidos polares (Mercado *et al.*, 2015), ello sugiere que la quinua roja fermentada con GMS y NaCl tiene una mayor cantidad de aminoácidos polares disponibles respecto a la harina de quinua.

Se obtuvieron resultados similares de CAAg por Villar (2021) igual a 1.70 para harina de quinua, siendo este valor 1.66 veces mayor que la harina de quinua estudiada en la presente investigación; por otro lado Jian (2021) obtuvo valores de CAAg entre 0.83 a 0.99 g/g de diferentes variedades de harina de quinua perlada provenientes de China, por otro lado, en nuestro país Valdez-Arana *et al.* (2020) obtuvieron valores de 1.05 a 1.21 g/g de diversas harinas de quinua, estos resultados indican que la CAAg será diferente incluso de tratarse de la misma especie vegetal debido a que existen muchas variedades en diversos países.

Se deduce que la CAAg mejoró con la fermentación de la quinua por *M. purpureus* respecto a la harina de quinua sin fermentar, un mayor valor de CAAg indicaría que la harina de quinua fermentada pueda ser utilizada para la preparación de productos de alta viscosidad como, salsas, sopas, productos lácteos, tanto para el procesamiento como almacenamiento por una reducción de la sinéresis (Sharma *et al.*, 2022).

Las muestras de harina fermentada y sin fermentar no mostraron diferencias significativas entre ambas cuando se evaluó la propiedad tecnofuncional de CAAc con los valores

respectivos de 1.06 y 1.07 g/g. Esta propiedad informa sobre la interacción de lípidos y cadenas largas no polar de los aminoácidos en la muestra, con ello su capacidad de ligar el aceite (Villar, 2021) disminuyendo el desarrollo de la rancidez oxidativa, por consiguiente aumenta la estabilidad en el almacenamiento, por ello las harinas se pueden usar para productos de panadería o derivados cárnicos ya que el alimento con esta característica retiene el sabor del producto, así como en productos para freír (Mercado *et al.*, 2015), o en la formulación de alimentos donde la propiedad de retención de aceite sea imprescindible (Abd *et al.*, 2005).

La actividad emulsificante de ambas harinas obtuvo los valores de 57.12 y 58.22% para la harina fermentada y harina sin fermentar respectivamente, donde no presentaron diferencias significativas; esto quiere decir que la fermentación de los granos de quinua por *M. purpureus* no afectó la capacidad de las proteínas para absorber el área interfacial del aceite y el agua. Por otro lado, en la estabilidad de la emulsión si presentaron diferencias significativas ($p < 0.05$) siendo 1.03 veces mayor la EEm de la harina de quinua sin fermentar respecto a la harina roja fermentada. En este caso la EEm de ambos valores redujeron en 1.07 y 1.05 veces respecto a la harina fermentada y sin fermentar, estos resultados indican que la harina de quinua presenta mayor estabilidad de la emulsión cuando se somete a una temperatura de 80°C, puede deberse a que la harina fermentada tuvo un mayor despliegue parcial de las proteínas que condujo a una menor absorción interfacial durante la formación de la emulsión (Sharma *et al.*, 2022).

Ambas propiedades se utilizan para predecir las propiedades emulsionantes de las proteínas de la fuente alimentaria, la AE se refiere a la capacidad de la proteína para absorber el área interfacial del aceite y el agua en una emulsión. De contarse con una buena propiedad de AE se puede aplicar en sistemas alimentarios como mayonesa, aderezos para ensaladas y postres congelados (Abd Elmoneim *et al.*, 2005).

Chandra *et al.* (2015) evaluaron diferentes mezclas de harinas que obtuvieron valores entre 41.49 y 44.69% para la AE y valores de 38.38 a 48.65% para la EEm, con estos resultados ellos consideraron que sus muestras tienen buenas propiedades de AE y EEm para ser integrados en productos cárnicos triturados, aderezos de ensaladas, postres congelados y mayonesa, por ende los resultados de la presente investigación se encuentran superiores a

los reportados por los autores mencionados, extrapolándose que la harina de quinua fermentada también puede ser utilizada en aquellas matrices alimentarias.

La CFE de la harina resultó 4% y EEs 41.11% en comparación de los valores de la harina de quinua sin fermentar siendo los valores de 12% y 80.24% respectivamente, habiendo diferencias significativas ($p < 0.05$). Villar (2021) obtuvo valores de 16.6 y 77% para las propiedades de CFE y EEs para harina de quinua cercanos a los reportados, además sugiere aplicarlo en productos como helados, batidos, panificación y repostería. Sin embargo, la harina fermentada presenta valores muy bajos de CFE y EEs, aunque una situación similar fue realizada por Abd *et al.* (2005) quienes trabajaron con harina de sorgo fermentada y sin fermentar, demostrando que no tienen CFE, por ende, EEs, debiéndose a que las proteínas de ambas harinas en solución aumentan la tensión superficial del agua reduciendo consigo la formación de espuma. Pero en combinación con otras harinas estas propiedades pueden mejorar como lo realizaron Chandra *et al.* (2015) quienes reportaron valores de CFE 12.92 a 17.60% de diferentes tipos de harinas mixtas, así como la EEs varió de 1.94 a 13.40%. Harinas con alta capacidad espumante forman grandes burbujas de aire rodeadas de una película de proteínas delgada menos flexible, y la estabilidad de la formación de espuma es menor cuando las burbujas de aire colapsan fácilmente.

V. CONCLUSIONES

1. El mejor tiempo para llevar a cabo la fermentación en estado sólido de granos de quinua por *M. purpureus* evaluando los efectos de cloruro de sodio a los niveles de 0.05, 0.1, 0.2 y 0.4 y glutamato monosódico al 1% es al día 8, siendo el menor tiempo necesario para la obtención de la mejor harina de quinua de color rojo en comparación con los días 0, 2, 4, 6, 10, 12 y 14 según los resultados de L*, a*, b*, C* y h°.
2. En el octavo día de fermentación los valores óptimos de las variables respuesta L*, a*, b*, C* y h° fueron 53.01, 24.69, 20.21, 31.49 y 38.16 respectivamente, siendo la mejor harina de quinua roja según el valor óptimo de a* la que cumplió con los niveles óptimos de GMS (1.33%), NaCl (0.1%) y pH (6.38).
3. En la harina de quinua roja la composición proximal fue proteína (21.63 ± 0.17%), ceniza (4.12 ± 0.01%), grasa (5.15 ± 0.24%), carbohidratos (61.08 ± 0.88%) y materia seca (91.98 ± 0.79%), además demostró tener buenas propiedades tecnofuncionales como capacidad de absorción de agua (2.43 ± 0.10 g/g), capacidad de absorción de aceite (1.06 ± 0.05 g/g), actividad emulsificante (57.12 ± 0.86 %), estabilidad de la emulsión (53.62 ± 0.84 %), capacidad de formación de espuma (4 ± 1 %) y estabilidad de espuma (41.11 ± 8.39 %) deduciéndose que el proceso de fermentación de la quinua por *M. purpureus* mejoró las propiedades tecnofuncionales así como el valor nutritivo respecto a la harina de quinua sin fermentar.
4. En el presente estudio se obtuvo un nuevo sustrato, una harina de quinua que por fermentación de *M. purpureus* junto a suplementos como glutamato monosódico y cloruro de sodio promovieron la síntesis de pigmentos principalmente rojos dando así una coloración roja al sustrato final que promete dar buenos resultados si se incorpora en productos alimenticios.

