UNIVERSIDAD NACIONAL DE MOQUEGUA

ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL

ESTUDIO DEL USO DE AGUA Y ETANOL BAJO CONDICIONES SUBCRÍTICAS SOBRE LA RECUPERACIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS Y REDUCCIÓN DE COMPUESTOS TÓXICOS PRESENTES EN ALGAS PARDAS (*Macrocystis pyrifera*)

TESIS

PRESENTADO POR:
Bach. MARIA FERNANDA QUISPE ANGULO

ASESOR:
Dr. NILS LEANDER HUAMAN CASTILLA
COASESOR:
Mg. ERIK EDWIN ALLCCA ALCA

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN:
PROCESOS TECNOLÓGICOS/AGROINDUSTRIA

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:
INGENIERA AGROINDUSTRIAL
MOQUEGUA – PERÚ
2024

Folio N° 26

ACTA DE SUSTENTACIÓN

I. Modalidad:

Tesis : [X]

Trabajo de Suficiencia Profesional : [ ]

Otro: ..... : [ ]

II. Documento de aprobación de la modalidad de titulación del bachiller:

RESOLUCIÓN DE FACULTAD N° 170-2024-FACIA-UNAM Y RESOLUCION DE FACULTAD N° 118-2023-FACIA-UNAM

Fecha: 12/09/24 y 15/08/23

III. Documento de aprobación para la sustentación:

RESOLUCIÓN DE FACULTAD N° 200-2024-FACIA-UNAM

Fecha: 16/10/24

IV. El Jurado ha dictaminado la (el)....,

TITULADO: "ESTUDIO DEL USO DE AGUA Y ETANOL BAJO CONDICIONES SUBCRÍTICAS SOBRE LA RECUPERACIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS Y REDUCCIÓN DE COMPUESTOS TÓXICOS PRESENTES EN ALGAS PARDAS (Macrocystis pyrifera)"

Bachiller: MARIA FERNANDA QUISPE ANGULO

Asesor Principal: Dr. NILS LEANDER HUAMÁN CASTILLA

Co-Asesor: Mg. ERIK EDWIN ALLCCA ALCA

V. Se dictamina:

Como: APROBADO por UNANIMIDAD la sustentación de manera:

Presencial [X] Virtual [ ]

Con nota: DIECISEIS (16) por lo que; Sí [ ] No [ ]

Opta el Título Profesional de **INGENIERO AGROINDUSTRIAL.**

Siendo las 11:30 horas, del 22 de OCTUBRE del año 2024 se procede con la firma en conformidad de lo dictaminado por el Jurado.

Presidente	Primer Miembro	Segundo Miembro
Dr. Mario R. Calacallapa Suceapaza	Erick Marivel Saldaña Villa	MSC KARINA ERIKA EDUARDO PALOMINO
(Nombres y Apellidos)	(Nombres y Apellidos)	(Nombres y Apellidos)

Miembro Accesitario
Raquel Allison Ulloquehuanca Pineda
(Nombres y Apellidos)

Asesor Principal	Bachiller	Co-Asesor
NILS LEANDER HUAMAN CASTILLA.	Maria Fernanda Quispe Angulo	
(Nombres y Apellidos)	(Nombres y Apellidos)	(Nombres y Apellidos)

UNIVERSIDAD NACIONAL DE MOQUEGUA

FACULTAD DE INGENIERÍA Y ARQUITECTURA

ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL

ESTUDIO DEL USO DE AGUA Y ETANOL BAJO CONDICIONES SUBCRÍTICAS SOBRE LA RECUPERACIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS Y REDUCCIÓN DE COMPUESTOS TÓXICOS PRESENTES EN ALGAS PARDAS (*Macrocystis pyrifera*)

Tesis sustentada y aprobada el 22 de octubre de 2024, estando presentes el jurado calificador y asesor integrado por:

PRESIDENTE: **M.Sc. Mario Roger Cotacallapa Sucapuca**

PRIMER MIEMBRO: **Dr. Erick Manuel Saldaña Villa**

SEGUNDO MIEMBRO: **M.Sc. Karina Erika Eduardo Palomino**

MIEMBRO ACCESITARIO: **Ing. Raquel Allison Choquehuanca Pineda**

ASESOR: **Dr. Nils Leander Huamán Castilla**

DEDICATORIA

Dedico esta tesis a Dios, por su guía y fortaleza; a mi familia, por su constante apoyo; a mis amigos y compañeros, por estar siempre ahí; y a mis asesores, por su orientación y confianza.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a Dios por darme la fuerza y la perseverancia para llegar a este momento culminante en mi vida. A mi familia, por su amor y apoyo constante, que me sostuvieron en los momentos más difíciles.

Agradezco a mi universidad y a mi escuela profesional, por brindarme la formación y el espacio para crecer tanto personal como profesionalmente. A mis profesores, por compartir su conocimiento y guía durante mi etapa de estudiante en la carrera de Ingeniería Agroindustrial.

Deseo expresar mi más sincero agradecimiento a mi asesor y coasesor por su constante apoyo y orientación a lo largo de este proyecto. Su experiencia, consejos y paciencia fueron fundamentales para el desarrollo de esta tesis. Agradezco profundamente su compromiso y dedicación, que no solo guiaron mi investigación, sino que también me motivaron a superar los desafíos y alcanzar mis objetivos. Su confianza en mi trabajo fue una fuente constante de inspiración y superación.

Doy agradecimiento a los profesionales que me apoyaron abriéndome las puertas de sus laboratorios y compartiendo generosamente su conocimiento. Su disposición y colaboración fueron esenciales para el desarrollo de este trabajo, permitiéndome acceder a los recursos y orientaciones necesarias para avanzar en mi investigación. Su apoyo fue invaluable, y estoy profundamente agradecido por la oportunidad de aprender de su experiencia y sabiduría.

Finalmente, gracias a mis amigos y compañeros, por su compañía, paciencia y apoyo incondicional en este camino.

RESUMEN

Las algas marinas son ampliamente utilizadas en diversas industrias debido a su alto contenido de gomas y alginatos, las cuales muchas veces pasan por alto sus propiedades bioactivas. En particular, las macroalgas pardas, contienen altas concentraciones de florotaninos, unos compuestos con una capacidad antioxidante superior a otras familias de polifenoles y solubles en agua y etanol. Si bien existen métodos convencionales que podrían extraer estos compuestos, el uso de solventes tóxicos dificulta su uso en futuras aplicaciones alimentarias.

Por ello, este estudio evaluó el uso de mezclas de agua y etanol en un rango de 0% a 30% y temperaturas de 90 a 150 °C bajo condiciones subcríticas con la finalidad de obtener extractos polifenólicos a partir de algas pardas. Los resultados fueron analizados mediante un arreglo factorial 3 x 3.

La mejor condición para la extracción por líquidos presurizados (ELP) se logró a 150 °C con etanol al 15%, obteniendo polifenoles totales de 5,42 mg EAG/g y 18,09 mg EFG/g, IC_{50} de 0,34 mg/mL y capacidad antioxidante ORAC de 149,56 µmol ET/g, superando a los métodos convencionales con acetona y metanol, que produjeron 3,06 y 1,27 mg EAG/g de polifenoles, 8,45 y 4,75 mg EFG/g, IC_{50} de 1,1 y 2,72 mg/mL, y ORAC de 35,23 y 26,42 µmol ET/g, respectivamente. La ELP mejoró la concentración de polifenoles en hasta ~4 veces más y la capacidad antioxidante ORAC en hasta ~6 veces más, con un IC_{50} hasta 8 veces mayor. Además, se identificaron 1,12, 1,70 y 0,38 µg/g de ácidos fenólicos, flavanoles y flavonoles, respectivamente; donde en comparación con los extractos obtenidos bajo condiciones atmosféricas con acetona y metanol al 60%; no se identificaron ácidos fenólicos; se obtuvo ~8 y ~11 veces más flavanoles; además de ~6 y ~1 veces más flavonoles; respectivamente. Sin embargo, las altas temperaturas y el uso de agua como cosolvente favorecieron la coextracción de compuestos interferentes, como glucosa (24,53 mg/mL), fructosa (18,68 mg/mL) e hidroximetilfurfural (HMF) (43,7 µg/mL).

Finalmente, los resultados obtenidos en este estudio permitirán tener una visión más amplia acerca de la influencia de las condiciones de extracción sobre la

recuperación de compuestos fenólicos.

Palabras clave: Líquidos presurizados; extracción; polifenoles; floroglucinol; compuestos bioactivos; algas marinas; purificación; temperatura; solvente

ABSTRACT

Seaweed is widely used in various industries due to its high content of gums and alginates, which often overshadow its bioactive properties. In particular, brown macroalgae contain high concentrations of phlorotannins, compounds with antioxidant capacity superior to other families of polyphenols, and soluble in water and ethanol. Although conventional methods exist to extract these compounds, the use of toxic solvents complicates their use in future food applications.

Therefore, this study evaluated the use of water and ethanol mixtures ranging from 0% to 30% and temperatures from 90 to 150 °C under subcritical conditions to obtain polyphenolic extracts from brown algae. The results were analyzed using a 3 x 3 factorial design. The best condition for pressurized liquid extraction (PLE) was achieved at 150 °C with 15% ethanol, obtaining total polyphenols of 5.42 mg GAE/g and 18.09 mg FGE/g, an IC50 of 0.34 mg/mL, and ORAC antioxidant capacity of 149.56 µmol TE/g, outperforming conventional methods with acetone and methanol, which produced 3.06 and 1.27 mg GAE/g of polyphenols, 8.45 and 4.75 mg FGE/g, an IC50 of 1.1 and 2.72 mg/mL, and ORAC values of 35.23 and 26.42 µmol TE/g, respectively. PLE improved polyphenol concentration by up to ~4 times and ORAC antioxidant capacity by up to ~6 times, with an IC50 up to 8 times higher. In addition, 1.12, 1.70, and 0.38 µg/g of phenolic acids, flavanols, and flavonols were identified, respectively; compared to the extracts obtained under atmospheric conditions with 60% acetone and methanol, no phenolic acids were identified; ~8 and ~11 times more flavanols were obtained; and ~6 and ~1 times more flavonols, respectively. However, high temperatures and the use of water as a co-solvent favored the co-extraction of interfering compounds, such as glucose (24.53 mg/mL), fructose (18.68 mg/mL), and hydroxymethylfurfural (HMF) (43.7 µg/mL).

Finally, the results obtained in this study provide a broader perspective on the influence of extraction conditions on the recovery of phenolic compounds.

Keywords: Pressurized liquids; extraction; polyphenols; phloroglucinol; bioactive compounds; seaweed; purification; temperature; solvent

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN **1**

I. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN **3**

1.1. Descripción de la realidad problemática **3**

1.2. Formulación del problema de investigación **4**

1.1.1. Interrogante General 4

1.3. Justificación **4**

1.4. Objetivos **5**

1.4.1. Objetivo General 5

1.4.2. Objetivos Específicos 5

1.5. Hipótesis **6**

II. MARCO TEÓRICO **7**

2.1. Antecedentes del Problema **7**

2.2. Bases teóricas sobre el trabajo de investigación **9**

2.2.1. Macroalgas Marinas 9

2.2.2. Macroalgas Pardas 9

2.2.3. Recolección y Comercialización de Macroalgas 11

2.2.4. Características Nutricionales 14

2.2.5. Azúcares Reductores 14

2.2.6. Compuestos Fenólicos 15

2.2.7. Polifenoles en Algas Pardas 16

2.2.8. Aplicaciones y Perspectivas de los Polifenoles de Algas Marinas 18

2.2.9. Pretratamiento de la Muestra en la Extracción de Polifenoles 21

2.2.10. Extracción de Polifenoles por Diferentes Tecnologías 21

a. Extracción Sólido-Líquido (ESL) 23

b. Extracción por Líquidos Presurizados (ELP) 23

III. METODOLOGÍA 30

3.1. Tipo y Diseño 30

3.2. Técnicas e Instrumentos para la Recolección de Datos 32

3.2.1. Materiales, Equipos y Reactivos 32

a. Materiales 32

b. Equipos 33

c. Insumos y Reactivos 33

3.3. Métodos y técnicas para la ejecución de la investigación 35

3.3.1. Pretratamiento de las Algas Pardas 37

3.3.2. Extracción por Líquidos Presurizados (ELP) 38

3.3.3. Extracción Sólido-Líquido (ESL) 39

3.3.4. Metodologías de Contenido de Polifenoles Totales (CPT) 40

a. Equivalente de Ácido Gálico (EAG) 40

b. Equivalente de Floroglucinol (EFG) 41

3.3.5. Metodología de Capacidad Antioxidante por DPPH 42

3.3.6. Metodología de Capacidad Antioxidante por ORAC 44

3.3.7. Metodología de Perfil de Polifenoles 45

3.3.8. Metodología de Azúcares Reductores 47

3.3.9. Metodología de Hidroximetilfurfural (HMF) 48

3.4. Análisis de Datos 48

IV. RESULTADOS Y DISCUSIONES 51

4.1. Efecto del Uso de Mezclas Agua-Etanol sobre el Contenido de Polifenoles Totales, Capacidad Antioxidante y Perfil de Polifenoles en los Extractos de *Macrocystis pyrifera* 51

4.1.1. Polifenoles Totales Equivalentes de Ácido Gálico 51

4.1.2. Polifenoles Totales expresado como equivalentes de Floroglucinol ... 53

4.1.3. Capacidad Antioxidante por el Método DPPH 55

4.1.4. Capacidad antioxidante por el método ORAC 57

4.1.5. Correlación entre el Contenido de Polifenoles Totales y la Capacidad Antioxidante de los Extractos de Algas Pardas **59**

4.1.6. Perfil de Polifenoles **61**

a. Ácidos Fenólicos 61

b. Flavanoles 63

c. Flavonoles 64

4.2. Compuestos Interferentes **66**

4.3. Efecto del método de extracción en el contenido de polifenoles totales, capacidad antioxidante y perfil de polifenoles **70**

V. CONCLUSIONES **73**

VI. RECOMENDACIONES **74**

VII. REFERENCIAS **75**

VIII. ANEXOS **92**

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 *Desembarque de algas marinas en Perú* 13

Tabla 2 *Análisis proximal de Macrocystis pyrifera* 14

Tabla 3 *Extracción de polifenoles en algas pardas bajo condiciones subcríticas utilizando solventes verdes* 27

Tabla 4 *Operacionalización de variables* 31

Tabla 5 *Condiciones y curvas de calibración de los estándares de polifenoles identificados* 47

Tabla 6 *Esquema del diseño experimental* 50

Tabla 7 *Cuantificación de polifenoles totales equivalentes de ácido gálico de los extractos de algas marinas pardas* 104

Tabla 8 *Cuantificación de polifenoles totales equivalentes de floroglucinol de los extractos de algas marinas pardas* 104

Tabla 9 *Valores de concentración inhibitoria media en los extractos de algas marinas pardas* 105

Tabla 10 *Capacidad antioxidante mediante método de Capacidad de absorción de radicales de oxígeno en extractos de algas marinas pardas* 105

Tabla 11 *Comparación entre método alternativo y convencional* 106

Tabla 12 *Influencia de la temperatura y solvente en la recuperación de glucosa*.. 108

Tabla 13 *Influencia de la temperatura y solvente en la recuperación de fructosa*. 108

Tabla 14 *Influencia de la temperatura y solvente en la recuperación de hidroximetilfurfural* 109

Tabla 15 *Análisis de varianza para polifenoles totales equivalentes de ácido gálico*

..... 110

Tabla 16 *Análisis de varianza para Polifenoles Totales equivalentes de floroglucinol* 113

Tabla 17 *Análisis de varianza para Capacidad Antioxidante por el método 2,2-difenil-1-picrilhidracilo* 116

Tabla 18 *Análisis de varianza para Capacidad Antioxidante por el método de capacidad de absorción de radicales de oxígeno* 119

Tabla 19 *Análisis de varianza para Glucosa* 122

Tabla 20 *Análisis de varianza para Fructosa* 125

Tabla 21 *Análisis de varianza para Hidroximetilfurfural* 128

Tabla 22 *Pruebas de Normalidad para Residuos de Polifenoles Totales equivalentes de Floroglucinol* 139

Tabla 23 *Pruebas de Normalidad para Residuos de Polifenoles Totales equivalentes de Ácido gálico* 139

Tabla 24 *Pruebas de Normalidad para Residuos de la concentración inhibitoria media* 140

Tabla 25 *Pruebas de normalidad para residuos de la capacidad de absorción de radicales de oxígeno* 140

Tabla 26 *Pruebas de normalidad de residuos para glucosa* 141

Tabla 27 *Pruebas de normalidad de residuos para fructosa* 141

Tabla 28 *Pruebas de normalidad de residuos para hidroximetilfurfural* 142

Tabla 29 *Verificación de Varianza para Polifenoles Totales equivalentes de Floroglucinol - Temperatura* 143

Tabla 30 *Verificación de Varianza para Polifenoles Totales equivalentes de Floroglucinol - Solvente*..... 143

Tabla 31 *Verificación de Varianza para Polifenoles Totales equivalentes de Ácido Gálico - Temperatura*..... 144

Tabla 32 *Verificación de Varianza para Polifenoles Totales equivalentes de Ácido Gálico - Solvente*..... 144

Tabla 33 *Verificación de varianza para concentración inhibitoria media - Temperatura*..... 144

Tabla 34 *Verificación de varianza para concentración inhibitoria media - Solvente* 145

Tabla 35 *Verificación de varianza para capacidad de absorción de radicales de oxígeno - Temperatura*..... 145

Tabla 36 *Verificación de varianza para capacidad de absorción de radicales de oxígeno - Solvente* 146

Tabla 37 *Verificación de varianza para Glucosa – Temperatura* 146

Tabla 38 *Verificación de varianza para Glucosa – Etanol*..... 146

Tabla 39 *Verificación de varianza para Fructosa – Temperatura* 147

Tabla 40 *Verificación de varianza para Fructosa – Etanol*..... 147

Tabla 41 *Verificación de varianza para Hidroximetilfurfural – Temperatura*..... 147

Tabla 42 *Verificación de varianza para Hidroximetilfurfural – Etanol*..... 148

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 *Orden y número de especies de algas pardas* 10

Figura 2 *Zonas de recolección de Macrocystis pyrifera a nivel nacional* 12

Figura 3 *Función de los polifenoles como inhibidores de radicales libres* 15

Figura 4 *Principales compuestos fenólicos presentes en algas pardas* 17

Figura 5 *Propiedades bioactivas de los compuestos fenólicos marinos* 20

Figura 6 *Técnicas de extracción de polifenoles* 22

Figura 7 *Proceso de Extracción por Líquidos Presurizados* 25

Figura 8 *Factores influyentes en el rendimiento de Extracción por Líquidos Presurizados* 26

Figura 9 *Diagrama de proceso experimental* 36

Figura 10 *Pretratamiento de la muestra* 37

Figura 11 *Proceso de extracción de polifenoles mediante líquidos presurizados* 39

Figura 12 *Proceso convencional de extracción de polifenoles* 40

Figura 13 *Cuantificación de Polifenoles Totales equivalentes de ácido gálico* 41

Figura 14 *Cuantificación de Polifenoles Totales equivalentes de floroglucinol* 42

Figura 15 *Análisis de capacidad antioxidante por el método 2,2-difenil-1-picrilhidracilo* 43

Figura 16 *Protocolo de Capacidad de Absorción de Radicales de Oxígeno* 45

Figura 17 *Metodología para perfil de polifenoles* 46

Figura 18 *Influencia de la temperatura y solvente sobre el contenido total de*

polifenoles equivalentes de ácido gálico 51

Figura 19 *Influencia de la temperatura y solvente en la concentración de polifenoles equivalentes de floroglucinol* 53

Figura 20 *Influencia de la temperatura y solvente en la capacidad de absorción de radicales libres* 55

Figura 21 *Influencia de la temperatura y solvente en la capacidad de absorción de radicales libres de oxígeno* 58

Figura 22 *Correlación de polifenoles totales equivalentes de floroglucinol con la capacidad antioxidante (a, b) y correlación de polifenoles totales equivalentes de ácido gálico con la capacidad antioxidante (c,d)* 60

Figura 23 *Efecto de las mezclas agua-etanol en la recuperación de ácidos fenólicos* 62

Figura 24 *Efecto de las mezclas agua-etanol en la recuperación de flavanoles* 64

Figura 25 *Efecto de las mezclas agua-etanol en la recuperación de flavonoles* 65

Figura 26 *Influencia de la condición de extracción en el contenido de azúcares reductores (a) (b) e hidroximetilfurfural (c)* 68

Figura 27 *Comparación de polifenoles totales (A, B) y capacidad antioxidante (C, D) presentes en extractos a condiciones subcríticas (ELP) y atmosféricas (ESL)* 71

Figura 28 *Muestras liofilizadas* 92

Figura 29 *Reducción de tamaño de partícula y tamizado a 0,5 mm* 92

Figura 30 *Preparación de celda de extracción* 93

Figura 31 *Extracción de compuestos fenólicos mediante líquidos presurizados* 93

Figura 32 *Filtrado de extractos* 94

Figura 33 *Rotavaporación de extractos* 94

Figura 34 *Creación de curva de calibración para determinación de polifenoles totales* 95

Figura 35 *Análisis de capacidad antioxidante mediante método 2,2-difenil-1-pricilhidracilo* 95

Figura 36 *Pruebas de dilución de muestra para análisis de capacidad antioxidante por el método 2,2-difenil-1-picrilhidracilo* 96

Figura 37 *Análisis de Capacidad de Absorción de Radicales de Oxígeno con lector de microplacas Fluoroskan* 96

Figura 38 *Extracción en fase sólida* 97

Figura 39 *Retención de polifenoles en cartuchos en la extracción en fase sólida* ... 97

Figura 40 *Concentración de muestras con evaporador de nitrógeno* 98

Figura 41 *Viales en el Cromatógrafo Líquido de Alta Resolución* 98

Figura 42 *Columna cromatográfica* 99

Figura 43 *Gráfico de residuos para Polifenoles Totales equivalentes de Floroglucinol vs. Etanol* 136

Figura 44 *Gráfico de residuos para Polifenoles totales equivalente de Floroglucinol vs. Temperatura* 136

Figura 45 *Gráfico de residuos para Polifenoles Totales equivalentes de Ácido Gálico vs. Etanol* 136

Figura 46 *Gráfico de residuos para Polifenoles Totales equivalentes de Ácido Gálico vs. Temperatura* 137

Figura 47 *Gráfico de residuos para Concentración inhibitoria media vs. Etanol* . 137

Figura 48 *Gráfico de residuos para Concentración inhibitoria media vs. Temperatura* 137

Figura 49 *Gráfico de residuos para Capacidad de absorción de radicales de oxígeno vs. Etanol* 138

Figura 50 *Gráfico de residuos para Capacidad de absorción de radicales de oxígeno vs. Temperatura* 138

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1 *Panel fotográfico* 92

Anexo 2 *Curva estándar de Ácido Gálico* 100

Anexo 3 *Curva estándar de floroglucinol* 102

Anexo 4 *Resultados de polifenoles totales y capacidad antioxidante* 104

Anexo 5 *Resultados de mejor tratamiento por extracción con líquidos presurizados vs. extracción convencional* 106

Anexo 6 *Perfil de polifenoles* 107

Anexo 7 *Cuantificación de compuestos interferentes* 108

Anexo 8 *Análisis de varianza multifactorial* 110

Anexo 9 *Comparación del mejor tratamiento en extracción por líquidos presurizados vs. tratamiento convencional* 131

Anexo 10 *Gráficos de residuos vs. niveles de factor* 136

Anexo 11 *Pruebas de normalidad de residuos de Shapiro-Wilk* 139

Anexo 12 *Pruebas de igualdad de varianzas de Levene* 143

INTRODUCCIÓN

El medio marino es una fuente natural de compuestos bioactivos (Mateos et al., 2020). Las algas marinas representan una matriz biológica de gran interés debido a su abundancia en diversos tipos de ecosistemas marinos (Krause-Jensen & Duarte, 2016). Sin embargo, de la gran diversidad de especies, algunas carecen de valor comercial y podrían ser más eficazmente utilizadas para la obtención de polifenoles (Cai et al., 2021). Por ejemplo, las algas pardas son especialmente valoradas en la industria por su alta concentración de alginatos (Aragón et al., 2012). Sin embargo, contienen polifenoles con alta capacidad antioxidante, cuyo contenido supera a las algas verdes y rojas, así como a otras matrices vegetales debido a la presencia de florotaninos (Keramane et al., 2023; Meng et al., 2021). Estos compuestos debido a sus propiedades bioactivas pueden ser usados en el tratamiento de enfermedades crónicas (Pradhan et al., 2020). Que representan la principal causa de muerte a nivel mundial (World Health Organization, 2023).

La creciente demanda de productos de algas se debe a su potencial para reducir las emisiones de gases de efecto invernadero, su valor nutricional y su riqueza en compuestos bioactivos (Irianto et al., 2024; Krause-Jensen & Duarte, 2016). Trabajar con algas pardas presenta varias ventajas, como su rápida tasa de crecimiento, capacidad de cultivo sostenible y bajo costo de producción (Krause-Jensen & Duarte, 2016). Según el Centro Tecnológico del Mar (CETMAR, 2021), la utilización de algas como fuente de compuestos bioactivos contribuye a la bioprospección marina y al desarrollo ecológicamente responsables. El establecimiento de una industria de algas sostenible promueve la economía mundial y fomenta la creación de empleo (Gephart et al., 2020).

Las algas pardas contienen fucoidanos, fucoxantinas, ácidos grasos y polifenoles como principales compuestos bioactivos (Irianto et al., 2024). Sin embargo, los polifenoles presentan las mejores propiedades antioxidantes (Pradhan et al., 2020). El desarrollo de métodos eficientes y sostenibles para la extracción de polifenoles ha sido una prioridad en la investigación científica (Getachew et al., 2020). Los métodos de extracción convencionales enfrentan limitaciones en términos de eficiencia y

selectividad, lo que ha impulsado la creación de técnicas alternativas, como la extracción por líquidos presurizados (Getachew et al., 2020). Este método ha demostrado ser altamente eficiente, superando las limitaciones de los métodos tradicionales al incrementar el rendimiento de extracción y reducir el uso de solventes (Otero et al., 2018).

La extracción es el primer paso en la cadena de industrialización de los compuestos bioactivos. Una vez extraídos los polifenoles, el siguiente paso es la purificación de estos compuestos (Mariotti-Celis et al., 2018). La elección de las condiciones óptimas de extracción es fundamental, ya que influyen directamente en el rendimiento y calidad de los polifenoles sometidos a un proceso de purificación (Mariotti-Celis et al., 2018). Por lo tanto, un proceso de extracción bien diseñado debe integrarse perfectamente con técnicas de purificación eficientes para asegurar la calidad del producto final.

En este contexto, la presente investigación se centra en la evaluación y optimización de la extracción de polifenoles a partir de algas pardas mediante líquidos presurizados para la obtención de extractos que puedan ser sometidos en un proceso de purificación manteniendo la recuperación de polifenoles, con el objetivo de contribuir al desarrollo de procesos industriales sostenibles y económicamente viables.

I. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

1.1. Descripción de la realidad problemática

La producción de algas pardas a nivel mundial ha incrementado de ~13 mil toneladas en 1950 a ~16 millones de toneladas en 2019 (Cai et al., 2021). Según el Instituto del Mar del Perú (IMARPE, 2020), Perú exportó 34 mil toneladas de algas pardas, principalmente secas, generando ingresos superiores a los 21 millones de dólares. Si bien China es el principal mercado de exportación (99% del total), existen otros mercados tales como Chile, México, Francia y Noruega (CETMAR, 2021). En el sur de Perú, el alga parda *Macrocystis pyrifera* es la fuente responsable de ~85% de los volúmenes totales exportados. Esta alga abunda en la zona sur costera del país y su producción ha incrementado en un 700% desde 1997 hasta la actualidad (CETMAR, 2021). En general, la demanda de esta materia prima se debe a su composición en polisacáridos (alginatos), sin embargo, el precio por tonelada de algas secas (S/.300 – S/.400) no es atractivo para las familias dedicadas a este rubro (Aragón et al., 2012; CETMAR, 2021).

Por otro lado, las algas marinas poseen otros compuestos orgánicos de gran valor, como los polifenoles (Pradhan et al., 2020). Estos compuestos presentan importantes propiedades bioactivas (antioxidante, neuroprotector, anticancerígeno, antiinflamatorio, antimicrobiano, hipoglucemiante) que han despertado el interés de la industria alimentaria y farmacéutica (Meng et al., 2021). Esto se ve reflejado en el constante crecimiento del mercado global de polifenoles, el cual alcanzó los $/.1600 millones en 2021 y se espera un crecimiento anual del 7,4% entre 2022 y 2030, además la extracción de polifenoles en algas es un mercado creciente (Research, 2021). Las algas pardas se extraen o recolectan en su forma silvestre y tan solo el 4% son cultivadas (CETMAR, 2021). Por ello, enfocarse en los compuestos bioactivos que presenta es el nuevo desafío de la industria.

Los polifenoles mayoritarios en algas pardas son los florotaninos, cuyas propiedades bioactivas han despertado el interés en la industria farmacéutica para el tratamiento de enfermedades crónicas relacionadas con el estrés oxidativo (Jimenez-

Lopez et al., 2021; Meng et al., 2021; Vilcanqui et al., 2021). Esto ha promovido que se desarrollen diversos métodos de extracción bajo condiciones atmosféricas para recuperar polifenoles de diversas fuentes vegetales (Guido & Moreira, 2017). Sin embargo, estos métodos son ineficientes debido al consumo excesivo de tiempo, energía y el uso de solventes tóxicos no amigables con el medio ambiente (acetona, metanol, hexano), dificultando la viabilidad a gran escala como una alternativa sostenible (Fontana et al., 2017; Lama-Muñoz et al., 2019).

La extracción por líquidos presurizados (ELP), es una tecnología alternativa, reconocida como un proceso sustentable que utiliza altas presiones (~10 MPa) y elevadas temperaturas (90 – 250 °C), combinada con solventes de grado alimentario (etanol y agua) para lograr un enfoque de extracción altamente eficiente (Ameer et al., 2017; Putnik et al., 2017). Si bien existen trabajos en ELP para extraer polifenoles en matrices vegetales tales como frutas y hortalizas, aún no se han definido parámetros de proceso en la obtención de polifenoles a partir de algas pardas (*Macrocystis pyrifera).*

1.2. Formulación del problema de investigación

Basándose en los párrafos anteriormente mencionados, se propone evaluar el efecto del uso de agua y etanol combinado con altas temperaturas (90 – 150 °C) en la recuperación de polifenoles y reducción de compuestos tóxicos (Azúcares reductores e hidroximetilfurfural) presentes en algas marinas pardas a través de un proceso de extracción liquida presurizada.

1.1.1. Interrogante General

¿Cómo la extracción líquida presurizada combinada con agua y etanol a altas temperaturas puede mejorar la recuperación de polifenoles presentes y reducir la presencia de compuestos tóxicos presentes en algas marinas pardas (*Macrocystis pyrifera)*?

1.3. Justificación

La presente tesis forma parte de las áreas de estudio de la Escuela Profesional

de Ingeniería Agroindustrial de la Universidad Nacional de Moquegua (UNAM). El enfoque principal de este informe es utilizar la ciencia para desarrollar procesos tecnológicos ecológicos que faciliten el aprovechamiento de especies marinas, como las algas pardas, con el objetivo de recuperar compuestos específicos que agreguen valor a dichas especies.

Investigaciones previas han destacado que las algas marinas son fuentes de alginatos y compuestos bioactivos. Sin embargo, los polifenoles son los compuestos de mayor interés para la industria farmacéutica y alimentaria debido a sus propiedades bioactivas. Por ello, su recuperación representaría una nueva alternativa de valorización de las algas y promovería el fortalecimiento de su cadena de valor.

Al utilizar técnicas de alternativas, como la extracción con líquidos presurizados y solventes seguros para el consumo humano, como el etanol y el agua, se espera mejorar significativamente la eficiencia en la extracción de polifenoles, al mismo tiempo que se evita el uso de solventes tóxicos como metanol y acetona. Además, esta metodología tiene el potencial de reducir considerablemente los costos de proceso si se considera su aplicación en una posible ampliación a nivel industrial.

1.4. Objetivos

1.4.1. Objetivo General

Evaluar el efecto del uso de agua y etanol sobre la recuperación de compuestos fenólicos y reducción de compuestos tóxicos presentes en algas marinas pardas (*Macrocystis pyrifera*) mediante un proceso de extracción por líquidos presurizados (ELP).

1.4.2. Objetivos Específicos

- Evaluar el efecto de agua y etanol (0%, 15% y 30%) a altas temperaturas (90, 120 y 150 °C) en la extracción de polifenoles totales, capacidad antioxidante y perfil de polifenoles a partir de algas marinas pardas (*Macrocystis pyrifera*) mediante un proceso de ELP.

- Evaluar el efecto de agua y etanol (0%, 15% y 30%) a altas temperaturas (90, 120 y 150 °C) en el perfil de azúcares reductores e hidroximetilfurfural a partir de algas marinas pardas (*Macrocystis pyrifera*) mediante un proceso de ELP.

- Comparar el contenido de polifenoles y capacidad antioxidante del mejor tratamiento obtenido mediante el uso de la ELP contra el método tradicional de extracción a nivel atmosférico utilizando acetona y metanol al 60% a partir de algas marinas pardas (*Macrocystis pyrifera*)

1.5. Hipótesis

Es posible mejorar la recuperación de los polifenoles y reducir la presencia de compuestos tóxicos presentes en algas marinas pardas(*Macrocystis pyrifera*) mediante un proceso de ELP combinado con el uso de agua y etanol a temperaturas subcríticas.

II. MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes del Problema

Vilcanqui et al. (2021) llevaron a cabo una caracterización química de dos especies de algas pardas (*Macrocystis pyrifera*) y rojas (*Chondracanthus chamissoi*) en Perú. Ambas especies mostraron cantidades significativas de proteínas (5% - 12%), lípidos (0,16% - 0,74%), carbohidratos (43,29% - 62,65%) y minerales (1300 – 1800 mg/kg). Cuyos perfiles de aminoácidos, ácidos grasos y minerales dependían en gran medida del tipo de especie. En ese sentido, *C. chamissoi* presentó ~170% y ~45% más contenido de aminoácidos esenciales y minerales comparado con *M. pyrifera.* Además, ambas especies presentaron concentraciones significativas de polifenoles totales (39 - 59 mg EAG/g) y una alta capacidad antioxidante (67 - 98 µmol ET/g), resaltando las algas pardas.

Beratto-Ramos et al. (2019) investigaron el contenido fenólico (28,44 mg EFG/g) mediante la extracción sólido-líquido con acetona al 70% como solvente, y la capacidad antioxidante (0,85 µmol ET/g) en la estructura estípite del alga parda *Macrocystis pyrifera* chilena recolectada durante invierno y primavera respectivamente. Se destacó que esta alga es una fuente abundante y sostenible con potencial para su uso en la industria, sin embargo, se deben utilizar tecnologías verdes con solventes GRAS para la recuperación de estos compuestos, obteniendo mayor eficiencia de extracción.

Otero et al. (2019) evaluaron diferentes solventes con amplios rangos de polaridad para extraer compuestos fenólicos del alga parda *Laminaria ochroleuca* mediante el proceso ELP. El extracto obtenido con mezclas etanol-agua mostró el contenido más alto de compuestos fenólicos (173,7 mg EAG/g), mientras que el extracto de hexano presentó el contenido más bajo (6 mg EAG/g). Estos resultados destacan la importancia de seleccionar cuidadosamente el solvente en ELP para lograr una extracción eficiente y obtener compuestos fenólicos de alta calidad, además se resalta que de especie en alga varía el contenido de polifenoles, por ende, su capacidad antioxidante.

Vo Dinh et al. (2018) extrajeron compuestos fenólicos de alga parda *Saccharina japonica* utilizando un amplio campo de temperaturas (de 100 a 250 °C) a condiciones subcríticas con agua como solvente. Debido al alta constante dieléctrica del agua, con este solvente se trabajó a mayor temperatura, pues en ELP este valor disminuye a medida que se incrementa la temperatura y este factor se considera un parámetro crítico que puede crear una diferenciación significativa en la eficiencia de extracción. Los valores de rendimiento de 100 a 175 °C (10,71 ± 0,49 a 39,27 ± 0,38 mg EFG/g), de 175 a 225 °C (39 mg EFG/g) y a 250 °C (28,42 ± 0,23 mg EFG/g). Esta reducción la relacionaron a la degradación de los compuestos fenólicos, además, es importante considerar que las altas temperaturas generan la formación de hidroximetilfurfural (HMF). También midieron la capacidad antioxidante de los extractos (3,05 ± 0,12 mg ET/g a 5,46 ± 0,13 mg ET/g), donde al igual que los compuestos fenólicos, comenzó a reducirse cuando la temperatura aumentó a 250 °C, demostrando la correlación entre estos. Con este estudio demostraron el valor de la extracción de componentes de las algas pardas.

Huaman-Castilla et al. (2019) reportaron que la estructura química del polifenol y la polaridad del solvente juegan un papel importante durante el proceso ELP,debido a que diferentes familias de polifenoles según su estructura química presentan una diferente afinidad por una concentración determinada de etanol en la ELP. Sin embargo, a altas temperaturas (150 °C) el uso de altas concentraciones de etanol (> 50%) afectó significativamente la recuperación de ácidos fenólicos, mientras que los flavonoles presentaron altos rendimientos a altas concentraciones de etanol.

Mariotti-Celis et al. (2018) lograron una optimización notable en el proceso de extracción y purificación de compuestos fenólicos mediante el uso de ELP con etanol como solvente. Descubrieron que esta técnica permitía reducir la temperatura de extracción de 130 a 90 °C, evitando así la formación de HMF, relacionado con la presencia de azúcares reductores. Además, se conservó al menos el 90% del contenido total de polifenoles en los extractos. La disminución de la degradación térmica de los polifenoles contribuyó significativamente a esta preservación. Además, la utilización de etanol en concentraciones bajas (15%) durante la etapa de extracción demostró ser

altamente beneficiosa para la recuperación de polifenoles en la posterior purificación mediante resinas.

2.2. Bases teóricas sobre el trabajo de investigación

2.2.1. Macroalgas Marinas

Las algas marinas son organismos multicelulares macroscópicos que se encuentran en el fondo del mar y desempeñan un papel vital en la estructuración de las comunidades costeras marinas (Graham et al., 2007). Estos organismos aprovechan de manera más eficiente la energía solar en comparación con las plantas terrestres, podrían capturar la mitad de las emisiones de CO_2 producidas en el mundo, considerando que la productividad de biomasa de las algas es significativamente mayor que la de las plantas terrestres (Krause-Jensen & Duarte, 2016). El cultivo de algas marinas no compite con los cultivos alimentarios por el uso de tierra y recursos de agua dulce (Krause-Jensen & Duarte, 2016). Además, su cultivo prescinde de la necesidad de aplicar fertilizantes, lo que contribuye a su sostenibilidad, en consecuencia, el uso de algas para producir polifenoles de forma sostenible ayudaría a mitigar el cambio climático (Krause-Jensen & Duarte, 2016).

Basado en características morfológicas y de pigmentación se clasifican en tres grandes grupos, tales como *Chlorophyta* o clorofitas (algas verdes), *Phaeophyta* o feófitas (algas pardas) y *Rhodophyta* o rodófitas (algas rojas) (Baweja et al., 2016).

