UNIVERSIDAD NACIONAL DE MOQUEGUA

ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL

ESTUDIO DEL USO DE ISOPROPANOL COMO SOLVENTE ALTERNATIVO BAJO CONDICIONES SUBCRÍTICAS SOBRE LA RECUPERACIÓN DE COMPUESTOS BIOACTIVOS A PARTIR DE ARÁNDANOS (*Vaccinium corymbosum L.*) DE DESCARTE.

TESIS

PRESENTADO POR:

Bach. CECILIA MARGARITA COPA CHIPANA

Asesor: Dr. NILS LEANDER HUAMAN CASTILLA

Co-Asesor: Dr. ERICK MANUEL SALDAÑA VILLA

Para optar el Título Profesional de:

INGENIERO AGROINDUSTRIAL

MOQUEGUA – PERÚ

2023

UNAM
UNIVERSIDAD NACIONAL DE MOQUEGUA

ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL

Folio N° ..12..

ACTA DE SUSTENTACIÓN

UNIVERSIDAD NACIONAL DE MOQUEGUA — UNAM — FEDATARIO

I. Modalidad:

Tesis : [X]

Trabajo de Suficiencia Profesional : [ ]

Otro: ..... : [ ]

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

Resolución de facultad N° 020-2021-FACIA-UNAM

Fecha: 06-09-2021

III. Documento de aprobación para la sustentación:

Resolución de facultad N° 052-2023-FACIA-UNAM

Fecha: 05-05-2023.

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

TITULADO: ESTUDIO DEL USO DE ISOPROPANOL COMO SOLVENTE ALTERNATIVO BAJO CONDICIONES SUBCRÍTICAS SOBRE LA RECUPERACIÓN DE COMPUESTOS BIOACTIVOS A PARTIR DE ARÁNDANOS (Vaccinium corymbosum L.) DE DESCARTE.

Bachiller: CECILIA MARGARITA COPA CHIPANA

Asesor Principal: Dr. NILS LEANDER HUAMÁN CASTILLA

Co-Asesor: Dr. ERICK MANUEL SALDAÑA VILLA

V. Se dictamina:

Como: APROBADO por UNANIMIDAD la sustentación de manera:

Presencial [X] Virtual [ ]

Con nota: CATORCE (14) por lo que; Sí [ ] No [ ]

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

Siendo las 11:46 horas, del 17 de MAYO del año 2023 se procede con la firma en conformidad de lo dictaminado por el Jurado.

Presidente	Primer Miembro	Segundo Miembro
Dr. Franz Zirena Vilca	Dr. Jhony Mayta Hancco	Mg. César Napa Almeyda
(Nombres y Apellidos)	(Nombres y Apellidos)	(Nombres y Apellidos)

Miembro Accesitario

(Nombres y Apellidos)

Asesor Principal	Bachiller	Co-Asesor
Dr. Nils Huamán Castilla	Cecilia Copa Chipana	
(Nombres y Apellidos)	(Nombres y Apellidos)	(Nombres y Apellidos)

DEDICATORIA

A Dios, por guiarme por el camino correcto y siempre estar a mi lado confortando mi alma, inspirando mi espíritu y mente para alcanzar mis metas.

A la memoria de mi padre, Juan de Dios Copa Puma, aunque no se encuentre físicamente presente, sus enseñanzas siguen guiándome día a día.

A mi madre, María Chipana Catacora, por estar a mi lado brindándome su amor y apoyo incondicional, por ser mi luz en momentos oscuros y creer en mí siempre.

A mis hermanas, Vilma, Jesusa, Madaly, Yessica y Gaby por estar siempre presentes brindándome su apoyo incondicional y por motivarme a no rendirme.

A mi hijo Liam Olazabal Copa, por ser mi motor y motivo, porque fue la más grande inspiración para lograr una de mis metas.

AGRADECIMIENTO

Al Dr. Nils L. Huaman Castilla, por guiarme y brindarme su apoyo durante el desarrollo de mi tesis, pero sobre todo por su paciencia y constancia.

Al Dr. Erik M. Saldaña Villa, por brindarme su apoyo y compartir sus conocimientos durante el desarrollo de mi tesis.

Al Dr. Franz Zirena Vilca, por la enseñanza y el apoyo brindado durante el desarrollo de los análisis cromatográficos.

Al Proyecto, Mejora de la selectividad de polifenoles específicos presentes en extractos de hojas de olivo con potencial de inhibición de enzimas relacionadas con la diabetes tipo 2 y reducción de la respuesta glucémica postprandial: rol de la polaridad del solvente y método combinado de extracción –purificación, Resolución de comisión organizadora N°059 - 2021 – UNAM, por el apoyo en la realización de los análisis.

Al Proyecto, Presencia de residuos de antibióticos en el río Osmore, en agua potable de las ciudades de Ilo y Moquegua y su relación con la salud de la población, Resolución de comisión organizadora N°310 - 2020 – UNAM, que permitió la implementación del primer laboratorio de cromatografía en la UNAM, lugar donde fueron realizados los análisis cromatográficos.

A los docentes que contribuyeron en mi formación profesional, y aquellos que me brindaron su apoyo en el manejo de programas estadísticos durante el desarrollo de la presente tesis.

Al Ing. José Luis Chipana, por brindarme su apoyo y acceso a documentación durante la primera etapa de mi proyecto tesis.

A mis amigos y compañeros que contribuyeron en la realización de mi tesis y a los que me apoyaron brindándome palabras de ánimo y aliento.

RESUMEN

En la actualidad, los arándanos constituyen uno de los principales cultivos de exportación en nuestro país debido a sus propiedades bioactivas su demanda se ha incrementado considerablemente. Sin embargo, cada etapa del proceso de exportación genera importantes cantidades de descartes que no son aprovechados por la industria debido a su bajo valor económico. Por ello, con la finalidad de promover una economía circular que promueva revalorizar este residuo agroindustrial, es necesario promover métodos alternativos que permitan recuperar los compuestos bioactivos presentes. Este estudio evaluó el efecto de mezclas agua – isopropanol (0 ,15, 30%) combinado con temperaturas de 70, 100 y 130°C bajo condiciones subcríticas sobre la recuperación de compuestos antioxidantes a partir de arándano de descarte. La recuperación de compuestos fenólicos fue mayor con el incremento en la concentración de isopropanol, cuya condición óptima fue establecida con 30% isopropanol a 100°C (13,57 mgEAG/gss). Asimismo, se observó una correlación directa entre el contenido de polifenoles y la capacidad antioxidante (ORAC y DPPH), cuyos valores máximos fueron de 246,47 umolET/gss y un IC_{50} de 9,97 mg/mL, respectivamente. El uso de mayores concentraciones de isopropanol permite reducir en 30% la extracción de azúcares reductores (fructuosa y glucosa). Finalmente, la modulación de la proporción de solvente permite una recuperación selectiva de diferentes familias específicas de polifenoles. Por lo tanto, los resultados obtenidos permiten realizar a futuro trabajos enfocados en la aplicación de los extractos, y el escalamiento a nivel industrial.

Palabras clave: compuestos fenólicos, capacidad antioxidante, isopropanol, arándano, condiciones subcriticas.

ABSTRACT

At present, blueberries are one of the main export crops in our country due to their bioactive properties, and their demand has increased considerably. However, each stage involved in the export process generates significant amounts of discards that are not used by the industry due to their low economic value. Therefore, to promote a circular economy that promotes the revaluation of this agro-industrial residue, it is necessary to promote alternative methods that allow the recovery of the bioactive compounds present. This study evaluated the effect of water - isopropanol mixtures (0, 15, 30%) combined with temperatures 70, 100 y 130°C under subcritical conditions on the recovery of antioxidant compounds from discarded blueberries. The recovery of phenolic compounds was greater with the increase in the isopropanol concentration, whose optimum condition was established with 30% isopropanol at 100°C (13.57 mgEAG/gss). Likewise, a direct correlation was observed between the content of polyphenols and the antioxidant capacity (ORAC and DPPH), whose maximum values were 246.47 umolET/gss and an IC_{50} of 9.97 mg/mL, respectively. Interestingly, the use of higher concentrations of isopropanol allowed us to reduce the extraction of reducing sugars (fructose and glucose) by 30%. Finally, the modulation of the solvent ratio allowed a selective recovery of different specific families of polyphenols. Therefore, the results obtained allow future work focused on the application of the extracts and the scaling at an industrial level.

Key words: phenolic compounds, antioxidant capacity, isopropanol, blueberry, subcritical conditions.

ÍNDICE

RESUMEN i

ABSTRACT ii

INTRODUCCIÓN 12

I.Planteamiento del problema 14

1.1 Descripción y formulación del problema 14

1.2.Objetivos 16

1.2.1.Objetivo General 16

1.2.2.Objetivos Específicos 16

1.3.Justificación e Importancia 16

1.4.Hipótesis 17

II. Marco Teórico 18

2.1 Antecedentes 18

2.2 Bases teóricas 20

2.2.1. Arándano (*Vaccinium corymbosum L.)* 20

2.2.2. Producción nacional y local de arándano 21

2.2.3. Exportaciones de arándano 23

2.2.4. Arándanos de descarte 25

2.2.5. Compuestos bioactivos presentes en el arándano 27

2.2.6.Impacto de los compuestos bioactivos presentes en los arándanos sobre la salud 32

2.2.7. Técnicas de extracción 34

2.2.8. Métodos Convencionales 34

2.2.9. Métodos no convencionales 35

III. METODOLOGÍA 40

3.1. Tipo y nivel de Investigación 40

3.2. Ámbito temporal y espacial 40

3.3. Muestra 40

3.4. Instrumentos 40

3.4.1. Materiales 40

3.4.2. Equipos 41

3.4.3. Insumos y Reactivos 41

3.5. Procedimientos 42

3.5.1. Recepción de muestra 43

3.5.2. Acondicionamiento 43

3.5.3. Extracción líquida presurizada de compuestos fenólicos 43

3.5.4. Determinación de polifenoles totales 45

3.5.5. Determinación de capacidad antioxidante por DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo) 45

3.5.6.Determinación de capacidad antioxidante por ORAC (capacidad de absorción de radicales de oxígeno) 47

3.5.7.Determinación de azúcares reductores (AR) 47

3.5.8.Cuantificación de polifenoles específicos 48

3.6. Análisis de datos 50

IV.Resultados y Discusiones 52

4.1 Contenido de polifenoles Totales 52

4.2 Capacidad Antioxidante 54

4.2.1 Capacidad antioxidante por ORAC 54

4.2.2 Capacidad Antioxidante por DPPH 56

4.3 Azúcares reductores AR (Fructuosa – Glucosa).....59

4.4 Cuantificación de polifenoles específicos.....60

4.4.1 Flavonoles 60

4.4.2 Flavanoles 62

4.4.3 Ácidos Fenólicos 62

4.4.4 Estilbeno 63

V. Conclusiones 64

VI. Recomendaciones 65

VII. Referencias Bibliográficas 66

VIII. Anexos 82

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1Composición nutricional de arándano fresco por 100 g. 21

Tabla 2 Producción de arándano en Perú 2015 – 2020 y proyección a 2021 -2022 (TM)……...22

Tabla 3 Superficie de Producción arándanos en Perú. 22

Tabla 4 Exportación de arándanos peruanos durante las temporadas 2015 – 2020……..24

Tabla 5 Participación y precios de exportación de empresas peruanas. 24

Tabla 6 Calificación y Tolerancia para arándanos frescos por caja. 26

Tabla 7Distribución de Fenoles totales de Arándano *(V. Corymbosum y V. Myrtillus)*…… ……..28

Tabla 8 Fenoles totales de distintos tipos de Bayas (peso freso). 28

Tabla 9 Capacidad antioxidante de fracciones y baya entera de arándano. 32

Tabla 10 Actividad biología de compuestos bioactivos presentes en arándano (*V. Corymbosum*)..... 32

Tabla 11 Condiciones de extracción convencional y solventes aplicados 35

Tabla 12 Condiciones de extracción asistida por ultrasonido y solventes aplicados……..36

Tabla 13 Condiciones de extracción asistida por microondas y solventes aplicados……..37

Tabla 14 Condiciones de extracción por fluidos supercríticos y solventes aplicados……..38

Tabla 15 Condiciones de extracción por líquidos presurizados y solventes aplicados……..39

Tabla 16 Tiempos de retención de compuestos polifenólicos identificados..... 50

Tabla 17 Contenido de polifenoles totales (mg EAG/gss) de extractos de arándano de descarte a diferentes concentraciones de isopropanol y temperaturas de extracción líquida presurizada. 52

Tabla 18 Capacidad Antioxidante ORAC (µmol ET/gss) de extractos de arándano de descarte a diferentes concentraciones de isopropanol y temperaturas de extracción líquida presurizada. 54

Tabla 19 Capacidad Antioxidante DPPH (mg/mL) de extractos de arándano de descarte a diferentes concentraciones de isopropanol y temperaturas de extracción líquida presurizada. 57

Tabla 20 Perfil de polifenoles específicos (µg/gss) de extractos de arándano de descarte a diferentes concentraciones de isopropanol y temperaturas de extracción líquida presurizada. 60

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Estructura de un fenol. 27

Figura 2 Clasificación de compuestos fenólicos en arándanos. 29

Figura 3 Estructura química de compuestos polifenólicos (Flavonoides). 30

Figura 4 Estructura química general de ácidos fenólicos (No flavonoides)..... 31

Figura 5 Técnicas de extracción de compuestos polifenólicos. 34

Figura 6 Diagrama de flujo de proceso para la extracción y análisis de polifenoles en arándano de descarte. 42

Figura 7 Esquema de condiciones experimentales en el proceso de ELP para la obtención de polifenoles a partir de arándano de descarte. 44

Figura 8 Proceso de extracción líquida presurizada de compuestos fenólicos en arándano de descarte. 44

Figura 9 Procedimientos para determinación de contenido polifenólico total. 45

Figura 10 Procedimientos para determinación de capacidad antioxidante DPPH.46

Figura 11 Procedimientos para determinación de capacidad antioxidante ORAC……47

Figura 12 Cromatograma de compuestos polifenólicos identificados. 49

Figura 13 Degradación térmica de antocianinas. 55

Figura 14 Correlación de contenido de polifenoles totales y capacidad antioxidante (ORAC)……56

Figura 15 Correlación de polifenoles totales y Capacidad antioxidante (DPPH). 58

Figura 16 Azúcares Reductores AR (mg/gss) de extractos de arándano de descarte a diferentes concentraciones de isopropanol y temperaturas de extracción líquida presurizada. 59

Figura 17 Descartes de arándanos obtenidos de la empresa Consorcio Agrícola Moquegua S.A.C. 82

Figura 18 Envasado de descartes en bolsas de polietileno. 82

Figura 19 Procesador de alimentos utilizado para reducción de muestra. 83

Figura 20 Reducción de tamaño de muestra < 2 mm. 83

Figura 21 Tamiz malla N°10 para verificar el tamaño de muestra. 83

Figura 22 Preparación de solvente para la extracción a concentración 0, 15, 30% 84

Figura 23 Pesado de muestra y tierra de diatomea. 84

Figura 24 Incorporación de muestra y tierra de diatomeas en celda. 85

Figura 25 Extracción de compuestos fenólicos en el equipo extractor Dionex ASE150 85

Figura 26 Obtención de extracto. 85

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1 Panel fotográfico de recepción y acondicionamiento de muestra 82

Anexo 2 Panel fotográfico de la extracción líquida presurizada de compuestos fenólicos en arándanos de descarte. 84

Anexo 3 Curva estándar de ácido gálico. 86

Anexo 4 Azúcares reductores AR (mg/gss) de extractos de arándano de descarte a diferentes concentraciones de isopropanol y temperaturas de extracción líquida presurizada. 86

Anexo 6 Perfil de flavonoles (µg/gss) de extractos de arándano de descarte a diferentes concentraciones de isopropanol y temperaturas de extracción líquida presurizada. 87

Anexo 7 Perfil de flavanoles (µg/gss) de extractos de arándano de descarte a diferentes concentraciones de isopropanol y temperaturas de extracción líquida presurizada. 88

Anexo 8 Perfil de ácidos fenólicos (µg/gss) de extractos de arándano de descarte a diferentes concentraciones de isopropanol y temperaturas de extracción líquida presurizada. 88

Anexo 9 Análisis de Varianza para polifenoles totales. 89

Anexo 10 Análisis de Varianza para ORAC. 90

Anexo 11 Análisis de Varianza para DPPH. 92

Anexo 12 Análisis de Varianza para glucosa. 93

Anexo 13 Análisis de Varianza para fructuosa. 95

Anexo 14 Análisis de Varianza para quercitrina. 96

Anexo 15 Análisis de Varianza para rutina. 98

Anexo 16 Análisis de Varianza para kaempferol. 99

Anexo 17 Análisis de Varianza para catequina. 101

Anexo 18 Análisis de Varianza para epicatequina. 102

Anexo 19 Análisis de Varianza para procianidina A2. 103

Anexo 20 Análisis de Varianza para procianidina B2. 105

Anexo 21 Análisis de varianza para ácido cafeico. 106

Anexo 22 Análisis de varianza para ácido vanílico 108

Anexo 23 Análisis de varianza para resveratrol. 110

Anexo 24 Regresión lineal y coeficiente de regresión de Polifenoles específicos……111

ABREVIATURAS

EAG:	Equivalente de ácido gálico
DPPH:	2,2-difenil-1-picrilhidrazilo
ORAC:	Capacidad de absorción de radicales de oxígeno
AR:	Azúcares reductores
nm:	Nanómetros
°C:	Grados Celsius
g:	Gramos
kg:	Kilogramos
L:	Litro
mL:	Mililitros
µL:	Microlitro
Kcal:	Kilocalorías
mg:	Miligramos
µg:	Microgramos
v:	Volumen
min:	Minutos
ppm:	Partes por millón
rpm:	Revoluciones por minuto
USDA:	Departamento de Agricultura de los Estados Unidos
MINAGRI:	Ministerio de Agricultura y Riego
INEI:	Instituto Nacional de Estadística e Informática

INTRODUCCIÓN

En los últimos años, la producción nacional de arándanos (*Vaccinium Corymbosum L.)* para exportación, se ha incrementado considerablemente alcanzando 100 mil TM por año, cuya tasa de crecimiento anual entre los años 2014 y 2018 fue de 104% (ArandanosPerú, 2019).

Si bien la exportación se realiza con arándanos que cumplen criterios físicos y químicos, durante el proceso postcosecha tales como; transporte, almacenamiento, selección y envasado del producto para exportación, las cuales generan una alta proporción de descartes, debido a que los arándanos frescos no cumplen con los requisitos exigidos para exportación (Frutales, 2016). Estos descartes, por lo general son comercializados en el mercado local o en su efecto son desechados, consecuentemente esto se traduce en pérdidas económicas para las empresas relacionadas con el rubro (FAO, 2021; MINAGRI, 2020b).

Diversas tecnologías alternativas han sido propuestas para aprovechar descartes de distintas matrices vegetales (Ameer et al., 2017). Los métodos alternativos no solo permiten recuperar los polifenoles presentes en su matriz, sino también permitirá proponer futuras alternativas de industrialización y revalorizar de los descartes (Neto, 2007). El uso de las extracciones con líquidos presurizados ha demostrado tener mejores resultados en la recuperación de compuestos fenólicos, en comparación con las técnicas convencionales, ya que en las extracciones líquidas presurizadas (ELP) el solvente se mantiene en estado líquido cuando se hace uso de presiones y temperaturas moderadas que facilitan la recuperación de estos compuestos fenólicos, algunas ventajas que proporciona esta técnica, es que permite un menor consumo de solvente y reducidos tiempos de extracción y, por eso se considerada como una técnica amigable con el ambiente (Milić et al., 2022). En los últimos años el arándano ha cobrado gran interés debió a la biodisponibilidad de compuestos fenólicos (antocianinas, flavonoles, ácidos fenólicos, flavanoles y estilbenos) en su composición, en comparación con otro tipo de bayas, esta característica lo vuelve uno de los frutos más deseables debido a su alto potencial antioxidante y por ende de gran interés para la industria alimentaria y farmacéutica (Secco et al., 2022) .