VI. RECOMENDACIONES

1. Optimizar la extracción de pigmentos producidos por *M. purpureus* en la muestra de harina fermentada para analizar por colorimetría (CIEL*a*b*) y espectrofotometría (500, 470 y 400 nm) tanto del extracto hidroetanólico como de la harina para encontrar la relación de color rojo y pigmentos rojos.
2. Realizar la validación de la mejor harina de quinua roja en los niveles óptimos de glutamato monosódico (1.33%), cloruro de sodio (0.1%) y pH (6.38).
3. Realizar la fermentación en estado sólido por *M. purpureus* en diferentes variedades de quinua en el país.
4. Realizar evaluación sensorial de los productos obtenidos a partir de la harina de quinua fermentada.
5. Evaluar la estabilidad de los pigmentos en la harina fermentada variando el tiempo de almacenamiento y condiciones de temperatura.
6. Utilizar harina de semilla de quinua como sustrato para la producción de pigmentos por *M. purpureus* en fermentación en estado sólido y comparar con los resultados de la presente investigación donde se utilizó granos de quinua para fermentar y posteriormente se obtuvo la harina roja.
7. Elaborar y evaluar sensorialmente a los nuevos alimentos que contengan la harina de quinua fermentada.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abd Elmoneim, O. E., Schiffler, B., & Bernhardt, R. (2005). Effect of fermentation on the functional properties.
- 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.
- Abdulghani, M. A., Alshehade, S. A., Kamran, S., & Alshawsh, M. A. (2022). Effect of monosodium glutamate on serum sex hormones and uterine histology in female rats along with its molecular docking and in-silico toxicity. *Heliyon*, 8(10), e10967.
- Aberoumand, A. (2011). A review article on edible pigments properties and sources as natural biocolorants in foodstuff and food industry. *World Journal of Dairy & Food Sciences*, 6(1), 71-78.
- Alamri, E., Basuny, A., & Bayomy, H. (2022). Quinoa Seeds (*Chenopodium Quinoa*): Nutritional Value and Potential Biological Effects on Hyperglycemic Rats. *Journal of King Saud University-Science*, 102427.
- Albarracín, S. L., Baldeón, M. E., Sangronis, E., Cucufate Petruschina, A., & Reyes, F. G. (2016). L-Glutamato: un aminoácido clave para las funciones sensoriales y metabólicas. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 66(2), 101-112.
- AOAC (Association of Official Agricultural Chemists). (1990). Official Methods of Analysis of the AOAC, 15th Edition. *AOAC International*, Gaithersburg, MD.

- Apaza, V., Caceres, G., & Pinedo, R. (2013). Catálogo de variedades comerciales de quinua en el Perú (No. CIDAB-SB191. Q2-A5c). Ministerio de Agricultura y Riego (Perú) Instituto Nacional de Innovación Agraria Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación.
- Asker, D., Beppu, T., & Ueda, K. (2007). Unique diversity of carotenoid-producing bacteria isolated from Misasa, a radioactive site in Japan. *Applied microbiology and biotechnology*, 77, 383-392.
- Babitha, S., Soccol, C. R., & Pandey, A. (2006). Jackfruit Seed—a novel substrate for the production of *Monascus* pigments through solid-state fermentation. *Food Technology and Biotechnology*, 44(4), 465-471.
- 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.
- Barbosa, R. N., Leong, S. L., Vinnere-Pettersson, O., Chen, A. J., Souza-Motta, C. M., Frisvad, J. C., Samson, R. A., Oliveira, N. T., & Houbraken, J. (2017). Phylogenetic analysis of *Monascus* and new species from honey, pollen and nests of stingless bees. *Studies in mycology*, 86(1), 53-97.
- Bedoya-Perales, N. S., Pumi, G., Talamini, E., & Padula, A. D. (2018). The quinoa boom in Peru: Will land competition threaten sustainability in one of the cradles of agriculture. *Land Use Policy*, 79, 475-480.
- Boye, J. I., Aksay, S., Roufik, S., Ribéreau, S., Mondor, M., Farnworth, E., & Rajamohamed, S. H. (2010). Comparison of the functional properties of pea, chickpea and lentil protein concentrates processed using ultrafiltration and isoelectric precipitation techniques. *Food Research International*, 43(2), 537-546.

- Cabanillas, B., Espichan, F., Estrada, R., Neyra, E., & Rojas, R. (2021). Metabolomic profile and discrimination of white quinoa seeds from Peru based on UHPLC-HRMS and multivariate analysis. *Journal of Cereal Science*, 101, 103307.
- Chandra, S., Singh, S., & Kumari, D. (2015). Evaluation of functional properties of composite flours and sensorial attributes of composite flour biscuits. *Journal of food science and technology*, 52, 3681-3688.
- Chang, Y. N., Huang, J. C., Lee, C. C., Shih, L., & Tzeng, Y. M. (2002). Use of response surface methodology to optimize culture medium for production of lovastatin by *Monascus ruber*. *Enzyme and Microbial Technology*, 30(7), 889-894.
- Chatterjee, S., Maity, S., Chattopadhyay, P., Sarkar, A., Laskar, S., & Sen, S. K. (2009). Characterization of red pigment from *Monascus* in submerged culture red pigment from *Monascus purpureus*. *Journal of Applied Sciences Research*, 5(12), 2102-2108.
- 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.
- Da Costa, J. P. V., & Vendruscolo, F. (2017). Production of red pigments by *Monascus ruber* CCT 3802 using lactose as a substrate. *Biocatalysis and agricultural biotechnology*, 11, 50-55.
- De Almeida, A. B., Santos, N. H., de Lima, T. M., Santana, R. V., De Oliveira Filho, J. G., Peres, D. S., & Egea, M. B. (2021). Pigment bioproduction by *Monascus purpureus* using corn bran, a byproduct of the corn industry. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 32, 101931.
- De Matos, M. F. R., Bezerra, P. Q. M., Correia, L. C. A., Viola, D. N., De Oliveira Rios, A., Druzian, J. I., & Nunes, I. L. (2021). Innovative methodological approach using CIELab and dye screening for chemometric classification and HPLC for the confirmation of dyes in cassava flour: A contribution to product quality control. *Food Chemistry*, 365, 130446.

- 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.
- Delgado-García, Y. I., Luna-Suárez, S., López-Malo, A., & Morales-Camacho, J. I. (2022). Effect of supercritical carbon dioxide on physicochemical and techno-functional properties of amaranth flour. *Chemical Engineering and Processing-Process Intensification*, 178, 109031.
- Dikshit, R., & Tallapragada, P. (2011). *Monascus purpureus*: A potential source for natural pigment production. *J. Microbiol Biotechnol Res*, 1(4), 164-174
- Duan, Y., Jia, L., Pei, X., Wei, X., & Li, M. (2022). An efficient microbial-based method for production of high-purity *Monascus* azaphilones pigments. *LWT*, 170, 114053.
- Dufossé L (2009) Pigments, microbial. In: Schaechter M (ed) *Encyclopedia of microbiology*, 3rd edn. Academic, Oxford, pp 457–471
- Dufossé, L. (2006). Microbial production of food grade pigments. *Food technology and Biotechnology*, 44(3), 313-323.
- 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.
- Giannoutsos, K., Zalidis, A. P., Koukoumaki, D. I., Menexes, G., Mourtzinis, I., Sarris, D., & Gkatzionis, K. (2023). Production of functional crackers based on non-conventional flours. Study of the physicochemical and sensory properties. *Food Chemistry Advances*, 2, 100194.