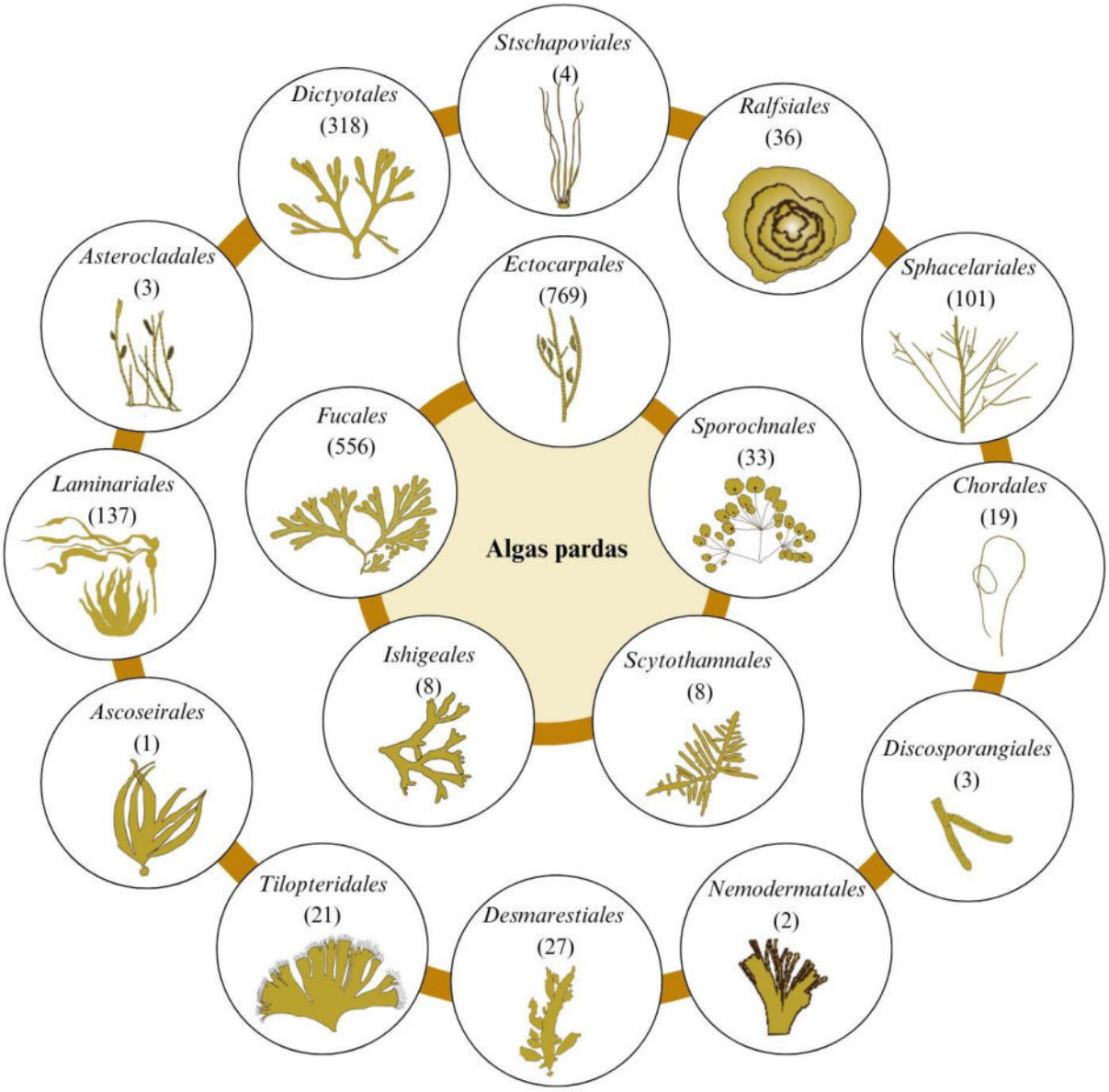
Gupta et al. (2011) mencionan que las algas marinas están compuestas mayormente por agua, constituyendo entre el 75% y el 85% de su estructura, mientras que el restante está compuesto por una variedad de otros componentes. En consecuencia, todos los resultados en este estudio fueron expresados en base seca.

2.2.2. Macroalgas Pardas

Las algas pardas constituyen un extenso y diverso grupo de organismos marinos, con más de 2000 especies identificadas hasta la fecha (Figura 1).

Figura 1

Orden y número de especies de algas pardas



Nota. Adaptado de: (Bringloe et al., 2020)

El orden *Laminariales* forman lechos densos que son fundamentales para la vida en los ecosistemas marinos, resaltando *Macrocystis pyrifera* por ser la más extendida, productiva y grande (45 m de longitud) con un área de distribución desde Alaska hasta Baja California en México, y desde el norte del Perú hasta la Patagonia,

además, se encuentra en las islas subantárticas y los extremos sur de África, Australia y Nueva Zelanda, creciendo en aguas de hasta 60 m de profundidad (Graham et al., 2007).

2.2.3. Recolección y Comercialización de Macroalgas

Las algas marinas se comercializan principalmente como alginato, carragenina, carotenoides, proteínas, lípidos, entre otros, siendo las algas pardas las predominantes en el mercado (IMARC, 2023). El mercado mundial de productos derivados de algas registró un valor de $/.1800 millones en 2022 y se proyecta un crecimiento anual del 5,3% entre 2023 y 2028, alcanzando los $/.2500 millones en este último año (IMARC, 2023).

Las algas marinas más exportadas a nivel nacional son las algas pardas, encabezando *Macrocystis pyrifera* (CETMAR, 2021). Esta biomasa marina se extrae de poblaciones silvestres y se desarrolla en todo el litoral peruano (Graham et al., 2007).

La Figura 2, ilustra la distribución de *Macrocystis pyrifera* a lo largo de las costas peruanas, destacando en un tono marrón más claro las áreas con registros históricos que no han sido confirmados en estudios recientes, mientras que la zona resaltada en marrón más oscurso representa las áreas de recolección de esta alga parda, señalando los principales puertos de desembarque (CETMAR, 2021).

Figura 2

Zonas de recolección de Macrocystis pyrifera a nivel nacional



Nota: Adaptado de: (CETMAR, 2021)

La actividad de recolección de algas representa una fuente importante de ingresos económicos para las familias dedicadas a este rubro (IMARPE, 2020). La siguiente tabla representa el incremento de recolección de esta biomasa, debido a la creciente demanda.

Tabla 1

Desembarque de algas marinas en Perú

Puerto/Año	2018	2019	2020	2021
	Toneladas métricas			
Pisco	5201	4647	4725	6916
La Yerba	213	6376	16833	11792
Atenas	9119	27	9	116
Laguna Grande	273	247	242	142
Punta Caballa	1895	662	0	0
San Juan de Marcona	14810	14832	20572	19712
Lomas	2447	2748	1542	2665
Atico	3179	1467	2870	5128
Ilo	30	0	20	122
Otros	0	3830	1853	2012
Total	37167	34836	48666	48605

Nota. Datos recolectados de: (PRODUCE, 2021)

La disponibilidad de las algas marinas permite su aprovechamiento en la extracción de macromoléculas comerciales (Tabla 1). Según el Ministerio de la Producción (PRODUCE, 2021), el litoral costero de Ilo representa los niveles de recolección más bajos. Existen 3 asociaciones (Las Brisas, La Milla y Algas Marinas) conformadas por 80 familias cada una, cuya actividad en algunos casos representaría su única fuente de ingresos (Aragón et al., 2012). Por otro lado, existen 3 principales compradores de estas algas tales como *Globe Seaweed International* S.A.C., Algas Arequipa E.I.R.L. y Algas Multiexport del Perú S.A.C., cuyas actividades están relacionadas a la compra, procesamiento (secado de las algas y empacado) y venta de estas especies (Aragón et al., 2012). El Decreto Supremo Nº007-2016-PRODUCE, establece el Reglamento de Ordenamiento Pesquero de Macroalgas Marinas, buscando mejorar la sostenibilidad pesquera, promover una pesca y recolección responsable para

proteger el ecosistema marino (CETMAR, 2021).

2.2.4. Características Nutricionales

La composición química de las algas marinas varía según la especie, lugar de cultivo o cosecha, condiciones ambientales y periodo de recolección (Meng et al., 2022). Las algas pardas son muy interesantes por su alto contenido en proteína (3% - 20,5%) con aminoácidos esenciales (glicina, alanina, prolina, arginina, glutámico, ácido aspártico, tirosina, cisteína y metionina), lípidos (<5%) con la presencia de ácidos grasos poliinsaturados, vitaminas A, B, C, D, E y minerales (8% - 40%) como Ca, Mg, I, K, P, Na, Cr, Ni, Fe, Zn y Mn (Lorenzo et al., 2017). Tal como lo demuestra la siguiente tabla.

Tabla 2

Análisis proximal de Macrocystis pyrifera

Composición química	Promedio (g/100 g)
Humedad	6,37 ± 0,05
Proteína	5,86 ± 0,04
Grasa	0,74 ± 0,08
Ceniza	43,74 ± 0,02
Carbohidratos	43,29 ± 0,02

Nota. Adaptado de: (Vilcanqui et al., 2021)

2.2.5. Azúcares Reductores

Los carbohidratos, como el fucoidan, laminarina, alginato y manitol, son elementos fundamentales en las algas pardas, siendo el manitol, con una presencia que varía entre el 3% y el 30% del peso seco del alga, una valiosa fuente de energía (Chades et al., 2018). Zhang et al. (2022), investigaron la composición de monosacáridos (azúcares reductores) de las macroalgas pardas, revelando la presencia de glucosa como el más abundante (64% - 83%), seguida de fucosa (13% - 20%) y por último xilosa y

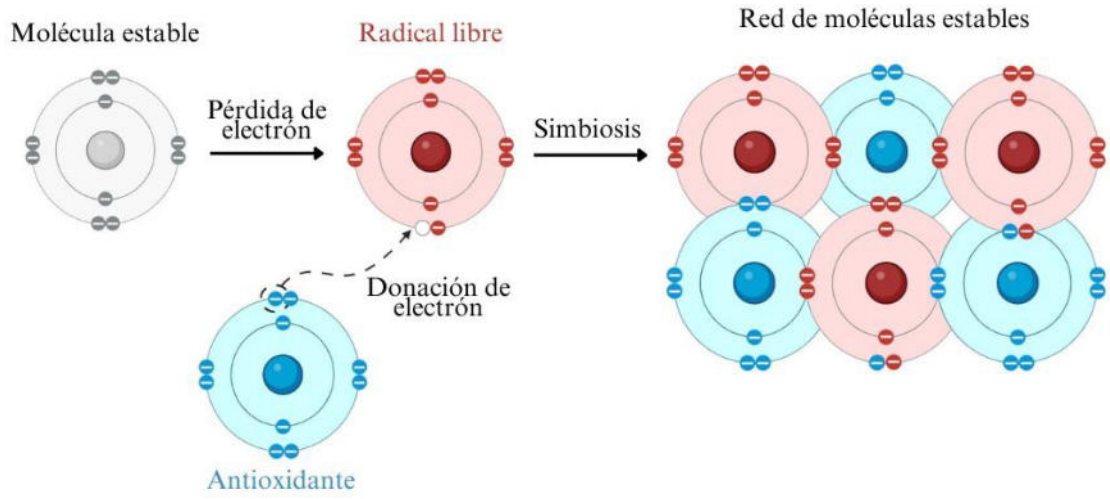
glucosaminas presentes en menor proporción (< 7%).

2.2.6. Compuestos Fenólicos

Las algas marinas albergan no solo metabolitos primarios, sino también metabolitos secundarios, como los polifenoles, los cuales muestran actividades biológicas y se caracterizan por su estructura química que incluye un anillo aromático con grupos hidroxilo (Yu et al., 2014). Estos compuestos presentan un peso molecular relativamente alto (200 Da - 3500 kDa) y una complejidad química que puede oscilar desde monómeros sencillos hasta polímeros complejos (Huaman-Castilla et al., 2017; Obreque-Slier et al., 2011). La Figura 3, ilustra cómo los polifenoles, actuando como antioxidantes, estabilizan radicales libres mediante la donación de electrones, formando una red de moléculas estables.

Figura 3

Función de los polifenoles como inhibidores de radicales libres



Nota. Adaptado de: (Nikolaidis & Margaritelis, 2023)

La especie de alga parda *Macrocystis pyrifera* presenta ~51% más contenido de polifenoles totales con alta capacidad antioxidante (ORAC: 98 µmol ET/g) en comparación con la especie de alga roja *Chondracanthus chamissoi* (Vilcanqui et al., 2021). Los factores abióticos y bióticos, como temperatura, intensidad de luz, salinidad

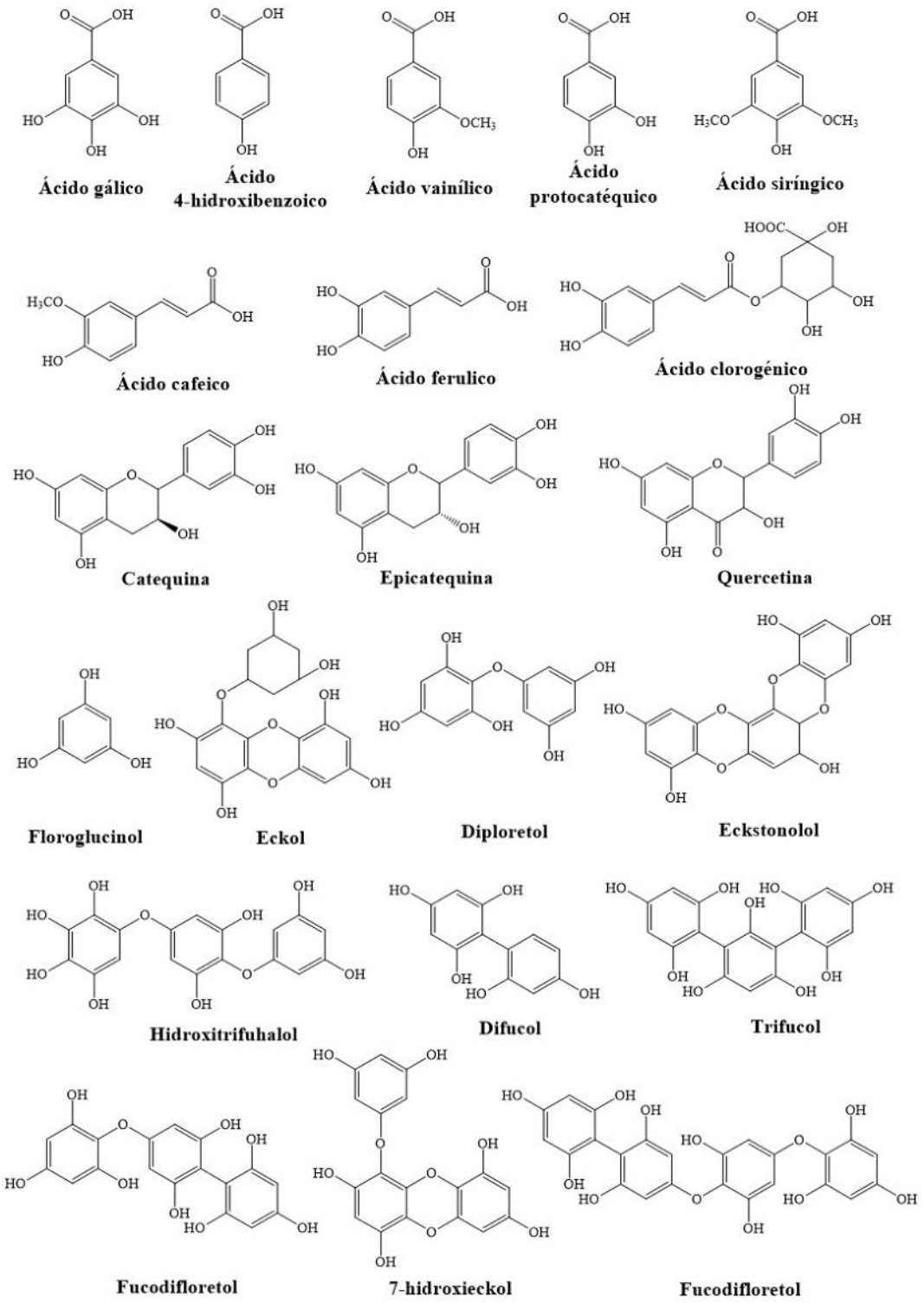
y composición química de nutrientes, pueden afectar el contenido de polifenoles (Beratto-Ramos et al., 2019; Pacheco et al., 2020; Park et al., 2023).

2.2.7. Polifenoles en Algas Pardas

Las algas pardas presentan un contenido fenólico y capacidad antioxidante predominante en comparación con las algas rojas y verdes (Keramane et al., 2023). La abundancia de florotaninos en las algas pardas es responsable de este fenómeno (Balboa et al., 2013). Los florotaninos están constituidos por polímeros de floroglucinol, también conocido como 1,3,5-trihidroxibenceno y son una extensa categoría de metabolitos secundarios marinos, se reconocen comúnmente por su papel defensivo contra herbívoros, al mismo tiempo que desempeñan funciones esenciales en la estructura y reproducción de la pared celular (Singh & Sidana, 2013). Los polifenoles hallados en las algas marinas pardas se clasifican en florotaninos (eckoles, carmaloles, fucoles, floretoles, fucofloretoles y fuhaloles), ácidos fenólicos simples, flavonoides y bromofenoles (Mateos et al., 2020). La Figura 4, muestra los principales polifenoles encontrados en algas pardas, conocidas por sus significativas propiedades antioxidantes y beneficios para la salud.

Figura 4

Principales compuestos fenólicos presentes en algas pardas



Nota. Adaptado de: (Generalić Mekinić et al., 2019)

Sanz-Pintos et al. (2017), identificaron ácidos hidroxibenzoicos (1,54 mg/g), ácidos hidroxicinámicos (0,31 mg/g) y flavonoles (0,7 mg/g) en extractos convencionales de *Macrocystis pyrifera.* Montero et al. (2016), encontraron polímeros de floroglucinol (fuhaloles, hidroxifuhaloles y floretales) en los extractos etanólicos de *Sargassum muticum.* Erpel et al. (2023) encontraron florotaninos de 2 a 21 unidades de floroglucinol (eckoles, carmaloles, isómeros fucoles/floretales/fucofloretólicos), ácidos fenólicos (ácidos hidroxicinámicos, ácidos hidroxibenzoicos y ácidos hidroxifenilpropanoico), flavonoides (flavonoles y catequinas), arbutina e hidroxibenzaldehídos en extractos purificados de algas pardas.

La determinación de compuestos análogos al floroglucinol sigue siendo un área de investigación carente de fundamentos sólidos, y la exploración de compuestos fenólicos específicos en algas pardas es limitada en la literatura científica (Generalić Mekinić et al., 2019).

Naczk & Shahidi, (2004) indican que la técnica de cuantificación de polifenoles mediante el método Folin Ciocalteu (análisis colorimétrico) tiene limitaciones atribuibles a la existencia de otros compuestos reductores no fenólicos en los extractos. La cromatografía líquida de alta resolución se utiliza para proporcionar datos sobre el contenido de compuestos fenólicos específicos, pues se usa para la separación, aislamiento, purificación, identificación y cuantificación (Generalić Mekinić et al., 2019).

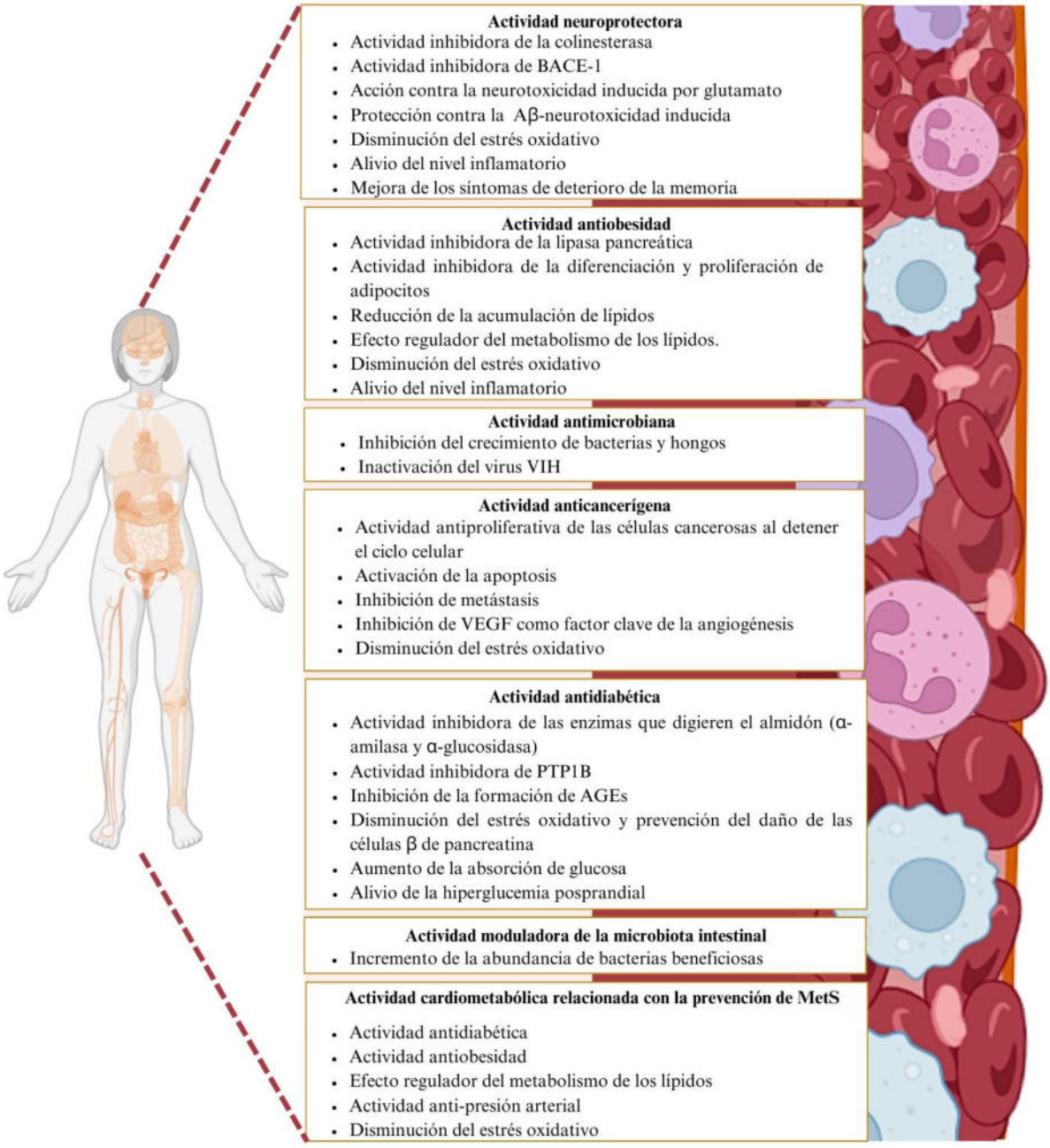
2.2.8. Aplicaciones y Perspectivas de los Polifenoles de Algas Marinas

Las enfermedades no transmisibles (cáncer, diabetes mellitus, enfermedades neurodegenerativas e inflamatorias) se generan debido a la presencia de radicales libres (especies reactivas de oxígeno (ROS)) en el organismo, que se forman por el consumo de alcohol, dieta no saludable, tabaquismo, inactividad física, radiación, contaminación, entre otros factores (Bayr, 2005). Estas enfermedades han sido causa del 74% del total de muertes a nivel mundial, siendo ~41 millones de muertes (World Health Organization, 2023). Los compuestos fenólicos de algas marinas se pueden utilizar como tratamiento para las enfermedades crónicas asociadas al estrés oxidativo,

reemplazando las drogas sintéticas que generan efectos secundarios y tienen precios elevados (Pradhan et al., 2020). Esta biomasa marina alberga una amplia gama de componentes beneficiosos, que abarcan polisacáridos, fibra dietética, carotenoides, vitaminas, minerales, carbohidratos, proteínas, lípidos, ácidos grasos esenciales, aminoácidos y polifenoles (Pradhan et al., 2020). Los polifenoles que se encuentran en las algas pardas, tales como los florotaninos, flavonoles, flavanoles, ácidos fenólicos, entre otros, muestran una variedad de propiedades beneficiosas para la salud (Pradhan et al., 2020). Los florotaninos han demostrado efectos anticarcinogénicos, antiinflamatorios y antioxidantes, ya que mejoran la actividad mitocondrial mediante la activación de enzimas específicas (Fletcher et al., 2017; Generalić Mekinić et al., 2019; Gheda et al., 2021; Meng et al., 2021; Pradhan et al., 2022). La Figura 5, que se presenta a continuación, muestra diversos beneficios bioactivos de los polifenoles en la salud humana, destacando su papel en la inhibición de enzimas, reducción del estrés oxidativo y mejora del metabolismo.

Figura 5

Propiedades bioactivas de los compuestos fenólicos marinos



Nota. Adaptado de: (Mateos et al., 2020)

Los polifenoles son muy solicitados en las industrias alimentaria, nutracéutica y farmacéutica (Pradhan et al., 2022). Esta tendencia es evidente en el mercado de los polifenoles, donde los precios están en constante aumento y el uso de algas para la

producción de estos compuestos es una fuente rentable (Research, 2021). Por lo tanto, resulta de vital importancia centrarse en el desarrollo de tecnologías sostenibles que permitan la extracción y purificación de polifenoles a partir de algas marinas.

2.2.9. Pretratamiento de la Muestra en la Extracción de Polifenoles

La extracción de los compuestos fenólicos está condicionada por su composición química, el tamaño de las partículas, el tiempo de almacenamiento y la presencia de sustancias interferentes como carbohidratos, azúcares y proteínas, entre otros factores (Naczk & Shahidi, 2004).

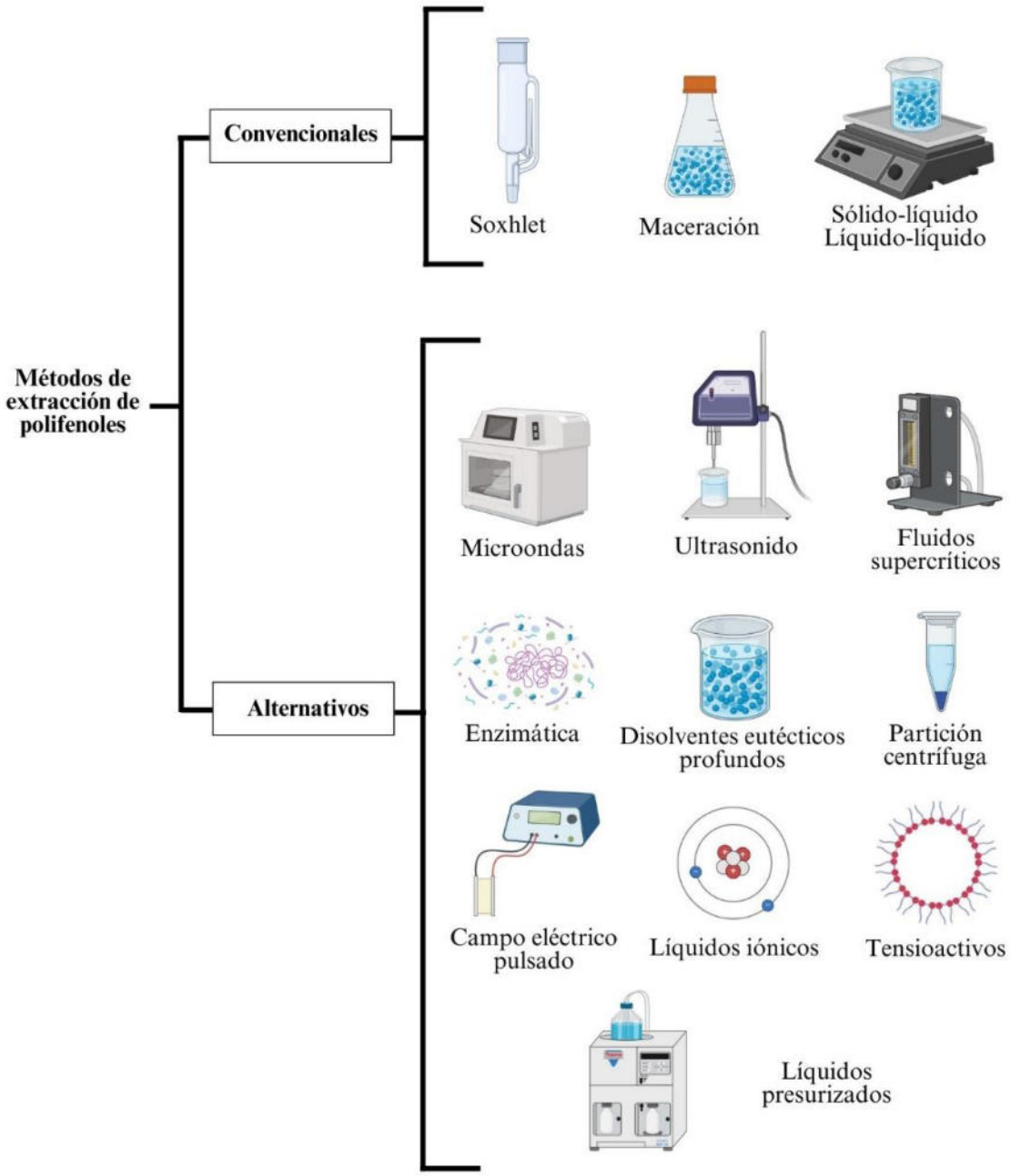
Los pretratamientos a la biomasa de algas se realizan previo a la extracción para favorecer la recuperación de los compuestos fenólicos (Michalak & Chojnacka, 2014). El liofilizado es la opción ideal para preservar las biomoléculas y obtener mayores rendimientos de extracción (Otero et al., 2019). El rendimiento de extracción aumenta cuando el tamaño de partícula es inferior, debido a que incrementa el área de exposición entre la biomasa y el solvente (Michalak & Chojnacka, 2014).

2.2.10. Extracción de Polifenoles por Diferentes Tecnologías

Los polifenoles se encuentran en las vacuolas celulares, las cuales están protegidas por paredes de celulosa, hemicelulosa, pectina y lignina (Braidot et al., 2008). El método de extracción empleado para su recuperación debe romper estas paredes para liberar estos compuestos (Gao et al., 2019). Los métodos de extracción, pueden clasificarse en dos categorías principales: los métodos convencionales o extracciones atmosféricas (P: 1 MPa) que operan a temperaturas por debajo de 80 °C, y los métodos alternativos que trabajan a diferentes temperaturas (60 – 250 °C) y presiones relativas subcríticas y supercríticas, entre 2 y 20 MPa, respectivamente (Ameer et al., 2017). Los métodos convencionales permiten recuperar solo los polifenoles de bajo peso molecular, los cuales no presentan las mejores propiedades bioactivas (Pérez-Jiménez et al., 2013). Las tecnologías alternativas son más eficientes en términos de energía y recuperación de compuestos fenólicos, que las tecnologías tradicionales (Figura 6) (Cotas et al., 2023).

Figura 6

Técnicas de extracción de polifenoles



Nota. Adaptado de: (Cotas et al., 2023)

En la actualidad, se ha observado un aumento significativo en el interés por utilizar técnicas de extracción que sean respetuosas con el medio ambiente y sostenibles (Huaman-Castilla et al., 2019).

a. Extracción Sólido-Líquido (ESL)

El proceso de ESL de compuestos fenólicos es el método más comúnmente utilizado que presenta diversas desventajas, pues conlleva mayor tiempo, lo que puede hacerlo menos eficiente en términos de producción, y utiliza grandes volúmenes de solventes tóxicos debido a su naturaleza orgánica, lo que representa un riesgo para la salud y el medio ambiente (Babbar et al., 2014; Do et al., 2014; Fontana et al., 2017).

Si bien diferentes solventes tales como acetona, metanol y hexano han dado buenos resultados en la recuperación de estos compuestos, son las características químicas de los polifenoles las que finalmente definen el solvente apropiado para su recuperación (Ameer et al., 2017; Galanakis et al., 2013). Por ejemplo, una extracción convencional a 20 °C con una solución de acetona al 65% es más eficiente para obtener flavanoles (Alberti et al., 2014). Mientras que una solución de metanol al 50% bajo las mismas condiciones de operación, es más eficiente para obtener flavonoles. Sin embargo, cuando la temperatura de esta mezcla se incrementa a 50 °C, la extracción es más selectiva para los estilbenos (Kwak et al., 2017). Por tanto, diversos factores afectan la eficacia de la extracción de polifenoles, incluyendo la polaridad del solvente, la temperatura, el tiempo de extracción y la estructura química de los compuestos (Bosso et al., 2016; Roselló-Soto et al., 2019).

Debido a las complicaciones con este método de extracción, el desarrollo de tecnologías verdes que permitan la recuperación de polifenoles a bajos costos de producción, aptos para consumo humano y amigables con el medio ambiente siguen siendo una tarea pendiente para la industria de alimentos y farmacéutica (Getachew et al., 2020).

b. Extracción por Líquidos Presurizados (ELP)

La extracción por líquidos presurizados (ELP) o extracción acelerada por solventes (ASE) se desarrolló como una técnica de extracción con agua subcrítica en 1994, una innovación destinada a extraer contaminantes orgánicos de muestras ambientales sólidas (Hawthorne et al., 1995). Un año después, *Dionex* lanzó el primer

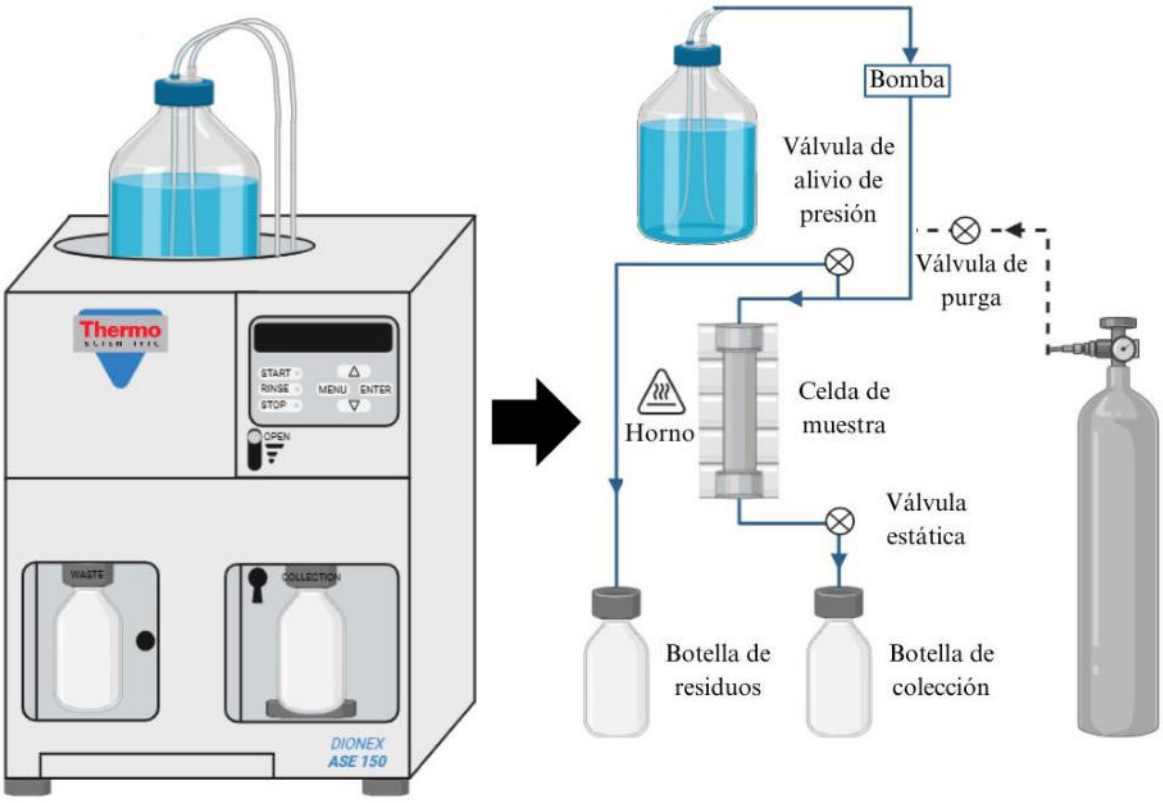
equipo que utilizaba esta tecnología de extracción, lo que presentó un avance significativo en el campo (Richter et al., 1996). En 1997, se empleó para recuperar taxanos del tejo japonés usando metanol como solvente (Kikuchi et al., 1997). Finalmente, en 2001, se realizó la primera extracción de compuestos fenólicos con la ELP a partir de pulpa y cáscara de manzana utilizando metanol (Alonso-Salces et al., 2001).

Actualmente es el método ecológico más eficiente para extraer una amplia gama de compuestos de plantas y algas es la ELP con solventes verdes (Zakaria & Kamal, 2016). Esta tecnología supera ampliamente las limitaciones de la extracción convencional, esto se evidencia en la aceleración de la extracción de polifenoles, reducción del uso de solventes y mejora del rendimiento en comparación con los métodos convencionales en un 200% y de extracción por ultrasonido en un 80% (Ameer et al., 2017; Plaza & Turner, 2015). La extracción por líquidos presurizados es ~271 y ~303 veces más productiva que la extracción por fluidos supercríticos y la extracción convencional, respectivamente (Anaëlle et al., 2013). Además, este método reduce significativamente el tiempo de extracción, el uso de disolventes, la materia prima, el consumo de energía y la generación de residuos, con una huella ecológica ~33 veces menor, una mayor recuperación de producto y ventajas económicas en términos de costos de extracción (Hirondart et al., 2020).

La ELP logra recuperar compuestos fenólicos extraíbles (bajo peso molecular) y no extraíbles (alto peso molecular), donde estos últimos son de mayor interés, pues poseen mejores propiedades bioactivas (Mariotti-Celis et al., 2018). Esto puede deberse a que bajo condiciones subcríticas se reduce notablemente la polaridad o constante dieléctrica de los solventes, lo que favorece las interacciones intermoleculares entre el solvente y los polifenoles (Plaza & Turner, 2015). La aplicación de altas presiones (~10 MPa) mantiene el solvente en estado líquido al equilibrar las fases líquida y gaseosa (Plaza & Turner, 2015). En la siguiente figura se observa como sucede este proceso.

Figura 7

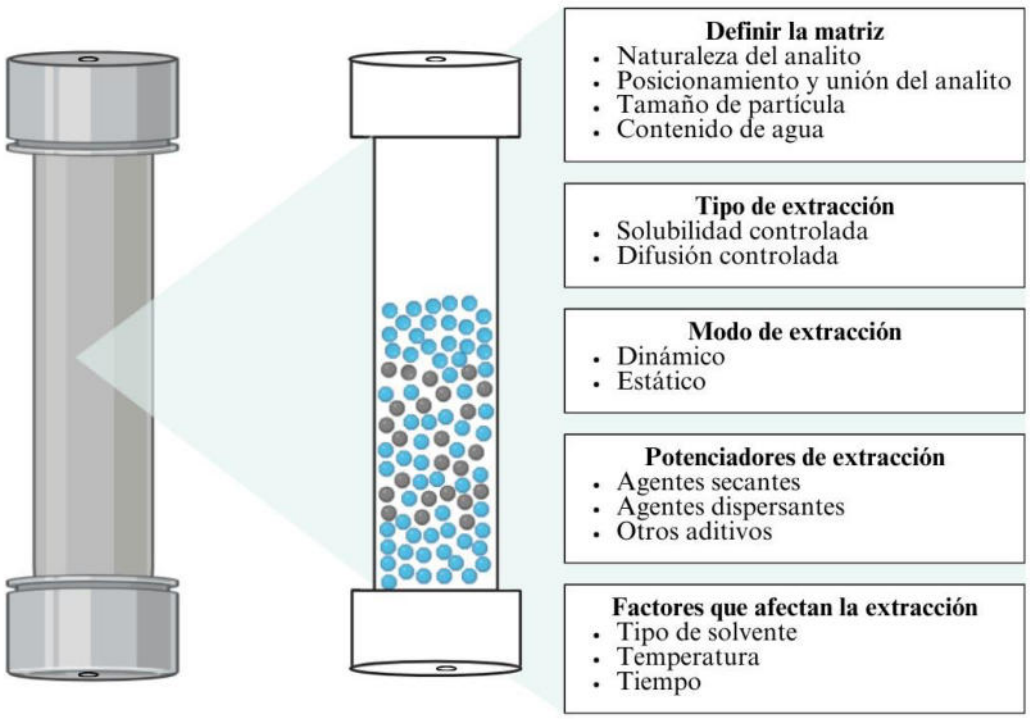
Proceso de Extracción por Líquidos Presurizados



La eficiencia de la extracción bajo presión se ve influenciada por diversas propiedades, tales como las características del solvente utilizado, la temperatura de extracción y la estructura química de los polifenoles (Huaman-Castilla et al., 2019; Nils Leander Huamán-Castilla et al., 2020). La homogenización y el pretratamiento de muestras mejoran la extracción al aumentar la superficie de contacto con el solvente, y el uso de agentes dispersantes como arena de cuarzo o tierra de diatomeas en la extracción con líquidos presurizados evita la compactación y optimiza el proceso (Barp et al., 2023). La siguiente figura muestra otros factores relevantes a considerar en un proceso de ELP.

