



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL



**CINÉTICA DE FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA ASISTIDA POR
ULTRASONIDO DE LA PULPA HIDROLIZADA DE TRES
GENOTIPOS DE ISAÑO (*Tropaeolum tuberosum*)**

TESIS

PRESENTADA POR:

Bach. MARIA LIZBETH MAMANI MAMANI

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

INGENIERO AGROINDUSTRIAL

PUNO – PERÚ

2023



Reporte de similitud

NOMBRE DEL TRABAJO

CINÉTICA DE FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA ASISTIDA POR ULTRASONIDO DE LA PULPA HIDROLIZADA DE TRES GENOTIPOS

AUTOR

María Lizbeth Mamani Mamani

RECuento DE PALABRAS

37515 Words

RECuento DE CARACTERES

169911 Characters

RECuento DE PÁGINAS

155 Pages

TAMAÑO DEL ARCHIVO

3.2MB

FECHA DE ENTREGA

Dec 6, 2023 10:25 AM GMT-5

FECHA DEL INFORME

Dec 6, 2023 10:27 AM GMT-5

17% de similitud general

El total combinado de todas las coincidencias, incluidas las fuentes superpuestas, para cada base de datos

- 16% Base de datos de Internet
- Base de datos de Crossref
- 7% Base de datos de trabajos entregados
- 3% Base de datos de publicaciones
- Base de datos de contenido publicado de Crossref

Excluir del Reporte de Similitud

- Material bibliográfico
- Material citado
- Material citado
- Coincidencia baja (menos de 12 palabras)



Dr. Alejandro Coloma Páez



Dra. Alicia Magaly Leon Tacca
DOCENTE
E.F. ING. AGROINDUSTRIAL - F.C.A.
UNA - PUNO

Resumen



DEDICATORIA

*A Dios Elohim por darme las
fuerzas suficientes para seguir
adelante y haberme dado sabiduría
e inteligencia en los momentos
difíciles.*

*A toda mi familia, en especial a mis padres: Imelda
Mamani Lipa y Florián Mamani Huayta, por
apoyarme en todo momento, sobre todo por la
paciencia y la confianza que tuvieron de creer en
mí, para llegar a ser un profesional y por estar a mi
lado en los momentos más difíciles de mi vida, a mis
hermanos: Cecilia Mamani y German Mamani, por
su apoyo incondicional.*

*A mis tíos: Silvano Mamani y
Karen Quispe por apoyarme a lo
largo de mi carrera profesional,
aconsejándome y darme su
confianza para salir adelante y
cumplir mis más grandes anhelos.*

María Lizbeth Mamani M.

“En medio de la tormenta, confía en Dios”



AGRADECIMIENTOS

A mi Alma Mater la Universidad Nacional del Altiplano, por ser la casa donde recibí mi formación profesional. A los catedráticos de la Facultad de Ciencias Agrarias, en particular a la plana docente y administrativos de la Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial por haberme impartido sus valiosas enseñanzas y experiencias compartidas durante mi formación profesional.

Mi sincero agradecimiento al director de la presente tesis Dr. Alejandro Coloma Paxi, por sus consejos, aliento, sugerencias y directriz durante todo el desarrollo del presente trabajo de investigación.

Al Ing. M. Sc. Saire Roenfi Guerra Lima, Dra. Rosario Edely Ortega Barriga e Ing. M. Sc. Whany Quispe Chambi por su guía, acertadas sugerencias, recomendaciones, consejos, correcciones y apoyo desde el inicio hasta la culminación del presente trabajo de investigación.

A los encargados de los laboratorios: Sr. Pablo, Sr. Rufino, Srta Mary y Srta Roxana por permitirme la disposición y facilidad de los materiales de laboratorio para el presente trabajo de investigación.

Finalmente, un especial agradecimiento a mis compañeros y amigos quienes siempre me brindaron su apoyo, aliento y fuerza para la realización de este proyecto y seguir adelante.

María Lizbeth Mamani M.



ÍNDICE GENERAL

DEDICATORIA

AGRADECIMIENTOS

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE TABLAS

ÍNDICE DE FIGURAS

ÍNDICE DE ANEXOS

ACRÓNIMOS

RESUMEN 14

ABSTRACT..... 15

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

1.1 OBJETIVO GENERAL 18

1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS 18

CAPÍTULO II

REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN..... 19

2.2 MARCO TEÓRICO 21

2.2.1 Fermentación alcohólica 21

2.2.1.1 Crecimiento de las levaduras durante la fermentación alcohólica
..... 23

2.2.1.2 Condiciones necesarias para la fermentación alcohólica 24

2.2.2 Levaduras 26

2.2.2.1 Clasificación de levaduras 26

2.2.2.2 *Saccharomyces cerevisiae* 27



2.2.2.3	Nutrientes de las levaduras.....	28
2.2.2.4	Metabolismo de las levaduras	28
2.2.3	Cinética de fermentación	29
2.2.3.1	Cinética de crecimiento microbiano.....	30
2.2.3.2	Fases del crecimiento de levadura.....	30
2.2.4	Modelos cinéticos	32
2.2.4.1	Modelo de Monod	32
2.2.4.2	Modelo de Michaelis - Menten	33
2.2.5	Bebida alcohólica fermentada.....	34
2.2.5.1	Tipos de bebidas alcohólicas fermentadas	35
2.2.5.2	Vino.....	36
2.2.6	Ultrasonido.....	37
2.2.6.1	Campos de aplicación del ultrasonido.....	38
2.2.6.2	Ventajas del ultrasonido	39
2.2.6.3	Ultrasonido en procesamiento de alimentos	40
2.2.7	Isaño	41
2.2.7.1	Clasificación taxonómica del isaño.....	42
2.2.7.2	Composición química del isaño	43
2.2.7.3	Zonas productoras de isaño en el Perú	44

CAPÍTULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1	LUGAR DE EJECUCION.....	45
3.2	MATERIALES, EQUIPOS Y REACTIVOS	45
3.2.1	Materia prima.....	45
3.2.2	Material biológico	45



3.2.3	Materiales.....	46
3.2.4	Equipos.....	46
3.2.5	Instrumentos.....	47
3.2.6	Reactivos.....	48
3.3	METODOLOGÍA EXPERIMENTAL	49
3.3.1	Flujograma de fermentación alcohólica de isaño por ultrasonido	49
3.3.2	Descripción del diagrama de flujo	50
3.4	MÉTODOS DE ANÁLISIS.....	54
3.4.1	Métodos de análisis para la evaluación de la cinética de fermentación de isaño asistida por ultrasonido en función a los parámetros (Brix, azúcares reductores, concentración de biomasa y producción de etanol).....	54
3.4.1.1	Determinación de °Brix.....	54
3.4.1.2	Determinación de azúcares reductores.....	54
3.4.1.3	Determinación de biomasa (levadura)	56
3.4.1.4	Determinación de etanol	56
3.4.2	Métodos de análisis para la caracterización fisicoquímica de la bebida alcohólica fermentada de isaño.	58
3.4.2.1	Determinación de pH (medición directa).....	58
3.4.2.2	Determinación de densidad con picnómetro.....	58
3.4.2.3	Determinación de acidez total.....	59
3.4.2.4	Determinación de acidez volátil.....	59
3.4.2.5	Determinación de extracto seco total	59
3.4.2.6	Determinación de etanol	60
3.4.2.7	Determinación de color.....	61
3.4.3	Determinación de los parámetros cinéticos	61



3.5	DISEÑO EXPERIMENTAL	63
3.5.1	Diseño experimental para la determinación del efecto del genotipo de isaño y potencia de ultrasonido sobre los parámetros experimentales de fermentación de isaño como (°Brix, azúcares reductores, concentración de biomasa y producción de etanol).....	63
3.5.2	Diseño experimental para la evaluación del efecto del genotipo de isaño y potencia de ultrasonido sobre las características fisicoquímicas de la bebida fermentada de isaño.	64
3.5.3	Diseño experimental para la aplicación del modelo cinético de Monod en función al parámetro de °Brix y rendimiento del proceso de fermentación.	65
3.6	DISEÑO ESTADÍSTICO.....	66
3.6.1	Diseño estadístico para el primer objetivo.....	66
3.6.2	Diseño estadístico para el segundo y tercer objetivo	67

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1	EVALUACIÓN DEL EFECTO DEL GENOTIPO DE ISAÑO Y POTENCIA DE ULTRASONIDO SOBRE LOS PARÁMETROS EXPERIMENTALES DE FERMENTACIÓN (°Brix, azúcares reductores, concentración de biomasa y producción de etanol).	68
4.1.1	Comportamiento de los sólidos solubles (°Brix) en el proceso de fermentación asistida por ultrasonido evaluado en tres genotipos de isaño.	68
4.1.2	Comportamiento de los azúcares reductores en el proceso de fermentación asistida por ultrasonido evaluado en tres genotipos de isaño.....	72



4.1.3	Comportamiento de la concentración de biomasa de la levadura <i>Saccharomyces cerevisiae</i> en el proceso de fermentación asistida por ultrasonido evaluado tres genotipos de isaño.....	77
4.1.4	Comportamiento de la producción de etanol en el proceso de fermentación asistida por ultrasonido evaluado en tres genotipos de isaño.....	82
4.2	CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA DE LA BEBIDA FERMENTADA ASISTIDA POR ULTRASONIDO A BASE DE ISAÑO	87
4.2.1	Característica fisicoquímica de la bebida fermentada a base de isaño (pH, densidad, acidez total, acidez volátil, extracto seco y contenido de etanol).	87
4.2.2	Característica fisicoquímica de la bebida fermentada a base de isaño (Evaluación colorimétrica instrumental CIELAB L*, C*, H*)	92
4.3	APLICACIÓN DEL MODELO CINÉTICO DE MONOD EN FUNCIÓN AL PARÁMETRO DE °BRIX EN LA FERMENTACIÓN DE ISAÑO ASISTIDA POR ULTRASONIDO.....	95
V.	CONCLUSIONES.....	99
VI.	RECOMENDACIONES.....	100
VII.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	101
ANEXOS.....		109

ÁREA: Ingeniería y tecnología

TEMA: Propiedades físicas y estructurales

FECHA DE SUSTENTACION: 19 de diciembre del 2023



ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.	Composición química del isaño (g/100g)	43
Tabla 2.	Producción de isaño en el Perú	44
Tabla 3.	Metodología para elaborar la curva patrón de glucosa	55
Tabla 4.	Esquema de la preparación de las soluciones estándar	57
Tabla 5.	Diseño experimental para el primer objetivo	63
Tabla 6.	Diseño experimental para el segundo objetivo	64
Tabla 7.	Diseño experimental para el tercer objetivo	65
Tabla 8.	Característica fisicoquímica de la bebida fermentada asistida por ultrasonido a base de isaño	88
Tabla 9.	Color de la bebida fermentada asistida por ultrasonido a base de isaño.....	93
Tabla 10.	Parámetros cinéticos del modelo de Monod y rendimiento del proceso de fermentación asistida por ultrasonido a base de isaño	96
Tabla 11.	Análisis de varianza para la variable independiente °Brix	114
Tabla 12.	Análisis de varianza para la variable independiente azúcares reductores..	115
Tabla 13.	Análisis de varianza para la variable independiente concentración de biomasa	116
Tabla 14.	Análisis de varianza para la variable independiente producción de etanol	117



ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.	Crecimiento de las levaduras durante la fermentación alcohólica.	23
Figura 2.	Clasificación de las levaduras	27
Figura 3.	Curva de crecimiento microbiano.	30
Figura 4.	Baño ultrasónico.....	40
Figura 5.	Genotipos de isaño: (a) amarillo, (b) morado y (c) amarillo-morado.	41
Figura 6.	Diagrama de flujo de fermentación alcohólica de isaño asistida por ultrasonido.	49
Figura 7.	Cinética de disminución de los sólidos solubles (°Brix) durante la fermentación a 25°C evaluado en tres genotipos de isaño: A: Amarillo, B: Amarillo con ojos morado y C: Morado.	69
Figura 8.	Cinética de consumo de azúcares reductores, evaluado en tres genotipos de isaño, A: Amarillo, B: Amarillo con ojos morado y C: Morado.....	74
Figura 9.	Cinética de concentración de biomasa, evaluado en tres genotipos de isaño, A: Amarillo, B: Amarillo con ojos morado y C: Morado.	78
Figura 10.	Cinética de producción de etanol evaluado en tres genotipos de isaño, A: Amarillo, B: Amarillo con ojos morado y C: Morado.	83



ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO 1.	Resultados de recolección de datos de sólidos solubles (°Brix)	109
ANEXO 2.	Resultados de recolección de datos de azúcares reductores (g/L).....	110
ANEXO 3.	Resultados de recolección de datos de concentración de levaduras (UFC	111
ANEXO 4.	Resultados de recolección de datos de producción de etanol (v/v)%....	112
ANEXO 5.	Curva patrón de glucosa	113
ANEXO 6.	Curva patrón de etanol	113
ANEXO 7.	Análisis de varianza para la variable independiente °Brix.....	114
ANEXO 8.	Análisis de varianza para la variable independiente azúcares reductores...	115
ANEXO 9.	Análisis de varianza para la variable independiente concentración de biomasa (<i>Saccharomyces cerevisiae</i>).....	116
ANEXO 11.	Análisis de varianza para el pH.....	118
ANEXO 12.	Análisis de varianza para la densidad.....	119
ANEXO 13.	Análisis de varianza para la acidez total	120
ANEXO 14.	Análisis de varianza para la acidez volátil	121
ANEXO 15.	Análisis de varianza para el extracto seco	122
ANEXO 16.	Análisis de varianza para la producción de etanol	123
ANEXO 17.	Análisis de varianza para el color.....	124
ANEXO 19.	Cuadro de resultados del modelo cinético de Monod y rendimiento del proceso de fermentación	142
ANEXO 20.	Análisis de varianza para el modelo cinético de Monod y rendimiento del proceso de fermentación.	144
ANEXO 21.	Panel fotográfico	148



ACRÓNIMOS

US	: Ultrasonido
kHz	: Kilo Hertz
W	: Watt
Kg	: Kilogramo
°C	: Grados Celsius
mL	: Mililitro
g/L	: Gramo por litro
g/mL	: Gramo por mililitro
pH	: Potencial de hidrógeno
%	: Porcentaje
(v/v)%	: Porcentaje volumen-volumen
ANVA	: Análisis de varianza
L*	: Luminosidad
a*	: Coordenada rojo/verde [rojo (+) a verde (-)],
b*	: Coordenada amarillo/azul [amarillo (+) a azul (-)]
C*	: Croma
H*	: Angulo de Tono
NTP	: Normas Técnicas Peruanas
NTC	: Normas Técnicas Colombianas
OIV	: Organización Internacional del Vino



RESUMEN

El isaño destaca por sus compuestos fenólicos antioxidantes, los cuales son beneficiosos para la salud. La fermentación de alimentos convencionales requiere mucho tiempo, donde el ultrasonido es una tecnología que mejora la eficacia de la fermentación. El presente trabajo de investigación tiene como objetivo evaluar la cinética de fermentación alcohólica asistida por ultrasonido de tres genotipos de isaño (*Tropaeolum tuberosum*). Las variables experimentales fueron: genotipos de isaño (amarillo, morado y amarillo con ojos morado) y potencia de ultrasonido (0 W, 100 W, 200 W y 300 W). En la primera etapa se evaluaron los parámetros experimentales (°Brix, azúcares reductores, concentración de biomasa y producción de etanol) durante la fermentación cada 12 horas durante 84 horas a 25°C y frecuencia de 50 kHz. Los resultados mostraron que la variable genotipo y potencia de ultrasonido afectó significativamente ($p < 0.05$) sobre los parámetros experimentales, siendo el mejor resultado a 100 W en isaño morado, donde presentó mayor disminución los sólidos solubles de 16.0 hasta 4.3°Brix, azúcares reductores de 7.20 hasta 2.46 g/L, con mayor producción de etanol 10.36 (v/v)% a las 84 horas. En cuanto a la concentración de levaduras alcanzó el máximo crecimiento de $1.5E+07$ UFC/mL a las 60 horas, posteriormente disminuyó. En la segunda etapa se evaluó el efecto del genotipo y la potencia de ultrasonido sobre los parámetros fisicoquímicos de la bebida fermentada de isaño. Los resultados mostraron diferencias significativas, excepto por la densidad y el color. Se consideró relevante el pH de 3.87 y acidez volátil de 0.43 g/L, evitando así alteraciones en la bebida y se produjo un máximo de 10.36 (v/v)% de etanol evaluado a 100 W en isaño morado. Este estudio demostró que el ultrasonido en 100 W promueve mejor el crecimiento de las levaduras y la producción de etanol en comparación con el tratamiento sin ultrasonido.

Palabras clave: Cinética, Fermentación alcohólica, Isaño, Ultrasonido.



ABSTRACT

Isaño stands out for its antioxidant phenolic compounds, which are beneficial for health. Fermentation of conventional foods is time-consuming, where ultrasound is a technology that improves fermentation efficiency. The objective of this research work is to evaluate the kinetics of ultrasound-assisted alcoholic fermentation of three genotypes of isaño (*Tropaeolum tuberosum*). The experimental variables were: isaño genotypes (yellow, purple and yellow with purple eyes) and ultrasound power (0 W, 100 W, 200 W and 300 W). In the first stage, the experimental parameters ($^{\circ}$ Brix, reducing sugars, biomass concentration and ethanol production) were evaluated during the fermentation every 12 hours for 84 hours at 25°C and a frequency of 50 kHz. The results showed that the variable genotype and ultrasound power significantly affected ($p < 0.05$) the experimental parameters, with the best result being at 100 W in isaño morado, where soluble solids showed the greatest decrease from 16.0 to 4.3 $^{\circ}$ Brix, reducing sugars. from 7.20 to 2.46 g/L, with greater production of ethanol 10.36 (v/v)% at 84 hours. Regarding the yeast concentration, it reached maximum growth of 1.5E+07 CFU/mL at 60 hours, and subsequently decreased. In the second stage, the effect of genotype and ultrasound power on the physicochemical parameters of the fermented isaño drink was evaluated. The results showed significant differences, except for density and color. The pH of 3.87 and volatile acidity of 0.43 g/L were considered relevant, thus avoiding alterations in the drink and a maximum of 10.36 (v/v)% of ethanol was produced evaluated at 100 W in isaño morado. This study demonstrated that ultrasound at 100 W better promoted yeast growth and ethanol production compared to treatment without ultrasound.

Keywords: Kinetics, Alcoholic fermentation, Isaño, Ultrasound.



CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

Actualmente en el mundo existe una tendencia que revaloriza la alimentación saludable y sus procesos culturales. En este sentido, existe una demanda cada vez mayor de productos naturales de nuestros antepasados para integrarlos en la dieta. Según estudios hay un gran interés por el uso de antioxidantes para la prevención y tratamiento de enfermedades, por tal razón, una dieta rica en antioxidantes juega un papel importante en la prevención del desarrollo de determinadas enfermedades patológicas (Beltran A. y Mera J., 2014).

El isaño o mashua (*Tropaeolum tuberosum* R. & P.) es un tubérculo de los andes, pertenece a la familia tropaeolaceae (Aruquipa et al., 2017). Sus características más destacadas están asociadas con la concentración de glucosinolatos y compuestos fenólicos antioxidantes, los cuales son beneficiosos para la salud (Chirinos et al., 2007). Debido al contenido de compuestos fenólicos es utilizado para el tratamiento contra enfermedades venéreas, pulmonares y analgésico para dolores de riñón y vejiga (Apaza et al., 2019). También se utiliza para aliviar las enfermedades urinarias, la próstata, es anticancerígeno y actúa como un agente diurético (Aguilar et al., 2020; Campos et al., 2018).

Este tipo de tubérculo tiene poca aceptación debido a su sabor amargo, el cual se origina por la presencia de isotiocianatos que se liberan cuando se hidrolizan los glucosinolatos. Surge la importancia de innovar nuevos productos alimenticios a base isaño con calidad nutricional y medicinal que sean aceptables para los consumidores, evitando así pérdidas en el consumo y utilizando el proceso tecnológico por fermentación alcohólica.



La fermentación de alimentos convencionales requiere mucho tiempo y su maduración requiere un espacio enorme. El ultrasonido (US) es una tecnología que surgió en la industria alimentaria para mejorar la eficacia de la fermentación de alimentos y presenta grandes potenciales en la maduración de alimentos fermentados para producir alimentos fermentados de alta calidad basándose en sus ventajas sobre los procesos tradicionales (Yu et al., 2021). También es ampliamente utilizado en la industria alimentaria, especialmente en la ingeniería de fermentación (Zhang et al., 2019).

Además, es considerada una tecnología limpia y de gran potencial y prometedora en la ingeniería de fermentación (Robles y Ochoa, 2012). Todos los estudios revisados han indicado que el ultrasonido en las condiciones adecuadas sería una técnica prometedora para producir alimentos fermentados de alta calidad (Yu et al., 2021).

Por lo tanto, el presente trabajo de investigación tiene la finalidad de aprovechar el isaño como una bebida fermentada, evaluando así la cinética de fermentación con la aplicación del ultrasonido que podría acelerar los procesos de fermentación, mejorando la calidad de la bebida fermentada y potencialmente generar beneficios económicos para los productores de isaño utilizando esta tecnología.



1.1 OBJETIVO GENERAL

- Evaluar el efecto del genotipo de isaño y potencia de ultrasonido sobre los parámetros experimentales de la cinética de fermentación y las características fisicoquímicas de la bebida fermentada a base de isaño.

1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar el efecto del genotipo de isaño y potencia de ultrasonido sobre los parámetros experimentales de la cinética de fermentación.
- Evaluar el efecto del genotipo de isaño y potencia de ultrasonido sobre las características fisicoquímicas de la bebida fermentada a base de isaño.
- Determinar los parámetros cinéticos del modelo de Monod en función al parámetro °Brix en la fermentación alcohólica de isaño.



CAPÍTULO II

REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN

Choi et al., (2015), estudiaron el efecto de un ultrasonido indirecto 'tipo baño' en la fermentación de cerveza hecha de cebada coreana de seis hileras. Las muestras de cerveza fueron tratadas en un baño de ultrasonidos durante 4 días durante la fermentación primaria. La frecuencia del ultrasonido fue de 40 kHz, y la potencia de entrada se ajustó a 120, 160 y 200 W. Se realizó tratamiento ultrasónico durante 2, 6 y 12 h para cada entrada energética. Se midieron las propiedades fisicoquímicas y sensoriales, así como la calidad de las cervezas. La ultrasonicación mejoró la producción de etanol en un 13,18 % a 160 W. En vista de los beneficios potenciales de la ultrasonicación y la reducción del tiempo de preparación, se justifican más estudios en esta área.

Al Daccache et al., (2020), estudiaron el impacto del ultrasonido de baja intensidad (US) en *Hanseniaspora sp.* para la producción de sidra. La fermentación de jugo de manzana asistida por US mostró un aumento significativo en el crecimiento de la biomasa y consumo de glucosa, junto con una disminución significativa en el rendimiento de etanol. La cinética de crecimiento más rápida fue en un 52 % y la mayor reducción de etanol en un 0,55 % v/v se obtuvo para el tratamiento durante las primeras 12 h de fermentación. Los resultados demostraron la eficiencia prometedora de la fermentación asistida por US para estimular el crecimiento de la biomasa y reducir el contenido de etanol en las bebidas alcohólicas.

Zhang et al., (2019), evaluaron las influencias de los tratamientos ultrasónicos con diferentes modos de trabajo (frecuencia fija (FF) y frecuencia de barrido (SF)) y



rendimiento del metabolismo de *S. cerevisiae* fueron investigados por emplear una ranura de irradiación ultrasónica in situ junto con un equipo de fermentación. Los resultados revelaron que el tratamiento ultrasónico in situ podría promover el crecimiento bacteriano y rendimiento del metabolismo; el efecto del ultrasonido con FF fue mayor que el ultrasonido con SF. En FF de 23 kHz y 48 h de tiempo de fermentación, el contenido de etanol aumentó en 19.33 %. En conclusión, FF podría mejorar significativamente el crecimiento de *S. cerevisiae*, donde a 23 kHz mostró el impacto óptimo en el proceso de fermentación.

Klomklieng & Prateepasen, (2011), estudiaron el ultrasonido de baja potencia en el rango de 20-30 kHz para mejorar la fermentación de etanol a partir de melaza. Se realizó a T° ambiente y se controló el pH, temperatura y la producción de etanol. Las concentraciones máximas de etanol al 13,8 %, 15,6 % y 13,1 % se lograron con energía ultrasónica suministrada a 20, 25 y 30 kHz, respectivamente, mientras que el sistema de control fue del 12,0 %. Los resultados demostraron que el ultrasonido de baja potencia en el rango de 20-30 kHz podría mejorar la producción de etanol mediante la estimulación del rendimiento de *S. cerevisiae* al reducir el tiempo de fermentación entre 6 y 9 h en comparación con el uso del biorreactor de control.

Pulidindi et al., (2012) estudiaron el uso de ondas ultrasónicas suaves y continuas generadas por un baño ultrasónico con una potencia de 120 W a una frecuencia de 40 kHz, utilizando la levadura *S. cerevisiae*, para la fermentación de glucosa en condiciones de sonicación, el cual aceleró la reacción de fermentación de la glucosa mediante un factor de 2,3 y 2,5 a 30 y 20 °C, respectivamente, en comparación a una reacción agitada convencional. La exposición a ultrasonidos suave no ha descompuesto las células de levadura. El ultrasonido mejora la producción de etanol por lo que es útil no sólo para la industria del vino sino también para las próximas industrias de etanol.

2.2 MARCO TEÓRICO

2.2.1 Fermentación alcohólica

La fermentación es un proceso que se lleva a cabo en un fermentador. Los microorganismos a lo largo del proceso aumentan la concentración de biomasa, mientras que, bajo la influencia de actividades catabólicas y anabólicas, en el medio se transforma y se forman nuevos productos. También es un proceso catabólico de oxidación incompleta, totalmente anaeróbico, y los productos finales son compuestos orgánicos. Estos productos finales son los que caracterizan los diversos tipos de fermentaciones. La fermentación típica es llevada a cabo por las levaduras, así mismo se puede definir la fermentación como la oxidación incompleta de carbohidratos, aminoácidos y sustancias similares por la acción de los microorganismos (Pari, 2013).

El cultivo de biomasa, ya sean levaduras o bacterias, requiere un reactor o fermentador que sirva como principal herramienta para su producción. Éste provee todas las condiciones necesarias para el cultivo, tales como agitación, regulación de temperatura, suministro de oxígeno, entradas para adición de nutrientes, control del pH, etc (Muñoz & Catrilaf, 2013).

La fermentación alcohólica es una reacción biológica que descompone los azúcares en alcohol y dióxido de carbono. La conversión se expresa mediante la siguiente ecuación:



El principal responsable de esta transformación es la levadura. La levadura *Saccharomyces cerevisiae*, es la especie más utilizada. Así también existen



estudios para producir alcohol con otros hongos y bacterias, como la *Zymomonas mobilis*, pero la explotación a nivel industrial es mínima (Vázquez & Dacosta, 2007).

En términos de fermentación alcohólica se puede establecer que la fabricación de vino y cerveza son un caso particular de producción de etanol y considerado un producto del alto consumo nivel mundial, debido a que su elaboración se debe a la fermentación del mosto de uva y malta por algunas levaduras y entre ellas destaca la especie *Saccharomyces cerevisiae*, las cuales transforman los azúcares en etanol, CO₂, biomasa y ATP, en este proceso también ocurre una fermentación intermedia conocida como la fermentación de la glicerina (Salinas, 2022).

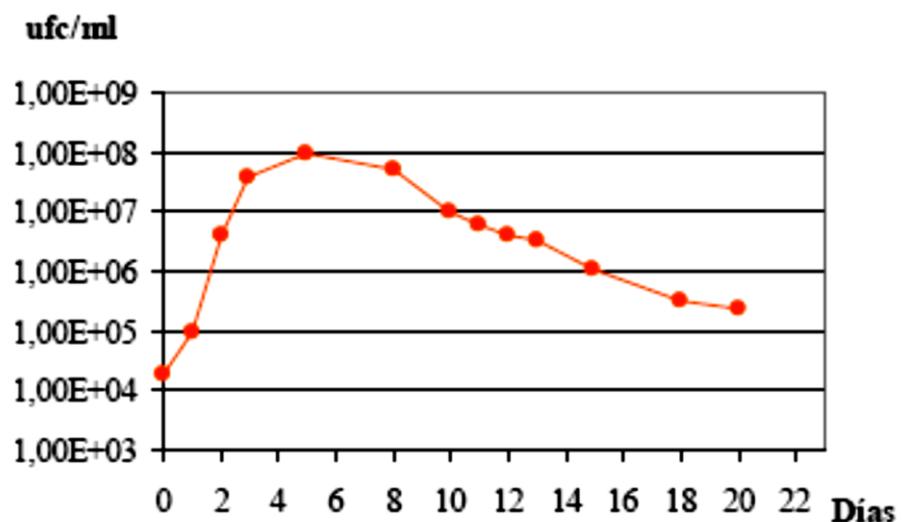
La fermentación alcohólica se puede dividir en dos etapas. En el primer paso, la levadura descompone algunas moléculas de azúcar a través del tracto respiratorio: el metabolismo se produce a través de la vía de la glucólisis y transfiere el piruvato creado al ciclo de Krebs con una alta producción de energía, lo que permite a la levadura multiplicarse rápidamente y alcanzar una gran biomasa. Esta etapa se mantiene hasta que se agota el oxígeno disuelto en el mosto. Una vez que se agota el oxígeno, la levadura comienza su viaje de fermentación. En la ruta fermentativa, el ácido pirúvico formado en la glicólisis se descarboxila a acetaldehído y éste a su vez, se reduce posteriormente, a etanol (Vázquez & Dacosta, 2007).

2.2.1.1 Crecimiento de las levaduras durante la fermentación alcohólica

El crecimiento y la fermentación alcohólica están completamente relacionados, ya que existen similitudes entre la pérdida de azúcar durante la fermentación y el desarrollo de las poblaciones de levadura a lo largo del tiempo. La pauta de crecimiento de las levaduras durante la fermentación alcohólica es similar al ciclo de crecimiento clásico de microorganismos, pero prácticamente se reduce a tres fases (Figura 1): fase de crecimiento con multiplicación activa de las levaduras, fase estacionaria, donde se mantiene la viabilidad de las levaduras presentes, pero no hay multiplicación y fase de declive, donde comienza la mortandad celular y avanza paulatinamente (García y Mamani, 2008).

Figura 1.

Crecimiento de las levaduras durante la fermentación alcohólica.



Fuente: (García y Mamani, 2008).



2.2.1.2 Condiciones necesarias para la fermentación alcohólica

- **Concentración de azúcares**

La concentración de azúcar será la que determine principalmente el tiempo que dura el ciclo de crecimiento celular de la levadura por lo que se puede dividir en tres etapas: la fase de multiplicación celular (también conocida como crecimiento exponencial), la fase estacionaria y la fase de muerte. Es importante mantener los niveles bajos de azúcares para permitir una multiplicación inicial exitosa de la levadura. Se considera que una concentración de azúcar entre 10 °Brix y 18 °Brix es adecuada, aunque en ocasiones se emplean concentraciones demasiado altas que inhiben el crecimiento de las levaduras (García y Mamani, 2008).

- **pH**

La generación de ácidos orgánicos en alimentos que han pasado por un proceso de fermentación habitualmente ocasiona una disminución en el pH, alcanzando valores por debajo de 4.0. Esta condición asegura la inocuidad microbiológica del producto, ya que ciertos microorganismos patógenos no pueden sobrevivir en un ambiente con dicho nivel de acidez. La importancia del pH en la fermentación radica en su papel crucial para controlar la proliferación de bacterias y su impacto en el crecimiento de las levaduras, la velocidad de fermentación y la producción de etanol con *Sacharomyces cerevisiae*. Para lograr un proceso fermentativo óptimo con levaduras, se recomienda mantener un pH entre 4,5 y 5,0 (Puerari et al., 2015).



- **Temperatura**

Uno de los factores que comúnmente se evalúa en la fermentación alcohólica es el control de la temperatura, lo cual es una medición sencilla de realizar y que indirectamente determina la actividad de las levaduras. Además, ayuda a prever posibles detenciones de la fermentación debido a temperaturas elevadas. Cuanto más alta sea la temperatura dentro del rango adecuado, mayor será la velocidad de fermentación y la producción de subproductos. Sin embargo, a temperaturas más bajas es más factible obtener un mayor contenido de alcohol, ya que las levaduras fermentan más lentamente a altas temperaturas y pueden agotarse antes (Hidalgo, 2018).

Las levaduras son más tolerantes a las variaciones de temperatura en comparación con las levaduras, dado que estas últimas no pueden sobrevivir a temperaturas por debajo del punto de congelación. Su rango óptimo de crecimiento se sitúa entre los 20 y 30 °C. A temperaturas de 45 a 47 °C, las levaduras mueren, por lo tanto, si se desea eliminarlas de cualquier alimento o bebida, es suficiente calentarlo a 50 a 60 °C durante 5 minutos (Puerari et al., 2015).

Según Hommel, (2014), la temperatura adecuada para el crecimiento de las levaduras se encuentra en el rango mesófilo de 25 a 30 °C. En general, las levaduras tienen la capacidad de crecer en un rango de temperaturas que va desde 0 °C hasta 47 °C. Además, las levaduras prosperan favorablemente en ambientes ácidos, donde el pH se sitúa entre 4,0 y 4,5.



2.2.2 Levaduras

Estos organismos son hongos unicelulares de tipo eucariota que se multiplican mediante gemación o fisión. En el proceso de fabricación de cerveza, la especie *Saccharomyces cerevisiae* es la más relevante a nivel de género, pero hay muchas otras especies que desempeñan un papel crucial en la definición de las características de diversos estilos de cerveza y otras bebidas fermentadas (Salinas, 2022).

Es fundamental tener en cuenta que las levaduras son seres vivos cuya respuesta y producción de determinados compuestos variará según su entorno. El cervecero tiene el control sobre dicho entorno, por lo tanto, es de gran importancia que el cervecero esté consciente de cómo reaccionará la levadura ante ciertos factores ambientales (Salinas, 2022).

2.2.2.1 Clasificación de levaduras

Las levaduras son miembros del reino Fungi que corresponden a la división Eumicota, que agrupa a los hongos. Dentro de esta división, las levaduras se encuentran en dos de las cinco subdivisiones de los Eumicetos. La primera es la Ascomycota, que incluye levaduras capaces de desarrollar ascosporas, también conocidas como esporógenas. La segunda es la Deuteromycotina, que incluye levaduras que no pueden formar esporas, también conocidas como esporógenas o no esporógenas. Los géneros de levaduras esporógenas, todos estos pertenecen a la familia Saccharomycetaceae y se distribuyen en tres subfamilias. Por otro lado, las levaduras no esporógenas pertenecen a la familia Cryptococcaceae (García y Mamani, 2008; Mesas & Alegre, 1999).

Figura 2.

Clasificación de las levaduras

Reino	Fungi			
División	Eumycota			
Subdivisión	Ascomycotina		Basidiomycotina	Deuteromycotina
Clase	Hemiascomycetales			Blastomyces
Orden	Endomycetales			
Familia	Saccharomycetaceae			Cryptococaceae
Subfamilia	Saccharomycetoideae	Nadsonioideae	Schizosaccharomycetoideae	
Géneros	<i>Debaryomyces</i> <i>Dekkera</i> <i>Hansenula</i> <i>Kluyveromyces</i> <i>Pichia</i> <i>Saccharomyces</i> <i>Torulaspota</i> <i>Zygosaccharomyces</i>	<i>Hanseniopsis</i> <i>Saccharomycodes</i>	<i>Schizosaccharomyces</i>	<i>Brettanomyces</i> <i>Candida</i> <i>Cryptococcus</i> <i>Kloeckera</i> <i>Rhodotorula</i>

Fuente: (García y Mamani, 2008).