- Hölker, U., Höfer, M., & Lenz, J. (2004). Biotechnological advantages of laboratory-scale solid-state fermentation with fungi. *Applied microbiology and biotechnology*, 64, 175-186.
- Huang, R., Huang, K., Guan, X., Li, S., Cao, H., Zhang, Y., Lao, J., & Wang, J. (2021). Effect of defatting and extruding treatment on the physicochemical and storage properties of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd) flour. *LWT*, 147, 111612.
- Huang, Y. P., Li, P., Du, T., Du, X. J., & Wang, S. (2020). Protective effect and mechanism of *Monascus*-fermented red yeast rice against colitis caused by *Salmonella enterica* serotype Typhimurium ATCC 14028. *Food & function*, 11(7), 6363-6375.
- Huang, Z., Hu, T., Liu, H., Xie, H., Tian, X., & Wu, Z. (2022). Biosynthesis and polyketide oxidation of *Monascus* red pigments in an integrated fermentation system with microparticles and surfactants. *Food Chemistry*, 394, 133545.
- Ismail, G. A., Fitriana, A. D., & Sukandar, U. (2021, April). Medium Optimization for Production of *Monascus purpureus* Pigment through Solid-state Fermentation. In IOP Conference Series: Materials Science and Engineering (Vol. 1143, No. 1, p. 012019). IOP Publishing.
- James, L. E. A. (2009). Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.): composition, chemistry, nutritional, and functional properties. *Advances in food and nutrition research*, 58, 1-31.
- Jiang, F., Ren, Y., Du, C., Nie, G., Liang, J., Yu, X., & Du, S. K. (2021). Effect of pearling on the physicochemical properties and antioxidant capacity of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) flour. *Journal of Cereal Science*, 102, 103330.
- Joshi, V. K., Attri, D., Bala, A., & Bhushan, S. (2003). Microbial pigments. *Indian J Biotechnol.* 2: 362–369
- Keivani, H., & Jahadi, M. (2022). Solid-state fermentation for the production of *Monascus* pigments from soybean meals. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 46,

102531.

- Ketkaeo, S., Nagano, Y., Baba, S., Kimura, K., Futagami, T., Sanpamongkolchai, W., Kobayashi, G., & 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.
- Kongruang, S. (2011). Growth kinetics of biopigment production by Thai isolated *Monascus purpureus* in a stirred tank bioreactor. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 38(1), 93-99.
- Kraboun, K., Tochampa, W., Chatdamrong, W., & Kongbangkerd, T. (2013). Effect of monosodium glutamate and peptone on antioxidant activity of monascos waxy corn. *International Food Research Journal*, 20(2).
- Lin, T. S., Chiu, S. H., Chen, C. C., & Lin, C. H. (2023). Investigation of monacolin K, yellow pigments, and citrinin production capabilities of *Monascus purpureus* and *Monascus ruber* (*Monascus pilosus*). *Journal of Food and Drug Analysis*, 31(1), 85.
- Liu, G. Y., & Nizet, V. (2009). Color me bad: microbial pigments as virulence factors. *Trends in microbiology*, 17(9), 406-413.
- Manan, M. A., Mohamad, R., & Ariff, A. (2017). The morphology and structure of red pigment producing fungus: *Monascus purpureus*. *J. Microbiol. Exp*, 5(00138), 10-15406.
- McGrath, J. R., Beck, M., & Hill Jr, M. E. (2017). Replicating Red: Analysis of ceramic slip color with CIELAB color data. *Journal of Archaeological Science: Reports*, 14, 432-438.
- Mehri, D., Perendeci, N. A., & Goksungur, Y. (2021). Utilization of whey for red pigment production by *Monascus purpureus* in submerged fermentation. *Fermentation*, 7(2), 75.
- Mercado, J. L., Elías, C. C., & Pascual, G. J. (2015). Obtención de un aislado proteico de

- torta de Sacha Inchi (*Plukenetia volubilis* L.) y evaluación de sus propiedades tecno-funcionales. In *Anales Científicos* (Vol. 76, No. 1, pp. ág-160).
- Mitchell, D. A., Berovic, M., & Krieger, N. (2000). Biochemical engineering aspects of solid state bioprocessing (pp. 61-138). *Springer Berlin Heidelberg*.
- 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.
- Mshayisa, V. V., Van Wyk, J., & Zozo, B. (2022). Nutritional, techno-functional and structural properties of black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae flours and protein concentrates. *Foods*, 11(5), 724.
- Musaalbakri, A. M., Ariff, A., Rosfarizan, M., & Ismail, A. K. M. (2005). Fermentation conditions affecting growth and red pigment production of *Monascus purpureus* FTC 5391. *Journal of Tropical Agriculture and Food Science*, 33(2), 261.
- Muthumani, T., & Kumar, R. S. (2007). Influence of fermentation time on the development of compounds responsible for quality in black tea. *Food Chemistry*, 101(1), 98-102
- Nabi, B. G., Mukhtar, K., Ahmed, W., Manzoor, M. F., Ranjha, M. M. A. N., Kieliszek, M., Bhat, Z. F., & Aadil, R. M. (2023). Natural pigments: Anthocyanins, carotenoids, chlorophylls, and betalains as food colorants in food products. *Food Bioscience*, 102403.
- 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.
- Nyitrai, Á., Urbin, Á., Nagy, B. V., & Sipos, L. (2022). Novel approach in sensory color masking: Effects of colored environments on chocolates with different cocoa content. *Food Quality and Preference*, 95, 104363.
- Oladimeji, B. M., & Adebo, O. A. (2024). Properties and metabolite profiling of Bambara

- groundnut flour as affected by different food processing conditions. *Applied Food Research*, 100389.
- Pailliè-Jiménez, M. E., Stincone, P., & Brandelli, A. (2020). Natural pigments of microbial origin. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 4, 590439.
- Pan, T. M., & Hsu, W. H. (2014). *Monascus*-fermented products. In *Encyclopedia of Food Microbiology: Second Edition* (pp. 815-825). *Elsevier Inc.*.
- Pandey, A., Soccol, C. R., & Mitchell, D. (2000). New developments in solid state fermentation: I-bioprocesses and products. *Process biochemistry*, 35(10), 1153-1169.
- Pineda-Insuasti, J. A., Duarte-Trujillo, A. S., Ayala-Pastaz, K. B., Soto-Arroyave, C. P., & Pineda-Soto, C. A. (2016). Producción de metabolitos por *Monascus* spp.: una revisión. *ICIDCA. Sobre los Derivados de la Caña de Azúcar*, 50(2), 43-52.
- Powar, A., Perwuelz, A., Behary, N., vinh Hoang, L., Aussenac, T., Loghin, C., Sergiu Maier, S., Guan, J., & Chen, G. (2021). Investigation into the color stripping of the pigment printed cotton fabric using the ozone assisted process: A study on the decolorization and characterization. *Journal of Engineered Fibers and Fabrics*, 16, 1558925021992757.
- Prego, I., Maldonado, S., & Otegui, M. (1998). Seed structure and localization of reserves in *Chenopodium quinoa*. *Annals of Botany*, 82(4), 481-488.
- Puspitadewi, S. R. D., Srianta, I., & Kusumawati, N. (2016). Pola produksi pigmen *Monascus* oleh *Monascus* sp. KJR 2 pada media biji durian varietas petruk melalui fermentasi padat. *Jurnal Teknologi Pangan dan Gizi (Journal of Food Technology and Nutrition)*, 15(1), 36-42.
- Quispe-Rivera, E., Tucta-Huillca, F., Silva-Jaimes, M., Gonzales-Barron, U., & Cadavez, V. (2022). Optimization of Pigment Extraction from Quinoa Flour Fermented by *Monascus purpureus* Supplemented with Sodium Chloride. In *Biology and Life Sciences Forum* (Vol. 18, No. 1, p. 67). Multidisciplinary Digital Publishing Institute.