No obstante, el uso futuro o aplicaciones de los extractos obtenidos para el tratamiento de enfermedades relacionadas con el estrés oxidativo serán objeto de investigación de futuros proyectos.

Por ello, el presente trabajo se enfoca en proponer el uso de solventes alternativos como el isopropanol combinado con tecnologías alternativas que permitan la obtención de extractos ricos en polifenoles a partir de arándanos de descarte.

I. Planteamiento del problema

1.1 Descripción y formulación del problema

El Perú produce 146 mil toneladas de arándanos por año aproximadamente, de los cuales alrededor del 85% es destinado para exportación y la diferencia para consumo del mercado local (Guerrero Ruiz, 2022; INEI, 2020). Si bien la Región Moquegua representa el 5% de la producción nacional, cerca del 95% de esta producción cuenta con certificación de producción orgánica, consecuentemente toda esa producción es destinada para exportación (SENASA, 2019). Sin embargo, durante el proceso de transporte, almacenamiento y procesado del arándano se generan descartes y/o residuos debido a daños mecánicos, deshidratación y en algunos casos debido a que no cumplen con el calibre (volumen) requerido para este producto (Agacino y Sepúlveda, 2016; GLOBALG.A.P., 2020).

Se estima que por cada 100 kg de arándano de exportación se generan 3 kg de descartes (pulpa, piel y semillas) (Navarro, 2019). Estos residuos no presentan ningún valor económico y generan pérdidas económicas en la industria relacionada con este rubro (Aliaga y Del Río, 2022). Sin embargo, los residuos de arándano presentan importantes concentraciones de polifenoles 378,2 mgEAG/100g cuyo perfil polifenólico no solo presenta diferentes familias de antocianinas, flavonoles, flavanoles, estilbenos y ácidos fenólicos, sino también le confiere una alta capacidad antioxidante (46,14 µmolET/gbh) (Li et al., 2017; Wang et al., 2008). Por ello, el desarrollo de tecnologías sustentables para su recuperación es una tarea pendiente por resolver.

A la fecha se han desarrollado diferentes técnicas de extracción que permiten recuperar los polifenoles presentes en residuos agroindustriales (Bromberger et al., 2018; Sania et al., 2020). Por ejemplo, la extracción convencional (sólido - líquido) combinado metanol y acetona por un periodo 4 h, ha permitido la recuperación de polifenoles presentes en los residuos de arándano (Nile y Park, 2014). Debido a la toxicidad de solventes no es posible sugerir su aplicación en el sector alimentario. Por otro lado, el uso de mezclas agua - etanol a 80°C por periodos > 4 h, ha permitido la obtención de extractos polifenólicos de grado alimentario (Aaby et al., 2013). El uso de grandes volúmenes de solvente y

prolongados tiempos de proceso, incrementa considerablemente los costos de producción limitando un posible escalamiento industrial.

El uso de tecnologías no convencionales como la extracción líquida presurizada (condiciones subcríticas) mediante el uso de agua pura a altas temperaturas (>150°C) ha permitido mejorar 3 veces el rendimiento de la extracción de polifenoles en comparación con la extracción convencional con acetona (60%, 30°C, 4 h) (Mariotti-Celis et al., 2018). Sin embargo, las altas temperaturas de proceso producen compuestos no deseados como el hidroximetil furfural (HMF), una mayor recuperación de azúcares y la hidrólisis de los polifenoles de alto peso molecular (Mariotti-Celis et al., 2018; Vergara et al., 2013). Por ello, diversos estudios han propuesto el uso de mezclas agua-etanol con la finalidad de reducir la formación de compuestos no deseados sino también mejorar los rendimientos en la extracción de polifenoles comparado con el uso de agua pura bajo las mismas condiciones (Huaman-Castilla et al., 2019; Mariotti-Celis et al., 2018). No obstante, para el diseño y escalamiento de procesos es necesario proponer el uso de solventes de bajo costo que permitan reducir los costos de proceso.

El isopropanol, es un solvente de bajo costo y de grado alimentario de amplia aplicación en el sector farmacéutico y alimentario (FDA, 2015). No obstante, aún no hay estudios que relacionen la efectividad de este solvente con obtención de extractos polifenólicos con elevada capacidad antioxidante. Por ello, en base a todo lo referido se propone la siguiente interrogante a resolver en el presente proyecto de investigación.

¿Cuál será el efecto del uso de mezclas agua-isopropanol combinado con temperaturas moderadas sobre la recuperación de polifenoles presentes en los arándanos de descarte (piel, semilla y baya) a través de un proceso de extracción subcrítica?

1.2. Objetivos

1.2.1. Objetivo General

- Evaluar el efecto del uso de mezclas agua - isopropanol y temperaturas moderadas sobre la recuperación de polifenoles a partir de arándanos de descarte (piel, semilla y baya).

1.2.2. Objetivos Específicos

- Evaluar el efecto del uso de mezclas agua - isopropanol (0, 15, 30%) como solvente de extracción a temperaturas moderadas (70, 100 y 130°C) sobre la recuperación de polifenoles totales y capacidad antioxidante a partir de arándanos de descarte.

- Evaluar el efecto del uso de mezclas agua - isopropanol (0, 15, 30%) como solvente de extracción a temperaturas moderadas (70, 100 y 130°C) sobre la recuperación de azúcares reductores a partir de arándanos de descarte.

- Evaluar el efecto del uso de mezclas agua - isopropanol (0, 15, 30%) como solvente de extracción a temperaturas moderadas (70, 100 y 130°C) sobre el perfil polifenólico de los extractos obtenidos.

1.3. Justificación e Importancia

Si bien el consumo de arándano, así como su exportación está creciendo en los últimos años, esta industria también genera importantes cantidades de descartes (restos de piel y semilla). Por ello, desarrollar tecnologías sustentables que permitan aprovechar estos residuos es el nuevo desafío de la industria de alimentos.

Estos descartes presentan concentraciones de polifenoles con alta capacidad antioxidante (Alexandre et al., 2017), los cuales al ser extraídos mediante tecnologías amigables con el ambiente, podrían ser aprovechados en una futura formulación de alimentos nutraceúticos. Esto permitiría revalorizar

estos descartes y mejorar los ingresos económicos de las empresas relacionadas con este rubro.

Si bien, existen diferentes mezclas de solventes que se usan a la fecha, el uso de isopropanol bajo condiciones subcríticas podría ser una nueva alternativa amigable con el ambiente para obtener extractos ricos en polifenoles, cuyas condiciones de proceso además podrían reemplazar a los procesos tradicionales de extracción que utilizan grandes volúmenes de solvente y prolongados tiempos de proceso.

Adicionalmente, es importante establecer que los resultados obtenidos podrán ser replicados en otros descartes agroindustriales, consecuentemente será posible desarrollar a futuro procesos escalados a nivel industrial.

1.4. Hipótesis

Es posible mejorar la recuperación de polifenoles presentes en los arándanos de descarte (piel, semilla y baya) mediante el uso de mezclas agua - isopropanol combinado con temperaturas moderadas a través de un proceso de extracción subcrítica.

II. Marco Teórico

2.1 Antecedentes

Riihinen et al. (2008) estudiaron la composición fenólica presente en los arándanos (*Vaccinium corymbosum*). Para tal fin, el método de pH diferencial y polifenoles totales fueron usados para establecer concentraciones globales de estos compuestos, mientras que la cuantificación e identificación de los polifenoles se realizó mediante cromatografía líquida acoplada a un detector de arreglo de diodos. Las concentraciones de antocianinas y polifenoles totales alcanzaron valores de 85 mg/L y 250 mg/L respectivamente, mientras que diferentes familias de polifenoles específicos fueron identificados tales como flavanoles (prodelfinidinas y procianidinas), flavonoles (miricetina, quercetina y kaempferol) y ácidos fenólicos (cumárico, cafeico). Por lo tanto, este material vegetal en particular puede ser considerado una fuente potencial de polifenoles. No obstante, aún está pendiente establecer tecnologías que permitan la recuperación de estos compuestos.

Li et al. (2017) estudiaron los compuestos polifenólicos presentes en arándano (*vaccinium corymbosium*). Las muestras fueron sometidas a un proceso de extracción con metanol/HCl 0,1% (v/v) a 40°C por un periodo de 4h. La cuantificación de antocianinas monoméricas se realizó por el método HPLC-DAD, mientras que el método de folin-ciocalteu fue usado para determinar el contenido de polifenoles totales y la capacidad antioxidante fue establecida por el método de DPPH. Los resultados indican que el contenido de antocianinas varía entre 94,5 y 301,0 mg/100g de peso fresco, donde la mayor proporción de antocianinas monoméricas corresponde a malvidina 3-galactosido (32,8%) malvidina 3-glucosido (24,2%) y delfinidina 3- galactosido (24,4%) y otros en menor proporción tales como cianidina, petunidina y peonidina; el contenido de polifenoles totales fue de 378,2 mg EAG/100g. Por ello, este tipo de baya en particular proporciona una cantidad considerable de compuestos fenólicos y antocianinas, consecuentemente, es necesario seguir estudiando métodos de extracción que permitan una sustentable recuperación de estos compuestos bioactivos.

Boeing et al. (2014) estudiaron el efecto que diferentes solventes tales como agua, etanol, metanol, acetona, ácido acético sobre la extracción de

compuestos fenólicos y capacidad antioxidante de zarzamora (blackberry). Las muestras fueron sometidas a un proceso de extracción sólido- líquido por 1h a temperatura ambiente. Los resultados muestran que el uso de acetona al 70% presenta los mejores rendimientos en la recuperación de polifenoles totales (5774 g EAG/kg) mientras que el uso de metanol (70%) acidificado al 0,5 % presentó la mayor capacidad antioxidante (1490 µmolET/g). Por lo tanto, controlando la composición del tipo de solvente, es posible mejorar los rendimientos de extracción a condiciones atmosféricas. No obstante, estos solventes no son recomendados para su uso en la industria de alimentos, consecuentemente es necesario el uso de métodos alternativos que permitan no solo una mayor recuperación de polifenoles, sino también una extracción de grado alimentario.

Aaby et al. (2013) estudiaron el efecto del uso de la extracción líquida presurizada (ELP) mediante el uso de agua pura sobre la recuperación de compuestos fenólicos presentes en los residuos de arándano. EL contenido de antocianinas totales se determinó mediante el método de pH diferencial, mientras que el contenido de fenoles totales se determinó mediante el método de Folin-Ciocalteu, la cuantificación de polifenoles específicos se realizó mediante HPLC-DAD-ESI. Los resultados indican que el uso de la ELP (100°C, 15 min) mejora significativamente en aproximadamente 2 veces más la recuperación de polifenoles totales en comparación con la extracción convencional con acetona (60%, 30 min). Por lo tanto, el uso de la ELP se puede proponer como una alternativa eficiente para la extracción de compuestos bioactivos. No obstante, es importante considerar el uso de solventes de grado alimentario con la finalidad de poder reducir los tiempos y temperaturas de proceso además de mejorar los rendimientos en extracción.

Huamán-Castilla et al. (2020) estudiaron el proceso de extracción de compuestos polifenólicos en orujo de uva Carmenere mediante la ELP usando glicerol como cosolvente (15, 32,5, 50 %) T: 90,120,150°C y P:10 MPa, con la finalidad de lograr una selectiva recuperación de familias específicas de polifenoles (monómeros, dímeros y oligómeros). Para la cuantificación de polifenoles se dio mediante UPLC-MS. De acuerdo con los resultados se observó que el glicerol es 1,5 y 2,5 veces más eficiente en la recuperación de polifenoles en comparación con el uso de etanol y acetona. Además, se pudo comprobar que las altas concentraciones de glicerol (50%) favorecen una mayor recuperación de

ácidos fenólicos, mientras que bajas concentraciones de glicerol (15%) permiten una mayor recuperación de flavanoles y flavonoles. En ese sentido, el uso de glicerol, un solvente de grado alimentario de bajo costo puede ser considerado como una alternativa prometedora para los procesos de extracción de compuestos bioactivos. Sin embargo, debido a los diferentes desafíos que surgen en este campo de investigación se deben seguir buscando nuevas alternativas de solventes que permitan reducir los costos de procesos.

2.2 Bases teóricas

2.2.1. Arándano (*Vaccinium corymbosum)*

El arándano, es una especie frutal arbustiva, perteneciente al reino plantae clase dicotiledónea, subclase dileniidae, familia ericaceae, subfamilia Vaccinioideae, género *Vaccinium* y especie *Vaccinium corymbosum L.* Este género contiene alrededor de 450 especies, de las cuales las especie *Vaccinium corymbosum* (*V. angustifolium*) y (*V. virgatum*) son las más comerciales (Mac Bride, 1946).

Su fruto es una baya de color azul claro a negro intenso, cuyo tamaño puede variar entre 0,7 y 1,5 cm de diámetro, posee una capa de cera epicuticular pulverulenta conocida normalmente como bloom y un ribete en la parte superior a modo de corona, su pulpa de un sabor agridulce, es de color vinoso (Buzeta, 1997).

2.2.1.1. Composición nutricional del arándano

Los arándanos presentan importantes concentraciones de proteínas, grasas, carbohidratos, fibra y azúcares (Tabla 1), cuyas concentraciones superan a la composición proximal de otras bayas. Por ejemplo, el contenido de fibra en arándano es 2 veces mayor en comparación con las uvas tintas, mientras que el contenido de azúcares reductores en arándano es alrededor de 2 veces mayor que el de la frambuesa. Además, los arándanos son una fuente de vitaminas tales como la C, complejo B, E y A así como también proporcionan altas cantidades de magnesio, zinc, hierro, fosforo y contienen β-caroteno (Michalska y Łysiak, 2015; Nile y Park, 2014; Shi et al., 2017; Xu et al., 2016).

Tabla 1

Composición nutricional de arándano fresco por 100 g.

Compuesto	Cantidad
Agua	87,130 %
Energia	57,00 kcal
Proteina	0,74 g
Grasa	0,130 g
Carbohidratos	14,49 g
Fibra	2,40 g
Azúcares	9,96 g
Calcio	6,00 mg
Hierro	0,28 mg
Magnesio	6,00 mg
Fosforo	12,00 mg
Potasio	77,00 mg
Sodio	1,00 mg
Zinc	0,16 mg
Vitamina C	9,70 mg
Vitamina B6	0,052 mg
Vitamina A	3,00 mg
β-caroteno	32,00 µg
Vitamina E	0,57 mg
Vitamina K	19,30 µg

Nota. Fuente: Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA, 2020)

2.2.2. Producción nacional y local de arándano

Perú en el año 2015 alcanzó una producción de 11000 toneladas, la misma que se pretende incrementar en 17% para los periodos 2021 y 2022 respectivamente (Tabla 2) (MINAGRI, 2020a).

Según Escurra (2011) este incremento en la producción de arándano se debe a la fuerte demanda y precio del producto en el mercado internacional (US$ 7 por kg), además de considerar que el sur peruano, es una zona libre de la plaga mosca de la fruta, por tanto, se dan las condiciones para promover su cultivo. Por ello, el arándano ocupa el 2do lugar dentro de los principales productos peruanos

más exportados en el sector Agroindustrial teniendo una participación del 13,15% en este sector (CIEN, 2020).

Tabla 2

Producción de arándano en Perú 2015 – 2020 y proyección a 2021 -2022 (TM).

Temporada (Años)	Producción de arándano (TM)
2015	11000
2016	29000
2017	52000
2018	85000
2019	146000
2020	171000
2021	200800
2022	235000

Nota. Fuente: Ministerio de Agricultura y Riego (MINAGRI, 2020)

Por otro lado, la superficie sembrada de arándano en el Perú, durante el periodo 2018 alcanzó aproximadamente 6000 hectáreas; dentro de las cuales la región la Libertad presenta la mayor proporción con 4247 ha. seguida por otras regiones tales como Lambayeque (1078 ha), Ica (277 ha), Lima (77 ha), Ancash (69 ha) y en una menor proporción la región de Moquegua con (33 ha) (Tabla 3) (Redagrícola, 2018).

Tabla 3

Superficie de producción arándanos en Perú.

Región	Zona	Empresa	Hectáreas
	Viru	Camposol S.A.C.	2000,00
	Trujillo	TAL S.A.	665,90
	Trujillo	Hortifrut Peru S.A.C.	492,60
	Viru	Hass Perú S.A.	222,00
La libertad	Viru	Agroberries Perú	221,80
	Viru	Blueblerries Perú	186,80
	Trujillo	Danper Trujillo	157,70
	Chepen	Agricola Cerro Prieto	300,00

	Chiclayo	HFE berries Peru S.A.C.	285,60
	Chiclayo	Beta	250,00
Lambayeque	Olmos	Agrovision Perú	400,00
	Olmos	Plantaciones del Sol	52,00
	Olmos	Frusan Agro	90,00
	Barranca	Agrícola Santa Azul	198,00
	Huaura	Inka´s berries	60,10
Lima	Huaura	Agropecuaria Pamajosa S.A.	15,10
	Cañete	Proberries S.A.C.	3,7
	Pisco	Agroinversiones Valle y Pampa Perú S.A.	43,40
	Ica	Agrícola Don Ricardo S.A.C.	17,10
Ica	Ica	Agricola Marsole S.A.	9,7
	Ica	Procesos Agroindustriales S.A. -Proagro	3,1
	Ica	Agroindustrias Mamacona S.R.L.	3,5
	Huaylas	Exportadora Frutícola del Sur S.A.	38,30
Ancash	Huarmey	Agrícola la Venta S.A.	30,40
Moquegua	Mariscal Nieto	Consorcio Agrícola Moquegua S.A.C	33
Otros			219

Nota. Fuente: Redagrícola (2018)

2.2.3. Exportaciones de arándano

Durante los periodos 2015 – 2016, la exportación del arándano se incrementó en 104% (12000 TM), esta tendencia positiva se repitió en los periodos siguientes con incrementos de 66 y 57% para los años 2018 y 2019 respectivamente (Tabla 4). Por ello, Perú es uno de los principales exportadores de este fruto con 125000 TM al mercado internacional (INEI, 2020).

Tabla 4

Exportación de arándanos peruanos durante las temporadas 2015 - 2020

Temporada (Años)	Exportación (TM)
2015 - 2016	13000
2016 - 2017	26000
2017 - 2018	48000
2018 - 2019	79000
2019 - 2020	125000

Nota. Fuente: Arándanos Perú (2019)

Si bien en la campaña 2019/2020 las principales regiones exportadoras de nuestro país fueron La Libertad (75448 TM), Lambayeque (21054 TM), Lima (11868 TM), Ancash (2930 TM) e Ica (2756 TM); la región Moquegua exporto aproximadamente 180 TM con destino a los Estados Unidos (Blueberries, 2020; SENASA, 2020).

Otro aspecto importante en la exportación de arándano son las empresas relacionadas con este rubro. Por ejemplo, durante la campaña 2019/2020 las principales empresas exportadoras fueron Camposol y el grupo Hortifrut con una participación del 22 y 14% de la exportación respectivamente (Tabla 5).

Tabla 5

Participación y precios de exportación de empresas peruanas.