2.2.2.2 Saccharomyces cerevisiae

Esta levadura está ampliamente considerada como una especie de mejor adaptación para la fermentación, es la principal especie que impulsa el proceso en fermentaciones no inoculadas, y durante muchas décadas fue casi la única especie de levadura comercializada para la fermentación alcohólica. En consecuencia, las estrategias biotecnológicas basadas en *Saccharomyces cerevisiae* para disminuir el rendimiento de etanol no se centra en nuevos aislados naturales sino en modificar el metabolismo del carbono de las cepas ya utilizadas (Wang et al., 2020). El objetivo es desviar el carbono del azúcar a la producción de otros metabolitos, principalmente mediante ingeniería metabólica, pero también por evolución adaptativa en el laboratorio (Lee et al., 2021).



2.2.2.3 Nutrientes de las levaduras

La levadura *Saccharomyces cerevisiae*, tiene respuestas distintas a los dos principales tipos de nutrientes, carbono y nitrógeno. Las células de levadura pueden reconocer la naturaleza y disponibilidad de los compuestos de nitrógeno, y ajustan activamente sus capacidades transcripcionales, metabólicas y biosintéticas para adaptarse a esa percepción. Cuando hay una limitación de nitrógeno, las células reducen su velocidad de crecimiento, principalmente mediante la disminución de la biogénesis y la traducción ribosomal (Vallejo et al., 2020).

2.2.2.4 Metabolismo de las levaduras

El crecimiento celular implica el procesamiento de los nutrientes como parte fundamental del metabolismo para producir energía, generar bloques de construcción para la biosíntesis de moléculas grandes y facilitar la síntesis de diversas moléculas necesarias para la división celular. En el caso de las células de levadura, es crucial que sean capaces de identificar los nutrientes disponibles y ajustar su actividad metabólica para que se alinee con la naturaleza y la cantidad de dichos nutrientes (Klosinska et al., 2011).

Existe un complejo sistema de comunicación biológica que determina las interacciones entre microorganismos, como la acción de toxinas y compuestos antimicrobianos, la limitación de nutrientes que podría ser consecuencia de una rápida absorción de nutrientes, y la liberación de otros compuestos, como ácidos grasos o ácido acético (Salinas, 2022).



2.2.3 Cinética de fermentación

Los análisis cinéticos son imprescindibles para comprender el funcionamiento de cualquier proceso de fermentación. En términos generales, estos estudios implican la medición o estimación de las velocidades de síntesis celular, la formación de productos y los efectos del entorno en estas velocidades (Apaza, 2016).

Dado que las tasas de producción de etanol y CO_2 están estrechamente relacionadas con el crecimiento de la levadura, por lo que la cinética de producción de cada producto se puede expresar en cultivos discontinuos. Además, la velocidad de reacción también cambia dependiendo de la temperatura. Para facilitar el estudio de los reactores microbianos, a menudo se asume que existe una relación constante entre la velocidad de consumo del sustrato y la velocidad de producción metabólica, en un sistema microorganismo-sustrato específico (Onofre, 2018).

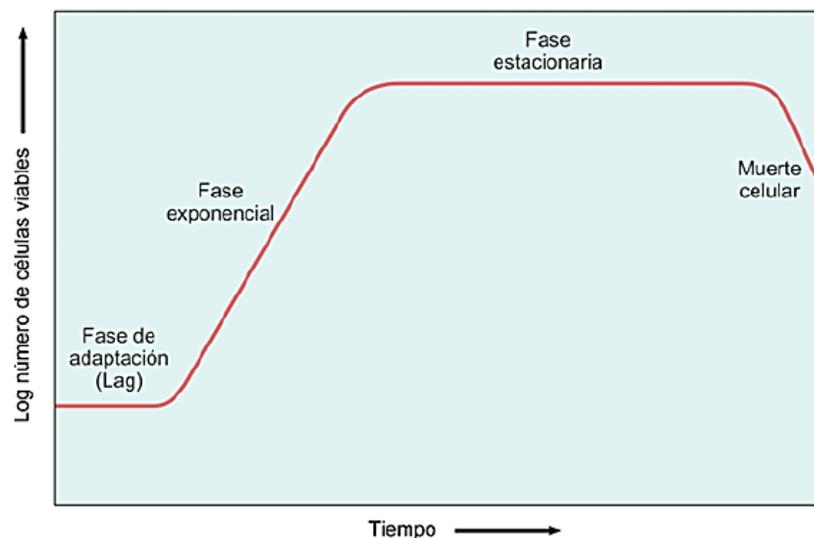
Para monitorear la cinética de la fermentación alcohólica, es suficiente realizar mediciones periódicas de la concentración de azúcares en el mosto. Durante este proceso, el principal producto metabólico formado es el etanol (Pari, 2013).

2.2.3.1 Cinética de crecimiento microbiano

El proceso de crecimiento microbiano se activa cuando se agregan algunas células viables (inóculo) a la solución de sustrato en condiciones óptimas de temperatura y pH. Se puede observar una curva característica de crecimiento microbiano en un reactor Batch y en un medio definido como se observa en la Figura 3 (Levenspiel, 2004).

Figura 3.

Curva de crecimiento microbiano.



Fuente: (Levenspiel, 2004).

2.2.3.2 Fases del crecimiento de levadura

A. Fase de adaptación

En el inicio, se experimenta una fase de adaptación celular o fase de retraso en la cual no hay crecimiento. La duración de este período es mayor cuando las nuevas condiciones en las que las células deben crecer difieren más significativamente de las condiciones originales en las que se encontraban (Salinas, 2022).



B. Fase de crecimiento exponencial

Se observa un aumento acelerado que conduce a un crecimiento exponencial en la cantidad de células. Esta fase se caracteriza por un crecimiento equilibrado, ya que todos los componentes celulares experimentan un incremento proporcional durante un período de tiempo determinado. La levadura empieza a reproducirse de forma exponencial o logarítmica, donde la cantidad de células aumentará rápidamente, por lo que, se producirán compuestos saborizantes y etanol (Izquierdo T et al., 2008).

C. Fase estacionaria

La fase estacionaria ocurre cuando las células dejan de dividirse o cuando las variables alcanzan el equilibrio con las células muertas. En esta etapa, el crecimiento no se produce debido a una disminución en la cantidad de sustratos u otros componentes necesarios para el crecimiento y la acumulación de productos inhibidores que son tóxicos para la célula. Si la fase estacionaria es causada por la falta de sustrato, diluir la muestra no alterará la situación. Debido a la escasez de nutrientes y a la acumulación de productos tóxicos, la población no puede mantenerse por sí misma y comienza la fase de declive o muerte (Pandey et al., 2018).

D. Fase de muerte

Cuando la población microbiana alcanza un cierto tamaño específico, el medio puede cambiar debido a la disminución de nutrientes, suministro insuficiente de oxígeno a los microorganismos aeróbicos o una acumulación de productos tóxicos. Como resultado, es probable que el



número de células disminuya. La levadura empieza a someterse a un proceso que preservará su vida mientras se alista para la inactivación, por medio de la producción de una sustancia denominada glucógeno (Jiang et al., 2019).

2.2.4 Modelos cinéticos

Los modelos cinéticos se utilizan para describir las relaciones entre variables de estado clave y explicar el comportamiento de fermentación. Es importante realizar estudios cinéticos que impliquen medir o estimar las velocidades de síntesis celular, formación de productos y efectos ambientales sobre las velocidades. Los modelos a nivel celular se centran principalmente en los procesos de lote o batch, que son los más relevantes desde el punto de vista comercial (Coillo V., 2017).

En su artículo sobre cinética de reacciones bioquímicas, Palomino (2003) presenta varios modelos cinéticos para determinar la velocidad de crecimiento celular. A continuación, se mencionan algunos de ellos:

2.2.4.1 Modelo de Monod

El modelo de Monod podría explicar el comportamiento del crecimiento celular, la concentración de sustratos y productos, así como sus relaciones (Harmand et al., 2019).

Cuando los nutrientes limitan el crecimiento de biomasa, como los sustratos que sirven como fuentes de carbono o nitrógeno, o la concentración de oxígeno u otros oxidantes en el medio, la tasa de crecimiento específica puede describirse mediante la ecuación de Monod.

En esta ecuación, la velocidad de utilización del sustrato está influenciada por su concentración (González et al., 2018).

Aunque se han propuesto varias ecuaciones para explicar esta relación, el modelo de Monod es simple y fácil de aplicar en la práctica. Según este modelo, la tasa de crecimiento microbiano (μ) está determinada por la concentración del sustrato limitante (generalmente una fuente de carbono), mientras que otros nutrientes están presentes en concentraciones suficientes o superiores a los requisitos microbianos. Esta relación se expresa mediante la siguiente ecuación (Zapata et al., 2005).

$$\mu = \mu_{max} \frac{S}{K_s + S} \quad (2)$$

Donde:

μ : Velocidad específica de crecimiento h^{-1}

μ_{max} : Velocidad máxima de crecimiento h^{-1}

K_s : Constante de saturación g/L

S : Concentración de sustrato limitante g/L

2.2.4.2 Modelo de Michaelis - Menten

El modelo cinético de Michaelis-Menten, nombrado en honor a Leonor Michaelis y Maud Menten, describe las velocidades de reacción de muchas reacciones enzimáticas. Este modelo es aplicable sólo cuando la concentración del sustrato es mayor que la concentración de la enzima y en condiciones de estado estacionario, lo que significa que la concentración del complejo enzima-sustrato permanece constante. En su

artículo sobre la cinética de reacciones bioquímicas, Palomino y Erazo (1999) propusieron el modelo cinético de Michaelis-Menten como método para determinar las tasas de crecimiento celular (Coillo V., 2017).

Este modelo se define de la siguiente manera:

$$\mu = \frac{\mu_{max}S}{K_m+S} \quad (3)$$

Donde:

μ : Velocidad de reacción del sustrato.

S: Constante de saturación.

μ_{max} : Velocidad máxima.

K_m : Constante de Michaelis Menten

2.2.5 Bebida alcohólica fermentada

Es un producto obtenido principalmente de la fermentación alcohólica de materias primas de origen vegetal. Proceso que tiene como objetivo convertir de un mosto azucarado en productos alcohólicos en un ambiente anaeróbico y bajo la acción de levaduras, en presencia de nutrientes y en definitiva a una temperatura, pH y acidez óptima, de modo que la levadura funcione correctamente (Coronel, 2015). Las levaduras son capaces de cambiar su metabolismo en condiciones anaeróbicas, mientras que en condiciones aeróbicas respiran glucosa en forma de dióxido de carbono y agua, y en condiciones anaeróbicas liberan etanol y dióxido de carbono (Baltes, 2007).



2.2.5.1 Tipos de bebidas alcohólicas fermentadas

Las bebidas alcohólicas fermentadas son líquidas, y el proceso implica el crecimiento de microorganismos como las levaduras, existen muchos tipos de bebidas en el mundo, como el vino, la sidra, la cerveza, etc. Algunos productos han sido estudiados detalladamente y los microorganismos que sirven como sustratos de fermentación han sido aislados y luego utilizados en la producción industrial (Garibay et al. 2004).

Si bien el término “vino” tradicionalmente se refiere a bebidas alcohólicas elaboradas a base de uva, actualmente en Colombia, según la norma técnica NTC 708/1998, este término también se acepta para bebidas elaboradas con otras materias primas como frutas, jugo de uva u otras fuentes, esto permite la fermentación alcohólica.

La manufactura de vinos de otras frutas distintas de la uva es muy popular en muchos países del norte europeo especialmente en Polonia, Rusia y Alemania (Ferreira et al., 2009). La obtención de vinos de frutas ha sido probada en varios países al elaborarlos de diversas frutas como piña, granada, papaya, etc (Ronquillo et al., 2016). Así mismo ha sido probada la obtención de vino de diversos tubérculos como oca según Oré et al. (2019) y de tubérculo de cubio o isaño (Morantes Triana, 2018).

Estas bebidas forman parte de la dieta y tradiciones de muchas etnias; su consumo entre estas poblaciones está generalizado y ha persistido en el tiempo. La producción de estas bebidas fermentadas es sencilla y económica. Además, este proceso es un método de conservación



del producto que elimina microorganismos no deseados y aumenta el valor nutricional (Barbado, 2005).

2.2.5.2 Vino

Es la bebida que resulta exclusivamente de la fermentación parcial o completa de la uva fresca, estrujada o no, o de su mosto (NTP 212.014, 2016).

El vino está compuesto principalmente por agua, etanol, carbohidratos, ácidos orgánicos, minerales y fenoles que dan forma al sabor, aroma y color del producto final (Kołota et al., 2020). La mayor parte del vino se elabora a partir de uvas, a menos que se especifique otra fuente, la palabra vino se refiere al producto que resulta de la fermentación del jugo de uva (Ferreyra et al., 2009).

A continuación, se describen algunos tipos de vino que se han clasificado así:

a. Por su color

El color del vino es uno de los aspectos sensoriales más importantes, ya que es indicador de otros aspectos relacionados con su aroma y sabor, y además es el primer rasgo que percibe el ojo. Con el color podemos conocer la edad, concentración tánica, estado de conservación e incluso adivinar algunos de sus defectos (Zamora, 2003).

Los compuestos fenólicos se clasifican en diferentes grupos, antocianinas y flavonoides los cuales tienen mayor influencia sobre el color, su evolución y otras características organolépticas en los alimentos (Pérez



et al., 2018). Las antocianinas y taninos son los que dan el color del vino; las antocianinas son pigmentos presentes en los frutos maduros donde sus colores pueden ser rojos, violeta y azules (Oviedo et al., 2018).

- ♦ Vino tinto: Obtenido por fermentación del mosto de uvas tintas
- ♦ Vinos blancos: Obtenidos por fermentación del mosto de uvas blancas.
- ♦ Vino rosado: Obtenido por fermentación del mosto de uvas blancas y tintas.

b. Por su contenido de azúcares reductores

- ♦ Seco: Si el contenido de azúcar en el vino es hasta 4 g/L.
- ♦ Semi-seco: Si el contenido de azúcar en el vino es superior al indicado en el punto anterior, hasta 90 g/L.
- ♦ Dulce: El contenido de azúcar en el vino es superior a 90 g/L.

2.2.6 Ultrasonido

El ultrasonido (US) es una tecnología que surgió en la industria alimentaria para mejorar la eficacia de la fermentación de alimentos y presenta grandes potenciales en la maduración de alimentos fermentados para producir alimentos fermentados de alta calidad (Yu et al., 2021). También puede reducir el tiempo del proceso y mejorar las características de calidad basándose en sus ventajas sobre los procesos tradicionales. Además, es considerada una tecnología limpia y de gran potencial y prometedora en la ingeniería de fermentación (Robles y Ochoa, 2012).



Durante numerosos años, se ha utilizado tecnología ultrasónica en diversos dispositivos para supervisar una amplia gama de procesos industriales. En la actualidad, estas tecnologías están ganando reconocimiento como métodos altamente efectivos para vigilar los procesos alimentarios, cumpliendo con requisitos fundamentales como la no invasión, la no destructibilidad y la facilidad de automatización (Lamberti et al., 2009).

La frecuencia y la potencia son dos factores importantes del procesamiento ultrasónico. Ambos parámetros pueden determinar las condiciones de procesamiento y aplicaciones del ultrasonido. En la industria alimentaria, el ultrasonido se puede dividir en dos rangos de potencia: la potencia relativamente baja (≤ 100 W) y a un nivel de alta potencia (≥ 100 W) para promover la maduración de alimentos fermentados mediante la promoción de la reacción de Maillard, oxidación, esterificación y proteólisis. Como resultado de la fermentación y maduración promovidas, se mejoraron la textura, el color, el sabor y el gusto de los alimentos fermentados (Yu et al., 2021). Por otro lado, la frecuencia: ultrasonido de alta frecuencia (100 kHz-1 MHz), que comúnmente se aplica como técnica analítica, y el ultrasonido de baja frecuencia (16-100 kHz) que puede usarse para generar emulsiones, desorganizar células y dispersar materiales agregados (Bautista et al. 2017).

2.2.6.1 Campos de aplicación del ultrasonido

Los fenómenos físicos y químicos utilizados por los ultrasonidos son fundamentalmente diferentes de los utilizados en los métodos tradicionales de extracción, procesamiento y conservación. Esta tecnología presenta ventajas en términos de productividad, rendimiento y



selectividad, ya que puede reducir el tiempo de procesamiento, mejorar la calidad, reducir los riesgos químicos y físicos, considerándose respetuoso con el medio ambiente. Actualmente es considerada una técnica de procesamiento sustentable, debido a que típicamente emplea menos tiempo, agua y energía (Chemat et al., 2017).

Específicamente, el uso de ultrasonidos de alta intensidad puede inhibir la actividad microbiana al descomponer moléculas grandes como enzimas y posiblemente modificar y descomponer proteínas nativas en pequeños péptidos. Por otro lado, el uso de ultrasonidos de intensidad óptima mejora la permeabilidad de la membrana en las células, promoviendo su eficiencia. Además, se sabe que con niveles de potencia acústica suficientemente altos, los ultrasonidos pueden romper las células, donde el proceso de ultrasonificación es una técnica de laboratorio bien establecida para el rompimiento celular (Klompkieng & Prateepasen, 2011).

2.2.6.2 Ventajas del ultrasonido

- Reducción de los tiempos y temperaturas de proceso
- Pocos requerimientos de adaptación en plantas ya establecidas
- Aumento del fenómeno de transferencia de calor
- Posibles cambios en la estructura y textura de los alimentos
- Efecto sobre la actividad enzimática
- Puede emplearse en procesos continuos o intermitentes

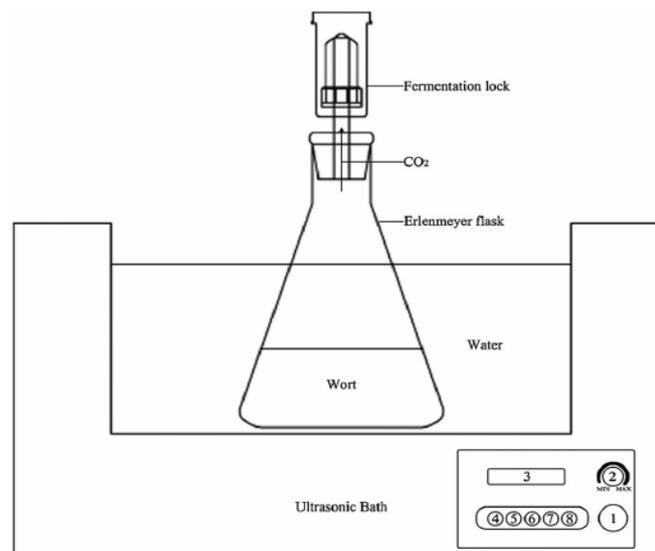
2.2.6.3 Ultrasonido en procesamiento de alimentos

La tecnología de ultrasonido ha sido empleada en diversos estudios en la industria alimentaria. Por lo que hoy en día hay mucho interés, esto se debe a que se puede utilizar de forma práctica, conveniente, con un dispositivo seguro y lo más importante, considerado ambientalmente sustentable (Chemat et al., 2017).

El ultrasonido se puede dividir en dos formas: la aplicación directa, que implica el uso de una sonda ultrasónica, y la aplicación indirecta, que se realiza mediante un baño ultrasónico Figura 4. La aplicación indirecta presenta diversas ventajas. Por ejemplo, este enfoque resulta más económico que el uso de sondas ultrasónicas y puede aplicarse a través del recipiente de la muestra, lo que permite sellarla. De esta manera, se reduce la contaminación de la muestra y la pérdida de compuestos volátiles (Choi et al., 2015).

Figura 4.

Baño ultrasónico.



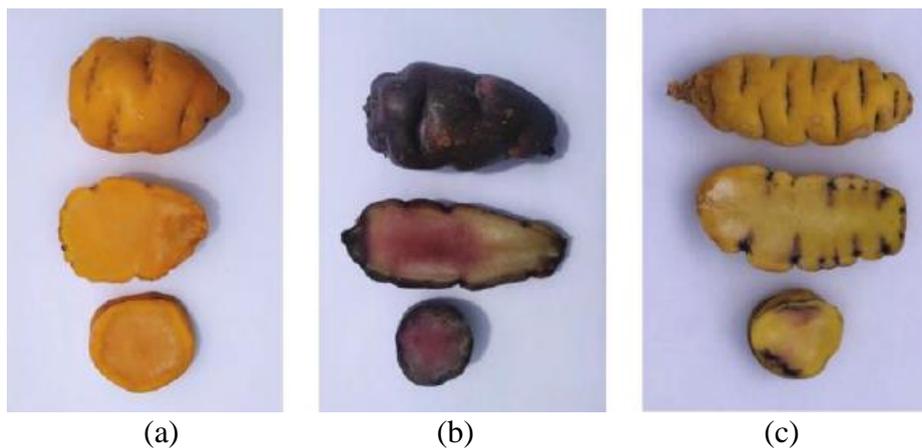
Fuente: (Choi et al., 2015).

2.2.7 Isaño

El isaño (*Tropaeolum tuberosum* R. & P.) es un tubérculo de los andes, pertenece a la familia tropaeolaceae (Aruquipa et al., 2017). También conocida como “mashua”, “añu” o “cubio”, es una planta herbácea perenne originaria de la región andina, donde también fue domesticada (Manrique et al., 2013). Está disponible en una amplia gama de colores y contiene altas cantidades de carbohidratos, vitaminas y alto valor nutritivo que contiene fósforo, hierro y calcio (Arteaga et al., 2022). En la Figura 5 se muestra los genotipos de isaño.

Figura 5.

Genotipos de isaño: (a) amarillo, (b) morado y (c) amarillo-morado.



Fuente: (Coloma et al., 2022).

La especie *Tropaeolum tuberosum*, que corresponde al isaño, fue descrita por Ruíz y Pavón en su obra "Flora Peruviana et Chilensis", donde por primera vez dieron cuenta detallada e ilustrada acerca de esta especie (Grau et al., 2003).

Las mayores áreas de siembras se encuentran en Perú y Bolivia, donde generalmente se cultiva en asociación con otros tubérculos, como la oca (*Oxalis tuberosa*), el olluco (*Ullucus tuberosus*) y las papas (*Solanum tuberosum*, *S. x curtilobum*, *S. x ajanhuiri*, *S. x juzepczukii*, *S. phureja*, *S. x curtilobum*, *S. x*



chaucha). Aunque el área de siembra del isaño es mucho menor al de las otras tuberosas andinas, su cultivo no deja de ser importante, pues forma parte de la seguridad alimentaria de miles de familias campesinas en los Andes a través del autoconsumo o la generación de ingresos monetarios (Manrique et al., 2013).

El isaño es una especie rústica, que puede crecer bien a temperaturas bajas y en suelos pobres, sin necesidad de fertilizantes. Además, es resistente a nematodos, insectos y varias plagas, como el gorgojo de la papa (*Premnotrypes spp.*) (Manrique et al., 2013). La planta está formada de raíces, tubérculos, tallo, hojas, flores y frutos; éstos tubérculos tienen forma cónica, alargados y fusiformes de diferentes colores (Aruquipa et al., 2017).

Las dietas del isaño tienen efectos beneficiosos sobre el hígado y los riñones y para aliviar los trastornos urinarios y de la próstata, también se considera un agente diurético. Los usos del isaño incluyen también el tratamiento de las úlceras cutáneas, la diabetes, la malaria, la recuperación posparto y como antibiótico (Campos et al., 2018).

2.2.7.1 Clasificación taxonómica del isaño

Según Pacco (2015), el isaño tiene la siguiente clasificación taxonómica:

Nombre Científico: *Tropaeolum tuberosum* R. & P.

Reino: *Vegetal*

Clase: *Angiopermas*

Sub clase: *Dicotiledoneas*

Orden: *Geraniales*

Familia: *Tropaeolaceae*

Género: *Tropaeolum*

Especie: *Tuberosum* R. & P.

Nombres Comunes: “*mashua*”, “*añu*”, “*cubios*”, “*navios*”, “*isaño*”.

2.2.7.2 Composición química del isaño

La composición química de isaño depende principalmente de las características genéticas, además la composición está influenciada por factores como el genotipo, región de cultivo, método de cultivo, almacenamiento, madurez de cosecha y otros factores. En la Tabla 1 se describe la composición química del isaño, donde se determina la siguiente composición por cada 100 gramos de isaño.

Tabla 1.

Composición química del isaño (g/100g)

COMPOSICIÓN	RANGO	FUENTE
Valor energético	35-52 kcal	(Pacco, 2015; Tapia & Fries, 2007)
Humedad	86-93.8 %	(Arteaga et al., 2022; Pacco, 2015)
Proteínas	1,6-2,7 g	(Arteaga et al., 2022; Pacco, 2015)
Grasas	0,6-0,9 g	(Arteaga et al., 2022; Pacco, 2015)
Carbohidratos	11,6 g	(Arteaga et al., 2022)
Fibra	0,8-1,5 g	(Arteaga et al., 2022; Pacco, 2015)
Vitamina A	9-12 mg	(Pacco, 2015)
Cenizas	0,6-1,1 g	(Arteaga et al., 2022)
Calcio	10-13 mg	(Arteaga et al., 2022)
Hierro	0,8-1,2 mg	(Arteaga et al., 2022; Pacco, 2015)

2.2.7.3 Zonas productoras de isaño en el Perú

Las principales regiones productoras de isaño en el Perú son Cusco, Puno, Apurímac, Ayacucho, Junín, Huánuco y Huancavelica, representando alrededor del 88% de la producción nacional, y en los dos últimos años de 2020 y 2021, representa alrededor de 43 000 toneladas según lo informado por MIDAGRI (2020, 2021). En comparación del periodo 2005 al 2015 osciló alrededor de las 30 mil toneladas anuales Ramón (2017), es decir, se ha tenido un incremento de 13 mil toneladas más en la producción anual nacional de isaño, respecto a lo que era antes del año 2015. En la Tabla 2 se presenta la producción de isaño en el Perú.

Tabla 2.

Producción de isaño en el Perú.

REGIÓN	Producción de isaño en miles de toneladas	
	Año	
	2020	2021
Amazonas	70	83
Apurímac	6 735	7 787
Ayacucho	8 362	7 483
Cusco	10 567	10 497
Huancavelica	2 461	2 843
Huánuco	1 751	1 922
Junín	3 476	3 601
Lima	4	0
La Libertad	0	46
Moquegua	61	53
Pasco	42	74
Puno	8 496	9 281
TOTAL	42 026	43 667

Fuente: MIDAGRI (2020 – 2021).



CAPÍTULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 LUGAR DE EJECUCION

El presente trabajo de investigación se realizó en el laboratorio de Microbiología de Alimentos de la Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional del Altiplano ubicado en la ciudad de Puno a una altitud de 3827 m.s.n.m.

3.2 MATERIALES, EQUIPOS Y REACTIVOS

3.2.1 Materia prima

Para ésta investigación se utilizó tres genotipos de isaño (amarillo, amarillo con ojos morado y morado) los cuales fueron recolectadas del centro poblado de Sanquira Machachuyo (Altitud: 3859 m.s.n.m., Latitud Sur: 16° 19' 52.7" S y Longitud Oeste 69° 3' 7.9" W) del Distrito de Yunguyo, Provincia de Yunguyo de la región Puno.

3.2.2 Material biológico

- *Saccharomyces cerevisiae* (ex-bayanus) (Marca LALVIN, EC-1118/Canadá)
- α -amilasa (Marca LD Carlson Co./USA)
- Glucoamilasa (Marca Brewhaus, GA-100/USA)
- Ácido cítrico (comercial S/M)
- Bentonita (Marca SIGMA ALDRICH/USA)
- Metabisulfito de potasio (Marca CHEMILAB/Perú)



- Azúcar blanca refinada (Marca Dulfina, bolsa de 5kg)

3.2.3 Materiales

- Tubos de ensayo (Pirex, 10 mL y 20 mL)
- Placas Petri (diámetro 100 mm y altura 15mm)
- Pipetas volumétricas (1 mL, 5 mL y 10 mL)
- Probetas (100 mL y 250 mL)
- Matraz Erlenmeyer (100 mL, 250 mL y 500 mL)
- Fiolas (50 mL, 100mL y 250 mL)
- Vasos precipitados (Pirex, 10 mL, 50 mL, 100 mL, 250 mL y 1000 mL)
- Gradilla (plástico autoclavable azul para 60 tubos)
- Gradilla (acero blanco para 12 tubos y 40 tubos)
- Mechero bunsen (metal, con conexión de gas)
- Piseta (plástico, cap. 500 mL)
- Recipientes de vidrio ámbar y herméticos (100 mL y 500 mL)
- Cronómetro digital numérico (celular, Poco F3)
- Adhesivo para rotular (Cinta Masking Pegafan 500 blanco 1x40yd)
- Bandejas (aluminio, dimensiones: 44cm x 31,5cm x 5cm)
- Plumón indeleble (Marca Faber Castell 421-M, color negro)

3.2.4 Equipos

- Reactor de baño ultrasónico indirecto (acero inoxidable, regulador de temperatura, generador ultrasónico, cap. 6 botellas de litro)
- Colorímetro (SC20; cromático CIEL*a*b* lectura directa)
- Balanza analítica (SARTORIUS, CP323S, cap. 320 g x 1 mg)



- Balanza electrónica (DIGITAL PRESICION, KIN-2200AP, cap. 8000 g)
- Espectrofotómetro (THERMO SPECTRONIC, GENESYS 20, (325-100 nm))
- Autoclave (SM, LS B50L-II, T°: 121°C-134°C, cap. 50 L)
- Centrifuga (KERT, CH90-2, velocidad máx. 4000r/min, cap.10 mL x 8)
- Incubadora (GEMMY INDUSTRIAL, IN-601, T°: 5°C - 75°C)
- Horno esterilizador (OVEN TOASTER, T°: 0°C - 200°C, voltaje 220V, 1200W)
- Baño maría acero inoxidable (MENMERT, WNE 10, T°: 10°C-95°C, cap. 10 L)
- Contador de colonias (POX 302, BIOTECNOLOGIES)
- Vortex (THERMO SCIENTIFIC, M37610-33, velocidad: 100 rpm - 3000 rpm)
- Agitador magnético (OVAN, MCG15E, velocidad: 100 rpm a 1250 rpm)
- pH-metro (MILWAUKEE, Mi 150, microprocesador de pH/T°)
- Cocinillas eléctricas (BRUNER, BPL-9890)
- Refrigerador (LEHEL, G07593)
- Licuadora (INTERNATIONAL, IN-999G)
- Refractómetro digital (HI 96801, 0 a 85% Brix)

3.2.5 Instrumentos

- Termómetro de vidrio (Marca China, T°C: -20°C a 150°C)
- Termómetro digital (Marca PRECISSO, PRE003, T°: -50°C a 300°C)
- Picnómetro (vidrio calibrado clase A 25 mL)



- Acidómetro automático (recipiente de vidrio cónica, bureta de 1% (10 mL) con llave de teflón, pera de hule, pinza, tubos de vidrio y tapón de hule)
- Micropipeta (Marca JoanLab, 1000 μ L)

3.2.6 Reactivos

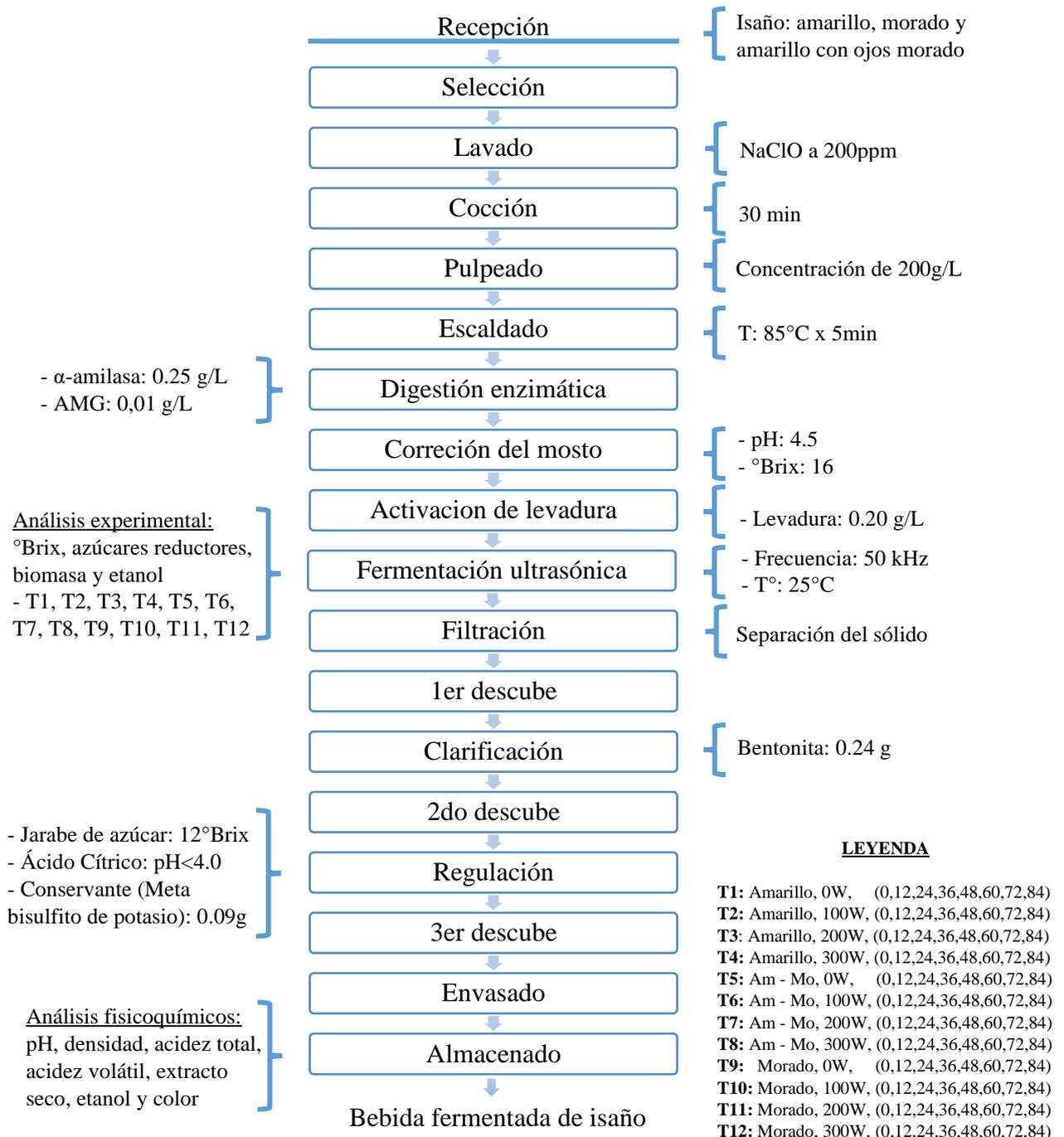
- (DNS) Ácido 3,5-dinitrosalicílico (Marca HIMEDIA, cont. 25g, exp. 12/2025)
- Dicromato de Potasio $K_2Cr_2O_7$ (Marca SPECTRUM, cont. 250g, exp. 07/2025)
- OGYE agar, base (Marca MILLIPORE, VM931578 025, exp. 25/05/2025)
- Hidróxido de sodio NaOH 0.1 N (Marca FAGALAB, cont. 500 g, exp. 22/2025)
- Fenolftaleína (Marca CAFLAB, cont. 25 g exp. 19/24)
- Alcohol etílico 99.9% (Marca QUIMICS DALMU, cont. 1 L, exp. 08/2024)
- Agua destilada (Marca ALKOFARMA, cont. 1 galón)

3.3 METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

3.3.1 Flujoograma de fermentación alcohólica de isaño por ultrasonido

Figura 6.

