



ANEXO 1

FORMATO PARA LA PRESENTACIÓN DE PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN
CON EL FINANCIAMIENTO DEL FEDU

1. Título del proyecto

CINÉTICA DE FERMENTACION ALCOHOLICA DE LA PULPA HIDROLIZADA DE TRES GENOTIPOS DE ISAÑO CON *SACHAROMYCES CEREVISIAE*

2. Área de Investigación

Área de investigación	Línea de Investigación	Disciplina OCDE
INGENIERIA DE PROCESOS	DESARROLLO DE PRODUCTOS Y PROCESOS	

3. Duración del proyecto (meses)

12 MESES

4. Tipo de proyecto

Individual	<input checked="" type="radio"/>
Multidisciplinario	<input type="radio"/>
Director de tesis pregrado	<input type="radio"/>

4. Datos de los integrantes del proyecto

Apellidos y Nombres	COLOMA PAXI
Escuela Profesional	ALEJANDRO
Celular	973875013
Correo Electrónico	a_coloma_p@hotmail.com

- I. Título (El proyecto de tesis debe llevar un título que exprese en forma sintética su contenido, haciendo referencia en lo posible, al resultado final que se pretende lograr. Máx. palabras 25)

CINÉTICA DE FERMENTACION ALCOHOLICA DE LA PULPA HIDROLIZADA DE TRES GENOTIPOS DE ISAÑO CON *SACHAROMYCES CEREVISIAE*

- II. Resumen del Proyecto de Tesis (Debe ser suficientemente informativo, presentando -igual que un trabajo científico- una descripción de los principales puntos que se abordarán, objetivos, metodología y resultados que se esperan)

El objetivo del presente trabajo de investigación es evaluar la cinética de fermentación alcohólica de pulpa hidrolizada de tres genotipos de isaño (*Tropaeolum tuberosum*) con *Saccharomyces cerevisiae*. Las variables



experimentales son: genotipos de isaño (amarilla, morado y amarillos con ojos morados) y cantidad de pulpa de isaño (100 gr/L y 200 g/L). Se evaluarán las propiedades fisicoquímicas (pH, % de ácido, contenido de sólidos solubles y contenido de alcohol y azúcares reductores). La materia prima se adquirirá de los mercados de la ciudad de Puno. Los procesos a seguir son: Selección, lavado, cocción, estrujado, incubado, acondicionado, fermentación, filtrado, trasego y envasado. El proceso de fermentación se realizará en un bioreactor de capacidad de 1L. Los experimentos son conducidos bajo el diseño completo al azar. De los resultados se espera que genotipo de isaño y la cantidad de pulpa de isaño afectará en las propiedades fisicoquímicas de la bebida obtenida a base de isaño.

III. Palabras claves (Keywords) (Colocadas en orden de importancia. Máx. palabras: cinco)

Isaño, fermentación alcohólica, hidrólisis enzimática, cinética

IV. Justificación del proyecto (Describa el problema y su relevancia como objeto de investigación. Es importante una clara definición y delimitación del problema que abordará la investigación, ya que temas cuya definición es difusa o amplísima son difíciles de evaluar y desarrollar)

La región alto andina cuenta con una biodiversidad importante para el uso del hombre en su alimentación, su salud y su cultura. Cada piso ecológico andino tiene su propio ecosistema que permite desarrollar a diferentes especies de flora y fauna con características peculiares según su hábitat; algunos de estas especies presentan los valores nutritivos y medicinales para el ser humano, los mismos que han sido utilizados en su alimentación por los pobladores altoandinos desde los tiempos ancestrales. Una de las especies que ha tenido mayor relevancia en las comunidades altoandinas fue el isaño, un tubérculo originario de los andes, que pertenece a la familia Tropaeolaceae, caracterizado por su sabor picante. Sin embargo, cuando se expone al sol se vuelve dulce y se convierte apto para el consumo. Los pobladores de estos lugares utilizan como parte de su alimentación y como medicina contra la próstata, anemia, inflamación, entre otros. Estas propiedades medicinales estarían dadas por su contenido de compuestos bioactivos, en especial los compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante, son considerados compuestos con efectos preventivos sobre enfermedades de origen inmunológico o cardíaco, dichos compuestos en los últimos tiempos están siendo muy estudiadas. Por otro lado, existen estudios sobre algunas variedades de isaño con buenas cantidades de carotenos, antocianinas y otros pigmentos. En este estudio se trata de evaluar el efecto de la fermentación sobre las propiedades fisicoquímicas y compuestos bioactivos, de tal forma fomentar, incentivar el mayor consumo de la isaño, a la vez otorgarle un valor agregado a este producto promisorio