Empresa	2019-2020 Participación en Volumen de Exportación (%)	Precios de exportación ($/ kg)
Camposol S.A.	22	6,17
Hortifrut- Perú S.A.C.	14	5,58
Agro vision Perú S.A.C.	7	6,41
Hortifrut- Tal S.A.C.	7	5,72
Agrícola Cerro Prieto S.A.	4	10,25

Agrícola Santa Azul S.R.L	5	7,71
HFE Berries Perú S.A.C.	5	7,22
Complejo Agroindustrial Beta S.A.	4	7,39
Hass Perú S.A.	5	6,51
Agroberries Perú S.A.C.	4	6,72
Otros	23	6,34
	100	6,9

Nota. Fuente: Redagrícola (2020)

2.2.4. Arándanos de descarte

Los arándanos de descarte son aquellos residuos agroindustriales remanentes del proceso de postcosecha, transporte, almacenamiento, selección y empaque, los cuales son en general piel, baya y semilla que se generan durante la cadena de exportación de este producto (ODEPA, 2018). En general, estos residuos presentan características físicas tales como pudriciones, deshidratación, pérdida de firmeza, falta de Bloom (pruina) y otros defectos (GLOBALG.A.P., 2020). No obstante, el presente estudio se enfoca tipificar aquellos descartes de arándanos generados en la etapa previa al envasado y exportación de este producto, los cuales se deben al no cumplimento de las siguientes especificaciones:

a) Recepción de materias primas previo al almacenamiento y envasado para exportación

Se da mediante la identificación de los defectos de calidad y condición de la fruta (Tabla 6). Los arándanos de exportación deben ser de una misma variedad, con una presentación uniforme en color y calibre, deben estar sanos, libres de tierra, u otras materias extrañas (Agacino y Sepúlveda, 2016).

La identificación de los defectos permite tener Información para posteriormente tomar decisiones del proceso de embalaje. El porcentaje

de defectos aceptados dentro de la muestra y la tolerancia será dependiendo al mercado destino (GLOBALG.A.P., 2020).

Tabla 6

Calificación y Tolerancia para arándanos frescos por caja.

	Excelente	**Bueno**	**Regular**	**Pobre**
	1	**2**	**3**	**4**
DEFECTOS DE CALIDAD	**%**	**%**	**%**	**%**
Bajo Peso	0	0	0	0
Bajo Calibre (min 10 mm)	0 - 2	> 2 - 4	> 4 - 6	> 6
Presencia de pedicelos	0 - 4	> 4 - 8	> 8 - 20	> 20
Falto de color (10% verde o rojo)	0	> 0 - 2	> 2 - 5	> 5
Polvo	0	0	0	0
Restos florales	0 - 2	> 2 - 5	> 5 - 10	> 10
Russet/herida cicatrizadas	0	> 0 - 4	> 4 - 10	> 10
Falto de Bloom (> 30%)	0 - 3	> 3 - 6	> 6 - 15	> 15
Presencia de insectos	0	0	0	0
Total defectos de calidad	**0 - 4**	**> 4 - 8**	**> 8 - 20**	**> 20**
DEFECTOS DE CONDICIÓN	**%**	**%**	**%**	**%**
Fruta blanda	0	0	> 0 - 3	> 3
Deshidratación moderada	0	> 0 - 1	> 1 - 3	> 3
Deshidratación severa	0	0	> 0 - 1	> 1
Desgarro pedicelar	0	> 0 - 2	> 2 - 5	> 5
Herida abiertas/ partiduras	0	0	> 0 - 1	> 1
Pudriciones	0	0	0	> 0
Machucones	0	> 0 - 1	> 1 - 3	> 3
Bayas reventadas	0	0	0	0
Total defectos de calidad	**0**	**> 0 - 3**	**> 3 - 6**	**> 6**

Nota. Fuente. Normas de Calidad y Embalaje (GLOBALG.A.P., 2020).

Es importante resaltar que, durante los procesos de selección, almacenamiento y envasado, se generan importantes cantidades de descartes. Por ejemplo, por cada 1000 kg se generan 30 kg de descarte. Entonces considerando que en el año 2020 se llegó a exportar 165 TM con

procedencia de la región Moquegua se generaron aproximadamente 5 TM de descarte.

2.2.5. Compuestos bioactivos presentes en el arándano

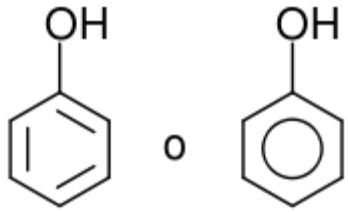
Los arándanos presentan concentraciones importantes de compuestos bioactivos, los cuales son reconocidos como polifenoles. Por ello, debido a su alta capacidad antioxidante y propiedades bioactivas estos compuestos han despertado el interés de la industria alimentaria y farmacéutica (Manach et al., 2004; Moyer et al., 2002).

2.2.5.1. Compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos son metabolitos secundarios, cuyas estructuras químicas están compuestas por un anillo bencénico que contiene un OH, con poder reductor (Figura 1) (Tomás Barberán , 2003).

Figura 1

Estructura de un fenol.



Nota. Estructura química de un fenol. Adaptada de (Peñarrieta et al. 2017)

El contenido de polifenoles totales presentes en el fruto entero de arándano es de 466,5 mg EAG/100g, donde la piel presenta un 78%, la semilla 14% y la pulpa 8% (Lee y Wrolstad, 2004) . Si bien existen diferentes especies de arándanos, el contenido de polifenoles totales puede variar no solo según su especie sino también según la parte especifica del fruto (Tabla 7).

Tabla 7

Distribución de Fenoles totales de Arándano (V. Corymbosum y V. Myrtillus).

	Fenoles totales				
		(Vaccinium corymbosum)			*(Vaccinium*
	Rubel	Bluegold	Brigitta	Legacy	*Myrtillus)*
Baya entera	466,5 mg EAG/100g	432,7 mg EAC/100g	468,2 mg EAC/100g	570 mg EAC/100g	564 mg EAC/100g
Piel	1583,8 mg EAG/100g	3109,2 mg EAC/100g	3099,5 mg EAC/100g	3168,6 mg EAC/100g	1447 mg EAC/100g
Pulpa	160,4 mg EAG/100g	52,9 mg EAC/100g	47,6 mg EAC/100g	42,7 mg EAC/100g	
semillas	285,6 mg EAG/100g				
Referencias	Lee y Wrolstad (2004)	Ribera et al. (2010)			Aaby et al. (2013)

Además, es importante mencionar que el contenido de polifenoles presentes en el arándano, es superior a otro tipo de bayas como: mora, arándano rojo, frambuesa, sauco y grosella negra (Tabla 8).

Tabla 8

Fenoles totales de distintos tipos de Bayas (peso freso).

Tipo de Baya	**Fenoles (mg/g)**	**Referencia**
Arándano	261 - 585	Fernandez-Panchon et al. (2008); Skupień y Oszmiański (2004)
Mora	486	Sellappan et al. (2002); Wang y Lin (2000)
Arándano (bilberry)	315	Määttä-Riihinen et al. (2004); Wang y Lin (2000)

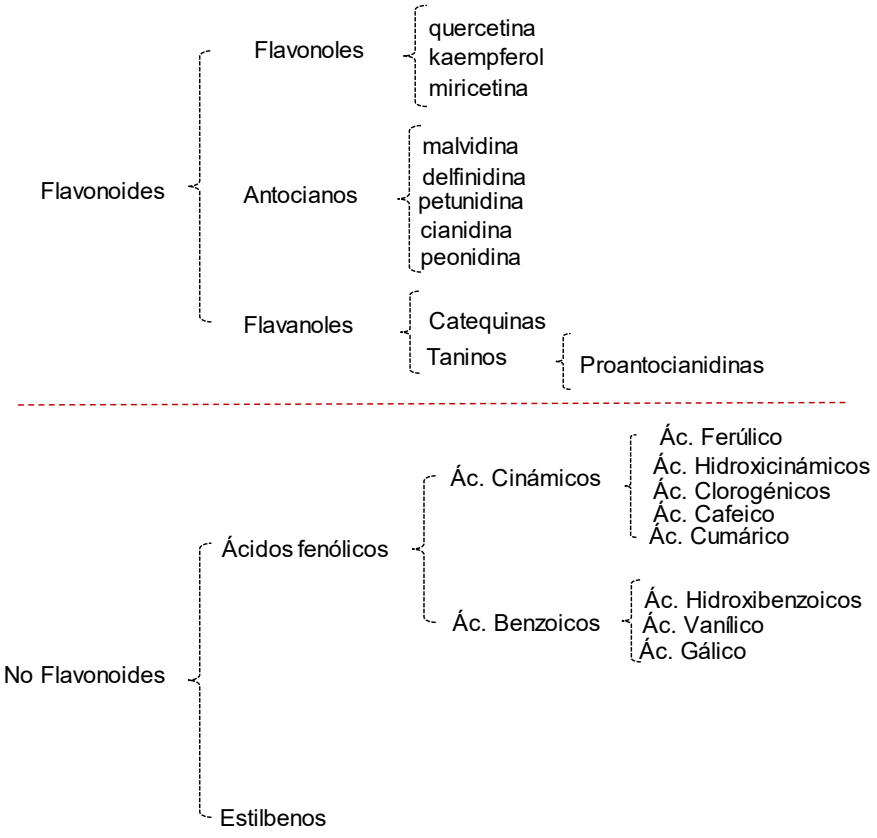
Frambuesa	121	Koponen et al. (2007); Rauha et al. (2000)
Sauco	104	Borges et al. (2010); Rimpapa et al. (2007)
Grosella negra	29 - 90	Kaack y Austed (1998); Ozgen et al.(2010)

2.2.5.2. Clasificación de compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos presentes en el arándano pueden ser clasificados en dos grupos principales tales como no flavonoides y flavonoides (Figura 2).

Figura 2

Clasificación de compuestos fenólicos en arándanos.



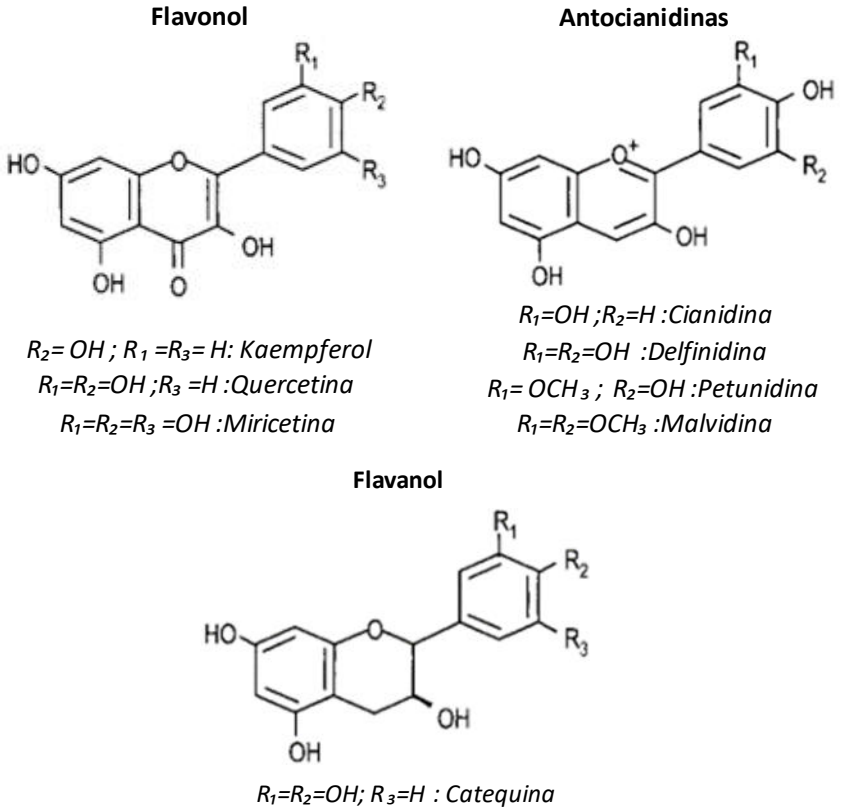
A. Flavonoides

Las diferentes clases de flavonoides presentes en los arándanos incluyen flavanoles, antocianinas y flavonoles, cuyas estructuras químicas son diferentes (Anhê et al., 2013) (Figura 3). Por ejemplo, las antocianinas presentan un aglicón (antocianidina) en su forma básica, conformada por dos anillos aromáticos unidos por una estructura de tres carbonos (Valls et al., 2005).

Los flavanoles presentan el anillo saturado y un grupo hidroxilo en el C3, los cuales pueden estar presentes como monómeros o polímeros de alto peso molecular, mientras que los flavonoles tienen un grupo hidroxilo adicional en el C3, un grupo cetona en el C4 y una instauración en el C2 y C3 (Quiñones et al., 2012).

Figura 3

Estructura química de compuestos polifenólicos (Flavonoides).



R_2= OH ; R_1 =R_3= H: Kaempferol
R_1=R_2=OH ;R_3 =H :Quercetina
R_1=R_2=R_3 =OH :Miricetina

R_1=OH ;R_2=H :Cianidina
R_1=R_2=OH :Delfinidina
R_1= OCH_3 ; R_2=OH :Petunidina
R_1=R_2=OCH_3 :Malvidina

R_1=R_2=OH; R_3=H : Catequina

Nota. Núcleo estructural de los principales compuestos fenólicos de tipo flavonoide. Adaptada de (Quiñones et al. 2012)

B. No Flavonoides

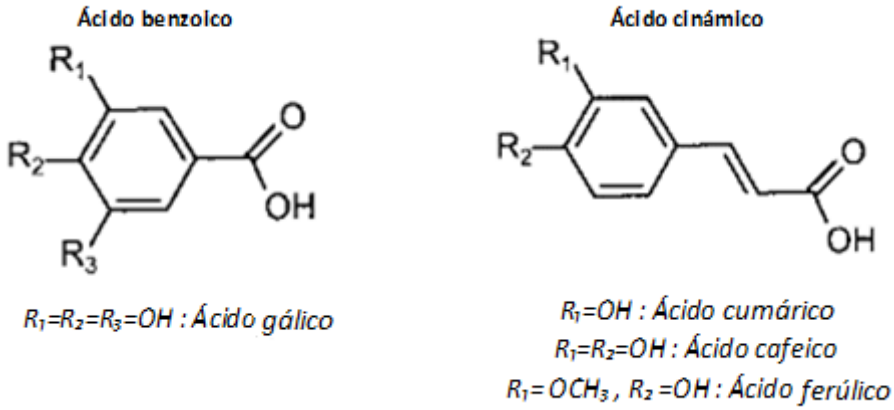
Los no flavonoides constan de dos grupos tales como los derivados del ácido benzoico y ácido cinámico, los cuales se caracterizan por tener un anillo de benceno, un ácido carboxílico uno o más grupos hidroxilo y/o metoxilo en la molécula (Figura 4) (Anhê et al., 2013; Heleno et al., 2015).

En particular, los ácidos cinámicos presentan hidroxilaciones y metilaciones en su estructura, estos compuestos poseen un anillo fenil (de seis carbonos) y una cadena lateral de tres carbonos y son colectivamente llamadas fenilpropanoides (Naczk y Shahidi, 2004). Los ácidos hidroxicinámicos son más comunes que los ácidos hidroxibenzoicos y consisten principalmente en p-cumárico, cafeico y ferúlico (Clifford, 1999).

Por otro lado, los ácidos benzoicos son caracterizados por la presencia de un grupo carboxilo sustituido en un fenol tales como los ácidos p-hidroxibenzoico, gálico, vanílico entre otros (Grotewold, 2006).

Figura 4

Estructura química general de ácidos fenólicos (No flavonoides)



Nota. Núcleo estructural de los principales compuestos fenólicos de tipo No flavonoide. Adaptada de (Quiñones et al. 2012).

2.2.5.3. Potencial antioxidante del arándano

La actividad antioxidante es la capacidad de una sustancia para inhibir radicales libres (Avello y Suwalsky, 2006), un radical libre es un átomo o molécula que tiene uno o más electrones desapareados en sus orbitales externos y es capaz de oxidar una serie de compuestos orgánicos en nuestros sistema biológico (Carvajal, 2019; Torres, 2002).

La estructura química de los polifenoles los hace excelentes antioxidantes con una alta capacidad de reducir los radicales libres presentes en el sistema biológicos mediante reacciones del tipo oxido-reducción (Tabla 9) (Olsson et al., 1998).

Tabla 9

Capacidad antioxidante de fracciones y baya entera de arándano.

Arándano (*Vaccinium corymbosum*)	**FRAP (µmol/g)**	**ORAC (µmol/g)**
Baya entera	39,9	30,7
Pieles	151,3	94,9
Pulpa	9,5	8,5
semillas	20,5	9,8

2.2.6. Impacto de los compuestos bioactivos presentes en los arándanos sobre la salud

Tabla 10

Actividad biología de compuestos bioactivos presentes en arándano (V. Corymbosum).

Compuestos	**Beneficios potenciales para la salud**	**Actividad biológica**	**Referencias**	
			Estudios	
			in vitro	***in vivo***
Antocianinas				
Cianidina	Neuroprotección	Atenúan la degeneración neuro -cognitivo inducida por oxLDL	Schroeter et al. (2000)	

Delfinidina	Anti-diabético	Reduce la tasa de aglicación de albúmina y HbA1	Gharib et al. (2013)
Malvidina	Efecto antiinflamatorio	Atenúa las respuestas inflamatorias inducidas por TNF-α encélulas endoteliales	Huang et al. (2014)
Peonidina	Actividad antimutagénica	Inducen la activación de la enzima antioxidantes de fase II en defensa contra el estrés oxidativo actuando como fitoquímicos quimiopreventivos	Shih et al. (2007)
Petunidina	Capacidad antioxidante	Las antocianinas y sus agliconas actúan como fuertes antioxidantes en emulsiones y LDL.	Kähkönen et al. (2001); Shih et al. (2007)
Flavonoles			
Miricetina	Efectos anticancerígenos	Ejerce potentes efectos antiproliferativos y proapoptóticos en células de leucemia humana K562	Pan et al. (2016)
Quercetina	Efectos anticancerígenos	Inhibe el crecimiento de las células cancerosas HCT116 que causaron apoptosis en las células	Katsube et al. (2003)
No flavonoides			
Ác. cafeico	Anti-diabética	el ácido cafeico inhibio la actividad de α-amilasa y α-glucosidasa en forma de dosis-dependiente (2-8 µg / mL) diabetes tipo 2	Oboh et al. (2015)
Ác. clorogénico	Capacidad antioxidante	El ácido clorogénico radical inhibió el inicio de peroxidaciones lipídicas en cadena por radicales libres orgánicos.	Kono et al. (1997)

Los polifenoles presentes en los arándanos son reconocidos por sus propiedades benéficas sobre la salud (Seeram, 2008; Seeram et al., 2006). Estas

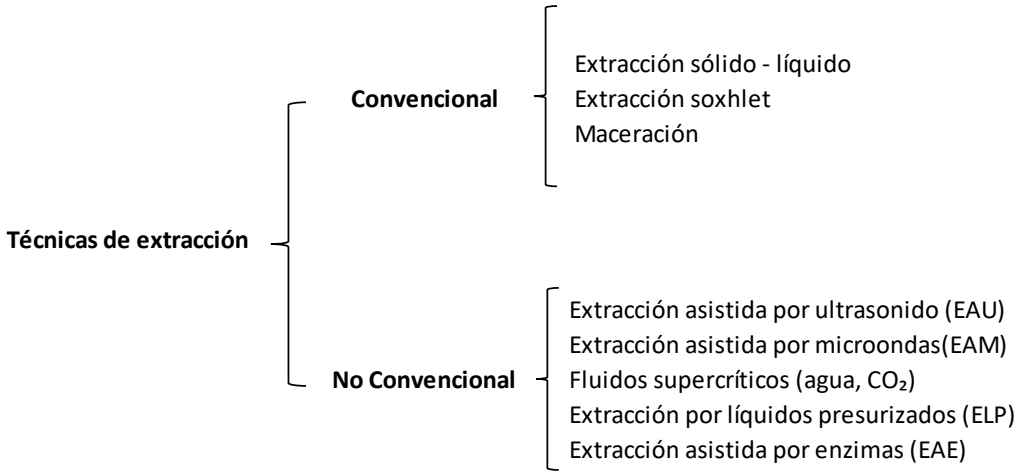
propiedades bioactivas han sido demostradas mediante el uso de pruebas *in vitro e in vivo* (Tabla 10) (Manach et al., 2004).

2.2.7. Técnicas de extracción

Si bien existen diferentes técnicas de extracción de polifenoles en diversas matrices vegetales, en general es común clasificarlos en dos grandes grupos tales como métodos convencionales y no convencionales (Figura 5) (Cheynier, 2005).