Figura 8

Factores influyentes en el rendimiento de Extracción por Líquidos Presurizados



Nota. Adaptado de: (Mustafa & Turner, 2011)

La temperatura y solvente de extracción son los parámetros más influyentes en la extracción de compuestos polifenólicos bajo condiciones subcríticas (Herrero et al., 2013). El uso de mezclas de etanol/agua en la ELP de compuestos fenólicos de algas marinas se destaca como el método más eficaz, logrando niveles superiores de contenido de polifenoles totales y capacidad antioxidante (Otero et al., 2019). Según la Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos (FDA, 1997), el etanol es un solvente GRAS (Generalmente reconocido como seguro). Por lo tanto, el uso de estas mezclas es ampliamente estudiado (Tabla 3). En la Tabla 3 se observa que existe una amplia gama de concentraciones de compuestos fenólicos en diferentes especies de algas pardas.

Tabla 3

Extracción de polifenoles en algas pardas bajo condiciones subcríticas utilizando solventes verdes

Especie de alga parda	Temperatura (°C)	Solvente	Polifenoles Totales	Referencias
P. pavonica, C. mediterránea y H. scoparia	120	Etanol-agua 75%	29,26 – 49,82 mg EAG/g	(Keramane et al., 2023)
Durvillaea incurvata y *Lessonia spicata*	150	Glicerol-agua 15%	11,7 – 129 mg EFG/g	(Erpel et al., 2021)
Fucus vesiculosus	75 – 175	Etanol-agua 40%-100%	7,4 – 45,2 mg EAG/g	(Sumampouw et al., 2021)
Durvillea antártida y *Lessonia spicata*	120	Etanol-agua 50%	3,3 – 7,4 mg EAG/g	(Pacheco et al., 2020)
Laminaria ochroleuca	80 – 160	Etanol, Etanol-agua 50%	83 – 173,65 mg EAG/g	(Otero et al., 2019)
S. japonica	100 – 250	Agua	10,71 – 39,52 mg EFG/g	(Vo Dinh et al., 2018)
Gracilaria chilensis	100 – 200	Agua	0,048 – 10,17 mg EAG/g	(Sanz-Pintos et al., 2017)
Sargassum muticum	160	Etanol-agua 95%	58,19 – 148,97 mg EFG/g	(Montero et al., 2016)
Sargassum muticum	50 – 200	Etanol-agua 0%,	29,61 – 94,20 mg EAG/g	(Sánchez-Camargo et al., 2016)

		50% y 100%		
Saccharina longicruris, Ascophyllum nodosum y *Ulva lactuca*	50	Etanol	3,3 – 50,2 mg EAG/g	(Boisvert et al., 2015)
Sargassum muticum	120	Etanol-agua 75%, 25%	146,79 – 200,13 mg EFG/g	(Anaëlle et al., 2013)
Ascophyllum nodosum, Fucus vesiculosus y *Fucus serratus*	90 – 120	Agua, Etanol-agua 60% y 80%	20,5 – 114 mg EAG/g	(O'Sullivan et al., 2013)
Fucus serratus, Laminaria digitata y *Gracilaria gracilis*	100 – 120	Agua, Etanol-agua 80%	1,37 – 56,68 mg EAG/g	(Heffernan et al., 2014)
A. nodosum, P. canaliculata y *F. spiralis*	100 – 120	Agua y Etanol-agua 80%	40,07 – 124,30 mg EFG/g	(Tierney et al., 2013)
Sargassum vulgare, Sargassum muticum, Cystoseira abies-marina y *Undaria pinnatifida*	100 – 200	Agua	3,79 – 70,86 mg EAG/g	(Plaza et al., 2010)

El rendimiento de la ELP se ve influenciado por la temperatura y el solvente utilizado (Tabla 3). Las condiciones rigurosas durante la aplicación de ELP pueden dar lugar a la coextracción de compuestos indeseables, tales como azúcares reductores (Huaman-Castilla et al., 2019). El empleo de agua pura en la ELP ha sido objeto de amplios estudios para recuperar polifenoles, pero el uso de temperaturas extremas (≥ 120 °C) afecta considerablemente la composición química de los extractos debido a la hidrólisis de los polifenoles y la formación de compuestos tóxicos, como el hidroximetilfurfural (HMF) proveniente de las reacciones de Maillard (Mariotti-Celis et al., 2018).

El HMF se puede consumir en cantidades diarias de 30 a 150 mg, aunque su ingesta exacta varía debido a la complejidad del metabolismo humano. Esto dificulta establecer una ingesta diaria tolerable, y se han establecido diversos límites de HMF aceptables en alimentos. Estudios sugieren posibles riesgos genotóxicos, mutagénicos y cancerígenos asociados con el HMF (Anese & Suman, 2013; Lee et al., 2019; Plaza & Turner, 2015; ULBRICHT et al., 1984).

Los compuestos fenólicos son moléculas que tienen mayor afinidad por el etanol debido a interacciones intermoleculares, por ello, el uso de este cosolvente, permite no solo reducir la polaridad del solvente mejorando significativamente la recuperación de polifenoles, sino también reducen la recuperación de azúcares y la formación de HMF (Mariotti-Celis et al., 2018).

III. METODOLOGÍA

El presente estudio fue llevado a cabo en el Laboratorio de Tecnologías Sustentables para la Extracción de Compuestos de Alto Valor (TESECAV), en la Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial (EPIA) de la Universidad Nacional de Moquegua (UNAM). El análisis del perfil de compuestos antioxidantes se realizó en el TESECAV; mientras el análisis de azúcares e hidroximetilfurfural se realizó en el laboratorio de cromatografía líquida de la Universidad Nacional de Juliaca.

3.1. Tipo y Diseño

En el presente proyecto de investigación es del tipo experimental cuantitativo, donde se utilizó un esquema factorial completo con un 95% de confiabilidad, con la finalidad de evaluar variables experimentales tales como la temperatura y el solvente con el fin de analizar su efecto sobre la extracción de polifenoles y capacidad antioxidante presentes en las algas marinas pardas, así como la reducción de compuestos interferentes, tales como los azúcares reductores y el hidroximetilfurfural.

Tabla 4

Operacionalización de variables

Variables	Dimensiones	Niveles	Indicadores	Unidades	Métodos
Independiente	Solvente	0% 15% 30%	masa/masa	g/g	Gravimetría
	Temperatura	90 120 150	Temperatura	°C	Termómetro
Dependiente	Polifenoles totales		masa/masa	mg/g	Espectrofotometría UV-vis
	Capacidad antioxidante (DPPH)		masa/masa	mg/mL	Espectrofotometría UV-vis
	Capacidad antioxidante (ORAC)		masa/masa	µmol ET /g	Espectrofotometría de fluorescencia
	Perfil de polifenoles		masa/masa	mg/g	Cromatografía Líquida de Alta Resolución (UHPLC-DAD)
	Azúcares reductores		masa/masa	mg/g	Cromatografía Líquida de Alta Resolución (UHPLC)
	Hidroximetilfurfural		masa/masa	mg/g	Cromatografía Líquida de Alta Resolución (UHPLC)

3.2. Técnicas e Instrumentos para la Recolección de Datos

3.2.1. Materiales, Equipos y Reactivos

a. Materiales

- Botellas de PET color ámbar (250 y 500 mL)
- Columna AcclaimTM 120 (C18 5 µm 120 Å 4,6 x 150 mm)
- Columna Acquity BEH C18 (2,1 x 100 mm, 1,7 µm, Waters, Irlanda)
- Columna Luna® 5 µm NH2 100Å
- Embudos de vidrio
- Filtros de celulosa (0,45 µm)
- Filtros de nylon (0,22 µm)
- Fiolas (5, 10, 50, 250, 500, 1000 mL)
- Mallas de tamiz (300 y 500 µm)
- Matraces Erlenmeyer (50, 100 y 250 mL)
- Membrana de nylon (0,20 µm)
- Micropipetas (10, 50, 100 y 1000 µL)
- Papel aluminio (12 µm de espesor, calibre 35)
- Papel filtro (Whatman N°1 de 0,2 µm)
- Papel parafilm (127 µm de espesor)
- Placas de 96 pocillos (Transparentes y negras, capacidad de 400 µL)
- Pipetas de vidrio (1 y 10 mL)
- Probetas de vidrio (50, 100, 250 mL)
- Puntas de micropipetas (10, 100 µL y 1000 µL)
- Tubos Falcon (50 mL)
- Vasos de precipitados de vidrio (20, 50, 100, 250 mL)
- Viales de plástico (2 mL)
- Viales de vidrio (500 mL)
- Viales de cromatografía color ambar (1,5 mL)

b. Equipos

- Agitador termomagnético (Thermo Scientific, Cimarec)
- Balanza analítica (ENTRIS224-1S, Sartorius Lab Instruments GmbH & Co, KG, Goettingen, Alemania)
- Balanza gravimétrica (MX-50, H.W. Kessel)
- Baño maría digital (IsoLab, capacidad de 22 L)
- Centrífuga (Pro Hospital GP6)
- Cromatografía líquida de alta resolución (Thermo Scientific Dionex UltiMate 3000)
- Congeladora (Samsung, modelo Rh25h5613sg)
- Extractor de líquidos presurizados (DIONEX ASE 150, Thermo Scientific, USA)
- Espectrofotómetro UV-Vis (Genesys 150, Thermo Scientific, Madison, WI, USA)
- Lector de microplacas (Synergy/HTX, Biotek Instruments Inc, Winooski, VT, USA)
- Lector de microplacas (Fluoroskan)
- Licuadora industrial (Artisan, Kitchen aid)
- Purificador de agua tipo I (Smart2Pure3 UV/UF, Thermo Scientific)
- Rotavapor (Hei-vap Ultimate control, Heidolph, Alemania)
- Sistema de liofilización (Labconco, FreeZone 2.5 L, Thermo Fisher Scientific, MA, USA)
- Tamizador (Analysette 3 pro, Fritsch, Idar-Oberstein, Alemania)
- Vortex (MIX-30S, Eurotech)

c. Insumos y Reactivos

- Acetona (≥99,5% de pureza)
- Ácido acético (≥99,5% de pureza)
- Ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico Trolox (≥98% de pureza)

- Ácido gálico (≥97,5% de pureza)
- Ácido fórmico (≥90% de pureza)
- Acetonitrilo (≥99,5% de pureza, grado HPLC/GC)
- Agua destilada
- Agua Mili Q
- Arena de cuarzo (500 µm)
- 2,2'-Azinobis (2-amidinopropano) diclorhidrato (AAPH, ≥97% de pureza)
- Carbonato de sodio (≥99,5 % de pureza)
- 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH, ≥90% de pureza)
- Estándar de rutina (≥99,9 % de pureza, grado HPLC/GC)
- Estándar de quercitina (≥99,9 % de pureza, grado HPLC/GC)
- Estándar de catequina (≥99,9 % de pureza, grado HPLC/GC)
- Estándar de epicatequina (≥99,9 % de pureza, grado HPLC/GC)
- Estándar de procianidina A2 (≥99,9 % de pureza, grado HPLC/GC)
- Estándar de procianidina B2 (≥99,9 % de pureza, grado HPLC/GC)
- Estándar de ácido vanílico (≥99,9 % de pureza, grado HPLC/GC)
- Estándar de kaempferol (≥99,9 % de pureza, grado HPLC/GC)
- Etanol (≥99,5 % de pureza)
- Floroglucinol (≥99% de pureza)
- Fluoresceína (≥95% de pureza)
- Fosfato monopotásico (KH_2PO_4, ≥99,5% de pureza)
- Fosfato dipotásico (K_2HPO_4, ≥98% de pureza)
- Gas Nitrógeno (≥99,99% de pureza)
- Hexacianoferrato (II) potásico trihidratado ($K_4[Fe(CN)_6]$ x $_3H_2O$; ≥98,5 de pureza)
- Hidróxido de sodio (0,1 N)
- Metanol (≥99,9% de pureza, grado HPLC/GC)

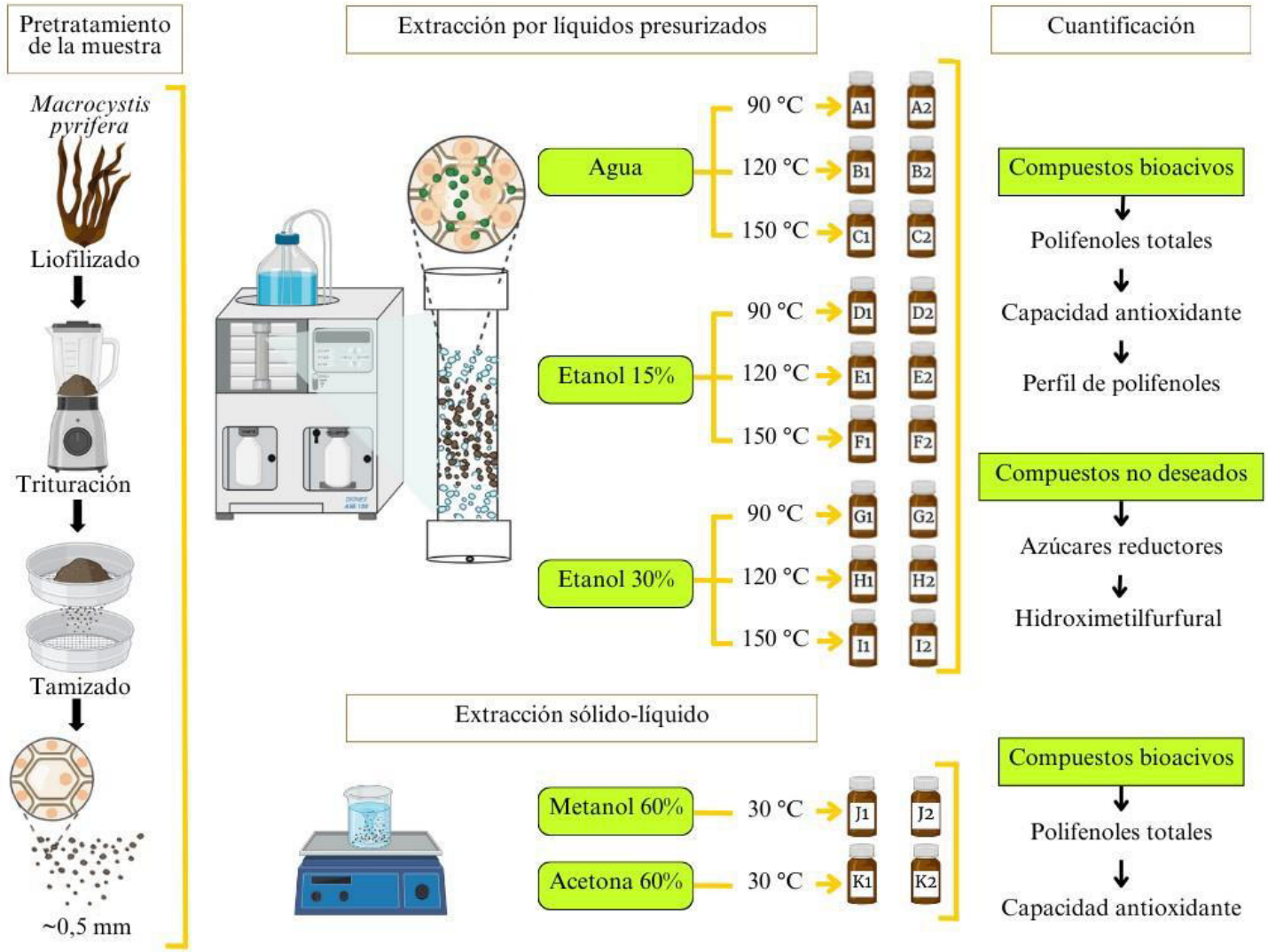
- Reactivo Fenol Folin Ciocalteu (2 N)
- Sulfato de zinc ($ZnSO_4$, ≥99.9% de pureza)
- Tartrato de sodio y potasio (≥99% de pureza)

3.3. Métodos y técnicas para la ejecución de la investigación

La Figura 9 ilustra el proceso de extracción de polifenoles de la macroalga parda *Macrocystis pyrifera* mediante la extracción por líquidos presurizados, detallando las etapas y procedimientos de la investigación.

Figura 9

Diagrama de proceso experimental



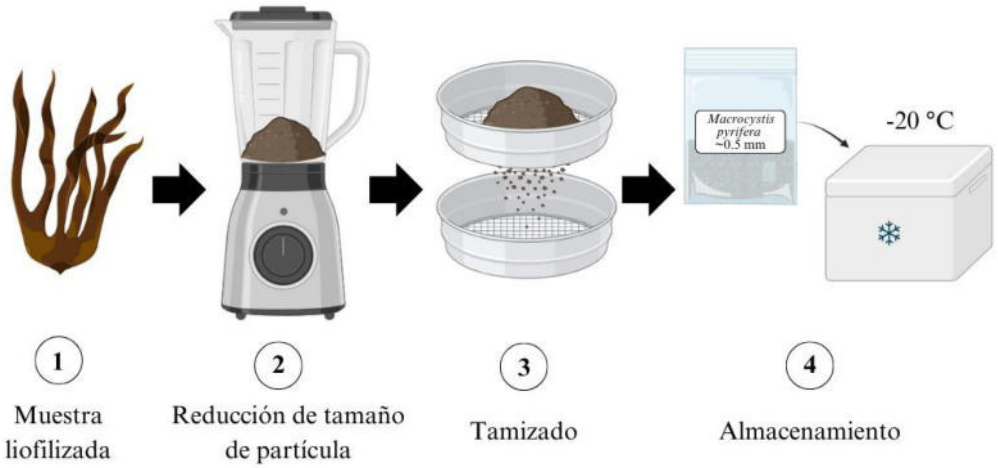
3.3.1. Pretratamiento de las Algas Pardas

Se siguió la metodología propuesta por Vilcanqui et al. (2021) para la recolección de algas marinas, con algunas modificaciones. En síntesis, se recolectaron ~10 kg de algas marinas pardas frescas de la Asociación de Algas Marinas "Las Brisas" en Ilo, región Moquegua. Estas muestras fueron colocadas inmediatamente en un *cooler* acondicionado a 10 °C con geles refrigerantes para su preservación y transporte a las instalaciones del TESECAV de la UNAM.

La Figura 10 representa esquemáticamente el proceso que se describe a continuación. Las muestras fueron sometidas a un proceso de lavado para eliminar impurezas, y luego como pretratamiento se liofilizaron y molieron. El proceso de liofilización se llevó a cabo en el laboratorio de ciencias básicas de la UNAM. Consistió en congelar las muestras a -35 °C dentro de una cámara, luego se sublimó el agua mediante una presión de vacío de 0,2 mm Hg y un condensador de frío. Las muestras liofilizadas fueron sometidas a una reducción de tamaño de partícula, posteriormente se tamizó para obtener partículas a un diámetro de ~0,5 mm. Después de acondicionarlas, se almacenaron a -20 °C y se protegieron de la luz para su análisis posterior.

Figura 10

Pretratamiento de la muestra



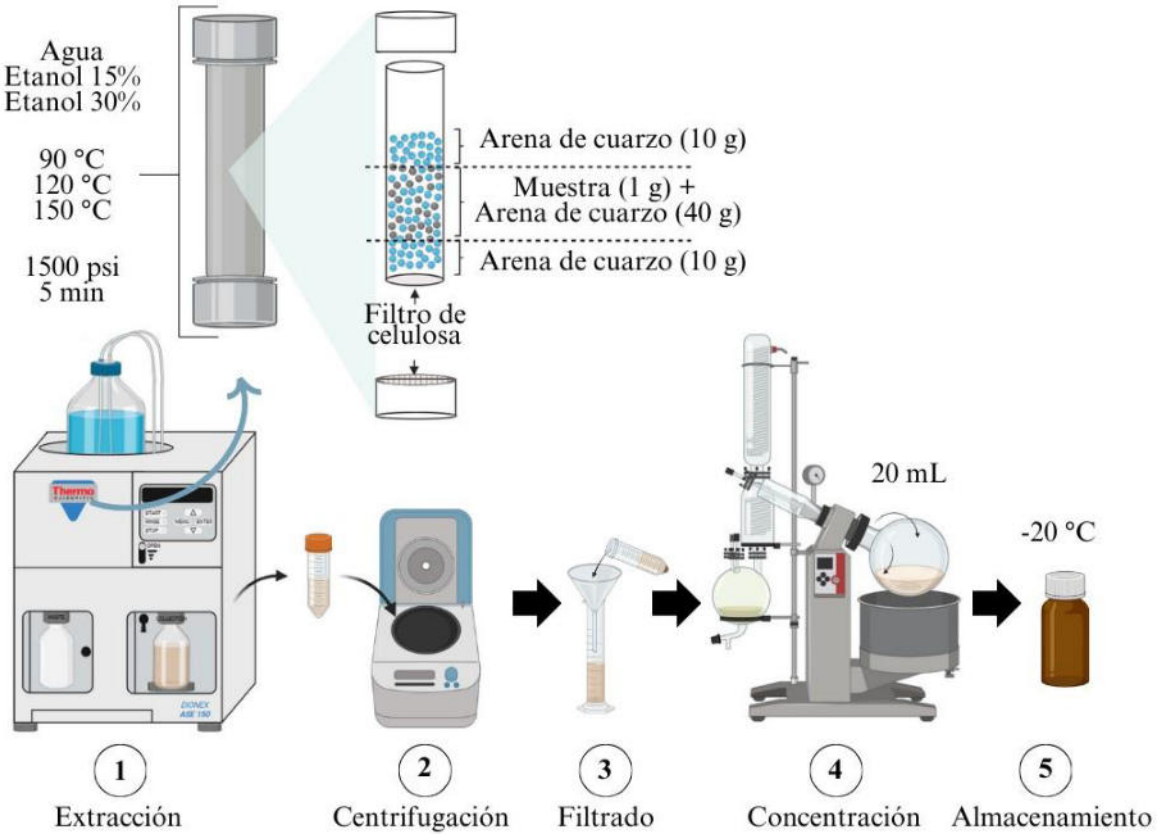
Nota. Adaptado de: (Vilcanqui et al., 2021)

3.3.2. Extracción por Líquidos Presurizados (ELP)

Los parámetros de proceso de extracción fueron definidos basándose en investigaciones previas reportadas por Huaman-Castilla et al. (2019). Se realizaron las extracciones a temperaturas de 90, 120 y 150 °C, con mezclas etanol/agua de 0%, 15% y 30%. Luego, la relación matriz:solvente fue establecida según estudios previos de Otero et al. (2019) y Montero et al. (2016), la cual fue establecida con una relación 1:20. El proceso establecido siguió la secuencia de la Figura 11. Primero, se colocó un filtro de celulosa de 0,45 μm dentro de la celda de extracción, luego se añadió 10 g de arena de cuarzo (~0,5 mm) como base, a esto se le adicionaron 1 g de alga parda (~0,5 mm) junto con 40 g de arena de cuarzo y en la parte superior 10 g de arena de cuarzo para dispersar la muestra. Segundo, mediante un tiempo de proceso estático de 5 min, presión de 1500 psi, volumen de lavado 10%, tiempo de purga de 250 s y un ciclo de extracción, se obtuvieron extractos ricos en polifenoles. Luego, los extractos fueron centrifugados a 4000 rpm durante 10 min y filtrados con papel Whatman N°1. Finalmente, se utilizó un Rotavapor Hei-Vap Ultimate Control, Heidolph en condiciones de 30 °C, 20 mbar y 260 rpm, para concentrar los extractos a 20 mL manteniendo la relación matriz:solvente, y estos se almacenaron en envases ámbar a -20 °C para sus posteriores análisis.

Figura 11

Proceso de extracción de polifenoles mediante líquidos presurizados



Nota. Adaptado de: (Huaman-Castilla et al., 2019; Montero et al., 2016; Otero et al., 2019)

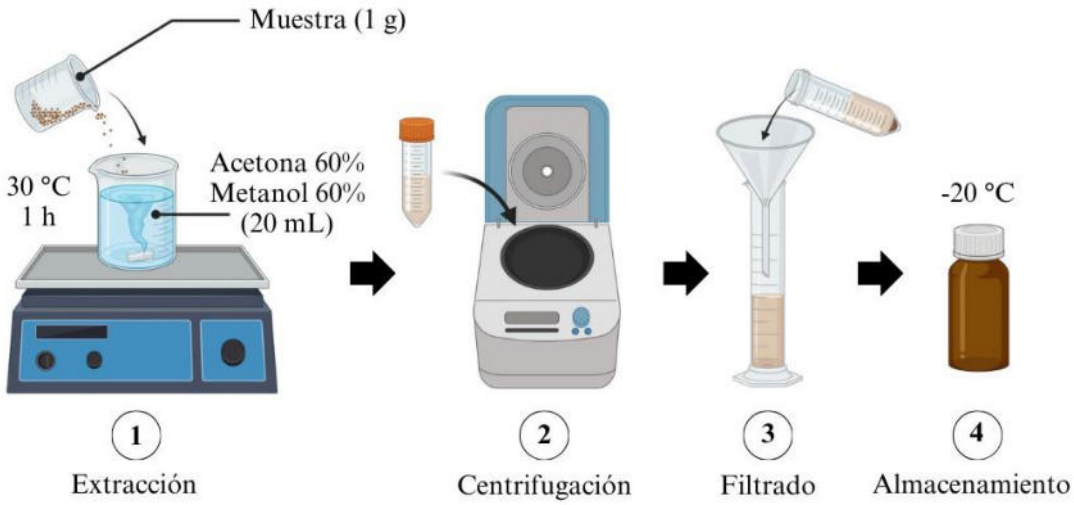
3.3.3. Extracción Sólido-Líquido (ESL)

Se trabajó con la metodología convencional (sólido-líquido) propuesta por Beratto-Ramos et al. (2019) con algunas modificaciones. En un vaso de precipitado se incorporó 1 g de alga parda (~0,5 mm) con 20 mL de acetona al 60 % (relación 1:20) y en otro vaso de precipitado se trabajó bajo las mismas condiciones, pero con metanol al 60%, ambos por duplicado. Las paredes de los vasos se cubrieron con papel aluminio para evitar cambios oxidativos por la luz, y la parte superior con parafilm para impedir la evaporación de los solventes. La solución se mantuvo en condiciones de agitación por 1 h a 400 rpm a 30 °C en un agitador termomagnético. Luego, se centrifugó a 4000

rpm durante 10 min y se filtró en una probeta de 25 mL utilizando un embudo de vidrio y papel filtro (Whatman N° 1), se aforó la probeta con el solvente utilizado en la extracción y por último se reservaron los extractos en un envase oscuro a bajas temperaturas (-20 °C) (Figura 12).

Figura 12

Proceso convencional de extracción de polifenoles



Nota. Adaptado de: (Beratto-Ramos et al., 2019)

3.3.4. Metodologías de Contenido de Polifenoles Totales (CPT)

a. Equivalente de Ácido Gálico (EAG)

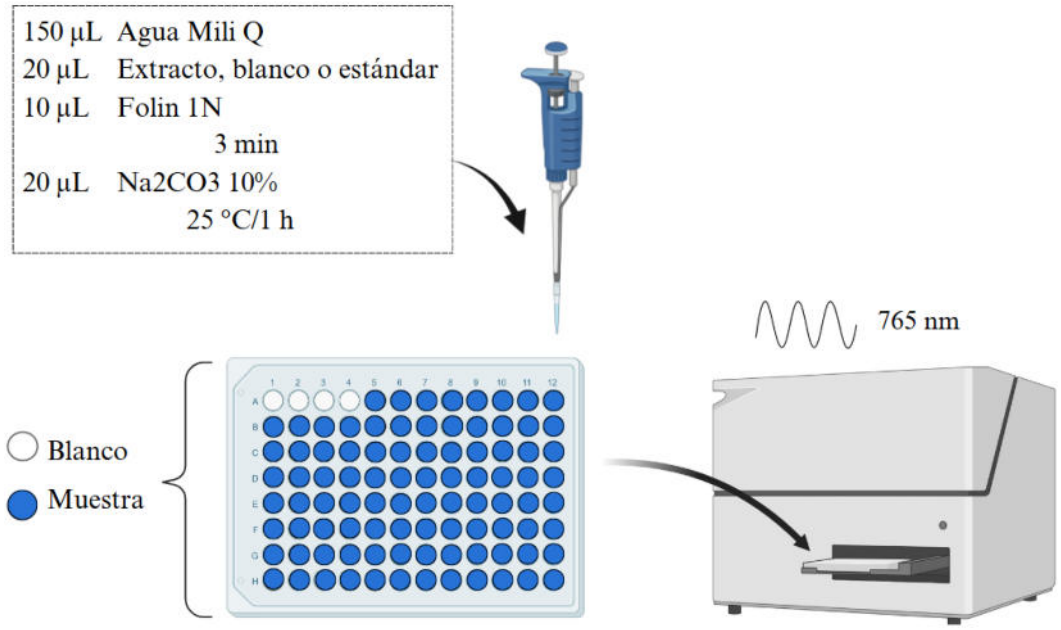
El CPT de los extractos crudos de algas pardas se determinó mediante el ensayo colorimétrico Folin-Ciocalteu, descrito por Otero et al. (2019), con algunas modificaciones. Inicialmente, la humedad fue determinada mediante el uso de una balanza gravimétrica para obtener los gbh (gramos en base húmeda) y gbs (gramos en base seca).

En microplacas de 96 pocillos se añadieron 150 µL de agua Mili Q, 20 µL de extracto (dilución 1/5), blanco (solvente) o estándar y 10 µL de reactivo Folin Ciocalteu al 1 N. Después de 3 min de reposo, se procedió a mezclar con 20 µL de una solución

de Na_2CO_3 al 10 % y se dejó reaccionar en la oscuridad a temperatura ambiente durante 1 h. La absorbancia se midió a 765 nm después del tiempo de reacción (Figura 13). Estos valores se utilizaron en la ecuación de la recta (y = 10,015x + 0,0096) calculada de la curva de calibración (20 – 80 µg/mL), despejando "x" y reemplazando "y" por la absorbancia obtenida, para obtener el resultado expresado en mg EAG/mL (Anexo 2). Los resultados fueron expresados en mg EAG por gbs (gramos en base seca) de alga parda.

Figura 13

Cuantificación de Polifenoles Totales equivalentes de ácido gálico



Nota. Adaptado de: (Otero et al., 2019)

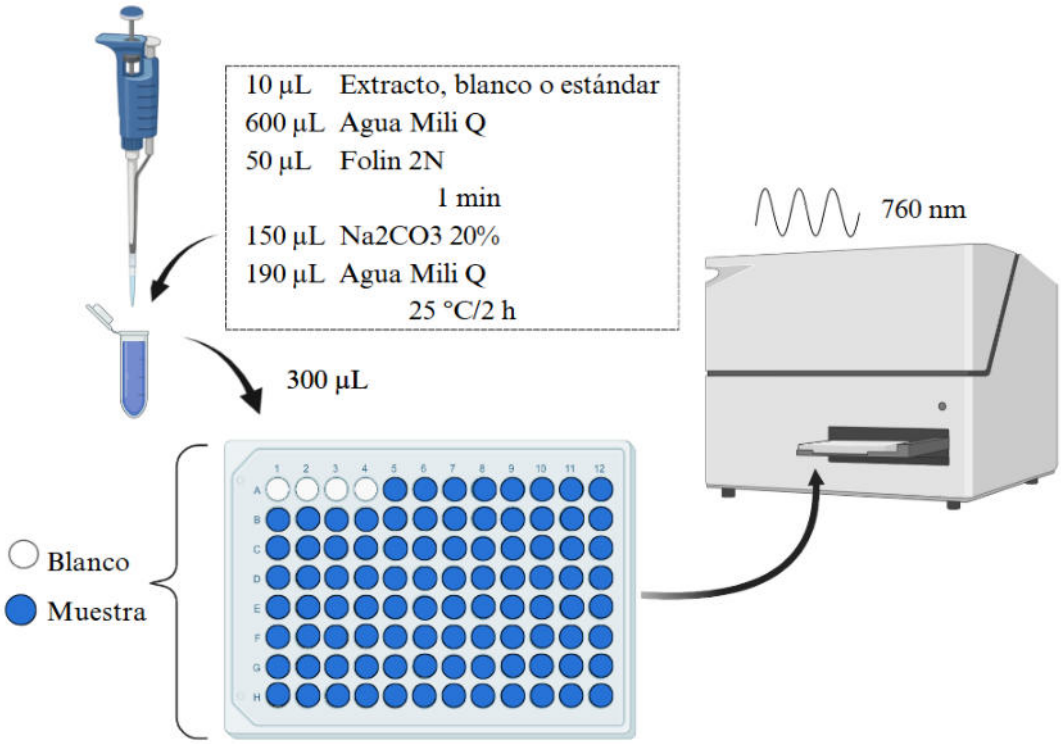
b. Equivalente de Floroglucinol (EFG)

Se siguió la metodología propuesta por Montero et al. (2016). En viales de 2 mL se incorporó 10 µL de extracto, blanco (solvente) o estándar con 600 µL de agua Mili Q y luego 50 µL de Folin al 2 N, esto se mezcló en un vortex a 30 rpm durante un min, posteriormente se agregaron 150 µL de Na_2CO_3 al 20% y 190 µL de agua Mili Q, esta mezcla fue homogenizada en el vortex y se almacenaron en oscuridad a 25 °C

durante 2 h. Terminado el tiempo se colocaron 300 µL de las mezclas en los pocillos de una microplaca y se midieron las absorbancias a 760 nm en un lector espectrofotómetro de microplacas (Figura 14). Se calculó el contenido total de polifenoles según la ecuación de la recta (y = 0,7844x + 0,0233) de la curva de calibración de floroglucinol (100 – 900 µg/mL) (Anexo 3). Para finalmente expresar los resultados en mg equivalente de floroglucinol en gbs (gramos en base seca).

Figura 14

Cuantificación de Polifenoles Totales equivalentes de floroglucinol



Nota. Adaptado de: (Montero et al., 2016)

3.3.5. Metodología de Capacidad Antioxidante por DPPH

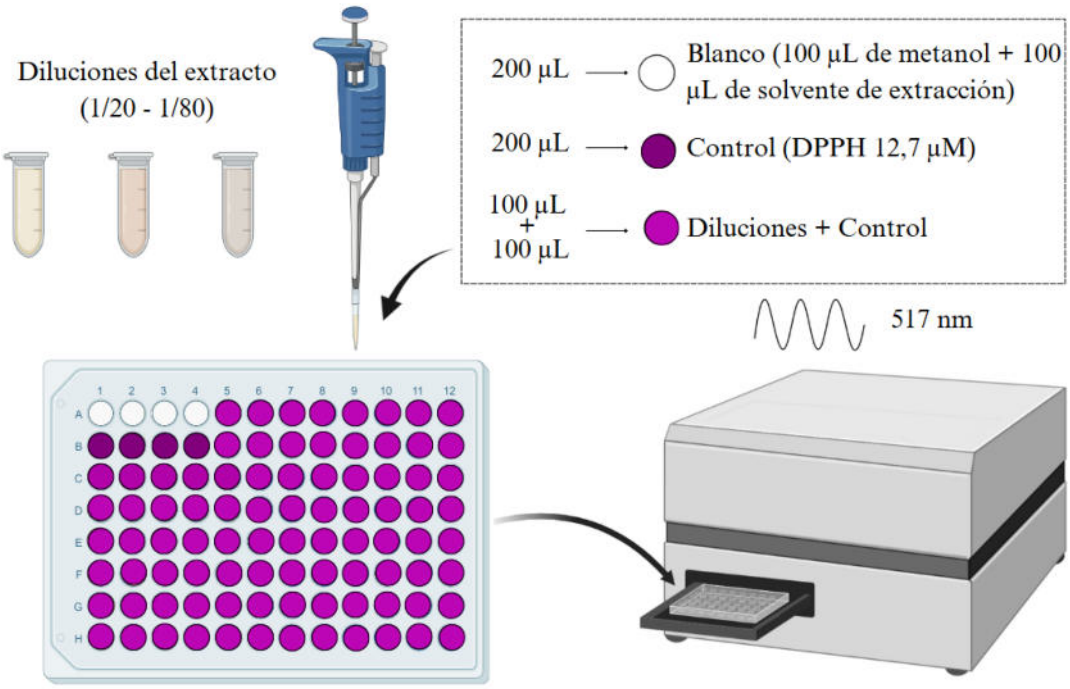
La capacidad antioxidante fue evaluada utilizando la metodología propuesta por Erpel et al. (2021). Se prepararon tres diluciones en metanol (1/20 – 1/80) con distintas concentraciones ([]) para cada extracto y en microplacas de 96 pocillos se añadieron 100 µL de las diluciones de extracto con 100 µL de solución DPPH (12,17 µM)

utilizando una micropipeta, luego se homogenizó la mezcla mediante agitación y se incubó a temperatura ambiente en oscuridad durante 30 min. Pasado el tiempo, se midió la reducción de DPPH a 517 nm en un lector de microplacas, utilizando como blanco metanol (100 µL) con el solvente de extracción de cada muestra (100 µL) y como control DPPH (200 µL) (Figura 15). Con estas absorbancias (Abs) se calculó el porcentaje de inhibición (%I).

Posteriormente se halló la ecuación de la recta (%I = a [] + b). Por último, se calculó la IC_{50} (mg/mL) que representa la concentración de extracto efectiva necesaria para inhibir el 50% de la actividad del radical DPPH con la ecuación de la recta hallada para cada extracto.