V. Antecedentes del proyecto (Incluya el estado actual del conocimiento en el ámbito nacional e internacional. La revisión bibliográfica debe incluir en lo posible artículos científicos actuales, para evidenciar el conocimiento existente y el aporte de la Tesis propuesta. Esto es importante para el futuro artículo que resultará como producto de este trabajo)

Oré et al., (2019), Evaluó la aceptabilidad y el contenido de alcohol en la elaboración de vino de cinco variedades de oca (*Oxalis tuberosa*). Como factores



de estudio se tuvieron cinco variedades de oca (negra, rosado, amarillo, blanco y zapallo) y los tiempos de fermentación (21 y 28 días), la fermentación fue anaeróbica, a 26 °C para ambos tiempos. Luego de la obtención del vino de oca se realizó la evaluación sensorial, a los atributos de olor, color y sabor. La concentración de alcohol para la muestra ganadora de 21 días de fermentación alcanzó una concentración de alcohol de 8,10 grados y para la muestra de los 28 días de fermentación alcanzó una concentración de alcohol de 10,20 grados; lo que indica que a mayor tiempo de fermentación la concentración de alcohol incrementa ligeramente por la degradación de la levadura al azúcar. Los resultados de esta investigación permitieron determinar un posible uso potencial de la oca morada en una presentación innovadora.

Morantes Triana, (2018), evaluó la fermentación alcohólica de cubio con levadura de vinificación para la obtención de vino, trabajó con la variedad blanca con ojos morados por tener mayor disponibilidad en cultivos. Se determinaron por análisis físico y fisicoquímico en donde los azúcares reductores en el cubio fueron de $2,18 \pm 0,002\%$, proteínas de $4,48 \pm 0,064\%$, almidón de $1,68 \pm 0,015\%$, se establecieron para el esquema de fermentación una ecuación hipotética para realizar el mosto. El vino posee buenas características en cuanto a acidez total de $7,21 \pm 0,029$ g/L y acidez volátil $5,90 \pm 0,009$ g/L evitando alteraciones, con grado de alcohol de 15°GL, pH de $4,585 \pm 0,0018$, consiguiendo un vino agradable en sabor y aroma medido por el grado de aceptabilidad de acuerdo a un panel sensorial además de tener un buen rendimiento de 139,76 % en comparación del vino de uva que está en un 70 a 80 % de rendimiento.

Ferreira et al., (2009), realizó la fermentación alcohólica de jugo de naranja con *S. cerevisiae* a pHs (3,5 ó 4,0), temperaturas de fermentación (10 ó 20°C) y de maduración (10 ó 20°C). Se determinaron azúcares reductores directos (ARD) y totales (ART), N-amínico y recuento microscópico durante 4 etapas: inicial, fermentación, envasado y maduración (4 meses). Al final también se determinaron azúcares y etanol. Los ARD y ART decrecieron durante la fermentación en ambos mostos; el N-amínico también disminuyó, permaneciendo luego casi constante. El recuento de levaduras fue 2×10^6 /mL (JN) y 7×10^6 /mL (JP). En los envasados se detectó fructosa (80-100%) y glucosa (< 20%) pero no sacarosa.

Ochoa velasco et al., (2012), indica que la fermentación del jugo de pitahaya incrementa en el contenido de compuestos fenólicos (variando de 45,31 a 51,38 mg de ácido gálico/100 ml de jugo, en pitahaya roja), aunque menciona también que disminuye la capacidad antioxidante (variando de 124,51 a 82,96 mg de Trolox/100 mL de jugo, en pitahaya rosa).

Pallares et al., (2016), evaluaron la influencia del tiempo de fermentación y secado del colon de cacao CCN-51. En el análisis por HPLC se identificaron los polifenoles presentes en las muestras evaluadas. La evaluación de su variación a través del proceso fermentativo permitió establecer que el avance de esta etapa del beneficio ocasiona una disminución en la mayoría de monómeros y oligómeros presentes (excepto catequina y procianidina B1), que se traduce a su vez en una disminución de la capacidad antioxidante de las muestras evaluadas.



Dicha disminución está relacionada principalmente con el contenido del monómero epicatequina.

Galeano G. et al., (2002), analizaron la variación del contenido fenólico y la actividad antioxidante durante el proceso de beneficio de los granos de copoazú, encontrando que los granos fermentados presentan el mayor contenido polifenólico y la mayor actividad antioxidante; mientras que en los granos secos y tostados se obtiene una pérdida entre el 39 - 45%, con respecto a la actividad antioxidante determinada en los granos fermentados, de cada zona geográfica.