Figura 5

Técnicas de extracción de compuestos polifenólicos.



Dependiendo del método elegido, la eficiencia de extracción de los compuestos fenólicos dependerá del tipo de matriz vegetal, tamaño de muestra, presencia de sustancia interferente así como las condiciones de proceso tales como solvente y temperatura (Mustafa y Turner, 2011; Naczk y Shahidi, 2004).

2.2.8. Métodos Convencionales

Las técnicas convencionales se caracterizan porque requieren el uso de solventes orgánicos, temperatura y agitación bajo condiciones atmosféricas (Rodríguez-Pérez et al., 2015) la extracción sólido - líquida, puede efectuarse usando un extractor Soxhlet.

2.2.8.1. Extracción sólido - líquido

Implica una pequeña cantidad de muestra seca, que se coloca en el equipo, donde el solvente atraviesa. El tiempo de extracción aproximado es entre 6 – 8 horas (Suwal y Marciniak, 2019).

- Ventajas: Rápido y fácil de manejar.
- Desventajas: Alto consumo de solventes, largo tiempo de tratamiento y degradación térmica.

Tabla 11

Condiciones de extracción convencional y solventes aplicados

	Fruto	Solvente	Muestra	Tiempo	Temperatura (°C)	Rendimiento CPT	Referencia
Extracción sólido - líquido	*Vaccinium corymbosium*	metanol /HCl (0,1%)		4 h	40	378,2 mg EAG/g	Li et al.(2017)
Extracción soxhlet	*Vaccinium macrocarpon*	100 mL de etanol al 96% y 0,5% ácido trifluoroacético (v/v)	1 g en polvo	12 h	80	1,21 g/100g de baya en polvo	klavins et al. (2017)

2.2.9. Métodos no convencionales

Estos métodos son reconocidos como tecnologías alternativas o tecnologías verdes debido al uso reducido de energía y el consumo de solventes amigables con el ambiente (Rodríguez et al., 2015).

2.2.9.1. Extracción asistida por ultrasonido

Este método implica el uso de una sonda que permite generar burbujas de cavitación (equilibrio líquido-gas) dentro de un baño térmico. La aplicación de energía ultrasónica conduce a la ruptura de la pared celular del material vegetal, lo que aumenta los rendimientos (Sridhar et al., 2021) .

Tiene un tiempo de extracción aproximado entre 10 – 60 min, tamaño de muestra (1 - 30 g), volumen de solvente aproximado (50 – 200 mL) y tiene un costo bajo (Suwal y Marciniak, 2019).

- Ventajas: Es rápido, se utiliza menos solvente y consumo de energía, gradiente térmico reducido, alta pureza y aumento del rendimiento extractivo, simplificando así la manipulación y el tratamiento.
- Desventajas: Formación de radicales libres en la matriz más allá de las condiciones óptimas de procesamiento, degradación e inactivación del compuesto de extracción debido al esfuerzo cortante y daño por el uso de ondas ultrasónicas.

Tabla 12

Condiciones de extracción asistida por ultrasonido y solventes aplicados.

Fruto	Solvente	Frecuencia (kHz)	Tiempo (min)	Temperatura (°C)	Energía (W)	Relación de solvente muestra (mL / g)	Rendimiento CPT	Referencia
Rubus strigosus y Vaccinium corymbosum	agua	24	20	25	400	1:1	460 y 500 µg EAG/mL	Medina-Meza et al. (2016)
Arándano, arándano rojo, fresa, grosella negra, grosella roja	50%y70% metanol y 70% etanol con 1% de HCl		24	25		2	10,3 - 43,4 mgEAT/g	Ehala et al. (2005)
Rubus fruticosus	EtOH(64 %,acidulado con 0,01 % HCl)	35	15	40	60	2:5	2658 gEAG /g	Ivanovic et al. (2014)
Rubusspp., Vacciniumspp.,Fragaria x ananassa y Aronia melanocarpa	EtOH: agua:HCl (70:29:1)		2 h	30		1:10	800,700,700, 600 mgEAG/g	Pan et al. (2016)

2.2.9.2. Extracción asistida por microondas

El mecanismo implica la conversión de ondas electromagnéticas en energía térmica y se produce un calentamiento, la humedad se evapora y crea una alta presión que provoca la ruptura de la pared celular y la liberación de compuestos bioactivos específicos. Generalmente se prefieren para el proceso solventes con altas constantes dieléctricas (Sridhar et al., 2021).

Tiempo de extracción (3 – 30 min), tamaño de muestra (1 – 10 g), y es de costo moderado (Suwal y Marciniak, 2019).

- Ventajas: gradiente térmico rápido y reducido, transferencia de calor volumétrica, uso reducido de solventes, alta reproducibilidad y alta pureza del compuesto extractivo.
- Desventajas: pérdida de compuestos sensibles al calor debido a la degradación térmica y oxidación y proporciona un menor rendimiento de extracción.

Tabla 13

Condiciones de extracción asistida por microondas y solventes aplicados.

Fruto	Solvente	Tiempo (min)	Energía (W)	Relación de disolvente muestra (mL/g)	Rendimiento (CPT)	Referencia
Arándano, arándano rojo, fresa, grosella negra,	70% etanol	3	180	2	10,3 - 43,4 mg EAT/g	Ehala et al. (2005)
Grosella roja Chokeberry	53,6% etanol	5	300	5	420 mg EAT/g	Simić et al. (2016)

2.2.9.3. Extracción por fluidos supercríticos

La técnica implica el uso de fluidos supercríticos como solvente de extracción. La muestra es colocada dentro de una celda de extracción de alta presión por donde atravesará el fluido supercrítico, el cual es combinado con tiempos de extracción (10 – 60 min), tamaños de muestra (1 – 5 g) y volúmenes de solvente (30-60 mL) muestra líquida (Suwal y Marciniak, 2019).

- Ventajas: Rápido, Bajo consumo de solvente, concentración del extracto no se necesita filtración y posible alta selectividad.
- Desventajas: Muchos parámetros para optimizar.

Tabla 14

Condiciones de extracción por fluidos supercríticos y solventes aplicados.

Fruto	Solvente	Presión (MPa)	Tiempo (min)	Temperatura (°C)	Flujo de CO2	Rendimiento CPT	Referencia
Vaccinium myrtillus	CO2: AGUA:EtOH (90:5:5)	20		40	1,4X10⁴ kg/s	134 mg EAG/g	Paes et al. (2014)
Vaccinium myrtillus	SFE-CO2, EtOH(10%)	25	30	45		72.18 mg EAG/g	Babova et al.(2016)

2.2.9.4. Extracción Líquida Presurizada (ELP)

Los solventes líquidos con mayor solubilidad y velocidad de difusión en condiciones presurizadas aumentan la transferencia de masa y disuelven el compuesto objetivo. El tiempo de extracción se da entre (10 - 25 min), tamaño de muestra (1 - 30 g), volumen de solvente (150 mL) y tiene un costo alto (Suwal y Marciniak, 2019).

El proceso se lleva a cabo en un extractor cerrado, evitando así el contacto del compuesto objetivo con la luz y el oxígeno (Dong et al., 2007) los componentes principales del sistema ELP son:

- Una bomba de alta presión a través de la cual se alimenta el solvente a la celda de extracción y la extracción presurizada se mantiene constante en el sistema (regularmente entre 5 y 15 MPa)
- Un sistema de calentamiento por solvente, puede ser con un horno para calentar la celda de extracción entre 50 y 200 °C.
- Un recipiente de extracción para contener la muestra en estudio: debe soportar alta presión y contar con un sistema de válvulas para mantener estables las condiciones de extracción
- Un sistema de enfriamiento de extracto
- Un regulador de contrapresión
- Un vial para recolectar el extracto

- Ventajas: Técnica rápida, de bajo consumo de solventes y respetuosa con el ambiente.
- Desventajas: Alto costo de inversión, equipo costoso y efecto negativo sobre la bioactividad del compuesto extractivo termolábil. (Ballesteros-Vivas et al., 2021).

Tabla 15

Condiciones de extracción por líquidos presurizados y solventes aplicados.

Fruto	Solvente	Presión (MPa)	Tiempo (min)	Temperatura (°C)	Rendimiento CPT	Referencia
Vaccinium myrtillus	EtOH puro, EtOH (50%), agua acidificada, EtOH (50%, agua acidificada), Acetona.	5 - 40	15	25 - 180	102 mg/g , 87,1 mg/g (puro EtOH)	Paes et al. (2014)

III. METODOLOGÍA

3.1. Tipo y nivel de Investigación

El trabajo de investigación es de tipo aplicada, cuantitativa y el nivel de investigación es experimental debido al uso de un diseño factorial completo con la finalidad de analizar el efecto de las variables experimentales tales como temperatura y concentración del solvente sobre la obtención de polifenoles presentes en los arándanos de descarte.

3.2. Ámbito temporal y espacial

El ámbito fue transversal, ya que el trabajo de investigación se realizó durante los periodos de tiempo que comprenden (2021-2022).

El presente proyecto de investigación realizó las etapas de extracción por líquidos presurizados y análisis que comprenden a polifenoles totales, capacidad antioxidante en el laboratorio de extracción de compuestos de alto valor (LECAV) de la escuela profesional de Ingeniería Agroindustrial -UNAM. Mientras que el análisis de compuestos no deseados (Azúcares Reductores) en los laboratorios de la Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial de la Universidad Nacional de Juliaca. Y el perfil de polifenoles se realizó en el laboratorio de contaminantes orgánicos y ambiente del IINDEP - UNAM.

3.3. Muestra

5 kg de arándanos de descarte, fueron proveídos por la empresa Consorcio Agrícola Moquegua S.A.C, ubicada en el sector Cerro Blanco, Región de Moquegua (Perú).

3.4. Instrumentos

3.4.1. Materiales

- 03 Matraces Erlenmeyer (50, 100 y 250 mL)
- 02 Micropipetas (50 y 100 µL)
- 03 Probetas de vidrio (50, 100, 250 mL)
- 30 Tubos de ensayo

- 03 Vasos de precipitados de vidrio (50, 100, 250 mL)
- 03 Fiolas (10, 250 y 500 mL)
- 02 Picetas (250 y 500 mL)
- 01 papel absorbente
- 01 papel aluminio
- 02 papel filtro
- 01 Celda de 100 mL para ASE 150
- 18 botellas ámbar 200 mL
- 01 Balón de 20 kg de nitrógeno
- 50 Criovial de plástico estéril 2 mL
- 18 Cartuchos SPE SiliaPrep C18 5 mL, 500 mg (Silicycle,Québec, Cánada)
- 100 Puntas para micropipetas de 100 µL -1000 µL
- 100 Puntas para micropipetas de 10 µL -100 µL
- 100 Puntas para micropipetas de 0,5 µL -10 µL

3.4.2. Equipos

- Balanza analítica (ENTRIS224-1S, Sartorius Lab Instruments Gmb H & Co, KG, Goettingen, Alemania)
- Congeladora (modelo Rh25h5613sg, Samsung)
- Agitador magnético con temperatura (Modelo IKA C-MAG HS-7)
- Extractor de solvente acelerado Dionex ASE 150 de Thermo Scientific.
- Lector Multi-modal de Microplacas (Synergy/HTX, Biotek Instruments Inc, Winooski, VT, EE.UU.)
- Procesador de alimentos (Marca Bosch MS6CA4120)
- Tamiz vibratorio (Analysette 3 pro, Fritsch, Idar-Oberstein, Alemania)
- Centrífuga (Pro-analityt.C2004, Centurion Scientific Ltd, UK)
- HPLC-IR (Thermo Scientific Dionex Ultimate 3000, Massachusetts, EE. UU.)
- Unidad UHPLC – DAD (Agilent 1290 Infinity II, EE.UU.)

3.4.3. Insumos y Reactivos

- Trolox (>97 % de pureza)

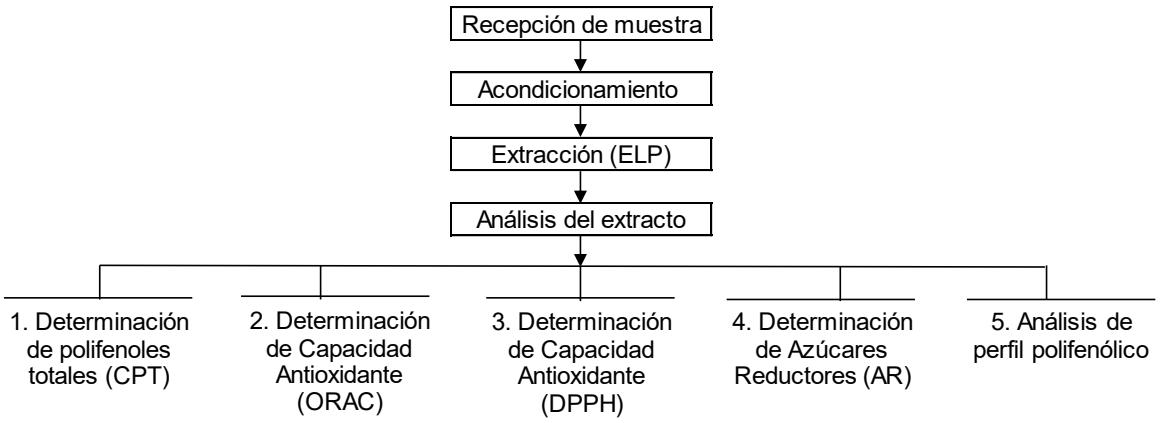
- Radical DPPH
- Reactivo Fenol Folinciocalteu (2 N)
- Etanol grado HPLC (> 99 % de pureza)
- Isopropanol Q.P (> 98 % de pureza)
- Hidróxido de sodio (0,1 N)
- Fenolftaleína
- Agua destilada
- Agua MiliQ
- Tierra de diatomea
- Carbonato de sodio (10%, p/p)
- Ácido gálico (0.8 g/L)
- Acetonitrilo
- Ácido fórmico
- Metanol grado HPLC
- Catequina (≥ 97 %)
- Epicatequina (≥ 98 %)
- Kaempferol (≥ 97 %)
- Rutina (≥ 94 %)
- Quercitrina (≥ 98 %)
- Procianidina A2 (≥ 90 %)
- Procianidina B2 (≥ 90 %)
- Resveratrol (≥ 98 %)
- Ácido cafeico (≥ 95 %)
- Ácido vanilico (≥ 99 %)

3.5. Procedimientos

La Figura 6 muestra el proceso realizado para la extracción, análisis de polifenoles, capacidad antioxidante, azúcares reductores y el análisis de perfil de polifenoles.

Figura 6

Diagrama de flujo de proceso para la extracción y análisis de polifenoles en arándano de descarte.



A continuación, se detalla cada una de las actividades representadas en la Figura 6:

3.5.1. Recepción de muestra

Las muestras recolectadas fueron lavadas (agua potable) y envasadas en bolsas de polietileno de alta densidad y finalmente almacenadas a temperatura de congelación (- 20 °C) para su posterior extracción y análisis.

3.5.2. Acondicionamiento

Las muestras congeladas fueron colocadas en un procesador de alimentos (Marca Bosch MS6CA4120), donde por un periodo de 10 s fueron reducidas de tamaño de partícula < 2 mm. Luego, se utilizó un tamizador N° 10 para verificar el tamaño, por un periodo de tiempo 5 min y amplitud de 2 mm

3.5.3. Extracción líquida presurizada de compuestos fenólicos

Bajo condiciones de ELP diferentes mezclas agua - isopropanol (0, 15, 30%, p/p) combinado con diferentes temperaturas de extracción (70, 100 y 130°C) (Figura 7) fueron utilizados para la obtención de extractos. Los niveles de solvente y los parámetros de proceso, se definieron en base a investigaciones previas de procesos de extracción (Huaman-Castilla et al., 2019; Huamán-Castilla et al., 2020). En resumen 10 g de arándano de descarte (base seca) fueron pesados y 10 g de tierra de diatomea (agente dispersante) fueron mezclados y acondicionados en una celda de extracción (100 mL). Luego la celda fue colocada dentro del sistema de extracción ELP (ASE150: Dionex, Thermofisher) (Figura 8), cuyos parámetros de proceso fueron los siguientes: i) presión 10 MPa, ii) un ciclo

de extracción, iii) 20% de volumen de lavado, iv) 250 s de tiempo de purga de nitrógeno y v) 5 minutos de tiempo de extracción estático. Estas condiciones permitieron obtener una relación muestra sólida: volumen de extracto de 1:10. Después de la extracción, los extractos crudos fueron envasados en viales ámbar y almacenados a -20 °C hasta su posterior análisis.

Figura 7

Esquema de condiciones experimentales en el proceso de ELP para la obtención de polifenoles a partir de arándano de descarte.

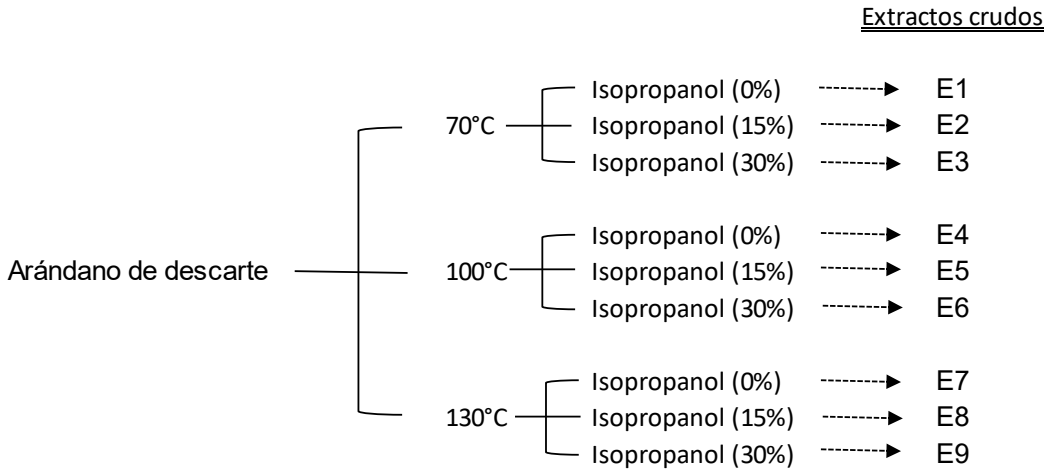


Figura 8

Proceso de extracción líquida presurizada de compuestos fenólicos en arándano de descarte.

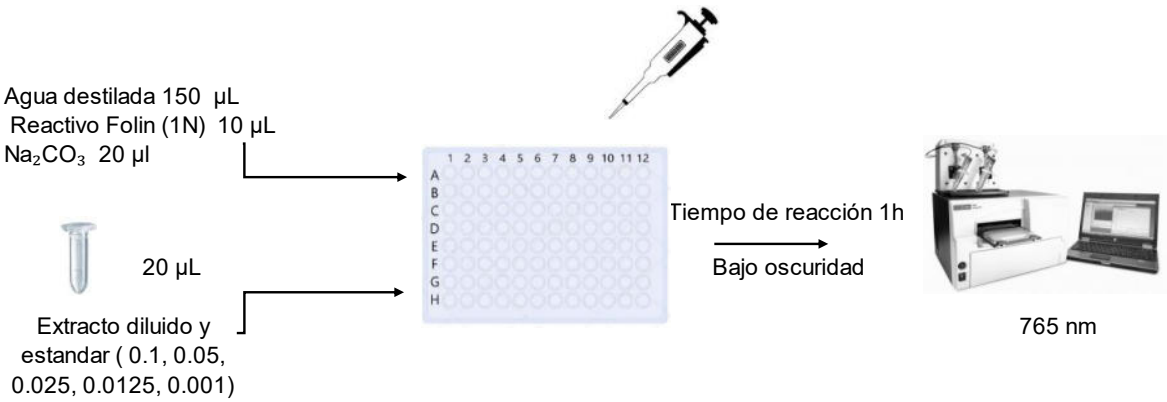


3.5.4. Determinación de polifenoles totales

El contenido de polifenoles totales (CPT) de los extractos obtenidos fueron analizados mediante el ensayo de Folin-Ciocalteu (Singleton y Rossi,1965). Un volumen de 150 µL de agua destilada, 20 µL de extracto de crudo y 10 µL de reactivo Folin-Ciocalteu (1N) se mezclaron con 20 µL de una solución de carbonato de sodio (10% p/v). Después un tiempo de reacción de 1h a temperatura ambiente y protegidas de la luz, la absorbancia fue medida a 765 nm en un Lector multi-modal de microplacas (Synergy/HTX, Biotek Instruments Inc, Winooski, VT, EE.UU.). Previamente, una curva de calibración fue establecida usando ácido gálico como estándar (20 µl) con la finalidad de establecer la ecuación de la recta (Anexo 3). El contenido de polifenoles totales fue calculado mediante la ecuación de la curva estándar. Los resultados fueron expresados en mg de EAG (equivalente de ácido gálico) por gramo de arándano en base seca (Figura 9).