Diagrama de flujo de fermentación alcohólica de isaño asistida por ultrasonido.



Fuente: (Choi et al. 2015; Salazar, 2010).



3.3.2 Descripción del diagrama de flujo

- a. **Recepción:** Se recepcionó la materia prima de isaño (amarillo, morado, amarillo con ojos morado) con un peso de 12 kilos para cada genotipo de isaño.
- b. **Selección:** Se seleccionó los tubérculos de isaño que no presenten daño en su estructura física como picaduras de insectos o plagas, o de otros defectos de calidad, es importante señalar que la calidad de la materia prima es un factor importante para lograr una buena fermentación.
- c. **Lavado:** Este proceso se realizó con la finalidad de eliminar las impurezas utilizando agua con solución de hipoclorito de sodio a 200 ppm.
- d. **Cocción:** Se sometió a cocción a una temperatura de ebullición del agua por unos 20 minutos aproximadamente.
- e. **Pulpeado o licuado:** Este proceso se realizó en una licuadora, donde la dilución se realizó en una proporción de mezcla de 200g de isaño en 1L de agua esto, con la finalidad de romper la estructura del isaño hasta tener una mezcla homogénea y tener acceso al almidón para facilitar el proceso de fermentación. Esta operación hace que varíe el grado de azúcar y acidez por lo que es necesario corregirla.
- f. **Escaldado:** El licuado se sometió a calentamiento de 80°C en una marmita por 5min, el cual ayudó a la fijación del color. Después de este calentamiento el licuado se dejó enfriar y se llevó a envases de vidrio esterilizados de 1L.



- g. Digestión enzimática:** La enzima α -amilasa se adicionó a una concentración de 0.25 g/L de suspensión y la enzima amiloglicosidasa (AMG) a una concentración de 0,01 g/L de suspensión, donde se hizo una homogenización en cada frasco.
- h. Corrección del mosto:** La corrección del mosto se realizó con la finalidad de obtener parámetros óptimos como el pH y la concentración de azúcar ($^{\circ}$ Brix), para que la fermentación se realice en buenas condiciones.
- **Corrección del pH**
El mosto del isaño, que posee inicialmente un pH entre 6.5 y 7 se corrige a un pH de 4.5 agregando 0.4g/L de ácido cítrico. Esta corrección a la acidez del mosto se hace para evitar daños que otros organismos pudieran ocasionar.
 - **Corrección del $^{\circ}$ Brix**
El mosto de isaño, que posee inicialmente entre 2 y 2.5 $^{\circ}$ Brix, se corrigió a 16 $^{\circ}$ Brix agregando sacarosa (azúcar blanca) como fuente de carbono suplementario.
- i. Activación de levadura:** Para la fermentación alcohólica se utilizó levadura seca “*Saccharomyces cerevisiae*”, donde debe ser activada, primeramente, se pesa 0.20 g/L de levadura, luego se disuelve en 100 ml del mosto, luego es cubierto y dejado en reposo en un lugar para que estas se activen a una temperatura de 30°C a 35°C por un tiempo de 10 a 15 minutos. La activación se nota por la formación de burbujas en la superficie. Una vez activada la levadura se inocula en el mosto alcohólico corregido.



- j. Fermentación ultrasónica:** Este proceso se llevó a cabo en un baño ultrasónico en envases de 1L con mosto a fermentar, con los medios necesarios para la toma de muestra, cada uno con 2 repeticiones controlando a una temperatura constante de 25°C y una frecuencia de 50 kHz por un tiempo de 84 horas cada 12 horas (0,12,24,36,48,60,72,84).
- Durante la fermentación se tomó 10 mL de cada muestra cada 12 horas para realizar los controles de °Brix, azúcares reductores, concentración de biomasa y contenido de alcohol.
- k. Filtración:** El proceso de filtración es la etapa en donde se separa los sólidos para obtener un líquido puro para el proceso de envasado, para ello pasó por un sistema de filtro rápidamente con una tela blanca desinfectada para que no ocurra una contaminación. Luego dejamos en reposo el producto filtrado por un lapso de 24 horas para que este pueda decantar y posteriormente pasar al proceso de descube.
- l. 1er descube:** Una vez filtrada y pasada 24 horas se realizó el descube por la parte superior del envase de vidrio, el cual es recibido en un envase.
- m. Destilado:** Esta operación se realizó para separar el alcohol producido por la fermentación, realizando una destilación, por un tiempo de 30 a 40 min, de esta manera se obtuvo el porcentaje de etanol haciendo la medición con el alcoholímetro para medir el porcentaje de alcohol.
- n. Clarificación:** En este proceso se agregó 0.24 g de bentonita con el objetivo de separar y depositar en el fondo las partículas naturales que se hallan en suspensión en el envase que podrían enturbiarlo, esto se realizó con la finalidad de obtener un vino más limpio y brillante.



- o. 2do descube:** Una vez hecho la clarificación se realizó el 2do descube por la parte superior del envase de vidrio, el cual es recibido en otro envase.
- p. Regulación:** Este proceso se hizo la regulación del pH y los °Brix para que la bebida fermentada de isaño tuviera las condiciones necesarias como un vino de calidad, así también se añadió un conservante como es el Meta bisulfito de sodio.
- q. 3er descube:** Después de la regulación se realizó el último descube por la parte superior del envase de vidrio, el cual es recibido en otro envase para su posterior envasado.
- r. Envasado:** Se realizó en botellas de vidrio transparente de 300 mL debidamente esterilizados para cada bebida obtenido de las fermentaciones para su posterior almacenamiento.
- s. Almacenado:** Se llevaron los envases a un sitio limpio, seco y libre de humedad con el fin de mantener sus características de olor y sabor.

 - Se evaluó las características fisicoquímicas de la bebida fermentada de isaño como: pH, densidad, acidez total, acidez volátil, extracto seco, etanol y color.



3.4 MÉTODOS DE ANÁLISIS

3.4.1 Métodos de análisis para la evaluación de la cinética de fermentación de isaño asistida por ultrasonido en función a los parámetros (Brix, azúcares reductores, concentración de biomasa y producción de etanol).

3.4.1.1 Determinación de °Brix

Los °Brix fueron analizados por el método refractómetro digital (AOAC, 2019). Se colocó 1 o 2 gotas del mosto de isaño en el prisma y se realizó la lectura inmediatamente en el refractómetro. En el caso de una solución de azúcar, la cantidad de °Brix se refiere al contenido de azúcar en masa y es una medida de los sólidos solubles. Las concentraciones de sustrato (°Brix) en el líquido fermentado depende de gran medida del tipo de microorganismo utilizado durante la fermentación.

3.4.1.2 Determinación de azúcares reductores

Los azúcares reductores fueron analizados de acuerdo al procedimiento descrito por Bello Gil et al., (2006); Burgos M., (2020). Los ensayos se realizaron pesando 1 g de ácido 3,5-dinitrosalicílico, 1,6 g de NaOH y 43,8 g de tartrato de Na-K. Se agrega el NaOH a un vaso de precipitado con 50 ml de agua destilada hasta disolver, luego se agrega el tartrato de Na-K hasta disolver la solución mediante agitación magnética, y se agrega el DNS, protegiendo el reactivo de la luz con papel aluminio. En seguida, se afora la solución a 100 mL con agua destilada en una fiola de 100 mL y se deja en agitación toda la noche en un frasco ámbar.

Se prepara la solución patrón de glucosa con las siguientes concentraciones: 0; 0,5; 0,7; 0,9; 1,1; 1,3; 1,5; 1,7 y 2,0 g/L. Se añaden 0,25 mL de cada solución y 0,25 mL del reactivo DNS en tubos tapa rosca cubiertos con papel aluminio para proteger la reacción de la luz. Los tubos se colocan en un baño termostático a 92 °C por 5 minutos. Se detiene la reacción por enfriamiento en hielo por 5 minutos y se agrega 2,5 ml de agua destilada a cada tubo, se agita y se realiza la lectura de la absorbancia a 540 nm en el espectrofotómetro. En la Tabla 3 se muestra en resumen las cantidades agregadas de glucosa, reactivo y agua destilada para cada muestra. En el Anexo 5 se muestra la gráfica de curva patrón de glucosa.

Tabla 3.

Metodología para elaborar la curva patrón de glucosa.

Reactivo	Blanco	Concentración (g/L)							
		0.5	0.7	0.9	1.1	1.3	1.5	1.7	2.0
Glucosa (mL)	-	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25
Agua (mL)	0,25	-	-	-	-	-	-	-	-
Reactivo DNS (mL)	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25
Agua destilada (mL)	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5

Fuente: (Burgos M., 2020).

Se centrifugaron las muestras del mosto de fermentación por 10 minutos a 4000 revoluciones por minuto y se realizaron el mismo procedimiento, en vez de la solución estándar de glucosa, se reemplazó por la muestra.



3.4.1.3 Determinación de biomasa (levadura)

El análisis microbiológico se siguió el método de (OIV, 2019). Se realizó primero la esterilización de los materiales en la autoclave a 121°C por 15 minutos, seguidamente se preparó las diluciones decimales donde se tomó 1 mL de la muestra de mosto de isaño con 9 mL de agua destilada (10^{-1}), luego se tomó 1 mL de la dilución 10^{-1} y descargándolo en 9 mL de agua destilada (10^{-2}) y así, sucesivamente. Se homogenizó bien las muestras antes de sembrar en las placas Petri con OGYE Agar, Base. Para sembrar las diluciones se realizó con un mechero bunsen y luego se llevó a incubación de 36 a 38°C por 48 horas. El conteo de levaduras se realizó en el contador de colonias.

3.4.1.4 Determinación de etanol

De acuerdo con lo descrito por Flores-Mendoza et al. (2019), se preparó una solución oxidante la cual consistió en una mezcla formada por 0.85 g de dicromato de potasio y se disuelven en 15 mL de agua destilada. Se mide 25 mL de ácido sulfúrico concentrado y se adicionan poco a poco la solución de Dicromato de potasio en baño de agua fría, posteriormente se afora a 100 mL. Se preparan soluciones de etanol a concentraciones conocidas como se muestra en la Tabla 4. Se preparó una solución madre 7 mL de etanol al 99.9 % de pureza en 100 mL de agua destilada, luego esta solución se diluyó a diferentes concentraciones 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, y 3.0 mL en 50 mL de agua, dando como resultado la concentración final. En el Anexo 6 se muestra la gráfica de curva patrón de etanol.



Tabla 4.

Esquema de la preparación de las soluciones estándar.

Cantidad de etanol	Concentración
0 mL/50 mL	0 mg/dL
0.5 mL/50 mL	55.175 mg/dL
1.0 mL/50 mL	110.34 mg/dL
1.5 mL/50 mL	165.52 mg/dL
2.0 mL/50 mL	220.69 mg/dL
2.5 mL/50 mL	275.87 mg/dL
3.0 mL/50 mL	331.04 mg/dL

Fuente: (Flores-Mendoza et al., 2019).

Luego se añaden 2 mL de cada solución estándar y se hace reaccionar con 4 mL de solución de Dicromato de Potasio a 75°C durante 30 min, se hace enfriar con agua fría para detener la reacción. La lectura se realizó en un espectrofotómetro (Genesys 20) a 587 nm. Para la muestra se hizo el mismo procedimiento, en vez de la solución estándar de etanol, se reemplazó por la muestra.



3.4.2 Métodos de análisis para la caracterización fisicoquímica de la bebida alcohólica fermentada de isaño.

3.4.2.1 Determinación de pH (medición directa)

El pH Se determinó con el método de (AOAC, 2019). Se fundamenta en la medición electrométrica de la actividad de iones de hidrógeno presentes en una muestra del producto o vino obtenido. La medición se hizo con un pH-metro marca Milkwaukee. Para determinar el pH se introdujo los electrodos del potenciómetro en el vaso de precipitación con la muestra, cuidando que estos no toquen las paredes del recipiente.

3.4.2.2 Determinación de densidad con picnómetro

La densidad se determinó por el método del picnómetro de acuerdo a (AOAC, 2019). Se pesó el picnómetro vacío, luego se llena un picnómetro limpio con agua destilada, tapar y pesar, después secar con un hisopo o papel de filtro el interior del cuello del picnómetro, se procedió de igual forma con la muestra. Luego se aplicó la siguiente ecuación:

$$\rho = \frac{p''-p}{p'-p} \quad (4)$$

Donde:

p'' = picnómetro con muestra

p' = picnómetro con agua destilada

p = picnómetro vacío

ρ = densidad



3.4.2.3 Determinación de acidez total

Para la determinación de acidez, se realizó por el método (AOAC, 2019). Se midió 10 mL de la muestra con pipeta y se colocó en un vaso precipitado de 50 mL de capacidad. Se tituló con solución de NaOH a 0,1 N empleando como indicador 3 gotas de fenolftaleína. El punto final se apreciará cuando la muestra adquiera un color rosado persistente, cuando se observa un enturbiamiento o cuando el color de la muestra vire a verde. Luego se aplicó la siguiente fórmula:

$$\text{Acidez total g/L} = \frac{\text{Gasto NaOH mL} \times 0.1 \text{ N} \times \text{meq á. cítrico}}{\text{Vol. muestra mL}} \quad (5)$$

3.4.2.4 Determinación de acidez volátil

El destilado recogido en la probeta se vierte en un vaso precipitado y se valora con la solución de hidróxido de sodio, en presencia de unas gotas de fenolftaleína, hasta obtener un color ligeramente rosado. La acidez volátil se expresó en g/L de ácido acético y con dos decimales.

$$\text{Acidez volátil g/L} = 0.366 \times v \quad (6)$$

v= mL de NaOH consumidos en la valoración.

3.4.2.5 Determinación de extracto seco total

El extracto seco se determinó con el método (OIV, 2019). Se midió 10 mL de muestra con una pipeta y se colocaron en un cristizador de vidrio de fondo plano tarado, con un diámetro de 6,2 a 6,5 cm, una altura de 1,8 a 2,0 cm y un espesor de pared de 1,0 a 1,5 mm aproximadamente. Luego se colocó el cristizador en un baño de agua hirviendo durante 80



min, y enseguida se llevó a una estufa a una temperatura de 100-105°C, por 30 min aprox. Finalmente se dejó enfriar en un desecador y se pesó. Los vinos con un contenido de extracto seco superior a 60 g/L deben dejarse en una estufa 60 minutos.

3.4.2.6 Determinación de etanol

Se determinó por el método de destilación simple con la medición de un alcoholímetro (AOAC, 2019). El alcoholímetro es un densímetro (ampolla de vidrio con lastre, un termómetro en su interior y terminado en un vástago graduado), graduado en grados Gay Lussac °GL para la determinación de la concentración de etanol por flotación. Gay Lussac, grados (°GL) es la cantidad de alcohol en una bebida. La escala del alcoholímetro, se utiliza para medir la concentración de etanol y representa el porcentaje de etanol en volumen.

Las muestras se sometieron a un proceso de destilación simple de un solo paso en el que un líquido de punto de ebullición más bajo (mayor presión de vapor) se condensa a través de un refrigerante. Se tomó la muestra de prueba y se llenó en una probeta de 100 mL, seguidamente se tomó el alcoholímetro por el vástago y se colocó suavemente en la probeta con un ligero movimiento de rotación hasta que esté estable; luego se midió el contenido de etanol en la escala del vástago en el punto que señala el nivel del líquido.

3.4.2.7 Determinación de color

Se determinó el color mediante el método Hunter en el sistema CIELAB, medidos por el colorímetro. Los parámetros colorimétricos en coordenadas rectangulares (L^* , a^* , b^*), donde L^* : luminosidad [blanco (0) a negro (100)], a^* : coordenada rojo/verde [rojo (+) a verde (-)], b^* : coordenada amarillo/azul [amarillo (+) a azul (-)]. Por otro lado, en las coordenadas cilíndricas (L^* , C^* , H^*), donde el croma o saturación (C^*) está asociada a que tan vivido es un color y el tono (H^*) es el ángulo que indica si el color es rojo (0°), amarillo (90°), verde (180°) o azul (270°) (López & Sarli, 2016). Se calculó C^* y H^* con las siguientes ecuaciones:

$$C^* = \sqrt{a^{*2} + b^{*2}} \quad (7)$$

$$H^* = \arctg \frac{b^*}{a^*} \quad (8)$$

3.4.3 Determinación de los parámetros cinéticos

El modelo matemático para ajustar los datos experimentales, fue el modelo de Monod.

$$\mu = \mu_{max} \frac{S}{K_s + S} \quad (9)$$

Donde:

μ : Velocidad específica de crecimiento h^{-1}

μ_{max} : Velocidad máxima de crecimiento h^{-1}

K_s : Constante de saturación g/L

S : Concentración de sustrato limitante g/L



- **Rendimiento del proceso de fermentación**

El rendimiento de biomasa $Y_{X/S}$ ($g_{biomasa} \cdot g_{substrato}^{-1}$) y el rendimiento de producto $Y_{P/S}$ ($g_{etanol} \cdot g_{substrato}^{-1}$) se calcularon de acuerdo con Ecs. (10) y (11), respectivamente.

$$Y_{X/S}(g_{biomasa} - g_{substrato}^{-1}) = \frac{X_f - X_0}{S_0 - S_f} \quad (10)$$

$$Y_{P/S}(g_{etanol} - g_{substrato}^{-1}) = \frac{P_f - P_0}{S_0 - S_f} \quad (11)$$

Donde X_0 y X_f son las concentraciones de biomasa inicial y final respectivamente, P_0 y P_f son las concentraciones de etanol inicial y final respectivamente, y S_0 y S_f son las concentraciones de sustrato inicial y final respectivamente.

3.5 DISEÑO EXPERIMENTAL

3.5.1 Diseño experimental para la determinación del efecto del genotipo de isaño y potencia de ultrasonido sobre los parámetros experimentales de fermentación de isaño como (°Brix, azúcares reductores, concentración de biomasa y producción de etanol).

Tabla 5.

Diseño experimental para el primer objetivo

VARIABLES DE ESTUDIO				VARIABLES DE RESPUESTA				
TRATAMIENTOS	GENOTIPO	POTENCIA ULTRASONICA	TIEMPO	REPETICIONES	°Brix	Azúcares reductores	Crecimiento de biomasa	Producción de etanol
T2	AMARILLO	100 W		R1 R2				
T3		200 W	0 h	R1 R2				
T4		300 W	12 h	R1 R2				
T5		0 W	24 h	R1 R2				
T6	AMARILLO CON OJOS MORADO	100 W	36 h	R1 R2				
T7		200 W	48 h	R1 R2				
T8		300 W	60 h	R1 R2				
T9		0 W	72 h	R1 R2				
T10	MORADO	100 W	84 h	R1 R2				
T11		200 W		R1 R2				
T12		300 W		R1 R2				

3.5.2 Diseño experimental para la evaluación del efecto del genotipo de isaño y potencia de ultrasonido sobre las características fisicoquímicas de la bebida fermentada de isaño.

Tabla 6.

Diseño experimental para el segundo objetivo

VARIABLES DE ESTUDIO				VARIABLES DE RESPUESTA						
TRATAMIENTOS	GENOTIPO	POTENCIA ULTRASONICA	REPETICIONES	pH	Densidad	Acidez total	Acidez volátil	Extracto seco	Contenido de etanol	Color
T2	100 W	R1 R2								
T3	200 W	R1 R2								
T4	300 W	R1 R2								
T5	AMARILLO CON OJOS MORADO	0 W	R1 R2							
T6		100 W	R1 R2							
T7		200 W	R1 R2							
T8		300 W	R1 R2							
T9	MORADO	0 W	R1 R2							
T10		100 W	R1 R2							
T11		200 W	R1 R2							
T12		300 W	R1 R2							

3.5.3 Diseño experimental para la aplicación del modelo cinético de Monod en función al parámetro de °Brix y rendimiento del proceso de fermentación.

Tabla 7.

Diseño experimental para el tercer objetivo

VARIABLES DE ESTUDIO				VARIABLES DE RESPUESTA			
TRATAMIENTOS	GENOTIPO	POTENCIA ULTRASONICA	REPETICIONES	μ_{max} (h ⁻¹)	Ks (g/L)	Y x/s	Y p/s
	R2						
T2	100 W	R1					
		R2					
T3	200 W	R1					
		R2					
T4	300 W	R1					
		R2					
T5	AMARILLO CON OJOS MORADO	0 W	R1				
			R2				
T6		100 W	R1				
			R2				
T7	200 W	R1					
		R2					
T8	300 W	R1					
		R2					
T9	MORADO	0 W	R1				
			R2				
T10		100 W	R1				
			R2				
T11	200 W	R1					
		R2					
T12	300 W	R1					
		R2					

3.6 DISEÑO ESTADÍSTICO

3.6.1 Diseño estadístico para el primer objetivo

El diseño estadístico para evaluar la cinética de fermentación alcohólica asistida por ultrasonido a base de isaño en función de los parámetros: °Brix, azúcares reductores, crecimiento de levaduras y producción de etanol, es:

Diseño estadístico: Modelo lineal aditivo de un diseño completamente al azar con arreglo factorial de (3x4x8) con 2 repeticiones.

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \gamma_k + (\alpha\beta)_{ij} + (\alpha\gamma)_{ik} + (\beta\gamma)_{jk} + (\alpha\beta\gamma)_{ijk} + \epsilon_{ijkl} \quad (12)$$

$i = 1,2,3$ (Genotipo)

$j = 1,2,3,4$ (Potencia ultrasónica)

$k = 1,2,3,4,5,6,7,8$ (Tiempo)

$l = 1,2$ (Repeticiones)

Donde:

Y_{ijk} : Es la variable respuesta de la l -ésimo observación en el k -ésimo tiempo bajo la j -ésimo potencia de ultrasonido, sujeto a la i -ésimo genotipo de isaño.

μ : Constante, media de las observaciones analizadas en el tiempo, potencia de ultrasonido genotipo de isaño.

α_i : Efecto del i -ésimo nivel de genotipo de isaño.

β_j : Efecto del j -ésimo nivel de potencia de ultrasonido.

γ_k : Efecto del k -ésimo nivel de tiempo.

$(\alpha\beta)_{ij}$: Efecto de la interacción del i -ésimo nivel de genotipo de isaño, con el j -ésimo nivel de potencia de ultrasonido.

$(\alpha\gamma)_{ik}$: Efecto de la interacción del i -ésimo nivel de genotipo de isaño, con el k -ésimo nivel de tiempo.

$(\beta\gamma)_{jk}$: Efecto de la interacción del j-ésimo nivel de potencia de ultrasonido con el k-ésimo nivel de tipo de tiempo.

$(\alpha\beta\gamma)_{ijk}$: Efecto de la interacción del i-ésimo nivel de genotipo de isaño, en el j-ésimo nivel de potencia de ultrasonido sujeto al k-ésimo nivel de tiempo.

ϵ_{ijkl} : Efecto del error experimental.

3.6.2 Diseño estadístico para el segundo y tercer objetivo

El diseño estadístico para evaluar las características fisicoquímicas de la bebida fermentada asistida por ultrasonido a base de isaño y para el modelo de Monod, es el siguiente:

Diseño estadístico: Modelo lineal aditivo de un Diseño Completamente al Azar

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \epsilon_{ij} \quad (13)$$

Donde:

Y_{ij} = Variable aleatoria que denota la (ij)-ésima observación.

μ = Parámetro común a todos los tratamientos denominado media global.

τ_i = Parámetro asociado con el i-ésimo tratamiento denominado efecto del i-ésimo tratamiento.

ϵ_{ij} = Término de error asociado al tratamiento.

Los datos se determinaron mediante el análisis de varianza (ANVA). Para determinar diferencias significativas entre los tratamientos se utilizó las pruebas Duncan con un nivel de significancia del 5% para cada análisis. Todos los análisis estadísticos se realizaron con el programa estadístico InfoStat versión 2020.



CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 EVALUACIÓN DEL EFECTO DEL GENOTIPO DE ISAÑO Y POTENCIA DE ULTRASONIDO SOBRE LOS PARÁMETROS EXPERIMENTALES DE FERMENTACIÓN (°Brix, azúcares reductores, concentración de biomasa y producción de etanol).

4.1.1 Comportamiento de los sólidos solubles (°Brix) en el proceso de fermentación asistida por ultrasonido evaluado en tres genotipos de isaño.

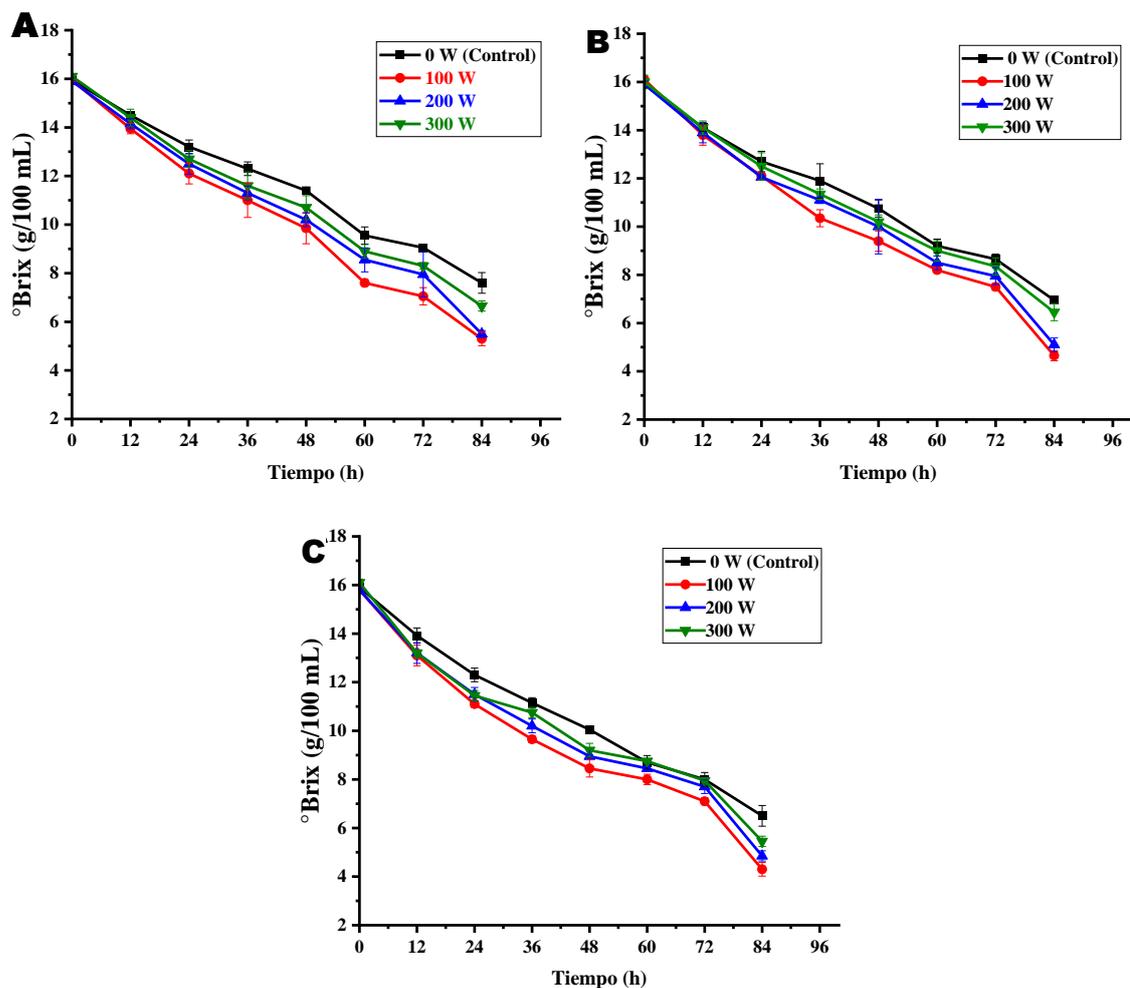
En la Figura 7 se muestra la representación gráfica de la cinética de disminución de los sólidos solubles (°Brix) durante la fermentación alcohólica de isaño, en función del genotipo de isaño, potencia de ultrasonido y tiempo de fermentación, se trabajó con frecuencia de 50 kHz y a una temperatura constante de 25°C, en donde se observa que a medida que se incrementa el tiempo de fermentación, los °Brix disminuyen, esto sucede en los tres genotipos de isaño (amarillo, amarillo con ojos morado y morado). En el Anexo 1 se presenta la tabla de resultados del comportamiento de los °Brix.

En la Figura 7A se presenta la cinética de fermentación de isaño amarillo, se observa que disminuyó de 16 °Brix hasta valores de 7.6 ± 0.4 °Brix (0 W), 5.3 ± 0.3 °Brix (100 W), 5.5 ± 0.1 °Brix (200 W) y 6.7 ± 0.2 °Brix (300 W) en 84 horas de fermentación. Por otro lado, en la Figura 7B se presenta la cinética de fermentación de isaño amarillo con ojos morado, se puede observar que disminuyó de 16 °Brix hasta valores de 7.0 ± 0.1 °Brix (0 W), 4.7 ± 0.2 °Brix (100 W), 5.1 ± 0.3 °Brix (200 W) y 6.5 ± 0.4 °Brix (300 W) en 84 horas de fermentación y en la

Figura 7C, se presenta la cinética de fermentación de isaño morado, se observa que disminuyó de 16 °Brix hasta valores de 6.5 ± 0.4 °Brix (0 W), 4.3 ± 0.3 °Brix (100 W), 4.9 ± 0.2 °Brix (200 W) y 5.5 ± 0.2 °Brix (300 W) en 84 horas de fermentación. En todas las figuras se observa mayor disminución de °Brix a 100 W de potencia de ultrasonido, seguido por 200 W, 300 W y control (0 W), se podría decir que, a mayor potencia de ultrasonido, disminuye la velocidad de fermentación.

Figura 7.

Cinética de disminución de los sólidos solubles (°Brix) durante la fermentación a 25°C evaluado en tres genotipos de isaño: A: Amarillo, B: Amarillo con ojos morado y C: Morado.





Estos resultados concuerdan con Choi et al. (2015) donde muestra que la disminución de los °Brix es más lenta debido al efecto negativo de ultrasonidos de alta potencia sobre el crecimiento celular. Según, Klomklieng & Prateepasen (2011), en su estudio de ultrasonido de baja potencia, sus resultados indicaron que la potencia ultrasónica mejoró la tasa de producción de etanol al reducir el tiempo de fermentación. Los resultados muestran que los °Brix disminuyeron más rápidamente para los tratamientos con potencia ultrasónica, especialmente en 100 W en el isaño morado en comparación con los demás isaños.

En el Anexo 7 de la tabla 11, se presenta el análisis de varianza ANVA para el contenido de sólidos solubles (°Brix), indica que el factor genotipo de isaño es altamente significativo con un $p (0.0001) < 0.05$. De igual forma para la potencia ultrasónica es altamente significativo con un $p (0.0001) < 0.05$. También, el factor tiempo es altamente significativo con un $p (0.001) < 0.05$, es decir que la concentración de °Brix es diferente en cuanto a los genotipos de isaño, potencia ultrasónica y tiempos analizados.

En el Anexo 7A se muestra los resultados de la prueba Duncan ($p < 0.05$) para el factor genotipo de isaño, lo que nos indica que las medias son significativamente diferentes unos de otro. El isaño morado presentó mayor disminución de los °Brix seguido del isaño amarillo con ojos morado y por último el isaño amarillo. Según (Beltran A. y Mera J., 2014), menciona que el isaño es una fuente importante de actividad antioxidante siendo comparado con frutas que contiene un alto contenido de antioxidantes como flavonoides y polifenoles. El isaño morado presenta entre ocho y diez veces más capacidad antioxidante que el isaño amarillo, otros fenólicos juegan un mayor rol en la actividad antioxidante de estos tubérculos (Campos et al., 2019). Estos resultados muestran que el isaño



morado podría presentar mayor disminución de °Brix debido a que contiene mayor capacidad antioxidante.

En el Anexo 7B se muestra los resultados de la prueba Duncan ($p < 0.05$) para el factor potencia ultrasónica, esto nos muestra que los °Brix disminuyeron más rápidamente para los tratamientos con potencia ultrasónica, especialmente en 100 W presentó mayor disminución de 16 °Brix hasta 4.3 ± 0.3 °Brix, a las 84 horas de fermentación en genotipo de isaño morado, estos resultados muestran mayor disminución de °Brix en comparación con Llacsá & Cucho (2019), en su investigación de cinética de fermentación de chicha de tres variedades de quinua, donde obtuvo una disminución de 15.3 °Brix a valores de 10.60 °Brix a las 72 horas a una temperatura de 30°C en la variedad blanca de juli. Los resultados de los tratamientos con potencia ultrasónica concuerdan con lo informado en la literatura donde muestra que el ultrasonido mejora la fermentación. Al respecto Choi et al. (2015), en su estudio del efecto del ultrasonido indirecto 'tipo baño' en la fermentación de cerveza hecha de cebada, mostraron mejores resultados a potencia de 160 W y frecuencia de 40 kHz al mejorar la producción de etanol reduciendo el tiempo de fermentación. Por otro lado, mencionan que la disminución de los °Brix es más lenta debido al efecto negativo de ultrasonidos de alta potencia sobre el crecimiento celular. Por esta razón los resultados mostraron mayor disminución en 100 W de potencia.

En el Anexo 7C se muestra los resultados de la prueba Duncan ($P < 0.05$) para el factor tiempo, esto nos indica que disminuyen los °Brix a medida que aumenta el tiempo fermentación hasta 84 horas, estos resultados muestran que la disminución de los °Brix se debe al consumo de azúcar por parte de la levadura *Saccharomyces cerevisiae*, ya que el mosto de isaño proporciona un ambiente



favorable para los microorganismos naturales presentes durante la fermentación, a medida que avanza el proceso, las levaduras consumen los azúcares, llevando a cabo la fermentación hasta que la falta de azúcares como nutrientes junto con la formación de etanol detiene el crecimiento población (Onofre, 2018). Al respecto García y Mamani (2008), considera que una concentración de azúcar entre 10 °Brix y 18 °Brix es adecuada, cuando se emplean concentraciones de azúcar demasiado altas inhiben el crecimiento de las levaduras. Cuando se va produciendo alcohol, la concentración de azúcar disminuye durante las primeras horas de fermentación y se produce la disminución de los °Brix por las levaduras. Por otro lado, Klomklieng & Prateepasen (2011), en su estudio de ultrasonido de baja potencia para mejorar la fermentación de etanol a partir de melaza, sus resultados indicaron que la potencia ultrasónica mejoró la tasa de producción de etanol al reducir el tiempo de fermentación entre 6 y 9 horas en comparación con el control.

4.1.2 Comportamiento de los azúcares reductores en el proceso de fermentación asistida por ultrasonido evaluado en tres genotipos de isaño.

En la Figura 8 se presenta la representación gráfica de la cinética de consumo de azúcares reductores durante la fermentación alcohólica de isaño en función del genotipo de isaño, potencia de ultrasonido y tiempo de fermentación, se trabajó con frecuencia de 50 kHz y a una temperatura constante de 25°C, en donde se observa que a medida que se incrementa el tiempo de fermentación, los azúcares disminuyen, esto sucede en los tres genotipos de isaño (amarillo, amarillo con ojos morado y morado) al igual que los °Brix. En el Anexo 2 se presenta la tabla de resultados del comportamiento de los azúcares reductores.



En la Figura 8A se presenta la cinética de fermentación de consumo de azúcares reductores de isaño amarillo, se observa para el control (0 W), disminuyó de una concentración inicial de 7.23 ± 0.24 g/L hasta 4.95 ± 0.6 g/L a las 84 horas de fermentación, mientras que, para los tratamientos con potencia ultrasónica, el que presentó mayor disminución fue a potencia de 100 W con una inicial de 7.24 ± 0.14 g/L hasta 3.00 ± 0.31 g/L a las 84 horas de fermentación.