Figura 15

Análisis de capacidad antioxidante por el método 2,2-difenil-1-picrilhidracilo



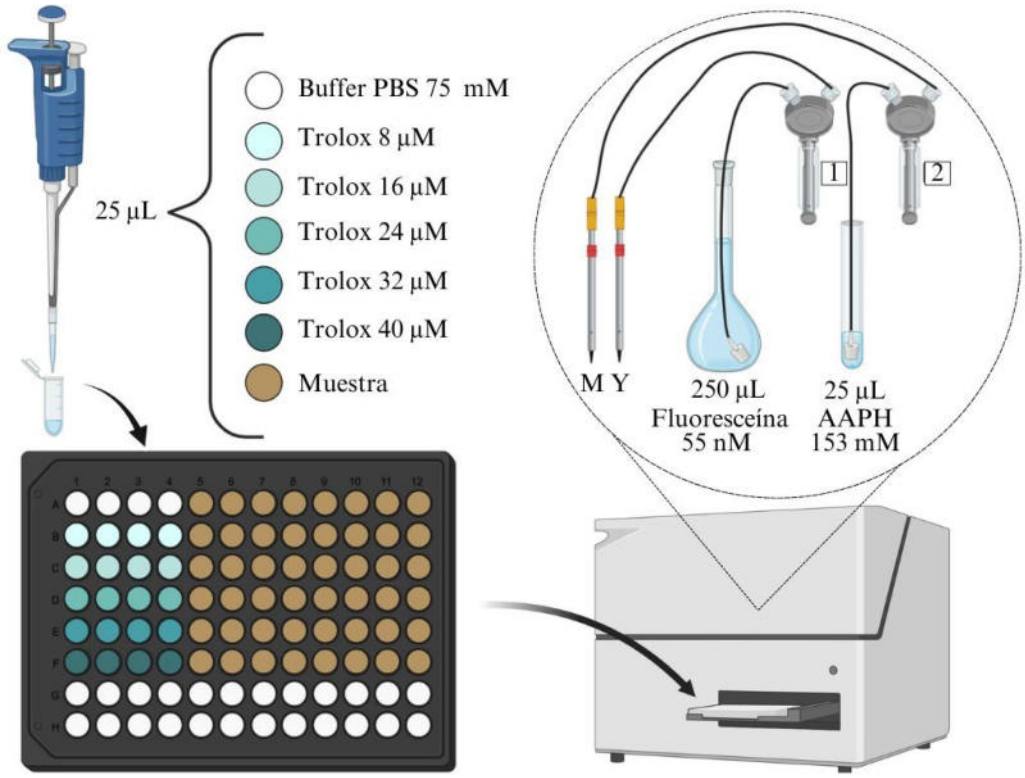
Nota. Adaptado de: (Erpel et al., 2021)

3.3.6. Metodología de Capacidad Antioxidante por ORAC

Los análisis ORAC (Capacidad de Absorción de Radicales de Oxígeno) de los extractos obtenidos se realizaron de acuerdo a la metodología propuesta por Chirinos et al. (2008). En resumen, se empleó el reactivo AAPH como generador de radicales peroxilo, trolox como estándar (curva de calibración) y fluoresceína como emisor de fluorescencia. Se preparó una solución Buffer Fosfato PBS (KH_2PO_4 y K_2HPO_4) a 75 mM y pH 7,4 disuelto en agua Mili Q. A partir del PBS se prepararon soluciones de fluoresceína (55 nM), AAPH (153 nM) y Trolox (0,0002 M). Posteriormente, se prepararon las diluciones de los extractos en PBS (1/120 – 1/300) y las diluciones para la curva de trolox (8 – 40 µM). En una microplaca negra de 96 pocillos se colocaron 25 µL de PBS, diluciones trolox y las muestras diluidas (Figura 16). La microplaca se colocó en el lector de microplacas, donde el dispensador 1 del equipo inyectó 250 µL de fluoresceína, luego, agitación continua a 600 rpm durante 10 s, y por último la incubó a 37 °C por 10 min e inició el bucle cinético durante 1 h, ejecutando lecturas cada min, mientras el dispensador 2 inyectaba 25 µL de AAPH. La medición de fluorescencia se realizó a 485 nm (λ: excitación) y a 520 nm (λ: emisión). Los resultados finales de ORAC se expresaron en µmol de equivalentes de Trolox por gbs (gramo de alga parda seca).

Figura 16

Protocolo de Capacidad de Absorción de Radicales de Oxígeno



Nota. Adaptado de: (Chirinos et al., 2008)

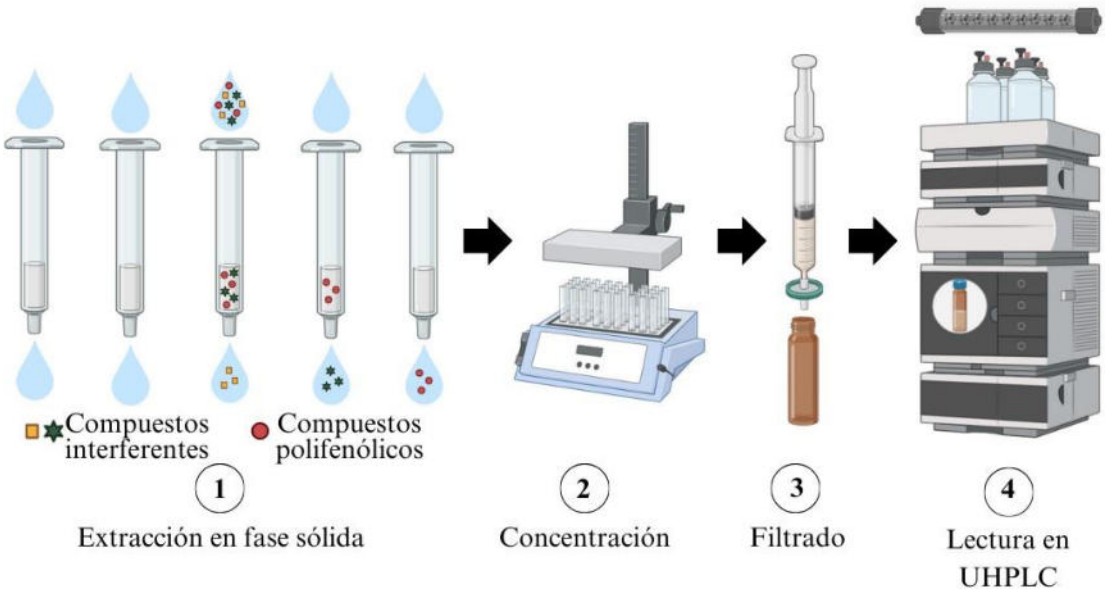
3.3.7. Metodología de Perfil de Polifenoles

La cuantificación y cualificación de polifenoles se llevó a cabo utilizando el método propuesto por Pantelić et al. (2016), en un cromatógrafo líquido de ultra alta eficiencia (UHPLC) (Thermo Scientific, Alemania) acoplado a un detector de arreglo de diodos (DAD). Previamente, los extractos de algas fueron sometidos a una extracción en fase sólida, donde primeramente se realizó el proceso de adsorción, para ello, se acondicionaron cartuchos Sep-Pak C18 (Waters) con 10 mL de metanol, sin dejar que sequen, se agregó 10 mL de agua Tipo I, y por último se agregó 10 mL del extracto de alga hasta sequedad del cartucho, posteriormente se realizó el proceso de elución utilizando 10 mL de metanol, el extracto purificado se retuvo en tubos de ensayo. Luego estos extractos fueron concentrados en un evaporador de nitrógeno, la

muestra fue reconstruida con 1 mL de metanol y filtrada con una jeringa adjunta a un filtro de disco de 0,22 µm y por último se almacenaron en viales ámbar. El UHPLC inyectó 1 µL de los extractos a una columna Acquity BEH C18 (2,1 x 100 mm, 1,7 µm, Waters, Irlanda), con un caudal de 0,3 mL/min a 30 °C. Los solventes utilizados para la fase móvil fueron filtrados al vacío con membrana de nylon a 0,22 µm. La fase móvil estuvo compuesta por una mezcla de agua Tipo I (A) y acetonitrilo (B), ambos con un 0,1% de ácido fórmico, se utilizó gradientes de elución: 95% A y 5% B - 0 min, 60% A y 40% B – 15 min, 95% A y 5% B – 18 min (Figura 17).

Figura 17

Metodología para perfil de polifenoles



Nota. Adaptado de: (Pantelić et al., 2016)

Para la construcción de las curvas de calibración (y = ax + b), se diluyeron previamente 8 diferentes estándares de polifenoles (0,3, 1, 3, 6, 10 y 20 µg/mL). Los polifenoles fueron encontrados en tres absorbancias (Tabla 5).

Tabla 5

Condiciones y curvas de calibración de los estándares de polifenoles identificados

Longitud de onda (nm)	Estándar	Tiempo de retención (min)	Ecuación	Valor R^2
270	Rutina	8,27	6,9222736x – 1,3509553	0,99246
	Quercitina	10,25	23,229769x – 0,0365795	0,99973
280	Catequina	5,35	26,1160516x – 1,5346848	0,99848
	Procianidina A2	9,25	58,2267201x + 4,3768068	0,99925
	Procianidina B2	5,97	17,8103735x – 2,7054959	0,99824
	Epicatequina	6,65	42,8519399x – 12,613358	0,99135
	Ácido vanílico	6,90	140,631819x – 10,732255	0,99945
373	Kaempferol	14,90	44,120036x – 1,4698735	0,99988

Es importante resaltar que hay una diversidad grande de polifenoles específicos y sólo se cuantificaron 8 debido a la variedad de estándares disponibles. Además, se consideraron algunos polifenoles mayoritarios en algas pardas descritos por Generalić Mekinić et al. (2019).

3.3.8. Metodología de Azúcares Reductores

Se cuantificó glucosa y fructosa siguiendo el procedimiento propuesto por Wilson et al. (1981). Primeramente, se realizó la filtración de los extractos de algas

pardas con una jeringa acoplada con un filtro de nylon de 0,22 μm, insertando las muestras en viales ámbar de 1,5 mL. El análisis se ejecutó utilizando un equipo de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) a 50 °C, equipado con un detector de índice de refracción (IR) a 35 °C. El equipo inyectó 1 μL de muestra pretratada a un flujo de 0,75 mL/min. La fase móvil consistió en una mezcla de Acetonitrilo/agua (75/25%), se trabajó en modalidad isocrática. La separación cromatográfica se llevó a cabo utilizando una columna Luna® 5 μm NH_2 100 Å. Las concentraciones se hallaron de acuerdo con las curvas de calibración (10 mg/mL – 50 mg/mL) de glucosa y fructosa.

3.3.9. Metodología de Hidroximetilfurfural (HMF)

Basado en Toker et al. (2013), la preparación de las muestras se llevaron a cabo utilizando una alícuota de 10 μL del extracto mezclada con 5 mL de agua destilada. Estas muestras se transfirieron a tubos falcon de 50 mL. Posteriormente, se agregó 1,5 mL de carrez I (15 g de K_4 Fe $(CN)_6]$ x $_3H_2O$ en 100 mL de agua) para eliminar los sólidos en suspensión, seguido de agitación. Luego, se añadieron 1,5 mL de carrez II (30 g de $ZnSO_4$ x $_7H_2O$ en 100 mL de agua). Las muestras fueron sometidas a una centrifugación a 6000 rpm y 25 ºC durante 15 min. Después, el líquido sobrenadante se filtró mediante una membrana de nylon de 0,22 μm. El sistema HPLC-DAD inyectó 10 μL de la muestra purificada a una velocidad de 1 mL/min a una columna AcclaimTM 120 (C18 5 μm 120 Å 4,6 x 150 mm). La fase móvil consistió en una mezcla de ácido acético (1%) y acetonitrilo (95% - 5%). El análisis de HMF se llevó a cabo evaluando el tiempo de retención a 284 nm en relación con un estándar puro. Los resultados se expresaron en μg/mL.

3.4. Análisis de Datos

Se realizaron 18 pruebas en un esquema factorial completo 3 * 3 con dos repeticiones, para evaluar el efecto de la temperatura (90, 120 y 150 °C) y el solvente (Etanol al 0%, 15% y 30%) sobre las variables respuesta (polifenoles totales, capacidad antioxidante, perfil de polifenoles, azúcares reductores e hidroximetilfurfural). Se utilizó un nivel de significancia de $p < 0,05$ para analizar las diferencias significativas

mediante un análisis de varianza (ANOVA) y se empleó una prueba de comparación Tukey al 95% de confiabilidad para realizar comparaciones múltiples entre los tratamientos y se estableció la mejor condición de proceso de extracción, para posteriormente ser comparada con dos tratamientos convencionales. Se realizó una correlación entre el contenido de polifenoles totales (equivalentes de floroglucinol (EFG) y equivalentes de ácido gálico (EAG)) y la capacidad antioxidante (IC_{50} y ORAC), para ello se utilizó regresión múltiple a un nivel de confianza del 95%, con dos repeticiones por tratamiento, obteniendo así la curva de regresión ajustada. Por último, se realizaron pruebas de normalidad de residuos por el método Shapiro Wilk y pruebas de igualdad de varianzas por el método Levene. Estos análisis se realizaron mediante el programa estadístico *Statgraphics Centurion*. Se utilizó el siguiente modelo factorial:

$$Y_{ij} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \alpha_i\beta_j + \varepsilon_{ij}$$

Estos representan:

$$Y_{ij} = Variable\ respuesta$$
$$\mu = Media$$
$$\alpha_i = Concentración\ de\ etanol$$
$$\beta_j = Variación\ de\ temperatura$$
$$\alpha_i\beta_j = Interacción\ del\ etanol\ con\ la\ temperatura$$
$$\varepsilon_{ij} = Error\ experimental$$

Tabla 6

Esquema del diseño experimental

Tratamiento	Factores de estudio		Variables respuesta				
	Etanol (%)	**Temperatura (°C)**	**Polifenoles totales**	**Capacidad antioxidante**	**Perfil de polifenoles**	**Azúcares reductores**	**Hidroximetilfurfural**
A	0	90					
B		120					
C		150					
D	15	90					
E		120					
F		150					
G	30	90					
H		120					
I		150					

IV. RESULTADOS Y DISCUSIONES

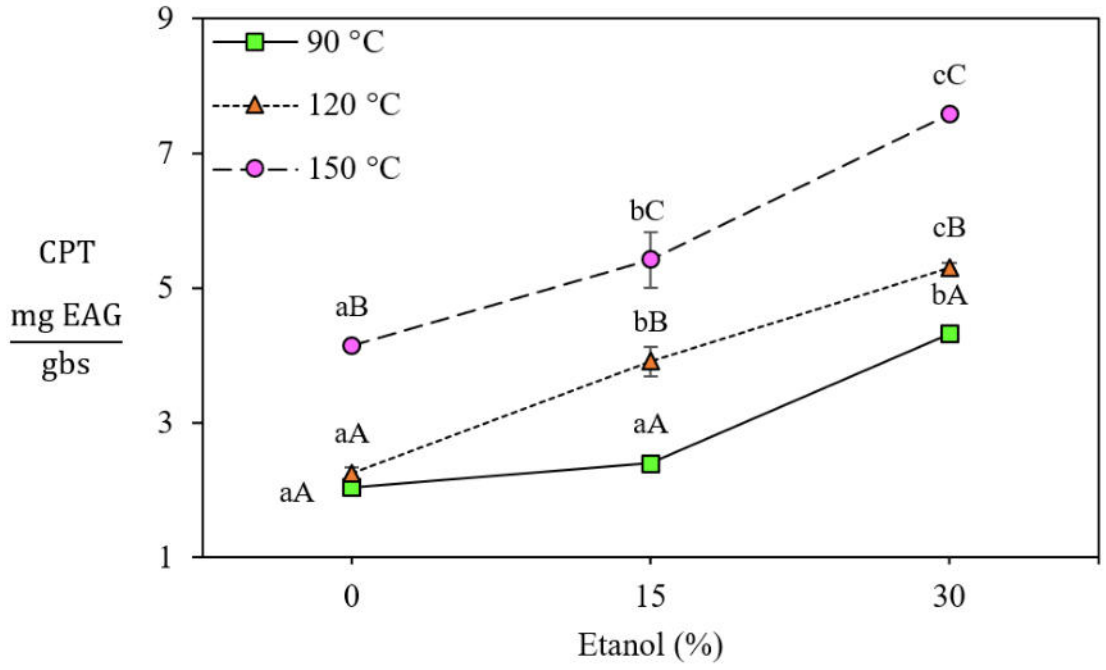
4.1. Efecto del Uso de Mezclas Agua-Etanol sobre el Contenido de Polifenoles Totales, Capacidad Antioxidante y Perfil de Polifenoles en los Extractos de *Macrocystis pyrifera*

4.1.1. Polifenoles Totales Equivalentes de Ácido Gálico

El uso de altas temperaturas y concentración de etanol tuvo un efecto positivo en la recuperación de polifenoles (Figura 18). Cuando el contenido de etanol incrementa de 0% a 30% en 90, 120 y 150 °C, la recuperación de polifenoles mejora en ~113%, ~135% y ~83%, respectivamente (Figura 18). Este efecto positivo del etanol bajo condiciones subcríticas fue reportado por Huaman-Castilla et al. (2019), quienes observaron que al incrementar la concentración de etanol de 15% a 50% en 90, 120 y 150 °C, mejoró la extracción de ácido gálico en ~388%, ~139% y ~110%, respectivamente.

Figura 18

Influencia de la temperatura y solvente sobre el contenido total de polifenoles equivalentes de ácido gálico



Nota. CPT: Contenido de polifenoles totales, gbs: gramos en base seca, EAG: Equivalentes de ácido gálico. Las letras minúsculas representan diferencias significativas entre concentración de etanol y las letras mayúsculas representan diferencias significativas entre las variaciones de temperatura. Las bandas representan la desviación estándar de cada tratamiento

Los resultados indican que tanto la concentración de etanol como la temperatura tienen un impacto significativo en la extracción de polifenoles, donde a medida que aumenta la concentración de etanol (0%, 15% y 30%), también lo hace la extracción, especialmente a 150 °C, donde las diferencias son más notables, pues se optimiza la extracción de polifenoles en todas las concentraciones de etanol (Figura 18). El etanol facilita la recuperación de polifenoles debido a su estructura química que permite interactuar tanto con las partes polares como no polares de los polifenoles, mejorando su extracción (Galanakis et al., 2013). Contrariamente, el agua solo interactúa con grupos polares, el etanol también puede disolver los grupos aromáticos de los polifenoles, mejorando su solubilidad (Huaman-Castilla et al., 2019).

El incremento de temperatura de 90 a 150 °C favoreció la recuperación de un mayor contenido de polifenoles (Figura 18). Este hallazgo es consistente con los resultados reportados por Vo Dinh et al. (2018), quienes observaron un incremento de ~5 veces en el contenido de ácido gálico a 150 °C en comparación con 100 °C bajo condiciones subcríticas. Sumampouw et al. (2021) también reportaron que un incremento en la temperatura de 110 a 140 °C permitió obtener ~6 veces más polifenoles. Asimismo, en la investigación de Bursać Kovačević et al. (2018), reportaron que variar la temperatura de 100 a 160 °C en la extracción por líquidos presurizados utilizando agua como solvente para la recuperación de polifenoles, es ~2 veces superior. Frohlich et al. (2023) extrajeron ~7% más contenido de polifenoles totales al incrementar la temperatura de 40 a 60 °C en extractos acuosos obtenidos por líquidos presurizados. Bajo condiciones subcríticas, las altas temperaturas permiten que el solvente permanezca en estado líquido y optimice sus propiedades físicas, facilitando la disrupción de enlaces de hidrógeno y aumentando la solubilidad de los polifenoles, lo cual mejora la eficiencia de la extracción (Huamán-Castilla et al., 2024).

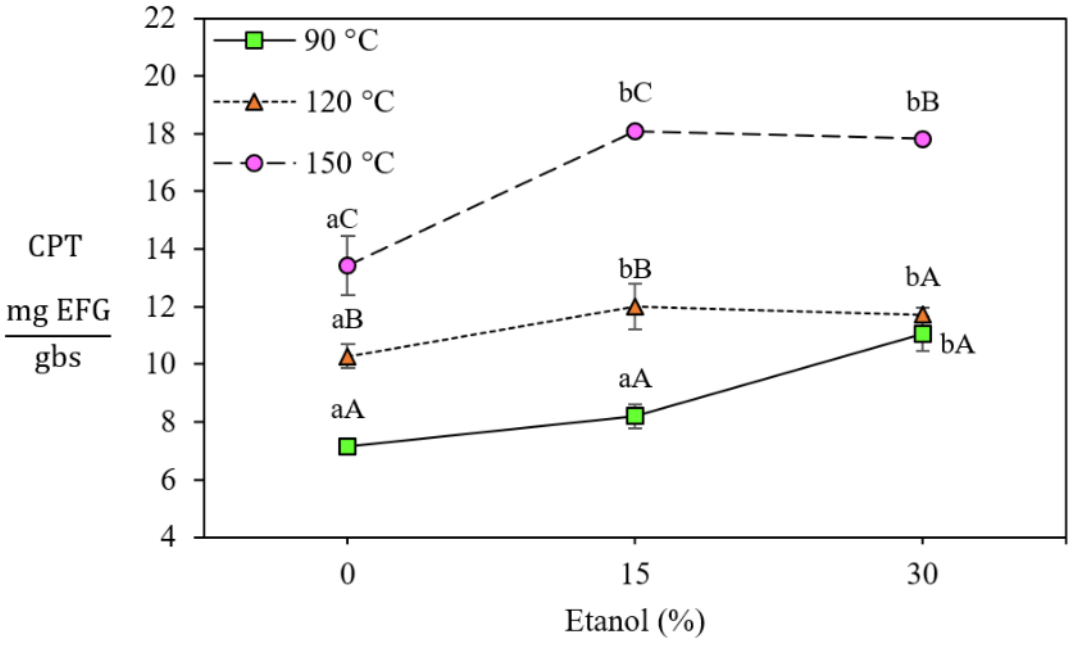
Según, Mustafa & Turner (2011), mencionaron que las altas temperaturas reducen la polaridad de las mezclas etanol-agua favoreciendo la solubilidad de los polifenoles.

4.1.2. Polifenoles Totales expresado como equivalentes de Floroglucinol

Si bien, el contenido de polifenoles puede expresarse en función de ácido gálico como compuesto mayoritario en diversas matrices vegetales, el caso de las algas pardas es particular debido a su alto contenido de floroglucinol (Generalić Mekinić et al., 2019). Por ello, es también conveniente en el caso de las algas marinas expresar el valor del contenido de polifenoles como acido gálico y floroglucinol. De acuerdo con los resultados, el contenido fenólico total expresado como equivalentes de floroglucinol en los extractos de algas pardas es superior en ~138% a los valores expresados como equivalente de ácido gálico (Figura 18 y Figura 19). Generalić Mekinić et al. (2019) mencionaron que la composición fenólica de las algas pardas se deriva principalmente de florotaninos (polímeros de floroglucinol), mientras que en las plantas terrestres el polifenol mayoritario es el ácido gálico.

Figura 19

Influencia de la temperatura y solvente en la concentración de polifenoles equivalentes de floroglucinol



Nota. CPT: Contenido de polifenoles totales, EFG: Equivalentes de floroglucinol, gbs: gramos en base seca. Las letras minúsculas representan diferencias significativas entre concentración de etanol y las letras mayúsculas representan diferencias significativas entre las variaciones de temperatura. Las bandas representan la desviación estándar de cada tratamiento.

La especie de algas pardas *Macrocystis pyrifera* presenta un alto valor de compuestos fenólicos, siendo la mejor condición de extracción el uso de etanol al 15% a 150 °C, que presenta ~154% más contenido de floroglucinol en comparación con el uso de agua pura a 90 °C (Figura 19). Heffernan et al. (2015) encontraron que el uso de etanol (80%) mejoró ~3 veces la extracción polifenoles en comparación con el agua pura bajo las mismas condiciones. Sánchez-Camargo et al. (2016), observaron que al utilizar una mezcla de agua- etanol al 50% en lugar de agua pura y etanol al 100% bajo condiciones subcríticas, se logra un mejor rendimiento de extracción. De manera similar, Carvalho et al. (2024) reportaron que el uso de etanol al 50% permite una mayor recuperación de compuestos fenólicos que cuando se usa etanol al 100%, siendo ~162%, ~85% y ~19% superior cuando se extraen estos compuestos por ELP a 60, 85 y 110 °C, respectivamente. El etanol es un buen cosolvente para la extracción de polifenoles, debido a su capacidad para reducir la polaridad del disolvente y aumentar su capacidad para formar enlaces de hidrógeno (Jessop et al., 2012). El etanol puede desnaturalizar proteínas y otros componentes estructurales de las algas, como polisacáridos y mucílagos, debilitando las paredes celulares y facilitando la liberación de estos compuestos, sin embargo, concentraciones altas de etanol pueden alterar la polaridad del solvente, formando complejos con los compuestos internos que podrían reducir la eficacia de la extracción al dificultar su disolución (Bordoloi & Goosen, 2020).

Por otro lado, el incremento de temperatura de 90 a 150 °C en los extractos con 0%, 15% y 30% de etanol, mejoró en 1,88, 2,20, 1,61 veces más contenido de polifenoles, respectivamente (Figura 19). Bajo condiciones subcríticas el incremento de temperatura reduce su constante dieléctrica de los solventes, permitiendo extraer compuestos orgánicos (Getachew et al., 2020). Además, el incremento de temperatura

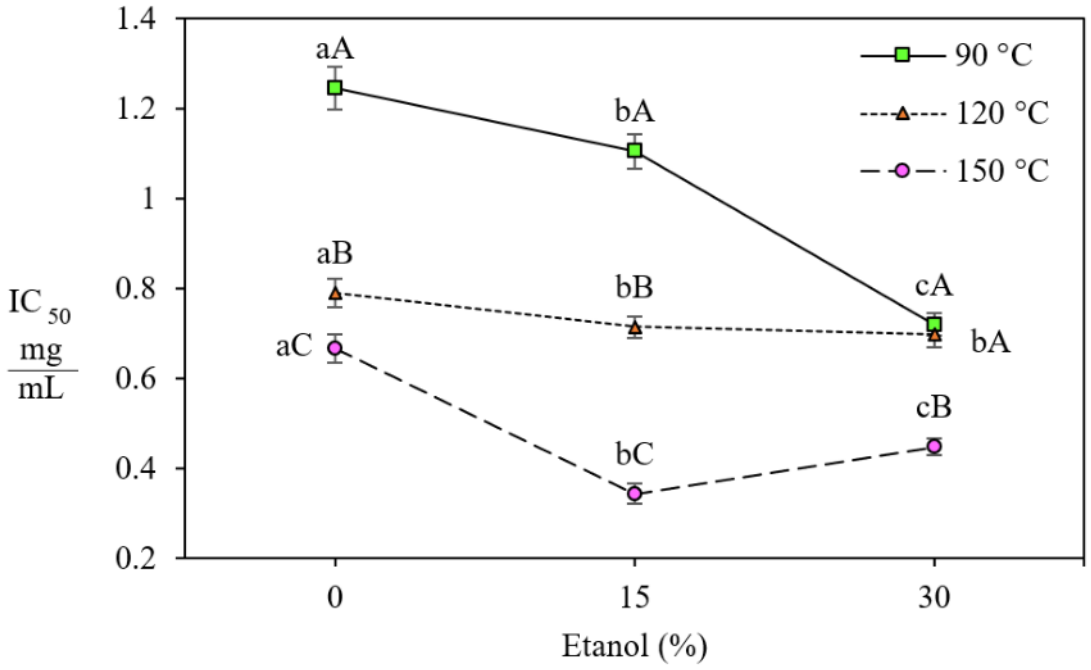
rompe la estructura celular de la matriz vegetal y mejora la interacción entre el solvente y los polifenoles, esto mediante la reducción de la viscosidad del solvente lo cual permite una mejor difusión y contacto (Huamán-Castilla et al., 2024).

4.1.3. Capacidad Antioxidante por el Método DPPH

Todos los extractos obtenidos a partir de la especie de alga parda *Macrocystis pyrifera* han demostrado su capacidad antioxidante para reducir el 50% de la actividad del radical DPPH, destacando su efectividad antioxidante y su potencial aplicación en diversos campos (Figura 20).

Figura 20

Influencia de la temperatura y solvente en la capacidad de absorción de radicales libres



Nota. IC_{50}: Concentración inhibitoria media. Las letras minúsculas representan diferencias significativas entre concentración de etanol y las letras mayúsculas representan diferencias significativas entre las variaciones de temperatura. Las bandas representan la desviación estándar de cada tratamiento.

Cuando la temperatura varía de 90 a 150 °C en los extractos de etanol al 0%, 15% y 30%, el valor de IC_{50} incrementa en ~87%, ~226% y 60%, respectivamente (Figura 20). Similarmente, Huamán-Castilla et al. (2021) reportaron un incremento de ~191% y ~142% en la capacidad antioxidante cuando variaron la temperatura de 90 a 150 °C bajo condiciones subcríticas utilizando agua y etanol al 15%, respectivamente. Otra investigación realizada por Getachew et al. (2022), encontraron que los extractos acuosos por ELP a 120 °C mostraron una actividad antioxidante inferior en comparación con los extractos acuosos por ELP a 160 °C, reportando valores IC_{50} de 0,23 y 0,14 mg/mL, respectivamente. Frohlich et al. (2023) observaron que al incrementar la temperatura de 40 a 60 °C bajo condiciones subcríticas, la capacidad antioxidante es mayor en ~22%. Allcca-Alca et al. (2021) obtuvieron que variar la temperatura de 100 °C a 160 °C utilizando etanol al 20% y 60% tiene un impacto positivo en la cantidad de extracto necesario para inhibir el radical DPPH, siendo 1,64 y 1,91 veces inferior. El incremento de temperatura facilita la extracción al reducir las interacciones intermoleculares entre el analito y la matriz, como las fuerzas de van der Waals, los enlaces de hidrógeno y las interacciones dipolo-dipolo, mejorando así la liberación de compuestos antioxidantes (Mariotti-Celis et al., 2017).

El incremento en el contenido de etanol de 0% a 30% favoreció la extracción de compuestos antioxidantes en ~74%, ~13% y ~49% para 90, 120 y 150 °C, respectivamente (Figura 20). Similarmente, Huamán-Castilla et al. (2021), reportaron un incremento de ~132%, ~204% y ~178% en la capacidad antioxidante cuando aumentaron el contenido de etanol de 0% a 15% en extracciones por líquidos presurizados bajo condiciones de 90, 120 y 150 °C, respectivamente. Allcca-Alca et al. (2021), hallaron valores IC_{50} superiores en 2,83% en extractos con 60% de etanol en comparación con extractos con 20% de etanol a 100 °C bajo condiciones subcríticas.

Se obtuvo una mayor capacidad antioxidante a una temperatura de 150 °C y utilizando etanol al 15%, mostrando diferencias significativas sobre los demás tratamientos (Figura 20). Al respecto, Otero et al. (2019) encontraron que utilizar mayores concentraciones de etanol disminuye la extracción de compuestos antioxidantes en algas pardas, sin embargo, el uso de mezclas agua-etanol favorece una

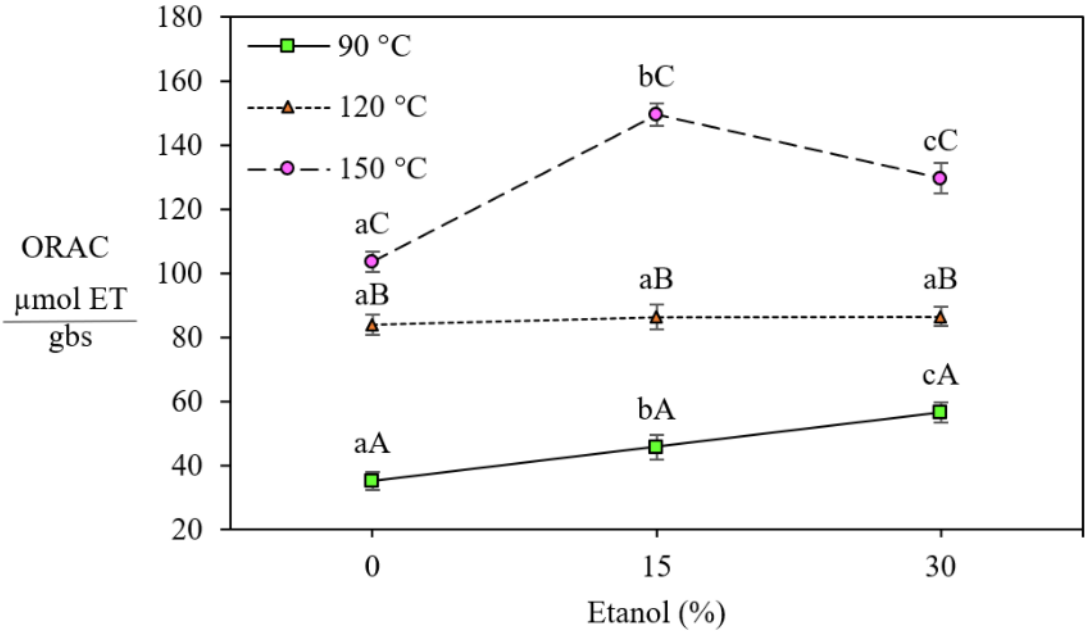
mayor extracción de estos compuestos. Esto se podría explicar ya que los florotaninos (compuestos mayoritarios en algas pardas) son compuestos que se disuelven mejor en agua (Golshany et al., 2024). Por lo tanto, incrementar la concentración de etanol por encima del 15% en la extracción de estos compuestos podría limitar la solubilidad y la eficiencia de extracción. Además, es importante resaltar que las diversas investigaciones sobre extracción de polifenoles en algas pardas utilizando la técnica de extracción por líquidos presurizados con mezclas agua-etanol, han buscado maximizar la extracción sin considerar la posterior purificación (Tabla 3). Utilizar concentraciones de etanol superiores al 15% afecta significativamente en la recuperación de polifenoles en los extractos purificados (Mariotti-Celis et al., 2018).

4.1.4. Capacidad antioxidante por el método ORAC

El incremento en el contenido de etanol y temperatura mejoraron la capacidad antioxidante de los extractos obtenidos a partir *Macrocystis pyrifera* (Figura 21). Bajo condiciones subcríticas, los valores ORAC de capacidad antioxidante mejoraron en ~194%, ~227% y ~129% cuando la temperatura incrementó de 90 a 150 °C para concentraciones de etanol del 0%, 15% y 30%, respectivamente (Figura 21).

Figura 21

Influencia de la temperatura y solvente en la capacidad de absorción de radicales libres de oxígeno



Nota. ORAC: Capacidad de Absorción de Radicales Oxígeno, ET: Equivalente trolox, gbs: gramos en base seca. Las letras minúsculas representan diferencias significativas entre concentración de etanol y las letras mayúsculas representan diferencias significativas entre las variaciones de temperatura. Las bandas representan la desviación estándar de cada tratamiento.

Se observan diferencias significativas al variar la temperatura de 90 a 150 °C (Figura 21). Plaza et al. (2010), reportaron un incremento en ~34, ~5, ~5 y ~4 veces los valores ORAC al incrementar la temperatura de extracción de 100 a 200 °C en los extractos acuosos de *Undaria pinnatifida, Sargassum muticum, Cystoseira abies-marina* y *Sargassum vulgare*, respectivamente. El aumento de la temperatura mejora la cinética de extracción, acelerando la transferencia de antioxidantes desde la matriz vegetal al solvente, debido a que las moléculas tienen más energía y se mueven más rápido, permitiendo extraer más antioxidantes en menos tiempo (Mariotti-Celis et al., 2018).

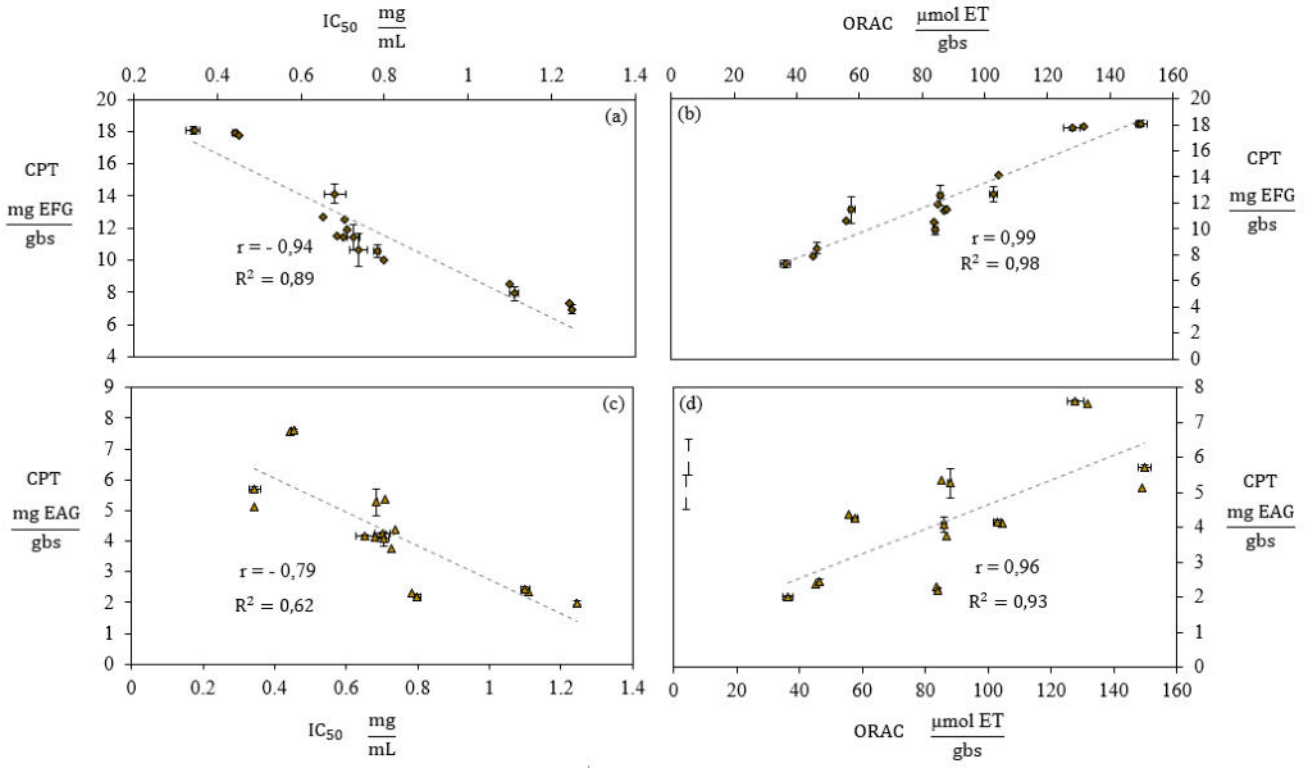
Erpel et al. (2021) reportaron valores ORAC similares a los encontrados en este estudio, que van desde 126 hasta 740 µmol ET/g en extractos con glicerol al 15% de las especies *D. antarctica* y *L. Spicata*. Pacheco et al. (2020), extrajeron los compuestos fenólicos de las mismas especies, utilizando etanol al 50%, encontrando rangos de 448,3 a 680,1 µmol ET/g. Ambos estudios demuestran la variación en la capacidad antioxidante en las mismas especies de algas pardas, que fueron sometidas a distintos factores de extracción (temperatura y solvente).

4.1.5. Correlación entre el Contenido de Polifenoles Totales y la Capacidad Antioxidante de los Extractos de Algas Pardas

Existe una correlación positiva entre el contenido de polifenoles totales y la capacidad antioxidante (Figura 22). Consecuentemente, cuanto mayor es el contenido de polifenoles, mayor es la capacidad antioxidante de los extractos.

Figura 22

Correlación de polifenoles totales equivalentes de floroglucinol con la capacidad antioxidante (a, b) y correlación de polifenoles totales equivalentes de ácido gálico con la capacidad antioxidante (c,d)



Nota. EFG: Equivalente de Floroglucinol, EAG: Equivalente de Ácido Gálico, ORAC: Capacidad de absorción de Radicales de Oxígeno, IC50: Capacidad inhibitoria media, gbs: gramos en base seca, r: coeficiente de correlación. Las bandas representan la desviación estándar. El símbolo de – indica la dirección.

Correlaciones similares fueron reportados por Erpel et al. (2021) quienes obtuvieron correlaciones de 0,96 y 0,97 entre IC_{50} y ORAC versus el contenido de polifenoles totales, respectivamente. Beratto-Ramos et al. (2019), sugieren a los polifenoles como los principales contribuyentes a la capacidad antioxidante de los extractos de *Macrocystis pyrifera*, debido a una correlación positiva significativa entre ambos. Tierney et al. (2013) sugieren que la elevada capacidad antioxidante se debe principalmente a la presencia de polifenoles (florotaninos), pues encontraron una fuerte correlación entre ambos (0,79). Asimismo, Vo Dinh et al. (2018), obtuvieron altos coeficientes de correlación en sus extractos acuosos (0,92 – 0,96). Al respecto, Jacobsen et al. (2019) indican que la presencia de compuestos fenólicos en las algas marinas es el principal factor que respaldan la actividad antioxidante.