Figura 9

Procedimientos para determinación de contenido polifenólico total.

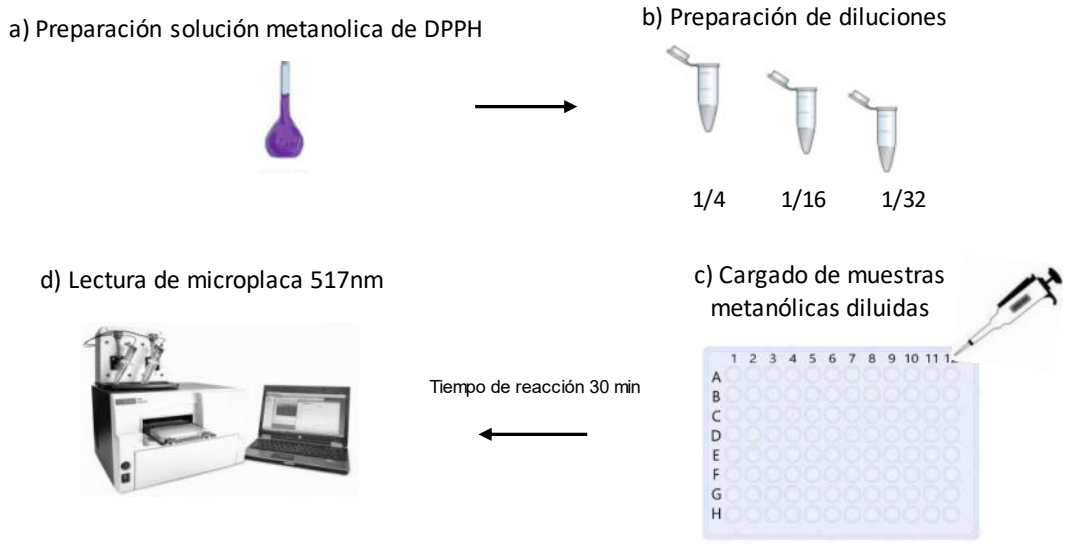


3.5.5. Determinación de capacidad antioxidante por DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo)

La capacidad antioxidante de los extractos se determinaron utilizando el método de inhibición del radical DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo) propuesta por Brand-Williams et al. (1995) (Figura 10).

Figura 10

Procedimientos para determinación de capacidad antioxidante DPPH.



a) Preparación de solución metanólica de DPPH: Se pesaron 10 mg de DPPH en un matraz volumétrico de 500 mL, y fue aforado con metanol (>95%) se cubrió con papel aluminio y se protegió de la luz.
b) Preparación de diluciones: Se prepararon tres diluciones metanólicas seriadas del extracto a distintas concentraciones.
c) Cargado de muestras en placa: Se tomaron 5 µL de las diluciones de los extractos y se cargaron en la placa y posteriormente se agregaron 195 µL de solución metanólica de DPPH. Se dejó reaccionar 30 min y se protegió de la luz.
d) Lectura: La absorbancia fue medida en un lector de microplacas (Synergy/HTX, Biotek Instruments Inc, Winooski, VT, EE.UU.) a una longitud de onda de 517 nm.

Cálculos

$$IC_{50} = \frac{50 - n}{m}$$

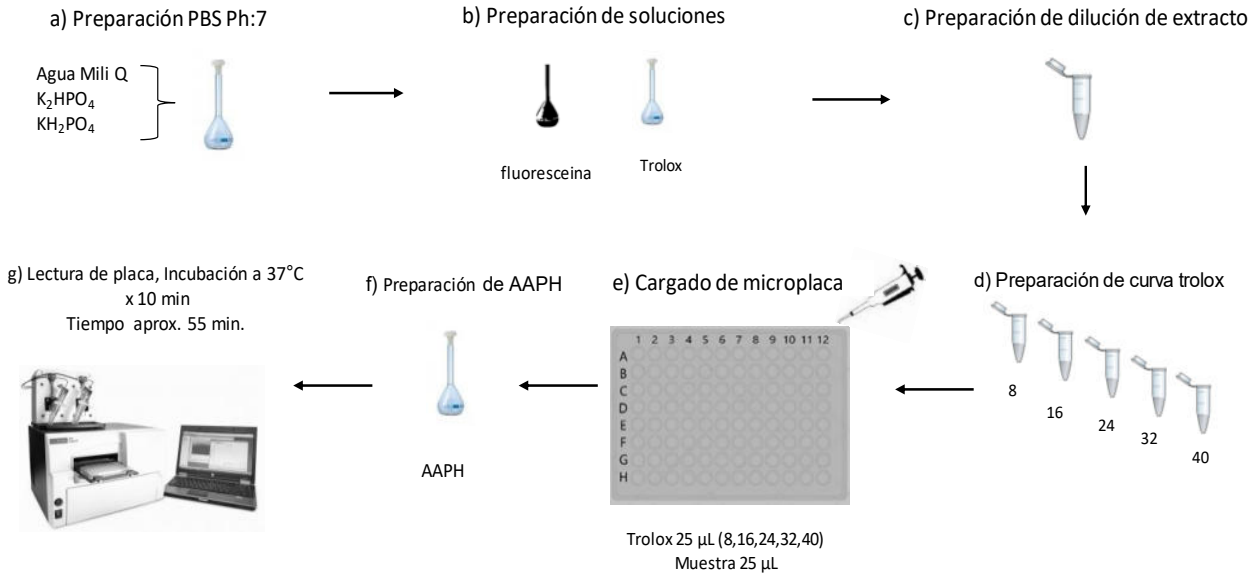
Con esta ecuación determinamos el factor IC_{50} cantidad de antioxidante necesario para disminuir en un 50% la cantidad inicial del radical DPPH. Los valores de capacidad antioxidante se expresaron en (mg/mL).

3.5.6. Determinación de capacidad antioxidante por ORAC (capacidad de absorción de radicales de oxígeno)

Los análisis ORAC de los extractos obtenidos se realizaron en un Lector multi-modal de microplacas (Synergy/HTX, Biotek Instruments Inc, Winooski, VT, EE.UU.) de acuerdo a la metodología propuesta por Chirinos et al. (2008). Donde el AAPH se utilizó como generador de radicales peroxilo, trolox como estándar y fluoresceína como emisor de fluorescencia. Previamente soluciones de fluoresceína (55 mM) y una solución de AAPH (153 mM) fueron diluidos en una solución buffer de PBS (pH 7,4). En resumen, 25 µL de muestra, estándar de Trolox o muestra diluida fueron mezcladas, las cuales se incubaron durante 10 minutos a 37°C antes de la inyección automática en el lector de microplacas. La fluorescencia fue medida a 485 mM (λ: excitation) y a 520 mM (λ: emision) cada minuto durante 50 min (Figura 11). Los valores ORAC finales se calcularon utilizando el área bajo la curva y fueron expresados como µmol de ET por gramo de arándano en base seca.

Figura 11

Procedimientos para determinación de capacidad antioxidante ORAC.



3.5.7. Determinación de azúcares reductores (AR)

Los azúcares reductores de los extractos de arándano de descarte, fueron cuantificados por cromatografía líquida de alto rendimiento acoplado a un detector

– IR de acuerdo a la metodología propuesta por Mariotti et al. (2018). Primero se prepararon diluciones, 3 mL de muestra se mezclaron con 2 mL de agua MiliQ (3:2) en un tubo falcon de 50 mL y luego se homogenizaron y centrifugaron (6000 rpm por 10 min, 4ºC). Posteriormente, con una jeringa se tomaron de 2 mL del sobrenadante y se pasó por un filtro de 0,22 µm. Luego, de este filtrado se tomaron 300 µL y se mezcló con 700 µL de acetonitrilo para hacer el análisis en el equipo HPLC-IR (Thermo Scientific Dionex Ultimate 3000, Massachusetts, EE.UU.). Posteriormente 20 µL de muestra preparada fueron inyectados bajo un flujo de 1 mL/min. La separación cromatográfica se realizó en fase Normal, usando una columna Li ChroCART® 250-4 Purospher® STAR NH_2 (5 µm) a 40ºC. La fase móvil fue de Acetonitrilo/agua (70/30%) (Merck, EE.UU.) para después ser analizada por el detector IR, cada pico principal en los cromatogramas de HPLC de los extractos se identificó por el tiempo de retención frente al estándar puro (curva de calibración). Los resultados fueron expresados como miligramos de glucosa y fructuosa por gramo de arándano en base seca.

3.5.8. Cuantificación de polifenoles específicos

La cuantificación de polifenoles se realizó mediante la metodología propuesta por Maldonado et al. (2022) con algunas modificaciones:

a) Extracción en fase solida (SPE): Las muestras fueron previamente purificadas en un sistema SPE con la finalidad de eliminar compuestos interferentes. Para tal fin, los cartuchos SPE SiliaPrep C18 (5 mL, 500 mg Silicycle,Québec, Cánada) fueron previamente lavados con 10 mL de metanol (grado HPLC) y 10 mL de agua MiliQ. Luego, 25 mL del extracto fueron pasados a través del cartucho C18. Después, 5 mL de metanol (grado HPLC) fue usado para eluir los polifenoles adsorbidos por el cartucho. Las muestras fueron colectadas para posteriores análisis.
b) Dilución de muestra: Se tomaron 100 µL de la muestra colectada, la cual fue diluida (1/10) con metanol (grado HPLC) y posteriormente fue filtrada a través de un filtro tipo jeringa de 0.22 µm. Luego, las muestras fueron almacenadas en viales ámbar para futuros análisis.
c) Condiciones en el Cromatógrafo (UHPLC – DAD): Para esta etapa, 2 µL de muestra filtrada fue inyectada en un sistema de cromatografía

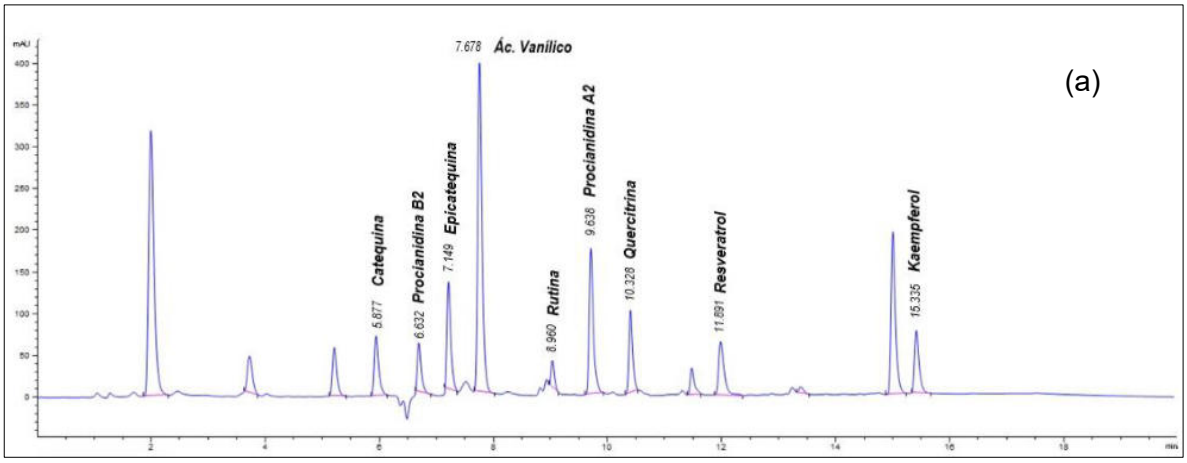
liquida de ultra alta performance (Agilent 1290 II, Agilgent, EE.UU.), el cual está equipado con una columna de fase reversa Poroshell EC-C18 (2,1 mm × 150 mm x 1,9 µm) y detector de arreglo de diodos (DAD). La separación cromatografica fue realizada a 30°C con un flujo de 0.3 mL/min bajo el siguiente gradiente (A: 0,1% ácido fórmico en agua y B: 0,1% en acetonitrilo): 95% A – 5% B por 15 min. Luego, 60% A – 40% B por 3 min. Finalmente, 95% A – 5% B con un tiempo cromatográfico total de 20 min.

d) Soluciones estándares: Las curvas de calibración fueron obtenidas calculando el área bajo la curva de 10 estándares, cuyas concentraciones fueron: 0,3, 1, 3, 6, 10 y 20 µg/mL.

e) Identificación y cuantificación de polifenoles en extractos: Los polifenoles fueron identificados y cuantificados comparando el tiempo de retención y el área bajo la curva de diferentes estándares de polifenoles (λ: 270 nm rutina, quercitrina; λ: 280 nm, catequina, procianidina B2, epicatequina, ácido vanílico, procianidina A2; λ: 324 nm, ácido cafeico, resveratrol y λ: 373 nm, Kaempferol) (Figura 12 a,b). Los análisis se realizaron por triplicado y los resultados se expresaron en µg del polifenol específico por gramo en base seca (Anexo 19).

Figura 12

Cromatograma de compuestos polifenólicos identificados.



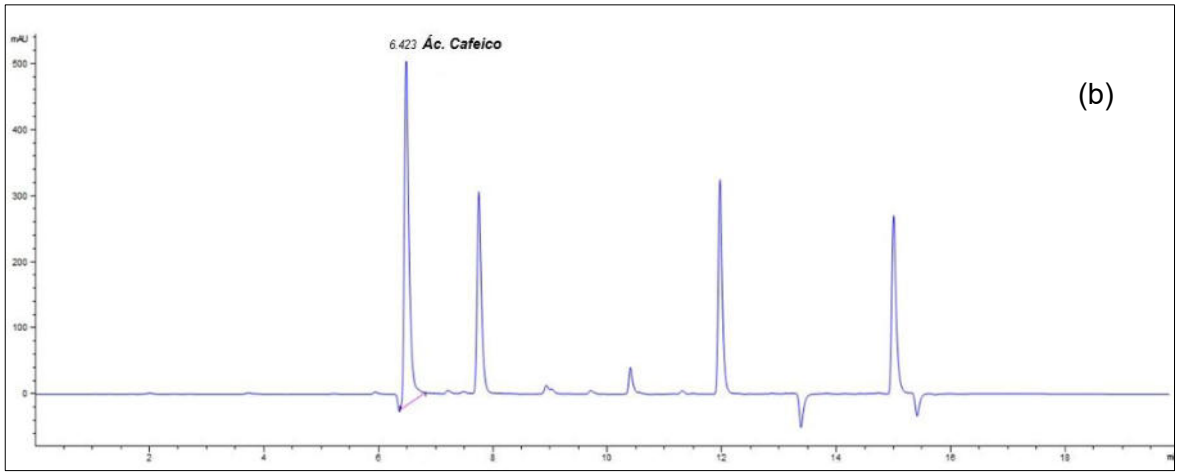


Tabla 16

Tiempos de retención de compuestos polifenólicos identificados.

N°	COMPUESTO	TR (min)	LD (ng mL-1)	LQ (ng mL-1)
1	Catequina	5,877	2,9	8,7
2	Ácido cafeico	6,423	0,4	1,2
3	Procianidina B2	6,632	5,7	17,1
4	Epicatequina	7,149	0,9	2,6
5	Ácido vanílico	7,678	0,3	0,8
6	Rutina	8,960	0,1	0,3
7	Procianidina A2	9,638	0,5	1,4
8	Quercitrina	10,328	0,5	1,6
9	Resveratrol	11,891	7,6	22,9
10	Kaempferol	15,335	4,9	14,7

Nota. Donde: TR (Tiempo de retención), LD (Límite de detección) y LQ (Límite de cuantificación)

Los valores de LD y LQ se determinaron usando las siguientes ecuaciones (1) y (2).

Ecuación (1):

$$LD = \frac{concentración\ mínima * 1 * 3}{signal\ noise}$$

Ecuación (2):

$$LQ = 3.3 * LD$$

3.6. Análisis de datos

Para el análisis de datos un total de 18 pruebas fueron conducidas mediante un diseño multifactorial completo 3 x 3 con dos repeticiones, el cual se analizó mediante un análisis de varianza con un 95% de confiabilidad, con la finalidad de evaluar el efecto de los factores en estudio tales como temperatura (70, 100, 130°C) y concentración (0, 15, 30%) de solvente sobre las variables respuesta (polifenoles totales, capacidad antioxidante y azúcares reductores). Para establecer diferencias significativas de las medias se aplicó la prueba de comparación Tukey ($p < 0,05$). El programa Statgraphics Plus 4.0 (Statpoint Technologies, Inc., Warrenton, VA, USA) fue el software utilizado para el análisis estadístico de todos los datos.

IV. Resultados y Discusiones

4.1 Contenido de polifenoles Totales

Los extractos obtenidos presentaron concentraciones de polifenoles totales entre 2,32 y 13,57 mg EAG/gss (Tabla 17). Bajo condiciones subcríticas (~10 MPa), los cambios de temperatura de 70 a 130°C combinados con 15 y 30% de isopropanol recuperaron 48 y 63% más contenido de polifenoles en comparación con el uso de agua pura (0% isopropanol) (Tabla 17).

Tabla 17

Contenido de polifenoles totales (mg EAG/gss) de extractos de arándano de descarte a diferentes concentraciones de isopropanol y temperaturas de extracción líquida presurizada.

Polifenoles Totales (mgEAG/gss)					
Isopropanol	Temperatura °C				
	70°C		100°C		130°C	
%	$\overline{X}$	CV	$\overline{X}$	CV	$\overline{X}$	CV
0	$2,32^{A,a}$	0,09	$3,61^{B,a}$	0,04	$8,13^{C,a}$	0,08
15	$2,66^{A,a}$	0,07	$6,30^{B,b}$	0,08	$11,26^{C,b}$	0,04
30	$2,71^{A,a}$	0,09	$13,57^{C,c}$	0,05	$12,18^{B,b}$	0,02

Las letras minúsculas representan diferencias significativas (p- valor <0,05) entre columnas y las letras mayúsculas representan diferencias significativas (p-valor<0,05) entre filas, $\overline{X}$ representa el promedio de tres réplicas, CV es el coeficiente de variación. Los datos fueron expresados en mg equivalentes de ácido gálico por gramo de peso seco (mg EAG/gss).

Si bien no existen reportes del efecto del isopropanol bajo condiciones subcríticas, existen trabajos que demuestran el efecto de este solvente bajo condiciones atmosféricas (101,3 kPa). Por ejemplo, Bánvölgyi et al. (2020) reportaron que un incremento de temperatura de 30 a 60°C usando 50% de isopropanol recupera ~9,2 veces más contenido de polifenoles en comparación con el uso de agua pura bajo las mismas condiciones. Los cambios de temperatura incrementan la energía cinética del solvente facilitando la ruptura de la pared

celular y solubilidad de los polifenoles (Vergara-Salinas et al., 2013). Además, la efectividad del uso de solventes medianamente polares como el isopropanol en comparación con el agua pura, se debe a su habilidad para reducir la polaridad de la solución de extracción, esto favorecería la formación de puentes de hidrógeno y enlaces no polares a partir de las interacciones polifenol – solvente, consecuentemente la extractabilidad de los polifenoles mejora significativamente (Huaman-Castilla et al., 2019). Esta habilidad del isopropanol para interactuar con los polifenoles probablemente se deba a la presencia de una fracción polar (grupo hidroxilo) y una fracción no polar (grupo isopropilo) dentro de su estructura química. Probablemente, la fracción polar interactúe mediante puentes de hidrógeno con los grupos hidroxilo de los polifenoles, mientras la fracción no polar interactúa mediante interacciones hidrofóbicas con los anillos aromáticos de los polifenoles.