Por otro lado, en la Figura 8B se observa la fermentación del isaño amarillo con ojos morado, el consumo de los azúcares reductores para el control (0 W), disminuyó de una concentración inicial de 7.22 ± 0.25 g/L hasta 4.35 ± 0.4 g/L a las 84 horas, mientras el que presentó mayor disminución fue a potencia de 100 W con una inicial de 7.19 ± 0.08 g/L hasta 2.62 ± 0.03 g/L a las 84 horas.

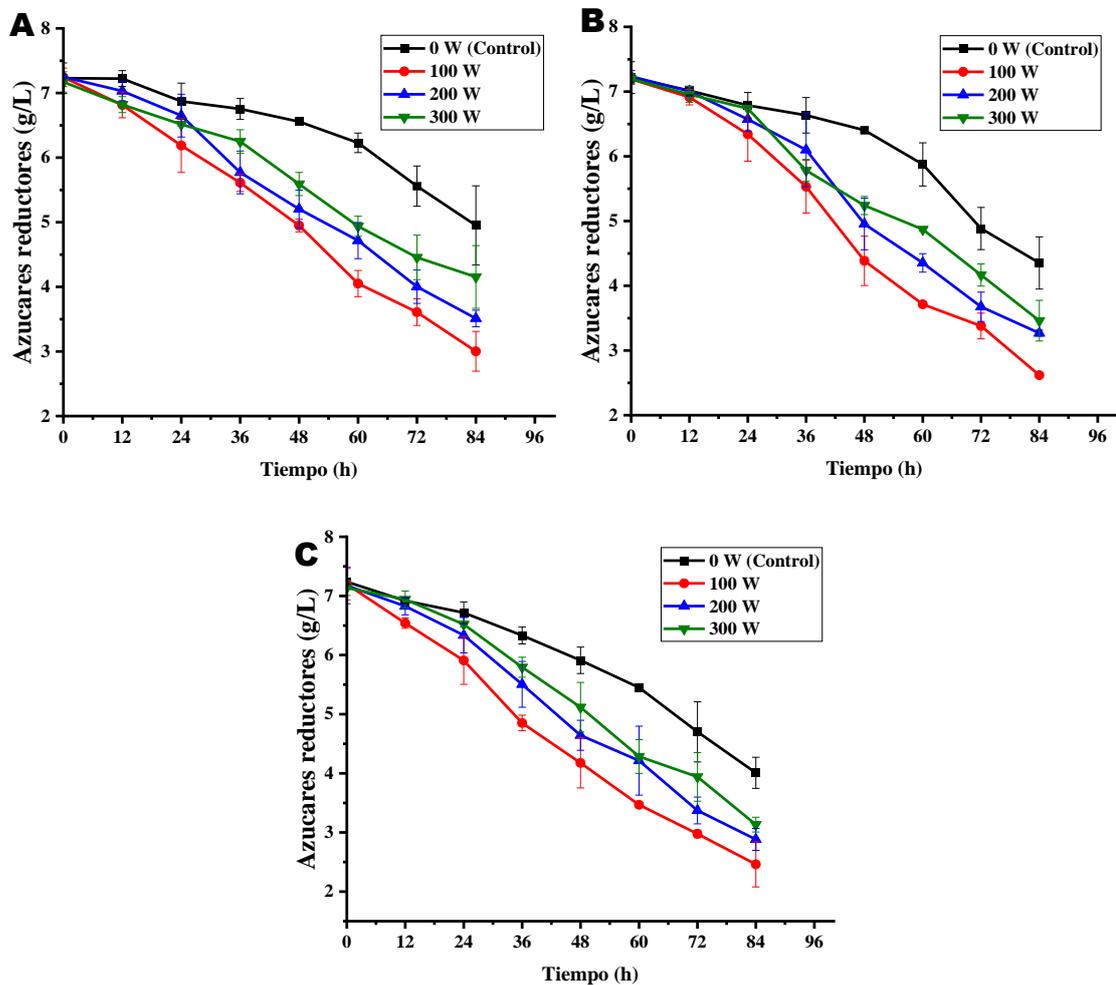
En la Figura 8C se observa en la fermentación del isaño morado, el consumo de los azúcares reductores para el control (0 W), disminuyó de una concentración inicial de 7.24 ± 0.04 g/L hasta 4.01 ± 0.26 g/L a las 84 horas, de igual manera el que mostró mayor disminución fue a potencia de 100 W con una inicial de 7.20 ± 0.27 g/L hasta 2.46 ± 0.38 g/L a las 84 horas de fermentación. Los resultados muestran el mismo comportamiento que en los °Brix, a medida que se incrementa la potencia de ultrasonido disminuye la velocidad de fermentación, donde se observa con mayor velocidad de disminución de los azúcares reductores a 100 W de potencia de ultrasonido, seguido por 200 W, 300 W y control (0W).

La cinética del consumo de azúcares reductores disminuyó más rápidamente para los tratamientos con potencia ultrasónica especialmente a 100 W para el isaño morado en comparación con los demás isaños. Estos resultados muestran que los comportamientos de los valores de azúcares reductores

conducen con las concentraciones de °Brix, ambos disminuyeron significativamente más rápido para los que fueron tratados con potencia ultrasónica en comparación con los no tratados.

Figura 8.

Cinética de consumo de azúcares reductores, evaluado en tres genotipos de isaño, A: Amarillo, B: Amarillo con ojos morado y C: Morado.



En el Anexo 8 de la tabla 12, se presenta el análisis de varianza ANVA para los azúcares reductores, donde indica que el factor genotipo de isaño es altamente significativo con un $p(0.0001) < 0.05$. De igual forma para la potencia ultrasónica es altamente significativo con un $p(0.0001) < 0.05$. También, el factor



tiempo es altamente significativo con un p (0.0001) < 0.05 , es decir que la concentración de los azúcares reductores es diferente en cuanto a los genotipos de isaño, potencia ultrasónica y tiempos analizados.

En el Anexo 8A se muestra los resultados de la prueba Duncan ($p < 0.05$) para el factor genotipo de isaño, lo que nos indica que las medias son significativamente diferentes unos de otro. El isaño morado presentó mayor disminución de los azúcares reductores seguido del isaño amarillo con ojos morado y por último el isaño amarillo. Según Beltran A. y Mera J. (2014), menciona que el isaño es una fuente importante de actividad antioxidante siendo comparado con frutas que contiene un alto contenido de antioxidantes como flavonoides y polifenoles. El isaño morado presenta entre ocho y diez veces más capacidad antioxidante que el isaño amarillo (Campos et al., 2019). Estos resultados el isaño morado podría presentar mayor disminución de azúcares reductores debido a que contiene mayor capacidad antioxidante. Esto nos muestra que al igual como los resultados de los °Brix de los tres genotipos de isaño, el que presentó mayor disminución de azúcares reductores fue el isaño morado.

En el Anexo 8B se muestra los resultados de la prueba Duncan ($p < 0.05$) para el factor potencia ultrasónica, esto nos indica que el azúcar reductor disminuyó más rápidamente en 100 W seguidamente de 200 W, 300 W y por último el control (0 W). El azúcar reductor disminuyó más rápidamente para los tratamientos con potencia ultrasónica en comparación del control sin potencia ultrasónica. Los resultados de los tratamientos con potencia ultrasónica concuerdan con lo informado en la literatura donde muestra que el ultrasonido mejora la fermentación. Al respecto Choi et al. (2015) en su estudio el efecto de un ultrasonido indirecto 'tipo baño' en la fermentación de cerveza hecha de cebada



mostró mejores resultados a potencia de 160 W y frecuencia de 40 kHz al mejorar la producción de etanol reducir del tiempo de fermentación. De igual forma se encontraron resultados similares de Pulidindi et al. (2012) donde usó ultrasonido de 120 W a 40 kHz; también encontró que el ultrasonido mejora la producción de etanol. Sin embargo, según Choi et al. (2015) muestra que el disminución de los azúcares reductores es más lenta debido al efecto negativo de ultrasonidos de alta potencia sobre el crecimiento celular. Por otro lado Al Daccache et al. (2020), en su estudio de impacto del ultrasonido de baja intensidad de fermentación de jugo de manzana muestra que los valores de azúcares reductores y °Brix disminuyeron de igual manera. Por lo tanto, los resultados del consumo de azúcares reductores concuerdan con la disminución de los °Brix, ambos disminuyeron más rápido para los que fueron tratados con ultrasonido en comparación con los no tratados.

En el Anexo 8C se muestra los resultados de la prueba Duncan ($P < 0.05$) para el factor tiempo, esto nos indica que los azúcares reductores disminuyen a medida que aumenta el tiempo fermentación hasta 84 horas. Se puede observar que la disminución del azúcar reductor se debe al consumo de azúcar por parte de la levadura *S. cerevisiae*, ya que el mosto de isaño proporciona un ambiente favorable para los microorganismos presentes durante la fermentación, a medida que avanza el proceso, las levaduras consumen los azúcares, llevando a cabo la fermentación hasta que la falta de azúcares como nutrientes junto con la formación de etanol detiene el crecimiento poblacional (Onofre, 2018). Al respecto García y Mamani (2008) considera que una concentración de azúcar entre 10°Brix y 18°Brix es adecuada, cuando se emplean concentraciones de azúcar demasiado altas inhiben el crecimiento de las levaduras. Cuando se va produciendo alcohol, la concentración de azúcar disminuye durante la fermentación y se produce la

disminución de los sólidos solubles por las levaduras según (Apaza y Atencio, 2017). Por otro lado, Klomklieng & Prateepasen (2011) indicaron que la potencia ultrasónica mejora la tasa de producción de etanol al reducir el tiempo de fermentación entre 6 y 9 horas en comparación con el control.

4.1.3 Comportamiento de la concentración de biomasa de la levadura *Saccharomyces cerevisiae* en el proceso de fermentación asistida por ultrasonido evaluado tres genotipos de isaño.

En la Figura 9 se presenta la representación gráfica de la cinética de concentración de biomasa, es decir, el crecimiento de la levadura *Saccharomyces cerevisiae* durante la fermentación alcohólica de isaño en función del genotipo de isaño, potencia de ultrasonido y tiempo de fermentación, se trabajó con frecuencia de 50 kHz y a una temperatura constante de 25°C, en donde se observa que a medida que se incrementa el tiempo de fermentación las levaduras crecen más rápido, esto sucede en los tres genotipos de isaño (amarillo, amarillo con ojos morado y morado). En el Anexo 9 se presenta la tabla de resultados del comportamiento de la concentración de biomasa (levaduras).

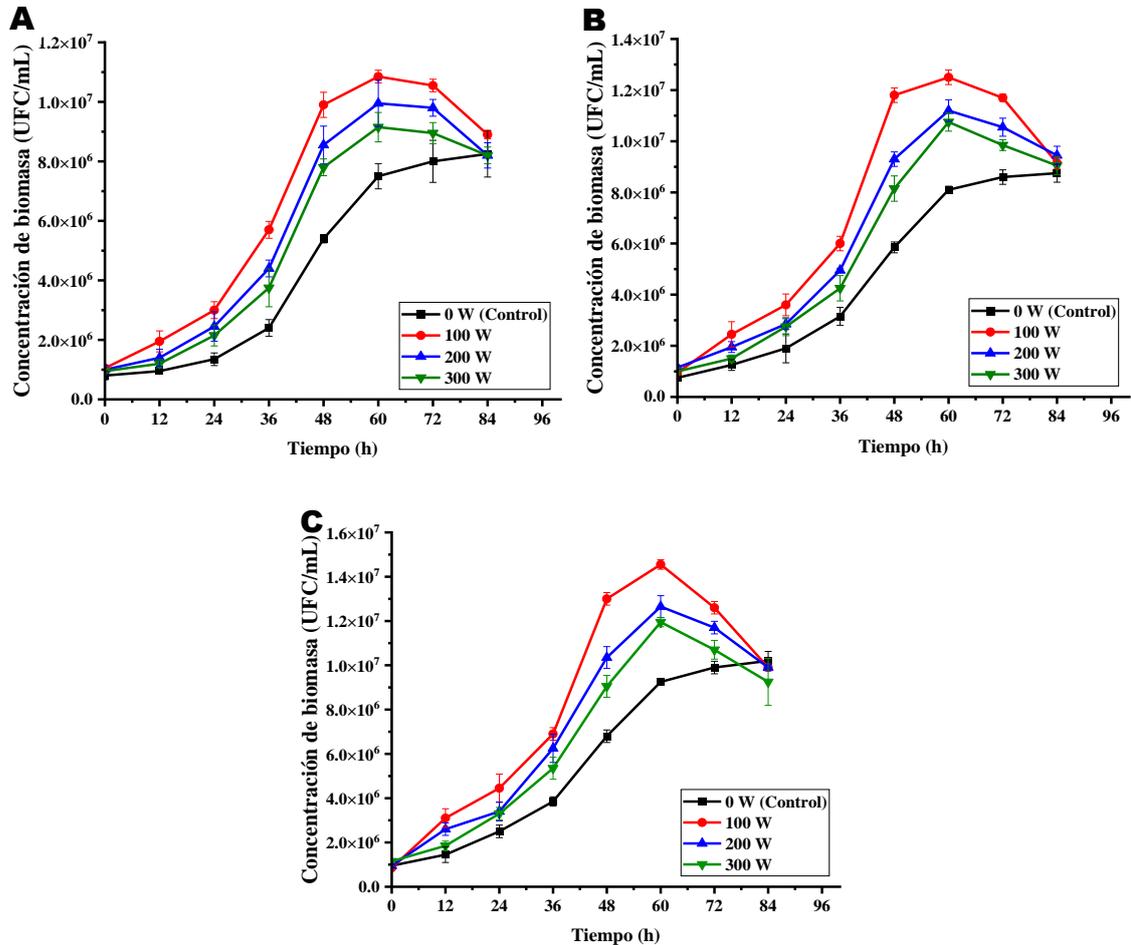
En la Figura 9A se presenta la cinética de fermentación de isaño amarillo, se observa que el crecimiento de las levaduras para el control (0 W) al inicio de la fermentación tuvo una concentración de $8.0E+05 \pm 1.4E+05$ UFC/mL llegando a $8.3E+05 \pm 7.8E+05$ UFC/mL en tiempo de 84 horas, mientras para los tratamientos con potencia ultrasónica, el que presentó mayor tasa de crecimiento fue a potencia de 100 W con una inicial de $1.1E+06 \pm 7.1E+05$ UFC/mL alcanzando un crecimiento máximo de $1.1E+07 \pm 2.1E+05$ UFC/mL a las 60 horas, luego un descenso a $8.9E+06 \pm 1.4E+05$ UFC/mL a las 84 horas, esto indica

la fase de muerte de las levaduras, es decir la finalización de la fermentación.

Figura 9.

Cinética de concentración de biomasa, evaluado en tres genotipos de isaño,

A: Amarillo, B: Amarillo con ojos morado y C: Morado.



En la Figura 9B se presenta la cinética de fermentación de isaño amarillo con ojos morado, se observa que el crecimiento de las levaduras para el control (0 W), al inicio de la fermentación tuvo una concentración de $7.5E+05 \pm 7.1E+04$ UFC/mL llegando a $8.8E+05 \pm 3.5E+05$ UFC/mL en tiempo de 84 horas, mientras para los tratamientos con potencia ultrasónica, el que presenta mayor tasa de crecimiento fue a potencia de 100 W con una inicial de $9.5E+05 \pm 7.1E+04$ UFC/mL alcanzando un crecimiento máximo de $1.3E+07 \pm 2.8E+05$ UFC/mL a las 60 horas, y luego un descenso a $9.2E+06 \pm 2.1E+05$ UFC/mL a las 84 horas.

En la Figura 9C se presenta la cinética de fermentación de isaño morado, se observa que el crecimiento de las levaduras para el control (0 W), al inicio de la fermentación tuvo una concentración de $9.5E+05 \pm 7.1E+04$ UFC/mL llegando a $1.0E+07 \pm 4.2E+05$ UFC/mL en tiempo de 84 horas, mientras para los tratamientos con potencia ultrasónica, el que presenta mayor tasa de crecimiento fue a potencia de 100 W con un inicial de $8.50E+05 \pm 7.1E+04$ UFC/mL alcanzando un crecimiento máximo de $1.5E+07 \pm 2.1E+05$ UFC/mL a las 60 horas, y luego un descenso a $9.9E+06 \pm 1.4E+05$ UFC/mL a las 84 horas de fermentación. En todas las figuras se observa con mayor velocidad el crecimiento de las levaduras a 100 W de potencia de ultrasonido, seguido por 200 W, 300 W y control (0 W), por otro lado, se observa que, a mayor potencia de ultrasonido disminuye la velocidad de crecimiento de las levaduras. Esto se debe a que el ultrasonido de alta potencia puede provocar la muerte celular.

Los resultados muestran que la concentración de biomasa aumenta más rápidamente para los tratamientos con potencia ultrasónica especialmente a 100 W para el isaño morado. El aumento en la concentración de biomasa podría atribuirse a la estimulación de la división de las células de levadura durante el tratamiento con ultrasonido. Según lo reportado por Huang et al. (2017), menciona que el ultrasonido podría promover el crecimiento microbiano al separar los grupos celulares, aumentando así la permeabilidad de la membrana e impactando las funciones y componentes celulares.

En el Anexo 9 de la tabla 13, se presenta el análisis de varianza ANVA para la concentración de lavaduras, donde indica que el factor genotipo de isaño es altamente significativo con un $p (0.0001) < 0.05$. De igual forma para la potencia ultrasónica es altamente significativo con un $p (0.0001) < 0.05$. También,



el factor tiempo es altamente significativo con un $p (0.0001) < 0.05$, es decir que la concentración de levaduras es diferente en cuanto a los genotipos de isaño, potencia ultrasónica y tiempos analizados.

En el Anexo 9A se muestra los resultados de la prueba Duncan ($p < 0.05$) para el factor genotipo de isaño, lo que nos indica que las medias son significativamente diferentes unos de otro. El isaño morado presentó mayor crecimiento de las levaduras *Sacharomyces. cerevisiae*, seguido del isaño amarillo con ojos morado y por último el isaño amarillo. Estos resultados concuerdan con las evaluaciones de los °Brix y azúcares reductores, ya que muestra mayor disminución para el genotipo de isaño morado, es decir a mayor disminución de °Brix y azúcares reductores mayor será el crecimiento de levaduras. Estos resultados según Campos et al. (2019), podría ser que el isaño morado presenta mayor crecimiento de levaduras debido a que contiene mayor capacidad antioxidante.

En el Anexo 9B se muestra los resultados de la prueba Duncan ($p < 0.05$) para el factor potencia ultrasónica, esto nos indica que la concentración de levaduras *S. cerevisiae* creció significativamente más rápido en potencia de 100 W, seguidamente de 200 W, 300 W y por último el control (0 W). Los resultados de los tratamientos con potencia ultrasónica concuerdan con lo informado en la literatura donde muestra que el ultrasonido mejora la fermentación. Según Zhang et al. (2019), los resultados revelaron que el tratamiento ultrasónico podría promover el crecimiento bacteriano de *S. cerevisiae* y rendimiento del metabolismo. Por otro lado Al Daccache et al. (2020), muestra que la cinética de crecimiento fue más rápida en un 52 % para el tratamiento durante la fermentación, por lo que la fase estacionaria alcanzó más rápido y la tasa de



crecimiento de la biomasa fue 10 veces mayor en comparación sin ultrasonido. El ultrasonido podría promover el crecimiento microbiano al separar los grupos celulares, aumentando así la permeabilidad de la membrana e impactando las funciones y componentes celulares según (Huang et al., 2017). Sin embargo, Shifeng et al. (2010) indica que el ultrasonido de alta potencia puede provocar la muerte celular. Por lo tanto, el aumento en la concentración de levaduras podría atribuirse a la estimulación de la división de las células de levadura durante el tratamiento utilizando ultrasonido de baja potencia.

En el Anexo 9C se muestra los resultados de la prueba Duncan ($P < 0.05$) para el factor tiempo, nos indica que a medida que aumenta el tiempo fermentación se presenta mayor crecimiento de las levaduras hasta un cierto tiempo donde empieza el descenso de las levaduras debido a la falta de azúcares. Se puede observar que crecimiento de biomasa se debe al consumo de azúcar por parte de la levadura *S. cerevisiae*, ya que el mosto de isaño proporciona un ambiente favorable para los microorganismos naturales presentes durante la fermentación, a medida que avanza el proceso, las levaduras consumen los azúcares, llevando a cabo la fermentación hasta que la falta de azúcares como nutrientes junto con la formación de etanol detiene el crecimiento poblacional (Onofre, 2018). Al respecto García y Mamani (2008) considera que una concentración de azúcar entre 10 °Brix y 18 °Brix es adecuada, cuando se emplean concentraciones de azúcar demasiado altas inhiben el crecimiento de las levaduras. Cuando se va produciendo alcohol, la concentración de azúcar disminuye durante las primeras horas de fermentación y se produce la disminución de los sólidos solubles por las levaduras según (Apaza y Atencio, 2017). Por otro lado, Klomklieng & Prateepasen (2011) indicaron que la potencia ultrasónica

mejora la tasa de producción de etanol al reducir el tiempo de fermentación entre 6 y 9 horas en comparación con el control. Estos resultados nos muestran que la tecnología del ultrasonido estimula el crecimiento de las levaduras en menos tiempo.

4.1.4 Comportamiento de la producción de etanol en el proceso de fermentación asistida por ultrasonido evaluado en tres genotipos de isaño.

En la Figura 10 se presenta la representación gráfica de la producción de etanol, durante la fermentación alcohólica de isaño en función al genotipo de isaño, potencia ultrasónica, y tiempo de fermentación, se trabajó a frecuencia de 50 kHz y a una temperatura constante de 25°C, en donde se observa que a medida que se incrementa el tiempo de fermentación, el contenido de etanol aumenta, esto sucede en los tres genotipos de isaño (amarillo, amarillo con ojos morado y morado). En el Anexo 10 se presenta la tabla de resultados del comportamiento de la producción de etanol.

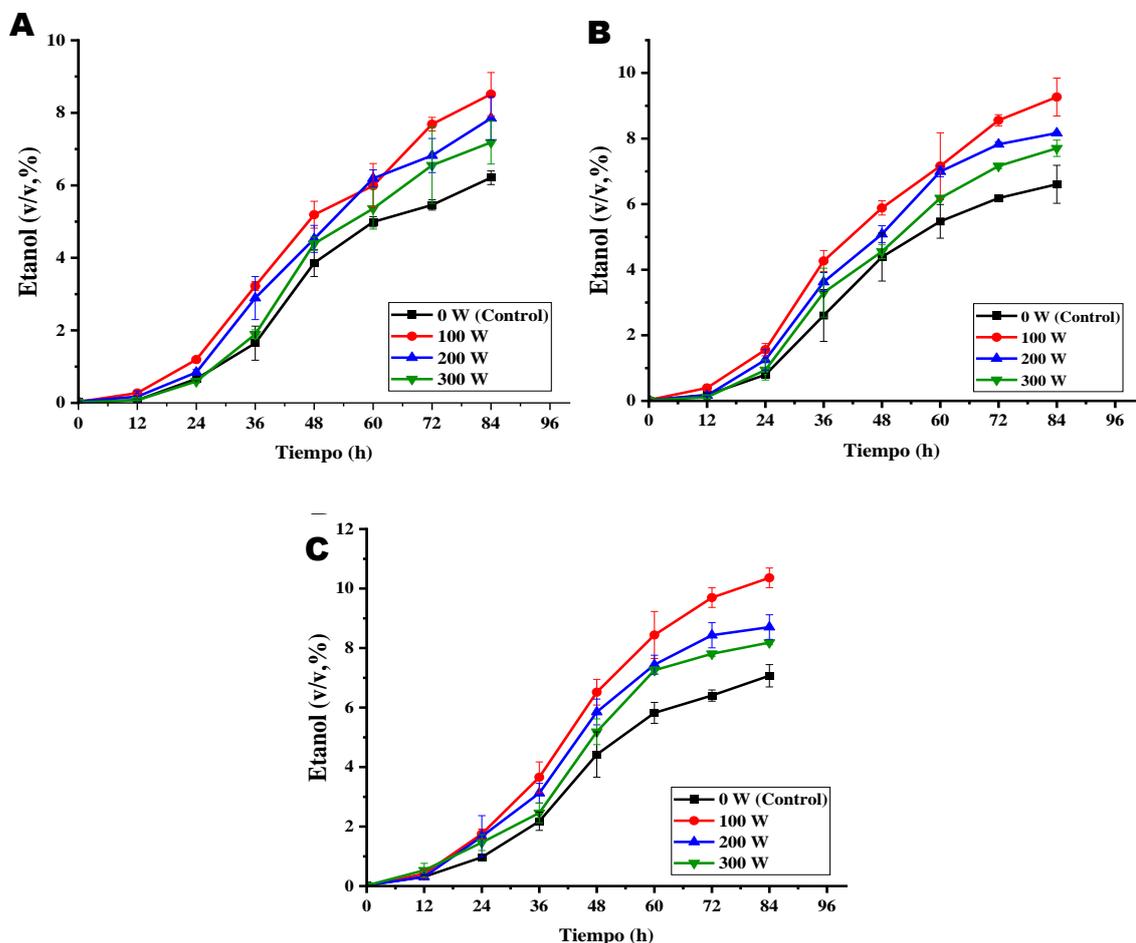
En la Figura 10A se presenta la cinética de fermentación de isaño amarillo, se observa que la producción de etanol asciende a valores de 6.21 ± 0.19 (v/v) % (0 W), 8.51 ± 0.19 (v/v) % (100 W), 7.85 ± 0.6 (v/v) % (200 W) y 7.18 ± 0.6 (v/v) % (300 W) a las 84 horas de fermentación. En la Figura 10B se presenta la cinética de fermentación de isaño amarillo con ojos morado, se observa que la producción de etanol asciende a valores de 6.61 ± 0.19 (v/v) % (0 W), 9.27 ± 0.58 (v/v) % (100 W), 8.17 ± 0.03 (v/v) % (200 W) y 7.7 ± 0.25 (v/v) % (300 W) a las 84 horas de fermentación. Por otro lado, en la Figura 10C, se presenta la cinética de fermentación de isaño morado, se observa que la producción de etanol asciende a valores de 7.07 ± 0.38 (v/v) % (0 W), 10.36 ± 0.33 (v/v) % (100 W), 8.7 ± 0.41

(v/v) % (200 W) y 8.18 ± 0.07 (v/v) % (300 W) a las 84 horas de fermentación.

Se puede observar que la mayor producción de etanol fue en 100 W de potencia de ultrasonido, seguido por 200 W, 300 W y control (0W). Estos resultados son debido a que el ultrasonido de baja potencia mejora la tasa de producción de etanol.

Figura 10.

Cinética de producción de etanol evaluado en tres genotipos de isaño, A: Amarillo, B: Amarillo con ojos morado y C: Morado.





Los resultados muestran que la cinética de producción de etanol aumenta más rápidamente para los tratamientos con potencia ultrasónica, especialmente en 100 W isañ morado, en comparación con los demás isaños. Estos resultados son similares a Klomklieng & Prateepasen (2011) donde indicaron que la potencia ultrasónica mejora la tasa de producción de etanol. También Choi et al. (2015), estudió el efecto de un ultrasonido indirecto 'tipo baño' en la fermentación de cerveza hecha de cebada, donde mostró mejores resultados a potencia de 160 W y frecuencia de 40 kHz, por lo que mejora la producción de etanol y la reducción del tiempo de fermentación. Por otro lado, estos resultados concuerdan con las evaluaciones de disminución de °Brix, azúcares reductores y crecimiento de biomasa por lo que se genera un aumento en la producción de etanol.

En el Anexo 10 de la tabla 14, se presenta el análisis de varianza ANVA para la producción de etanol, donde indica que el factor genotipo de isañ es altamente significativo con un $p (0.0001) < 0.05$. De igual forma para la potencia ultrasónica es altamente significativo con un $p (0.0001) < 0.05$. También, el factor tiempo es altamente significativo con un $p (0.0001) < 0.05$, es decir que la producción de etanol es diferente en cuanto a los genotipos de isañ, potencia ultrasónica y tiempos analizados.

En el Anexo 10A se muestran los resultados de la prueba Duncan ($p < 0.05$) para el factor genotipo de isañ, lo que nos indica que las medias son significativamente diferentes unos de otro. El isañ morado presentó mayor producción de etanol, seguido del isañ amarillo con ojos morado y por último el isañ amarillo. Según Beltran A. y Mera J. (2014), menciona que el isañ es una fuente importante de actividad antioxidante siendo comparado con frutas que contiene un alto contenido de antioxidantes como flavonoides y polifenoles. El



isaño morado presenta entre ocho y diez veces más capacidad antioxidante que el isaño amarillo, otros fenólicos juegan un mayor rol en la actividad antioxidante de estos tubérculos (Campos et al., 2019). Estos resultados, el isaño morado podría presentar mayor producción de etanol debido a que contiene mayor capacidad antioxidante. Por otro lado, estos resultados concuerdan con las evaluaciones de los °Brix, azúcares reductores y crecimiento de biomasa al producir mayor etanol en el isaño morado.

En el Anexo 10B se muestran los resultados de la prueba Duncan ($p < 0.05$) para el factor potencia ultrasónica, lo que nos indica que la mayor producción de etanol fue en 100 W de potencia ultrasónica, seguidamente de 200 W, 300 W y por último el control (0 W). Los resultados de los tratamientos con potencia ultrasónica concuerdan con lo informado en la literatura donde muestra que el ultrasonido mejora la fermentación con mayor producción de etanol. Según Choi et al. (2015) donde estudió el efecto de un ultrasonido indirecto 'tipo baño' en la fermentación de cerveza hecha de cebada, mostró mejores resultados a potencia de 160 W y frecuencia de 40 kHz donde mejora la producción de etanol y la reducción del tiempo de fermentación. De igual forma se encontraron resultados similares de Pulidindi et al. (2012) donde usó ultrasonido de 120 W a 40 kHz; también mostraron que el ultrasonido mejora la producción de etanol. Por otro lado Al Daccache et al. (2020) en su estudio “impacto del ultrasonido de baja intensidad”, la fermentación de jugo de manzana asistida por ultrasonido, mostró un aumento significativo en el crecimiento de la biomasa y el consumo de glucosa, junto con una disminución significativa en el rendimiento de etanol. Sin embargo según Klomklieng & Prateepasen (2011) utilizó ultrasonido de baja potencia para mejorar la fermentación de etanol a partir de melaza, sus resultados indicaron que



la potencia ultrasónica mejoró la tasa de producción de etanol. Los resultados concuerdan con este autor, ya que la potencia ultrasónica a 100 W obtuvo una mayor producción de etanol.

En el Anexo 10C se muestran los resultados de la prueba Duncan ($P < 0.05$) para el factor tiempo, lo que nos indica que a medida que aumenta el tiempo fermentación se presenta mayor producción de etanol. Se puede observar que en el tiempo de 84 horas se produjo la mayor producción de etanol, esto se debe al consumo de azúcar por parte de la levadura *S. cerevisiae*, ya que el mosto de isaño proporciona un ambiente favorable para los microorganismos presentes durante la fermentación, a medida que avanza el proceso, las levaduras consumen los azúcares, llevando a cabo la fermentación hasta que la falta de azúcares como nutrientes junto con la formación de etanol detiene el crecimiento poblacional (Onofre, 2018). Cuando se va produciendo alcohol, la concentración de azúcar disminuye durante las primeras horas de fermentación y se produce la disminución de los sólidos solubles por las levaduras según (Apaza y Atencio, 2017). Por otro lado, Klomklieng & Prateepasen (2011) indicaron que la potencia ultrasónica mejora la tasa de producción de etanol al reducir el tiempo de fermentación entre 6 y 9 horas en comparación con el control.



4.2 CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA DE LA BEBIDA FERMENTADA ASISTIDA POR ULTRASONIDO A BASE DE ISAÑO

4.2.1 Característica fisicoquímica de la bebida fermentada a base de isaño (pH, densidad, acidez total, acidez volátil, extracto seco y contenido de etanol).

En la Tabla 8 se muestran los resultados obtenidos de las características fisicoquímicas de la bebida fermentada a base de isaño (amarillo, amarillo con ojos morado y morado). En el Anexo 11 se presenta el análisis de varianza ANVA para el pH con la prueba Duncan.

Los resultados del pH en la bebida fermentada de isaño amarillo mostraron diferencias significativas con la prueba Duncan, donde las muestras variaron desde 3.73 ± 0.02 (T4) a 3.92 ± 0.01 (T2), mientras que para bebida fermentada de isaño amarillo con ojos morado, también se encontraron diferencias significativas desde 3.82 ± 0.03 (T8) a 3.93 ± 0.01 (T6), sin embargo, para bebida fermentada de isaño morado no se encontraron diferencias significativas, siendo el T4 con pH 3.73 ± 0.02 el más ácido. Estos valores de pH están dentro del rango de 3 a 4 según las NTC 1998. Sin embargo, Pascal (2003) indicó que una bebida fermentada con un valor de pH más bajo tiene una mejor estabilidad microbiana y fisicoquímica, mientras que a un pH alto el producto está expuesto a ser atacado por microorganismos, además el pH es muy importante para prevenir el crecimiento bacteriano indeseable y los cambios resultantes en la acidez como características del sabor, creando condiciones favorables para el crecimiento de la levadura y por lo tanto, una buena fermentación.

Tabla 8.

Característica fisicoquímica de la bebida fermentada asistida por ultrasonido a base de isaño.

Trat.	Genotipos de isaño	Potencia de ultrasonido	pH	Densidad g/mL	Acidez Total g/L	Acidez volátil g/L	Extracto seco g/L	Contenido de etanol (v/v)%
T1		0 W (Control)	3.85 ± 0.03 ^b	1.0244 ± 0.0016 ^a	0.42 ± 0.02 ^b	0.39 ± 0.00 ^b	134.60 ± 1.20 ^a	6.21 ± 0.19 ^b
T2	Amarillo	100 W	3.92 ± 0.03 ^a	1.0255 ± 0.0016 ^a	0.43 ± 0.02 ^{ab}	0.42 ± 0.02 ^a	120.50 ± 0.64 ^c	8.51 ± 0.60 ^a
T3		200 W	3.80 ± 0.01 ^b	1.0281 ± 0.0016 ^a	0.48 ± 0.00 ^{ab}	0.42 ± 0.00 ^a	135.00 ± 0.14 ^a	7.85 ± 0.60 ^a
T4		300 W	3.73 ± 0.02 ^c	1.0258 ± 0.0012 ^a	0.49 ± 0.03 ^a	0.43 ± 0.01 ^a	130.10 ± 0.71 ^b	7.18 ± 0.60 ^{ab}
T5		0 W (Control)	3.90 ± 0.01 ^a	1.0266 ± 0.0012 ^a	0.38 ± 0.04 ^b	0.39 ± 0.01 ^a	130.43 ± 0.32 ^b	6.61 ± 0.58 ^c
T6	Amarillo con ojos morado	100 W	3.93 ± 0.01 ^a	1.0271 ± 0.0029 ^a	0.42 ± 0.03 ^{ab}	0.42 ± 0.02 ^a	118.13 ± 1.52 ^c	9.27 ± 0.58 ^a
T7		200 W	3.89 ± 0.03 ^a	1.0276 ± 0.0038 ^a	0.46 ± 0.02 ^a	0.43 ± 0.01 ^a	134.05 ± 0.85 ^a	8.17 ± 0.03 ^{ab}
T8		300 W	3.82 ± 0.03 ^b	1.0250 ± 0.0005 ^a	0.36 ± 0.03 ^b	0.41 ± 0.01 ^a	119.53 ± 1.66 ^c	7.70 ± 0.25 ^{bc}
T9		0 W (Control)	3.83 ± 0.16 ^a	1.0269 ± 0.0001 ^a	0.46 ± 0.00 ^a	0.39 ± 0.02 ^b	119.33 ± 0.88 ^b	7.07 ± 0.38 ^c
T10	Morado	100 W	3.87 ± 0.05 ^a	1.0283 ± 0.0047 ^a	0.47 ± 0.01 ^a	0.43 ± 0.01 ^a	96.67 ± 0.60 ^d	10.36 ± 0.33 ^a
T11		200 W	3.91 ± 0.02 ^a	1.0252 ± 0.0010 ^a	0.36 ± 0.01 ^b	0.43 ± 0.00 ^a	130.88 ± 0.32 ^a	8.70 ± 0.41 ^b
T12		300 W	3.78 ± 0.00 ^a	1.0245 ± 0.0015 ^a	0.46 ± 0.01 ^a	0.41 ± 0.01 ^{ab}	103.23 ± 0.67 ^c	8.18 ± 0.07 ^b

Los valores son expresados en promedios ± (n = 2), diferencia significativa (p < 0.05).