Lee et al., (2008), exploraron la fermentación de frijol negro, el cual es rico en compuestos poli fenólicos. En general, su trabajo evidenció que la propiedad de atrapar radicales libres, la capacidad de precipitar el ión Fe^{2+} y el poder rector de dicho material vegetal fue aumentado debido al incremento de compuestos fenólicos después de su fermentación con diversos hongos filamentosos los cuales son empleados comúnmente para la preparación de alimentos orientales fermentados

VI. Hipótesis del trabajo (Es el aporte proyectado de la investigación en la solución del problema)

El genotipo de isaño y la cantidad de pulpa de isaño afectará sobre los parámetros cinéticos de fermentación y las características físicoquímicas de la bebida fermentada a base de isaño

VII. Objetivo general

Determinar el efecto del genotipo de isaño y la cantidad de pulpa de isaño sobre los parámetros cinéticos de fermentación y las características físicoquímicas de la bebida fermentada a base de isaño

VIII. Objetivos específicos

- Determinar el efecto de genotipo de isaño y la cantidad de pulpa de isaño sobre los parámetros cinéticos de fermentación
- Evaluar el efecto de genotipo de isaño y la cantidad de pulpa de isaño sobre las características físico químicas de la bebida fermentada a base de isaño
- Determinar el modelo matemático que ajusta mejor los parámetros cinéticos

IX. Metodología de investigación (Describir el(los) método(s) científico(s) que se empleará(n) para alcanzar los objetivos específicos, en forma coherente a la hipótesis de la investigación. Sustentar, con base bibliográfica, la pertinencia del(los) método(s) en términos de la representatividad de la muestra y de los resultados que se esperan alcanzar. Incluir los análisis estadísticos a utilizar)

**METODO EXPERIMENTAL
DIAGRAMA DE FLUJO DE OPERACIONES.**

Para la realización del presente trabajo de investigación se utilizará el siguiente diagrama de flujo.

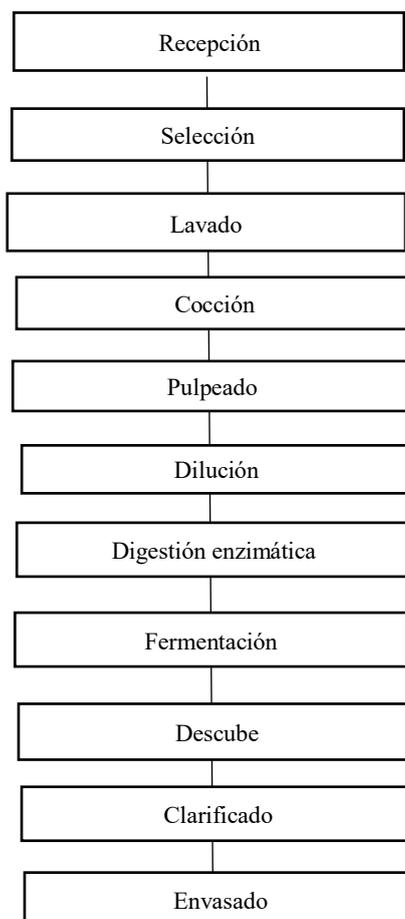
Diagrama de flujo de fermentación alcohólica de isaño.

Figura N°01. Diagrama de flujo de fermentación alcohólica de isaño

Descripción de diagrama de flujo de operaciones.

A continuación, se hace la descripción del proceso, la cual consiste en las siguientes operaciones:

Recepción: Recepcionará de materia prima Isaño (negra y amarilla).

Selección: Se seleccionará los tubérculos de la Isaño en buen estado

Lavado: Se eliminará las impurezas utilizando agua con solución de hipoclorito de sodio a 200 ppm

Cocción: Se someterá a cocción a temperatura de ebullición del agua.

Pulpeado: Tiene como finalidad romper la estructura de la isaño, esto debe ser suficiente para poder extraer y separar el zumo

Dilución: La dilución se realizará en una proporción de mezcla de 100 g/L y 200 g/L.

Digestión enzimática: Se adicionará la enzima α -amilasa a una concentración de 0,25 g/L de suspensión y enzima amiloglucosidasa (AMG) a una concentración de 0,01 g/L de suspensión.

Acondicionado: Incorporación de levadura para que empiece la fermentación de la pulpa de la isaño

Fermentación: Este proceso se realiza durante 3 - 9 días analizando el contenido de sólidos totales del mosto de la isaño

Filtración: El proceso de filtración es la etapa en donde se obtiene el líquido puro para el proceso de envasado.

Envasado: La bebida obtenida será envasada en botellas de vidrio para su



almacenamiento.