Cuando la temperatura supera los 100°C usando 30% de isopropanol, la recuperación de polifenoles disminuye en ~10.24 % (Tabla 17). Si bien bajo condiciones subcríticas no se reportaron trabajos que expliquen el efecto del isopropanol sobre la obtención de extractos polifenólicos, el efecto del uso de otros solventes no polares como el etanol (ε: 24) podrían ayudar comprender el porqué de este fenómeno. Huaman-Castilla et al. (2019) observaron que el uso de altas concentraciones de solventes no polares como el etanol (>30%) puede afectar la solubilidad de algunas familias específicas de polifenoles de polaridad intermedia como los flavonoles, disminuyendo la recuperación de estos compuestos en ~28.4%. Por otro lado, Liazid et al. (2014) reportaron que temperaturas mayores a los 100°C conllevan a la degradación de compuestos termolábiles como las antocianinas. Probablemente, dentro del contenido total de polifenoles presentes en los extractos de arándanos, sean finalmente las antocianinas un grupo de polifenoles altamente solubles en agua que no son afines a las altas concentraciones de isopropanol, así como también se ven afectados por las altas temperaturas de proceso, esto podría explicar los resultados obtenidos.

4.2 Capacidad Antioxidante

4.2.1 Capacidad antioxidante por ORAC

El uso de mezclas agua-isopropanol (0 – 30%, v/v) combinado con temperaturas entre 70 y 130°C permitieron obtener extractos con alta capacidad antioxidante entre 90,85 y 246,47 µmol ET/gss) (Tabla 18).

Tabla 18

Capacidad Antioxidante ORAC (µmol ET/gss) de extractos de arándano de descarte a diferentes concentraciones de isopropanol y temperaturas de extracción líquida presurizada.

Capacidad Antioxidante ORAC (µmol ET/gss)			
Isopropanol	**Temperatura °C**		
	70°C	**100°C**	**130°C**
%	**$\overline{X}$ - CV**	**$\overline{X}$ - CV**	**$\overline{X}$ - CV**
0	$90,85^{A,a}$ 0,03	$121,85^{B,a}$ 0,04	$159,90^{C,a}$ 0,05
15	$97,59^{A,a}$ 0,04	$148,59^{B,b}$ 0,05	$179,33^{C,b}$ 0,03
30	$108,52^{A,a}$ 0,03	$246,47^{C,c}$ 0,05	$197,29^{B,c}$ 0,06

Las letras minúsculas representan diferencias significativas (p- valor <0,05) entre columnas y las letras mayúsculas representan diferencias significativas (p-valor<0,05) entre filas, $\overline{X}$, representa el promedio de tres réplicas, CV es el coeficiente de variación. Los datos fueron expresados en µmol equivalente de trolox por gramo de peso seco.

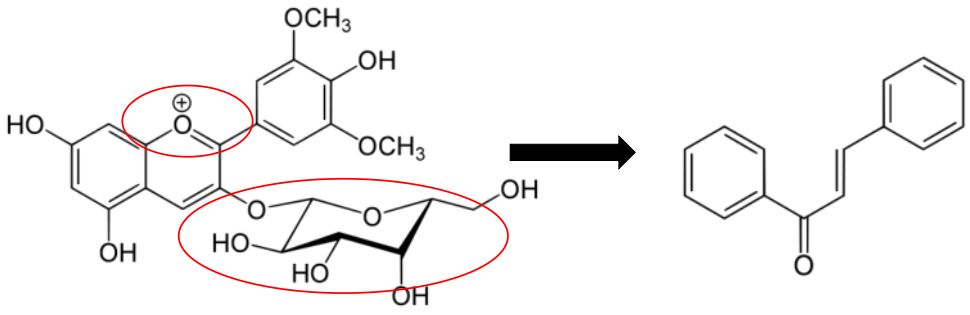
Los incrementos de temperatura y concentración de isopropanol en el proceso de extracción tienen un efecto positivo en la recuperación de capacidad antioxidante. Por ejemplo, cuando la concentración de isopropanol incrementa de 0 a 30% a 130°C, la capacidad antioxidante mejora en 23 % (Tabla 18). Aún no se han reportado trabajos bajo condiciones subcríticas en esta matriz y solvente en particular. Sin embargo, bajo condiciones atmosféricas Bánvölgyi et al. (2017) reportaron que el incremento de temperatura de 30 a 45°C con 50% de isopropanol mejora ~ 2,9 veces la capacidad antioxidante de los extractos en comparación con el uso de agua pura, debido a que el isopropanol presenta una

fracción polar (hidroxilo) y otra fracción no polar (metilo) que le permiten interactuar con los grupos funcionales de los polifenoles. Similarmente, Smith et al., (2000) y Wu et al. (2006) mencionan que probablemente, la adición de solventes mediamente polares en el solvente de extracción favorece a un mayor número de interacciones con los grupos funcionales de los polifenoles en particular aquellos compuestos de polaridad intermedia como las antocianinas y monómeros de flavonoles y ácidos fenólicos.

Similar al comportamiento de polifenoles, cuanto mayor es la temperatura mayor es la capacidad antioxidante en los extractos (Tabla 18). No obstante, un comportamiento atípico ocurre a temperaturas mayores de 100°C con 30% isopropanol donde la capacidad antioxidante disminuye en ~20 %. Al respecto, bajo condiciones subcríticas Ju y Howard (2003) observaron que el uso de agua/acidificada a temperaturas mayores de 80°C disminuyen la capacidad antioxidante (ORAC) de los extractos obtenidos a partir de piel de uva roja. Monrad et al. (2010) reportaron que un aumento de temperaturas de extracción (> 120°C) podría degradar polifenoles termolábiles como las antocianinas y algunos monómeros de bajo peso molecular, reduciendo la capacidad antioxidante de los extractos. Esta degradación en las antocianinas se debe a la hidrólisis del enlace 3-glucósido y a la desprotonación del átomo de oxígeno que origina la apertura hidrolítica del anillo de benzopirilio (Figura 13) (Simpson,1985). Comportamiento similar también puede ser sugerido para otras familias específicas de polifenoles tales flavonoles y flavanoles (Zheng y Wang, 2003).

Figura 13

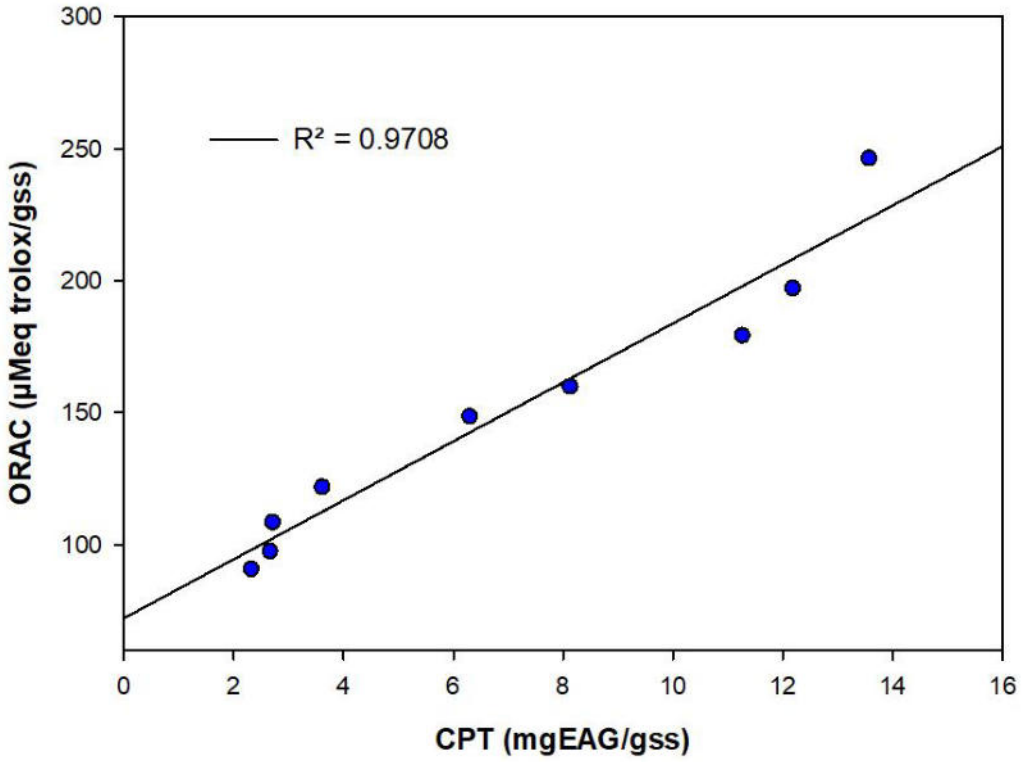
Degradación térmica de antocianinas.



Malvidin 3-galactósido **Chalcona**

Figura 14

Correlación de contenido de polifenoles totales y capacidad antioxidante (ORAC).



De acuerdo con los datos obtenidos, cuanto mayor es el contenido total de polifenoles mayor será capacidad antioxidante (ORAC) (Figura 14). Esto se puede verificar mediante la correlación positiva entre ambas variables respuesta (R^2 = 0,9708). Similar comportamiento fue reportado por Wang et al. (2008) quienes observaron que existe una relación lineal positiva entre valores ORAC y fenoles totales (R^2= 0,8158). Entonces, estos resultados sugirieron que la capacidad antioxidante se debe a la contribución de los compuestos fenólicos presentes en la muestra de extractos de arándano.

4.2.2 Capacidad Antioxidante por DPPH

Este método evalúa la capacidad que presenta el polifenol (antioxidante) para neutralizar el radical DPPH (Brand-Williams et al., 1995). Los valores fueron expresados como el factor IC_{50}, es decir concentración de polifenoles necesaria para inhibir en un 50% la actividad radical DPPH presente en la solución. Los extractos obtenidos a partir de arándanos mediante el uso de agua/isopropanol

como solvente alternativo (0 – 30%, v/v) combinado con temperaturas entre 70 - 130°C presentaron valores de IC_{50} que varían de 9,97 a 20,44 mg/mL.

Tabla 19

Capacidad Antioxidante DPPH (mg/mL) de extractos de arándano de descarte a diferentes concentraciones de isopropanol y temperaturas de extracción líquida presurizada.

Isopropanol %	Capacidad Antioxidante DPPH (IC_{50}) Temperatura °C		
	70°C $\overline{X}$ - CV	100°C $\overline{X}$ - CV	130°C $\overline{X}$ – CV
0	$20,44^{C,b}$ 0,02	$16,94^{B,c}$ 0,03	$13,61^{A,b}$ 0,03
15	$19,22^{C,b}$ 0,02	$14,24^{B,b}$ 0,03	$12,23^{A,b}$ 0,03
30	$17,99^{C,a}$ 0,03	$9,97^{A,a}$ 0,04	$11,43^{B,a}$ 0,04

Las letras minúsculas representan diferencias significativas (p-valor <0,05) entre columnas y las letras mayúsculas representan diferencias significativas (p-valor <0,05) entre filas, $\overline{X}$ representa el promedio de tres réplicas, CV es el coeficiente de variación. Los datos fueron expresaron en mg/mL.

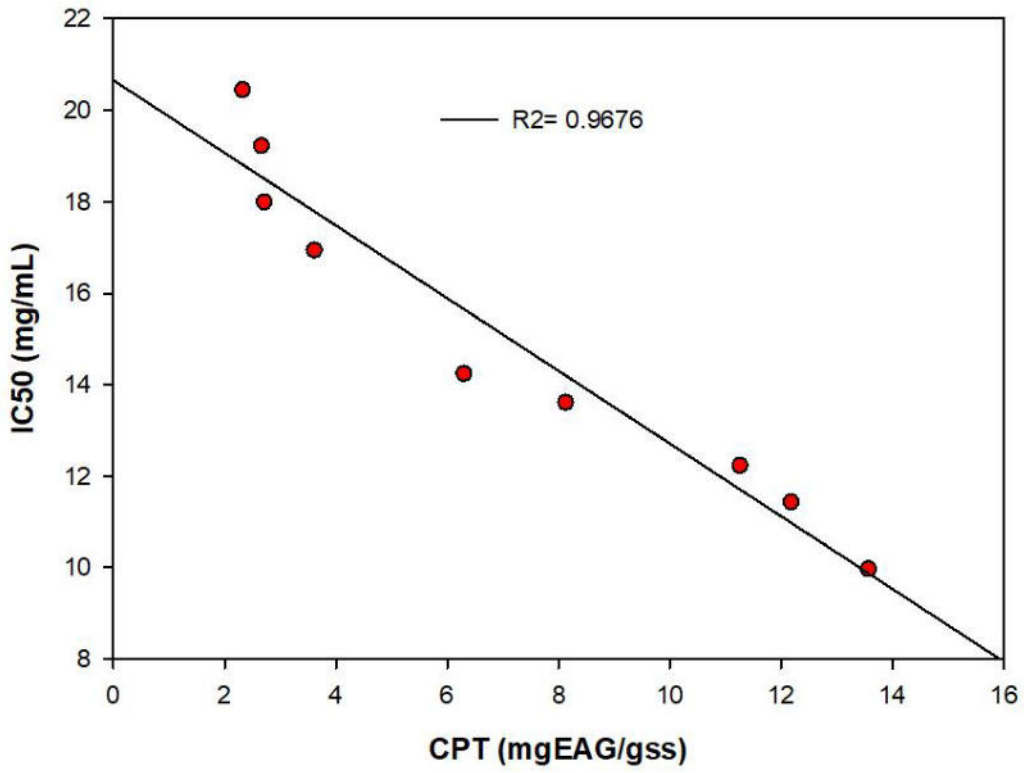
Bajo condiciones subcríticas (~10MPa), los cambios de temperatura de 70 a 130°C en combinación con concentraciones de isopropanol de 15 a 30% presentan una disminución de los valores IC_{50} en ~36,36 y ~36,46% (Tabla 19). La mejor condición fue establecida a 100°C con 30% isopropanol (IC_{50}: 9,97 mg/mL). Esto significa que solo serán necesarios 9,97 mg de extracto para reducir en 50% la actividad del radical DPPH. Por ello, cuanto más pequeño sea el valor IC_{50} más efectivo es el extracto para inhibir el radical DPPH (Mariotti-Celis et al., 2018; Roy et al., 2010). Este efecto bajo condiciones atmosféricas fue reportado por Venkatesan et al. (2019) quienes reportaron que el uso de isopropanol (40%) a 60°C permite un mayor potencial de eliminación de radicales libres (DPPH) en ~ 7.14 %. Por ello, diversos estudios concluyen que en lugar de usar agua pura el uso de mezclas acuosas de disolventes orgánicos como el isopropanol mejoran la capacidad antioxidante de los extractos vegetales (Mokrani y Madani, 2016; Zhao et al., 2006).

Probablemente, las altas concentraciones de isopropanol favorecen las interacciones entre moléculas de isopropanol desfavoreciendo las interacciones

intermoleculares entre las moléculas de isopropanol y los polifenoles. Además, las altas temperaturas pueden afectar la estabilidad de las antocianinas, consecuentemente la capacidad antioxidante se ve desfavorecida. Al respecto, bajo condiciones subcríticas Plaza y Turner (2015), indican que las condiciones óptimas para una mayor recuperación de esta familia de polifenoles, se da a temperaturas entre (80 y 100°C) en concentraciones (15 -25%) de solventes orgánicos como el etanol.

Figura 15

Correlación de polifenoles totales y Capacidad antioxidante (DPPH).



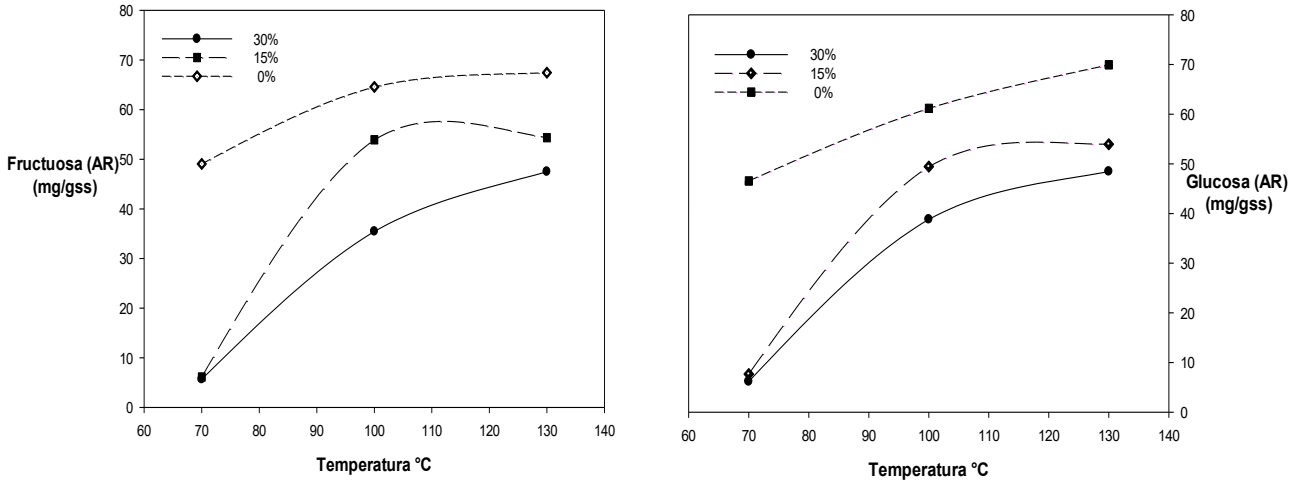
El CPT y DPPH (IC_{50}) mostraron una correlación inversa (R^2= 0,9676) (Figura 15). Martín-Gómez et al. (2020) mencionan que existe una fuerte influencia de los compuestos fenólicos sobre la capacidad antioxidante expresada como IC_{50} (R^2 = 0,8073).

4.3 Azúcares reductores AR (Fructuosa – Glucosa)

Los extractos obtenidos presentaron contenidos de azúcares reductores entre 5,67 – 67,45 mg/gss para fructosa y 6,17 – 69,96 mg/gss para glucosa (Figura 16).

Figura 16

Azúcares Reductores AR (mg/gss) de extractos de arándano de descarte a diferentes concentraciones de isopropanol y temperaturas de extracción líquida presurizada.



Al contrario del comportamiento de los polifenoles, la extracción de glucosa y fructuosa se vio favorecida a incrementos de temperatura y se redujo a mayores concentraciones de isopropanol, por ejemplo cuando la concentración se incrementó de 0 a 30 % a 130°C reduce en ~30% la recuperación de fructosa y glucosa (Figura 16). Al respecto, el uso de solventes no polares como el etanol ha demostrado ser efectivo para reducir la recuperación de azúcares debido a la presencia de fracciones no polares en su estructura química, las cuales evitarían las interacciones entre el solvente y los azúcares reductores (Huaman et al., 2019). Mariotti-Celis et al.(2018) reportaron que bajo condiciones subcríticas el uso de concentraciones mayores al 15% de etanol reduce en 13% la presencia de azúcares reductores. Probablemente, en el caso particular del isopropanol la presencia de 2 grupos metilos (fracción no polar) desfavorece las interacciones

glucosa – solvente, consecuentemente una menor proporción de azúcares es recuperada.