Los resultados de la densidad de las bebidas fermentadas de isaño (amarillo, amarillo con ojos morado y morado) no se encontraron diferencias significativas estadísticamente entre todos los tratamientos. En el Anexo 12 se presenta el análisis de varianza ANVA para la densidad con la prueba Duncan. Sin embargo, los resultados de la tabla se mantienen entre 1.0244 ± 0.0016 g/mL (T1) a 1.0283 ± 0.0047 g/mL (T10). Según Morantes Triana (2018), menciona que cuando las levaduras descomponen los azúcares fermentados, se ve reflejado en la variación de la densidad del mosto y en el producto final. Se puede decir que, el ultrasonido no afecta a la densidad de la bebida fermentada

Por otro lado, los resultados de la acidez total expresados en ácido cítrico, de la bebida fermentadas de isaño amarillo muestra que estadísticamente no hubo diferencias significativas estadísticamente. En el Anexo 13 se presenta el análisis de varianza ANVA para la acidez total con la prueba Duncan, sin embargo, con la prueba Duncan presenta una variación desde 0.42 ± 0.02 g/L (T1) a 0.49 ± 0.03 g/L (T4), mientras que para bebida fermentada de isaño amarillo con ojos morado, de igual forma no se encontraron diferencias significativas, sin embargo, con la prueba Duncan presenta una variación de 0.36 ± 0.03 g/L (T8) a 0.46 ± 0.02 g/L (T7) y en la bebida fermentada de isaño morado si se encontraron diferencias significativas. Siendo la bebida fermentada más acida el T4 con 0.49 ± 0.03 g/L, esto concuerda con los resultados de pH y la teoría donde menciona que a menor pH mayor acidez. Al respecto, algunos autores reportaron valores más bajos para la acidez total que los observados para las bebidas fermentadas (Bessa et al., 2018; Boeira et al., 2019; Da Silva et al., 2015; Lins & Sartori, 2014). La acidez total se expresa en ácido tartárico o sulfúrico para los vinos comunes de uva (Urbina vinos



2014). Sin embargo, la acidez depende del ácido predominante del producto, en este caso se tomó en cuenta como ácido cítrico por la regulación con este ácido.

Los resultados de la acidez volátil expresado en ácido acético, de la bebida fermentada de isaño amarillo se observa diferencias significativas con la prueba Duncan, con una variación de 0.39 ± 0.00 g/L (T1) a 0.43 ± 0.01 g/L (T4). En el Anexo 14 se presenta el análisis de varianza ANVA para la acidez volátil con la prueba Duncan. Mientras que para bebida fermentada de isaño amarillo con ojos morado, no se encontraron diferencias significativas y en la bebida fermentada de isaño morado de igual forma no se encontraron diferencias significativas, sin embargo, con la prueba Duncan presenta una variación desde 0.39 ± 0.02 g/L (T9) a 0.43 ± 0.01 g/L (T10). Estos valores se encuentran dentro de los parámetros según Garcia & Xirau (2018), donde indica que acidez volátil de los vinos puede variar entre 0.20 g/L y 0.60 g/L según el tipo de vino y proceso de elaboración. La acidez volátil se refiere a los ácidos que se liberan del vino durante la destilación y que son valiosos en el destilado, principalmente el ácido acético, donde concentraciones superiores a 1g/L se considera perjudiciales para la calidad final del vino (García y Mamani, 2008). En general la acidez, es un indicador de conservación del vino de acuerdo a la concentración del ácido presente en el vino final. Sin embargo, Dominique et al. (2003) menciona que si la concentración es muy baja (0,15g/L) el vino produce un olor a picado que puede detectarse a baja concentración.

En los resultados de extracto seco de la bebida fermentada de isaño amarillo, se observa diferencias significativas con la prueba Duncan, donde las muestras variaron desde 120.50 ± 0.64 g/L (T2) a 135.00 ± 0.14 g/L (T3). En el Anexo 15 se presenta el análisis de varianza ANVA para el extracto seco con la



prueba Duncan. Mientras que para bebida fermentada de isaño amarillo con ojos morado, se encontraron diferencias significativas desde 118.13 ± 1.52 g/L (T6) a 134.05 ± 0.85 g/L (T7), para bebida fermentada de isaño morado también se encontraron diferencias significativas, donde las muestras variaron desde 96.67 ± 0.60 g/L (T10) a 130.88 ± 0.32 g/L (T11). Estos resultados fueron similares a Santos et al. (2021) con una variación de 131 g/L a 145 g/L en su bebida fermentada alcohólica de maracuyá. El contenido de extracto seco en las bebidas representan la concentración de sólidos totales, incluyendo sustancias orgánicas no volátiles (como azúcares y ácidos fijos) y minerales y es directamente proporcional a la percepción de “cuerpo” en el vino (Biasoto et al., 2014). Un vino con un extracto seco superior a 30 g/L es una bebida con cuerpo según Castilhos & Del Bianchi (2011), Además, las cantidades de azúcar añadidas a los mostos durante la fermentación alcohólica para la capitalización y antes del embotellado incrementan el contenido de extracto seco del producto según (Boeira et al., 2020; Oliveira, Souza & Mamede, 2011). Por lo tanto, los resultados obtenidos indicarían que las bebidas alcohólicas fermentadas con isaño tendrían muy buen cuerpo.

El contenido de etanol de la bebida fermentada de isaño amarillo se observaron diferencias significativas con la prueba Duncan, donde las muestras variaron desde 6.21 ± 0.19 (v/v)% (T1) a 8.51 ± 0.60 (v/v)% (T2). En el Anexo 16 se presenta el análisis de varianza ANVA para el contenido de etanol con la prueba Duncan. Mientras que para bebida fermentada de isaño amarillo con ojos morado, se encontraron diferencias significativas desde 6.61 ± 0.58 (v/v)% (T5) a 9.27 ± 0.58 (v/v)% (T6), para bebida fermentada de isaño morado también se encontraron diferencias significativas, donde las muestras variaron desde $7.07 \pm$



0.38 (v/v)% (T9) a 10.36 ± 0.33 (v/v)% (T10). El que obtuvo mayor contenido de etanol fue en 100 W de potencia en isaño morado. De acuerdo con Choi et al. (2015), donde estudió el efecto del ultrasonido, mostró mejores resultados a potencia de 160 W y frecuencia de 40 kHz donde presentó una mejora en la producción de etanol. De igual forma se encontraron resultados similares de Pulidindi et al. (2012) donde usó ultrasonido de 120 W a 40 kHz; donde el ultrasonido mejoraba la producción de etanol. Por otro lado, Klomklieng & Prateepasen (2011), muestra que a una baja potencia ultrasónica mejora la tasa de producción de etanol al reducir el tiempo de fermentación entre 6 y 9 horas. Estos resultados demuestran que el contenido de etanol produce más, utilizando ultrasonido de baja potencia como en 100 W.

4.2.2 Característica fisicoquímica de la bebida fermentada a base de isaño (Evaluación colorimétrica instrumental CIELAB L*, C*, H*)

En la Tabla 9 se observa los resultados del color de las bebidas fermentadas asistida por ultrasonido a base de isaño (amarillo, amarillo con ojos morado y morado). Donde se observa los parámetros CIELAB de C* (Croma o saturación) y H* (tono), estos se calcularon en función de coordenadas cromáticas a* y b*. Cuando el valor de $H^* = 0$ es rojo, a medida que aumenta el tono (H^*) o cuando se aleja de 0, se cambia a rojo-naranja ($H^* = 45$), amarillo ($H^* = 90$), verde ($H^* = 180$) y tonos azules ($H^* = 270$). En el Anexo 17 se presenta el análisis de varianza ANVA para el color con la prueba Duncan.

Tabla 9.

Color de la bebida fermentada asistida por ultrasonido a base de isaño.

Trat.	Genotipos de isaño	Potencia de ultrasonido	L*	a*	b*	C*	H*
T1	Amarillo	0 W	20.0 ± 0.2 ^a	0.5 ± 0.2 ^a	12.8 ± 0.2 ^a	12.8 ± 0.2 ^a	87.5 ± 1.0 ^a
T2		100 W	22.2 ± 1.9 ^a	0.3 ± 0.2 ^a	12.0 ± 0.0 ^a	12.0 ± 0.0 ^a	88.8 ± 1.0 ^a
T3		200 W	21.7 ± 0.1 ^a	0.3 ± 0.3 ^a	11.6 ± 0.9 ^a	11.6 ± 0.9 ^a	88.6 ± 1.3 ^a
T4		300 W	20.8 ± 1.1 ^a	0.7 ± 0.4 ^a	11.0 ± 0.3 ^a	11.0 ± 0.3 ^a	86.4 ± 2.1 ^a
T5	Amarillo con ojos morado	0 W	20.7 ± 0.8 ^a	1.5 ± 1.1 ^a	12.2 ± 0.2 ^a	12.3 ± 0.3 ^a	83.1 ± 5.1 ^a
T6		100 W	21.2 ± 0.8 ^a	0.1 ± 2.5 ^a	10.5 ± 0.1 ^a	10.6 ± 0.2 ^a	80.8 ± 0.6 ^a
T7		200 W	23.2 ± 0.1 ^a	1.7 ± 0.4 ^a	11.7 ± 0.3 ^a	11.8 ± 0.2 ^a	81.7 ± 2.2 ^a
T8		300 W	21.4 ± 1.1 ^a	2.4 ± 0.2 ^a	10.7 ± 0.9 ^a	11.0 ± 0.8 ^a	77.6 ± 2.1 ^a
T9	Morado	0 W	11.1 ± 0.3 ^b	6.3 ± 1.5 ^a	4.4 ± 1.1 ^a	7.6 ± 1.9 ^a	34.8 ± 0.2 ^a
T10		100 W	13.8 ± 0.8 ^a	4.5 ± 0.3 ^a	1.9 ± 1.1 ^a	4.9 ± 0.7 ^a	21.6 ± 10.3 ^a
T11		200 W	16.0 ± 0.0 ^a	4.3 ± 0.2 ^a	1.6 ± 0.1 ^a	4.6 ± 0.2 ^a	20.6 ± 0.7 ^a
T12		300 W	13.9 ± 1.4 ^a	4.8 ± 0.0 ^a	2.5 ± 0.5 ^a	5.4 ± 0.2 ^a	26.9 ± 4.7 ^a

Los valores son expresados en promedios ± (n = 2), diferencia significativa (p<0.05).

Los resultados para la bebida fermentada de isaño amarillo, no se encontraron diferencias significativas estadísticamente, para la L*, C* y H*, donde los valores del tono (H*) están entre 86.4 ± 2.1 a 88.8 ± 1.0, la coloración de esta bebida fermentada tiene mayor tendencia al tono amarillo (amarillo pálido), ya que se acerca al valor de 90°. Para la bebida fermentada de isaño amarillo con ojos morado, de igual forma no hubo diferencias significativas, según los valores de L*, C*, donde el tono (H*) están entre 77.6 ± 2.1 a 83.1 ± 5.1, la coloración de esta bebida fermentada tiene mayor tendencia a la tonalidad rojo/naranja (rosa pálido). Para la bebida fermentada de isaño morado, se observa una mínima diferencia significativa en cuanto a la L* entre el tratamiento con ultrasonido y patrón (0 W), donde se observa que presenta mayor luminosidad con ultrasonido, mientras en los otros valores como C* y H* no se observó diferencias



significativas, donde de valores del tono (H^*) están entre 20.6 ± 0.7 a 34.8 ± 0.2 , por consiguiente, la coloración de esta bebida fermentada tiende más al tono rojo (púrpura medio). La luminosidad (L^*) podría variar debido al tiempo de fermentación o por la presencia de los ácidos presentes en el vino.

El color del vino es uno de los aspectos organolépticos más importantes, ya que es el indicador de otros aspectos relacionados con su aroma, sabor, siendo además el primer atributo percibido por la vista (Soto et al., 2021). Además de influir en el aroma, la turbidez, los compuestos fenólicos y los antioxidantes según Pérez et al. (2018). La calidad final del vino deriva del contenido de fenoles y antioxidantes que la bebida contenga, junto con el tiempo de fermentación y maduración, son considerados factores que afectan drásticamente el sabor y color final (García et al., 2020). Las antocianinas y taninos son los que dan el color del vino, además de ser precursores para determinar la capacidad de envejecimiento del vino (Oviedo et al., 2018). De acuerdo a los autores las características del color y la calidad de un vino estarían directamente relacionadas a la acidez juntamente con la composición de compuestos fenólicos y antioxidantes. Originándose así la tonalidad del vino en el transcurso del tiempo y añejamiento.

Sin embargo, según Arriola y Tapia (2017), los factores como el tipo de agente clarificante, el color de los recipientes de almacenamiento, exposiciones constantes a fuentes de luz intensas afectan el color del vino. Ahora bien, Carrión et al. (2018) encontró que la bentonita causa la degradación del color en los vinos, además de no existir información del valor ideal, por lo que más adelante podría ser afectada el color. Es importante una clarificación adecuada para no afectar el color y sabor de la bebida final.



4.3 APLICACIÓN DEL MODELO CINÉTICO DE MONOD EN FUNCIÓN AL PARÁMETRO DE °BRIX EN LA FERMENTACIÓN DE ISAÑO ASISTIDA POR ULTRASONIDO.

En el Anexo 18 se muestran los resultados del modelo cinético de Monod, donde se determinó las constantes de tasa de crecimiento máxima (μ_{max}) y la constante de saturación (K_s) a partir de los resultados experimentales presentados en el Anexo 1 (datos de °Brix, en donde se observa que a medida que aumenta el tiempo de fermentación, los °Brix disminuyen), con estos datos se aplicó el modelo cinético de Monod. Para encontrar los valores de los coeficientes de la ecuación de Monod, primeramente, se halla ds/dt , luego el valor de μ en función al tiempo, seguidamente se toma la pendiente de la línea recta obtenida como resultado de la linealización de la ecuación de Monod al graficar $1/S$ vs $1/\mu$, en el programa Excel. Posteriormente, en el Anexo 19 se muestran los resultados de los parámetros cinéticos y el rendimiento del proceso de fermentación, en el Anexo 20 se muestra el análisis de varianza ANVA con la prueba Duncan.

En la Tabla 10 se muestra en resumen los parámetros cinéticos del modelo de Monod y el rendimiento del proceso de fermentación (rendimiento de biomasa y rendimiento de producto) asistido por ultrasonido, evaluado en tres genotipos de isaño (amarillo, amarillo con ojo morado y morado) en 0 W, 100 W, 200 W y 300 W de potencia ultrasónica. El uso del modelo cinético de Monod muestra la tasa máxima de crecimiento celular y la constante de saturación durante la fermentación. Se observó que, durante la fermentación, la tasa de crecimiento de la biomasa aumentó al disminuir la concentración de sustrato (°Brix) hasta que en un tiempo la viabilidad celular cae rápidamente.

Tabla 10.

Parámetros cinéticos del modelo de Monod y rendimiento del proceso de fermentación asistida por ultrasonido a base de isaño.

Tratamientos	Genotipos de isaño	Potencia de ultrasonido	$\mu_{\max}(\text{h}^{-1})$	Ks (g/L)	Y x/s	Y p/s
T1		0 W (Control)	0.007 ± 0.004 ^b	13.829 ± 11.115 ^a	8.91E+05 ± 3.85E+04 ^a	0.741 ± 0.012 ^a
T2	Amarillo	100 W	0.029 ± 0.013 ^a	43.130 ± 43.698 ^a	7.37E+05 ± 8.04E+03 ^{bc}	0.797 ± 0.041 ^a
T3		200 W	0.007 ± 0.004 ^b	10.928 ± 13.538 ^a	6.92E+05 ± 2.72E+04 ^c	0.751 ± 0.057 ^a
T4		300 W	0.006 ± 0.003 ^b	10.036 ± 14.116 ^a	7.71E+05 ± 1.10E+04 ^b	0.762 ± 0.051 ^a
T5		0 W (Control)	0.017 ± 0.001 ^a	30.773 ± 13.535 ^a	8.94E+05 ± 2.45E+04 ^a	0.736 ± 0.056 ^a
T6	Amarillo con ojos morado	100 W	0.211 ± 0.257 ^a	279.88 ± 365.26 ^a	7.16E+05 ± 7.93E+03 ^d	0.807 ± 0.044 ^a
T7		200 W	0.110 ± 0.128 ^a	157.38 ± 150.15 ^a	7.68E+05 ± 1.61E+04 ^c	0.754 ± 0.008 ^a
T8		300 W	0.167 ± 0.190 ^a	240.41 ± 288.28 ^a	8.43E+05 ± 1.60E+04 ^b	0.805 ± 0.019 ^a
T9		0 W (Control)	0.028 ± 0.007 ^a	27.801 ± 9.927 ^a	9.84E+05 ± 6.81E+03 ^a	0.749 ± 0.005 ^b
T10	Morado	100 W	0.015 ± 0.001 ^a	16.088 ± 20.360 ^a	7.87E+05 ± 3.53E+03 ^b	0.899 ± 0.016 ^a
T11		200 W	0.038 ± 0.008 ^a	44.400 ± 29.197 ^a	8.17E+05 ± 1.18E+03 ^b	0.793 ± 0.031 ^b
T12		300 W	0.064 ± 0.059 ^a	74.833 ± 79.340 ^a	7.60E+05 ± 8.79E+04 ^b	0.766 ± 0.001 ^b

Los valores son expresados en promedios ± (n = 2), diferencia significativa (p<0.05).



Para el isaño amarillo, se observa diferencias significativas estadísticamente, donde el mejor resultado fue el T2, donde la velocidad máxima de crecimiento es de $\mu_{\max} = 0.029 \pm 0.013 \text{ h}^{-1}$ y la constante de saturación es $K_s = 43.130 \pm 43.698 \text{ g/L}$, esto nos demuestra que, para una concentración inicial de sustrato, la velocidad es aceptable; en cuanto al rendimiento de producto de etanol respecto al sustrato es $Y_{p/s} = 0.797 \pm 0.041$ y el rendimiento de biomasa $Y_{x/s}$ varió de $6.92\text{E}+05 \pm 2.72\text{E}+04$ a $8.91\text{E}+05 \pm 3.85\text{E}+04$.

Para el isaño amarillo con ojos morado no se encontraron diferencias significativas, por lo que se tomó como mejor resultado el T6, donde la velocidad máxima de crecimiento es de $\mu_{\max} = 0.211 \pm 0.257 \text{ h}^{-1}$ y la constante de saturación es $K_s = 279.88 \pm 365.26 \text{ g/L}$, esto nos demuestra que, para una concentración inicial de sustrato la velocidad también es aceptable; en cuanto al rendimiento de producto de etanol respecto al sustrato es $Y_{p/s} = 0.807 \pm 0.044$ y el rendimiento de biomasa $Y_{x/s}$ varió de $7.16\text{E}+05 \pm 7.93\text{E}+03$ a $8.94\text{E}+05 \pm 2.45\text{E}+04$.

En el isaño morado tampoco se encontraron diferencias significativas estadísticamente, por lo que se tomó como mejor resultado el T10 (isaño morado en 100 W), donde la velocidad máxima de crecimiento fue de $\mu_{\max} = 0.015 \pm 0.001 \text{ h}^{-1}$ y la constante de reacción es $K_s = 16.088 \pm 20.360 \text{ g/L}$, esto nos demuestra que, para una concentración inicial de sustrato, la velocidad es aceptable, por consiguiente, el rendimiento de producto de etanol respecto al sustrato es $Y_{p/s} = 0.899 \pm 0.016$ y el rendimiento de biomasa $Y_{x/s}$ varió de $7.60\text{E}+05 \pm 8.79\text{E}+04$ a $9.84\text{E}+05 \pm 6.81\text{E}+03$. Estos resultados fueron mayores según lo reportado por Llacsá & Cucho (2019), donde menciona que la fermentación de chicha de quinua, el modelo cinético de Monod ajusta apropiadamente a los datos experimentales, para la variedad Blanca de Juli, donde la velocidad de crecimiento máximo fue de $\mu_{\max} = 0.004 \text{ h}^{-1}$ y la constante de saturación de



$K_s = 24.596$ g/L. Asimismo, Pari (2013) en la cinética de conversión de los carbohidratos presentes en la cáscara de plátano (*Musa Cavendishi*) para la obtención de etanol, obtuvieron los parámetros cinéticos de constante de Monod, donde la velocidad de crecimiento máximo fue de $\mu_{max} = 0.0278$ h⁻¹ y la constante de saturación $K_s = 23.315$ g/L, a una concentración inicial de 16° Brix aun pH de 4.5. Por otro lado, Al Daccache et al. (2020) menciona que los valores de la tasa de crecimiento máxima μ_{max} , mostraron una mayor cinética de crecimiento acelerada por 10 veces más para la fermentación asistida por ultrasonido. También, la fase estacionaria alcanzó más rápido, estos resultados concuerdan con la literatura, donde se informaron valores μ_{max} más altos para las células de *Lactobacillus sakei* tratadas con ultrasonido (Ojha et al., 2018). Estos resultados muestran que la velocidad de crecimiento máximo de las células (μ_{max}) es más rápido para los tratamientos con potencia ultrasónica en comparación con el control (0 W).



V. CONCLUSIONES

- Los parámetros experimentales durante el proceso de la fermentación alcohólica están influenciados significativamente por el genotipo de isaño y la potencia ultrasónica. La fermentación de isaño morado a 100 W de potencia ultrasónica mostró mayor disminución de los sólidos solubles desde 16.0 hasta 4.3 °Brix, azúcares reductores desde 7.20 hasta 2.46 g/L, con un máximo crecimiento de levaduras hasta $1.5E+07$ y una mayor producción de etanol de 10.36 (v/v)%. El ultrasonido a baja potencia mejoró a eficiencia de la fermentación de isaño.
- El genotipo de isaño y la potencia ultrasónica afecta significativamente sobre las características fisicoquímicas de la bebida fermentada de isaño, excepto en la densidad y el color. El tratamiento que mejor favoreció estas características fue la muestra sometida a 100 W de potencia en isaño morado (T10), alcanzando un pH de 3.87 y acidez volátil de 0.43 g/L con contenido de etanol de 10.36 (v/v)%, estos resultados son aceptables para la conservación de la bebida fermentada de isaño.
- Los datos experimentales se ajustaron apropiadamente al modelo cinético de Monod, presentando diferencias significativas entre los tratamientos, considerando como el mejor resultado en 100 W de potencia ultrasónica en isaño morado, proporcionando los parámetros cinéticos a un valor de velocidad máxima de crecimiento microbiano $\mu_{\max} = 0.015 \text{ h}^{-1}$ y constante de saturación $K_s = 16.088 \text{ g/L}$.



VI. RECOMENDACIONES

- Para mejorar el proceso de fermentación se recomienda utilizar un baño ultrasónico con agitador discontinuo para mejorar la eficiencia de la levadura *Sacharomyces cerevisiae* para lograr un mayor rendimiento de fermentación.
- Realizar el envasado de la bebida fermentada de isaño en recipientes de vidrio color ámbar para disminuir la degradación del color, causada por la oxidación de las antocianinas y flavonoides presentes en la bebida bajo la influencia de la luz.
- Realizar un análisis sensorial de la bebida fermentada de isaño y un análisis de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante para garantizar que el producto tenga las propiedades funcionales que beneficiaran al consumidor.
- Se recomienda seguir evaluando la fermentación por ultrasonido y más procesos de elaboración con otros productos de la región para darle un valor agregado.



VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aguilar, A., Pedreschi, R., Carpentier, S., Chirinos, R., García-Ríos, D., Campos, D., 2020. Proteomic analysis of mashua (*Tropaeolum tuberosum*) tubers subjected to postharvest treatments. *Food Chem.* 305, 125485. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125485>
- Al Daccache, M., Koubaa, M., Salameh, D., Maroun, R.G., Louka, N., Vorobiev, E., 2020. Ultrasound-assisted fermentation for cider production from Lebanese apples. *Ultrason. Sonochem.* 63, 104–952. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2019.104952>
- Apaza, L., 2016. Cinética de la extracción de alcohol de la planta macha macha (*Peruvianum jancs*) pero el metodo de fermentacion. Universidad Nacional del Altiplano. Puno.
- Apaza, L., Tena Pérez, V., Serban, A.M., Alonso Navarro, M.J., Rumbero, A., 2019. Alkamides from *Tropaeolum tuberosum* inhibit inflammatory response induced by TNF- α and NF- κ B. *J. Ethnopharmacol.* 235, 199–205. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2019.02.015>
- Apaza, R.M., Atencio, Y.J., 2017. Tecnología para la elaboración de una cerveza artesanal tipo Ale, con sustitución parcial de malta (*Horden Vulgare*) por guiñapo de maiz morado (*Zea Mayz*). Universidad Nacional de San Agustín.
- Arriola, A., Tapia, M., 2017. Análisis de oxidaciones controladas en mostos y vinos. Universidad Nacional de Cuyo.
- Arteaga, D., Chacón, L., Samamé, V., Valverde, D., Paucar, L.M., 2022. Mashua (*tropaeolum tuberosum*): Composición nutricional, características químicas, compuestos bioactivos y propiedades beneficiosas para la salud. *Agroindustrial Sci.* 12, 95–101. <https://doi.org/10.17268/agroind.sci.2022.01.12>
- Aruquipa, R., Trigo, R., Bosque, H., Mercado, G., Condori, J., 2017. El Isaño (*Tropaeolum tuberosum*) un cultivo de consumo y medicina tradicional en Huatacana para el beneficio de la población boliviana. *Rev. Investig. e Innovación Agropecu. y Recur. Nat.* 3, 146–151.



- Bello Gil, D., Carrera Bocourt, E., Díaz Maqueira, Y., 2006. Determinación de azúcares reductores totales en jugos mezclados de caña de azúcar utilizando el método del ácido 3,5 dinitrosalicílico. *ICIDCA. Sobre los Deriv. la caña azúcar XL*, 45–50.
- Beltran A. y Mera J., 2014. Elaboracion Del Tuberculo Mashua (*Tropaeolum Tuberosum*) Troceada en miel y determinacion de la capacidad antioxidante. *Wild* 2007–2010.
- Bessa, M.A.D., De Oliveira, E.N.A., Feitosa, B.F., Feitosa, R.M., Almeida, F.L.C., De Oliveira Neto, J.O., 2018. Fermented alcoholic melon (*Cucumis melo L.*) beverage: Processing and characterization. *Brazilian J. Food Technol.* 21, 1–5. <https://doi.org/10.1590/1981-6723.21717>
- Biasoto, A., Netto, F., Marques, E., Silva, M., 2014. Acceptability and preference drivers of red wines produced from *Vitis labrusca* and hybrid grapes. *Food Res. Int.* 62, 456–466. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.03.052>
- Boeira, L., Freitas, P., Uchôa, N., de Araujo Bezerra, J., Cád, S., Junior, S., Albuquerque, P., Mar, J., Ramos, A., Machado, M., Maciel, L., 2019. Chemical and sensorial characterization of a novel alcoholic beverage produced with native acai (*Euterpe precatoria*) from different regions of the Amazonas state. *LWT* 117, 108632. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108632>
- Burgos M., L.J., 2020. Cuantificación de azúcares reductores del sustrato en residuos de piña con el método del ácido 3,5-dinitrosalicílico. *Fund. Univ. AMÉRICA* 13, 57–66. <https://doi.org/10.29097/23461098.308>
- Campos, D., Aguilar, A., García, D., Chirinos, R., Limaymanta, E., Pedreschi, R., 2019. Postharvest storage and cooking techniques affect the stability of glucosinolates and myrosinase activity of Andean mashua tubers (*Tropaeolum tuberosum*). *Int. J. Food Sci. Technol.* 54, 2387–2395. <https://doi.org/10.1111/ijfs.14150>
- Campos, D., Chirinos, R., Gálvez Ranilla, L., Pedreschi, R., 2018. Bioactive Potential of Andean Fruits, Seeds, and Tubers, 1st ed, *Advances in Food and Nutrition Research*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/bs.afnr.2017.12.005>
- Carrión, C.V., Barrazueta, S.G., Mendoza, G.X., Lara, M.L., 2018. Mejoramiento de las propiedades físicoquímicas del vino usando distintos niveles de bentonita. *Cienc.*



Digit. 2, 67–87. <https://doi.org/10.33262/cienciadigital.v2i4.2..202>

- Castilhos, M., Del Bianchi, V., 2011. Caracterização físico-química e sensorial de vinhos brancos da regioao. HOLOS 4. <https://doi.org/10.15628/holos.2011.611>
- Chemat, F., Rombaut, N., Sicaire, A.G., Meullemiestre, A., Fabiano-Tixier, A.S., Abert-Vian, M., 2017. Ultrasound assisted extraction of food and natural products. Mechanisms, techniques, combinations, protocols and applications. A review. Ultrason. Sonochem. 34, 540–560. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2016.06.035>
- Chirinos, R., Campos, D., Arbizu, C., Rogez, H., Rees, J.-F., Larondelle, Y., Noratto, G., Cisneros-Cevallos, L., 2007. Effect of genotype, maturity stage and post-harvest storage on phenolic compounds, carotenoid content and antioxidant capacity, of Andean mashua tubers. J. Sci. Food Agric. 437–446. <https://doi.org/10.1002/jsfa>
- Choi, E.J., Anh, H., Kim, M., Hojong, H., Kim, W. June, 2015. Effect of ultrasonication on fermentation kinetics of beer using six-row barley cultivated in Korea. J Inst. Brew. Distill. 121, 510–517.
- Coillo V., C., 2017. Aplicación del modelo cinético de Michaelis-Menten en la fermentación de zumo de piña (Ananas comosus). Universidad Nacional del Altiplano-Puno.
- Coloma, A., Flores-mamani, E., Quille-calizaya, G., Zaira-churata, A., Apaza-ticona, J., Calsina-ponce, W.C., Huata-panca, P., Inquilla-mamani, J., Huanca-rojas, F., 2022. Characterization of Nutritional and Bioactive Compound in Three Genotypes of Mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz and Pavón) from Different Agroecological Areas in Puno. Hindawi 13. <https://doi.org/https://doi.org/10.1155/2022/7550987>
- Da Silva, M.J.R., Tecchio, M.A., Moura, M.F., Brunelli, L.T., Imaizumi, V.M., Filho, W.G.V., 2015. Composição físico-química do mosto e do vinho branco de cultivares de videiras em resposta a porta-enxertos. Pesqui. Agropecu. Bras. 50, 1105–1113. <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2015001100014>
- Ferreira, M., Schwab, M., Gerard, L., Zapata, L., Davies, C., Hours, A., 2009. Fermentación alcohólica de jugo de naranja con *S. cerevisiae*. Ciencia, Docencia y Technol. 20, 143–158.



- Flores-Mendoza, L., Osorio-Lorenzo, P. V., Pérez-San Juan, A. R., Sánchez-Rosas, D. L.1, Rodríguez-Puertos, T., 2019. Elaboración de una bebida fermentada tipo cerveza artesanal a base de malta adicionada con tallo de maíz (*Zea mays*) y Mexale Elaboration of a fermented beverage type craft beer based on malt added with corn stalk (*Zea mays*) and Mexale Resumen II . MAT 3, 59–67.
- Garcia, C., Salvo, C., Martin, F., Garcia C, C., Rodriguez, M.L., 2020. Analysis of red wines using an electronic tongue and infrared spectroscopy . Correlations with phenolic content and color parameters. El servier.
- García, D., Mamani, G., 2008. Selección de levaduras nativas *Saccharomyces cerevisiae* aisladas de chicha de jora del Valle de Mantaro. Universidad Nacional del Centro del Perú. Huancayo.
- Garcia, J., Xirau, M., 2018. Técnicas Usuales de Análisis en Enología. Barcelona.
- Gonzáles, E., Quezada, W., Herrera, I., Concepción, D., Miño, J., 2018. Gestión del conocimiento para la industria química y fermentativa con poyo de la optimización, Universidad Nacional de Misiones.
- Grau, A., Ortega, R., Nieto, C., Hermam, M., 2003. Mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruíz & Pav), Promoting the conservation and use of underutilized or neglected crops. 25. International Potato Center, Lima, Peru/International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy.
- Hidalgo, J., 2018. Tratado de Enología. Volumen I y II, Segunda Ed. ed, Ediciones Mundi Prensa. México.
- Huang, G., Chen, S., Dai, C., Sun, L., Sun, W., Tang, Y., Xiong, F., He, R., Ma, H., 2017. Effects of ultrasound on microbial growth and enzyme activity. Ultrason. Sonochem. 37, 144–149. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2016.12.018>
- Izquierdo T, J.F., Cunill García, F., Tejero Salvador, J., Iborra Urios, M., Fité, C., 2008. Cinética de las reacciones. Fisicoquímica Edicions U, 602–603.
- Klomklieng, W., Pratepasen, a, 2011. Using low-power ultrasonic for enhancing *Saccharomyces cerevisiae* M30 productivity for ethanol producing from molasses.