- Rather, L. J., Mir, S. S., Ganie, S. A., Islam, S. U., & Li, Q. (2022). Research progress, challenges, and perspectives in microbial pigment production for industrial applications-A review. *Dyes and Pigments*, 110989.
- Ren, R., Zeng, H., Mei, Q., Xu, Z., Mazhar, M., & Qin, L. (2022). Effects of *Monascus purpureus*-fermented tartary buckwheat extract on the blood lipid profile, glucose tolerance and antioxidant enzyme activities in KM mice. *Journal of Cereal Science*, 105, 103465.
- Repo-Carrasco-Valencia, R., Hellström, J. K., Pihlava, J. M., & Mattila, P. H. (2010). Flavonoids and other phenolic compounds in Andean indigenous grains: Quinoa (*Chenopodium quinoa*), kañiwa (*Chenopodium pallidicaule*) and kiwicha (*Amaranthus caudatus*). *Food chemistry*, 120(1), 128-133.
- Romano, N., Ureta, M. M., Guerrero-Sánchez, M., & Gómez-Zavaglia, A. (2020). Nutritional and technological properties of a quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) spray-dried powdered extract. *Food Research International*, 129, 108884.
- 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.
- Shetty, A. V. K., Dave, N., Murugesan, G., Pai, S., Pugazhendhi, A., Varadavenkatesan, T., Vinayagam, R., & Selvaraj, R. (2021). Production and extraction of red pigment by solid-state fermentation of broken rice using *Monascus sanguineus* NFCCI 2453. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 33, 101964.
- Sheu, F., Wang, C. L., & Shyu, Y. T. (2000). Fermentation of *Monascus purpureus* on Bacterial Cellulose-nata and the Color Stability of *Monascus*-nata Complex. *Journal of food science*, 65(2), 342-345.
- Shi, K., Song, D., Chen, G., Pistolozzi, M., Wu, Z., & Quan, L. (2015). Controlling composition and color characteristics of *Monascus* pigments by pH and nitrogen sources in submerged fermentation. *Journal of bioscience and bioengineering*, 120(2), 145-154.
- Silbir, S., & Goksungur, Y. (2019). Natural red pigment production by *Monascus*

- purpureus* in submerged fermentation systems using a food industry waste: Brewer's spent grain. *Foods*, 8(5), 161.
- Silveira, S. T., Daroit, D. J., & Brandelli, A. (2008). Pigment production by *Monascus purpureus* in grape waste using factorial design. *LWT-Food Science and Technology*, 41(1), 170-174.
- 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.
- Sweeny, J. G., Estrada-Valdes, M. C., Iacobucci, G. A., Sato, H., & Sakamura, S. (1981). Photoprotection of the red pigments of *Monascus anka* in aqueous media by 1, 4, 6-trihydroxynaphthalene. *Journal of agricultural and food chemistry*, 29(6), 1189-1193.
- Thiyam, G., Dufossé, L., & Sharma, A. K. (2020). Characterization of *Talaromyces purpureogenus* strain F extrolites and development of production medium for extracellular pigments enriched with antioxidant properties. *Food and Bioprocesses Processing*, 124, 143-158.
- Tong, A., Lu, J., Huang, Z., Huang, Q., Zhang, Y., Farag, M. A., Liu, B., & Zhao, C. (2022). Comparative transcriptomics discloses the regulatory impact of carbon/nitrogen fermentation on the biosynthesis of *Monascus kaoliang* pigments. *Food Chemistry: X*, 13, 100250.
- Valdez-Arana, J.D.C., Steffolani, M. E., Repo-Carrasco-Valencia, R., Pérez, G. T., & Condezo-Hoyos, L. (2020). Physicochemical and functional properties of isolated starch and their correlation with flour from the Andean Peruvian quinoa varieties. *International Journal of Biological Macromolecules*, 147, 997-1007.
- Valencia-Chamorro, S. A. (2015). Quinoa: overview. *Encyclopedia of food grains*, 1, 341-348.

- Velázquez, M. (2013). Producción de pigmentos fúngicos (*Monascus purpureus* 2955) en residuos agroindustriales por fermentación sólida. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro.
- Velmurugan, P., Hur, H., Balachandar, V., Kamala-Kannan, S., Lee, K. J., Lee, S. M., Chae, J. C., Shea, P., & 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, 211-223.
- Venil, C. K., Devi, P. R., & Ahmad, W. A. (2020). Agro-industrial waste as substrates for the production of bacterial pigment. *Valorisation of Agro-industrial Residues—Volume I: Biological Approaches*, 149-162.
- Venkatachalam, M., Magalon, H., Dufossé, L., & Fouillaud, M. (2018). Production of pigments from the tropical marine-derived fungi *Talaromyces albobiverticillius*: New resources for natural red-colored metabolites. *Journal of Food Composition and Analysis*, 70, 35-48.
- Vera, E. P., Alca, J. J., Saravia, G. R., Campioni, N. C., & Alpuy, I. J. (2019). Comparison of the lipid profile and tocopherol content of four Peruvian quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) cultivars ('Amarilla de Maranganí', 'Blanca de Juli', INIA 415 'Roja Pasankalla', INIA 420 'Negra Collana') during germination. *Journal of cereal science*, 88, 132-137.
- Vilcacundo, R., & Hernández-Ledesma, B. (2017). Nutritional and biological value of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.). *Current Opinion in Food Science*, 14, 1-6.
- Villar Lozano, N. (2021). Propiedades físicas, funcionales y químicas de harina obtenida a partir de semillas de quinoa.

- Wu, Z., Miao, W., Yang, Y., Fan, G., Wu, C., Li, T., Xie, C., & Shen, D. (2022). Preparation of *Monascus*-fermented ginkgo seeds: optimization of fermentation parameters and evaluation of bioactivity. *Food Science and Biotechnology*, 31(6), 721-730.
- Yee, A. L. K., Razali, M., Ismail, M. A. M., Yusoff, I. N., Nagendran, S. K., Zainal, Z., Tobe, H., Date, K., & Yokota, Y. (2023). Preliminary analysis of rock mass weathering grade using image analysis of CIELAB color space with the validation of Schmidt hammer: A case study. *Physics and Chemistry of the Earth, Parts A/B/C*, 129, 103291.
- Yolmeh, M., & Jafari, S. M. (2017). Applications of response surface methodology in the food industry processes. *Food and Bioprocess Technology*, 10(3), 413-433.
- Zhao, C., Yang, F., Lin, F., Qu, Q., Li, Z., Liu, X., Han, Lu., & Shi, X. (2021). Process optimization in ginseng fermentation by *Monascus ruber* and study on bile acid-binding ability of fermentation products in vitro. *Preparative Biochemistry & Biotechnology*, 51(2), 120-126.
- 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.
- Zhou, B., Wang, J., Pu, Y., Zhu, M., Liu, S., & Liang, S. (2009). Optimization of culture medium for yellow pigments production with *Monascus anka* mutant using response surface methodology. *European Food Research and Technology*, 228, 895-901.
- Zhou, J., Wang, M., Carrillo, C., Hassoun, A., Collado, M. C., & Barba, F. J. (2022). Application of omics in food color. *Current Opinion in Food Science*, 46, 100848.