METODOS DE ANALISIS.

Cinética de fermentación

Determinación de la cinética de crecimiento. La cinética de crecimiento se seguirá midiendo la densidad óptica y contando el número de células:

Densidad óptica. Se tomarán las muestras periódicamente del biorreactor y se determinaron sus valores de absorbancia a 600 nm usando un espectrofotómetro de UV visible (Biobase, China).

Recuento celular. Las muestras se diluirán varias veces en agua y las células se contaron usando una cámara de recuento de células Thoma (Preciss, Francia). Para detectar las células viables, las muestras se mezclaron con una solución de azul de metileno al 0,01% v / v. La concentración de biomasa X (células · mL⁻¹).

Determinación de azúcares reductores

Las azúcares reductores serán analizados de acuerdo al procedimiento descrito por Ochoa (Ochoa et al., 2013) con algunas modificaciones. Los ensayos se realizarán preparando una mezcla de reacción con 0.5 g de ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS) y 15 g de tartrato doble de sodio-potasio, disueltos en 25 ml de agua destilada caliente. Inmediatamente, se adicionarán 10 ml de hidróxido de sodio 2 N y se aforará a un volumen de 50 ml con agua destilada y se almacena en un frasco ámbar a 4°C. Una suspensión de 1.5 ml de las mosto fermentado de mashua se mezclará con 2 ml de NaOH 2 N y se incubará en baño maría por 15 min, para la obtención una lisis alcalina. Posteriormente, se mezclará una alícuota de 0.5 ml de la lisis alcalina con 0.5 ml de la solución de DNS. La mezcla se incubará por 10 min en baño maría y se leerá con el espectrofotómetro a 600 nm. Se preparó la solución patrón de Glucosa a las siguientes concentraciones: 0.5, 0.7, 0.9, 1.1, 1.3, 1.5, 1.7 y 1.9 g/L. Se desarrolla la reacción con el reactivo DNS (Bello GiL et al., 2006).

Determinación de la cinética de producción de etanol

Las muestras tomadas en diferentes momentos de los procesos de fermentación se centrifugaran a 4000 rpm durante 10 min para eliminar las suspensiones de levadura y las partículas de las partículas. El contenido de etanol se determinará mediante medidas de densidad utilizando un picnómetro de vidrio de 5 mL (Thermo Fisher, Francia).

Cálculo de parámetros cinéticos

La tasa de producción de etanol y ($g_{\text{etanol}} \cdot g_{\text{biomasa}}^{-1} \cdot h^{-1}$), el rendimiento de biomasa $Y_{X/S}$ ($g_{\text{biomasa}} g_{\text{substrato}}^{-1}$) y el rendimiento de producto $Y_{P/S}$ ($g_{\text{etanol}} g_{\text{substrato}}^{-1}$) se calcularon de acuerdo con Ecs. (1), (2) y (3), respectivamente.

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

$$Y_{P/S} (g_{\text{etanol}} - g_{\text{substrato}}^{-1}) = \frac{P_f - P_0}{S_0 - S_f} \quad (2)$$

$$\gamma (g_{\text{etanol}} - g_{\text{biomasa}}^{-1} \cdot h^{-1}) = \frac{P_f - P_0}{X(t_f - t_0)} \quad (3)$$

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.

X. Referencias (Listar las citas bibliográficas con el estilo adecuado a su especialidad)

- Ferreira, M. M., Schvab, M. del C., Gerard, L. M., Zapata, L. M., Davies, C. V., & Hours, R. A. (2009). Alcoholic Fermentation of Orange Juice with *S. Cerevisiae*. *Ciencia, Docencia y Tecnología*, 39, 143–158. <http://www.scielo.org.ar/pdf/cdyt/n39/n39a08.pdf>
- Galeano G., P., Cuellar A., L., & Schinella, G. (2002). Resumen Palabras clave. *Rev Fac Nac Salud Pública*, 20, 1–17. <http://hdl.handle.net/10810/29279>
- Lee, I. H., Hung, Y. H., & Chou, C. C. (2008). Solid-state fermentation with fungi to enhance the antioxidative activity, total phenolic and anthocyanin contents of black bean. *International Journal of Food Microbiology*, 121(2), 150–156. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2007.09.008>
- López, J., García, S., Hernández, H., & Cornejo, M. (2017). Estudio de la fermentación en de kéfir de agua de piña con tibicos. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 16(2), 405–414.
- 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 Programa Ingeniería de Alimentos Evaluación de una fermentación alcohólica de cubio (Tr. In *Tesis digitales-Universidad de La Salle*.
- Ochoa velasco, C. E., García vidal, V., Luna Guevara, J. J., Luna Guevara, M. L., Hernández Carranza, P., & Guerrero Beltrán, J. Á. (2012). Características antioxidantes, fisicoquímicas y microbiológicas de jugo fermentado y sin fermentar de tres variedades de pitahaya (*Hylocereus* spp). *Scientia Agropecuaria*, 3, 279–289.
- Oré, F., De la Cruz, R., Montalvo, J., & Muñoz, K. (2019). Evaluation of the acceptability and alcohol content of goose wine (*Oxalis tuberosa*) of five varieties. *Journal of Agro-Industry Sciences*, 1(2), 39–43. <https://doi.org/10.17268/jais.2019.005>
- Pallares, A., Estupiñán, M. R., Perea, J. A., & López, L. J. (2016). Impacto de la fermentación y secado sobre el contenido de polifenoles y capacidad antioxidante del clon de cacao CCN-51 Impact of fermentation and drying in polyphenol content and antioxidant capacity of cocoa variety CCN-51. *Revista ION*, 29(2), 7–21.