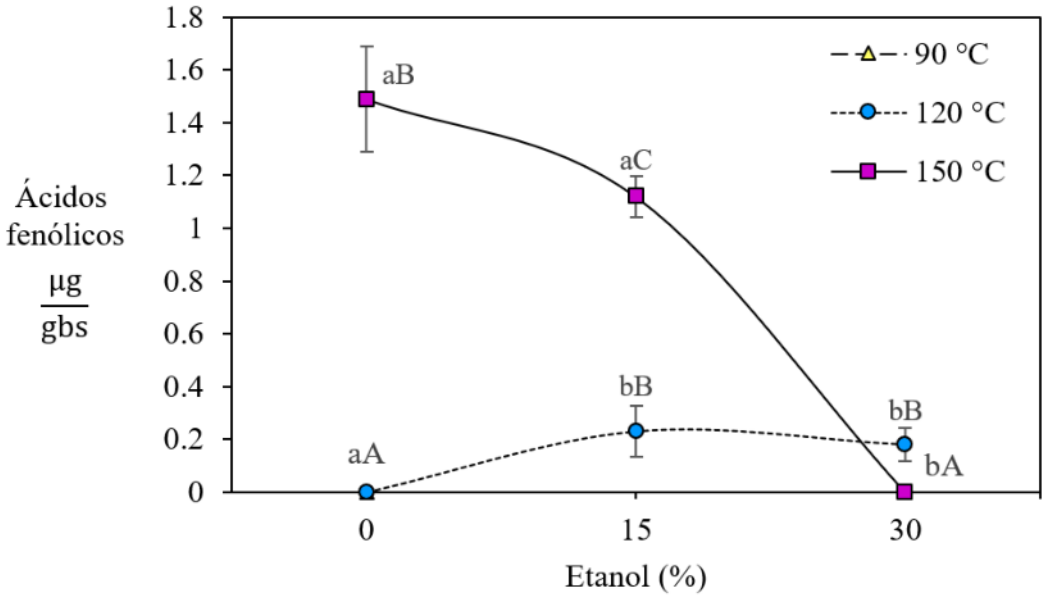
4.1.6. Perfil de Polifenoles

a. Ácidos Fenólicos

Interesantemente, la capacidad para extraer ácidos fenólicos experimentó una pérdida de ~33% cuando la concentración de etanol incrementó de 0% a 15% con 150 °C; mientras hubo una pérdida de ~28% cuando la concentración de etanol incrementó de 15% a 30% con 120 °C (Figura 23). Similarmente, Huaman-Castilla et al. (2019) observaron este comportamiento en la recuperación de ácido clorogénico, donde al variar la concentración de etanol de 15% a 50% combinado con 90, 120 y 150 °C, el contenido de este compuesto específico disminuyó en ~305%, 200% y ~92%, respectivamente. Asimismo, Sai-Ut et al. (2023) observaron que una concentración de etanol entre 41% y 53% combinada con temperaturas de extracción entre 51 y 58°C maximiza la eficiencia de extracción, sin embargo, a temperaturas y concentraciones de etanol superiores bajo condiciones atmosféricas, algunos ácidos fenólicos, pueden comenzar a degradarse, lo que disminuye su cantidad en el extracto. Los ácidos fenólicos debido a su baja polaridad necesitan solventes con menor polarizabilidad para ser extraídos de manera efectiva, y el agua como solvente reduce su polaridad al incrementar la temperatura (Huamán-Castilla et al., 2020).

Figura 23

Efecto de las mezclas agua-etanol en la recuperación de ácidos fenólicos



Nota. gbs: gramos en base seca. Las letras minúsculas representan diferencias significativas entre concentración de etanol y las letras mayúsculas representan diferencias significativas entre las variaciones de temperatura. Las bandas representan la desviación estándar de cada tratamiento

El ácido vanílico no se detecta a 90 °C, este se detecta a partir de 120 °C, porque la temperatura aumenta su solubilidad, además se observa un comportamiento contrario al comparar la temperatura de 120 y 150 °C, donde a 150 °C se obtiene más ácido vanílico utilizando agua, sugiriendo que a altas temperaturas su disolución se facilita en medio acuoso (Figura 23). Esto debido a que el agua a altas temperaturas maximiza sus propiedades de extracción al disminuir su polaridad y viscosidad, facilitando la extracción de compuestos polares y no polares (Vo Dinh et al., 2018). Si bien Sabeena Farvin & Jacobsen (2013) mencionaron al ácido vanílico como uno de los compuestos mayoritarios en diversas especies de algas pardas en un rango de 0,2 a 2,2 mg/g. De acuerdo con los resultados, el uso de altas temperaturas (>120°C) permitió la detección de este compuesto fenólico en concentraciones de 0,23 µg/g (Anexo 6). De manera similar, Huaman-Castilla et al. (2019) mencionan que, el uso de temperaturas mayores

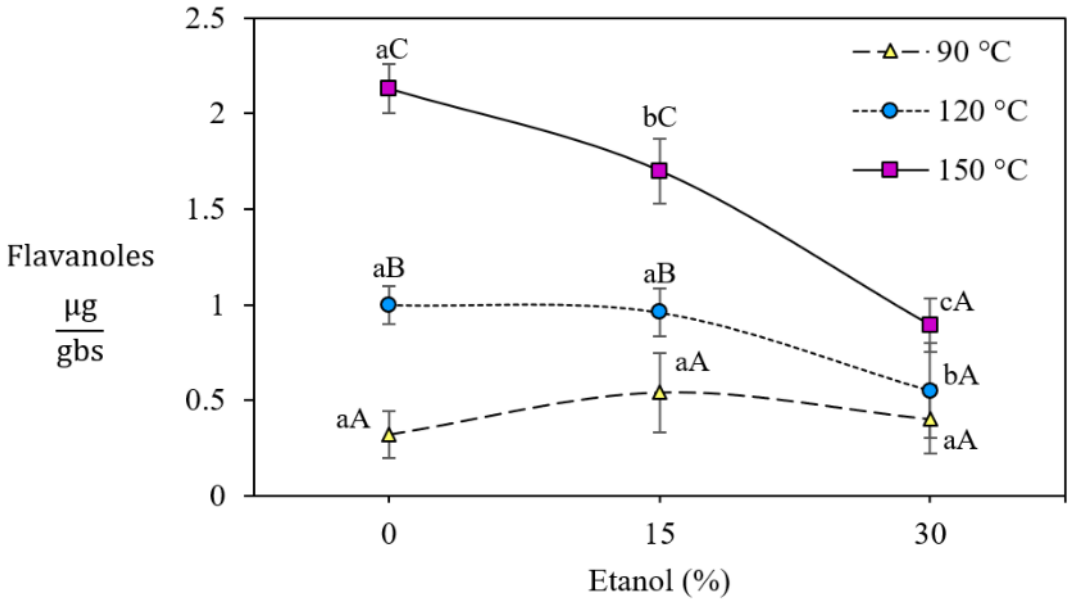
a 90 °C permiten la extracción de estos compuestos en orujo de uva. Vo Dinh et al. (2018) identificaron que al incrementar la temperatura de extracción bajo condiciones subcríticas con agua de 100 a 225 °C permitió recuperar ~1280% mayor contenido de ácidos fenólicos. Probablemente, la estructura del tejido de las algas al presentar altas concentraciones de polímeros (alginatos y carrageninas) dificultan la extracción de estos compuestos, consecuentemente una mayor temperatura de proceso es necesaria para hidrolizar estos polímeros (Getachew et al., 2022; Saji et al., 2022).

b. Flavanoles

A medida que se incrementó la temperatura de extracción de 90 a 150 °C la recuperación de flavanoles mejoró ~7, ~3 y ~2 veces para los extractos con etanol-agua al 0%, 15% y 30%, respectivamente (Figura 24). Huaman-Castilla et al. (2019) reportaron un incremento al variar la temperatura de 90 a 150 °C con valores de ~26, ~12 y ~13 veces superiores para extractos con etanol a 15%, 32,5% y 50%, respectivamente. Okiyama et al. (2018) encontraron que al incrementar la temperatura de 60 a 90 °C en los extractos etanólicos por líquidos presurizados, el contenido de catequina, epicatequina y procianidina B2 incrementa ~268%, ~95% y ~66%, respectivamente. Bajo condiciones subcríticas, las altas temperaturas reducen la polaridad del solvente de extracción, consecuentemente la habilidad del etanol para interactuar con los grupos aromáticos de los polifenoles incrementa (Jessop et al., 2012; Lu et al., 2002).

Figura 24

Efecto de las mezclas agua-etanol en la recuperación de flavanoles



Nota. gbs: gramos en base seca. Las letras minúsculas representan diferencias significativas entre concentración de etanol y las letras mayúsculas representan diferencias significativas entre las variaciones de temperatura. Las bandas representan la desviación estándar de cada tratamiento

Interesantemente, catequina fue el compuesto mayoritario presente en esta alga parda, donde se observó un incremento de recuperación de ~11, ~6 y ~4 veces cuando la temperatura varió de 90 a 150 °C para los extractos de etanol al 0%, 15% y 30%, respectivamente (Anexo 6). Huamán-Castilla et al. (2021) reportaron que, el incremento de 90 a 150 °C favoreció la extracción de catequina en 4,85 y 5,41 veces con etanol al 0% y 15%, respectivamente. El incremento de temperatura mejora la solubilidad y tasa de difusión, reduce la viscosidad y tensión superficial del solvente; consecuentemente, facilita la ruptura de la matriz vegetal, permitiendo la liberación eficiente de estos compuestos (Huamán-Castilla et al., 2021; Jessop et al., 2012).

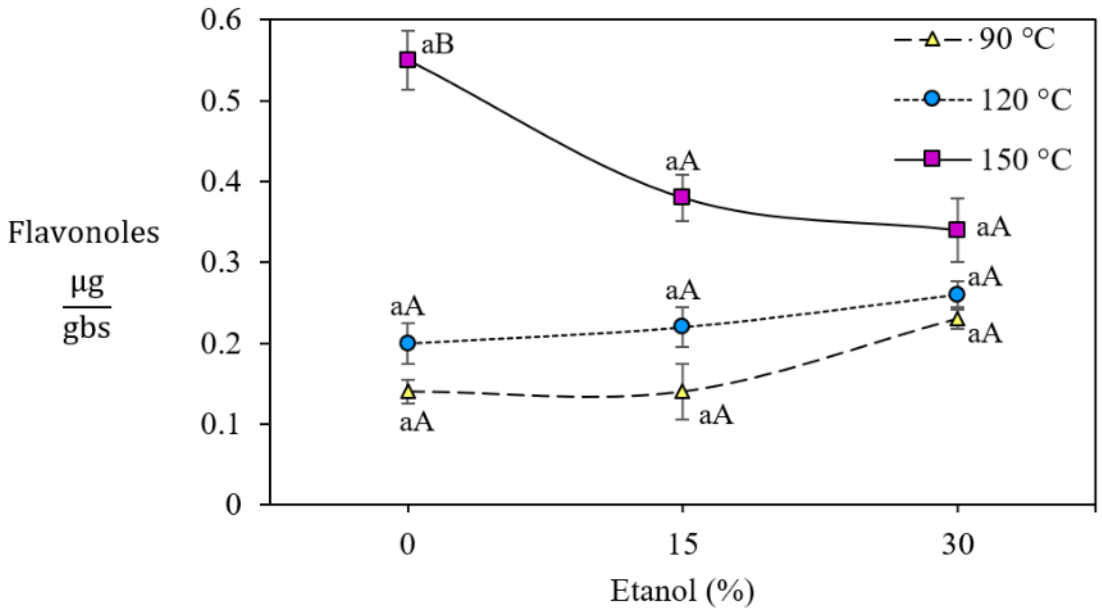
c. Flavonoles

Si bien el incremento de temperatura favorece la extracción de flavonoles,

cuando la concentración de etanol varía de 0% a 30% en 150 °C, la recuperación de estos compuestos disminuye hasta en un ~62% (Figura 25). Según, Huaman-Castilla et al. (2019) esto se explica porque cuando aumenta la concentración de etanol en la mezcla, las interacciones entre el etanol y el agua son más fuertes que las interacciones entre el etanol y los flavonoles, lo que hace que los flavonoles sean menos solubles, por ende se recuperen menos durante la extracción. La mejor condición de proceso bajo condiciones subcríticas utilizando etanol al 15% a 150 °C permitió recuperar altas concentraciones de quercitrina (0,13 µg/g) (Anexo 6). Kumar et al. (2018) encontraron 0,002 µg/g de quecitrina en algas marinas. Se detectó a la rutina y quercitrina como los polifenoles específicos menos abundantes de entre los 8 compuestos analizados (Anexo 6).

Figura 25

Efecto de las mezclas agua-etanol en la recuperación de flavonoles



Nota. gbs: gramos en base seca. Las letras minúsculas representan diferencias significativas entre concentración de etanol y las letras mayúsculas representan diferencias significativas entre las variaciones de temperatura. Las bandas representan la desviación estándar de cada tratamiento

Cuando la temperatura de extracción bajo condiciones subcríticas varía de 90 a 150 °C, el contenido de kaempferol incrementa en un ~64%, ~92% y ~48% en los extractos con etanol al 0%, 15% y 30%, respectivamente (Anexo 6). De manera similar, Huamán-Castilla et al. (2021), reportaron que la variación de temperatura de 90 a 150 °C provocó un incremento de ~151% y ~810% en extractos con etanol 0% y etanol al 15%, respectivamente. Asimismo, Allcca-Alca et al. (2021), hallaron que el incremento de temperatura de 100 a 160 °C permitió recuperar ~104% más contenido de kaempferol. Benito-Román et al. (2020) obtuvieron que durante la extracción con agua subcrítica, el kaempferol alcanzó su máxima concentración a 145°C, pero disminuyó con temperaturas más altas debido a su sensibilidad a la degradación térmica, en contraste, la quercetina aumentó su concentración a medida que la temperatura sube, alcanzando su máximo a 180°C, favorecida por la hidrólisis de sus glucósidos en estas condiciones. Este comportamiento sugiere que la quercetina es más estable a altas temperaturas, mientras que el kaempferol es más susceptible a la degradación cuando se supera su temperatura óptima de extracción. El contenido de kaempferol aumenta con la temperatura debido a la mejor eficiencia de extracción y la degradación térmica de sus glicósidos en kaempferol libre, que se vuelve más soluble en disolventes orgánicos y facilita su extracción (Chen et al., 2023).

El incremento en la concentración de etanol de 0% hasta 30% mejora el rendimiento de extracción de kaempferol, exhibiendo valores superiores en 1,64, 1,3 y 1,48 veces, respecto a los extractos obtenidos en 90, 120 y 150 °C, respectivamente (Anexo 6). Similarmente, Huamán-Castilla et al. (2021) reportaron valores ~4, ~9 y ~13 mayores a las concentraciones de kaempferol cuando se incrementó el etanol de 0% a 15% en 90, 120 y 150 °C. La adición de co-disolventes próticos como el etanol, disminuye la polaridad del disolvente y potencia su capacidad para formar enlaces de hidrógeno, mejorando así la solubilidad y extracción de polifenoles específicos (Jessop et al., 2012).

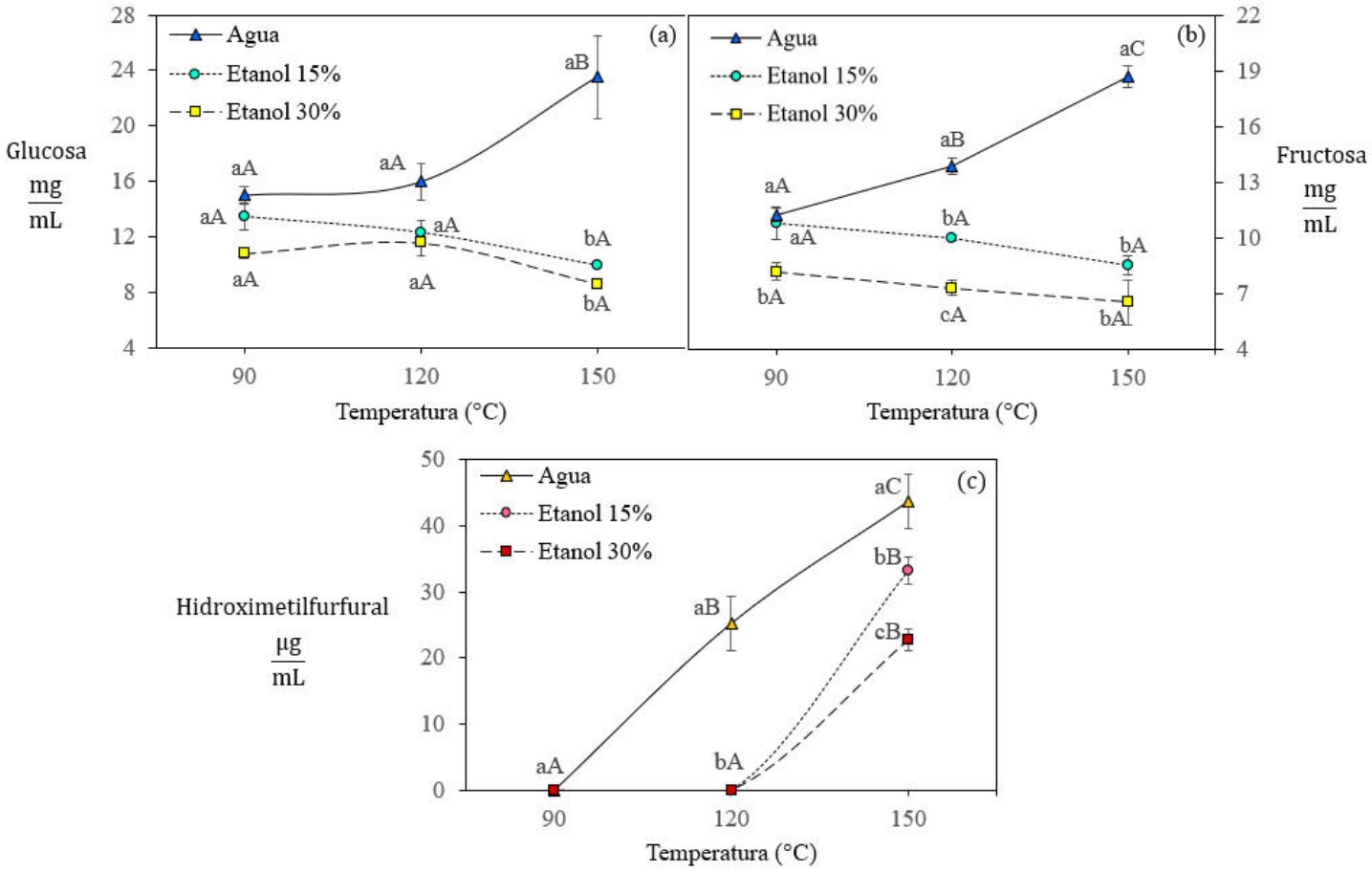
4.2. Compuestos Interferentes

La formación de hidroximetilfurfural (HMF) durante la extracción bajo condiciones subcríticas resulta de proceso de la reacción Maillard y la presencia de

azúcares reductores (Mariotti-Celis et al., 2018). Özkaynak Kanmaz (2018) documentó que diversas matrices vegetales cuando son sometidas a procesos de ELP a temperaturas superiores a 120 °C, generan HMF debido a la presencia de azúcares reductores tales como fructosa o glucosa.

Figura 26

Influencia de la condición de extracción en el contenido de azúcares reductores (a) (b) e hidroximetilfurfural (c)



Nota. Las letras minúsculas representan diferencias significativas entre concentración de etanol y las letras mayúsculas representan diferencias significativas entre las variaciones de temperatura. Las bandas representan la desviación estándar de cada tratamiento

Bajo condiciones subcríticas, la formación de hidroximetilfurfural (HMF) se potencia significativamente debido a la combinación de agua y altas temperaturas (Figura 26). En este contexto, el agua actúa como un solvente que facilita la deshidratación de azúcares reductores, como la glucosa y la fructosa, transformándolos en HMF, así mismo, las elevadas temperaturas disminuyen la polaridad del agua, lo que mejora la solubilidad de los azúcares y favorece su conversión (De la Lama-Calvente et al., 2024; De Souza et al., 2012).

De acuerdo con nuestros resultados, el incremento de la temperatura de 90 a 150 °C favorece la extracción de glucosa y fructosa; contrariamente, el uso de 15% y 30% de etanol disminuye en 1,35 y 1,25 veces la recuperación de estos compuestos (Figura 26). Huaman-Castilla et al. (2019) detectaron 1,28 y 1,52 veces más contenido de glucosa y fructosa al incrementar la temperatura de 90 a 150 °C, respectivamente. Mariotti-Celis et al. (2018), observaron que al aumentar la temperatura en la ELP, se produce una mayor extracción de azúcares. Plaza et al. (2010), identificaron que cuando la temperatura varía de 100 a 200 °C en la ELP, el contenido de glucosa incrementa en ~67%. Mientras, el incremento en el contenido de etanol varía de 0% a 30% favorece la disminución de glucosa en ~39%, ~38% y ~184% (Figura 26). Los azúcares reductores, como la fructosa y la glucosa, forman enlaces de hidrógeno fuertes con las moléculas de agua debido a sus grupos hidroxilo (-OH), pero la adición de etanol, un cosolvente menos polar, reduce la capacidad del solvente para formar estos enlaces de hidrógeno, disminuyendo la solubilidad y eficiencia de extracción (Alavi et al., 2014; Alves et al., 2007).

La concentración de etanol de 0% a 30% reduce la formación de hidroximetilfurfural en ~92% a 150 °C (Figura 26). Similarmente, Mariotti-Celis et al. (2017), obtuvieron 140%, ~86% y ~67% menos concentración de hidroximetilfurfural al incrementar el contenido de etanol de 0% a 16% en extractos obtenidos a 60, 75 y 90 °C, respectivamente.

En este estudio se encontró una concentración de 33,14 μg/mL para HMF en el mejor tratamiento, en el cual se utilizaron como parámetros de extracción el etanol al 15% a 150 °C (Figura 26). No obstante, Abraham et al. (2011) mencionan que se

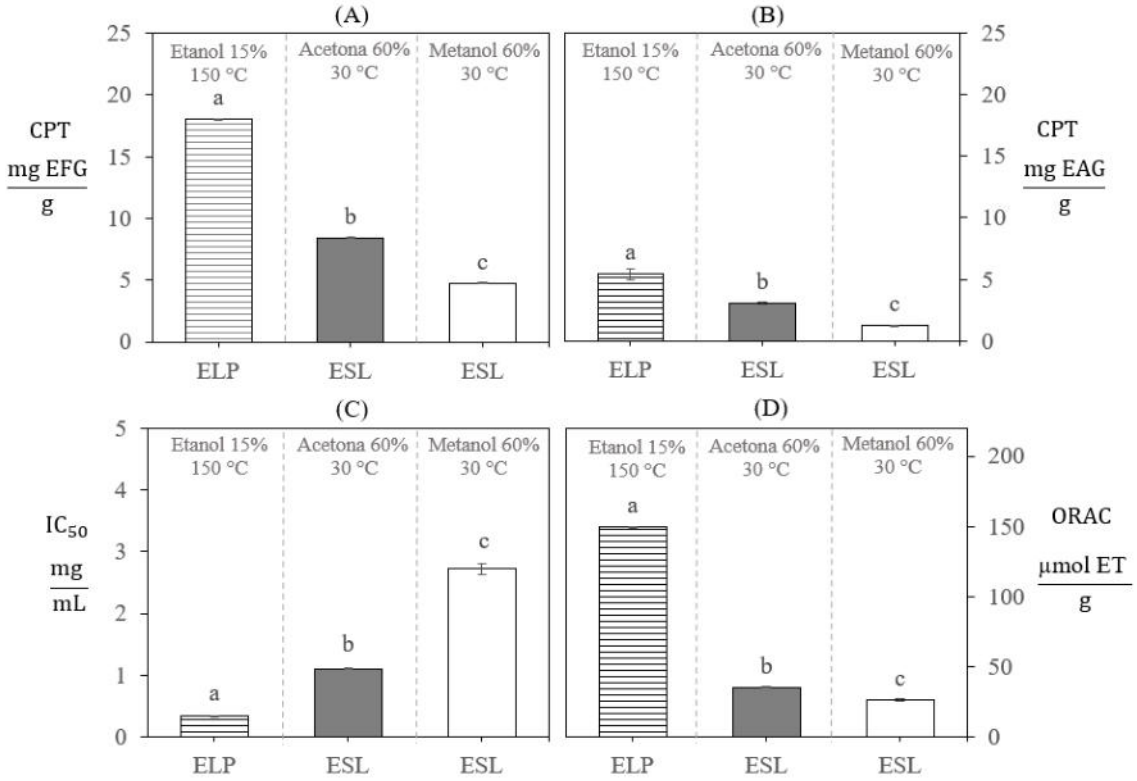
necesita de 80 mg/kg de peso corporal/día para provocar efectos cancerígenos y genotóxicos.

4.3. Efecto del método de extracción en el contenido de polifenoles totales, capacidad antioxidante y perfil de polifenoles

La mejor condición de extracción bajo condiciones subcríticas con etanol al 15% a 150 °C exhibió concentraciones de ~2 y ~4 veces mayores en el contenido de floroglucinol en comparación con los extractos obtenidos en condiciones atmosféricas con acetona y metanol al 60%, respectivamente (Figura 27). Mientras, el contenido de polifenoles totales equivalentes de ácido gálico obtenidos por extracción por líquidos presurizados (ELP) superan en ~2 y ~4 veces a los extractos convencionales con acetona y metanol al 60%, respectivamente (Figura 27). Vo Dinh et al. (2018) reportaron que el uso de la ELP (agua, 200°C) mejora en ~24 veces la recuperación de polifenoles totales (equivalentes de floroglucinol) en comparación con extractos obtenidos bajo condiciones atmosféricas con acetona al 100%. Por otro lado, el extracto obtenido con etanol al 15% a 150 °C en la ELP obtuvo un rendimiento ~217% superior al reportado por Beratto-Ramos et al. (2019) en la recuperación de compuestos fenólicos equivalentes de floroglucinol en extractos con acetona al 70% de algas pardas *Macrocystis pyrifera*. La acetona en condiciones atmosféricas es menos efectiva que el etanol para disolver polifenoles, debido a que estos compuestos se disuelven mejor en solventes con mayor polaridad (Jessop et al., 2012; Mohsen-Nia et al., 2010). Por ello, la utilización de ELP en combinación con mezclas agua-etanol es una opción altamente viable de calidad alimentaria para la expansión a escala del proceso, ofreciendo una productividad sólida y una eficiencia notablemente elevada (Anaëlle et al., 2013).

Figura 27

Comparación de polifenoles totales (A, B) y capacidad antioxidante (C, D) presentes en extractos a condiciones subcríticas (ELP) y atmosféricas (ESL)



Nota. EFG: Equivalente de Floroglucinol; EAG: Equivalente de Ácido Gálico; ELP: Extracción por líquidos presurizados; ESL: Extracción sólido – líquido. Las letras minúsculas representan diferencias significativas entre tratamientos. Las bandas representan la desviación estándar de cada tratamiento

La capacidad antioxidante ORAC del extracto obtenido bajo condiciones subcríticas con etanol al 15% a 150 °C es superior en ~325% y ~466% a los extractos obtenidos bajo condiciones atmosféricas con metanol y acetona al 60%, respectivamente (Figura 27). Similarmente, Allcca-Alca et al. (2021), encontraron que los extractos por ELP con etanol al 60% a 160 °C mostraron valores ORAC de ~4 y ~10 veces superiores para pieles y semillas de orujo comparados con los valores obtenidos en los extractos por extracción sólido-líquido (ESL) con acetona al 60% a 30 °C. Los extractos del mejor tratamiento de la extracción por líquidos presurizados reportados en este informe obtuvieron valores ORAC ~53% superiores a los reportados por Vilcanqui et al. (2021) en sus extractos metanólicos de *Macrocystis pyrifera*.

El extracto de algas pardas obtenido bajo condiciones subcríticas necesita ~3 y 8 veces menos cantidad de extracto para inhibir el radical DPPH, en comparación a los extractos convencionales con acetona y metanol al 60%, respectivamente (Figura 27). Vo Dinh et al. (2018) encontraron que los extractos obtenidos mediante ELP exhibían ~6 veces más capacidad antioxidante que los extractos obtenidos por extracción sólido-líquido (ESL). La menor eficacia de extracción mediante el método convencional, se puede deber a la existencia de polisacáridos (ácido algínico, alginatos y fucanos) en la pared celular de las algas pardas, los cuales limitan la disponibilidad de los polifenoles (Balboa et al., 2013). La extracción por líquidos presurizados (ELP) supera a la extracción convencional sólido-líquido porque, al utilizar alta presión y temperatura, logra penetrar mejor las barreras estructurales, esto no solo facilita la liberación de polifenoles, sino que también permite recuperar aquellos de mayor peso molecular, que suelen tener mejores propiedades bioactivas, optimizando así el rendimiento y la calidad de los extractos (Quitério et al., 2022).

V. CONCLUSIONES

El incremento de temperatura y etanol favoreció la extracción de compuestos fenólicos. Durante la ELP, el uso de etanol al 15% a 150 °C exhibió los mejores niveles de polifenoles totales (EAG y EFG) y capacidad antioxidante (DPPH y ORAC) con 5,42 mg EAG/g, 18,09 mg EFG/g, 0,34 mg/mL y 149,56 µmol ET/g, respectivamente. Se identificaron ocho polifenoles específicos, se obtuvo una mayor concentración de flavanoles (1,70 µg/g) y ácidos fenólicos (1,12 µg/g), contrariamente una menor concentración de flavonoles (0,38 µg/g).

Se encontraron compuestos interferentes (glucosa, fructosa e hidroximetilfurfural) presentes en los extractos crudos de algas pardas en concentraciones de 9,94 mg/mL, 8,52 mg/mL y 33,14 µg/mL, respectivamente. Estos compuestos fueron favorecidos por el incremento de la temperatura y el uso de agua en el proceso de extracción. Contrariamente, el uso de etanol redujo la presencia de estos compuestos.

La recuperación de polifenoles y capacidad antioxidante mediante la tecnología convencional combinado con solventes tales como acetona y metanol al 60% a 30 °C fue inferior a la tecnología alternativa de ELP (etanol al 15% a 150 °C), cuyos valores fueron establecidos con de 3,06 mg EAG/g, 8,45 mg EFG/g, 1,1 mg/mL y 35,23 µmol ET/g para el extracto con acetona y 1,27 mg EAG/g, 4,75 mg EFG/g, 2,72 mg/mL, 26,42 µmol ET/g para el extracto con metanol.

VI. RECOMENDACIONES

Para mejorar la extracción de compuestos fenólicos de las algas pardas, es recomendable experimentar con solventes verdes alternativos, como el glicerol, que podrían ofrecer resultados comparables en la recuperación de polifenoles. Asimismo, el uso de tecnologías limpias, como el ultrasonido, las enzimas, el microondas, los fluidos supercríticos o la combinación secuencial de estas tecnologías, puede incrementar la eficiencia del proceso. La evaluación mediante una metodología de superficie de respuesta (RSM), podría ayudar a optimizar variables críticas como la concentración del solvente y la temperatura, así como se recomienda considerar otros factores.

Es crucial realizar un análisis proximal de las algas pardas para ajustar los parámetros de extracción según la composición específica de la biomasa. Este análisis debe incluir la evaluación de lípidos, proteínas, minerales, polisacáridos, entre otros, para entender cómo estos componentes afectan la eficiencia del proceso de extracción de compuestos fenólicos.

Dado que los solventes etanol/agua son efectivos, pero pueden coextraer compuestos no deseados como azúcares reductores e hidroximetilfurfural, es recomendable añadir pasos de purificación adicionales. Asimismo, se recomienda evaluar de manera secuencial la extracción y purificación, ajustando los parámetros de extracción que favorezcan la recuperación de compuestos fenólicos en la purificación.

En cuanto al análisis del perfil de polifenoles, es esencial centrarse en la identificación y cuantificación de un mayor número de polifenoles específicos, particularmente los equivalentes de floroglucinol, que son característicos de las algas pardas. Este enfoque proporcionará una visión más completa de las distintas familias de polifenoles, mejorando la calidad y el valor bioactivo de los extractos obtenidos.

VII. REFERENCIAS

Abraham, K., Gürtler, R., Berg, K., Heinemeyer, G., Lampen, A., & Appel, K. E. (2011). Toxicology and risk assessment of 5-Hydroxymethylfurfural in food. *Molecular Nutrition & Food Research*, *55*(5), 667–678.

Alavi, T., Pazuki, G., & Raisi, A. (2014). Solubility of Fructose in Water–Ethanol and Water–Methanol Mixtures by Using H-Bonding Models. *Journal of Food Science*, *79*(5), E839–E848.

Alberti, A., Zielinski, A. A. F., Zardo, D. M., Demiate, I. M., Nogueira, A., & Mafra, L. I. (2014). Optimisation of the extraction of phenolic compounds from apples using response surface methodology. *Food Chemistry*, *149*, 151–158. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.10.086

Allcca-Alca, E. E., León-Calvo, N. C., Luque-Vilca, O. M., Martínez-Cifuentes, M., Pérez-Correa, J. R., Mariotti-Celis, M. S., & Huamán-Castilla, N. L. (2021). Hot Pressurized Liquid Extraction of Polyphenols from the Skin and Seeds of Vitis vinifera L. cv. Negra Criolla Pomace a Peruvian Native Pisco Industry Waste. In *Agronomy* (Vol. 11, Issue 5). https://doi.org/10.3390/agronomy11050866

Alonso-Salces, R. M., Korta, E., Barranco, A., Berrueta, L. A., Gallo, B., & Vicente, F. (2001). Pressurized liquid extraction for the determination of polyphenols in apple. *Journal of Chromatography A*, *933*(1–2), 37–43.

Alves, L. A., Almeida e Silva, J. B., & Giulietti, M. (2007). Solubility of D-glucose in water and ethanol/water mixtures. *Journal of Chemical & Engineering Data*, *52*(6), 2166–2170.

Ameer, K., Shahbaz, H. M., & Kwon, J.-H. (2017). Green Extraction Methods for Polyphenols from Plant Matrices and Their Byproducts: A Review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, *16*(2), 295–315. https://doi.org/https://doi.org/10.1111/1541-4337.12253

Anaëlle, T., Serrano Leon, E., Laurent, V., Elena, I., Mendiola, J. A., Stéphane, C.,

Nelly, K., Stéphane, L. B., Luc, M., & Valérie, S.-P. (2013). Green improved processes to extract bioactive phenolic compounds from brown macroalgae using Sargassum muticum as model. *Talanta*, *104*, 44–52. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.talanta.2012.10.088

Anese, M., & Suman, M. (2013). Mitigation strategies of furan and 5-hydroxymethylfurfural in food. *Food Research International*, *51*(1), 257–264.

Aragón, B., Castillo Rojas, C. R., Zavala Huambachano, J., Pastor Cuba, R., Castañeda Muñoz, V., & Rujel Mena, J. (2012). *Plan de capacitación sobre las algas pardas en el sur del Perú 2011-2015*.

Babbar, N., Oberoi, H. S., Sandhu, S. K., & Bhargav, V. K. (2014). Influence of different solvents in extraction of phenolic compounds from vegetable residues and their evaluation as natural sources of antioxidants. *Journal of Food Science and Technology*, *51*, 2568–2575.

Balboa, E. M., Conde, E., Moure, A., Falqué, E., & Domínguez, H. (2013). In vitro antioxidant properties of crude extracts and compounds from brown algae. *Food Chemistry*, *138*(2), 1764–1785. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.11.026

Barp, L., Višnjevec, A. M., & Moret, S. (2023). Pressurized Liquid Extraction: A Powerful Tool to Implement Extraction and Purification of Food Contaminants. In *Foods* (Vol. 12, Issue 10). https://doi.org/10.3390/foods12102017

Baweja, P., Kumar, S., Sahoo, D., & Levine, I. (2016). Biology of seaweeds. In *Seaweed in health and disease prevention* (pp. 41–106). Elsevier.

Bayr, H. (2005). Reactive oxygen species. *Critical Care Medicine*, *33*(12), S498–S501.

Benito-Román, Ó., Blanco, B., Sanz, M. T., & Beltrán, S. (2020). Subcritical Water Extraction of Phenolic Compounds from Onion Skin Wastes (Allium cepa cv. Horcal): Effect of Temperature and Solvent Properties. In *Antioxidants* (Vol. 9, Issue 12). https://doi.org/10.3390/antiox9121233

Beratto-Ramos, A., Castillo-Felices, R. del P., Troncoso-Leon, N. A., Agurto-Muñoz, A., & Agurto-Muñoz, C. (2019). Selection criteria for high-value biomass: seasonal and morphological variation of polyphenolic content and antioxidant capacity in two brown macroalgae. *Journal of Applied Phycology*, *31*, 653–664.

Boisvert, C., Beaulieu, L., Bonnet, C., & Pelletier, É. (2015). Assessment of the antioxidant and antibacterial activities of three species of edible seaweeds. *Journal of Food Biochemistry*, *39*(4), 377–387.

Bordoloi, A., & Goosen, N. (2020). Chapter Eleven - Green and integrated processing approaches for the recovery of high-value compounds from brown seaweeds. In N. B. T.-A. in B. R. Bourgougnon (Ed.), *Seaweeds Around the World: State of Art and Perspectives* (Vol. 95, pp. 369–413). Academic Press. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/bs.abr.2019.11.011

Bosso, A., Guaita, M., & Petrozziello, M. (2016). Influence of solvents on the composition of condensed tannins in grape pomace seed extracts. *Food Chemistry*, *207*, 162–169.

Braidot, E., Zancani, M., Petrussa, E., Peresson, C., Bertolini, A., Patui, S., Macrì, F., & Vianello, A. (2008). Transport and accumulation of flavonoids in grapevine (Vitis vinifera L.). *Plant Signaling & Behavior*, *3*(9), 626–632.

Bringloe, T. T., Starko, S., Wade, R. M., Vieira, C., Kawai, H., De Clerck, O., Cock, J. M., Coelho, S. M., Destombe, C., & Valero, M. (2020). Phylogeny and evolution of the brown algae. *Critical Reviews in Plant Sciences*, *39*(4), 281–321.

Bursać Kovačević, D., Barba, F. J., Granato, D., Galanakis, C. M., Herceg, Z., Dragović-Uzelac, V., & Putnik, P. (2018). Pressurized hot water extraction (PHWE) for the green recovery of bioactive compounds and steviol glycosides from Stevia rebaudiana Bertoni leaves. *Food Chemistry*, *254*, 150–157. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.01.192

Cai, J., Lovatelli, A., Aguilar-Manjarrez, J., Cornish, L., Dabbadie, L., Desrochers, A.,

Diffey, S., Garrido Gamarro, E., Geehan, J., & Hurtado, A. (2021). Seaweeds and microalgae: an overview for unlocking their potential in global aquaculture development. *FAO Fisheries and Aquaculture Circular*, *1229*.

Carvalho, L. M. S., Oliveira, A. M. B., Grimaldi, R., de Souza, P. T., Batista, E. A. C., & Martínez, J. (2024). Supercritical fluid and pressurized liquid extraction of spent tucumã-do-Amazonas (Astrocaryum aculeatum) almonds. *The Journal of Supercritical Fluids*, *209*, 106238. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.supflu.2024.106238

CETMAR. (2021). *Diversificación acuícola hacia el cultivo de macroalgas*. Centro Tecnológico Del Mar. https://cetmar.org/biblioteca-2/guia-tecnica-para-la-diversificacion-acuicola-cultivo-de-macroalgas-en-peru/

Chades, T., Scully, S. M., Ingvadottir, E. M., & Orlygsson, J. (2018). Fermentation of mannitol extracts from brown macro algae by Thermophilic Clostridia. *Frontiers in Microbiology*, *9*, 1931.

Chen, J., Zhong, H., Huang, Z., Chen, X., You, J., & Zou, T. (2023). A Critical Review of Kaempferol in Intestinal Health and Diseases. In *Antioxidants* (Vol. 12, Issue 8). https://doi.org/10.3390/antiox12081642

Chirinos, R., Campos, D., Warnier, M., Pedreschi, R., Rees, J.-F., & Larondelle, Y. (2008). Antioxidant properties of mashua (Tropaeolum tuberosum) phenolic extracts against oxidative damage using biological in vitro assays. *Food Chemistry*, *111*(1), 98–105.