VIII. ANEXOS

Anexo 1. Efecto de la interacción de NaCl x Día sobre L* durante 14 días de fermentación

NaCl x Día		Medía ± desviación estándar
0.1	12	43.66 ± 1.927 a
0.1	8	44.09 ± 3.146 a
0.4	14	45.11 ± 0.217 ab
0.1	14	45.42 ± 1.373 ab
0.2	12	45.47 ± 3.315 ab
0.4	8	45.53 ± 1.615 ab
0.2	8	45.7 ± 0.8903 abc
0.1	10	45.73 ± 2.245 abc
0.2	10	45.96 ± 1.585 abcd
0.4	12	46.21 ± 1.062 abcd
0.05	10	46.67 ± 1.735 abcd
0.4	10	46.95 ± 2.671 abcd
0.2	6	47.34 ± 0.7157 abcd
0.4	6	47.58 ± 1.901 abcd
0.2	14	47.77 ± 2.236 abcd
0.05	8	48.48 ± 0.7133 abcd
0.05	12	49.19 ± 0.6731 bcde
0.05	14	49.55 ± 1.684 bcde
0.1	6	50.65 ± 3.543 cdef
0.05	6	51 ± 2.297 def
0.4	4	53.8 ± 0.7185 efg
0.1	4	55.23 ± 2.034 fgh
0.2	4	56.97 ± 2.607 ghi
0.05	4	57.71 ± 0.6 ghij
0.4	2	60.08 ± 1.16 hijk
0.2	2	60.36 ± 1.095 ijk
0.1	2	61.91 ± 1.213 ijkl
0.05	0	62.31 ± 0.7842 jkl
0.05	2	62.99 ± 1.46 kl
0.1	0	64.04 ± 0.3141 kl
0.4	0	64.55 ± 0.4435 kl
0.2	0	66.08 ± 0.2612 l
Pr(>F)		0.0002083

Anexo 2. Efecto de la interacción de NaCl x Día sobre a* durante 14 días de fermentación

NaCl x Día		Medía ± desviación estándar
0.2	0	6.076 ± 0.05356 a
0.4	0	6.515 ± 0.07477 a
0.1	0	6.671 ± 0.04655 a
0.05	0	6.8 ± 0.1137 a
0.05	2	7.503 ± 0.3855 a
0.1	2	7.584 ± 0.3873 a
0.2	2	7.854 ± 0.2569 a
0.4	2	8.247 ± 0.1368 a
0.05	4	13.9 ± 0.1997 b
0.1	4	14.12 ± 0.6203 b
0.2	4	14.27 ± 1.446 b
0.4	4	14.72 ± 0.8734 bc
0.05	12	17.29 ± 0.9055 cd
0.1	14	17.66 ± 0.7351 de
0.05	14	17.85 ± 0.4806 de
0.4	14	17.98 ± 1.139 def
0.2	14	18.22 ± 1.205 def
0.1	6	18.7 ± 0.1294 def
0.2	12	18.8 ± 1.25 def
0.1	10	18.92 ± 0.978 def
0.1	12	18.95 ± 1.023 def
0.4	12	18.97 ± 1.117 def
0.2	10	19.16 ± 0.9489 def
0.05	10	19.17 ± 0.8069 def
0.4	8	19.35 ± 1.78 def
0.2	6	19.41 ± 0.947 def
0.4	10	19.43 ± 1.474 def
0.1	8	19.51 ± 0.1979 def
0.05	6	19.58 ± 1.153 def
0.4	6	19.63 ± 1.509 def
0.05	8	19.85 ± 1.174 ef
0.2	8	20.47 ± 0.2894 f
Pr(>F)		0.6013

Anexo 3. Efecto de la interacción de NaCl x Día sobre b* durante 14 días de fermentación.

NaCl x Día		Medía ± desviación estándar
0.05	14	18.09 ± 1.074 a
0.05	12	18.2 ± 0.3634 ab
0.4	12	18.27 ± 0.7599 abc
0.2	14	18.67 ± 0.7991 abcd
0.2	12	19.02 ± 0.3977 abcde
0.4	14	19.12 ± 0.2504 abcde
0.2	10	19.33 ± 0.841 abcde
0.1	12	19.51 ± 0.7801 abcde
0.2	8	19.56 ± 0.349 abcde
0.05	8	19.9 ± 0.7754 abcdef
0.1	14	19.9 ± 0.8866 abcdef
0.05	10	19.94 ± 0.6126 abcdefg
0.1	10	20.09 ± 0.6221 abcdefg
0.4	8	20.39 ± 0.6383 bcdefg
0.4	10	20.6 ± 1.803 cdefg
0.05	6	20.86 ± 1.141 defgh
0.1	8	21.26 ± 0.5917 efgh
0.2	6	22.03 ± 0.3675 fghi
0.4	6	22.17 ± 0.9956 ghi
0.1	6	22.89 ± 2.266 hi
0.05	4	24.24 ± 0.3154 ij
0.2	4	25.82 ± 0.4117 jk
0.4	4	25.84 ± 0.4324 jk
0.1	4	26.67 ± 0.5085 kl
0.1	2	27.27 ± 0.6001 kl
0.4	0	27.54 ± 0.2032 kl
0.05	2	27.59 ± 0.4055 kl
0.2	0	27.64 ± 0.08566 kl
0.2	2	27.75 ± 0.4895 kl
0.1	0	27.81 ± 0.1566 kl
0.05	0	27.9 ± 0.1728 kl
0.4	2	28.49 ± 0.4136 l
Pr(>F)		0.01658

Anexo 4. Efecto de la interacción de NaCl x Día sobre C* durante 14 días de fermentación

NaCl x Día		Medía ± desviación estándar
0.05	12	25.11 ± 0.3873 a
0.05	14	25.43 ± 0.4792 a
0.2	14	26.11 ± 0.8341 ab
0.4	14	26.26 ± 0.6677 abc
0.4	12	26.36 ± 0.7476 abcd
0.1	14	26.61 ± 0.9499 abcde
0.2	12	26.76 ± 0.6831 abcdef
0.1	12	27.22 ± 0.5304 abcdef
0.2	10	27.24 ± 0.4328 abcdef
0.1	10	27.6 ± 0.9445 bcdefg
0.05	10	27.67 ± 0.4078 bcdefgh
0.05	4	27.95 ± 0.3338 bcdefgh
0.05	8	28.12 ± 0.9738 bcdefghi
0.4	8	28.12 ± 1.617 bcdefghi
0.4	0	28.3 ± 0.2033 cdefghi
0.2	0	28.3 ± 0.09098 cdefghi
0.1	2	28.31 ± 0.6801 cdefghi
0.2	8	28.32 ± 0.199 cdefghi
0.4	10	28.38 ± 0.7591 cdefghi
0.05	2	28.6 ± 0.4798 defghi
0.1	0	28.6 ± 0.1554 defghi
0.05	6	28.63 ± 0.8479 defghi
0.05	0	28.71 ± 0.1617 efghi
0.2	2	28.84 ± 0.5238 fghi
0.1	8	28.86 ± 0.553 fghi
0.2	6	29.36 ± 0.8623 ghi
0.2	4	29.52 ± 1.02 ghi
0.1	6	29.59 ± 1.78 ghi
0.4	6	29.65 ± 0.3164 ghi
0.4	2	29.66 ± 0.4221 ghi
0.4	4	29.75 ± 0.7656 hi
0.1	4	30.18 ± 0.6437 i
Pr(>F)		0.02393

Anexo 5. Efecto de la interacción de NaCl x Día sobre h° durante 14 días de fermentación.