4.4 Cuantificación de polifenoles específicos

4.4.1 Flavonoles

Cuatro diferentes familias específicas de polifenoles fueron analizados tales como flavonoles, flavanoles, estilbenos y ácidos fenólicos (Tabla 20). Los flavonoles presentaron las concentraciones más altas de quercitrina, rutina y kaempferol, cuyos promedios varían de 2,92 µg/gss a 333,82 µg/gss. Asimismo, los cambios de 70°C a 100°C con 30% de isopropanol incrementan en ~ 2,2 veces el contenido de flavonoles. Contrariamente el uso de 30% de isopropanol con cambios de 100°C a 130°C reduce ~48 % el contenido de flavonoles. Al respecto, Ju y Howard (2005) quienes trabajaron con muestras de piel de uva roja, bajo condiciones subcríticas usando agua pura como solvente de extracción, encontró que temperaturas mayores a 120°C disminuyen en 24% cuando la recuperación de estos compuestos. Las mejores condiciones de proceso fueron establecidas con 100°C y 30% isopropanol, las cuales permitieron recuperar 171 ug/gss de quercitrina, un dímero conformado por una molécula de quercetina y una molécula de ramnosa (Tabla 20). Algunos estudios encontraron que la quercetina es el polifenol más abundante en muestras de arándano llegando a encontrarse ~14 mg/100gbh, representando entre el 68 - 82,4% del total de glucósidos de flavonoles cuantificados (Wang et al., 2019).

Tabla 20

Perfil de polifenoles específicos (µg/gss) de extractos de arándano de descarte a diferentes concentraciones de isopropanol y temperaturas de extracción líquida presurizada.

Descripción	Temperatura 70°C Isopropanol %			100°C Isopropanol %			130°C Isopropanol %		
	0%	15%	30%	0%	15%	30%	0%	15%	30%
Flavonoles (µg/gss)	$\overline{X}$ - CV	$\overline{X}$- CV	$\overline{X}$ - CV	$\overline{X}$ -CV	$\overline{X}$- CV	$\overline{X}$- CV	$\overline{X}$- CV	$\overline{X}$- CV	$\overline{X}$- CV
Quercitrina	$2,03^{A,a}$ 0,02	$77,09^{A,b}$ 0,03	$76,96^{A,b}$ 0,02	$10,63^{B,a}$ 0,08	$88,93^{B,b}$ 0,06	$171,12^{B,c}$ 0,11	$24,98^{C,a}$ 0,09	$121,05^{C,b}$ 0,05	$78,1^{A,c}$ 0,02
Rutina	ND	$14,43^{A,a}$ 0,10	$71,06^{A,b}$ 0,01	$4,76^{A,a}$ 0,10	$22,08^{B,b}$ 0,10	$161,19^{B,c}$ 0,10	ND	$64,45^{C,a}$ 0,02	$93,37^{C,b}$ 0,03
Kaempferol	$0,9^{A,a}$ 0,01	$0,98^{A,a}$ 0,05	$0,9^{A,a}$ 0,05	$1,25^{B,a}$ 0,10	$1,09^{A,a}$ 0.01	$1,51^{B,b}$ 0,02	$1,46^{B,a}$ 0,05	$1,73^{B,a}$ 0,05	$1,64^{B,a}$ 0,11
∑:	**2,92**	**92,5**	**148,92**	**16,64**	**112,11**	**333,82**	**26,44**	**187,23**	**173,11**
Flavanoles (µg/gss)									
Catequina	$0,53^{A,a}$ 0,10	$0,66^{A,a}$ 0,09	$10,46^{A,b}$ 0,08	$0,55^{A,a}$ 0,01	$1,08^{A,a}$ 0,06	$17,36^{B,b}$ 0,03	$1,00^{A,a}$ 0,01	$1,29^{A,a}$ 0,01	$18,67^{C,b}$ 0,02
Epicatequina	ND	$1,41^{A,a}$ 0,01	$11,69^{A,b}$ 0,05	ND	$1,47^{A,a}$ 0,09	$18,48^{B,b}$ 0,04	ND	$3,40^{B,a}$ 0,03	$22,82^{C,b}$ 0,05
Procianidina A2	$0,45^{A,a}$ 0,07	$0,71^{A,a}$ 0,04	$0,79^{A,a}$ 0,01	$0,71^{A,a}$ 0,10	$1,5^{B,b}$ 0,01	$2,55^{B,c}$ 0,08	$0,74^{A,a}$ 0,04	$2,15^{C,b}$ 0,02	$1,10^{C,c}$ 0,11
Procianidina B2	ND	$1,87^{A,a}$ 0,04	$3,20^{A,b}$ 0,11	$1,28^{A,a}$ 0,07	$2,09^{A,b}$ 0,00	$4,11^{B,c}$ 0,11	$1,46^{A,a}$ 0,03	$3,09^{B,b}$ 0,04	$10,91^{C,c}$ 0,02
∑:	**0,99**	**4,65**	**26,13**	**2,55**	**6,14**	**42,49**	**3,20**	**9,92**	**53,51**
Ácidos (µg/gss)									
Ác. Cafeico	ND	$0,02^{A,a}$ 0,07	$1,26^{A,b}$ 0,05	ND	$0,05^{A,a}$ 0,02	$1,43^{B,b}$ 0,07	$0,01^{A,a}$ 0,09	$0,3^{B,b}$ 0,09	$1,71^{C,c}$ 0,06
Ác. vanilico	$0,96^{A,a}$ 0,01	$1,01^{A,a}$ 0,06	$1,30^{A,a}$ 0,00	$2,02^{B,a}$ 0,09	$1,83^{B,a}$ 0,03	$3,50^{B,b}$ 0,10	$7,39^{C,a}$ 0,08	$8,59^{C,b}$ 0,01	$9,49^{C,b}$ 0,03
∑:	**0,96**	**1,03**	**2,56**	**2,02**	**1,88**	**4,93**	**7,40**	**8,89**	**11,20**
Estilbeno (µg/gss)									
Resveratrol	$7,99^{A,a}$ 0,00	$7,98^{A,a}$ 0,00	ND	$8,05^{A,a}$ 0,00	$8,01^{A,a}$ 0,00	ND	$8,08^{A,a}$ 0,00	$8,04^{A,a}$ 0,00	ND

El contenido específico de polifenoles se expresa en µg/g de arándano de descarte en base seca. Las letras minúsculas representan diferencias significativas entre filas, y las letras mayúsculas diferencias entre temperaturas (p-valor <0, 05) $\overline{X}$ representa el promedio de tres réplicas, CV es el coeficiente de variación ND: no detectado.

4.4.2 Flavanoles

La recuperación de flavanoles varía entre 0,99 µg/gss y 53,51 µg/gss (Tabla 20). Cuando la temperatura incrementó de 70 a 130°C el contenido de flavanoles aumento en ~2,1 y ~2 veces más cuando la concentración de isopropanol fue de 15% y 30% respectivamente (Tabla 20). Al respecto los cambios de temperatura de 110 a 170°C incrementan en ~31% la recuperación de flavanoles, debido a un incremento en energía cinética del solvente (Kang et al., 2021). En nuestro estudio la condición óptima fue establecida con 30% de isopropanol a 130°C. Bajo estos parámetros, el contenido de Epicatequina, Catequina, procianidina A2 y procianidina B2 fue de 22,82 µg/gss, 18,67 µg/gss, 1,10 µg/gss y 10,91µg/gss respectivamente (Tabla 20). Algunos reportes sobre la biodisponilidad de proantocianidinas monoméricas, dímeros y trímeros en frutos de arándano, muestran que el contenido puede variar entre 30 mg/100gbh a 331 mg/100gbh (Hellström et al., 2009; Wang et al., 2019). Según Monrad et al. (2010b) el uso de solventes orgánicos con concentraciones mayores al 30% reducen la polaridad del solvente disminuyendo la formación de puentes de hidrógeno e incrementando las interacciones no polares, consecuentemente una mayor proporción de flavanoles es recuperado.

4.4.3 Ácidos Fenólicos

La recuperación de ácidos fenólicos bajo condiciones subcríticas varia de 0,96 µg/gss a 11,20 µg/gss (Tabla 20). Cuando la temperatura de extracción se incrementa de 70 a 130°C con 15 y 30% de isopropanol mejoró la recuperación en 22 y 34% respecto con el uso de agua pura bajo las mismas condiciones (Tabla 20). Probablemente, el uso de isopropanol permite no solo reducir la polaridad del solvente, sino tambien favorece las interacciones no polares tipo π- π stacking entre los grupos aromaticos de los polifenoles.

Por otro lado, de acuerdo a nuestro estudio las mejores condiciones fueron establecidas con 130°C con 30% isopropanol, esto permite recuperar importantes concentraciones ácido cafeico 1,71 µg/gss y vanílico 9,49 µg/gss. Algunos estudios realizados en muestras de arándano mencionan que los ácidos fenólicos tales como vanílico y cafeico son los polifenoles mayoritarios dentro de esta familia en particular con 69,23 mg/gss y 71,06 mg/gss respectivamente (Brambilla et al., 2008; Cervantes , 2009).

4.4.4 Estilbeno

Para el caso particular del resveratrol, se observa un incremento en su recuperación con el uso de altas temperaturas (130°C) y bajas concentraciones de isopropanol (0%) obteniendo un máximo de 8,08 µg/gss (Tabla 20). Contrariamente, cuando las concentraciones fueron superiores al 15%, no se llegó a detectar recuperación de resveratrol en las muestras (Tabla 20). Si bien no se han desarrollado trabajos de investigación bajo condiciones subcríticas con este solvente en particular, explicando el comportamiento en la recuperación de estilbenos. Existen estudios similares donde trabajaron en muestras de orujo de uva, bajo condiciones subcríticas usando como solvente de extracción mezclas de agua/etanol en concentraciones de 15 a 50%, demostraron que concentraciones mayores al 32,5% de etanol disminuyen la recuperación de resveratrol en 14,3% (Huaman-Castilla et al., 2019). Este tipo de comportamiento también fue reportado por Monrad et al. (2010b) quienes observaron que las altas concentraciones de etanol (> 30%) y altas temperaturas (140°C) disminuyeron en 8.3% las concentraciones de este compuesto fenólico, como ya se discutió anteriormente, probablemente se deba a la reducción de polaridad del isopropanol a mayores temperaturas.

V. Conclusiones

- Bajo condiciones subcríticas las mezclas agua/isopropanol (30 %) a 100°C permiten una mayor recuperación de compuestos fenólicos (13,57 mg EAG/gss) presentes en los extractos obtenidos a partir de arándano de descarte; mientras la capacidad antioxidante determinada por ORAC y DPPH presentan una fuerte correlación con el contenido de polifenoles con un $R^2 = 0,9708$ y un $R^2 = 0,9676$ respectivamente.
- Los incrementos de 15 a 30% de isopropanol reduce la extracción de azúcares reductores (fructuosa – glucosa), debido a una reducción de polaridad de solvente un incremento de las interacciones agua/isopropanol.
- El uso de altas concentraciones de isopropanol (30%) a 130°C permite mejorar la recuperación de familias especificas polifenoles tales como flavanoles y ácidos fenólicos; mientras la mayor recuperación de flavonoles se estableció a 100°C bajo las mismas condiciones. Contrariamente, el uso de agua pura favorece una mayor recuperación de estilbenos.

VI. Recomendaciones

- El isopropanol como solvente de extracción y la ELP son una buena alternativa de extracción sustentable, se recomienda seguir realizando estudios en otro tipo de material vegetal de interés, con alto contenido en compuestos bioactivos, añadiendo la modificación de otros parámetros como tiempos de extracción, a fin de optimizar el proceso.
- Se recomienda realizar estudios previos de resistencia térmica y estabilidad a las distintas familias de polifenoles presentes en este tipo de matriz a fin de obtener mayores resultados.
- Se recomienda la búsqueda de nuevos solventes GRAS y de bajo costo que sean efectivos en la recuperación de compuestos fenólicos.
- Se recomienda realizar una evaluación del efecto de tiempo de almacenamiento de las muestras sobre el contenido fenólico.

VII. Referencias Bibliográficas

Aaby, K., Grimmer, S., & Holtung, L. (2013). Extraction of phenolic compounds from bilberry (Vaccinium myrtillus L.) press residue: Effects on phenolic composition and cell proliferation. *LWT - Food Science and Technology*, *54*(1), 257–264. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2013.05.031

Agacino, S., & Sepúlveda, D. (2016). *Norma de calidad y condición arándanos frescos* (pp. 1–23).

Alexandre, E., Castro, LM, Moreira, SA, Pintado, M. y Saraiva, J. (2017). Comparación de tecnologías emergentes para extraer compuestos de alto valor agregado de residuos de frutas: tecnologías basadas en presión y electro. *Revisiones de Ingenieria Alimentaria*, *9*, 190–212.

Aliaga Ramírez, M. F., & Del Río Rodríguez, J. A. (2022). *"Mejoras en los procesos de cosecha y post cosecha de arándano para disminuir mermas en el Fundo Santo Domingo de la empresa DANPER TRUJILLO S.A.C. 2022"* [Universidad Privada Antenor Orrego]. https://repositorio.upao.edu.pe/bitstream/20.500.12759/9573/1/REP_MARLON.ALIAGA_JAVIER.DEL.RIO_MEJORAS.EN.LOS.PROCESOS.pdf

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

Anhê, F. F., Desjardins, Y., Pilon, G., Dudonné, S., Genovese, M. I., Lajolo, F. M., & Marette, A. (2013). Polyphenols and type 2 diabetes: A prospective review. *PharmaNutrition*, *1*(4). https://doi.org/10.1016/j.phanu.2013.07.004

ArándanosPerú. (2019). Así va la campaña peruana de arándanos 2019-2020. *Norma Rojas Marroquin*. https://arandanosperu.pe/2019/12/12/asi-va-la-campana-peruana-de-arandanos-2019-2020/

Avello, M., & Suwalsky, M. (2006). Radicales libres, antioxidantes naturales y mecanismos de protección. *Atenea (Concepción)*, *494*, 161–172. https://doi.org/10.4067/s0718-04622006000200010

Babova, O., Occhipinti, A., Capuzzo, A., & Maffei, M. E. (2016). Extraction of bilberry (Vaccinium myrtillus) antioxidants using supercritical/subcritical CO2 and ethanol as co-solvent. *Journal of Supercritical Fluids*, *107*, 358–363. https://doi.org/10.1016/j.supflu.2015.09.029

Ballesteros-Vivas, D., Ortega-Barbosa, J. P., Sánchez-Camargo, A. del P., Rodríguez-Varela, L. I., & Parada-Alfonso, F. (2021). Pressurized Liquid Extraction of Bioactives. In *Comprehensive Foodomics*. https://doi.org/10.1016/b978-0-08-100596-5.22817-5

Bánvölgyi, S., Dusza, E., Namukwambi, F. K., Kiss, I., Stefanovits-Bányai, É., & Vatai, G. (2020). Optimization of extraction of phenolic compounds from Tokaji Aszú marc using response surface methodology. *Progress in Agricultural Engineering Sciences*, *16*. https://doi.org/10.1556/446.2020.10001

Bánvölgyi, S., Namukwambi, F. K., Kiss, I., Stefanovits-Bányai, É., & Gyula, V. (2017). Extraction of antioxidant and polyphenol compounds from Tokaji aszú marc with iso-propanol-water solvent. *Mapping Nitrogen Transformation Potential in Anoxic Alluvial Aquifer Using PCA and CA Analysis*, *Atcc 25923*, 244–246. http://acta.bibl.u-szeged.hu/56231/1/proceedings_of_isaep_2017_373-378.pdf

Blueberries, M. C. (2020). *Perú exportó alrededor de 118 mil toneladas de arándanos frescos en la campaña 2019/2020*. https://blueberriesconsulting.com/peru-exporto-alrededor-de-118-mil-toneladas-de-arandanos-frescos-en-la-campana-2019-2020/

Boeing, J. S., Oliveira Barizão, É., Costa E Silva, B., Fernandes Montanher, P., De Cinque Almeida, V., & Vergilio Visentainer, J. (2014). *Evaluation of solvent effect on the extraction of phenolic compounds and antioxidant capacities from the berries: application of principal component analysis*. https://doi.org/10.1186/s13065-014-0048-1

Borges, G., Degeneve, A., Mullen, W., & Crozier, A. (2010). Identification of flavonoid and phenolic antioxidants in black currants, blueberries, raspberries, red currants, and cranberries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *58*(7). https://doi.org/10.1021/jf902263n

Brambilla, A., Lo Scalzo, R., Bertolo, G., & Torreggiani, D. (2008). Steam-blanched highbush blueberry (Vaccinium corymbosum L.) juice: Phenolic profile and antioxidant capacity in relation to cultivar selection. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *56*(8). https://doi.org/10.1021/jf0731191

Brand-Williams, Cuvelier, M. E., & Berset, C. (1995). Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. *Food Sci. Technol.*, *28*, 25–30. https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5

Bromberger Soquetta, M., de Marsillac Terra, L., & Peixoto Bastos, C. (2018). CyTA-Journal of Food Green technologies for the extraction of bioactive compounds in fruits and vegetables Green technologies for the extraction of bioactive compounds in fruits and vegetables. *CyTA-Journal of Food*, *16*(1), 400–412. https://doi.org/10.1080/19476337.2017.1411978

Buzeta P., A. (1997). *Chile :Berries para el 2000*. Santiago (Chile) :Fundacion Chile Departamento Agroindustrial. https://bibliotecadigital.ciren.cl/bitstream/handle/20.500.13082/24155/Chile Berries para el 2000.pdf?sequence=2&isAllowed=y

Carvajal, C. (2019). Reactive Oxygen Species : Training , Function and. *Revista Medicina Legal De Costa Rica*, *36*(1), 91–100. https://www.scielo.sa.cr/pdf/mlcr/v36n1/2215-5287-mlcr-36-01-91.pdf

Centro de Investigación de Economía y Negocios Globales (CIEN). (2020). *El éxito de los arándanos peruanos al cierre del 2019*. Francisca Huamaní Quispe. https://www.cien.adexperu.org.pe/el-exito-del-arandano-peruano-en-2019/#:~:text=En efecto%2C los envíos peruanos,promedio de crecimiento de 91.3%25.

Cervantes Ceja, M. L. (2009). *"Potencial Nutracéutico de Cultivos de Arándano (Vaccinum sp.) Seleccionados en México"* [Universidad Autónoma de Querétaro]. https://blueberriesconsulting.com/potencial-nutraceutico-de-cultivos-de-arandano-vaccinium-sp-seleccionados-en-mexico/

Cheynier, V. (2005). Polyphenols in foods are more complex than often thought. In *The American journal of clinical nutrition* (Vol. 81, Issue 1 Suppl). https://doi.org/10.1093/ajcn/81.1.223s

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. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.03.038

Clifford, M. N. (1999). Chlorogenic acids and other cinnamates - Nature, occurrence and dietary burden. In *Journal of the Science of Food and Agriculture* (Vol. 79, Issue 3). https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0010(19990301)79:3<362::AID-JSFA256>3.0.CO;2-D

Dong, L., Wang, J., Deng, C., & Shen, X. (2007). Gas chromatography-mass spectrometry following pressurized hot water extraction and solid-phase microextraction for quantification of eucalyptol, camphor, and borneol in Chrysanthemum flowers. *Journal of Separation Science*, *30*(1). https://doi.org/10.1002/jssc.200600207

Ehala, S., Vaher, M., & Kaljurand, M. (2005). Characterization of phenolic profiles of Northern European berries by capillary electrophoresis and determination of their antioxidant activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *53*(16). https://doi.org/10.1021/jf050397w

Escurra, Z. (2011). *2011: El Boom de los Arándanos*. https://agraria.pe/noticias/2011-el-boom-de-los-arandanos-973

FAO. (2021). *Marcar la diferencia: Reducir la pérdida y el desperdicio de alimentos*. Roma y Jinan. https://www.fao.org/news/story/es/item/1438643/icode/

FDA. (2015). *CFR - Código de Regulaciones Federales Título 21* (Issue c, pp. 19–22). https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfcfr/cfrsearch.cfm?fr=178.1010

Fernandez-Panchon, M. S., Villano, D., Troncoso, A. M., & Garcia-Parrilla, M. C. (2008). Antioxidant activity of phenolic compounds: From in vitro results to in vivo evidence. In *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* (Vol. 48, Issue 7). https://doi.org/10.1080/10408390701761845

Frutales. (2016). *Arándanos en la cosecha y primeras etapas de postcosecha*. 18–

22. www.mdpi.com/journal/sensors

GLOBALG.A.P. (2020). *Norma de calidad y Embalaje* (Norma, GG-V5.2).