Cotas, J., Pacheco, D., Monteiro, P., Gonçalves, A. M. M., & Pereira, L. (2023). *4 - Marine phenolics: Extractions at low pressure* (J. R. Pérez-Correa, R. Mateos, & H. B. T.-M. P. C. Domínguez (eds.); pp. 115–146). Elsevier. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-12-823589-8.00015-7

De la Lama-Calvente, D., Fernández-Rodríguez, M. J., Garrido-Fernández, A., & Borja, R. (2024). Process optimization of the extraction of reducing sugars and

total phenolic compounds from the invasive alga Rugulopteryx okamurae by response surface methodology (RSM). *Algal Research*, *80*, 103500. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.algal.2024.103500

De Souza, R. L., Yu, H., Rataboul, F., & Essayem, N. (2012). 5-Hydroxymethylfurfural (5-HMF) Production from Hexoses: Limits of Heterogeneous Catalysis in Hydrothermal Conditions and Potential of Concentrated Aqueous Organic Acids as Reactive Solvent System. In *Challenges* (Vol. 3, Issue 2, pp. 212–232). https://doi.org/10.3390/challe3020212

Do, Q. D., Angkawijaya, A. E., Tran-Nguyen, P. L., Huynh, L. H., Soetaredjo, F. E., Ismadji, S., & Ju, Y.-H. (2014). Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoid content, and antioxidant activity of Limnophila aromatica. *Journal of Food and Drug Analysis*, *22*(3), 296–302. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jfda.2013.11.001

Erpel, F., Camilo, C., Mateos, R., & Ricardo Pérez-Correa, J. (2023). A macroporous resin purification process to obtain food-grade phlorotannin-rich extracts with α-glucosidase inhibitory activity from Chilean brown seaweeds: An UHPLC-MSn profiling. *Food Chemistry*, *402*, 134472. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.134472

Erpel, F., Mariotti-Celis, M. S., Parada, J., Pedreschi, F., & Pérez-Correa, J. R. (2021). Pressurized hot liquid extraction with 15% v/v glycerol-water as an effective environment-friendly process to obtain Durvillaea incurvata and Lessonia spicata phlorotannin extracts with antioxidant and antihyperglycemic potential. *Antioxidants*, *10*(7), 1105.

FDA. (1997). *Substances Generally Recognized as safe final rule*. Department of Health and Human Services. https://www.fda.gov/about-fda/economic-impact-analyses-fda-regulations/summary-substances-generally-recognized-safe-final-rule

Fletcher, H. R., Biller, P., Ross, A. B., & Adams, J. M. M. (2017). The seasonal

variation of fucoidan within three species of brown macroalgae. *Algal Research*, *22*, 79–86.

Fontana, A., Antoniolli, A., Fernández, M. A. D., & Bottini, R. (2017). Phenolics profiling of pomace extracts from different grape varieties cultivated in Argentina. *RSC Advances*, *7*(47), 29446–29457.

Frohlich, P. C., Santos, K. A., Ascari, J., Santos Refati, J. R. dos, Palú, F., Cardozo-Filho, L., & da Silva, E. A. (2023). Antioxidant compounds and eugenol quantification of clove (Syzygium aromaticum) leaves extracts obtained by pressurized liquid extraction and supercritical fluid extraction. *The Journal of Supercritical Fluids*, *196*, 105865. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.supflu.2023.105865

Galanakis, C. M., Goulas, V., Tsakona, S., Manganaris, G. A., & Gekas, V. (2013). A Knowledge Base for The Recovery of Natural Phenols with Different Solvents. *International Journal of Food Properties*, *16*(2), 382–396. https://doi.org/10.1080/10942912.2010.522750

Gao, Y., Zietsman, A. J. J., Vivier, M. A., & Moore, J. P. (2019). Deconstructing wine grape cell walls with enzymes during winemaking: New insights from glycan microarray technology. *Molecules*, *24*(1), 165.

Generalić Mekinić, I., Skroza, D., Šimat, V., Hamed, I., Čagalj, M., & Popović Perković, Z. (2019). Phenolic content of brown algae (Pheophyceae) species: Extraction, identification, and quantification. *Biomolecules*, *9*(6), 244.

Gephart, J. A., Golden, C. D., Asche, F., Belton, B., Brugere, C., Froehlich, H. E., Fry, J. P., Halpern, B. S., Hicks, C. C., Jones, R. C., Klinger, D. H., Little, D. C., McCauley, D. J., Thilsted, S. H., Troell, M., & Allison, E. H. (2020). Scenarios for Global Aquaculture and Its Role in Human Nutrition. *Reviews in Fisheries Science & Aquaculture*, *29*(1), 122–138. https://doi.org/10.1080/23308249.2020.1782342

Getachew, A. T., Holdt, S. L., Meyer, A. S., & Jacobsen, C. (2022). Effect of Extraction Temperature on Pressurized Liquid Extraction of Bioactive Compounds from Fucus vesiculosus. In *Marine Drugs* (Vol. 20, Issue 4). https://doi.org/10.3390/md20040263

Getachew, A. T., Jacobsen, C., & Holdt, S. L. (2020). Emerging Technologies for the Extraction of Marine Phenolics: Opportunities and Challenges. In *Marine Drugs* (Vol. 18, Issue 8). https://doi.org/10.3390/md18080389

Gheda, S., Naby, M. A., Mohamed, T., Pereira, L., & Khamis, A. (2021). Antidiabetic and antioxidant activity of phlorotannins extracted from the brown seaweed Cystoseira compressa in streptozotocin-induced diabetic rats. *Environmental Science and Pollution Research*, *28*(18), 22886–22901. https://doi.org/10.1007/s11356-021-12347-5

Golshany, H., Kamal, A., Yu, Q., & Fan, L. (2024). Optimizing phlorotannins extraction from Fucus vesiculosus using Box-Behnken design: Unveiling techniques for enhanced antioxidant activity and metabolic enzyme inhibition. *Algal Research*, *83*, 103723. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.algal.2024.103723

Graham, M. H., Vasquez, J. A., & Buschmann, A. H. (2007). Global ecology of the giant kelp Macrocystis: from ecotypes to ecosystems. *Oceanography and Marine Biology*, *45*, 39.

Guido, L. F., & Moreira, M. M. (2017). Techniques for extraction of brewer's spent grain polyphenols: A review. *Food and Bioprocess Technology*, *10*, 1192–1209.

Gupta, S., Cox, S., & Abu-Ghannam, N. (2011). Effect of different drying temperatures on the moisture and phytochemical constituents of edible Irish brown seaweed. *LWT - Food Science and Technology*, *44*(5), 1266–1272. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.lwt.2010.12.022

Hawthorne, S. B., Galy, A. B., Schmitt, V. O., & Miller, D. J. (1995). Effect of SFE

flow rate on extraction rates: classifying sample extraction behavior. *Analytical Chemistry*, *67*(15), 2723–2732.

Heffernan, N., Brunton, N. P., FitzGerald, R. J., & Smyth, T. J. (2015). Profiling of the Molecular Weight and Structural Isomer Abundance of Macroalgae-Derived Phlorotannins. In *Marine Drugs* (Vol. 13, Issue 1, pp. 509–528). https://doi.org/10.3390/md13010509

Heffernan, N., Smyth, T. J., FitzGerald, R. J., Soler-Vila, A., & Brunton, N. (2014). Antioxidant activity and phenolic content of pressurised liquid and solid–liquid extracts from four Irish origin macroalgae. *International Journal of Food Science & Technology*, *49*(7), 1765–1772.

Herrero, M., Castro-Puyana, M., Mendiola, J. A., & Ibañez, E. (2013). Compressed fluids for the extraction of bioactive compounds. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, *43*, 67–83.

Hirondart, M., Rombaut, N., Fabiano-Tixier, A. S., Bily, A., & Chemat, F. (2020). Comparison between Pressurized Liquid Extraction and Conventional Soxhlet Extraction for Rosemary Antioxidants, Yield, Composition, and Environmental Footprint. In *Foods* (Vol. 9, Issue 5). https://doi.org/10.3390/foods9050584

Huaman-Castilla, N. L., Martínez-Cifuentes, M., Camilo, C., Pedreschi, F., Mariotti-Celis, M., & Pérez-Correa, J. R. (2019). The impact of temperature and ethanol concentration on the global recovery of specific polyphenols in an integrated HPLE/RP process on Carménère pomace extracts. *Molecules*, *24*(17), 3145.

Huamán-Castilla, Nils L, Campos, D., García-Ríos, D., Parada, J., Martínez-Cifuentes, M., Mariotti-Celis, M. S., & Pérez-Correa, J. R. (2021). Chemical Properties of Vitis Vinifera Carménère Pomace Extracts Obtained by Hot Pressurized Liquid Extraction, and Their Inhibitory Effect on Type 2 Diabetes Mellitus Related Enzymes. In *Antioxidants* (Vol. 10, Issue 3). https://doi.org/10.3390/antiox10030472

Huamán-Castilla, Nils L, Díaz Huamaní, K. S., Palomino Villegas, Y. C., Allcca-Alca, E. E., León-Calvo, N. C., Colque Ayma, E. J., Zirena Vilca, F., & Mariotti-Celis, M. S. (2024). Exploring a Sustainable Process for Polyphenol Extraction from Olive Leaves. In *Foods* (Vol. 13, Issue 2). https://doi.org/10.3390/foods13020265

Huamán-Castilla, Nils Leander, Mariotti-Celis, M. S., Martínez-Cifuentes, M., & Pérez-Correa, J. R. (2020). Glycerol as alternative co-solvent for water extraction of polyphenols from Carménère pomace: Hot pressurized liquid extraction and computational chemistry calculations. *Biomolecules*, *10*(3), 474.

IMARC. (2023). *Algae Products Market Report by Type (Lipids, Carrageenan, Carotenoids, Algal Protein, Alginate, and Others), Source (Brown Algae, Blue-Green Algae, Red Algae, Green Algae), Form (Solid, Liquid), Distribution Channel (Online, Offline), Application (Food a*. Market Research Report. https://www.imarcgroup.com/algae-products-market#:~:text=algae. Market Research Report

IMARPE. (2020). *Anuario Científico Tecnológico IMARPE 2019*. Instituto Del Mar Del Perú, Ministerio de La Producción. https://repositorio.imarpe.gob.pe/handle/20.500.12958/3512

Irianto, I., Naryaningsih, A., Trisnawati, N. W., Astuti, A., Komariyah, K., Qomariyah, L., Chaidir, C., Saputri, A., Wulandari, R., Rizkiyah, D. N., & Putra, N. R. (2024). From sea to solution: A review of green extraction approaches for unlocking the potential of brown algae. *South African Journal of Chemical Engineering*, *48*, 1–21. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.sajce.2024.01.001

Jacobsen, C., Sørensen, A.-D. M., Holdt, S. L., Akoh, C. C., & Hermund, D. B. (2019). Source, extraction, characterization, and applications of novel antioxidants from seaweed. *Annual Review of Food Science and Technology*, *10*, 541–568.

Jessop, P. G., Jessop, D. A., Fu, D., & Phan, L. (2012). Solvatochromic parameters for solvents of interest in green chemistry. *Green Chemistry*, *14*(5), 1245–1259.

Jimenez-Lopez, C., Pereira, A. G., Lourenço-Lopes, C., Garcia-Oliveira, P., Cassani, L., Fraga-Corral, M., Prieto, M. A., & Simal-Gandara, J. (2021). Main bioactive phenolic compounds in marine algae and their mechanisms of action supporting potential health benefits. *Food Chemistry*, *341*, 128262. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128262

Keramane, B., Sánchez-Camargo, A. del P., Montero, L., Laincer, F., Bedjou, F., & Ibañez, E. (2023). Pressurized liquid extraction of bioactive extracts with antioxidant and antibacterial activity from green, red and brown Algerian algae. *Algal Research*, *76*, 103293. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.algal.2023.103293

Kikuchi, Y., Kawamura, F., Ohira, T., & Yatagai, M. (1997). *Accelerated solvent extraction of taxane compounds from Taxus cuspidata.*

Krause-Jensen, D., & Duarte, C. M. (2016). Substantial role of macroalgae in marine carbon sequestration. *Nature Geoscience*, *9*(10), 737–742.

Kumar, A., AbdElgawad, H., Castellano, I., Selim, S., Beemster, G. T. S., Asard, H., Buia, M. C., & Palumbo, A. (2018). Effects of ocean acidification on the levels of primary and secondary metabolites in the brown macroalga Sargassum vulgare at different time scales. *Science of The Total Environment*, *643*, 946–956. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.06.176

Kwak, J.-H., Seo, J. M., Kim, N.-H., Arasu, M. V., Kim, S., Yoon, M. K., & Kim, S.-J. (2017). Variation of quercetin glycoside derivatives in three onion (Allium cepa L.) varieties. *Saudi Journal of Biological Sciences*, *24*(6), 1387–1391.

Lama-Muñoz, A., del Mar Contreras, M., Espínola, F., Moya, M., de Torres, A., Romero, I., & Castro, E. (2019). Extraction of oleuropein and luteolin-7-O-glucoside from olive leaves: Optimization of technique and operating conditions. *Food Chemistry*, *293*, 161–168.

Leander Huaman-Castilla, N., Salome Mariotti-Celis, M., & Ricardo Perez-Correa, J.

(2017). Polyphenols of Carménère grapes. *Mini-Reviews in Organic Chemistry*, *14*(3), 176–186.

Lee, C.-H., Chen, K.-T., Lin, J.-A., Chen, Y.-T., Chen, Y.-A., Wu, J.-T., & Hsieh, C.-W. (2019). Recent advances in processing technology to reduce 5-hydroxymethylfurfural in foods. *Trends in Food Science & Technology*, *93*, 271–280. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.09.021

Lorenzo, J. M., Agregán, R., Munekata, P. E. S., Franco, D., Carballo, J., Şahin, S., Lacomba, R., & Barba, F. J. (2017). Proximate composition and nutritional value of three macroalgae: Ascophyllum nodosum, Fucus vesiculosus and Bifurcaria bifurcata. *Marine Drugs*, *15*(11), 360.

Lu, J., Boughner, E. C., Liotta, C. L., & Eckert, C. A. (2002). Nearcritical and supercritical ethanol as a benign solvent: polarity and hydrogen-bonding. *Fluid Phase Equilibria*, *198*(1), 37–49.

Mariotti-Celis, M. S., Martínez-Cifuentes, M., Huamán-Castilla, N., Vargas-González, M., Pedreschi, F., & Pérez-Correa, J. R. (2017). The antioxidant and safety properties of spent coffee ground extracts impacted by the combined hot pressurized liquid extraction–resin purification process. *Molecules*, *23*(1), 21.

Mariotti-Celis, M. S., Martínez-Cifuentes, M., Huamán-Castilla, N., Pedreschi, F., Iglesias-Rebolledo, N., & Pérez-Correa, J. R. (2018). Impact of an integrated process of hot pressurised liquid extraction–macroporous resin purification over the polyphenols, hydroxymethylfurfural and reducing sugars content of Vitis vinifera ‘Carménère’pomace extracts. *International Journal of Food Science & Technology*, *53*(4), 1072–1078.

Mateos, R., Pérez-Correa, J. R., & Domínguez, H. (2020). Bioactive properties of marine phenolics. *Marine Drugs*, *18*(10), 501.

Meng, W., Mu, T., Sun, H., & Garcia-Vaquero, M. (2021). Phlorotannins: A review of extraction methods, structural characteristics, bioactivities, bioavailability, and

future trends. *Algal Research*, *60*, 102484. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.algal.2021.102484

Meng, W., Mu, T., Sun, H., & Garcia-Vaquero, M. (2022). Evaluation of the chemical composition and nutritional potential of brown macroalgae commercialised in China. *Algal Research*, *64*, 102683. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.algal.2022.102683

Michalak, I., & Chojnacka, K. (2014). Algal extracts: Technology and advances. *Engineering in Life Sciences*, *14*(6), 581–591.

Mohsen-Nia, M., Amiri, H., & Jazi, B. (2010). Dielectric constants of water, methanol, ethanol, butanol and acetone: measurement and computational study. *Journal of Solution Chemistry*, *39*, 701–708.

Montero, L., Sánchez-Camargo, A. P., García-Cañas, V., Tanniou, A., Stiger-Pouvreau, V., Russo, M., Rastrelli, L., Cifuentes, A., Herrero, M., & Ibáñez, E. (2016). Anti-proliferative activity and chemical characterization by comprehensive two-dimensional liquid chromatography coupled to mass spectrometry of phlorotannins from the brown macroalga Sargassum muticum collected on North-Atlantic coasts. *Journal of Chromatography A*, *1428*, 115–125. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.chroma.2015.07.053

Mustafa, A., & Turner, C. (2011). Pressurized liquid extraction as a green approach in food and herbal plants extraction: A review. *Analytica Chimica Acta*, *703*(1), 8–18. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.aca.2011.07.018

Naczk, M., & Shahidi, F. (2004). Extraction and analysis of phenolics in food. *Journal of Chromatography A*, *1054*(1–2), 95–111.

Nikolaidis, M. G., & Margaritelis, N. V. (2023). Free radicals and antioxidants: appealing to magic. *Trends in Endocrinology & Metabolism*, *34*(9), 503–504. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.tem.2023.06.001

O'Sullivan, A. M., O'Callaghan, Y. C., O'Grady, M. N., Hayes, M., Kerry, J. P., &

O'Brien, N. M. (2013). The effect of solvents on the antioxidant activity in Caco-2 cells of Irish brown seaweed extracts prepared using accelerated solvent extraction (ASE®). *Journal of Functional Foods*, *5*(2), 940–948. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jff.2013.02.007

Obreque-Slier, E., Pena-Neira, A., & López-Solís, R. (2011). Precipitation of low molecular weight phenolic compounds of grape seeds cv. Carménère (Vitis vinifera L.) by whole saliva. *European Food Research and Technology*, *232*, 113–121.

Okiyama, D. C. G., Soares, I. D., Cuevas, M. S., Crevelin, E. J., Moraes, L. A. B., Melo, M. P., Oliveira, A. L., & Rodrigues, C. E. C. (2018). Pressurized liquid extraction of flavanols and alkaloids from cocoa bean shell using ethanol as solvent. *Food Research International*, *114*, 20–29. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.07.055

Otero, P., López-Martínez, M. I., & García-Risco, M. R. (2019). Application of pressurized liquid extraction (PLE) to obtain bioactive fatty acids and phenols from Laminaria ochroleuca collected in Galicia (NW Spain). *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, *164*, 86–92.

Otero, P., Quintana, S. E., Reglero, G., Fornari, T., & García-Risco, M. R. (2018). Pressurized Liquid Extraction (PLE) as an Innovative Green Technology for the Effective Enrichment of Galician Algae Extracts with High Quality Fatty Acids and Antimicrobial and Antioxidant Properties. In *Marine Drugs* (Vol. 16, Issue 5). https://doi.org/10.3390/md16050156

Özkaynak Kanmaz, E. (2018). 5-Hydroxymethylfurfural (HMF) formation during subcritical water extraction. *Food Science and Biotechnology*, *27*(4), 981–986. https://doi.org/10.1007/s10068-018-0328-y

Pacheco, L. V., Parada, J., Pérez-Correa, J. R., Mariotti-Celis, M. S., Erpel, F., Zambrano, A., & Palacios, M. (2020). Bioactive polyphenols from southern Chile seaweed as inhibitors of enzymes for starch digestion. *Marine Drugs*, *18*(7), 353.

Pantelić, M. M., Dabić Zagorac, D. Č., Davidović, S. M., Todić, S. R., Bešlić, Z. S., Gašić, U. M., Tešić, Ž. L., & Natić, M. M. (2016). Identification and quantification of phenolic compounds in berry skin, pulp, and seeds in 13 grapevine varieties grown in Serbia. *Food Chemistry*, *211*, 243–252. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.05.051

Park, E., Yu, H., Lim, J.-H., Hee Choi, J., Park, K.-J., & Lee, J. (2023). Seaweed metabolomics: A review on its nutrients, bioactive compounds and changes in climate change. *Food Research International*, *163*, 112221. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodres.2022.112221

Pérez-Jiménez, J., Díaz-Rubio, M. E., & Saura-Calixto, F. (2013). Non-extractable polyphenols, a major dietary antioxidant: Occurrence, metabolic fate and health effects. *Nutrition Research Reviews*, *26*(2), 118–129.

Plaza, M., Amigo-Benavent, M., del Castillo, M. D., Ibáñez, E., & Herrero, M. (2010). Facts about the formation of new antioxidants in natural samples after subcritical water extraction. *Food Research International*, *43*(10), 2341–2348. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.07.036

Plaza, M., & Turner, C. (2015). Pressurized hot water extraction of bioactives. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, *71*, 39–54. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.trac.2015.02.022

Pradhan, B., Bhuyan, P. P., Patra, S., Nayak, R., Behera, P. K., Behera, C., Behera, A. K., Ki, J.-S., & Jena, M. (2022). Beneficial effects of seaweeds and seaweed-derived bioactive compounds: Current evidence and future prospective. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, *39*, 102242. https://doi.org/10.1016/j.bcab.2021.102242

Pradhan, B., Nayak, R., Patra, S., Jit, B. P., Ragusa, A., & Jena, M. (2020). Bioactive metabolites from marine algae as potent pharmacophores against oxidative stress-associated human diseases: A comprehensive review. *Molecules*, *26*(1), 37.

PRODUCE. (2021). *Anuario estadístico pesquero y acuícola*. Ministerio de La Producción. https://ogeiee.produce.gob.pe/index.php/en/oee-documentos-publicaciones/publicaciones-anuales

Putnik, P., Barba, F. J., Španić, I., Zorić, Z., Dragović-Uzelac, V., & Kovačević, D. B. (2017). Green extraction approach for the recovery of polyphenols from Croatian olive leaves (Olea europea). *Food and Bioproducts Processing*, *106*, 19–28.

Quitério, E., Grosso, C., Ferraz, R., Delerue-Matos, C., & Soares, C. (2022). A Critical Comparison of the Advanced Extraction Techniques Applied to Obtain Health-Promoting Compounds from Seaweeds. In *Marine Drugs* (Vol. 20, Issue 11). https://doi.org/10.3390/md20110677

Research, G. V. (2021). *Market Analysis Report*. 125. https://www.grandviewresearch.com/industry-analysis/polyphenols-market-analysis

Richter, B. E., Jones, B. A., Ezzell, J. L., Porter, N. L., Avdalovic, N., & Pohl, C. (1996). Accelerated solvent extraction: a technique for sample preparation. *Analytical Chemistry*, *68*(6), 1033–1039.

Roselló-Soto, E., Martí-Quijal, F. J., Cilla, A., Munekata, P. E. S., Lorenzo, J. M., Remize, F., & Barba, F. J. (2019). Influence of temperature, solvent and pH on the selective extraction of phenolic compounds from tiger nuts by-products: Triple-TOF-LC-MS-MS characterization. *Molecules*, *24*(4), 797.

Sabeena Farvin, K. H., & Jacobsen, C. (2013). Phenolic compounds and antioxidant activities of selected species of seaweeds from Danish coast. *Food Chemistry*, *138*(2), 1670–1681. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.10.078

Sai-Ut, S., Kingwascharapong, P., Mazumder, M. A., & Rawdkuen, S. (2023). Optimization of Ethanolic Extraction of Phenolic Antioxidants from Lychee and Longan Seeds Using Response Surface Methodology. In *Foods* (Vol. 12, Issue

15). https://doi.org/10.3390/foods12152827

Saji, S., Hebden, A., Goswami, P., & Du, C. (2022). A Brief Review on the Development of Alginate Extraction Process and Its Sustainability. In *Sustainability* (Vol. 14, Issue 9). https://doi.org/10.3390/su14095181

Sánchez-Camargo, A. del P., Montero, L., Stiger-Pouvreau, V., Tanniou, A., Cifuentes, A., Herrero, M., & Ibáñez, E. (2016). Considerations on the use of enzyme-assisted extraction in combination with pressurized liquids to recover bioactive compounds from algae. *Food Chemistry*, *192*, 67–74. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.06.098

Sanz-Pintos, N., Pérez-Jiménez, J., Buschmann, A. H., Vergara-Salinas, J. R., Pérez-Correa, J. R., & Saura-Calixto, F. (2017). Macromolecular antioxidants and dietary fiber in edible seaweeds. *Journal of Food Science*, *82*(2), 289–295.

Singh, I. P., & Sidana, J. (2013). Phlorotannins. In *Functional ingredients from algae for foods and nutraceuticals* (pp. 181–204). Elsevier.

Sumampouw, G. A., Jacobsen, C., & Getachew, A. T. (2021). Optimization of phenolic antioxidants extraction from Fucus vesiculosus by pressurized liquid extraction. *Journal of Applied Phycology*, *33*(2), 1195–1207. https://doi.org/10.1007/s10811-020-02362-3

Tierney, M. S., Smyth, T. J., Hayes, M., Soler-Vila, A., Croft, A. K., & Brunton, N. (2013). Influence of pressurised liquid extraction and solid–liquid extraction methods on the phenolic content and antioxidant activities of I rish macroalgae. *International Journal of Food Science & Technology*, *48*(4), 860–869.

Toker, O. S., Dogan, M., Ersöz, N. B., & Yilmaz, M. T. (2013). Optimization of the content of 5-hydroxymethylfurfural (HMF) formed in some molasses types: HPLC-DAD analysis to determine effect of different storage time and temperature levels. *Industrial Crops and Products*, *50*, 137–144.

ULBRICHT, R. J., NORTHUP, S. J., & THOMAS, J. A. (1984). A Review of 5-

Hydroxymethylfurfural (HMF) in Parenteral Solutions. *Toxicological Sciences*, *4*(5), 843–853. https://doi.org/10.1093/toxsci/4.5.843

Vilcanqui, Y., Mamani-Apaza, L. O., Flores, M., Ortiz-Viedma, J., Romero, N., Mariotti-Celis, M. S., & Huamán-Castilla, N. L. (2021). Chemical characterization of brown and red seaweed from southern peru, a sustainable source of bioactive and nutraceutical compounds. *Agronomy*, *11*(8). https://doi.org/10.3390/agronomy11081669

Vo Dinh, T., Saravana, P. S., Woo, H. C., & Chun, B. S. (2018). Ionic liquid-assisted subcritical water enhances the extraction of phenolics from brown seaweed and its antioxidant activity. *Separation and Purification Technology*, *196*, 287–299. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.seppur.2017.06.009

Wilson, A. M., Work, T. M., Bushway, A. A., & Bushway, R. J. (1981). HPLC determination of fructose, glucose, and sucrose in potatoes. *Journal of Food Science*, *46*(1), 300–301.

World Health Organization. (2023). *Noncommunicable diseases*. https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/noncommunicable-diseases

Yu, J., Ahmedna, M., & Bansode, R. R. (2014). *Agricultural by-products as important food sources of polyphenols*. Nova Science Publishers, Inc.

Zakaria, S. M., & Kamal, S. M. M. (2016). Subcritical water extraction of bioactive compounds from plants and algae: Applications in pharmaceutical and food ingredients. *Food Engineering Reviews*, *8*, 23–34.

Zhang, Y., Xu, M., Þorkelsson, G., & Aðalbjörnsson, B. V. (2022). Comparative monosaccharide profiling for taxon differentiation: An example of Icelandic edible seaweeds. *Biochemical Systematics and Ecology*, *104*, 104485. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.bse.2022.104485

VIII. ANEXOS

Anexo 1

Panel fotográfico

Figura 28

Muestras liofilizadas



Figura 29

Reducción de tamaño de partícula y tamizado a 0,5 mm

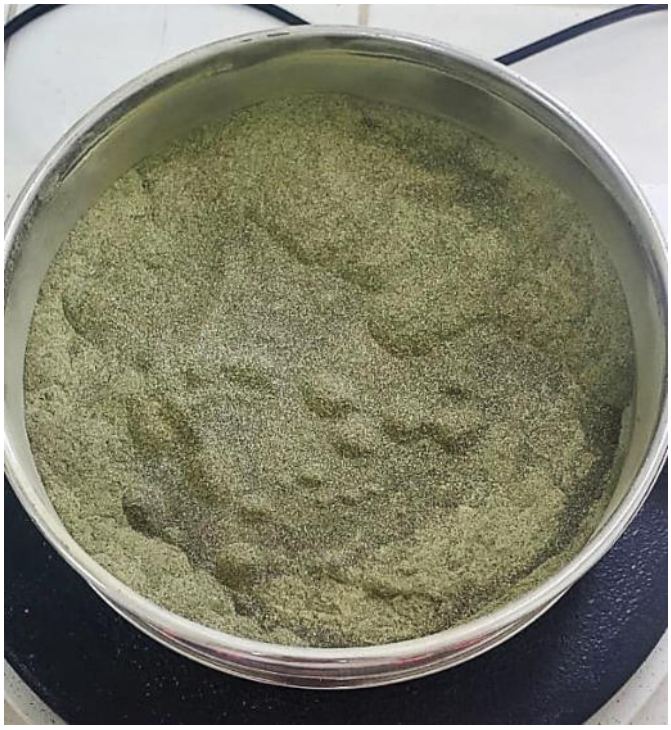


Figura 30

Preparación de celda de extracción



Figura 31

Extracción de compuestos fenólicos mediante líquidos presurizados



Figura 32

Filtrado de extractos



Figura 33

Rotavaporación de extractos



Figura 34

Creación de curva de calibración para determinación de polifenoles totales

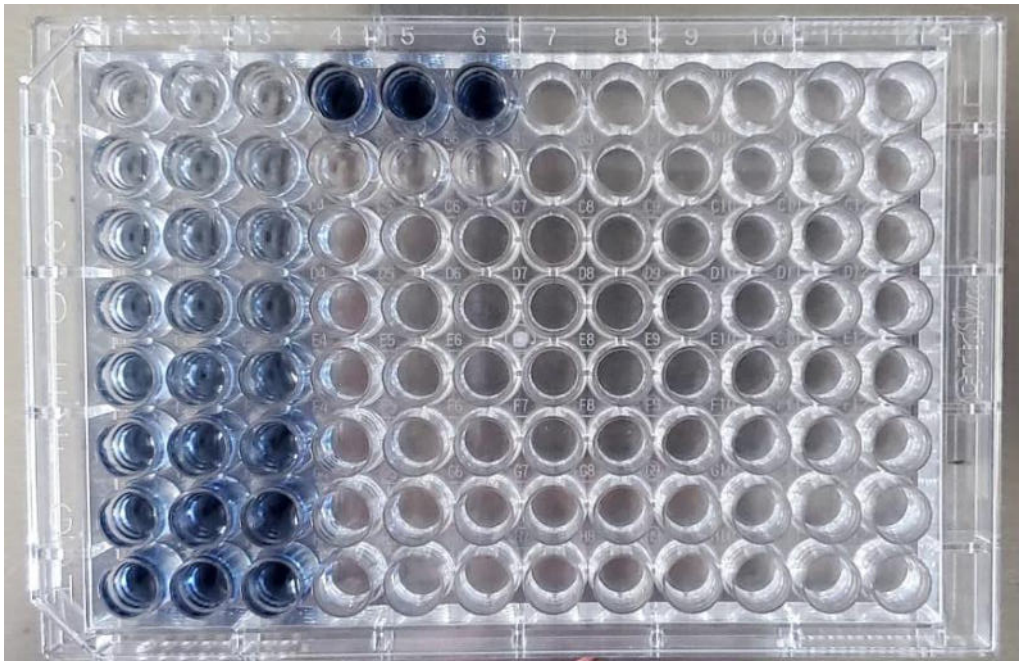


Figura 35

Análisis de capacidad antioxidante mediante método 2,2-difenil-1-pricilhidracilo

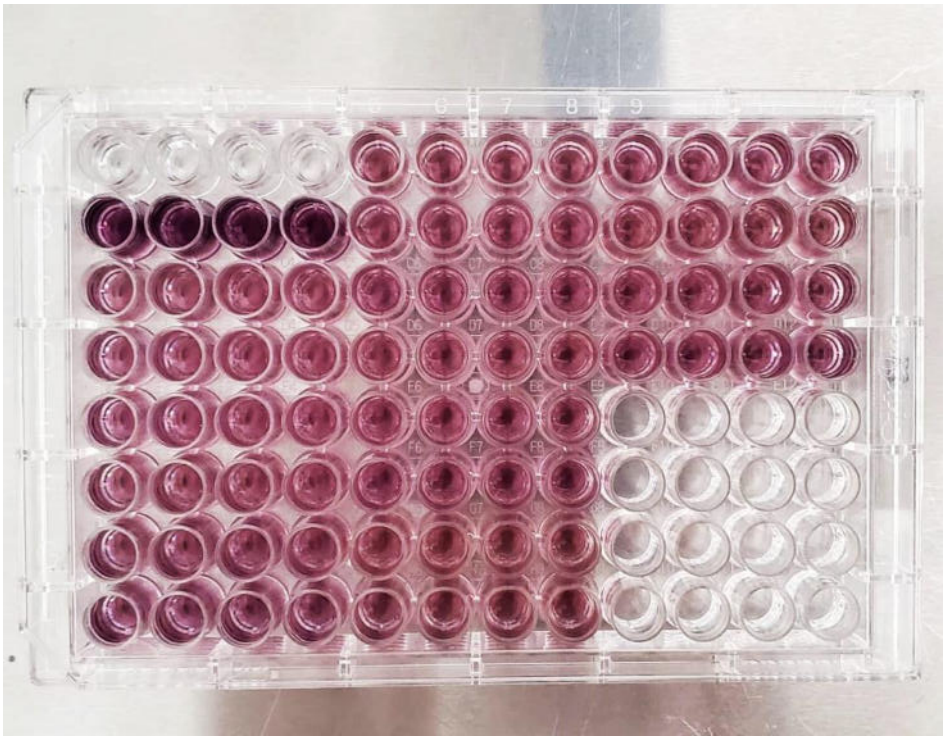


Figura 36

Pruebas de dilución de muestra para análisis de capacidad antioxidante por el método 2,2-difenil-1-picrilhidracilo

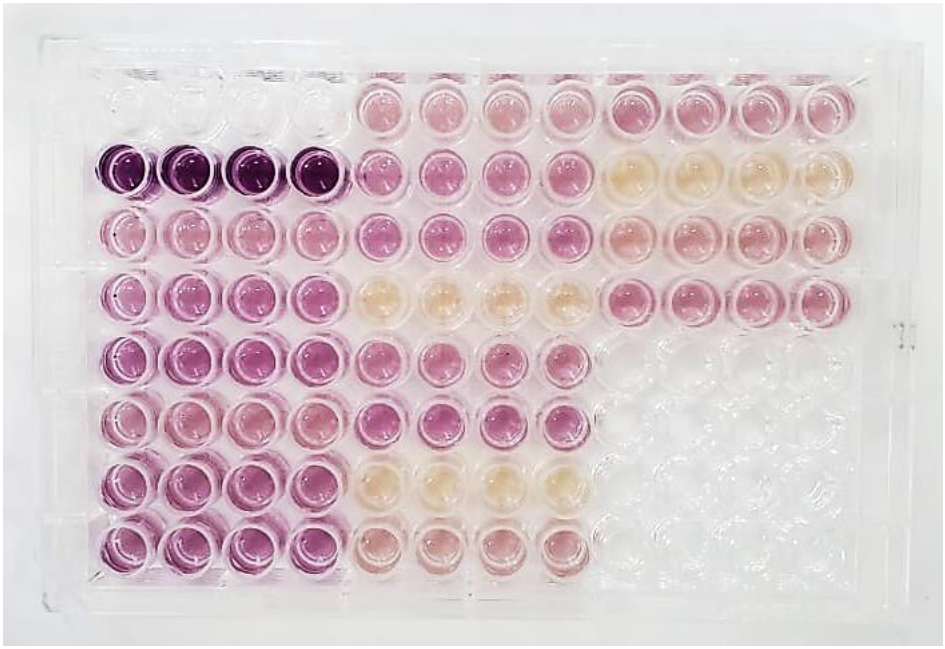


Figura 37

Análisis de Capacidad de Absorción de Radicales de Oxígeno con lector de microplacas Fluoroskan



Figura 38

Extracción en fase sólida



Figura 39

Retención de polifenoles en cartuchos en la extracción en fase sólida

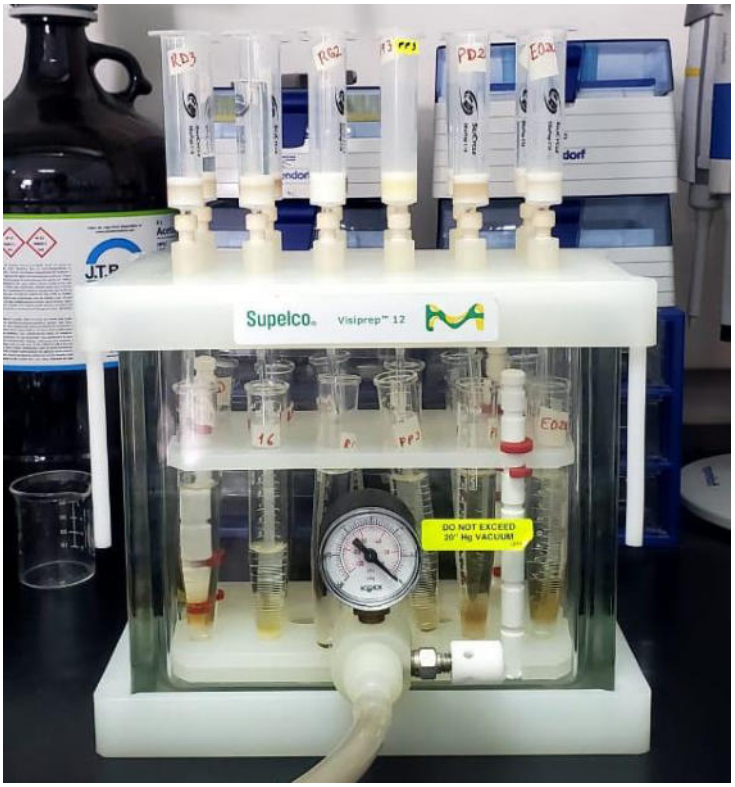


Figura 40

Concentración de muestras con evaporador de nitrógeno



Figura 41

Viales en el Cromatógrafo Líquido de Alta Resolución

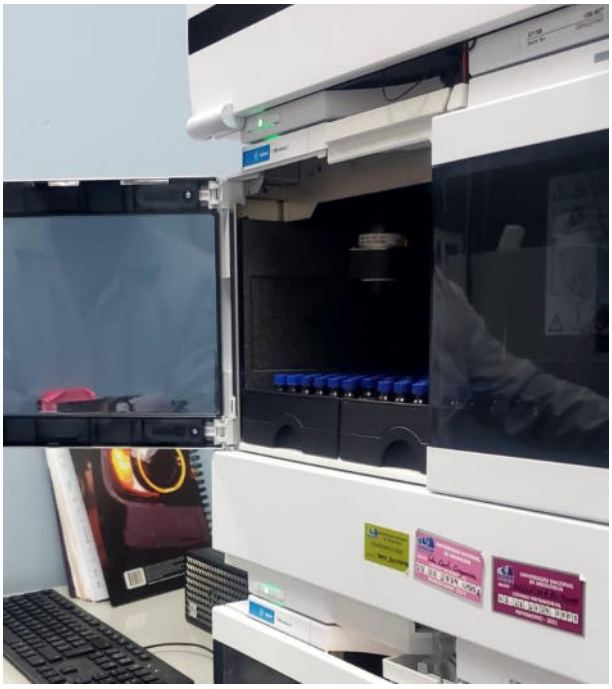


Figura 42

Columna cromatográfica

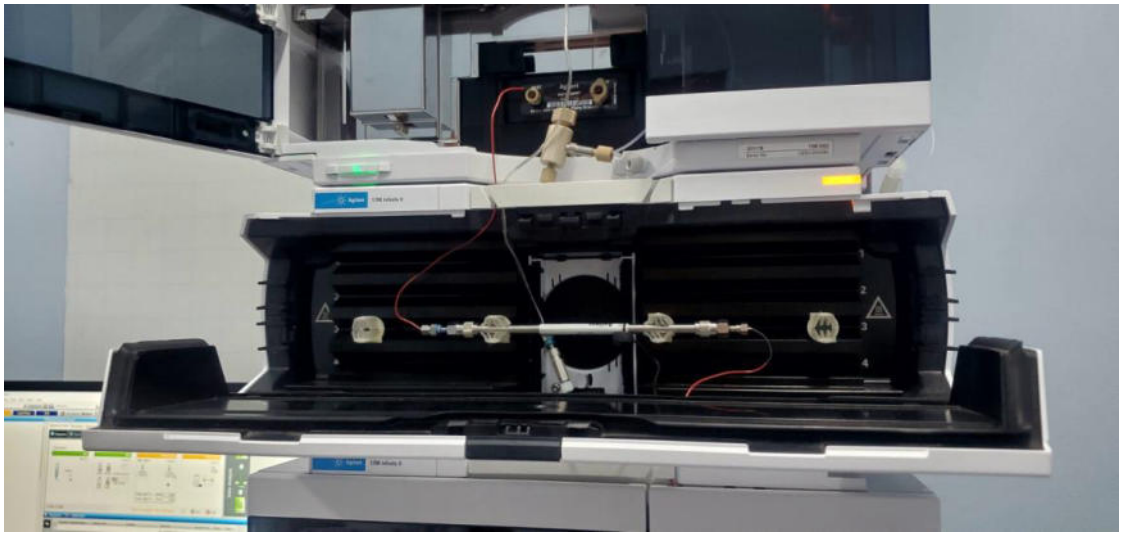
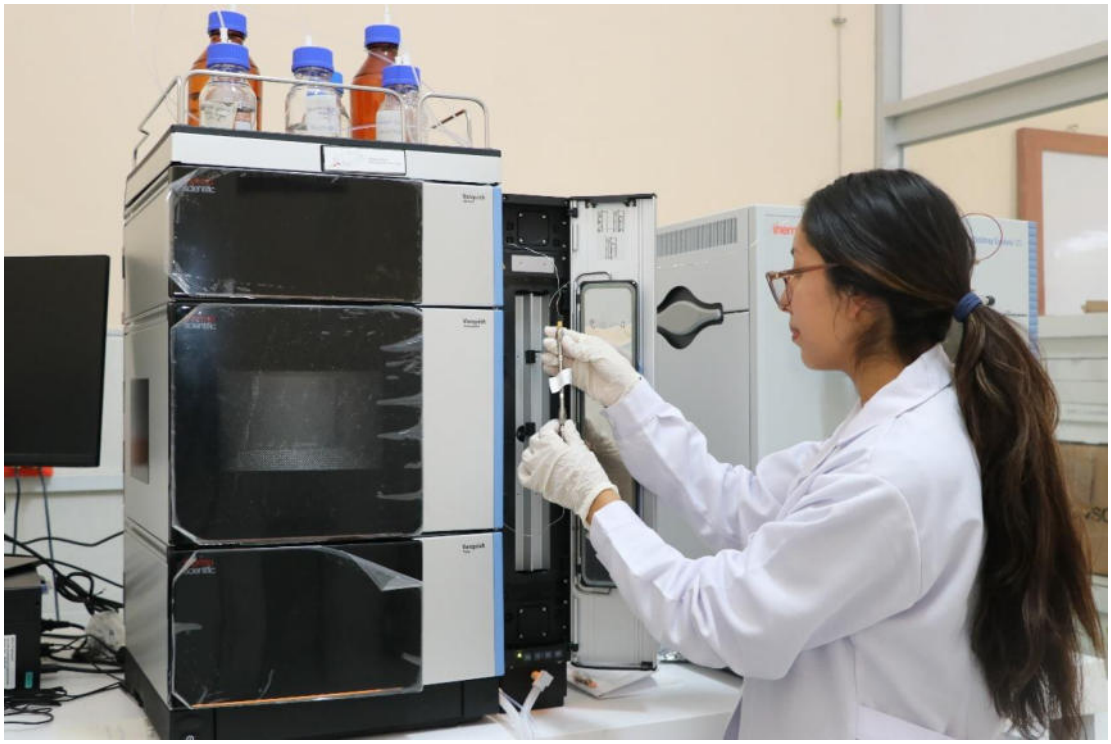