NaCl x Día		Medía ± desviación estándar
0.2	8	43.69 ± 0.823 a
0.4	12	43.95 ± 2.465 a
0.05	8	45.09 ± 2.098 a
0.2	10	45.25 ± 2.519 ab
0.05	14	45.34 ± 2.425 ab
0.2	12	45.37 ± 2.423 ab
0.2	14	45.73 ± 2.588 ab
0.1	12	45.84 ± 2.461 ab
0.05	10	46.14 ± 1.914 ab
0.05	12	46.5 ± 2.037 ab
0.4	8	46.59 ± 2.042 ab
0.4	10	46.63 ± 4.43 ab
0.1	10	46.73 ± 1.397 ab
0.4	14	46.8 ± 2.095 ab
0.05	6	46.81 ± 2.789 ab
0.1	8	47.46 ± 0.5731 ab
0.1	14	48.42 ± 1.412 ab
0.4	6	48.51 ± 3.428 ab
0.2	6	48.64 ± 1.053 ab
0.1	6	50.64 ± 2.728 b
0.05	4	60.16 ± 0.3434 c
0.4	4	60.35 ± 1.166 c
0.2	4	61.12 ± 2.147 c
0.1	4	62.12 ± 0.9146 c
0.4	2	73.86 ± 0.2077 d
0.2	2	74.2 ± 0.3497 d
0.1	2	74.47 ± 0.4429 d
0.05	2	74.79 ± 0.5729 d
0.05	0	76.3 ± 0.2578 d
0.1	0	76.51 ± 0.1012 d
0.4	0	76.69 ± 0.1508 d
0.2	0	77.6 ± 0.0888 d
Pr(>F)		0.4496

Anexo 6. ANOVA para la optimización de L*

	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t)	
(Intercept)	-60.809	10.78177	-5.64	2.53E-06	***
pH	30.54633	3.43065	8.9039	2.09E-10	***
Sal	231.15333	25.0857	9.2145	9.08E-11	***
FN	20.38333	3.27929	6.2158	4.53E-07	***
I(Sal^2)	-830.93333	112.89448	-7.3603	1.57E-08	***
I(pH^2)	-2.39067	0.28224	-8.4704	6.83E-10	***
pH:FN	-2.30167	0.51529	-4.4667	8.35E-05	***
FN:Sal	-35.1	10.30581	-3.4058	0.001709	**
Multiple R-squared: 0.8929			Adjusted R-squared: 0.8709		

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
FO(pH, Sal, FN)	3	114.542	38.181	47.9313	2.63E-12
I(Sal^2)	1	28.992	28.992	36.3959	7.81E-07
I(pH^2)	1	57.153	57.153	71.7485	6.83E-10
pH:FN	1	15.893	15.893	19.9517	8.35E-05
FN:Sal	1	9.24	9.24	11.5998	0.001709
Residuals	34	27.083	0.797		
Lack of fit	5	10.67	2.134	3.7704	0.009427
Pure error	29	16.414	0.566		

Anexo 7. ANOVA para la optimización de a*

	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t)	
(Intercept)	-38.57167	7.83889	-4.9205	2.33E-05	***
Sal	267.58333	26.11681	10.2456	8.79E-12	***
pH	19.86417	2.38518	8.3282	1.28E-09	***
FN	-19.15833	2.61168	-7.3356	2.02E-08	***
I(Sal^2)	-871.83333	77.69282	-11.2215	8.37E-13	***
I(pH^2)	-1.59792	0.19423	-8.2268	1.69E-09	***
I(FN^2)	3.495	0.77693	4.4985	8.02E-05	***
Sal:pH	-16.25	3.47453	-4.6769	4.76E-05	***
pH:FN	1.55167	0.34745	4.4658	8.82E-05	***
Multiple R-squared: 0.9291			Adjusted R-squared: 0.912		

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
FO(Sal, pH, FN)	3	59.223	19.741	54.508	7.04E-13
I(Sal^2)	1	43.601	43.601	120.389	1.51E-12
I(pH^2)	1	31.423	31.423	86.764	9.29E-11
I(FN^2)	1	7.329	7.329	20.236	8.02E-05
Sal:pH	1	7.922	7.922	21.873	4.76E-05
pH:FN	1	7.223	7.223	19.944	8.82E-05
Residuals	33	11.952	0.362		
Lack of fit	4	8.74	2.185	19.733	6.15E-08
Pure error	29	3.211	0.111		

Anexo 8. ANOVA para la optimización de b*

	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t)	
(Intercept)	6.678333	3.522303	1.896	0.0664833	.
Sal	30.125	8.302148	3.6286	0.0009255	***
pH	2.479167	1.12672	2.2003	0.0346763	*
FN	3.775833	0.830215	4.548	0.00006569	***
I(Sal^2)	-130.5	37.505283	-3.4795	0.0013974	**
I(pH^2)	-0.197083	0.093763	-2.1019	0.0430432	*
I(FN^2)	-1.451667	0.375053	-3.8706	0.0004685	***
Sal:FN	7.566667	3.354574	2.2556	0.0306414	*
Multiple R-squared: 0.903			Adjusted R-squared: 0.883		

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
FO(Sal, pH, FN)	3	24.2999	8.1	95.9727	< 2.2e-16
I(Sal^2)	1	0.558	0.558	6.6115	0.0146788
I(pH^2)	1	0.155	0.155	1.8365	0.1842916
I(FN^2)	1	1.2644	1.2644	14.9813	0.0004685
Sal:FN	1	0.4294	0.4294	5.0879	0.0306414
Residuals	34	2.8696	0.0844		
Lack of fit	5	0.4233	0.0847	1.0036	0.4332182
Pure error	29	2.4463	0.0844		

Anexo 9. ANOVA para la optimización de C*

	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t)	
(Intercept)	-25.855	6.64578	-3.8904	0.0004587	***
Sal	225.41667	22.1417	10.1806	1.032E-11	***
pH	16.91708	2.02215	8.3659	1.154E-09	***
FN	-11.47583	2.21417	-5.1829	0.00001076	***
I(Sal^2)	-751.83333	65.86759	-11.4143	5.335E-13	***
I(pH^2)	-1.35542	0.16467	-8.2312	1.665E-09	***
I(FN^2)	1.925	0.65868	2.9225	0.0062254	**
Sal:pH	-11.86667	2.94569	-4.0285	0.0003103	***
pH:FN	1.06167	0.29457	3.6041	0.0010188	**
Multiple R-squared: 0.9018			Adjusted R-squared: 0.8779		