- Int. Proc. Chem. Biol. Environ. Eng. 9, 234–239.
- Kłosinska, M.M., Crutchfield, C.A., Bradley, P.H., Rabinowitz, J.D., Broach, J.R., 2011. Yeast cells can access distinct quiescent states. *Genes Dev.* 25, 336–349. <https://doi.org/10.1101/gad.2011311>
- Kołota, A., Skolmowska, D., Lachowicz, K., Stachoń, M., 2020. Characteristic of phenolic compounds of wine and the influence of raw material and production process on their content. *Anal. Rev. Artic.* 2, 142–157.
- Lamberti, N., Ardia, L., Albanese, D., Di Matteo, M., 2009. An ultrasound technique for monitoring the alcoholic wine fermentation. *Ultrasonics* 49, 94–97. <https://doi.org/10.1016/j.ultras.2008.06.003>
- Lee, S.B., Tremaine, M., Place, M., Liu, L., Pier, A., Krause, D.J., Xie, D., Zhang, Y., Landick, R., Gasch, A.P., Hittinger, C.T., Sato, T.K., 2021. Crabtree/Warburg-like aerobic xylose fermentation by engineered *Saccharomyces cerevisiae*. *Metab. Eng.* 68, 119–130. <https://doi.org/10.1016/j.ymben.2021.09.008>
- Levenspiel, O., 2004. *Ingeniería de las Reacciones Químicas*, REPLA S.A. ed. Editorial Reverté, S.A., México.
- Lins, A.R., Sartori, G. V, 2014. Qualidade fenólica e atividade antioxidante de vinhos tintos produzidos no estado do Parana. *Rev. Bras. Prod. Agroindustriais* 16, 69–76. <https://doi.org/10.15871/1517-8595/rbpa.v16n1p69-76>
- Llacsá, J.D., Cucho, A., 2019. Cinética de fermentación de la chicha de quinua evaluado en tres variedades de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.). Universidad Nacional del Altiplano.
- López, A., Sarli, A., 2016. El modelo cielab, las fórmulas de diferencia de color y el uso de la norma europea en 12878 en morteros y hormigones coloreados. *Cienc. y Tecnol. los Mater.*
- Manrique, I., Arbizu, C., Vivanco, F., Ramirez, C., Chavez, O., Tay, D., Ellis, D., 2013. *Tropaelum tuberosum* Ruíz & Pav. Colección de germoplasma de mashua conservada en el Centro Internacional de la Papa (CIP), Centro Internacional de la



- Papa (CIP). Lima, Perú. <https://doi.org/10.4160/9789290604310>
- Mesas, J.M., Alegre, M.T., 1999. El Papel De Los Microorganismos En La Elaboración Del Vino the Role of the Microorganisms in Winemaking O Papel Dos Microorganismos Na Elaboración Do Viño. *Cienc. y Technol. Aliment.* 2, 174–183. <https://doi.org/10.1080/11358129909487599>
- Morantes Triana, M.I., 2018. Evaluación de una fermentación alcohólica de cubio (*Tropaeolum tuberosum* R & P) con levadura de vinificación para la obtención de vino de tubérculo. *Cienc. Unisalle* 1–99.
- Muñoz, M., Catrilaf, G., 2013. Estimación de parámetros cinéticos de *Saccharomyces cerevisiae* en sistema de fermentación Batch bajo distintas condiciones de crecimiento 1–11.
- NTP 212.014, 2016. NORMA TÉCNICA PERUANA. BEBIDAS ALCOHÓLICAS VITIVINÍCOLAS. *Vinos. Requisitos* 3^a Edición, 19.
- Ojha, K.S., Burgess, C.M., Duffy, G., Kerry, J.P., Tiwari, B.K., 2018. Integrated phenotypic-genotypic approach to understand the influence of ultrasound on metabolic response of *Lactobacillus sakei*. *PLoS One* 13, 1–20. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0191053>
- Onofre, C., 2018. Efecto del proceso de fermentación alcohólica de la chicha de quinua (*chenopodium quinoa willd*) sobre su contenido de antioxidante, vitaminas y minerales. Universidad Nacional de San Agustín.
- Oviedo, M., Lozano, J., Amorocho, C.M., 2018. Physicochemical and microbiological characterization of blackberry (*Rubus glaucus* Benth) mora, El Hobo (Huila). *DYNA* 85, 107–112.
- Pacco, W., 2015. "Evaluación del efecto del soleado y la cocción en la capacidad antioxidante del puré deshidratado de mashua (*Tropaeolum tuberosum* R. et P.)". Universidad Nacional del Altiplano-Puno.
- Palomino, A., Erazo, R., 1999. Estudio de simulación de un fermentador continuo usando celulas inmovilizadas. *Rev. Per. Quim. Ing. Quim.* N° 2, 136–143.



- Pari, E., 2013. Cinética de conversión de los carbohidratos presentes en la cáscara de plátano (*Musa Cavendishi*) para la obtención de etanol. Universidad Nacional del Altiplano. Puno.
- Pérez, D., Capaldi, C., Mercado, L., Malizia, A., Santiago Sari, y, 2018. Efecto combinado de cepa de levadura y Terroir en vinos Malbec de Mendoza. E3S Web Conf. 50, 02005. <https://doi.org/10.1051/e3sconf/20185002005>
- Puerari, C., Magalhães-Guedes, K.T., Schwan, R.F., 2015. Bacaba beverage produced by umutina Brazilian amerindians: Microbiological and chemical characterization. *Brazilian J. Microbiol.* 46, 1207–1216. <https://doi.org/10.1590/S1517-838246420140964>
- Pulidindi, I., Gedanken, A., Schwarz, R., Sendersky, E., 2012. Mild Sonication Accelerates Ethanol Production by Yeast Fermentation. *Energy & Fuels* 26, 2352–2356. <https://doi.org/10.1021/ef3002845>
- Ramón, F., 2017. Efecto del estrés abiótico post-cosecha en las características físico-químicas y de algunos metabolitos primarios de Mashua morada (*Tropaeolum tuberosum* Ruíz & Pavón). Universidad Nacional Agraria La Molina. Lima.
- Robles, L.E., Ochoa, L.A., 2012. Ultrasonido y sus aplicaciones en el procesamiento de alimentos. *Rev. Iberoam. Technol. Postcosecha* 13, núm, 1–15.
- Ronquillo, A., Lazcano, V., Pérez, I., Cabrera, S., Lazcano, M., 2016. Elaboración y Caracterización de Vino de Frutas e Infusión de Hierbas. *Investig. y Desarro. en Cienc. y Technol. Aliment.* 1, 366–371.
- Salinas, D., 2022. Cinética del crecimiento de levaduras (*Saccharomyces cerevisiae*) en diferentes sustratos. Repositorio Universidad Técnica de Machala.
- Santos, R.T.S., Biasoto, A.C.T., Rybka, A.C.P., Castro, C.D.P.C., Aidar, S.T., Borges, G.S.C., Silva, F.L.H., 2021. Physicochemical characterization, bioactive compounds, in vitro antioxidant activity, sensory profile and consumer acceptability of fermented alcoholic beverage obtained from Caatinga passion fruit (*Passiflora cincinnata* Mast.). *Lwt* 148, 111714. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111714>



- Shifeng, C., Zhichao, H., Bin, P., 2010. Optimization of postharvest ultrasonic treatment of strawberry fruit. *Postharvest Biol. Technol.* 55, 150–153. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2009.11.002>
- Soto, J.E., Charry, S., Amorocho, C.M., 2021. Evaluación del comportamiento del color del vino artesanal de curuba “Son del Alba.” *Ing. y Región* 26, 4–19. <https://doi.org/10.25054/22161325.2915>
- Tapia, M., Fries, A., 2007. Guía de campo de los cultivos andinos. FAO Y ANPE, Lima.
- Vallejo, B., Matallana, E., Aranda, A., 2020. *Saccharomyces cerevisiae* nutrient signaling pathways show an unexpected early activation pattern during winemaking. *Microb. Cell Fact.* 19, 1–15. <https://doi.org/10.1186/s12934-020-01381-6>
- Vázquez, H., Dacosta, O., 2007. Fermentación alcohólica: Una opción para la producción de energía renovable a partir de desechos agrícolas. *Ing. Investig. y Tecnol.* 8, 249–259. <https://doi.org/10.22201/fi.25940732e.2007.08n4.020>
- Wang, X., Glawe, D.A., Weller, D.M., Okubara, P.A., 2020. Real-time PCR assays for the quantification of native yeast DNA in grape berry and fermentation extracts. *J. Microbiol. Methods* 168. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2019.105794>
- Yu, Z., Su, Y., Zhang, Y., Zhu, P., Mei, Z., Zhou, X., Yu, H., 2021. Potential use of ultrasound to promote fermentation, maturation, and properties of fermented foods: A review. *Food Chem.* 357, 129805. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129805>
- Zapata, J., Hoyos, M., Quinchia, L., 2005. Parámetros cinéticos de crecimiento de *Saccharomyces cerevisiae* en presencia de un campo magnético variable de baja intensidad y alta frecuencia. *Vitae* 12, 39–44.
- Zhang, Z., Xiong, F., Wang, Y., Dai, C., Xing, Z., Dabbour, M., Mintah, B., He, R., Ma, H., 2019. Fermentation of *Saccharomyces cerevisiae* in a one liter flask coupled with an external circulation ultrasonic irradiation slot *Ultrason. Sonochem.* 54, 39–47. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2019.02.017>.

ANEXOS

ANEXO 1: Resultados de recolección de datos de sólidos solubles (°Brix)

1A. Datos de °Brix de isaño amarillo

TIEMPO (horas)	ISAÑO AMARILLO											
	0 W			100 W			200 W			300 W		
	R1	R2	Prom.	R1	R2	Prom.	R1	R2	Prom.	R1	R2	Prom.
0	16.0	16.0	16.0	16.0	16.0	16.0	16.0	16.0	16.0	16.0	16.0	16.0
12	14.6	14.4	14.5	14.1	13.8	14.0	14.3	14.0	14.2	14.6	14.1	14.4
24	13.4	13.0	13.2	12.4	11.8	12.1	12.8	12.2	12.5	12.9	12.4	12.7
36	12.5	12.1	12.3	11.5	10.5	11.0	11.5	11.1	11.3	12.0	11.2	11.6
48	11.5	11.3	11.4	10.3	9.4	9.9	10.4	10.0	10.2	11.0	10.3	10.7
60	9.8	9.3	9.6	7.7	7.5	7.6	8.9	8.2	8.6	9.1	8.7	8.9
72	9.1	9.0	9.1	7.3	6.8	7.1	8.6	7.3	8.0	8.2	8.4	8.3
84	7.9	7.3	7.6	5.5	5.1	5.3	5.6	5.4	5.5	6.8	6.5	6.7

1B. Datos de °Brix de isaño amarillo con ojos morado

TIEMPO (horas)	ISAÑO AMARILLO CON OJOS MORADO											
	0 W			100 W			200 W			300 W		
	R1	R2	Prom.	R1	R2	Prom.	R1	R2	Prom.	R1	R2	Prom.
0	16.0	16.0	16.0	16.0	16.0	16.0	16.0	16.0	16.0	16.0	16.0	16.0
12	14.0	14.2	14.1	13.5	14.1	13.8	13.6	14.2	13.9	14.3	13.9	14.1
24	12.4	13.0	12.7	12.0	12.2	12.1	12.0	12.1	12.1	12.9	12.1	12.5
36	11.4	12.4	11.9	10.1	10.6	10.4	11.0	11.2	11.1	11.5	11.2	11.4
48	10.5	11.0	10.8	9.1	9.7	9.4	9.2	10.8	10.0	10.4	10.0	10.2
60	9.0	9.4	9.2	8.2	8.2	8.2	8.3	8.7	8.5	9.3	8.7	9.0
72	8.5	8.8	8.7	7.4	7.6	7.5	7.7	8.2	8.0	8.6	8.1	8.4
84	6.9	7.0	7.0	4.5	4.8	4.7	4.9	5.3	5.1	6.7	6.2	6.5

1C. Datos de °Brix de isaño morado

TIEMPO (horas)	ISAÑO MORADO											
	0 W			100 W			200 W			300 W		
	R1	R2	Prom.	R1	R2	Prom.	R1	R2	Prom.	R1	R2	Prom.
0	16.0	16.0	16.0	16.0	16.0	16.0	16.0	16.0	16.0	16.0	16.0	16.0
12	14.1	13.7	13.9	13.4	12.8	13.1	13.5	12.9	13.2	13.3	13.1	13.2
24	12.5	12.1	12.3	11.0	11.2	11.1	11.7	11.3	11.5	11.6	11.3	11.5
36	11.3	11.0	11.2	9.9	9.4	9.7	10.4	10.0	10.2	10.9	10.6	10.8
48	10.1	10.0	10.1	8.6	8.3	8.5	9.0	8.9	9.0	9.4	9.0	9.2
60	8.9	8.5	8.7	8.1	7.9	8.0	8.5	8.4	8.5	8.8	8.7	8.8
72	8.2	7.8	8.0	7.6	6.6	7.1	7.9	7.5	7.7	8.0	7.9	8.0
84	6.8	6.2	6.5	4.5	4.1	4.3	5.0	4.7	4.9	5.6	5.3	5.5

ANEXO 2: Resultados de recolección de datos de azúcares reductores (g/L)

2A. Datos de azúcares reductores (g/L) de isaño amarillo

TIEMPO (horas)	ISAÑO AMARILLO											
	0 W			100 W			200 W			300 W		
	R1	R2	Prom.	R1	R2	Prom.	R1	R2	Prom.	R1	R2	Prom.
0	7.396	7.062	7.229	7.344	7.142	7.243	7.269	7.227	7.248	7.281	7.060	7.171
12	7.310	7.136	7.223	6.957	6.674	6.816	7.140	6.922	7.031	6.908	6.733	6.821
24	7.070	6.672	6.871	6.481	5.892	6.186	6.884	6.416	6.65	6.495	6.535	6.515
36	6.868	6.638	6.753	5.707	5.517	5.612	6.005	5.537	5.771	6.378	6.120	6.249
48	6.525	6.590	6.558	5.019	4.880	4.949	5.410	4.997	5.203	5.719	5.465	5.592
60	6.336	6.122	6.229	4.194	3.908	4.051	4.914	4.519	4.716	5.047	4.827	4.937
72	5.779	5.340	5.559	3.753	3.462	3.607	4.184	3.819	4.002	4.698	4.212	4.455
84	5.384	4.517	4.95	3.220	2.785	3.002	3.601	3.420	3.511	4.497	3.809	4.153

2B. Datos de azúcares reductores (g/L) de isaño amarillo con ojos morado

TIEMPO (horas)	ISAÑO AMARILLO CON OJOS MORADO											
	0 W			100 W			200 W			300 W		
	R1	R2	Prom.	R1	R2	Prom.	R1	R2	Prom.	R1	R2	Prom.
0	7.043	7.390	7.217	7.134	7.251	7.193	7.173	7.298	7.235	7.245	7.144	7.195
12	6.967	7.064	7.015	6.830	6.997	6.913	6.951	7.060	7.005	7.043	6.868	6.956
24	6.648	6.929	6.788	6.047	6.634	6.341	6.441	6.705	6.573	6.749	6.729	6.739
36	6.441	6.828	6.634	5.243	5.819	5.531	5.696	6.505	6.101	5.902	5.662	5.782
48	6.382	6.424	6.403	4.116	4.654	4.385	4.672	5.237	4.954	5.340	5.142	5.241
60	5.640	6.112	5.876	3.745	3.682	3.713	4.253	4.454	4.354	4.892	4.852	4.872
72	4.654	5.116	4.885	3.238	3.519	3.379	3.515	3.835	3.675	4.287	4.045	4.166
84	4.067	4.638	4.352	2.595	2.642	2.618	3.236	3.301	3.269	3.682	3.238	3.460

2C. Datos de azúcares reductores (g/L) de isaño morado

TIEMPO (horas)	ISAÑO MORADO											
	0 W			100 W			200 W			300 W		
	R1	R2	Prom.	R1	R2	Prom.	R1	R2	Prom.	R1	R2	Prom.
0	7.269	7.207	7.238	7.386	7.011	7.199	7.392	6.957	7.175	7.225	7.045	7.135
12	6.949	6.888	6.918	6.604	6.477	6.54	6.931	6.723	6.827	7.041	6.840	6.941
24	6.846	6.586	6.716	6.195	5.622	5.908	6.547	6.124	6.336	6.553	6.487	6.52
36	6.432	6.231	6.332	4.944	4.759	4.852	5.779	5.231	5.505	5.914	5.674	5.794
48	6.070	5.753	5.911	4.477	3.878	4.177	4.823	4.464	4.644	5.414	4.823	5.119
60	5.465	5.436	5.45	3.474	3.462	3.468	4.628	3.803	4.215	4.487	4.083	4.285
72	5.061	4.341	4.701	3.023	2.930	2.976	3.533	3.212	3.372	4.230	3.650	3.94
84	4.194	3.823	4.009	2.732	2.192	2.462	3.015	2.752	2.883	3.222	3.045	3.134

ANEXO 3: Resultados de recolección de datos de concentración de levaduras (UFC/mL)

3A. Datos de concentración de levaduras (UFC/mL) de isañ amarillo

TIEMPO (horas)	ISAÑO AMARILLO											
	0 W			100 W			200 W			300 W		
	R1	R2	Prom.	R1	R2	Prom.	R1	R2	Prom.	R1	R2	Prom.
0	7.0E+05	9.0E+05	8.0E+05	1.0E+06	1.1E+06	1.1E+06	9.0E+05	1.1E+06	1.0E+06	9.0E+05	1.0E+06	9.5E+05
12	9.0E+05	1.0E+06	9.5E+05	1.7E+06	2.2E+06	2.0E+06	1.2E+06	1.6E+06	1.4E+06	1.1E+06	1.3E+06	1.2E+06
24	1.2E+06	1.5E+06	1.4E+06	2.8E+06	3.2E+06	3.0E+06	2.1E+06	2.8E+06	2.5E+06	1.9E+06	2.4E+06	2.2E+06
36	2.2E+06	2.6E+06	2.4E+06	5.5E+06	5.9E+06	5.7E+06	4.2E+06	4.6E+06	4.4E+06	3.3E+06	4.2E+06	3.8E+06
48	5.3E+06	5.5E+06	5.4E+06	9.6E+06	1.0E+07	9.9E+06	8.1E+06	9.0E+06	8.6E+06	7.6E+06	8.0E+06	7.8E+06
60	7.2E+06	7.8E+06	7.5E+06	1.1E+07	1.1E+07	1.1E+07	9.4E+06	1.1E+07	1.0E+07	8.8E+06	9.5E+06	9.2E+06
72	7.5E+06	8.5E+06	8.0E+06	1.0E+07	1.1E+07	1.1E+07	9.6E+06	1.0E+07	9.8E+06	8.7E+06	9.2E+06	9.0E+06
84	7.7E+06	8.8E+06	8.3E+06	8.8E+06	9.0E+06	8.9E+06	7.9E+06	8.5E+06	8.2E+06	8.0E+06	8.4E+06	8.2E+06

3B. Datos de concentración de levaduras (UFC/mL) de isañ amarillo con ojos morado

TIEMPO (horas)	ISAÑO AMARILLO CON OJOS MORADO											
	0 W			100 W			200 W			300 W		
	R1	R2	Prom.	R1	R2	Prom.	R1	R2	Prom.	R1	R2	Prom.
0	8.0E+05	7.0E+05	7.5E+05	1.0E+06	9.0E+05	9.5E+05	1.2E+06	1.1E+06	1.2E+06	9.0E+05	1.1E+06	1.0E+06
12	1.4E+06	1.1E+06	1.3E+06	2.8E+06	2.1E+06	2.5E+06	2.1E+06	1.8E+06	2.0E+06	1.4E+06	1.6E+06	1.5E+06
24	2.3E+06	1.5E+06	1.9E+06	3.9E+06	3.3E+06	3.6E+06	3.0E+06	2.7E+06	2.9E+06	2.5E+06	3.0E+06	2.8E+06
36	3.4E+06	2.9E+06	3.2E+06	6.2E+06	5.8E+06	6.0E+06	5.0E+06	4.9E+06	5.0E+06	3.9E+06	4.6E+06	4.3E+06
48	6.0E+06	5.7E+06	5.9E+06	1.2E+07	1.2E+07	1.2E+07	9.5E+06	9.1E+06	9.3E+06	7.8E+06	8.5E+06	8.2E+06
60	8.2E+06	8.0E+06	8.1E+06	1.3E+07	1.2E+07	1.3E+07	1.2E+07	1.1E+07	1.1E+07	1.1E+07	1.1E+07	1.1E+07
72	8.8E+06	8.4E+06	8.6E+06	1.2E+07	1.2E+07	1.2E+07	1.1E+07	1.0E+07	1.1E+07	9.7E+06	1.0E+07	9.9E+06
84	9.0E+06	8.5E+06	8.8E+06	9.3E+06	9.0E+06	9.2E+06	9.7E+06	9.2E+06	9.5E+06	8.8E+06	9.3E+06	9.1E+06

3C. Datos de concentración de levaduras (UFC/mL) de isañ morado

TIEMPO (horas)	ISAÑO MORADO											
	0 W			100 W			200 W			300 W		
	R1	R2	Prom.	R1	R2	Prom.	R1	R2	Prom.	R1	R2	Prom.
0	9.0E+05	1.0E+06	9.5E+05	8.0E+05	9.0E+05	8.5E+05	9.0E+05	1.0E+06	9.5E+05	1.1E+06	1.2E+06	1.2E+06
12	1.2E+06	1.7E+06	1.5E+06	2.8E+06	3.4E+06	3.1E+06	2.4E+06	2.8E+06	2.6E+06	1.7E+06	2.0E+06	1.9E+06
24	2.3E+06	2.7E+06	2.5E+06	4.0E+06	4.9E+06	4.5E+06	3.1E+06	3.7E+06	3.4E+06	3.1E+06	3.5E+06	3.3E+06
36	3.7E+06	4.0E+06	3.9E+06	6.7E+06	7.1E+06	6.9E+06	5.8E+06	6.7E+06	6.3E+06	5.0E+06	5.7E+06	5.4E+06
48	6.6E+06	7.0E+06	6.8E+06	1.3E+07	1.3E+07	1.3E+07	1.0E+07	1.1E+07	1.0E+07	8.7E+06	9.4E+06	9.1E+06
60	9.2E+06	9.3E+06	9.3E+06	1.4E+07	1.5E+07	1.5E+07	1.2E+07	1.3E+07	1.3E+07	1.2E+07	1.2E+07	1.2E+07
72	9.7E+06	1.0E+07	9.9E+06	1.2E+07	1.3E+07	1.3E+07	1.2E+07	1.2E+07	1.2E+07	1.0E+07	1.1E+07	1.1E+07
84	9.9E+06	1.1E+07	1.0E+07	9.8E+06	1.0E+07	9.9E+06	9.8E+06	1.0E+07	9.9E+06	8.5E+06	1.0E+07	9.3E+06

ANEXO 4: Resultados de recolección de datos de producción de etanol (v/v)%

4A. Datos de producción de etanol (v/v)% de isaño amarillo

TIEMPO (horas)	ISAÑO AMARILLO											
	0 W			100 W			200 W			300 W		
	R1	R2	Prom.	R1	R2	Prom.	R1	R2	Prom.	R1	R2	Prom.
0	0.00	0.04	0.02	0.03	0.02	0.03	0.04	0.04	0.04	0.00	0.02	0.01
12	0.06	0.10	0.08	0.24	0.30	0.27	0.06	0.28	0.17	0.06	0.08	0.07
24	0.63	0.70	0.66	1.18	1.21	1.19	0.78	0.90	0.84	0.56	0.62	0.59
36	1.31	1.98	1.65	3.14	3.31	3.22	2.47	3.31	2.89	1.81	1.98	1.89
48	3.60	4.12	3.86	4.93	5.45	5.19	4.26	4.79	4.52	4.26	4.52	4.39
60	4.89	5.09	4.99	5.56	6.42	5.99	6.02	6.36	6.19	4.96	5.76	5.36
72	5.36	5.56	5.46	7.55	7.82	7.69	6.49	7.15	6.82	5.81	7.29	6.55
84	6.08	6.34	6.21	8.09	8.94	8.51	7.43	8.27	7.85	6.76	7.61	7.18

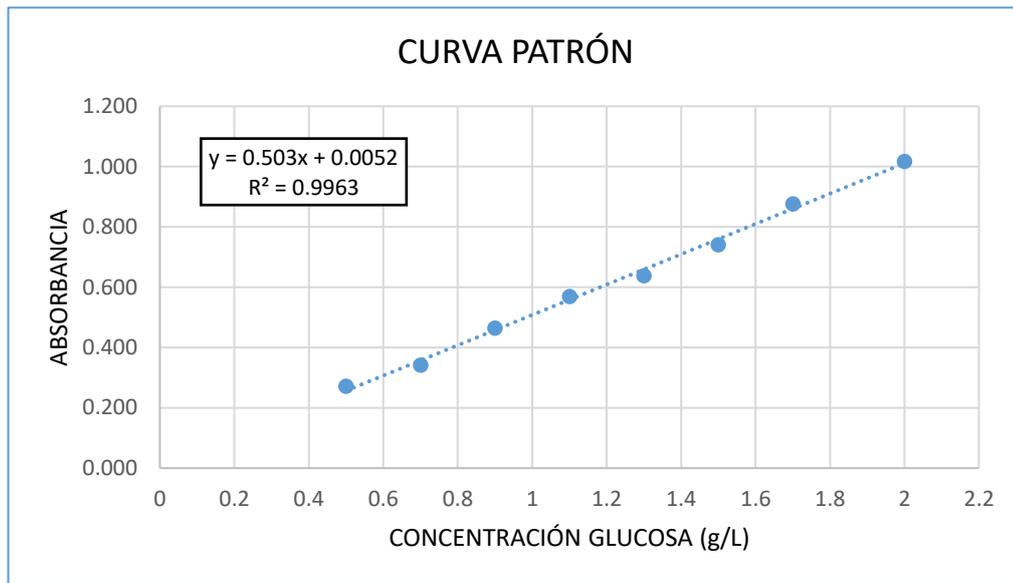
4B. Datos de producción de etanol (v/v)% de isaño amarillo con ojos morado

TIEMPO (horas)	ISAÑO AMARILLO CON OJOS MORADO											
	0 W			100 W			200 W			300 W		
	R1	R2	Prom.	R1	R2	Prom.	R1	R2	Prom.	R1	R2	Prom.
0	0.04	0.00	0.02	0.04	0.02	0.03	0.03	0.02	0.02	0.00	0.02	0.01
12	0.22	0.15	0.18	0.43	0.36	0.40	0.18	0.14	0.16	0.07	0.15	0.11
24	0.83	0.76	0.80	1.69	1.43	1.56	1.47	1.03	1.25	0.73	1.16	0.94
36	3.16	2.05	2.61	4.49	4.04	4.27	3.42	3.83	3.63	2.77	3.83	3.30
48	4.91	3.87	4.39	6.04	5.73	5.88	5.27	4.91	5.09	4.40	4.71	4.55
60	5.84	5.11	5.48	7.88	6.44	7.16	7.11	6.88	6.99	6.15	6.22	6.18
72	6.22	6.15	6.18	8.68	8.44	8.56	7.77	7.88	7.83	7.11	7.21	7.16
84	7.01	6.20	6.61	9.68	8.86	9.27	8.19	8.15	8.17	7.53	7.88	7.70

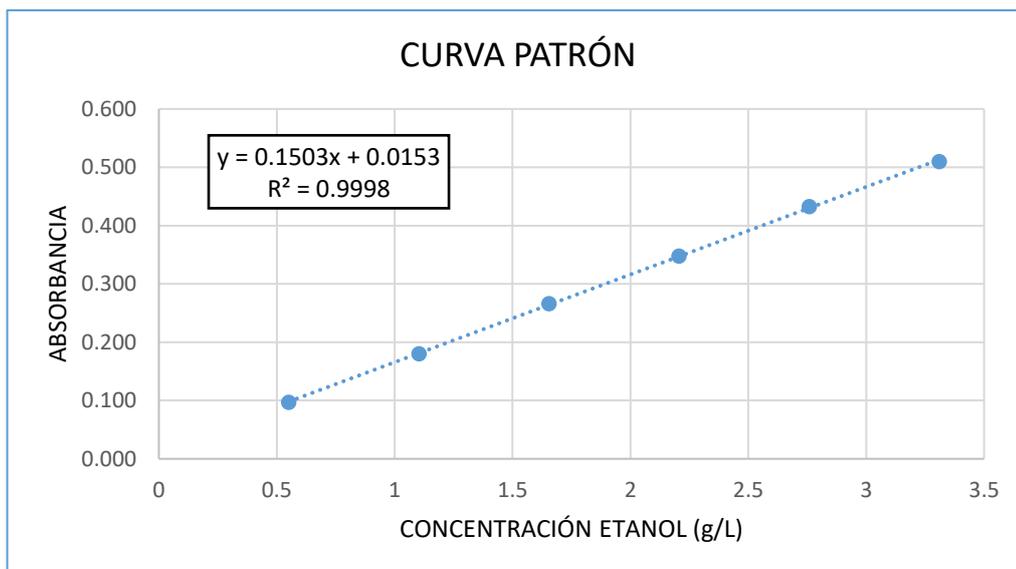
4C. Datos de producción de etanol (v/v)% de isaño morado

TIEMPO (horas)	ISAÑO MORADO											
	0 W			100 W			200 W			300 W		
	R1	R2	Prom.	R1	R2	Prom.	R1	R2	Prom.	R1	R2	Prom.
0	0.02	0.04	0.03	0.00	0.03	0.02	0.01	0.04	0.02	0.00	0.04	0.02
12	0.28	0.35	0.31	0.32	0.51	0.41	0.25	0.37	0.31	0.36	0.70	0.53
24	0.91	1.03	0.97	1.64	1.87	1.75	1.18	2.16	1.67	1.27	1.65	1.46
36	1.96	2.39	2.18	3.29	4.02	3.66	2.89	3.36	3.12	2.23	2.69	2.46
48	3.88	4.96	4.42	6.21	6.82	6.52	5.54	6.16	5.85	4.88	5.49	5.19
60	5.57	6.07	5.82	7.88	9.00	8.44	7.21	7.67	7.44	7.17	7.33	7.25
72	6.27	6.54	6.40	9.46	9.93	9.70	8.13	8.73	8.43	7.75	7.87	7.81
84	6.80	7.33	7.07	10.13	10.59	10.36	8.41	9.00	8.70	8.13	8.23	8.18

ANEXO 5: Curva patrón de glucosa



ANEXO 6: Curva patrón de etanol



ANEXO 7: Análisis de varianza para la variable independiente °Brix

Tabla 11.

ANVA para la variable independiente °Brix

F. V.	SC	GL	CM	F	p-valor
GENOTIPO	19.16	2	9.58	83.28	<0.0001
POTENCIA ULTRASONICA	35.48	3	11.83	102.83	<0.0001
TIEMPO	1835.32	7	262.19	2279.53	<0.0001
GENOTIPO*POTENCIA ULTRASON..	0.63	6	0.10	0.91	0.4905
GENOTIPO*TIEMPO	6.60	14	0.47	4.10	<0.0001
POTENCIA ULTRASONICA*TIEMP..	12.32	21	0.59	5.10	<0.0001
GENOTIPO*POTENCIA ULTRASON..	2.55	42	0.06	0.53	0.9890
Error	11.04	96	0.12		
Total	1923.10	191			

1. $R^2 = 0,99$

2. FV = Fuentes de variación; SC = Suma de cuadrados, GL = Grados de libertad; CM = Cuadrado medio; F = Estadístico F; p-valor = Significancia

7A. Prueba Duncan para el factor genotipo

GENOTIPO	Medias	N	E.E.	
MORADO	10.24	64	0.04	A
AMARILLO-MORADO	10.77	64	0.04	B
AMARILLO	10.99	64	0.04	C

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

7B. Prueba Duncan para el factor potencia ultrasónica

POTENCIA ULTRASONICA	Medias	N	E.E.	
100W	10.10	48	0.05	A
200W	10.47	48	0.05	B
300W	10.83	48	0.05	C
0W	11.26	48	0.05	D

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

7C. Prueba Duncan para el factor tiempo

TIEMPO	Medias	n	E.E.	
84h	5.78	24	0.07	A
72h	7.96	24	0.07	B
60h	8.62	24	0.07	C
48h	9.93	24	0.07	D
36h	11.05	24	0.07	E
24h	12.18	24	0.07	F
12h	13.86	24	0.07	G
0h	16.00	24	0.07	H

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

ANEXO 8: Análisis de varianza para la variable independiente azúcares reductores

Tabla 12.

ANVA para la variable independiente azúcares reductores

F.V.	SC	GL	CM	F	p-valor
GENOTIPO	6.33	2	3.17	47.61	<0.0001
POTENCIA ULTRASONICA	35.95	3	11.98	180.25	<0.0001
TIEMPO	311.51	7	44.50	669.38	<0.0001
GENOTIPO*POTENCIA ULTRASON..	0.18	6	0.03	0.44	0.8495
GENOTIPO*TIEMPO	2.44	14	0.17	2.62	0.0030
POTENCIA ULTRASONICA*TIEMP..	14.48	21	0.69	10.37	<0.0001
GENOTIPO*POTENCIA ULTRASON..	1.28	42	0.03	0.46	0.9972
Error	6.38	96	0.07		
Total	378.55	191			

1. $R^2 = 0,97$

2. FV = Fuentes de variación; SC = Suma de cuadrados, GL = Grados de libertad; CM = Cuadrado medio; F = Estadístico F; p-valor = Significancia

8A. Prueba Duncan para el factor genotipo

GENOTIPO	Medias	n	E.E.	
MORADO	5.27	64	0.03	A
AMARILLO-MORADO	5.53	64	0.03	B
AMARILLO	5.71	64	0.03	C

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

8B. Prueba Duncan para el factor potencia ultrasónica

POTENCIA ULTRASONICA	Medias	n	E.E.	
100W	4.96	48	0.04	A
200W	5.34	48	0.04	B
300W	5.55	48	0.04	C
0W	6.16	48	0.04	D

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

8C. Prueba de Duncan para el factor tiempo

TIEMPO	Medias	n	E.E.	
84h	3.48	24	0.05	A
72h	4.06	24	0.05	B
60h	4.68	24	0.05	C
48h	5.26	24	0.05	D
36h	5.91	24	0.05	E
24h	6.51	24	0.05	F
12h	6.92	24	0.05	G
0h	7.21	24	0.05	H

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

ANEXO 9: Análisis de varianza para la variable independiente concentración de biomasa
(*saccharomyces cerevisiae*)

Tabla 13.

ANVA para la variable independiente concentración de biomasa

F.V.	SC	Gl	CM	F	p-valor
GENOTIPO	6.69E+13	2	3.35E+13	254.98	<0.0001
POTENCIA ULTRASONICA	1.45E+14	3	4.83E+13	368.20	<0.0001
TIEMPO	2.69E+15	7	3.85E+14	2932.49	<0.0001
GENOTIPO*POTENCIA ULTRAS..	1.02E+12	6	1.69E+11	1.29	0.2695
GENOTIPO*TIEMPO	1.82E+13	14	1.30E+12	9.90	<0.0001
POTENCIAULTRASONICA*TIEM..	8.18E+13	21	3.90E+12	29.68	<0.0001
GENOTIPO*POTENCIA ULTRAS..	6.22E+12	42	1.48E+11	1.13	0.3102
Error	1.26E+13	96	1.31E+11		
Total	3.03E+15	191			

1. $R^2 = 0,99$

2. FV = Fuentes de variación; SC = Suma de cuadrados, GL = Grados de libertad; CM = Cuadrado medio; F = Estadístico F; p-valor = Significancia

9A. Prueba Duncan para el factor genotipo

GENOTIPO	Medias	n	E.E.	
MORADO	6895312.50	64	45285.55	A
AMARILLO-MORADO	6100000.00	64	45285.55	B
AMARILLO	5451562.50	64	45285.55	C

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

9B. Prueba Duncan para el factor potencia ultrasónica

POTENCIA ULTRASONICA	Medias	n	E.E.	
100W	7308333.33	48	52291.25	A
200W	6456250.00	48	52291.25	B
300W	5918750.00	48	52291.25	C
0W	4912500.00	48	52291.25	D

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

9C. Prueba de Duncan para el factor tiempo

TIEMPO	Medias	n	E.E.	
60h	10700000.00	24	73951.00	A
72h	10241666.67	24	73951.00	B
84h	9100000.00	24	73951.00	C
48h	8829166.67	24	73951.00	D
36h	4745833.33	24	73951.00	E
24h	2808333.33	24	73951.00	F
12h	1804166.67	24	73951.00	G
0h	962500.00	24	73951.00	H

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

ANEXO 10: Análisis de varianza para la variable independiente producción de etanol.

Tabla 14.