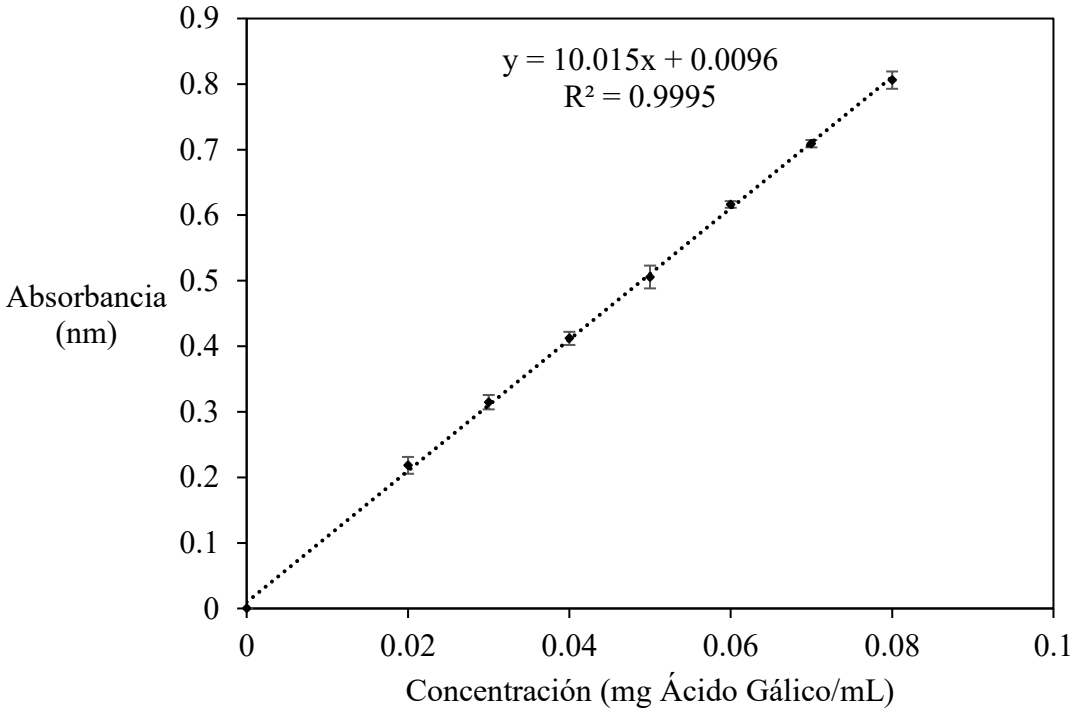
Figura 43

Manejo del cromatógrafo líquido de alta resolución



Anexo 2

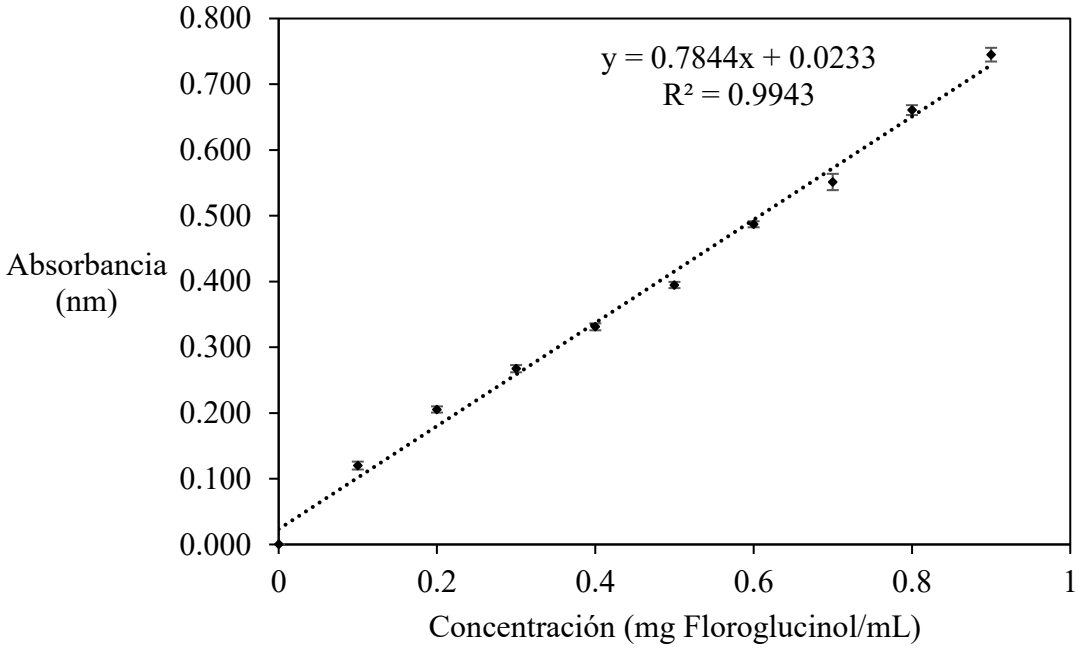
Curva estándar de Ácido Gálico



Punto de calibración	Concentración (mg Ácido Gálico/mL)	Absorbancia (nm)
1	0	0
2	0,02	0,218 ± 0,059
3	0,03	0,315 ± 0,035
4	0,04	0,412 ± 0,024
5	0,05	0,506 ± 0,034
6	0,06	0,616 ± 0,008
7	0,07	0,709 ± 0,008
8	0,08	0,806 ± 0,016

Anexo 3

Curva estándar de floroglucinol



Punto de calibración	Concentración (mg Floroglucinol/mL)	Absorbancia (nm)
1	0	0
2	0,1	0,120 ± 0,050
3	0,2	0,205 ± 0,023
4	0,3	0,267 ± 0,021
5	0,4	0,331 ± 0,016
6	0,5	0,395 ± 0,012
7	0,6	0,487 ± 0,009
8	0,7	0,551 ± 0,023
9	0,8	0,661 ± 0,011
10	0,9	0,745 ± 0,014

Anexo 4

Resultados de polifenoles totales y capacidad antioxidante

Tabla 7

Cuantificación de polifenoles totales equivalentes de ácido gálico de los extractos de algas marinas pardas

Concentración de Etanol (%)	Temperatura (°C)					
	90		120		150	
	mg EAG/gbs					
	X	CV	X	CV	X	CV
0	2,03 ^{a,A}	± 3,01	2,26 ^{a,A}	± 3,44	4,13 ^{a,B}	± 0,46
15	2,4 ^{a,A}	± 2,65	3,91 ^{b,B}	± 5,66	5,42 ^{b,C}	± 7,74
30	4,32 ^{b,A}	± 1,85	5,31 ^{c,B}	± 1,24	7,57 ^{c,C}	± 0,53

Nota. EAG: Equivalente de Ácido Gálico, gbs: gramos en base seca, X: Promedio, CV: Coeficiente de variación. Las letras minúsculas representan diferencias significativas ($p < 0.05$) por columna y las letras mayúsculas representan diferencias significativas ($p < 0.05$) por fila.

Tabla 8

Cuantificación de polifenoles totales equivalentes de floroglucinol de los extractos de algas marinas pardas

Concentración de Etanol (%)	Temperatura (°C)					
	90		120		150	
	mg EFG/gbs					
	X	CV	X	CV	X	CV
0	7,13 ^{a,A}	± 3,79	10,26 ^{a,B}	± 4,04	13,4 ^{a,C}	± 7,62
15	8,21 ^{a,A}	± 5,05	12 ^{b,B}	± 6,56	18,09 ^{b,C}	± 0,10
30	11,05 ^{b,A}	± 5,28	11,72 ^{b,A}	± 2,21	17,81 ^{b,B}	± 0,64

Nota. EFG: Equivalente de Floroglucinol, gbs: gramos en base seca, X: Promedio, CV: Coeficiente de variación. Las letras en minúscula representan diferencias significativas

($p < 0,05$) entre tratamientos por columna y las letras en mayúscula representan diferencias significativas ($p < 0,05$) entre tratamientos por fila.

Tabla 9

Valores de concentración inhibitoria media en los extractos de algas marinas pardas

Concentración de Etanol (%)	Temperatura (°C)					
	90		120		150	
	mg/mL					
	X	CV	X	CV	X	CV
0	1,25 ^{a,A}	± 0,28	0,79 ^{a,B}	± 1,43	0,67 ^{a,C}	± 3,05
15	1,11 ^{b,A}	± 0,70	0,72 ^{b,B}	± 2,15	0,34 ^{b,C}	± 0,62
30	0,72 ^{c,A}	± 3,47	0,70 ^{b,A}	± 2,41	0,45 ^{c,B}	± 1,42

Nota. X: Promedio, CV: Coeficiente de variación. Las letras minúsculas representan diferencias significativas ($p < 0.05$) por columna y las letras mayúsculas representan diferencias significativas ($p < 0.05$) por fila.

Tabla 10

Capacidad antioxidante mediante método de Capacidad de absorción de radicales de oxígeno en extractos de algas marinas pardas

Concentración de Etanol (%)	Temperatura (°C)					
	90		120		150	
	µmol ET/gbs					
	X	CV	X	CV	X	CV
0	35,23 ^{a,A}	± 4,79	83,88 ^{a,B}	± 0,23	103,66 ^{a,C}	± 1,03
15	45,81 ^{b,A}	± 1,76	86,43 ^{a,B}	± 0,83	149,56 ^{b,C}	± 0,34
30	56,73 ^{c,A}	± 2,03	86,51 ^{a,B}	± 2,22	129,66 ^{c,C}	± 2,07

Nota. X: Promedio, CV: Coeficiente de variación. Las letras minúsculas representan diferencias significativas ($p < 0.05$) por columna y las letras mayúsculas representan diferencias significativas ($p < 0.05$) por fila.

Anexo 5

Resultados de mejor tratamiento por extracción con líquidos presurizados vs. extracción convencional

Tabla 11

Comparación entre método alternativo y convencional

Método de extracción	EFG (mg EFG/gbs)		EAG (mg EAG/gbs)		IC_{50} (mg/mL)		ORAC (µmol ET/gbs)	
	X	CV	X	CV	X	CV	X	CV
A	18,09 a ± 0,1		5,42 a ± 7,7		0,34 a ± 0,6		149,56 a ± 0,3	
B	8,45 b ± 0,3		3,06 b ± 4,2		1,1 b ± 0,9		35,23 b ± 1,2	
C	4,75 c ± 1,3		1,27 c ± 0,7		2,72 c ± 3,5		26,42 c ± 2,6	

Nota. A: Método de extracción por líquidos presurizados 15% de etanol a 150 °C, B: Método convencional con acetona 60%, C: Método convencional con metanol al 60%, EFG: Equivalentes de floroglucinol, EAG: Equivalentes de ácido gálico, gbs: gramo en base seca

Anexo 6

Perfil de polifenoles

Método de extracción	**ELP**																**ESL**		**ESL**	
Temperatura (°C)	**90**						**120**						**150**				**30**		**30**	
Concentración de solvente (%)	**Etanol**																**Acetona**		**Metanol**	
	0		**15**		**30**		**0**		**15**		**30**		**0**		**15**		**30**		**60**		**60**	
	X	**CV**	**X**	**CV**	**X**	**CV**	**X**	**CV**	**X**	**CV**	**X**	**CV**	**X**	**CV**	**X**	**CV**	**X**	**CV**	**X**	**CV**	**X**	**CV**
∑ de Polifenoles específicos (µg/g)	0,46		0,68		0,63		1,20		1,41		0,99		4,17		3,2		1,23		0,28		0,49	
Ácidos fenólicos	ND		ND		ND		ND		0.23		0.18		1.49		1.12		ND		ND		ND	
Ácido vanílico	ND		ND		ND		ND		0.23 ± 7.70		0.18 ± 13.02		1.49 ± 2.07		1.12 ± 7.37		ND		ND		ND	
Flavanoles	0.32		0.54		0.40		1.00		0.96		0.55		2.13		1.70		0.89		0.22		0.16	
Catequina	0.08 ± 4.30		0.09 ± 4.42		0.13 ± 5.76		0.09 ± 3.73		0.09 ± 5.48		0.11 ± 3.35		0.89 ± 3.58		0.50 ± 4.26		0.50 ± 4.17		0.06 ± 5.33		ND	
Epicatequina	ND		0.26 ± 3.22		ND		0.27 ± 2.88		0.27 ± 3.07		ND		0.27 ± 2.13		ND		ND		ND		ND	
Procianidina A2	0.05 ± 2.02		0.04 ± 3.63		0.07 ± 7.58		0.08 ± 2.52		0.07 ± 4.93		0.08 ± 4.36		0.10 ± 3.20		0.11 ± 11.11		0.10 ± 3.02		0.001 ± 2.46		0.003 ± 3.21	
Procianidina B2	0.19 ± 2.45		0.15 ± 3.24		0.20 ± 5.50		0.56 ± 5.14		0.53 ± 4.25		0.36 ± 3.69		0.87 ± 3.04		1.09 ± 13.16		0.29 ± 3.08		0.16 ± 3.41		0.16 ± 6.90	
Flavonoles	0.14		0.14		0.23		0.20		0.22		0.26		0.55		0.38		0.34		0.06		0.33	
Kaempferol	0.14 ± 4.91		0.13 ± 6.46		0.23 ± 8.54		0.20 ± 4.59		0.22 ± 5.89		0.26 ± 4.90		0.23 ± 5.05		0.25 ± 5.47		0.34 ± 7.50		0.06 ± 7.14		0.14 ± 8.05	
Quercitrina	0.002 ± 13.84		0.01 ± 10.96		ND		ND		ND		ND		0.08 ± 6.38		0.13 ± 5.49		ND		0.003 ± 9.98		0.01 ± 6.66	
Rutina	ND		ND		ND		ND		ND		ND		0.24 ± 4.94		ND		ND		ND		0.18 ± 3.30	

Nota. ND: No detectado; ELP: Extracción por líquidos presurizados; ESL: Extracción sólido-líquido, X: Promedio, CV: Coeficiente de variación, ∑: Sumatoria

Anexo 7

Cuantificación de compuestos interferentes

Tabla 12

Influencia de la temperatura y solvente en la recuperación de glucosa

Concentración de etanol (%)	Temperatura (°C)					
	90		120		150	
	Glucosa (mg/mL)					
	X	CV	X	CV	X	CV
0	15,04 ^{aA}	± 3,64	16,02 ^{aA}	± 8,22	24,53 ^{aB}	± 17,89
15	13,45 ^{aA}	± 6,92	14,3 ^{aA}	± 26,11	9,94 ^{bA}	± 1,72
30	10,81 ^{aA}	± 3,13	11,58 ^{aA}	± 8,22	8,64 ^{bA}	± 2,39

Nota. X: Promedio, CV: Coeficiente de variación. Las letras minúsculas representan diferencias significativas ($p < 0.05$) por columna y las letras mayúsculas representan diferencias significativas ($p < 0.05$) por fila.

Tabla 13

Influencia de la temperatura y solvente en la recuperación de fructosa

Concentración de etanol (%)	Temperatura (°C)					
	90		120		150	
	Fructosa (mg/mL)					
	X	CV	X	CV	X	CV
0	11,2 ^{aA}	± 3,15	13,86 ^{aB}	± 3,15	18,68 ^{aC}	± 3,15
15	10,81 ^{aA}	± 8,07	9,98 ^{bA}	± 1,63	8,52 ^{bA}	± 6,27
30	8,19 ^{bA}	± 5,65	7,29 ^{cA}	± 5,50	6,52 ^{bA}	± 18,27

Nota. X: Promedio, CV: Coeficiente de variación. Las letras minúsculas representan diferencias significativas ($p < 0.05$) por columna y las letras mayúsculas representan diferencias significativas ($p < 0.05$) por fila.

Tabla 14

Influencia de la temperatura y solvente en la recuperación de hidroximetilfurfural

Concentración de etanol (%)	Temperatura (°C)					
	90		120		150	
	Hidroximetilfurfural (µg/mL)					
	X	CV	X	CV	X	CV
0	0 ^{aA}		25,25 ^{aB}	± 16,25	43,7 ^{aC}	± 9,27
15	0 ^{aA}		0 ^{bA}		33,14 ^{bB}	± 6,27
30	0 ^{aA}		0 ^{bA}		22,72 ^{cB}	± 6,92

Nota. X: Promedio, CV: Coeficiente de variación. Las letras minúsculas representan diferencias significativas ($p < 0.05$) por columna y las letras mayúsculas representan diferencias significativas ($p < 0.05$) por fila.

Anexo 8

Análisis de varianza multifactorial

Tabla 15

Análisis de varianza para polifenoles totales equivalentes de ácido gálico

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFECTOS PRINCIPALES					
A: Temperatura	24.3406	2	12.1703	436.84	0.0000
B: Etanol	26.2449	2	13.1225	471.02	0.0000
INTERACCIONES					
AB	1.24737	4	0.311843	11.19	0.0015
RESIDUOS	0.250737	9	0.0278596		
TOTAL (CORREGIDO)	52.0836	17			

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual

Pruebas de Múltiple Rangos para Polifenoles Totales EAG por Temperatura

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

Temperatura	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
90	6	2.91583	0.0681415	X
120	6	3.82567	0.0681415	X
150	6	5.70833	0.0681415	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
90 - 120	*	-0.909833	0.269026
90 - 150	*	-2.7925	0.269026
120 - 150	*	-1.88267	0.269026

* indica una diferencia significativa.

Pruebas de Múltiple Rangos para Polifenoles Totales EAG por Etanol

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

Etanol	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
0	6	2.80717	0.0681415	X
15	6	3.90767	0.0681415	X
30	6	5.735	0.0681415	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
0 - 15	*	-1.1005	0.269026
0 - 30	*	-2.92783	0.269026
15 - 30	*	-1.82733	0.269026

* indica una diferencia significativa.

Tabla de Medias por Mínimos Cuadrados para Polifenoles Totales EAG con intervalos de confianza del 95.0%

Nivel	Casos	Media	Error Est.	Límite Inferior	Límite Superior
MEDIA GLOBAL	18	4.14994			
Temperatura					
90	6	2.91583	0.0681415	2.76169	3.06998
120	6	3.82567	0.0681415	3.67152	3.97981
150	6	5.70833	0.0681415	5.55419	5.86248
Etanol					
0	6	2.80717	0.0681415	2.65302	2.96131
15	6	3.90767	0.0681415	3.75352	4.06181
30	6	5.735	0.0681415	5.58085	5.88915
Temperatura por Etanol					
90,0	2	2.031	0.118025	1.76401	2.29799
90,15	2	2.3955	0.118025	2.12851	2.66249
90,30	2	4.321	0.118025	4.05401	4.58799
120,0	2	2.256	0.118025	1.98901	2.52299
120,15	2	3.9115	0.118025	3.64451	4.17849
120,30	2	5.3095	0.118025	5.04251	5.57649
150,0	2	4.1345	0.118025	3.86751	4.40149
150,15	2	5.416	0.118025	5.14901	5.68299
150,30	2	7.5745	0.118025	7.30751	7.84149

Tabla 16

Análisis de varianza para Polifenoles Totales equivalentes de floroglucinol

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFECTOS PRINCIPALES					
A: Temperatura	181.828	2	90.9138	326.95	0.0000
B: Etanol	34.9206	2	17.4603	62.79	0.0000
INTERACCIONES					
AB	12.5924	4	3.1481	11.32	0.0015
RESIDUOS	2.50256	9	0.278062		
TOTAL (CORREGIDO)	231.843	17			

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual

Pruebas de Múltiple Rangos para Polifenoles Totales EFG por Temperatura

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

Temperatura	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
90	6	8.79333	0.215276	X
120	6	11.3288	0.215276	X
150	6	16.4357	0.215276	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
90 - 120	*	-2.5355	0.849919
90 - 150	*	-7.64233	0.849919
120 - 150	*	-5.10683	0.849919

* indica una diferencia significativa.

Pruebas de Múltiple Rangos para Polifenoles Totales EFG por Etanol

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

Etanol	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
0	6	10.2652	0.215276	X
15	6	12.7682	0.215276	X
30	6	13.5245	0.215276	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
0 - 15	*	-2.503	0.849919
0 - 30	*	-3.25933	0.849919
15 - 30		-0.756333	0.849919

* indica una diferencia significativa.

Tabla de Medias por Mínimos Cuadrados para Polifenoles Totales EFG con intervalos de confianza del 95.0%

Nivel	Casos	Media	Error Est.	Límite Inferior	Límite Superior
MEDIA GLOBAL	18	12.1859			
Temperatura					
90	6	8.79333	0.215276	8.30634	9.28032
120	6	11.3288	0.215276	10.8418	11.8158
150	6	16.4357	0.215276	15.9487	16.9227
Etanol					
0	6	10.2652	0.215276	9.77818	10.7522
15	6	12.7682	0.215276	12.2812	13.2552
30	6	13.5245	0.215276	13.0375	14.0115
Temperatura por Etanol					
90,0	2	7.1275	0.372869	6.28401	7.97099
90,15	2	8.207	0.372869	7.36351	9.05049
90,30	2	11.0455	0.372869	10.202	11.889
120,0	2	10.2635	0.372869	9.42001	11.107
120,15	2	12.006	0.372869	11.1625	12.8495
120,30	2	11.717	0.372869	10.8735	12.5605
150,0	2	13.4045	0.372869	12.561	14.248
150,15	2	18.0915	0.372869	17.248	18.935
150,30	2	17.811	0.372869	16.9675	18.6545

Tabla 17

Análisis de varianza para Capacidad Antioxidante por el método 2,2-difenil-1-picrilhidracilo

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFECTOS PRINCIPALES					
A: Temperatura	0.870013	2	0.435007	2134.71	0.0000
B: Etanol	0.240681	2	0.120341	590.55	0.0000
INTERACCIONES					
AB	0.174418	4	0.0436045	213.98	0.0000
RESIDUOS	0.001834	9	0.000203778		
TOTAL (CORREGIDO)	1.28695	17			

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual

Pruebas de Múltiple Rangos para IC_{50} por Temperatura

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

Temperatura	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
150	6	0.485833	0.00582778	X
120	6	0.734333	0.00582778	X
90	6	1.02383	0.00582778	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
90 - 120	*	0.2895	0.0230083
90 - 150	*	0.538	0.0230083
120 - 150	*	0.2485	0.0230083

* indica una diferencia significativa.

Pruebas de Múltiple Rangos para IC_{50} por Etanol

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

Etanol	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
30	6	0.6215	0.00582778	X
15	6	0.7215	0.00582778	X
0	6	0.901	0.00582778	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
0 - 15	*	0.1795	0.0230083
0 - 30	*	0.2795	0.0230083
15 - 30	*	0.1	0.0230083

* indica una diferencia significativa.

Tabla de Medias por Mínimos Cuadrados para IC_{50} con intervalos de confianza del 95.0%

Nivel	Casos	Media	Error Est.	Límite Inferior	Límite Superior
MEDIA GLOBAL	18	0.748			
Temperatura					
90	6	1.02383	0.00582778	1.01065	1.03702
120	6	0.734333	0.00582778	0.72115	0.747517
150	6	0.485833	0.00582778	0.47265	0.499017
Etanol					
0	6	0.901	0.00582778	0.887817	0.914183
15	6	0.7215	0.00582778	0.708317	0.734683
30	6	0.6215	0.00582778	0.608317	0.634683
Temperatura por Etanol					
90,0	2	1.2455	0.010094	1.22267	1.26833
90,15	2	1.106	0.010094	1.08317	1.12883
90,30	2	0.72	0.010094	0.697166	0.742834
120,0	2	0.791	0.010094	0.768166	0.813834
120,15	2	0.715	0.010094	0.692166	0.737834
120,30	2	0.697	0.010094	0.674166	0.719834
150,0	2	0.6665	0.010094	0.643666	0.689334
150,15	2	0.3435	0.010094	0.320666	0.366334
150,30	2	0.4475	0.010094	0.424666	0.470334

Tabla 18

Análisis de varianza para Capacidad Antioxidante por el método de capacidad de absorción de radicales de oxígeno

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFECTOS PRINCIPALES					
A: Temperatura	20033.2	2	10016.6	5099.56	0.0000
B: Etanol	1350.47	2	675.237	343.77	0.0000
INTERACCIONES					
AB	1240.39	4	310.097	157.87	0.0000
RESIDUOS	17.6779	9	1.96421		
TOTAL (CORREGIDO)	22641.8	17			

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual

Pruebas de Múltiple Rangos para ORAC por Temperatura

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

Temperatura	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
90	6	45.9218	0.572161	X
120	6	85.6078	0.572161	X
150	6	127.628	0.572161	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
90 - 120	*	-39.686	2.25892
90 - 150	*	-81.7063	2.25892
120 - 150	*	-42.0203	2.25892

* indica una diferencia significativa.

Pruebas de Múltiple Rangos para ORAC por Etanol

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

Etanol	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
0	6	74.2567	0.572161	X
30	6	90.9673	0.572161	X
15	6	93.9338	0.572161	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
0 - 15	*	-19.6772	2.25892
0 - 30	*	-16.7107	2.25892
15 - 30	*	2.9665	2.25892

* indica una diferencia significativa.

Tabla de Medias por Mínimos Cuadrados para ORAC con intervalos de confianza del 95.0%

Nivel	Casos	Media	Error Est.	Límite Inferior	Límite Superior
MEDIA GLOBAL	18	86.3859			
Temperatura					
90	6	45.9218	0.572161	44.6275	47.2162
120	6	85.6078	0.572161	84.3135	86.9022
150	6	127.628	0.572161	126.334	128.922
Etanol					
0	6	74.2567	0.572161	72.9623	75.551
15	6	93.9338	0.572161	92.6395	95.2282
30	6	90.9673	0.572161	89.673	92.2617
Temperatura por Etanol					
90,0	2	35.225	0.991012	32.9832	37.4668
90,15	2	45.8085	0.991012	43.5667	48.0503
90,30	2	56.732	0.991012	54.4902	58.9738
120,0	2	83.8845	0.991012	81.6427	86.1263
120,15	2	86.431	0.991012	84.1892	88.6728
120,30	2	86.508	0.991012	84.2662	88.7498
150,0	2	103.661	0.991012	101.419	105.902
150,15	2	149.562	0.991012	147.32	151.804
150,30	2	129.662	0.991012	127.42	131.904

Tabla 19

Análisis de varianza para Glucosa

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFECTOS PRINCIPALES					
A: Etanol (%)	214.913	2	107.457	25.98	0.0002
B: Temperatura (°C)	5.03914	2	2.51957	0.61	0.5648
INTERACCIONES					
AB	134.517	4	33.6291	8.13	0.0047
RESIDUOS	37.2319	9	4.13688		
TOTAL (CORREGIDO)	391.701	17			

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual

Pruebas de Múltiple Rangos para Glucosa por Temperatura

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

Temperatura (°C)	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
90	6	13.1	0.830349	X
120	6	13.965	0.830349	X
150	6	14.3683	0.830349	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
90 - 120		-0.865	3.27825
90 - 150		-1.26833	3.27825
120 - 150		-0.403333	3.27825

* indica una diferencia significativa.

Pruebas de Múltiple Rangos para Glucosa por Etanol

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

Etanol (%)	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
30	6	10.3433	0.830349	X
15	6	12.5633	0.830349	X
0	6	18.5267	0.830349	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
0 - 15	*	5.96333	3.27825
0 - 30	*	8.18333	3.27825
15 - 30		2.22	3.27825

* indica una diferencia significativa.

Tabla de Medias por Mínimos Cuadrados para Glucosa (mg/mL) con intervalos de confianza del 95.0%

Nivel	Casos	Media	Error Est.	Límite Inferior	Límite Superior
MEDIA GLOBAL	18	13.8111			
Etanol (%)					
0	6	18.5267	0.830349	16.6483	20.4051
15	6	12.5633	0.830349	10.6849	14.4417
30	6	10.3433	0.830349	8.46495	12.2217
Temperatura (°C)					
90	6	13.1	0.830349	11.2216	14.9784
120	6	13.965	0.830349	12.0866	15.8434
150	6	14.3683	0.830349	12.4899	16.2467
Etanol (%) por Temperatura (°C)					
0,90	2	15.04	1.43821	11.7865	18.2935
0,120	2	16.015	1.43821	12.7615	19.2685
0,150	2	24.525	1.43821	21.2715	27.7785
15,90	2	13.45	1.43821	10.1965	16.7035
15,120	2	14.3	1.43821	11.0465	17.5535
15,150	2	9.94	1.43821	6.68654	13.1935
30,90	2	10.81	1.43821	7.55654	14.0635
30,120	2	11.58	1.43821	8.32654	14.8335
30,150	2	8.64	1.43821	5.38654	11.8935

Tabla 20

Análisis de varianza para Fructosa

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFECTOS PRINCIPALES					
A: Temperatura (°C)	4.4499	2	2.22495	5.67	0.0255
B: Etanol (%)	163.256	2	81.6278	207.92	0.0000
INTERACCIONES					
AB	61.2054	4	15.3013	38.98	0.0000
RESIDUOS	3.5333	9	0.392589		
TOTAL (CORREGIDO)	232.444	17			

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual

Pruebas de Múltiple Rangos para Fructosa (mg/mL) por Temperatura (°C)

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

Temperatura (°C)	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
90	6	10.065	0.255796	X
120	6	10.375	0.255796	XX
150	6	11.24	0.255796	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
90 - 120		-0.31	1.00989
90 - 150	*	-1.175	1.00989
120 - 150		-0.865	1.00989

* indica una diferencia significativa.

Pruebas de Múltiple Rangos para Fructosa (mg/mL) por Etanol (%)

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

Etanol (%)	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
30	6	7.33167	0.255796	X
15	6	9.76833	0.255796	X
0	6	14.58	0.255796	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
0 - 15	*	4.81167	1.00989
0 - 30	*	7.24833	1.00989
15 - 30	*	2.43667	1.00989

* indica una diferencia significativa.

Tabla de Medias por Mínimos Cuadrados para Fructosa (mg/mL) con intervalos de confianza del 95.0%

Nivel	Casos	Media	Error Est.	Límite Inferior	Límite Superior
MEDIA GLOBAL	18	10.56			
Temperatura (°C)					
90	6	10.065	0.255796	9.48635	10.6437
120	6	10.375	0.255796	9.79635	10.9537
150	6	11.24	0.255796	10.6613	11.8187
Etanol (%)					
0	6	14.58	0.255796	14.0013	15.1587
15	6	9.76833	0.255796	9.18968	10.347
30	6	7.33167	0.255796	6.75302	7.91032
Temperatura (°C) por Etanol (%)					
90,0	2	11.2	0.443051	10.1977	12.2023
90,15	2	10.81	0.443051	9.80775	11.8123
90,30	2	8.185	0.443051	7.18275	9.18725
120,0	2	13.86	0.443051	12.8577	14.8623
120,15	2	9.975	0.443051	8.97275	10.9773
120,30	2	7.29	0.443051	6.28775	8.29225
150,0	2	18.68	0.443051	17.6777	19.6823
150,15	2	8.52	0.443051	7.51775	9.52225
150,30	2	6.52	0.443051	5.51775	7.52225

Tabla 21

Análisis de varianza para Hidroximetilfurfural

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFECTOS PRINCIPALES					
A: Temperatura (°C)	3571.11	2	1785.55	402.40	0.0000
B: Etanol (%)	784.089	2	392.044	88.35	0.0000
INTERACCIONES					
AB	506.162	4	126.541	28.52	0.0000
RESIDUOS	39.9359	9	4.43732		
TOTAL (CORREGIDO)	4901.3	17			

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual

Pruebas de Múltiple Rangos para HMF (ug/mL) por Temperatura (°C)

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

Temperatura (°C)	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
90	6	0	0.859973	X
120	6	8.41667	0.859973	X
150	6	33.185	0.859973	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
90 - 120	*	-8.41667	3.39521
90 - 150	*	-33.185	3.39521
120 - 150	*	-24.7683	3.39521

* indica una diferencia significativa.

Pruebas de Múltiple Rangos para HMF (ug/mL) por Etanol (%)

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

Etanol (%)	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
30	6	7.57333	0.859973	X
15	6	11.045	0.859973	X
0	6	22.9833	0.859973	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
0 - 15	*	11.9383	3.39521
0 - 30	*	15.41	3.39521
15 - 30	*	3.47167	3.39521

* indica una diferencia significativa.

Tabla de Medias por Mínimos Cuadrados para HMF (ug/mL) con intervalos de confianza del 95.0%

Nivel	Casos	Media	Error Est.	Límite Inferior	Límite Superior
MEDIA GLOBAL	18	13.8672			
Temperatura (°C)					
90	6	0	0.859973	-1.9454	1.9454
120	6	8.41667	0.859973	6.47127	10.3621
150	6	33.185	0.859973	31.2396	35.1304
Etanol (%)					
0	6	22.9833	0.859973	21.0379	24.9287
15	6	11.045	0.859973	9.0996	12.9904
30	6	7.57333	0.859973	5.62794	9.51873
Temperatura (°C) por Etanol (%)					
90,0	2	0	1.48952	-3.36953	3.36953
90,15	2	0	1.48952	-3.36953	3.36953
90,30	2	0	1.48952	-3.36953	3.36953
120,0	2	25.25	1.48952	21.8805	28.6195
120,15	2	0	1.48952	-3.36953	3.36953
120,30	2	0	1.48952	-3.36953	3.36953
150,0	2	43.7	1.48952	40.3305	47.0695
150,15	2	33.135	1.48952	29.7655	36.5045
150,30	2	22.72	1.48952	19.3505	26.0895

Anexo 9

Comparación del mejor tratamiento en extracción por líquidos presurizados vs. tratamiento convencional

Tabla ANOVA para Polifenoles Totales EFG por Método de extracción

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	189.763	2	94.8814	66004.44	0.0000
Intra grupos	0.0043125	3	0.0014375		
Total (Corr.)	189.767	5			

Pruebas de Múltiple Rangos para Polifenoles Totales EFG por Método de extracción
Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

Nivel	Casos	Media	Grupos Homogéneos
C	2	4.75	X
B	2	8.45	X
A	2	18.0915	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
A - B	*	9.6415	0.158309
A - C	*	13.3415	0.158309
B - C	*	3.7	0.158309

* indica una diferencia significativa.

Tabla de Medias para EFG por Método de extracción con intervalos de confianza del 95.0%

Nivel	Casos	Media	Error Est. (s agrupada)	Límite Inferior	Límite Superior
A	2	18.0915	0.0268095	18.0312	18.1518
B	2	8.45	0.0268095	8.38967	8.51033
C	2	4.75	0.0268095	4.68967	4.81033
Total	6	10.4305			

Tabla ANOVA para Polifenoles Totales EAG por Método de extracción

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	17.3357	2	8.66785	135.80	0.0011
Intra grupos	0.191482	3	0.0638273		
Total (Corr.)	17.5272	5			

Pruebas de Múltiple Rangos para Polifenoles Totales EAG por Método de extracción
Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

Nivel	Casos	Media	Grupos Homogéneos
C	2	1.265	X
B	2	3.06	X
A	2	5.416	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
A - B	*	2.356	1.05489
A - C	*	4.151	1.05489
B - C	*	1.795	1.05489

* indica una diferencia significativa.

Tabla de Medias para EAG por Método de extracción con intervalos de confianza del 95.0%

Nivel	Casos	Media	Error Est. (s agrupada)	Límite Inferior	Límite Superior
A	2	5.416	0.178644	5.01399	5.81801
B	2	3.06	0.178644	2.65799	3.46201
C	2	1.265	0.178644	0.862992	1.66701
Total	6	3.247			

Tabla ANOVA para IC_{50} por Método de extracción

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	5.86969	2	2.93484	1017.34	0.0001
Intra grupos	0.0086545	3	0.00288483		
Total (Corr.)	5.87834	5			

Pruebas de Múltiple Rangos para IC_{50} por Método de extracción

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

Nivel	Casos	Media	Grupos Homogéneos
A	2	0.3435	X
B	2	1.1	X
C	2	2.715	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
A - B	*	-0.7565	0.224266
A - C	*	-2.3715	0.224266
B - C	*	-1.615	0.224266

* indica una diferencia significativa.