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
FO(Sal, pH, FN)	3	17.0197	5.6732	21.7939	5.763E-08
I(Sal^2)	1	30.9227	30.9227	118.7906	1.795E-12
I(pH^2)	1	21.0734	21.0734	80.9541	2.129E-10
I(FN^2)	1	2.2234	2.2234	8.5412	0.0062254
Sal:pH	1	4.2245	4.2245	16.2287	0.0003103
pH:FN	1	3.3814	3.3814	12.9898	0.0010188
Residuals	33	8.5903	0.2603		
Lack of fit	4	5.1928	1.2982	11.0811	0.00001407
Pure error	29	3.3975	0.1172		

Anexo 10. ANOVA para la optimización de h°

	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t)	
(Intercept)	97.16333	11.76244	8.2605	1.537E-09	***
Sal	-291.3	39.18887	-7.4332	1.531E-08	***
pH	-20.9975	3.57902	-5.8668	1.428E-06	***
FN	32.07833	3.91889	8.1856	1.886E-09	***
I(Sal^2)	874.5	116.57986	7.5013	1.263E-08	***
I(pH^2)	1.68792	0.29145	5.7915	1.783E-06	***
I(FN^2)	-6.50833	1.1658	-5.5827	3.302E-06	***
Sal:pH	22.95	5.21361	4.4019	0.0001061	***
pH:FN	-2.22167	0.52136	-4.2613	0.0001593	***
Multiple R-squared: 0.9339			Adjusted R-squared: 0.9179		

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
FO(Sal, pH, FN)	3	235.08	78.36	96.094	< 2.2e-16
I(Sal^2)	1	48.708	48.708	59.731	6.677E-09
I(pH^2)	1	40.535	40.535	49.709	4.549E-08
I(FN^2)	1	25.415	25.415	31.167	0.000003302
Sal:pH	1	15.801	15.801	19.377	0.0001061
pH:FN	1	14.807	14.807	18.159	0.0001593
Residuals	33	26.91	0.815		
Lack of fit	4	18.767	4.692	16.71	3.297E-07
Pure error	29	8.143	0.281		

Anexo 11. ANOVA para proteína de harina de quinua fermentada y sin fermentar

En la tabla ANOVA para Proteína por Muestra, el valor $P < 0.05$ de la prueba F indica que existe diferencia estadísticamente significativa entre la media de Proteína entre un nivel de Muestra y otro, con un nivel del 95.0% de confianza.

Tabla ANOVA para Proteína por Muestra

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	126.612	1	126.612	6637.13	0.0000
Intra grupos	0.076305	4	0.0190762		
Total (Corr.)	126.688	5			

Pruebas de Múltiple Rangos para Proteína por Muestra

Las tablas a continuación de comparación múltiple indican que medias son diferentes estadísticamente con un nivel del 95.0% de confianza. Los grupos homogéneos con distintas letras demostrarían que existen diferencias estadísticamente significativas.

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

Muestra	Casos	Media	Grupos Homogéneos
Harina sin fermentar	3	12.4428	A
Harina fermentada	3	21.6302	B

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
Harina fermentada - Harina sin fermentar	*	9.18737	0.313106

* indica una diferencia significativa.

Anexo 12. ANOVA para ceniza de harina de quinua fermentada y sin fermentar

En la tabla ANOVA para Ceniza por Muestra, el valor $P < 0.05$ de la prueba F indica que existe diferencia estadísticamente significativa entre la media de Ceniza entre un nivel de Muestra y otro, con un nivel del 95.0% de confianza.

Tabla ANOVA para Ceniza por Muestra

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	8.11216	1	8.11216	114924.79	0.0000
Intra grupos	0.000282347	4	0.0000705867		
Total (Corr.)	8.11244	5			

Pruebas de Múltiple Rangos para Ceniza por Muestra

Las tablas a continuación de comparación múltiple indican que medias son diferentes estadísticamente con un nivel del 95.0% de confianza. Los grupos homogéneos con distintas letras demostrarían que existen diferencias estadísticamente significativas

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

Muestra	Casos	Media	Grupos Homogéneos
Harina sin fermentar	3	1.79867	A
Harina fermentada	3	4.1242	B

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
Harina fermentada - Harina sin fermentar	*	2.32553	0.0190461

* indica una diferencia significativa.

Anexo 13. ANOVA para grasa de harina de quinua fermentada y sin fermentar

En la tabla ANOVA para Grasa por Muestra, el valor $P < 0.05$ de la prueba F indica que existe diferencia estadísticamente significativa entre la media de Grasa entre un nivel de Muestra y otro, con un nivel del 95.0% de confianza.

Tabla ANOVA para Grasa por Muestra

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	1.38509	1	1.38509	48.40	0.0022
Intra grupos	0.114478	4	0.0286195		
Total (Corr.)	1.49957	5			

Pruebas de Múltiple Rangos para Grasa por Muestra

Las tablas a continuación de comparación múltiple indican que medias son diferentes estadísticamente con un nivel del 95.0% de confianza. Los grupos homogéneos con distintas letras demostrarían que existen diferencias estadísticamente significativas.

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

Muestra	Casos	Media	Grupos Homogéneos
Harina sin fermentar	3	4.18503	A
Harina fermentada	3	5.14597	B

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
Harina fermentada - Harina sin fermentar	*	0.960933	0.383509

* indica una diferencia significativa.

Anexo 14. ANOVA para carbohidrato de harina de quinua fermentada y sin fermentar

En la tabla ANOVA para Carbohidrato por Muestra, el valor $P < 0.05$ de la prueba F indica que existe diferencia estadísticamente significativa entre la media de Carbohidrato entre un nivel de Muestra y otro, con un nivel del 95.0% de confianza.

Tabla ANOVA para Carbohidrato por Muestra

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	472.883	1	472.883	1189.45	0.0000
Intra grupos	1.59026	4	0.397566		
Total (Corr.)	474.473	5			

Pruebas de Múltiple Rangos para Carbohidrato por Muestra

Las tablas a continuación de comparación múltiple indican que medias son diferentes estadísticamente con un nivel del 95.0% de confianza. Los grupos homogéneos con distintas letras demostrarían que existen diferencias estadísticamente significativas.

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

Muestra	Casos	Media	Grupos Homogéneos
Harina fermentada	3	61.0828	A
Harina sin fermentar	3	78.8382	B

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
Harina fermentada - Harina sin fermentar	*	-17.7554	1.42939

* indica una diferencia significativa.

Anexo 15. ANOVA para humedad de harina de quinua fermentada y sin fermentar

En la tabla ANOVA para Humedad por Muestra, el valor $P < 0.05$ de la prueba F indica que existe diferencia estadísticamente significativa entre la media de Humedad entre un nivel de Muestra y otro, con un nivel del 95.0% de confianza.

Tabla ANOVA para Humedad por Muestra

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	41.8429	1	41.8429	135.08	0.0003
Intra grupos	1.23903	4	0.309757		
Total (Corr.)	43.082	5			

Pruebas de Múltiple Rangos para Humedad por Muestra

Las tablas a continuación de comparación múltiple indican que medias son diferentes estadísticamente con un nivel del 95.0% de confianza. Los grupos homogéneos con distintas letras demostrarían que existen diferencias estadísticamente significativas.

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

Muestra	Casos	Media	Grupos Homogéneos
Harina sin fermentar	3	2.7353	A
Harina fermentada	3	8.0169	B

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
Harina fermentada - Harina sin fermentar	*	5.2816	1.2617

* indica una diferencia significativa.