ANVA para la variable independiente producción de etanol

F.V.	SC	GL	CM	F	p-valor
Modelo	1875.67	95	19.74	148.49	<0.0001
GENOTIPO	21.67	2	10.84	81.50	<0.0001
POTENCIA ULTRASONICA	50.72	3	16.91	127.16	<0.0001
TIEMPO	1761.70	7	251.67	1892.79	<0.0001
GENOTIPO*POTENCIA ULTRASON..	1.33	6	0.22	1.66	0.1385
GENOTIPO*TIEMPO	12.58	14	0.90	6.76	<0.0001
POTENCIA ULTRASONICA*TIEMP..	24.72	21	1.18	8.85	<0.0001
GENOTIPO*POTENCIA ULTRASON..	2.95	42	0.07	0.53	0.9887
Error	12.76	96	0.13		
Total	1888.43	191			

1. $R^2 = 0,99$

2. FV = Fuentes de variación; SC = Suma de cuadrados, GL = Grados de libertad; CM = Cuadrado medio; F= Estadístico F; p-valor= Significancia

10A. Prueba Duncan para el factor genotipo

GENOTIPO	Medias	n	E.E.	
MORADO	4.27	64	0.05	A
AMARILLO-MORADO	3.95	64	0.05	B
AMARILLO	3.45	64	0.05	C

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

10B. Prueba Duncan para el factor potencia ultrasónica

POTENCIA ULTRASONICA	Medias	n	E.E.	
100W	4.59	48	0.05	A
200W	4.08	48	0.05	B
300W	3.70	48	0.05	C
0W	3.18	48	0.05	D

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

10C. Prueba de Duncan para el factor tiempo

TIEMPO	Medias	n	E.E.	
84h	7.99	24	0.07	A
72h	7.38	24	0.07	B
60h	6.44	24	0.07	C
48h	4.99	24	0.07	D
36h	2.91	24	0.07	E
24h	1.14	24	0.07	F
12h	0.25	24	0.07	G
0h	0.02	24	0.07	H

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



ANEXO 11: Análisis de varianza para el pH

11A. ANVA para el isaño amarillo

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
POTENCIA ULTRASONICA	0.04	3	0.01	24.02	0.0051
Error	2.3E-03	4	5.6E-04		
Total	0.04	7			

Test:Duncan Alfa=0.05

POTENCIA ULTRASONICA	Medias	n	E.E.	
100W	3.92	2	0.02	A
0W	3.85	2	0.02	B
200W	3.80	2	0.02	B
300W	3.73	2	0.02	C

11B. ANVA para el isaño amarillo-morado

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
POTENCIA ULTRASONICA	0.01	3	4.2E-03	9.18	0.0288
Error	1.9E-03	4	4.6E-04		
Total	0.01	7			

Test:Duncan Alfa=0.05

POTENCIA ULTRASONICA	Medias	n	E.E.	
100W	3.93	2	0.02	A
0W	3.90	2	0.02	A
200W	3.89	2	0.02	A
300W	3.82	2	0.02	B

11C. ANVA para el isaño morado

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
POTENCIA ULTRASONICA	0.02	3	0.01	0.83	0.5420
Error	0.03	4	0.01		
Total	0.04	7			

Test:Duncan Alfa=0.05

POTENCIA ULTRASONICA	Medias	n	E.E.	
200W	3.91	2	0.06	A
100W	3.87	2	0.06	A
0W	3.83	2	0.06	A
300W	3.78	2	0.06	A



ANEXO 12: Análisis de varianza para la densidad

12A. ANVA para el isaño amarillo

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
POTENCIA ULTRASONICA	1.4E-05	3	4.7E-06	1.36	0.3748
Error	1.4E-05	4	3.5E-06		
Total	2.8E-05	7			

Test:Duncan Alfa=0.05

POTENCIA ULTRASONICA	Medias	n	E.E.
200W	1.03	2	1.3E-03 A
300W	1.03	2	1.3E-03 A
100W	1.03	2	1.3E-03 A
0W	1.02	2	1.3E-03 A

12B. ANVA para el isaño amarillo-morado

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
POTENCIA ULTRASONICA	7.6E-06	3	2.5E-06	0.42	0.7491
Error	2.4E-05	4	6.0E-06		
Total	3.2E-05	7			

Test:Duncan Alfa=0.05

POTENCIA ULTRASONICA	Medias	n	E.E.
200W	1.03	2	1.7E-03 A
100W	1.03	2	1.7E-03 A
0W	1.03	2	1.7E-03 A
300W	1.03	2	1.7E-03 A

12C. ANVA para el isaño morado

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
POTENCIA ULTRASONICA	1.8E-05	3	5.9E-06	0.91	0.5117
Error	2.6E-05	4	6.4E-06		
Total	4.3E-05	7			

Test:Duncan Alfa=0.05

POTENCIA ULTRASONICA	Medias	n	E.E.
100W	1.03	2	1.8E-03 A
0W	1.03	2	1.8E-03 A
200W	1.03	2	1.8E-03 A
300W	1.02	2	1.8E-03 A



ANEXO 13: Análisis de varianza para la acidez total

13A. ANVA para el isaño amarillo

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
POTENCIA ULTRASONICA	0.01	3	2.5E-03	4.73	0.0837
Error	2.1E-03	4	5.3E-04		
Total	0.01	7			

Test:Duncan Alfa=0.05

POTENCIA ULTRASONICA	Medias	n	E.E.		
300W	0.49	2	0.02	A	
200W	0.49	2	0.02	A	B
100W	0.44	2	0.02	A	B
0W	0.42	2	0.02		B

13B. ANVA para el isaño amarillo-morado

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
POTENCIA ULTRASONICA	0.01	3	4.0E-03	4.59	0.0875
Error	3.5E-03	4	8.7E-04		
Total	0.02	7			

Test:Duncan Alfa=0.05

POTENCIA ULTRASONICA	Medias	n	E.E.		
200W	0.47	2	0.02	A	
100W	0.42	2	0.02	A	B
0W	0.38	2	0.02		B
300W	0.37	2	0.02		B

13C. ANVA para el isaño morado

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
POTENCIA ULTRASONICA	0.02	3	0.01	32.28	0.0029
Error	6.5E-04	4	1.6E-04		
Total	0.02	7			

Test:Duncan Alfa=0.05

POTENCIA ULTRASONICA	Medias	n	E.E.		
100W	0.47	2	0.01	A	
300W	0.46	2	0.01	A	
0W	0.46	2	0.01	A	
200W	0.36	2	0.01		B



ANEXO 14: Análisis de varianza para la acidez volátil

14A. ANVA para el isaño amarillo

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
POTENCIA ULTRASONICA	1.5E-03	3	5.1E-04	8.20	0.0349
Error	2.5E-04	4	6.3E-05		
Total	1.8E-03	7			

Test:Duncan Alfa=0.05

POTENCIA ULTRASONICA	Medias	n	E.E.	
300W	0.43	2	0.01	A
200W	0.42	2	0.01	A
100W	0.42	2	0.01	A
0W	0.39	2	0.01	B

14B. Análisis de varianza isaño amarillo-morado

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
POTENCIA ULTRASONICA	1.6E-03	3	5.5E-04	2.91	0.1643
Error	7.5E-04	4	1.9E-04		
Total	2.4E-03	7			

Test:Duncan Alfa=0.05

POTENCIA ULTRASONICA	Medias	n	E.E.	
200W	0.43	2	0.01	A
100W	0.43	2	0.01	A
300W	0.42	2	0.01	A
0W	0.39	2	0.01	A

14C. ANVA para el isaño morado

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
POTENCIA ULTRASONICA	2.5E-03	3	8.5E-04	6.15	0.0558
Error	5.5E-04	4	1.4E-04		
Total	3.1E-03	7			

Test:Duncan Alfa=0.05

POTENCIA ULTRASONICA	Medias	n	E.E.	
200W	0.43	2	0.01	A
100W	0.43	2	0.01	A
300W	0.41	2	0.01	A B
0W	0.39	2	0.01	B



ANEXO 15: Análisis de varianza para el extracto seco

15A. ANVA para el isaño amarillo

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
POTENCIA ULTRASONICA	272.82	3	90.94	153.49	0.0001
Error	2.37	4	0.59		
Total	275.19	7			

Test:Duncan Alfa=0.05

POTENCIA ULTRASONICA	Medias	n	E.E.	
200W	135.00	2	0.54	A
0W	134.60	2	0.54	A
300W	130.10	2	0.54	B
100W	120.50	2	0.54	C

15B. ANVA para el amarillo-morado

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
POTENCIA ULTRASONICA	374.89	3	124.96	84.81	0.0004
Error	5.89	4	1.47		
Total	380.78	7			

Test:Duncan Alfa=0.05

POTENCIA ULTRASONICA	Medias	n	E.E.	
200W	134.05	2	0.86	A
0W	130.43	2	0.86	B
300W	119.53	2	0.86	C
100W	118.13	2	0.86	C

15C. ANVA para el isaño morado

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
POTENCIA ULTRASONICA	1441.35	3	480.45	1133.81	<0.0001
Error	1.69	4	0.42		
Total	1443.05	7			

Test:Duncan Alfa=0.05

POTENCIA ULTRASONICA	Medias	n	E.E.	
200W	130.88	2	0.46	A
0W	119.33	2	0.46	B
300W	103.23	2	0.46	C
100W	96.68	2	0.46	D



ANEXO 16: Análisis de varianza para la producción de etanol

16A. ANVA para el isaño amarillo

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
POTENCIA ULTRASONICA	5.80	3	1.93	6.98	0.0456
Error	1.11	4	0.28		
Total	6.91	7			

Test:Duncan Alfa=0.05

POTENCIA ULTRASONICA	Medias	n	E.E.	
100W	8.52	2	0.37	A
200W	7.85	2	0.37	A
300W	7.19	2	0.37	A B
0W	6.21	2	0.37	B

16B. ANVA para el isaño amarillo-morado

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
POTENCIA ULTRASONICA	7.32	3	2.44	13.44	0.0148
Error	0.73	4	0.18		
Total	8.04	7			

Test:Duncan Alfa=0.05

POTENCIA ULTRASONICA	Medias	n	E.E.	
100W	9.27	2	0.30	A
200W	8.17	2	0.30	A B
300W	7.71	2	0.30	B C
0W	6.61	2	0.30	C

16C. ANVA para el isaño morado

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
POTENCIA ULTRASONICA	11.28	3	3.76	35.36	0.0024
Error	0.43	4	0.11		
Total	11.70	7			

Test:Duncan Alfa=0.05

POTENCIA ULTRASONICA	Medias	n	E.E.	
100W	10.36	2	0.23	A
200W	8.71	2	0.23	B
300W	8.18	2	0.23	B
0W	7.07	2	0.23	C



ANEXO 17: Análisis de varianza para el color

➤ Análisis de varianza para luminosidad L*

17A. ANVA para el isaño amarillo L*

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
POTENCIA ULTRASONICA	5.46	3	1.82	1.54	0.3341
Error	4.73	4	1.18		
Total	10.19	7			

Test:Duncan Alfa=0.05

POTENCIA ULTRASONICA	Medias	n	E.E.	
100W	22.20	2	0.77	A
200W	21.70	2	0.77	A
300W	20.80	2	0.77	A
0W	20.05	2	0.77	A

17B. ANVA para el isaño amarillo-morado L*

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
POTENCIA ULTRASONICA	6.79	3	2.26	3.69	0.1198
Error	2.46	4	0.61		
Total	9.25	7			

Test:Duncan Alfa=0.05

POTENCIA ULTRASONICA	Medias	n	E.E.	
200W	23.15	2	0.55	A
300W	21.35	2	0.55	A
100W	21.25	2	0.55	A
0W	20.70	2	0.55	A

17C. ANVA para el isaño morado L*

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
POTENCIA ULTRASONICA	25.19	3	8.40	11.78	0.0187
Error	2.85	4	0.71		
Total	28.04	7			

Test:Duncan Alfa=0.05

POTENCIA ULTRASONICA	Medias	n	E.E.	
200W	16.05	2	0.60	A
300W	13.90	2	0.60	A
100W	13.80	2	0.60	A
0W	11.05	2	0.60	B



➤ **Análisis de varianza para a***

17A. ANVA para el isaño amarillo a*

	F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
POTENCIA ULTRASONICA		0.27	3	0.09	1.03	0.4693
Error		0.35	4	0.09		
Total		0.62	7			

Test:Duncan Alfa=0.05

POTENCIA ULTRASONICA	Medias	n	E.E.	
300W	0.70	2	0.21	A
0W	0.55	2	0.21	A
200W	0.30	2	0.21	A
100W	0.25	2	0.21	A

17B. ANVA para el isaño amarillo-morado a*

	F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
POTENCIA ULTRASONICA		5.38	3	1.79	0.99	0.4840
Error		7.29	4	1.82		
Total		12.67	7			

Test:Duncan Alfa=0.05

POTENCIA ULTRASONICA	Medias	n	E.E.	
300W	2.35	2	0.95	A
200W	1.70	2	0.95	A
0W	1.50	2	0.95	A
100W	0.10	2	0.95	A

17C. ANVA para el isaño morado a*

	F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
POTENCIA ULTRASONICA		4.81	3	1.60	2.75	0.1764
Error		2.33	4	0.58		
Total		7.14	7			

Test:Duncan Alfa=0.05

POTENCIA ULTRASONICA	Medias	n	E.E.	
0W	6.25	2	0.54	A
300W	4.80	2	0.54	A
100W	4.50	2	0.54	A
200W	4.25	2	0.54	A



➤ **Análisis de varianza para b***

17A. ANVA para el isaño amarillo b*

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
POTENCIA ULTRASONICA	3.74	3	1.25	5.34	0.0697
Error	0.94	4	0.23		
Total	4.68	7			

Test:Duncan Alfa=0.05

POTENCIA ULTRASONICA	Medias	n	E.E.
0W	12.85	2	0.34 A
100W	12.00	2	0.34 A
200W	11.65	2	0.34 A
300W	10.95	2	0.34 A

17B. ANVA para el isaño amarillo-morado b*

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
POTENCIA ULTRASONICA	4.01	3	1.34	5.40	0.0685
Error	0.99	4	0.25		
Total	5.00	7			

Test:Duncan Alfa=0.05

POTENCIA ULTRASONICA	Medias	n	E.E.
0W	12.25	2	0.35 A
200W	11.70	2	0.35 A
300W	10.75	2	0.35 A
100W	10.50	2	0.35 A

17C. ANVA para el isaño morado b*

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
POTENCIA ULTRASONICA	9.28	3	3.09	4.92	0.0789
Error	2.52	4	0.63		
Total	11.80	7			

Test:Duncan Alfa=0.05

POTENCIA ULTRASONICA	Medias	n	E.E.
0W	4.35	2	0.56 A
300W	2.45	2	0.56 A
100W	1.85	2	0.56 A
200W	1.60	2	0.56 A



➤ **Análisis de varianza para croma o saturación C***

17A. ANVA para el isaño amarillo C*

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
POTENCIA ULTRASONICA	3.57	3	1.19	4.90	0.0794
Error	0.97	4	0.24		
Total	4.54	7			

Test:Duncan Alfa=0.05

POTENCIA ULTRASONICA	Medias	n	E.E.
0W	12.85	2	0.35 A
100W	12.00	2	0.35 A
200W	11.65	2	0.35 A
300W	11.00	2	0.35 A

17B. ANVA para el isaño amarillo-morado C*

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
POTENCIA ULTRASONICA	3.62	3	1.21	5.17	0.0733
Error	0.93	4	0.23		
Total	4.56	7			

Test:Duncan Alfa=0.05

POTENCIA ULTRASONICA	Medias	n	E.E.
0W	12.35	2	0.34 A
200W	11.85	2	0.34 A
300W	11.00	2	0.34 A
100W	10.65	2	0.34 A

17C. ANVA para el isaño morado C*

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
POTENCIA ULTRASONICA	11.62	3	3.87	3.66	0.1211
Error	4.24	4	1.06		
Total	15.86	7			

Test:Duncan Alfa=0.05

POTENCIA ULTRASONICA	Medias	n	E.E.
0W	7.65	2	0.73 A
300W	5.45	2	0.73 A
100W	4.90	2	0.73 A
200W	4.55	2	0.73 A



➤ **Análisis de varianza para ángulo de tono H***

17A. ANVA para el isaño amarillo H*

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
POTENCIA ULTRASONICA	7.37	3	2.46	1.22	0.4119
Error	8.08	4	2.02		
Total	15.46	7			

Test:Duncan Alfa=0.05

POTENCIA ULTRASONICA	Medias	n	E.E.
100W	88.80	2	1.00 A
200W	88.60	2	1.00 A
0W	87.50	2	1.00 A
300W	86.40	2	1.00 A

17B. ANVA para el isaño amarillo-morado H*

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
POTENCIA ULTRASONICA	32.68	3	10.89	1.21	0.4131
Error	35.95	4	8.99		
Total	68.63	7			

Test:Duncan Alfa=0.05

POTENCIA ULTRASONICA	Medias	n	E.E.
0W	83.10	2	2.12 A
200W	81.70	2	2.12 A
100W	80.85	2	2.12 A
300W	77.60	2	2.12 A

17C. ANVA para el isaño morado H*

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
POTENCIA ULTRASONICA	252.85	3	84.28	2.57	0.1917
Error	131.01	4	32.75		
Total	383.86	7			

Test:Duncan Alfa=0.05

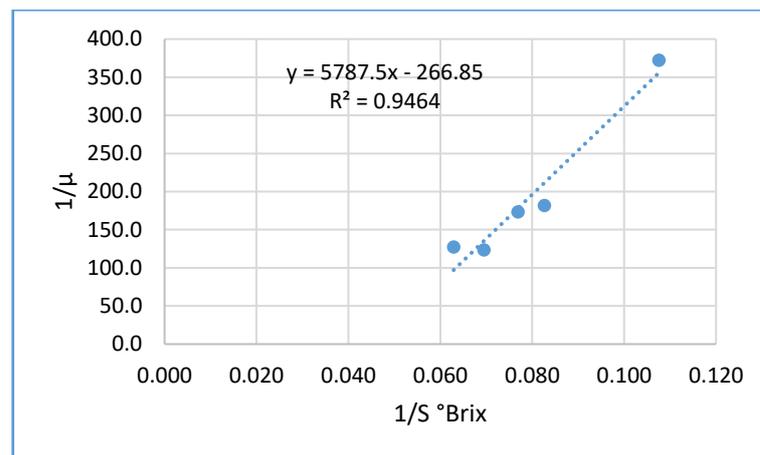
POTENCIA ULTRASONICA	Medias	n	E.E.
0W	34.80	2	4.05 A
300W	26.95	2	4.05 A
100W	21.65	2	4.05 A
200W	20.60	2	4.05 A

ANEXO 18: Cinética de fermentación – modelo cinético de Monod

Tabla 18A: Resultados experimentales del análisis para la segunda repetición de isaño amarillo en 0 W (control).

Isaño amarillo (0 W) R2					
t (horas)	S (°Brix)	ds/dt	μ	1/S	1/ μ
0	16.0	0.125	0.008	0.063	127.2
12	14.4	0.117	0.008	0.069	123.4
24	13.0	0.075	0.006	0.077	173.3
36	12.1	0.067	0.006	0.083	181.5
60	9.3	0.025	0.003	0.108	372.0
84	7.3				

t = Tiempo; S(°Brix) = Sólidos solubles; μ = Velocidad específica de crecimiento; S = Concentración de sustrato limitante.



Fuente: Elaboración propia.

Figura 18A: Correlación lineal velocidad de crecimiento vs concentración de sustrato para la segunda repetición de isaño amarillo en 0 W.

Del gráfico se obtuvo:

- Pendiente = 5787.5
- Intercepto = 266.85

De donde se obtuvieron las constantes cinéticas.

$$\mu_{max} = \frac{1}{intercepto} \quad , K_s = Pendiente * \mu_{max}$$

$$\mu_{max} = 0.004 h^{-1} \quad , K_s = 21.688 g/L$$

$$\mu = \frac{\mu_{max} S}{K_s + S} \quad ; \quad \mu = \frac{0.004 S}{21.688 + S} \quad ,$$

Hallando la forma lineal de la ecuación del modelo de Monod separamos las variables μ y S

$$\mu(21.688 + S) = 0.004 * S$$

Obteniendo el reciproco:
$$\frac{1}{\mu(21.688 + S)} = \frac{1}{0.004 + S}$$

$$\frac{1}{\mu} = \frac{21.688 + S}{0.004 * S}$$

$$\frac{1}{\mu} = \frac{21.688}{0.004 * S} + \frac{S}{0.004 * S}$$

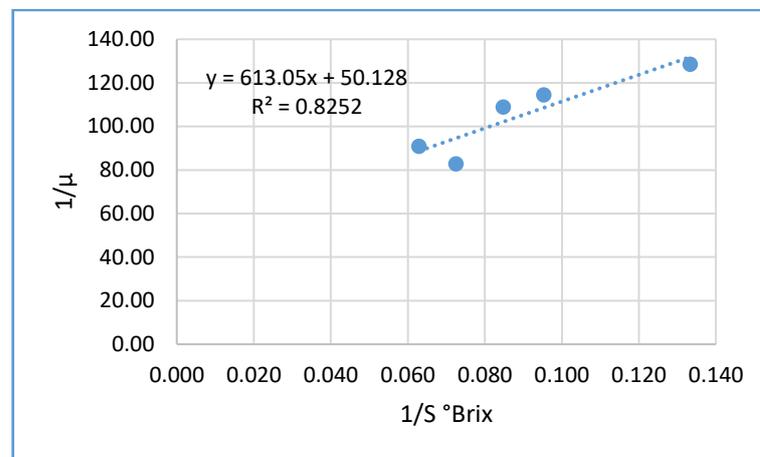
$$\frac{1}{\mu} = \frac{21.688}{0.004} * \frac{1}{S} + \frac{1}{0.004}$$

De la Figura 18A: Para la segunda repetición de isaño amarillo en 0 W de potencia, 16 °Brix, a 25°C se observó que durante la fermentación la velocidad de crecimiento va aumentando conforme disminuye la concentración de sustrato ya que es ajustado a la linealización del modelo de Monod, teniendo un agrado de confianza de $R^2 = 94\%$, con respecto a esto varios autores indican que es necesario el estudio cinético que consiste en la medición de las velocidades de síntesis celular, formación de productos y de los efectos del medio ambiente sobre estas velocidades, por otro lado Ibañez (2012), afirma que una confianza de 95% es bueno en un ajuste al modelo, mientras Gutierrez y De la Vaca (2012), indican que para fines de predicción se recomienda el coeficiente de determinación ajustado sea al menos de 70% para que el modelo sea aceptable y confiable. La velocidad máxima de crecimiento es de $\mu_{max}=0.004 h^{-1}$ y la constante de reacción es $K_s=21.688 g/L$; esto nos muestra que, para una concentración inicial de sustrato la velocidad es aceptable.

Tabla 18B: Resultados experimentales del análisis para la segunda repetición de isaño amarillo en 100 W de potencia.

Isaño amarillo (100 W) R2					
t (horas)	S (°Brix)	ds/dt	μ	1/S	1/ μ
0	16.0	0.175	0.011	0.063	90.86
12	13.8	0.167	0.012	0.072	82.80
24	11.8	0.108	0.009	0.085	108.92
36	10.5	0.092	0.009	0.095	114.55
60	7.5	0.058	0.008	0.133	128.57
84	5.1				

t = Tiempo; S(°Brix) = Sólidos solubles; μ = Velocidad específica de crecimiento; S = Concentración de sustrato limitante.



Fuente: Elaboración propia.

Figura 18B: Correlación lineal velocidad de crecimiento vs concentración de sustrato para la segunda repetición de isaño amarillo en 100 W.

Del gráfico se obtuvo:

- Pendiente = 613.05
- Intercepto = 50.128

De donde se obtuvieron las constantes cinéticas.

$$\mu_{max} = \frac{1}{intercepto} \quad , \quad K_s = Pendiente * \mu_{max}$$

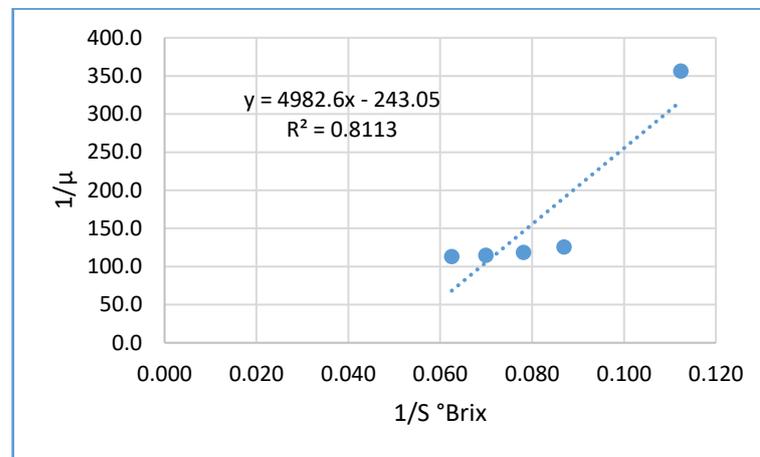
$$\mu_{max} = 0.020 \text{ h}^{-1} \quad , \quad K_s = 12.230 \text{ g/L}$$

$$\mu = \frac{\mu_{max} S}{K_s + S} \quad ; \quad \mu = \frac{0.020 S}{12.230 + S}$$

Tabla 18C: Resultados experimentales del análisis para la primera repetición de isaño amarillo en 200 W de potencia.

Isaño amarillo (200 W) R1					
t (horas)	S (°Brix)	ds/dt	μ	1/S	1/ μ
0	16.0	0.142	0.009	0.063	112.9
12	14.3	0.125	0.009	0.070	114.4
24	12.8	0.108	0.008	0.078	118.2
36	11.5	0.092	0.008	0.087	125.5
60	8.9	0.025	0.003	0.112	356.0
84	5.6				

t = Tiempo; S(°Brix) = Sólidos solubles; μ = Velocidad específica de crecimiento; S = Concentración de sustrato limitante.



Fuente: Elaboración propia.

Figura 18C: Correlación lineal velocidad de crecimiento vs concentración de sustrato para la primera repetición de isaño amarillo en 200 W.

Del gráfico se obtuvo:

- Pendiente = 4982.6
- Intercepto = 243.05

De donde se obtuvieron las constantes cinéticas.

$$\mu_{max} = \frac{1}{intercepto} \quad , \quad K_s = Pendiente * \mu_{max}$$

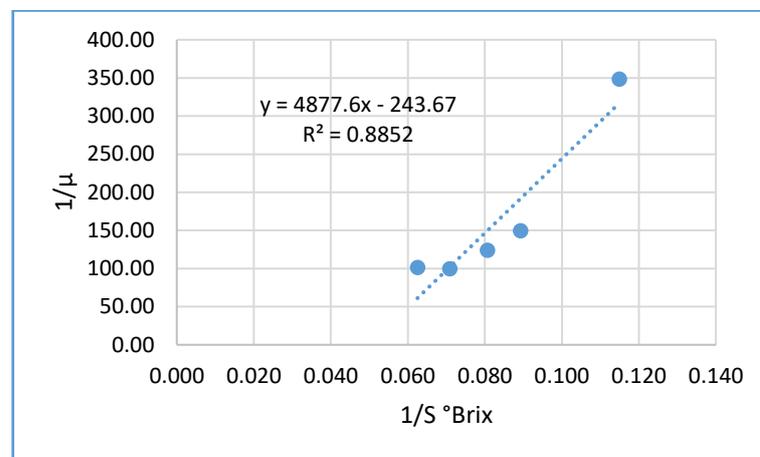
$$\mu_{max} = 0.004 \text{ h}^{-1} \quad , \quad K_s = 20.50 \text{ g/L}$$

$$\mu = \frac{\mu_{max} S}{K_s + S} \quad ; \quad \mu = \frac{0.004 S}{20.50 + S}$$

Tabla 18D: Resultados experimentales del análisis para la segunda repetición de isaño amarillo en 300 W de potencia.

Isaño amarillo (300 W) R2					
t (horas)	S (°Brix)	ds/dt	μ	1/S	1/ μ
0	16.0	0.158	0.010	0.063	101.05
12	14.1	0.142	0.010	0.071	99.53
24	12.4	0.100	0.008	0.081	124.00
36	11.2	0.075	0.007	0.089	149.33
60	8.7	0.025	0.003	0.115	348.00
84	6.5				

t = Tiempo; S(°Brix) = Sólidos solubles; μ = Velocidad específica de crecimiento; S = Concentración de sustrato limitante.



Fuente: Elaboración propia.

Figura 18D: Correlación lineal velocidad de crecimiento vs concentración de sustrato para la segunda repetición de isaño amarillo en 300 W.

Del gráfico se obtuvo:

- Pendiente = 4877.6
- Intercepto = 243.67

De donde se obtuvieron las constantes cinéticas.

$$\mu_{max} = \frac{1}{intercepto} \quad , \quad K_s = Pendiente * \mu_{max}$$

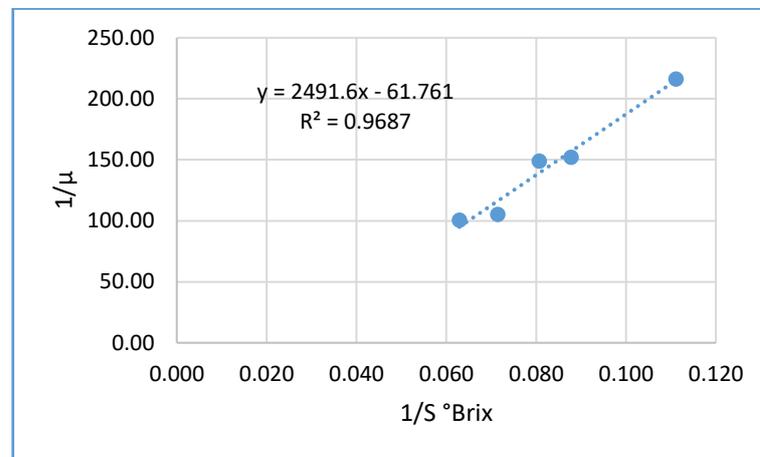
$$\mu_{max} = 0.004 \text{ h}^{-1} \quad , \quad K_s = 20.017 \text{ g/L}$$

$$\mu = \frac{\mu_{max} S}{K_s + S} \quad ; \quad \mu = \frac{0.004 S}{20.017 + S}$$

Tabla 18E: Resultados experimentales del análisis para la primera repetición de isaño amarillo-morado en 0 W (control).

Isaño amarillo-morado (0 W) R1					
t (horas)	S (°Brix)	ds/dt	μ	1/S	1/ μ
0	16.0	0.158	0.010	0.063	100.42
12	14.0	0.133	0.010	0.071	105.00
24	12.4	0.083	0.007	0.081	148.80
36	11.4	0.075	0.007	0.088	152.00
60	9.0	0.042	0.005	0.111	216.00
84	6.9				

t = Tiempo; S(°Brix) = Sólidos solubles; μ = Velocidad específica de crecimiento; S = Concentración de sustrato limitante.



Fuente: Elaboración propia.

Figura 18E: Correlación lineal velocidad de crecimiento vs concentración de sustrato para la primera repetición de isaño amarillo-morado en 0 W (control).

Del gráfico se obtuvo:

- Pendiente = 2491.6
- Intercepto = 61.761

De donde se obtuvieron las constantes cinéticas.

$$\mu_{max} = \frac{1}{intercepto} \quad , \quad K_s = Pendiente * \mu_{max}$$

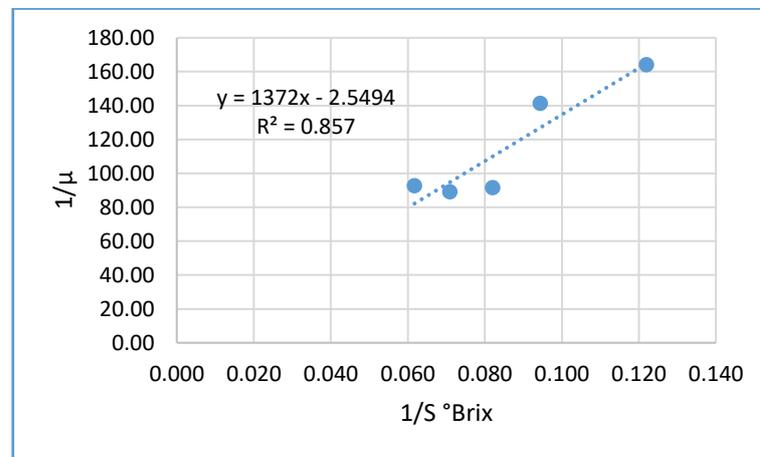
$$\mu_{max} = 0.0162 \text{ h}^{-1} \quad , \quad K_s = 40.34 \text{ g/L}$$

$$\mu = \frac{\mu_{max} S}{K_s + S} \quad ; \quad \mu = \frac{0.0162 S}{40.34 + S}$$

Tabla 18F: Resultados experimentales del análisis para la segunda repetición de isaño amarillo-morado en 100 W de potencia.

Isaño amarillo-morado (100 W) R2					
t (horas)	S (°Brix)	ds/dt	μ	1/S	1/ μ
0	16.0	0.175	0.011	0.062	92.57
12	14.1	0.158	0.011	0.071	89.05
24	12.2	0.133	0.011	0.082	91.50
36	10.6	0.075	0.007	0.094	141.33
60	8.2	0.050	0.006	0.122	164.00
84	4.8				

t = Tiempo; S(°Brix) = Sólidos solubles; μ = Velocidad específica de crecimiento; S = Concentración de sustrato limitante.



Fuente: Elaboración propia.

Figura 18F: Correlación lineal velocidad de crecimiento vs concentración de sustrato para la segunda repetición de isaño amarillo-morado en 100 W de potencia.

Del gráfico se obtuvo:

- Pendiente = 1372
- Intercepto = 2.5494

De donde se obtuvieron las constantes cinéticas.

$$\mu_{max} = \frac{1}{intercepto} \quad , \quad K_s = Pendiente * \mu_{max}$$

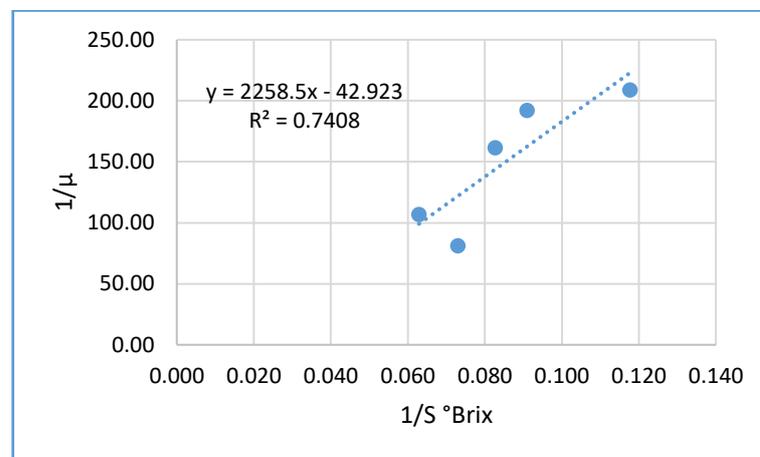
$$\mu_{max} = 0.3922 \text{ h}^{-1} \quad , \quad K_s = 538.165 \text{ g/L}$$

$$\mu = \frac{\mu_{max} S}{K_s + S} \quad ; \quad \mu = \frac{0.3922 S}{538.165 + S}$$

Tabla 18G: Resultados experimentales del análisis para la segunda repetición de isaño amarillo-morado en 200 W de potencia.

Isaño amarillo-morado (200 W) R2					
t (horas)	S (°Brix)	ds/dt	μ	1/S	1/ μ
0	16.0	0.150	0.009	0.063	106.67
12	14.2	0.175	0.012	0.073	81.14
24	12.1	0.075	0.006	0.083	161.33
36	11.2	0.033	0.003	0.091	192.00
60	8.7	0.042	0.005	0.118	208.80
84	5.3				

t = Tiempo; S(°Brix) = Sólidos solubles; μ = Velocidad específica de crecimiento; S = Concentración de sustrato limitante.



Fuente: Elaboración propia.

Figura 18G: Correlación lineal velocidad de crecimiento vs concentración de sustrato para la segunda repetición de isaño amarillo-morado en 200 W de potencia.