XI. Uso de los resultados y contribuciones del proyecto (Señalar el posible uso de los resultados y la contribución de los mismos)

Los resultados obtenidos de este proyecto de estudio, podrán ser útiles para ser referenciados en la formulación de alimentos por su alto contenido de compuestos fenólicos y capacidad antioxidantes. Además de los alimentos este puede ser una opción para la elaboración de licores y que cumplan beneficios extras

XII. Impactos esperados

i. Impactos en Ciencia y Tecnología

Se optimizará los parámetros cinéticos de fermentación alcohólica y sus características fisicoquímicas de isaño.

ii. Impactos económicos



Generar nuevas oportunidades, para aprovechar mejor nuestros recursos naturales y darle un valor agregado, de tal forma generar la opción de implantar una industria productora y comercializadora de compuestos bioactivos

iii. Impactos sociales

Con la investigación, estudio y aprovechamiento de nuestros recursos naturales podemos contribuir y fomentar mejor la producción de estos recursos para su mejor aprovechamiento

iv. Impactos ambientales

La isaño es un cultivo adaptable a las tierras de la región de Puno, por lo que no necesita parcialmente de pesticidas y fertilizantes, se da a considerar uno de los productos orgánicos. De tal forma el método de la fermentación es uno de los métodos que menos contamina ya que el proceso es anaerobio. Y la separación de los sólidos puede ser aprovechable para el desarrollo de composta y fertilizante natural para los cultivos

XIII. Recursos necesarios (Infraestructura, equipos y principales tecnologías en uso relacionadas con la temática del proyecto, señale medios y recursos para realizar el proyecto)

Infraestructura

- Laboratorios de la E.P.I. agroindustrial de la Una-Puno.
- Laboratorio de la Universidad San Antonio Abad del Cusco.

b) Equipos

- a) Reactor
- b) Balanza analítica
- c) Espectrofotómetro
- d) Contador de colonias
- e) Refractómetro
- f) Termómetro
- g) Picnómetro

c) Materiales

- a) Tubos de ensayo
- b) Buretas
- c) Pipetas volumétricas
- d) Probetas de 50, 100 y 500 ml
- e) Vasos precipitados
- f) Recipientes de vidrio ámbar y herméticos
- g) Cronometro
- h) Contenedores
- i) Adhesivos para rotular

d) Reactivos

- Ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS)
- Tartrato doble de sodio-potasio
- Hidróxido de sodio
- Agua destilada

XIV. Localización del proyecto (indicar donde se llevará a cabo el proyecto)



El trabajo de investigación se ejecutará en el laboratorio de Microbiología de Alimentos de la Universidad Nacional del Altiplano, ubicado en la ciudad de Puno a una altitud de 3827 m.s.n.m.

XV. Cronograma de actividades

Actividad	Meses												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
Pruebas definitivas	X	X	X										
Ejecución del proyecto de investigación				X	X	X							
Análisis de datos							X	X	X				
Redacción del informe									X	X	X		
Presentación del informe													X

XVI. Presupuesto

Descripción	Unidad de medida	Costo Unitario (S/.)	Cantidad	Costo total (S/.)
Transporte	global	300.00	2	600.00
Impresiones	unidad	1.00	300	300.00
Fotocopias	unidad	1.00	150	150.00
Material de escritorio	Unidad	100	1	100.00
Recolección de información	Unidad	100	1	100.00
Material informativo	Unidad	100	1	100.00
Análisis fisicoquímicos	muestra	100.00	10	1000.00
Imprevistos (%)				235.00
TOTAL				2385.00