Anexo 16. ANOVA para materia seca de harina de quinua fermentada y sin fermentar

En la tabla ANOVA para Materia Seca por Muestra, el valor $P < 0.05$ de la prueba F indica que existe diferencia estadísticamente significativa entre la media de Materia Seca entre un nivel de Muestra y otro, con un nivel del 95.0% de confianza.

Tabla ANOVA para Materia Seca por Muestra

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	41.7965	1	41.7965	134.19	0.0003
Intra grupos	1.2459	4	0.311474		
Total (Corr.)	43.0424	5			

Pruebas de Múltiple Rangos para Materia Seca por Muestra

Las tablas a continuación de comparación múltiple indican que medias son diferentes estadísticamente con un nivel del 95.0% de confianza. Los grupos homogéneos con distintas letras demostrarían que existen diferencias estadísticamente significativas.

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

Muestra	Casos	Media	Grupos Homogéneos
Harina fermentada	3	91.9831	A
Harina sin fermentar	3	97.2618	B

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
Harina fermentada - Harina sin fermentar	*	-5.27867	1.26519

* indica una diferencia significativa.

Anexo 17. ANOVA para capacidad de absorción de agua de harina de quinua fermentada y sin fermentar

En la tabla ANOVA para CAAg (g/g) por Muestra, el valor $P < 0.05$ de la prueba F indica que existe diferencia estadísticamente significativa entre la media de CAAg (g/g) entre un nivel de Muestra y otro, con un nivel del 95.0% de confianza.

Tabla ANOVA para CAAg (g/g) por Muestra

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	2.99627	1	2.99627	502.17	0.0000
Intra grupos	0.0238667	4	0.00596667		
Total (Corr.)	3.02013	5			

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

Las tablas a continuación de comparación múltiple indican que medias son diferentes estadísticamente con un nivel del 95.0% de confianza. Los grupos homogéneos con distintas letras demostrarían que existen diferencias estadísticamente significativas.

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

Muestra	Casos	Media	Grupos Homogéneos
Harina sin fermentar	3	1.01667	A
Harina fermentada	3	2.43	B

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
Harina fermentada - Harina sin fermentar	*	1.41333	0.17511

* indica una diferencia significativa.

Anexo 18. ANOVA para capacidad de absorción de aceite de harina de quinua fermentada y sin fermentar

En la tabla ANOVA para CAAC (g/g) por Muestra, el valor $P > 0.05$ de la prueba F indica que no existe diferencia estadísticamente significativa entre la media de CAAC (g/g) entre un nivel de Muestra y otro, con un nivel del 95.0% de confianza.

Tabla ANOVA para CAAC (g/g) por Muestra

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	0.000266667	1	0.000266667	0.18	0.6918
Intra grupos	0.00586667	4	0.00146667		
Total (Corr.)	0.00613333	5			

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

Las tablas a continuación de comparación múltiple indican que medias no son diferentes estadísticamente con un nivel del 95.0% de confianza. Los grupos homogéneos con las mismas letras demostrarían que no existen diferencias estadísticamente significativas.

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

Muestra	Casos	Media	Grupos Homogéneos
Harina fermentada	3	1.05667	A
Harina sin fermentar	3	1.07	A

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
Harina fermentada - Harina sin fermentar		-0.0133333	0.0868181

* indica una diferencia significativa.

Anexo 19. ANOVA para actividad emulsificante de harina de quinua fermentada y sin fermentar

Tabla de Medias para AE (%) por Muestra con intervalos de confianza del 95.0%

Muestra	Casos	Media	Error Est. (s agrupada)	Límite Inferior	Límite Superior
Harina fermentada	3	57.1167	0.353868	56.4219	57.8114
Harina sin fermentar	3	58.22	0.353868	57.5253	58.9147
Total	6	57.6683			

Pruebas de Múltiple Rangos para AE (%) por Muestra

Las tablas a continuación de comparación múltiple indican que medias no son diferentes estadísticamente con un nivel del 95.0% de confianza. Los grupos homogéneos con las mismas letras demostrarían que no existen diferencias estadísticamente significativas.

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

Muestra	Casos	Media	Grupos Homogéneos
Harina fermentada	3	57.1167	A
Harina sin fermentar	3	58.22	A

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
Harina fermentada - Harina sin fermentar		-1.10333	1.38946

* indica una diferencia significativa.

Anexo 20. ANOVA para estabilidad de la emulsión de harina de quinua fermentada y sin fermentar

Tabla de Medias para EEm (%) por Muestra con intervalos de confianza del 95.0%

			<i>Error Est.</i>		
<i>Muestra</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>(s agrupada)</i>	<i>Límite Inferior</i>	<i>Límite Superior</i>
Harina fermentada	3	53.6233	0.356994	52.9225	54.3242
Harina sin fermentar	3	55.4767	0.356994	54.7758	56.1775
Total	6	54.55			

Pruebas de Múltiple Rangos para EEm (%) por Muestra

Las tablas a continuación de comparación múltiple indican que medias son diferentes estadísticamente con un nivel del 95.0% de confianza. Los grupos homogéneos con distintas letras demostrarían que existen diferencias estadísticamente significativas.

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

<i>Muestra</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
Harina fermentada	3	53.6233	A
Harina sin fermentar	3	55.4767	B

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Límites</i>
Harina fermentada - Harina sin fermentar	*	-1.85333	1.40173

* indica una diferencia significativa.

Anexo 21. ANOVA para la capacidad de formación de espuma de harina de quinua fermentada y sin fermentar

En la tabla ANOVA para CFE(%) por Muestra, el valor $P < 0.05$ de la prueba F indica que existe diferencia estadísticamente significativa entre la media de CFE(%) entre un nivel de Muestra y otro, con un nivel del 95.0% de confianza.

Tabla ANOVA para 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	96.0	1	96.0	38.40	0.0034
Intra grupos	10.0	4	2.5		
Total (Corr.)	106.0	5			

Pruebas de Múltiple Rangos para CFE (%) por Muestra

Las tablas a continuación de comparación múltiple indican que medias son diferentes estadísticamente con un nivel del 95.0% de confianza. Los grupos homogéneos con distintas letras demostrarían que existen diferencias estadísticamente significativas.

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

<i>Muestra</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
Harina fermentada	3	4.0	A
Harina sin fermentar	3	12.0	B

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Límites</i>
Harina fermentada - Harina sin fermentar	*	-8.0	3.58439

* indica una diferencia significativa.

Anexo 22. ANOVA para la estabilidad de la espuma de harina de quinua fermentada y sin fermentar

En la tabla ANOVA para EEs(%) por Muestra, el valor $P < 0.05$ de la prueba F indica que existe diferencia estadísticamente significativa entre la media de EEs(%) entre un nivel de Muestra y otro, con un nivel del 95.0% de confianza.

Tabla ANOVA para EEs (%) 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	2296.34	1	2296.34	46.34	0.0024
Intra grupos	198.229	4	49.5572		
Total (Corr.)	2494.57	5			

Pruebas de Múltiple Rangos para EEs (%) por Muestra

Las tablas a continuación de comparación múltiple indican que medias son diferentes estadísticamente con un nivel del 95.0% de confianza. Los grupos homogéneos con distintas letras demostrarían que existen diferencias estadísticamente significativas.

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

<i>Muestra</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
Harina fermentada	3	41.11	A
Harina sin fermentar	3	80.2367	B

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Límites</i>
Harina fermentada - Harina sin fermentar	*	-39.1267	15.9587

* indica una diferencia significativa.