Del gráfico se obtuvo:

- Pendiente = 2258.5
- Intercepto = 42.923

De donde se obtuvieron las constantes cinéticas.

$$\mu_{max} = \frac{1}{intercepto} \quad , \quad K_s = Pendiente * \mu_{max}$$

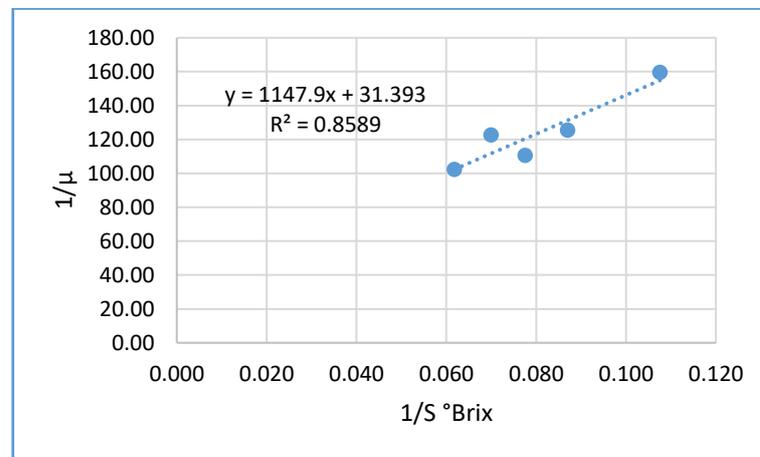
$$\mu_{max} = 0.0233 \text{ h}^{-1} \quad , \quad K_s = 52.62 \text{ g/L}$$

$$\mu = \frac{\mu_{max} S}{K_s + S} \quad ; \quad \mu = \frac{0.0233 S}{52.62 + S}$$

Tabla 18H: Resultados experimentales del análisis para la primera repetición de isaño amarillo-morado en 300 W de potencia.

Isaño amarillo-morado (300 W) R1					
t (horas)	S (°Brix)	ds/dt	μ	1/S	1/ μ
0	16.0	0.158	0.010	0.062	102.32
12	14.3	0.117	0.008	0.070	122.57
24	12.9	0.117	0.009	0.078	110.57
36	11.5	0.092	0.008	0.087	125.45
60	9.3	0.058	0.006	0.108	159.43
84	6.7				

t = Tiempo; S(°Brix) = Sólidos solubles; μ = Velocidad específica de crecimiento; S = Concentración de sustrato limitante.



Fuente: Elaboración propia.

Figura 18H: Correlación lineal velocidad de crecimiento vs concentración de sustrato para la primera repetición de isaño amarillo-morado en 300 W de potencia.

Del gráfico se obtuvo:

- Pendiente = 1147.9
- Intercepto = 31.393

De donde se obtuvieron las constantes cinéticas.

$$\mu_{max} = \frac{1}{intercepto} \quad , \quad K_s = Pendiente * \mu_{max}$$

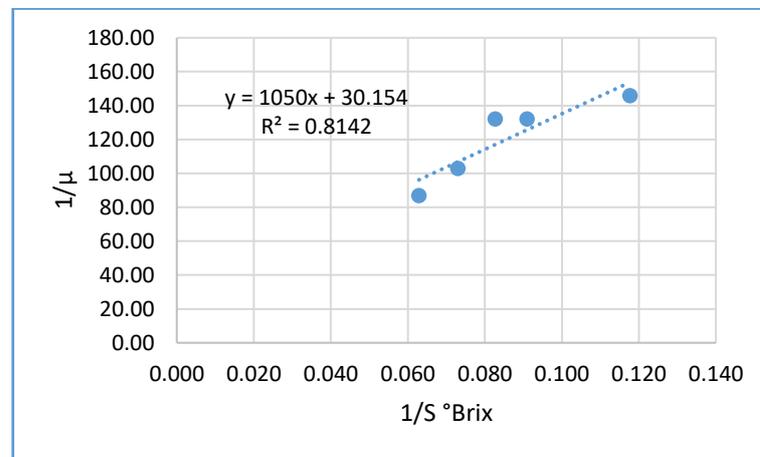
$$\mu_{max} = 0.0319 \text{ h}^{-1} \quad , \quad K_s = 36.567 \text{ g/L}$$

$$\mu = \frac{\mu_{max} S}{K_s + S} \quad ; \quad \mu = \frac{0.0319 S}{36.567 + S}$$

Tabla 18I: Resultados experimentales del análisis para la segunda repetición de isaño morado en 0 W (control).

Isaño morado (0 W) R2					
t (horas)	S (°Brix)	ds/dt	μ	1/S	1/ μ
0	16.0	0.183	0.0115	0.063	86.73
12	13.7	0.133	0.0097	0.073	102.75
24	12.1	0.092	0.0076	0.083	132.00
36	11.0	0.083	0.0076	0.091	132.00
60	8.5	0.058	0.0069	0.118	145.71
84	6.2				

t = Tiempo; S(°Brix) = Sólidos solubles; μ = Velocidad específica de crecimiento; S = Concentración de sustrato limitante.



Fuente: Elaboración propia.

Figura 18I: Correlación lineal velocidad de crecimiento vs concentración de sustrato para la segunda repetición de isaño morado en 0 W (control).

Del gráfico se obtuvo:

- Pendiente = 1050
- Intercepto = 30.154

De donde se obtuvieron las constantes cinéticas.

$$\mu_{max} = \frac{1}{intercepto} \quad , \quad K_s = Pendiente * \mu_{max}$$

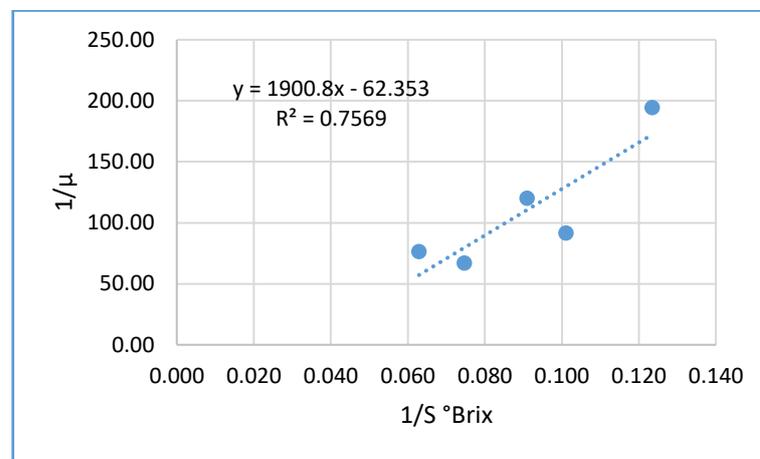
$$\mu_{max} = 0.0332 \text{ h}^{-1} \quad , \quad K_s = 34.82 \text{ g/L}$$

$$\mu = \frac{\mu_{max} S}{K_s + S} \quad ; \quad \mu = \frac{0.0332 S}{34.82 + S}$$

Tabla 18J: Resultados experimentales del análisis para la primera repetición de isaño morado en 100 W de potencia.

Isaño morado (100 W) R1					
t (horas)	S (°Brix)	ds/dt	μ	1/S	1/ μ
0	16.0	0.208	0.0131	0.063	76.32
12	13.4	0.200	0.0149	0.075	67.00
24	11.0	0.092	0.0083	0.091	120.00
36	9.9	0.108	0.0109	0.101	91.38
60	8.1	0.042	0.0051	0.123	194.40
84	4.5				

t = Tiempo; S(°Brix) = Sólidos solubles; μ = Velocidad específica de crecimiento; S = Concentración de sustrato limitante.



Fuente: Elaboración propia.

Figura 18J: Correlación lineal velocidad de crecimiento vs concentración de sustrato para la primera repetición de isaño morado en 100 W de potencia.

Del gráfico se obtuvo:

- Pendiente = 1900.8
- Intercepto = 62.353

De donde se obtuvieron las constantes cinéticas.

$$\mu_{max} = \frac{1}{intercepto} \quad , \quad K_s = Pendiente * \mu_{max}$$

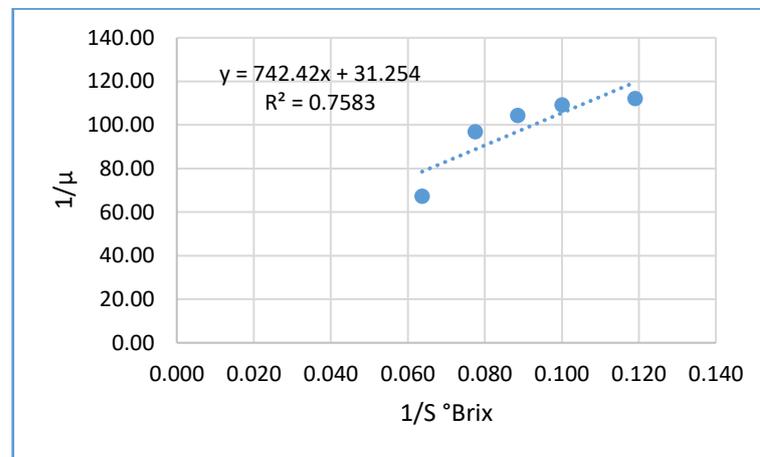
$$\mu_{max} = 0.0160 \text{ h}^{-1} \quad , \quad K_s = 30.48 \text{ g/L}$$

$$\mu = \frac{\mu_{max} S}{K_s + S} \quad ; \quad \mu = \frac{0.0160 S}{30.48 + S}$$

Tabla 18K: Resultados experimentales del análisis para la segunda repetición de isaño morado en 200 W de potencia.

Isaño morado (200 W) R2					
t (horas)	S (°Brix)	ds/dt	μ	1/S	1/ μ
0	16.0	0.233	0.0149	0.064	67.29
12	12.9	0.133	0.0103	0.078	96.75
24	11.3	0.108	0.0096	0.088	104.31
36	10.0	0.092	0.0092	0.100	109.09
60	8.4	0.075	0.0089	0.119	112.00
84	4.7				

t = Tiempo; S(°Brix) = Sólidos solubles; μ = Velocidad específica de crecimiento; S = Concentración de sustrato limitante.



Fuente: Elaboración propia.

Figura 18K: Correlación lineal velocidad de crecimiento vs concentración de sustrato para la segunda repetición de isaño morado en 200 W de potencia.

Del gráfico se obtuvo:

- Pendiente = 742.42
- Intercepto = 31.254

De donde se obtuvieron las constantes cinéticas.

$$\mu_{max} = \frac{1}{intercepto} \quad , \quad K_s = Pendiente * \mu_{max}$$

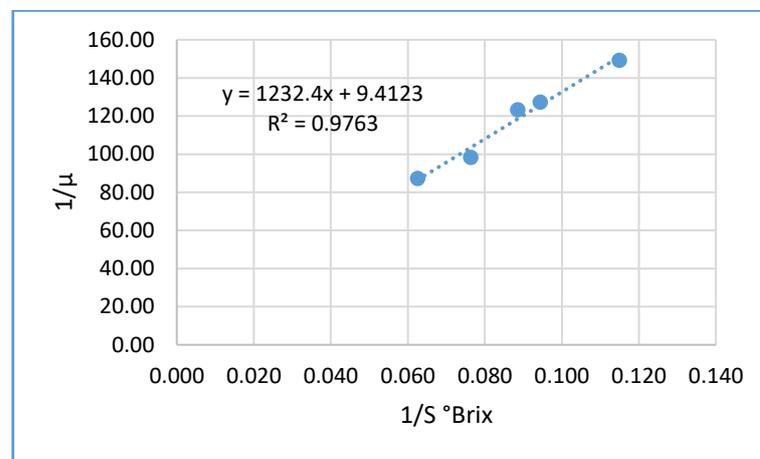
$$\mu_{max} = 0.0320 \text{ h}^{-1} \quad , \quad K_s = 23.75 \text{ g/L}$$

$$\mu = \frac{\mu_{max} S}{K_s + S} \quad ; \quad \mu = \frac{0.0320 S}{23.75 + S}$$

Tabla 18L: Resultados experimentales del análisis para la segunda repetición de isaño morado en 300 W de potencia.

Isaño morado (300 W) R2					
t (horas)	S (°Brix)	ds/dt	μ	1/S	1/ μ
0	16.0	0.183	0.0115	0.063	87.27
12	13.1	0.133	0.0102	0.076	98.25
24	11.3	0.092	0.0081	0.088	123.27
36	10.6	0.083	0.0079	0.094	127.20
60	8.7	0.058	0.0067	0.115	149.14
84	5.3				

t = Tiempo; S(°Brix) = Sólidos solubles; μ = Velocidad específica de crecimiento; S = Concentración de sustrato limitante.



Fuente: Elaboración propia.

Figura 18L: Correlación lineal velocidad de crecimiento vs concentración de sustrato para la segunda repetición de isaño morado en 300 W de potencia.

Del gráfico se obtuvo:

- Pendiente = 1232.4
- Intercepto = 9.4123

De donde se obtuvieron las constantes cinéticas.

$$\mu_{max} = \frac{1}{intercepto} \quad , \quad K_s = Pendiente * \mu_{max}$$

$$\mu_{max} = 0.1062 \text{ h}^{-1} \quad , \quad K_s = 130.93 \text{ g/L}$$

$$\mu = \frac{\mu_{max} S}{K_s + S} \quad ; \quad \mu = \frac{0.1062 S}{130.93 + S}$$



ANEXO 19: Cuadro de resultados del modelo cinético de Monod y rendimiento del proceso de fermentación

19A. Cuadro de resultados para el isaño amarillo

	ISAÑO AMARILLO											
	0 W			100 W			200 W			300 W		
	R1	R2	Prom.	R1	R2	Prom.	R1	R2	Prom.	R1	R2	Prom.
μ_{max} (h ⁻¹)	0.009	0.004	0.007	0.038	0.020	0.029	0.004	0.010	0.007	0.008	0.004	0.006
K_s (g/L)	5.969	21.688	13.829	74.029	12.230	43.130	20.500	1.355	10.928	0.054	20.017	10.036
S_0 (g/L)	16.0	16.0	16.0	16.0	16.0	16.0	16.0	16.0	16.0	16.0	16.0	16.0
S_f (g/L)	7.9	7.3	7.6	5.5	5.1	5.3	5.6	5.4	5.5	6.8	6.5	6.7
X_0	7.00E+05	9.00E+05	8.00E+05	1.00E+06	1.10E+06	1.05E+06	9.00E+05	1.10E+06	1.00E+06	9.00E+05	1.00E+06	9.50E+05
X_f	7.70E+06	8.80E+06	8.25E+06	8.80E+06	9.00E+06	8.90E+06	7.90E+06	8.50E+06	8.20E+06	8.00E+06	8.40E+06	8.20E+06
$Y_{x/s}$	8.64E+05	9.19E+05	8.91E+05	7.43E+05	7.31E+05	7.37E+05	6.73E+05	7.12E+05	6.92E+05	7.63E+05	7.79E+05	7.71E+05
P_0	0.00	0.04	0.02	0.03	0.02	0.03	0.04	0.04	0.04	0.00	0.02	0.01
P_f	6.08	6.34	6.21	8.09	8.94	8.51	7.43	8.27	7.85	6.76	7.61	7.18
$Y_{p/s}$	0.750	0.732	0.741	0.768	0.825	0.797	0.710	0.791	0.751	0.727	0.798	0.762

19B. Cuadro de resultados para el isaño amarillo con ojos morado

	ISAÑO AMARILLO CON OJOS MORADO											
	0 W			100 W			200 W			300 W		
	R1	R2	Prom.	R1	R2	Prom.	R1	R2	Prom.	R1	R2	Prom.
μ_{max} (h ⁻¹)	0.016	0.017	0.017	0.029	0.392	0.211	0.200	0.019	0.110	0.032	0.301	0.167
K_s (g/L)	40.343	21.202	30.773	21.607	538.165	279.886	263.551	51.214	157.383	36.567	444.261	240.414
S_0 (g/L)	16.0	16.0	16.0	16.0	16.0	16.0	16.0	16.0	16.0	16.0	16.0	16.0
S_f (g/L)	6.9	7.0	7.0	4.5	4.8	4.7	4.9	5.3	5.1	6.7	6.2	6.5
X_0	8.00E+05	7.00E+05	7.50E+05	1.00E+06	9.00E+05	9.50E+05	1.20E+06	1.10E+06	1.15E+06	9.00E+05	1.10E+06	1.00E+06
X_f	9.00E+06	8.50E+06	8.75E+06	9.30E+06	9.00E+06	9.15E+06	9.70E+06	9.20E+06	9.45E+06	8.80E+06	9.30E+06	9.05E+06
$Y_{x/s}$	9.11E+05	8.76E+05	8.94E+05	7.22E+05	7.11E+05	7.16E+05	7.80E+05	7.57E+05	7.68E+05	8.32E+05	8.54E+05	8.43E+05
P_0	0.04	0.00	0.02	0.04	0.02	0.03	0.03	0.02	0.02	0.00	0.02	0.01
P_f	7.01	6.20	6.61	9.68	8.86	9.27	8.19	8.15	8.17	7.53	7.88	7.70
$Y_{p/s}$	0.775	0.696	0.736	0.838	0.775	0.807	0.749	0.760	0.754	0.792	0.818	0.805



19B. Cuadro de resultados para el isaño amarillo con ojos morado

	ISAÑO MORADO											
	0 W			100 W			200 W			300 W		
	R1	R2	Prom.	R1	R2	Prom.	R1	R2	Prom.	R1	R2	Prom.
μ_{\max} (h-1)	0.023	0.033	0.028	0.016	0.014	0.015	0.044	0.032	0.038	0.022	0.106	0.064
Ks (g/L)	20.781	34.82	27.801	30.485	1.691	16.088	65.045	23.754	44.400	18.731	130.934	74.833
S0 (g/L)	16.0	16.0	16.0	16.0	16.0	16.0	16.0	16.0	16.0	16.0	16.0	16.0
Sf (g/L)	6.8	6.2	6.5	4.5	4.1	4.3	5.0	4.7	4.9	5.6	5.3	5.5
X0	9.00E+05	1.00E+06	9.50E+05	8.00E+05	9.00E+05	8.50E+05	9.00E+05	1.00E+06	9.50E+05	1.10E+06	1.20E+06	1.15E+06
Xf	9.90E+06	1.05E+07	1.02E+07	9.80E+06	1.00E+07	9.90E+06	9.80E+06	1.00E+07	9.90E+06	8.50E+06	1.00E+07	9.25E+06
Yx/s	9.89E+05	9.79E+05	9.84E+05	7.89E+05	7.84E+05	7.87E+05	8.17E+05	8.18E+05	8.17E+05	6.98E+05	8.22E+05	7.60E+05
P0	0.02	0.04	0.03	0.00	0.03	0.02	0.01	0.04	0.02	0.00	0.04	0.02
Pf	6.80	7.33	7.07	10.13	10.59	10.36	8.41	9.00	8.70	8.13	8.23	8.18
Yp/s	0.745	0.752	0.749	0.888	0.911	0.899	0.771	0.814	0.793	0.767	0.766	0.766



ANEXO 20: Análisis de varianza para el modelo cinético de Monod y rendimiento del proceso de fermentación.

➤ **Análisis de varianza para la velocidad máxima de crecimiento (μ_{max})**

20A. ANVA para el isaño amarillo (μ_{max})

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
POTENCIA ULTRASONICA	7.6E-04	3	2.5E-04	5.06	0.0757
Error	2.0E-04	4	5.0E-05		
Total	9.6E-04	7			

Test:Duncan Alfa=0.05

POTENCIA ULTRASONICA	Medias	n	E.E.	
100W	0.03	2	0.01	A
200W	0.01	2	0.01	B
0W	0.01	2	0.01	B
300W	0.01	2	0.01	B

20B. ANVA para el isaño amarillo-morado (μ_{max})

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
POTENCIA ULTRASONICA	0.04	3	0.01	0.47	0.7172
Error	0.12	4	0.03		
Total	0.16	7			

Test:Duncan Alfa=0.05

POTENCIA ULTRASONICA	Medias	n	E.E.	
100W	0.21	2	0.12	A
300W	0.17	2	0.12	A
200W	0.11	2	0.12	A
0W	0.02	2	0.12	A

20C. ANVA para el isaño morado (μ_{max})

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
POTENCIA ULTRASONICA	2.6E-03	3	8.6E-04	0.94	0.4988
Error	3.7E-03	4	9.1E-04		
Total	0.01	7			

Test:Duncan Alfa=0.05

POTENCIA ULTRASONICA	Medias	n	E.E.	
300W	0.06	2	0.02	A
200W	0.04	2	0.02	A
0W	0.03	2	0.02	A
100W	0.02	2	0.02	A



➤ **Análisis de varianza para la constante de saturación (K_s)**

20A. ANVA para el isaño amarillo (K_s)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
POTENCIA ULTRASONICA	1507.16	3	502.39	0.83	0.5419
Error	2415.63	4	603.91		
Total	3922.79	7			

Test:Duncan Alfa=0.05

POTENCIA ULTRASONICA	Medias	n	E.E.
100W	43.13	2	17.38 A
0W	13.83	2	17.38 A
200W	10.93	2	17.38 A
300W	10.04	2	17.38 A

20B. ANVA para el isaño amarillo-morado (K_s)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	3901.67	3	1300.56	0.68	0.6091
POTENCIA ULTRASONICA	3901.67	3	1300.56	0.68	0.6091
Error	7660.32	4	1915.08		
Total	11562.00	7			

Test:Duncan Alfa=0.05

POTENCIA ULTRASONICA	Medias	n	E.E.
300W	74.83	2	30.94 A
200W	44.40	2	30.94 A
0W	27.80	2	30.94 A
100W	16.09	2	30.94 A

20C. ANVA para el isaño morado (K_s)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	3901.67	3	1300.56	0.68	0.6091
POTENCIA ULTRASONICA	3901.67	3	1300.56	0.68	0.6091
Error	7660.32	4	1915.08		
Total	11562.00	7			

Test:Duncan Alfa=0.05

POTENCIA ULTRASONICA	Medias	n	E.E.
300W	74.83	2	30.94 A
200W	44.40	2	30.94 A
0W	27.80	2	30.94 A
100W	16.09	2	30.94 A



➤ **Análisis de varianza para el rendimiento de biomasa (Yx/s)**

20A. ANVA para el isaño amarillo (Yx/s)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
POTENCIA ULTRASONICA	43645000000.00	3	14548333333.33	23.53	0.0053
Error	2473000000.00	4	618250000.00		
Total	46118000000.00	7			

Test:Duncan Alfa=0.05

POTENCIA ULTRASONICA	Medias	n	E.E.	
0W	891500.00	2	17581.95	A
300W	771000.00	2	17581.95	B
100W	737000.00	2	17581.95	B C
200W	692500.00	2	17581.95	C

20B. ANVA para el isaño amarillo-morado (Yx/s)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
POTENCIA ULTRASONICA	36880375000.00	3	12293458333.33	41.69	0.0018
Error	1179500000.00	4	294875000.00		
Total	38059875000.00	7			

Test:Duncan Alfa=0.05

POTENCIA ULTRASONICA	Medias	n	E.E.	
0W	893500.00	2	12142.38	A
300W	843000.00	2	12142.38	B
200W	768500.00	2	12142.38	C
100W	716500.00	2	12142.38	D

20C. ANVA para el isaño morado (Yx/s)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
POTENCIA ULTRASONICA	60937000000.00	3	20312333333.33	10.48	0.0230
Error	7751000000.00	4	1937750000.00		
Total	68688000000.00	7			

Test:Duncan Alfa=0.05

POTENCIA ULTRASONICA	Medias	n	E.E.	
0W	984000.00	2	31126.76	A
200W	817500.00	2	31126.76	B
100W	786500.00	2	31126.76	B
300W	760000.00	2	31126.76	B



➤ **Análisis de varianza para el rendimiento de etanol (Yp/s)**

20A. ANVA para el isaño amarillo (Yp/s)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
POTENCIA ULTRASONICA	3.5E-03	3	1.2E-03	0.62	0.6384
Error	0.01	4	1.9E-03		
Total	0.01	7			

Test:Duncan Alfa=0.05

POTENCIA ULTRASONICA	Medias	n	E.E.	
100W	0.80	2	0.03	A
300W	0.76	2	0.03	A
200W	0.75	2	0.03	A
0W	0.74	2	0.03	A

20B. ANVA para el isaño amarillo-morado (Yp/s)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
POTENCIA ULTRASONICA	0.01	3	2.6E-03	1.88	0.2745
Error	0.01	4	1.4E-03		
Total	0.01	7			

Test:Duncan Alfa=0.05

POTENCIA ULTRASONICA	Medias	n	E.E.	
100W	0.81	2	0.03	A
300W	0.81	2	0.03	A
200W	0.75	2	0.03	A
0W	0.74	2	0.03	A

20C. ANVA para el isaño morado (Yp/s)

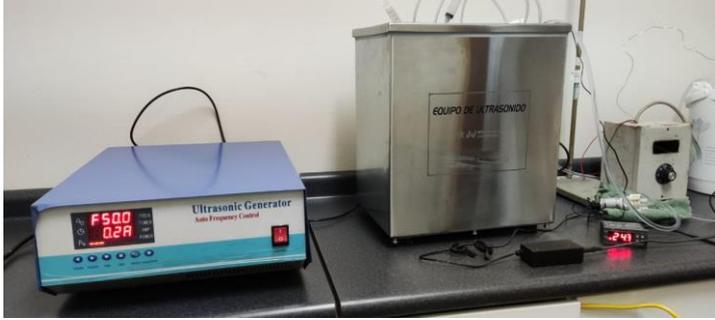
F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
POTENCIA ULTRASONICA	0.03	3	0.01	30.13	0.0033
Error	1.2E-03	4	3.0E-04		
Total	0.03	7			

Test:Duncan Alfa=0.05

POTENCIA ULTRASONICA	Medias	n	E.E.	
100W	0.90	2	0.01	A
200W	0.79	2	0.01	B
300W	0.77	2	0.01	B
0W	0.75	2	0.01	B

ANEXO 21: Panel fotográfico

21A. Materia prima y equipos

	
<p>Isaño amarillo</p>	<p>Isaño amarillo con ojos morado</p>
	
<p>Isaño morado</p>	
	
<p>Reactor de baño ultrasónico</p>	
	
<p>Baño maría</p>	<p>Espectrofotómetro</p>

21B. Determinación de curva patrón de etanol y glucosa

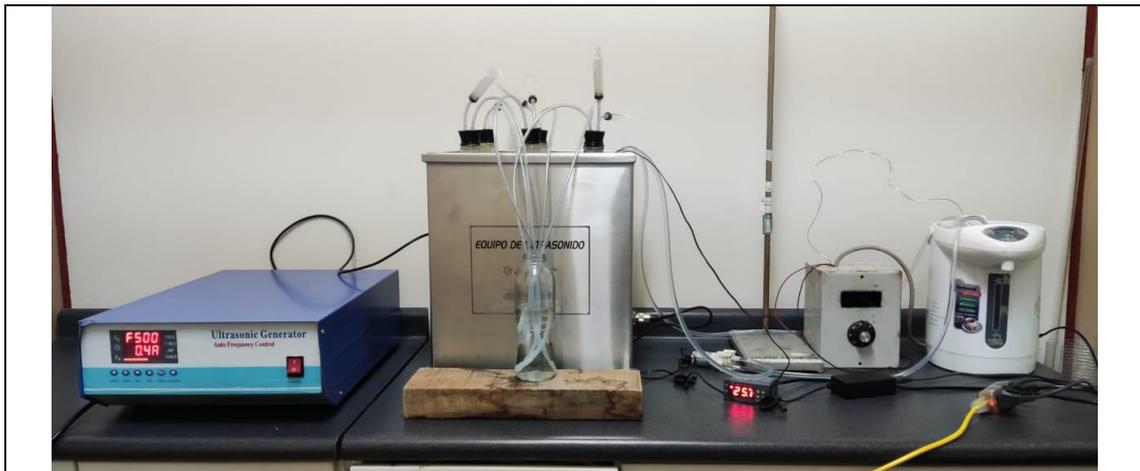


Determinación para la curva patrón de etanol



Determinación para la curva patrón de glucosa (azúcares reductores)

21C. Fermentación de isaño asistida por ultrasonido



Fermentación de isaño



Fermentación de isaño



Muestras de mosto sacadas cada 12 horas para análisis durante la fermentación.



Centrifugado de las muestras



Muestras listas para análisis de (Brix, azúcares reductores, concentración de biomasa y producción de etanol)

21D. Análisis durante la fermentación de isaño asistida por ultrasonido.



Análisis de °Brix



Conteo de levaduras



Análisis de etanol



Análisis de azúcares reductores

21E. Análisis de la bebida fermentada de isaño asistida por ultrasonido

		
Análisis de pH	Determinación de acidez volátil	Determinación de color
		
Determinación de acidez total	Determinación de etanol	
		
Bebida fermentada de isaño (amarillo, amarillo con ojos morado y morado)		



FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS UNA-PUNO
ESCUELA PROFESIONAL DE DE ING. AGROINDUSTRIAL
UNIDAD DE INVESTIGACIÓN



FORMATO Nº 01

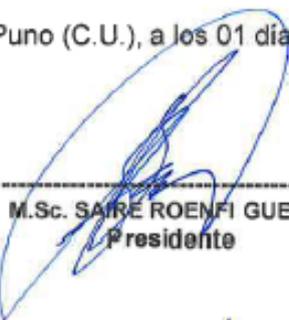
**SEÑOR SUB DIRECTOR DE LA UNIDAD DE INVESTIGACIÓN DE LA ESCUELA
PROFESIONAL INGENIERIA AGROINDUSTRIAL UNA - PUNO:**

En mérito a la evaluación y dictamen del borrador de tesis, titulado: **“CINÉTICA DE FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA ASISTIDA POR ULTRASONIDO DE LA PULPA HIDROLIZADA DE TRES GENOTIPOS DE ISAÑO (*Tropaeolum tuberosum*)”**, con código **PILAR Nº 2022-502** presentado por el bachiller **MARIA LIZBETH MAMANI MAMANI**, el jurado revisor lo declara:

APTO (X)

Por tanto, esta expedito para la sustentación presencial y defensa de la tesis. Determinando que dicho acto académico se lleve a cabo el día **19 de diciembre del 2023 a las 9:00 horas**. Por lo que solicitamos a usted, se efectuó los tramites y la publicación correspondiente para la realización de acuerdo a lo reglamentado.

En Puno (C.U.), a los 01 días del mes de diciembre del 2023



M.Sc. SAIRE ROENFI GUERRA LIMA
Presidente



D.Sc. ROSARIO EDELY ORTEGA BARRIGA
Primer miembro



M.Sc WHANY QUISPE CHAMBI
Segundo miembro



Dr. ALEJANDRO COLOMA PAXI
Director o asesor de Tesis



MARIA LIZBETH MAMANI MAMANI
Tesista

PROVEÍDO DE LA UNIDAD DE INVESTIGACIÓN

Considerando que la evaluación y dictamen del borrador de tesis por el jurado revisor se declaro como apto:

Esta Sub-Dirección autoriza el tramite y la publicación de la exposicion y defensa de la tesis; de acuerdo a la fecha y hora determinada por los jurados, con las respectivas medidas de bioseguridad para dicho acto. A la misma, los documentos que se presentan para su publicación en el Repositorio Institucional son veraces y auténticos del autor (e)

Puno C.U. 01 de diciembre del 2023



Dr. ALICIA MAGALY LEON TACCA
Sub-Director de la Unidad de Investigación-EPIAI



DECLARACIÓN JURADA DE AUTENTICIDAD DE TESIS

Por el presente documento, Yo María Lizbeth Mamani Mamani
identificado con DNI 76155132 en mi condición de egresado de:

Escuela Profesional, Programa de Segunda Especialidad, Programa de Maestría o Doctorado

Ingeniería Agroindustrial

informo que he elaborado el/la Tesis o Trabajo de Investigación denominada:

“ Cinética de fermentación alcohólica asistida por ultrasonido
de la pulpa hidrolizada de tres genotipos de isaño
(Tropaeolum tuberosum) ”

Es un tema original.

Declaro que el presente trabajo de tesis es elaborado por mi persona y **no existe plagio/copia** de ninguna naturaleza, en especial de otro documento de investigación (tesis, revista, texto, congreso, o similar) presentado por persona natural o jurídica alguna ante instituciones académicas, profesionales, de investigación o similares, en el país o en el extranjero.

Dejo constancia que las citas de otros autores han sido debidamente identificadas en el trabajo de investigación, por lo que no asumiré como tuyas las opiniones vertidas por terceros, ya sea de fuentes encontradas en medios escritos, digitales o Internet.

Asimismo, ratifico que soy plenamente consciente de todo el contenido de la tesis y asumo la responsabilidad de cualquier error u omisión en el documento, así como de las connotaciones éticas y legales involucradas.

En caso de incumplimiento de esta declaración, me someto a las disposiciones legales vigentes y a las sanciones correspondientes de igual forma me someto a las sanciones establecidas en las Directivas y otras normas internas, así como las que me alcancen del Código Civil y Normas Legales conexas por el incumplimiento del presente compromiso

Puno, 06 de diciembre del 2023

FIRMA (obligatoria)



Huella



AUTORIZACIÓN PARA EL DEPÓSITO DE TESIS O TRABAJO DE INVESTIGACIÓN EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL

Por el presente documento, Yo Maria Lizbeth Mamani Mamani identificado con DNI 76455432 en mi condición de egresado de:

Escuela Profesional, Programa de Segunda Especialidad, Programa de Maestría o Doctorado

Ingeniería Agroindustrial

informo que he elaborado el/la Tesis o Trabajo de Investigación denominada:

“ Cinética de fermentación alcohólica asistida por ultrasonido de la pulpa hidrolizada de tres genotipos de isoño (Tropaeolum tuberosum) ”

para la obtención de Grado, Título Profesional o Segunda Especialidad.

Por medio del presente documento, afirmo y garantizo ser el legítimo, único y exclusivo titular de todos los derechos de propiedad intelectual sobre los documentos arriba mencionados, las obras, los contenidos, los productos y/o las creaciones en general (en adelante, los “Contenidos”) que serán incluidos en el repositorio institucional de la Universidad Nacional del Altiplano de Puno.

También, doy seguridad de que los contenidos entregados se encuentran libres de toda contraseña, restricción o medida tecnológica de protección, con la finalidad de permitir que se puedan leer, descargar, reproducir, distribuir, imprimir, buscar y enlazar los textos completos, sin limitación alguna.

Autorizo a la Universidad Nacional del Altiplano de Puno a publicar los Contenidos en el Repositorio Institucional y, en consecuencia, en el Repositorio Nacional Digital de Ciencia, Tecnología e Innovación de Acceso Abierto, sobre la base de lo establecido en la Ley N° 30035, sus normas reglamentarias, modificatorias, sustitutorias y conexas, y de acuerdo con las políticas de acceso abierto que la Universidad aplique en relación con sus Repositorios Institucionales. Autorizo expresamente toda consulta y uso de los Contenidos, por parte de cualquier persona, por el tiempo de duración de los derechos patrimoniales de autor y derechos conexos, a título gratuito y a nivel mundial.

En consecuencia, la Universidad tendrá la posibilidad de divulgar y difundir los Contenidos, de manera total o parcial, sin limitación alguna y sin derecho a pago de contraprestación, remuneración ni regalía alguna a favor mío; en los medios, canales y plataformas que la Universidad y/o el Estado de la República del Perú determinen, a nivel mundial, sin restricción geográfica alguna y de manera indefinida, pudiendo crear y/o extraer los metadatos sobre los Contenidos, e incluir los Contenidos en los índices y buscadores que estimen necesarios para promover su difusión.

Autorizo que los Contenidos sean puestos a disposición del público a través de la siguiente licencia:

Creative Commons Reconocimiento-NoComercial-CompartirIgual 4.0 Internacional. Para ver una copia de esta licencia, visita: <https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

En señal de conformidad, suscribo el presente documento.

Puno 06 de diciembre del 2023

FIRMA (obligatoria)



Huella