Tabla de Medias para IC_{50} por Método de extracción con intervalos de confianza del 95.0%

Nivel	Casos	Media	Error Est. (s agrupada)	Límite Inferior	Límite Superior
A	2	0.3435	0.0379792	0.258034	0.428966
B	2	1.1	0.0379792	1.01453	1.18547
C	2	2.715	0.0379792	2.62953	2.80047
Total	6	1.38617			

Tabla ANOVA para ORAC por Método de extracción

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	18875.6	2	9437.79	31459.30	0.0000
Intra grupos	0.9	3	0.3		
Total (Corr.)	18876.5	5			

Pruebas de Múltiple Rangos para ORAC por Método de extracción

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

Nivel	Casos	Media	Grupos Homogéneos
C	2	26.42	X
B	2	35.23	X
A	2	149.562	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
A - B	*	114.332	2.28699
A - C	*	123.142	2.28699
B - C	*	8.81	2.28699

* indica una diferencia significativa.

Tabla de Medias para ORAC por Método de extracción con intervalos de confianza del 95.0%

Nivel	Casos	Media	Error Est. (s agrupada)	Límite Inferior	Límite Superior
A	2	149.562	0.387298	148.69	150.434
B	2	35.23	0.387298	34.3585	36.1015
C	2	26.42	0.387298	25.5485	27.2915
Total	6	70.404			

Anexo 10

Gráficos de residuos vs. niveles de factor

Figura 44

Gráfico de residuos para Polifenoles Totales equivalentes de Floroglucinol vs. Etanol

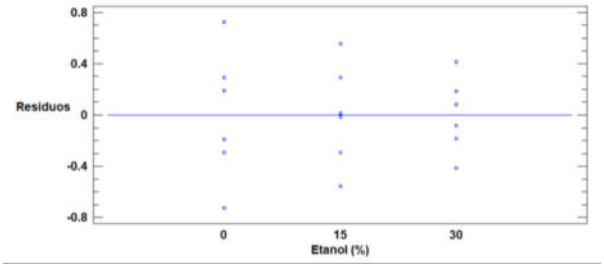


Figura 45

Gráfico de residuos para Polifenoles totales equivalente de Floroglucinol vs. Temperatura

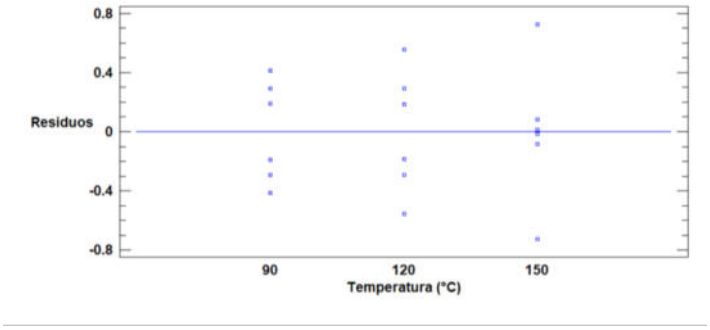


Figura 46

Gráfico de residuos para Polifenoles Totales equivalentes de Ácido Gálico vs. Etanol

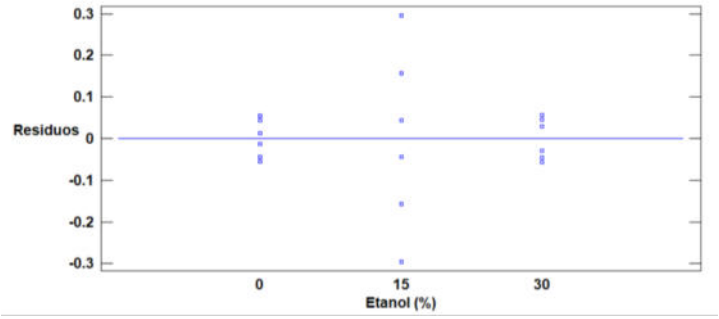


Figura 47

Gráfico de residuos para Polifenoles Totales equivalentes de Ácido Gálico vs. Temperatura

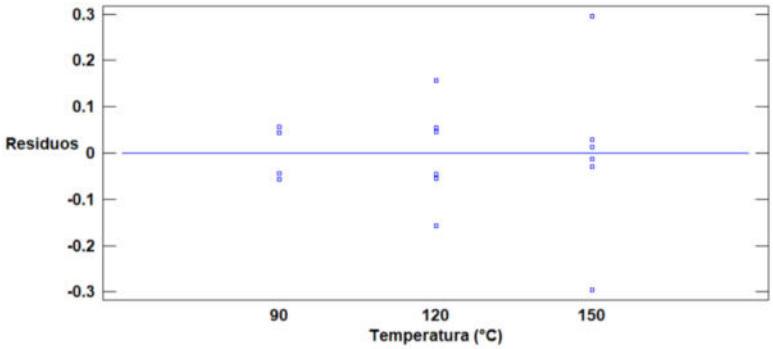


Figura 48

Gráfico de residuos para Concentración inhibitoria media vs. Etanol

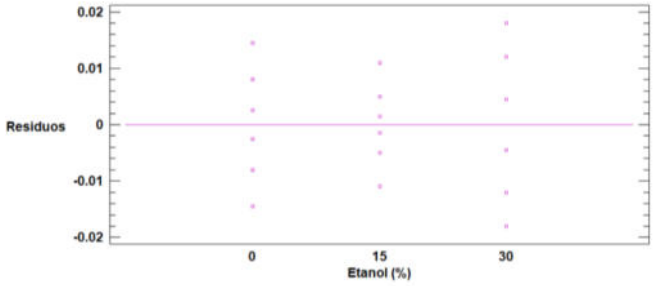


Figura 49

Gráfico de residuos para Concentración inhibitoria media vs. Temperatura

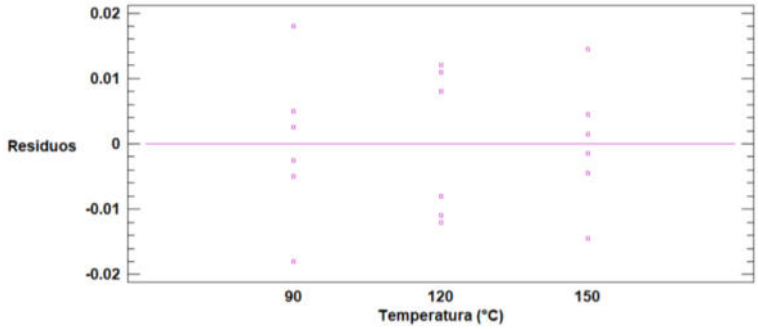


Figura 50

Gráfico de residuos para Capacidad de absorción de radicales de oxígeno vs. Etanol

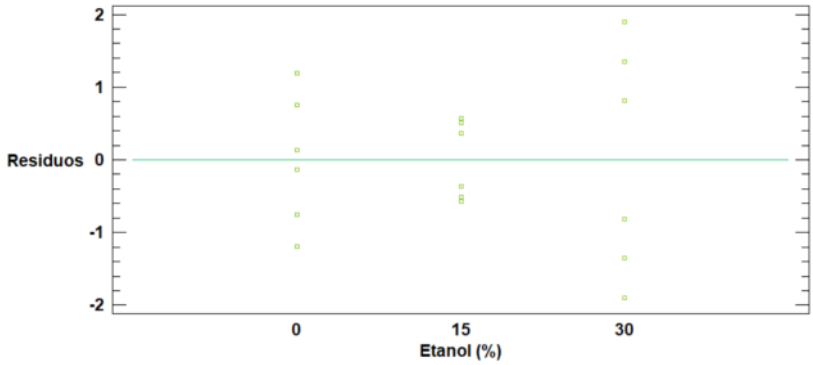
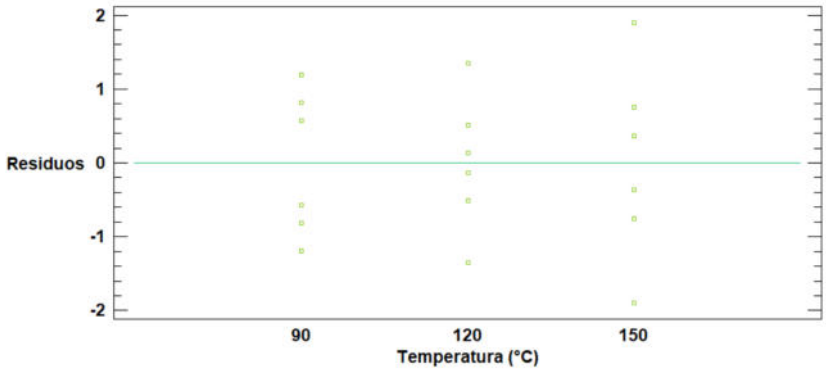


Figura 51

Gráfico de residuos para Capacidad de absorción de radicales de oxígeno vs. Temperatura



Anexo 11

Pruebas de normalidad de residuos de Shapiro-Wilk

Tabla 22

Pruebas de Normalidad para Residuos de Polifenoles Totales equivalentes de Floroglucinol

Prueba	Estadístico	Valor-P
Estadístico W de Shapiro-Wilk	0.992158	0.998848

Se muestran los resultados de diversas pruebas realizadas para determinar si Residuos de Polifenoles Totales equivalentes de Floroglucinol puede modelarse adecuadamente con una distribución normal. La prueba de Shapiro-Wilk está basada en la comparación de los cuartiles de la distribución normal ajustada a los datos.

Debido a que el valor-P más pequeño de las pruebas realizadas es mayor ó igual a 0.05, no se puede rechazar la idea de que Residuos de Polifenoles Totales equivalentes de Floroglucinol proviene de una distribución normal con 95% de confianza.

Tabla 23

Pruebas de Normalidad para Residuos de Polifenoles Totales equivalentes de Ácido gálico

Prueba	Estadístico	Valor-P
Estadístico W de Shapiro-Wilk	0.912155	0.0957001

Se muestran los resultados de diversas pruebas realizadas para determinar si Polifenoles Totales equivalentes de Ácido gálico puede modelarse adecuadamente con una distribución normal. La prueba de Shapiro-Wilk está basada en la comparación de los cuartiles de la distribución normal ajustada a los datos.

Debido a que el valor-P más pequeño de las pruebas realizadas es mayor ó igual

a 0.05, no se puede rechazar la idea de que Polifenoles Totales equivalentes de Ácido gálico proviene de una distribución normal con 95% de confianza.

Tabla 24

Pruebas de Normalidad para Residuos de la concentración inhibitoria media

Prueba	Estadístico	Valor-P
Estadístico W de Shapiro-Wilk	0.980039	0.93289

Se muestran los resultados de diversas pruebas realizadas para determinar si Residuos IC50 puede modelarse adecuadamente con una distribución normal. La prueba de Shapiro-Wilk está basada en la comparación de los cuartiles de la distribución normal ajustada a los datos.

Debido a que el valor-P más pequeño de las pruebas realizadas es mayor ó igual a 0.05, no se puede rechazar la idea de que Residuos IC50 proviene de una distribución normal con 95% de confianza.

Tabla 25

Pruebas de normalidad para residuos de la capacidad de absorción de radicales de oxígeno

Prueba	Estadístico	Valor-P
Estadístico W de Shapiro-Wilk	0.988384	0.992136

Se muestra los resultados de diversas pruebas realizadas para determinar si Residuos ORAC puede modelarse adecuadamente con una distribución normal. La prueba de Shapiro-Wilk está basada en la comparación de los cuartiles de la distribución normal ajustada a los datos.

Debido a que el valor-P más pequeño de las pruebas realizadas es mayor ó igual a 0.05, no se puede rechazar la idea de que Residuos ORAC proviene de una distribución normal con 95% de confianza.

Tabla 26

Pruebas de normalidad de residuos para glucosa

Prueba	Estadístico	Valor-P
Estadístico W de Shapiro-Wilk	0.921794	0.142336

Se muestra los resultados de diversas pruebas realizadas para determinar si Glucosa puede modelarse adecuadamente con una distribución normal. La prueba de Shapiro-Wilk está basada en la comparación de los cuartiles de la distribución normal ajustada a los datos.

Debido a que el valor-P más pequeño de las pruebas realizadas es mayor ó igual a 0.05, no se puede rechazar la idea de que Glucosa proviene de una distribución normal con 95% de confianza.

Tabla 27

Pruebas de normalidad de residuos para fructosa

Prueba	Estadístico	Valor-P
Estadístico W de Shapiro-Wilk	0.964046	0.669162

Se muestra los resultados de diversas pruebas realizadas para determinar si Fructosa puede modelarse adecuadamente con una distribución normal. La prueba de Shapiro-Wilk está basada en la comparación de los cuartiles de la distribución normal ajustada a los datos.

Debido a que el valor-P más pequeño de las pruebas realizadas es mayor o igual a 0.05, no se puede rechazar la idea de que Fructosa proviene de una distribución normal con 95% de confianza.

Tabla 28

Pruebas de normalidad de residuos para hidroximetilfurfural

Prueba	Estadístico	Valor-P
Estadístico W de Shapiro-Wilk	0.8677	0.0152312

Se muestra los resultados de diversas pruebas realizadas para determinar si HMF puede modelarse adecuadamente con una distribución normal. La prueba de Shapiro-Wilk está basada en la comparación de los cuartiles de la distribución normal ajustada a los datos.

Debido a que el valor-P más pequeño de las pruebas realizadas es menor a 0.05, se puede rechazar la idea de que HMF proviene de una distribución normal con 95% de confianza.

Anexo 12

Pruebas de igualdad de varianzas de Levene

Tabla 29

Verificación de Varianza para Polifenoles Totales equivalentes de Floroglucinol - Temperatura

	Prueba	Valor-P
Levene	0.626892	0.547678

El estadístico mostrado en esta tabla evalúa la hipótesis de que la desviación estándar de Polifenoles Totales equivalentes de Floroglucinol dentro de cada uno de los 3 niveles de temperatura es la misma. De particular interés es el valor-P. Puesto que el valor-P es mayor o igual que 0.05, no existe una diferencia estadísticamente significativa entre las desviaciones estándar, con un nivel del 95.0% de confianza.

Tabla 30

Verificación de Varianza para Polifenoles Totales equivalentes de Floroglucinol - Solvente

	Prueba	Valor-P
Levene	0.527427	0.600671

El estadístico mostrado en esta tabla evalúa la hipótesis de que la desviación estándar de Polifenoles Totales equivalentes de Floroglucinol dentro de cada uno de los 3 niveles de Etanol es la misma. De particular interés es el valor-P. Puesto que el valor-P es mayor o igual que 0.05, no existe una diferencia estadísticamente significativa entre las desviaciones estándar, con un nivel del 95.0% de confianza.

Tabla 31

Verificación de Varianza para Polifenoles Totales equivalentes de Ácido Gálico - Temperatura

	Prueba	Valor-P
Levene	0.49545	0.618925

El estadístico mostrado en esta tabla evalúa la hipótesis de que la desviación estándar de PTF - Galico dentro de cada uno de los 3 niveles de temperatura es la misma. De particular interés es el valor-P. Puesto que el valor-P es mayor o igual que 0.05, no existe una diferencia estadísticamente significativa entre las desviaciones estándar, con un nivel del 95.0% de confianza.

Tabla 32

Verificación de Varianza para Polifenoles Totales equivalentes de Ácido Gálico - Solvente

	Prueba	Valor-P
Levene	0.336899	0.719246

El estadístico mostrado en esta tabla evalúa la hipótesis de que la desviación estándar de Polifenoles Totales equivalentes de Ácido Gálico dentro de cada uno de los 3 niveles de Etanol es la misma. De particular interés es el valor-P. Puesto que el valor-P es mayor o igual que 0.05, no existe una diferencia estadísticamente significativa entre las desviaciones estándar, con un nivel del 95.0% de confianza.

Tabla 33

Verificación de varianza para concentración inhibitoria media - Temperatura

	Prueba	Valor-P
Levene	0.575052	0.574605

El estadístico mostrado en esta tabla evalúa la hipótesis de que la desviación estándar de RESIDUOS dentro de cada uno de los 3 niveles de temperatura es la misma. De particular interés es el valor-P. Puesto que el valor-P es mayor o igual que 0.05, no existe una diferencia estadísticamente significativa entre las desviaciones estándar, con un nivel del 95.0% de confianza.

Tabla 34

Verificación de varianza para concentración inhibitoria media - Solvente

	Prueba	Valor-P
Levene	1.3022	0.300971

El estadístico mostrado en esta tabla evalúa la hipótesis de que la desviación estándar de IC_{50} dentro de cada uno de los 3 niveles de Etanol es la misma. De particular interés es el valor-P. Puesto que el valor-P es mayor o igual que 0.05, no existe una diferencia estadísticamente significativa entre las desviaciones estándar, con un nivel del 95.0% de confianza.

Tabla 35

Verificación de varianza para capacidad de absorción de radicales de oxígeno - Temperatura

	Prueba	Valor-P
Levene	0.576713	0.57372

El estadístico mostrado en esta tabla evalúa la hipótesis de que la desviación estándar de Residuos ORAC dentro de cada uno de los 3 niveles de temperatura es la misma. De particular interés es el valor-P. Puesto que el valor-P es mayor o igual que 0.05, no existe una diferencia estadísticamente significativa entre las desviaciones estándar, con un nivel del 95.0% de confianza.

Tabla 36

Verificación de varianza para capacidad de absorción de radicales de oxígeno - Solvente

	Prueba	Valor-P
Levene	0.445854	0.648493

El estadístico mostrado en esta tabla evalúa la hipótesis de que la desviación estándar de ORAC dentro de cada uno de los 3 niveles de Etanol es la misma. De particular interés es el valor-P. Puesto que el valor-P es mayor o igual que 0.05, no existe una diferencia estadísticamente significativa entre las desviaciones estándar, con un nivel del 95.0% de confianza.

Tabla 37

Verificación de varianza para Glucosa – Temperatura

	Prueba	Valor-P
Levene	1.21455	0.32443

El estadístico mostrado en esta tabla evalúa la hipótesis de que la desviación estándar de Glucosa (mg/mL) dentro de cada uno de los 3 niveles de Temperatura (°C) es la misma. De particular interés es el valor-P. Puesto que el valor-P es mayor o igual que 0.05, no existe una diferencia estadísticamente significativa entre las desviaciones estándar, con un nivel del 95.0% de confianza.

Tabla 38

Verificación de varianza para Glucosa – Etanol

	Prueba	Valor-P
Levene	1.23975	0.31748

El estadístico mostrado en esta tabla evalúa la hipótesis de que la desviación estándar de Glucosa (mg/mL) dentro de cada uno de los 3 niveles de Etanol (%) es la misma. De particular interés es el valor-P. Puesto que el valor-P es mayor o igual que

0.05, no existe una diferencia estadísticamente significativa entre las desviaciones estándar, con un nivel del 95.0% de confianza.

Tabla 39

Verificación de varianza para Fructosa – Temperatura

	Prueba	Valor-P
Levene	1.55817	0.242748

El estadístico mostrado en esta tabla evalúa la hipótesis de que la desviación estándar de Fructosa (mg/mL) dentro de cada uno de los 3 niveles de Temperatura (°C) es la misma. De particular interés es el valor-P. Puesto que el valor-P es mayor o igual que 0.05, no existe una diferencia estadísticamente significativa entre las desviaciones estándar, con un nivel del 95.0% de confianza.

Tabla 40

Verificación de varianza para Fructosa – Etanol

	Prueba	Valor-P
Levene	0.851309	0.446478

El estadístico mostrado en esta tabla evalúa la hipótesis de que la desviación estándar de Fructosa dentro de cada uno de los 3 niveles de Etanol (%) es la misma. De particular interés es el valor-P. Puesto que el valor-P es mayor o igual que 0.05, no existe una diferencia estadísticamente significativa entre las desviaciones estándar, con un nivel del 95.0% de confianza.

Tabla 41

Verificación de varianza para Hidroximetilfurfural – Temperatura

	Prueba	Valor-P
Levene	1.92623	0.180063

El estadístico mostrado en esta tabla evalúa la hipótesis de que la desviación estándar de HMF (ug/mL) dentro de cada uno de los 3 niveles de Temperatura (°C) es

la misma. De particular interés es el valor-P. Puesto que el valor-P es mayor o igual que 0.05, no existe una diferencia estadísticamente significativa entre las desviaciones estándar, con un nivel del 95.0% de confianza.

Tabla 42

Verificación de varianza para Hidroximetilfurfural – Etanol

	Prueba	**Valor-P**
Levene	0.53082	0.59877

El estadístico mostrado en esta tabla evalúa la hipótesis de que la desviación estándar de HMF (ug/mL) dentro de cada uno de los 3 niveles de Etanol (%) es la misma. De particular interés es el valor-P. Puesto que el valor-P es mayor o igual que 0.05, no existe una diferencia estadísticamente significativa entre las desviaciones estándar, con un nivel del 95.0% de confianza.

"UNIVERSIDAD NACIONAL DE MOQUEGUA"

VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN

FORMATO DE AUTORIZACIÓN DE PUBLICACIÓN EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL UNAM

Formulario de autorización para la publicación electrónica en la página web del Repositorio Institucional de la Universidad Nacional de Moquegua, de conformidad con la Ley N° 30035 Ley que regula el Repositorio Nacional Digital de Ciencia, Tecnología e Innovación de Acceso Abierto y Resolución de Comisión Organizadora N° 041-2022-UNAM que aprueba el Reglamento que regula el Repositorio Institucional Digital de la UNAM.

1. DATOS DEL AUTOR

Nombres y Apellidos : Maria Fernanda Quispe Angulo
DNI/Carnet de Extranjería/Pasaporte N° : 72609469
Correo electrónico : mariaquispe910@gmail.com
Teléfono/Celular : 998 867 662

2. GRADO, TITULO O ESPECIALIZACIÓN (Marque con una X)

Bachiller	Título Profesional	Magister	Doctor	Segunda Especialidad
	X			

3. TIPO DE PUBLICACIÓN (Marque con una X)

a) Articulo ( )
b) Tesis de pregrado (X)
c) Tesis de Maestría ( )
d) Tesis de Doctorado ( )
e) Monografía ( )
f) Reporte de caso científico o hallazgos ( )
g) Libro ( )
h) Parte de un libro ( )
i) Revisión ( )
j) Conferencia ( )
k) Presentación ( )
l) Artículo preliminar ( )
m) Articulo antes de ser publicado ( )
n) Artículo de prensa ( )
o) Documentos internos ( )
p) Imagen ( )
q) Documentos técnicos ( )
r) Ponencias presentadas en eventos científicos (Jornada, Congreso, Simposio Conferencias, etc.) ( )
s) Informes de suficiencia profesional ( )
t) Patentes producidas por académicos/as ( )

4. TIPO DE TRABAJO DE INVESTIGACIÓN (Marque con una X)

a) Tesis (X)
b) Trabajo de Investigación ( )
c) Trabajo de suficiencia profesional ( )
d) Trabajo académico ( )

5. DATOS DE LA PUBLICACION

a) Título : Estudio del uso de agua y etanol bajo condiciones subcríticas sobre la recuperación de compuestos fenólicos y reducción de compuestos tóxicos presentes en algas pardas (Macrocystis pyrifera)
b) Campo del conocimiento OCDE (Indicar el código de clasificación OCDE de la obra : https://catalogos.concytec.gob.pe/vocabulario/ocde_ford.html) : .....
c) Fecha de publicación : .....

6. DATOS DEL ASESOR:

a) Nombres y Apellidos : Nils Leander Huamán Castilla
b) DNI/Pasaporte/Cédula : 41939181
c) ORCID : 0000 - 0002 - 3748 - 0883

FIRMA : .....

DOCUMENTO DE IDENTIDAD : 72609469
NOMBRES Y APELLIDOS : Maria Fernanda Quispe Angulo

"UNIVERSIDAD NACIONAL DE MOQUEGUA"

VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN

LICENCIAS

Licencia Estándar

Bajo los siguientes términos, autorizo el depósito de mi trabajo de investigación en el Repositorio Institucional Digital de la UNAM.

Con la autorización de depósito da mi trabajo de investigación, otorgo a la Universidad Nacional de Moquegua, una Licencia No Exclusiva para reproducir. distribuir, comunicar al público, transformar (únicamente mediante su traducción a otros idiomas) y poner a disposición del público mi trabajo de investigación (incluido el resumen), en formato físico o digital, en cualquier medio, conocido o por conocerse, a través de los diversos servicios provistos por la Universidad, creados o por crearse, tales como el Repositorio Institucional Digital de la UNAM, Colección de Tesis, entre otros, en el Perú y en el extranjero, por el tiempo y veces que considere necesarias, y libre de remuneraciones.

En virtud de dicha Licencia, la UNIVERSIDAD NACIONAL DE MOQUEGUA, podrá reproducir mi trabajo de investigación en cualquier tipo de soporte y en más de un ejemplar, sin modificar su contenido, solo con los propósitos de seguridad, respaldo y preservación.

Declaro que el trabajo de investigación es una creación de mi autoría y exclusiva titularidad, o coautoría con titularidad compartida, y me encuentro facultado a conceder la presente licencia y, asimismo, garantizo que dicho trabajo de investigación no infringe derechos de autor de terceras personas.

La UNIVERSIDAD NACIONAL DE MOQUEGUA consignara el nombre del/los autor/es del trabajo de investigación, y no le hará ninguna modificación más de la permitida en la presente licencia.

Autorizo el depósito (marque con una X).

(X) **SI autorizo que se deposite inmediatamente.**

FIRMA : .....

DOCUMENTO DE IDENTIDAD : 72609469

NOMBRES Y APELLIDOS : María Fernanda Quispe Angulo

FECHA : 18 / 11 / 2024

DECLARACIÓN JURADA DE ORIGINALIDAD DE TRABAJO DE INVESTIGACIÓN / TESIS / TRABAJO DE SUFICIENCIA PROFESIONAL

Yo, Maria Fernanda Quispe Angulo,
bachiller de la Escuela Profesional de: Ingeniería Agroindustrial
,
de la Universidad Nacional de Moquegua, identificado(a) con DNI Nº 72609469, autor(a) del Trabajo de Investigación / Tesis / Trabajo de suficiencia profesional, denominado:
Estudio del uso de agua y etanol bajo condiciones subcríticas sobre la recuperación de compuestos fenólicos y reducción de compuestos tóxicos presentes en algas pardas (Macrocystis pyrifera)

Declaro bajo juramento que:

1. El trabajo de investigación es auténtico, siendo resultado de mi trabajo personal, que no se ha copiado, que no se ha utilizado ideas, formulaciones, citas integrales e ilustraciones diversas, sacadas de cualquier tesis, obra, artículo, memoria, etc., (en versión digital o impresa), sin mencionar de forma clara y exacta su origen o autor, tanto en el cuerpo del texto, figuras, cuadros, tablas u otros que tengan derechos de autor. Por tanto, el trabajo de investigación no ha sido plagiado total ni parcialmente.
2. El trabajo de investigación no ha sido autoplagiada, es decir, no ha sido publicada ni presentada anteriormente para obtener algún grado académico previo o título profesional.
3. Los datos presentados en los resultados son reales, no han sido falseados, ni duplicados, ni copiados y por tanto los resultados que se presentan en el trabajo de investigación constituirán aporte a la realidad investigada.

Soy consciente de que, el hecho de no respetar los derechos de autor y hacer plagio, es objeto de sanciones universitarias y/o legales, por lo que asumo cualquier responsabilidad que pudiera derivarse de irregularidades en el trabajo de investigación, así como de los derechos sobre la obra presentada.

Moquegua, 18 / 11 / 2024



Huella digital

Nombres y Apellidos: Maria Fernanda Quispe Angulo
DNI: 72609469

NOMBRE DEL TRABAJO
Tesis María Quispe Angulo.docx

AUTOR
María Fernanda Quispe Angulo

RECUENTO DE PALABRAS
27625 Words

RECUENTO DE CARACTERES
150442 Characters

RECUENTO DE PÁGINAS
166 Pages

TAMAÑO DEL ARCHIVO
3.3MB

FECHA DE ENTREGA
Nov 28, 2024 4:46 PM GMT-5

FECHA DEL INFORME
Nov 28, 2024 4:48 PM GMT-5

● 9% de similitud general

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

- **8% Base de datos de Internet**
- **1% Base de datos de publicaciones**
- **Base de datos de Crossref**
- **Base de datos de contenido publicado de Crossref**
- **1% Base de datos de trabajos entregados**

● Excluir del Reporte de Similitud

- **Material bibliográfico**
- **Material citado**
- **Material citado**
- **Coincidencia baja (menos de 10 palabras)**

DECENIO DE LA IGUALDAD DE OPORTUNIDADES PARA MUJERES Y HOMBRES
"AÑO DEL BICENTENARIO, DE LA CONSOLIDACIÓN DE NUESTRA INDEPENDENCIA, Y DE LA CONMEMORACIÓN DE LAS HEROICAS BATALLAS DE JUNÍN Y AYACUCHO"

RESOLUCIÓN DE COMISIÓN ORGANIZADORA Nº 809-2024-UNAM/CO

Moquegua, 12 de diciembre de 2024

LA COMISIÓN ORGANIZADORA DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE MOQUEGUA

VISTOS:

El Acuerdo de Sesión Ordinaria de Comisión Organizadora de fecha 11 de diciembre de 2024; PROVEÍDO N° 12275-2024 de fecha 11 de diciembre de 2024 emitido por la Presidencia de la Comisión Organizadora; INFORME N° 614-2024-UNAM-CO-P/SG de fecha 11 de diciembre de 2024 emitido por la Secretaria General; CARTA Nº 204-2024-GYT/UNAM-PCAS de fecha 06 de diciembre de 2024 emitido por el Área de Grados y Títulos; Sobre el otorgamiento del Título Profesional de Ingeniero Agroindustrial y demás documentos que escoltan el expediente administrativo, y;

CONSIDERANDO:

Que, la Constitución Política del Perú en su artículo 18º prevé que cada Universidad es autónoma en su régimen normativo, de gobierno, académico, administrativo y económico, y el artículo 8º de la Ley Nº 30220, Ley Universitaria, establece que la referida autonomía inherente a las Universidades, se ejerce de conformidad con la Constitución y las Leyes de la República e implica las organizaciones de su sistema académico, económico y administrativo, así como la administración de sus bienes y rentas, elaborar su presupuesto y aplicar sus fondos con la responsabilidad que impone la Ley;

Que, de conformidad con la Ley N° 28520 de fecha 23.05.2005, se creó la Universidad Nacional de Moquegua, cuyo artículo 1º dispone: "créase la Universidad Nacional de Moquegua como persona jurídica de derecho público interno, con sede en la ciudad de Moquegua, Provincia de Mariscal Nieto, Departamento de Moquegua". Asimismo, a través de la Resolución del Consejo Directivo N° 103-2017-SUNEDU/CD, el Concejo Directivo de la SUNEDU, le otorgó la Licencia Institucional a la Universidad Nacional de Moquegua; la misma que fue modificada a través de la Resolución del Consejo Directivo N° 135-2022-SUNEDU/CD;

Que, el artículo 29° de la Ley Universitaria, Ley N° 30220, establece que, aprobada la ley de creación de una universidad pública, el Ministerio de Educación (MINEDU), constituye una Comisión Organizadora integrada por tres (3) académicos de reconocido prestigio, que cumplan los mismos requisitos para ser Rector (…). Esta Comisión tiene a su cargo la aprobación del estatuto, reglamentos y documentos de gestión académica y administrativa de la universidad, formulados en los instrumentos de planeamiento, así como su conducción y dirección hasta que se constituyan los órganos de gobierno que, de acuerdo a la presente Ley, le correspondan";

Que, mediante Resolución Viceministerial Nº 011-2024-MINEDU de fecha 31.01.2024, se reconformó la Comisión Organizadora de la Universidad Nacional de Moquegua, integrada por los académicos: Dr. Jorge Lázaro Franco Medina, como Presidente; Dr. Edwin Molina Porcel, como Vicepresidente Académico y Dr. Avid Roman Gonzalez, como Vicepresidente de Investigación;

Que, el artículo 58° de la Ley Universitaria, Ley Nº 30220, concordado con el artículo 14º del Estatuto de la Universidad Nacional de Moquegua, aprobado con Resolución de Comisión Organizadora Nº 578-2021-UNAM, establecen que el **Consejo Universitario es el máximo órgano de gestión, dirección y ejecución académica y administrativa de la universidad.** En el caso de la Universidad Nacional de Moquegua, dada su condición y naturaleza, corresponde ejercer dicha atribución a la Comisión Organizadora quien hace las veces de Consejo Universitario, disposición relacionada con la Resolución Viceministerial N° 244-2021-MINEDU y sus modificatorias;

Domicilio Fiscal: Prolongación Av., Ancash S/N - Moquegua
RUC: 20449347448 - Teléfono: (053) 670168
Página Web: www.unam.edu.pe

Que, el artículo 44° de la Ley Nº 30220, Ley Universitaria, señala que las universidades otorgan los grados académicos de Bachiller, Maestro, Doctor y los Títulos Profesionales que correspondan, a nombre de la Nación (...);

Que, el numeral 45.2 del artículo 45° de la Ley Nº 30220, Ley Universitaria, precisa **los requisitos mínimos para la obtención del título profesional, como son: el grado de Bachiller y la aprobación de una tesis o trabajo de suficiencia profesional**. Asimismo, establece que el título profesional solo se puede obtener en la universidad en la cual se haya obtenido el grado de bachiller;

Que, con Resolución de Comisión Organizadora Nº 1153-2021-UNAM, se aprobó el Reglamento de Grados y Títulos de la Universidad Nacional de Moquegua, el mismo que fue modificado a través de las Resoluciones de Comisión Organizadora N° 410, 453 y 890-2022; N° 880-2023 y N° 081, 484-2024-UNAM/CO, el cual establece los requisitos y norma los procedimientos para la obtención de los grados académicos y títulos profesionales conferidos por esta Casa Superior de Estudios;

Que, mediante Carta Nº 204-2024-GYT/UNAM-PCAS de fecha 06.12.2024, el Especialista del Área de Grados y Títulos, remite a Secretaria General, el expediente de un (1) bachiller de la Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial, quien se encuentran apto para la expedición del Título Profesional de Ingeniero Agroindustrial por la modalidad de sustentación de Tesis, al haber cumplido satisfactoriamente con los requisitos legales y reglamentarios[1], exigidos en el Reglamento de Grados y Títulos de la Universidad Nacional de Moquegua, conforme lo señala la Dirección de la Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial, razón por la cual la Secretaría General a petición de la PCO incluye el expediente como punto de agenda para ser tratados en Sesión de Comisión Organizadora de fecha 11 de diciembre de 2024;

Que, se ha establecido como atribución de la Comisión Organizadora de la UNAM, la facultad de conferir los grados académicos y los títulos profesionales (...), por lo que en mérito al pedido del Secretario General y debatido el caso en Sesión Ordinaria de fecha 27 de noviembre 2024, se acordó por unanimidad **conferir a nombre de la Nación el Título Profesional de Ingeniero Agroindustrial, por la modalidad de la Sustentación de Tesis, a una (1) Bachiller de la Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial de la Facultad de Ingeniería y Arquitectura de la Universidad Nacional de Moquegua;**

Que, mediante Resolución Presidencial Nº 279-2024-UNAM-CO/P de fecha 11.12.2024, se encargó las funciones y atribuciones inherentes del despacho de la Presidencia de la Comisión Organizadora de la Universidad Nacional de Moquegua al Dr. Avid Roman Gonzalez, Vicepresidente de Investigación, por los días 12 y 13 de diciembre de 2024;

---

[1] Artículo 122°. - Requisitos para la obtención del Título Profesional
Para obtener el Título Profesional el interesado deberá presentar ante su Escuela Profesional un expediente con la siguiente documentación:

a. Solicitud dirigida al Director de la Escuela Profesional o quien haga sus veces, indicando la fecha y numero de comprobante de pago.
b. Dos (2) fotografías de frente, tamaño pasaporte a color con fondo blanco (con traje formal); para garantizar la seguridad ciudadana.
c. Dos ejemplares de la Tesis, del Trabajo de Suficiencia Profesional o Informe del Examen Profesional en físico, uno para la Biblioteca y otro para la Escuela Profesional, y un CD con la versión digital.
d. Formulario de autorización del graduado para la publicación de la Tesis, Trabajo de Suficiencia Profesional o Informe de Examen Profesional en el repositorio.
e. Declaración Jurada de originalidad de la Tesis, Trabajo de Suficiencia Profesional o Informe de Examen Profesional.

La Escuela Profesional es responsable de completar el expediente del bachiller en un plazo máximo de 3 días hábiles y derivar a la Oficina de Secretaría General, adjuntando los siguientes documentos:

a. Copia del acta de sustentación indicando la modalidad de obtención del título profesional.
b. Constancia de "no adeudo" de Bienes a la Universidad, bienes a los Laboratorios Básicos y de Especialidad, material bibliográfico; dichos documentos deberán ser refrendados por los responsables a cargo.

Domicilio Fiscal: Prolongación Av., Ancash S/N - Moquegua
RUC: 20449347448 - Teléfono: (053) 670168
Página Web: www.unam.edu.pe

///... **Resolución de Comisión Organizadora Nº 809-2024-UNAM/CO**

Que, estando en uso de las facultades y atribuciones conferidas en el artículo 18° de la Constitución Política del Perú; la Ley N° 30220, Ley Universitaria; el Documento Normativo denominado: "Disposiciones para la Constitución y Funcionamiento de las Comisiones Organizadoras de las Universidades Públicas en proceso de Constitución", aprobado mediante la Resolución Viceministerial N° 244-2021-MINEDU y sus modificatorias, y en la Resolución Viceministerial Nº 011-2024-MINEDU, así como en el Estatuto de la Universidad Nacional de Moquegua y demás normas concordantes;

SE RESUELVE:

ARTÍCULO PRIMERO: CONFERIR, a nombre de la Nación el **TÍTULO PROFESIONAL DE INGENIERO AGROINDUSTRIAL** por la modalidad de Sustentación de Tesis, a la Bachiller de la Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial de la Facultad de Ingeniería y Arquitectura de la Universidad Nacional de Moquegua, de acuerdo al siguiente detalle:

1. **MARIA FERNANDA QUISPE ANGULO**

TESIS : "ESTUDIO DEL USO DE AGUA Y ETANOL BAJO CONDICIONES SUBCRÍTICAS SOBRE LA RECUPERACIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS Y REDUCCIÓN DE COMPUESTOS TÓXICOS PRESENTES EN ALGAS PARDAS (Macrocystis pyrifera)", cuyo Asesor fue el Dr. Nils Leander Huaman Castilla y como Co-asesor el Mg. Erick Edwin Allcca Alca.

ARTÍCULO SEGUNDO: AUTORIZAR, a la Secretaría General de la Universidad Nacional de Moquegua, expedir y registrar los Diplomas correspondientes para su otorgamiento.

ARTÍCULO TERCERO: ENCARGAR al Área de Grados y Títulos de la Universidad Nacional de Moquegua, para que realice las acciones pertinentes conducentes, relacionadas con la inscripción de los grados y títulos en el Registro de Grados y Títulos de la Superintendencia Nacional de Educación Superior Universitaria - SUNEDU.

ARTÍCULO CUARTO: NOTIFICAR, la presente Resolución a todas las instancias y dependencias administrativas y académicas de la Universidad Nacional de Moquegua, para su conocimiento, cumplimiento y demás fines pertinentes.

ARTÍCULO QUINTO: ENCARGAR, a la Oficina de Tecnología de la Información, la publicación de la presente Resolución en el portal de transparencia de la Universidad Nacional de Moquegua.

REGÍSTRESE, COMUNÍQUESE, CÚMPLASE Y ARCHÍVESE.

DR. AVID ROMAN GONZALEZ
Presidente (e) de la Comisión Organizadora
Universidad Nacional de Moquegua

ABOG. KEVIN YUVER CHIHUAN QUISPE
Secretario General
Universidad Nacional de Moquegua

Domicilio Fiscal: Prolongación Av., Ancash S/N - Moquegua
RUC: 20449347448 - Teléfono: (053) 670168
Página Web: www.unam.edu.pe