Grotewold, E. (2006). *The science of flavonoids* (T. O. S. University & O. 43210 Columbus (eds.)). Department of Cellular and Molecular Biology. https://doi.org/10.1007/978-0-387-28822-2

Guerrero Ruiz, J. L. (2022). *Estudio de prefactibilidad de una empresa productora de vino a base de arándano para exportación.* [Universidad Católica Santo Toribio de Mogrovejo]. https://tesis.usat.edu.pe/bitstream/20.500.12423/4820/1/TL_GuerreroRuizJorge.pdf

Heleno, S. A., Martins, A., Queiroz, M. J. R. P., & Ferreira, I. C. F. R. (2015). Bioactivity of phenolic acids: Metabolites versus parent compounds: A review. In *Food Chemistry* (Vol. 173). https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.10.057

Hellström, J. K., Törrönen, A. R., & Mattila, P. H. (2009). Proanthocyanidins in common food products of plant origin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *57*(17). https://doi.org/10.1021/jf901434d

Huamán-Castilla, N. L., Mariotti-Celis, M. S., Martinez-Cifuentes, M., & Perez-Correa, J. R. (2020). Glycerol as Alternative Co-Solvent for Water Extraction of Polyphenols from Carm é n è re Pomace : Hot Pressurized Liquid Extraction and Computational Chemistry Calculations. *Biomolecules*, *10*, 1–14.

Huaman-Castilla, N. L., Mart, M., Camilo, C., Pedreschi, F., Mariotti-celis, M., & Ricardo, P. (2019). The Impact of Temperature and Ethanol Concentration on the Global Recovery of Specific Polyphenols in an Integrated HPLE / RP Process on Carm é n è re Pomace Extracts. *Molecules*, *24*, 3145.

Huamán, N. L. C., Mariotti-Celis, M. S., Martínez-Cifuentes, M., & Ricardo Pérez-Correa, J. (2020). *Glycerol as Alternative Co-Solvent for Water Extraction of Polyphenols from Carménère Pomace: Hot Pressurized Liquid Extraction and Computational Chemistry Calculations*. https://doi.org/10.3390/biom10030474

Huang, W. Y., Liu, Y. M., Wang, J., Wang, X. N., & Li, C. Y. (2014). Anti-inflammatory effect of the blueberry anthocyanins malvidin-3-glucoside and malvidin-3-galactoside in endothelial cells. *Molecules*, *19*(8). https://doi.org/10.3390/molecules190812827

INEI. (2020). *Informe técnico de producción nacional-Diciembre 2019 [report]*. http://m.inei.gob.pe/media/MenuRecursivo/boletines/02-informe-tecnico-n02_produccion-nacional-dic-2019.pdf

Ivanovic, J., Tadic, V., Dimitrijevic, S., Stamenic, M., Petrovic, S., & Zizovic, I. (2014). Antioxidant properties of the anthocyanin-containing ultrasonic extract from blackberry cultivar "Čačanska Bestrna." *Industrial Crops and Products*, *53*, 274–281. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.12.048

Ju, Zhi Y., & Howard, L. R. (2005). Subcritical water and sulfured water extraction of anthocyanins and other phenolics from dried red grape skin. *Journal of Food Science*, *70*(4). https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2005.tb07202.x

Ju, Zhi Yong, & Howard, L. R. (2003). Effects of solvent and temperature on pressurized liquid extraction of anthocyanins and total phenolics from dried red grape skin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *51*(18). https://doi.org/10.1021/jf0302106

Kaack, K., & Austed, T. (1998). Interaction of vitamin C and flavonoids in elderberry (Sambucus nigra L.) during juice processing. *Plant Foods for Human Nutrition*, *52*(3). https://doi.org/10.1023/A:1008069422202

Kähkönen, M. P., Hopia, A. I., & Heinonen, M. (2001). Berry phenolics and their antioxidant activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *49*(8). https://doi.org/10.1021/jf010152t

Kang, H. J., Ko, M. J., & Chung, M. S. (2021). Anthocyanin structure and ph dependent extraction characteristics from blueberries (Vaccinium corymbosum) and chokeberries (aronia melanocarpa) in subcritical water state. *Foods*, *10*(3). https://doi.org/10.3390/foods10030527

Katsube, N., Iwashita, K., Tsushida, T., Yamaki, K., & Kobori, M. (2003). Induction of apoptosis in cancer cells by bilberry (Vaccinium myrtillus) and the anthocyanins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *51*(1).

https://doi.org/10.1021/jf025781x

Kono, Y., Kobayashi, K., Tagawa, S., Adachi, K., Ueda, A., Sawa, Y., & Shibata, H. (1997). Antioxidant activity of polyphenolics in diets. Rate constants of reactions of chlorogenic acid and caffeic acid with reactive species of oxygen and nitrogen. *Biochimica et Biophysica Acta - General Subjects*, *1335*(3). https://doi.org/10.1016/S0304-4165(96)00151-1

Koponen, J. M., Happonen, A. M., Mattila, P. H., & Törrönen, A. R. (2007). Contents of anthocyanins and ellagitannins in selected foods consumed in Finland. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *55*(4). https://doi.org/10.1021/jf062897a

Leander Huaman-Castilla, N., Martínez-Cifuentes, M., Camilo, C., Pedreschi, F., Mariotti-Celis, M., & Ricardo Pérez-Correa, J. (2019). *molecules The Impact of Temperature and Ethanol Concentration on the Global Recovery of Specific Polyphenols in an Integrated HPLE/RP Process on Carménère Pomace Extracts*. https://doi.org/10.3390/molecules24173145

Lee, J., & Wrolstad, R. E. (2004). Extraction of anthocyanins and polyphenolics from blueberry-processing waste. *Journal of Food Science*, *69*(7). https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2004.tb13651.x

Li, D., Li, B., Ma, Y., Sun, X., Lin, Y., & Meng, X. (2017). Polyphenols, anthocyanins, and flavonoids contents and the antioxidant capacity of various cultivars of highbush and half-high blueberries. *Journal of Food Composition and Analysis*, *62*, 84–93. https://doi.org/10.1016/j.jfca.2017.03.006

Liazid, A., Barbero, G. F., Azaroual, L., Palma, M., & Barroso, C. G. (2014). molecules Stability of Anthocyanins from Red Grape Skins under Pressurized Liquid Extraction and Ultrasound-Assisted Extraction Conditions. *Molecules*, *19*, 21034–21043. https://doi.org/10.3390/molecules191221034

Määttä-Riihinen, K. R., Kamal-Eldin, A., & Törrönen, A. R. (2004). Identification and quantification of phenolic compounds in berries of Fragaria and Rubus species (family rosaceae). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *52*(20). https://doi.org/10.1021/jf049450r

Mac Bride, J. (1946). *Vaccinium and relatives in the Andes of Peru*. University of

Wyoming Publications.

Maldonado, I., Vega Quispe, A. P., Merma Chacca, D., & Zirena Vilca, F. (2022). Optimization of the elimination of antibiotics by Lemna gibba and Azolla filiculoides using response surface methodology (RSM). *Frontiers in Environmental Science*, *10*(August), 1–13. https://doi.org/10.3389/fenvs.2022.940971

Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Rémésy, C., & Jiménez, L. (2004). Polyphenols: Food sources and bioavailability. In *American Journal of Clinical Nutrition* (Vol. 79, Issue 5). https://doi.org/10.1093/ajcn/79.5.727

Mariotti-Celis, M. S. ; (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), 0950–543. https://doi.org/https://doi.org/10.1111/ijfs.13684

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 and Technology*, *53*(4), 1072–1078. https://doi.org/10.1111/ijfs.13684

Mariotti-Celis, M. S., Martínez-Cifuentes, M., Huamán-Castilla, N., Vargas-González, M., Pedreschi, F., & Pérez-Correa, J. R. (2018). The antioxidant and safety properties of spent coffee ground extracts impacted by the combined hot pressurized liquid extraction–resin purification process. *Molecules*, *23*(1). https://doi.org/10.3390/molecules23010021

Martín-Gómez, J., Varo, M. Á., Mérida, J., & Serratosa, M. P. (2020). Influence of drying processes on anthocyanin profiles, total phenolic compounds and antioxidant activities of blueberry (Vaccinium corymbosum). *LWT*, *120*, 108931. https://doi.org/10.1016/J.LWT.2019.108931

Medina-Meza, I. G., Boioli, P., & Barbosa-Cánovas, G. V. (2016). Assessment of the Effects of Ultrasonics and Pulsed Electric Fields on Nutritional and Rheological Properties of Raspberry and Blueberry Purees. *Food and Bioprocess Technology*, *9*(3). https://doi.org/10.1007/s11947-015-1642-5

Michalska, A., & Łysiak, G. (2015). Bioactive Compounds of Blueberries: Post-Harvest Factors Influencing the Nutritional Value of Products. *OPEN ACCESS Int. J. Mol. Sci*, *16*, 18643. https://doi.org/10.3390/ijms160818642

Milić, A., Daničić, T., Horecki, A. T., Šumić, Z., Teslić, N., Kovačević, D. B., Putnik, P., & Pavlić, B. (2022). Sustainable Extractions for Maximizing Content of Antioxidant Phytochemicals from Black and Red Currants. *Foods*, *11*(3). https://doi.org/10.3390/foods11030325

MINAGRI. (2020a). Estacionalidad De Las Exportaciones Peruanas De Arándanos Frescos Y El Mercado Norteamericano. In *Dirección General de Políticas Agrarias*. https://cdn.www.gob.pe/uploads/document/file/1321195/Estacionalidad de las exportaciones peruanas de arándanos frescos y el mercado norteamericano%2C setiembre 2020.pdf

MINAGRI. (2020b). *Minagri promueve consumo de arándanos*. Oficina de Comunicaciones e Imagen Institucional. https://www.gob.pe/institucion/midagri/noticias/76607-minagri-promueve-consumo-de-arandanos

Mokrani, A., & Madani, K. (2016). Effect of solvent, time and temperature on the extraction of phenolic compounds and antioxidant capacity of peach (Prunus persica L.) fruit. *Separation and Purification Technology*, *162*. https://doi.org/10.1016/j.seppur.2016.01.043

Monrad, J. K., Howard, L. R., King, J. W., Srinivas, K., & Mauromoustakos, A. (2010a). Subcritical solvent extraction of anthocyanins from dried red grape pomace. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *58*(5). https://doi.org/10.1021/jf904087n

Monrad, J. K., Howard, L. R., King, J. W., Srinivas, K., & Mauromoustakos, A. (2010b). Subcritical solvent extraction of procyanidins from dried red grape

pomace. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *58*(7). https://doi.org/10.1021/jf9028283

Moyer, R. A., Hummer, K. E., Finn, C. E., Frei, B., & Wrolstad, R. E. (2002). Anthocyanins, phenolics, and antioxidant capacity in diverse small fruits: Vaccinium, Rubus, and Ribes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *50*(3). https://doi.org/10.1021/jf011062r

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

Naczk, M., & Shahidi, F. (2004). Extraction and analysis of phenolics in food. In *Journal of Chromatography A* (Vol. 1054, Issues 1–2). https://doi.org/10.1016/j.chroma.2004.08.059

Navarro, K. (2019). *Estimación de pérdidas causadas por plagas en la calidad postcosecha de Vaccinium corymbosum "arándano."* UNIVERSIDAD PRIVADA ANTENOR ORREGO.

Neto, C. C. (2007). Cranberry and blueberry: Evidence for protective effects against cancer and vascular diseases. In *Molecular Nutrition and Food Research* (Vol. 51, Issue 6). https://doi.org/10.1002/mnfr.200600279

Nile, S. H., & Park, S. W. (2014). Edible berries: Bioactive components and their effect on human health. In *Nutrition* (Vol. 30, Issue 2, pp. 134–144). Elsevier. https://doi.org/10.1016/j.nut.2013.04.007

Oboh, G., Agunloye, O. M., Adefegha, S. A., Akinyemi, A. J., & Ademiluyi, A. O. (2015). Caffeic and chlorogenic acids inhibit key enzymes linked to type 2 diabetes (in vitro): A comparative study. *Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology*, *26*(2). https://doi.org/10.1515/jbcpp-2013-0141

ODEPA. (2018). *Benchmarking, Identificación y Caracterización de Pérdidas de Materia Prima en la Industria y Cadena de Valor. Identificación de Posibles Soluciones*. http://transformaalimentos.cl/assets/docs/documentos/transformaalimentos_cero_perdidas_en_la_agroindustria_informe_de_diagnóstico.pdf

Olsson, L. C., Veit, M., Weissenböck, G., & Bornman, J. F. (1998). Differential flavonoid response to enhanced UV-B radiation in Brassica napus. *Phytochemistry*, *49*(4). https://doi.org/10.1016/S0031-9422(98)00062-4

Ozgen, M., Scheerens, J., Reese, R., & Miller, R. (2010). Total phenolic, anthocyanin contents and antioxidant capacity of selected elderberry (Sambucus canadensis L.) accessions. *Pharmacognosy Magazine*, *6*(23). https://doi.org/10.4103/0973-1296.66936

Paes, J., Dotta, R., Barbero, G. F., & Martínez, J. (2014). Extraction of phenolic compounds and anthocyanins from blueberry (Vaccinium myrtillus L.) residues using supercritical CO2 and pressurized liquids. *Journal of Supercritical Fluids*, *95*, 8–16. https://doi.org/10.1016/j.supflu.2014.07.025

Pan, H., Hu, Q., Wang, J., Liu, Z., Wu, D., Lu, W., & Huang, J. (2016). Myricetin is a novel inhibitor of human inosine 5′-monophosphate dehydrogenase with anti-leukemia activity. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, *477*(4). https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2016.06.158

Peñarrieta, J. M., Tejeda, L., Mollinedo, P., Vila, J. L., & Bravo, J. A. (2017). [Compuestos fenólicos y su presencia en alimentos]. Phenolic Compounds in Food. *Revista Boliviana De Química*, *31*, 68–81. https://www.redalyc.org/pdf/4263/426339682006.pdf

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

Quiñones, M., Miguel, M., & Aleixandre, A. (2012). Los polifenoles, compuestos de origen natural con efectos saludables sobre el sistema cardiovascular. *Nutr. Hosp*, *27*(1). https://doi.org/10.3305/nh.2012.27.1.5418

Rauha, J. P., Remes, S., Heinonen, M., Hopia, A., Kähkönen, M., Kujala, T., Pihlaja, K., Vuorela, H., & Vuorela, P. (2000). Antimicrobial effects of Finnish plant extracts containing flavonoids and other phenolic compounds. *International Journal of Food Microbiology*, *56*(1). https://doi.org/10.1016/S0168-1605(00)00218-X

Redagrícola. (2018). *Rumbo a superar las 12,000 hectáreas- arandanos Perú*.

https://www.redagricola.com/pe/rumbo-a-superar-las-12000-hectareas/

Redagrícola. (2020). *El arándano peruano alcanza el liderazgo mundial*. https://www.redagricola.com/pe/arandano-peruano-alcanza-liderazgo-mundial/

Ribera, A. E., Reyes-Díaz, M., Alberdi, M., Zuñiga, G. E., & Mora, M. L. (2010). Antioxidant compounds in skin and pulp of fruits change among genotypes and maturity stages in highbush blueberry (Vaccinium corymbosum L.) grown in southern chile. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, *10*(4). https://doi.org/10.4067/S0718-95162010000200010

Riihinen, K., Jaakola, L., Kärenlampi, S., & Hohtola, A. (2008). Organ-specific distribution of phenolic compounds in bilberry (Vaccinium myrtillus) and “northblue” blueberry (Vaccinium corymbosum x V. angustifolium). *Food Chemistry*, *110*(1). https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.01.057

Rimpapa ,Z;Toromanovic ,J.;Tahirowic , I.;Sapcanin, A.;Sofic, E. (2007). TOTAL CONTENT OF PHENOLS AND ANTHOCYANINS IN EDIBLE FRUITS FROM BOSNIA. *J.Basic Med.Sci*, *7*, 119–122.

Rodríguez-Pérez, C., Quirantes-Piné, R., Fernández-Gutiérrez, A., & Segura-Carretero, A. (2015). Optimization of extraction method to obtain a phenolic compounds-rich extract from Moringa oleifera Lam leaves. *Industrial Crops and Products*, *66*, 246–254. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.01.002

Roy, M. K., Koide, M., Rao, T. P., Okubo, T., Ogasawara, Y., & Juneja, L. R. (2010). ORAC and DPPH assay comparison to assess antioxidant capacity of tea infusions: Relationship between total polyphenol and individual catechin content. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, *61*(2). https://doi.org/10.3109/09637480903292601

Sania Zia; Moazzam Rafiq Khan; Muhammad Asim Shabbir, Abid Aslam Maan; Muhammad Kashif Iqbal Khan, Muhammad Nadeem ; Anees Ahmed Khalil, A. D. ; R. M. A. (2020). An Inclusive Overview of Advanced Thermal and Nonthermal Extraction Techniques for Bioactive Compounds in Food and Food-related Matrices. *Food Reviews International*. https://doi.org/10.1080/87559129.2020.1772283

Schroeter, S., Apparsundaram, S., Wiley, R. G., Miner, L. H., Sesack, S. R., & Blakely, R. D. (2000). Immunolocalization of the cocaine- and antidepressant-sensitive 1- norepinephrine transporter. *Journal of Comparative Neurology*, *420*(2). https://doi.org/10.1002/(SICI)1096-9861(20000501)420:2<211::AID-CNE5>3.0.CO;2-3

Secco, M. C., Fischer, B., Fernandes, I. A., Cansian, R. L., Paroul, N., & Junges, A. (2022). Valorization of blueberry by-products (Vaccinium spp.): Antioxidants by pressurized liquid extraction (ple) and kinetics models. *Biointerface Research in Applied Chemistry*, *12*(2). https://doi.org/10.33263/BRIAC122.16921704

Seeram, N. P. (2008). Berry fruits for cancer prevention: Current status and future prospects. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *56*(3), 630–635. https://doi.org/10.1021/jf072504n

Seeram, N. P., Adams, L. S., Zhang, Y., Lee, R., Sand, D., Scheuller, H. S., & Heber, D. (2006). Blackberry, black raspberry, blueberry, cranberry, red raspberry, and strawberry extracts inhibit growth and stimulate apoptosis of human cancer cells in vitro. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *54*(25). https://doi.org/10.1021/jf061750g

Sellappan, S., Akoh, C. C., & Krewer, G. (2002). Phenolic compounds and antioxidant capacity of Georgia-grown blueberries and blackberries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *50*(8). https://doi.org/10.1021/jf011097r

SENASA. (2019). *Moquegua se convierte en nueva region agroexportadora de arándanos*. https://www.senasa.gob.pe/senasacontigo/moquegua-se-convierte-en-nueva-region-agroexportadora-de-arandanos/

SENASA. (2020). *Productores de Moquegua se suman al crecimiento agroexportador del arándano*. http://www.senasa.gob.pe/senasacontigo/productores-de-moquegua-se-suman-al-crecimiento-agroexportador-del-arandano/

Shi, M., Loftus, H., McAinch, A. J., & Su, X. Q. (2017). Blueberry as a source of bioactive compounds for the treatment of obesity, type 2 diabetes and chronic inflammation. In *Journal of Functional Foods* (Vol. 30, pp. 16–29). Elsevier

Ltd. https://doi.org/10.1016/j.jff.2016.12.036

Shih, P. H., Yeh, C. T., & Yen, G. C. (2007). Anthocyanins induce the activation of phase II enzymes through the antioxidant response element pathway against oxidative stress-induced apoptosis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *55*(23). https://doi.org/10.1021/jf071933i

Simić, V. M., Rajković, K. M., Stojičević, S. S., Veličković, D. T., Nikolić, N., Lazić, M. L., & Karabegović, I. T. (2016). Optimization of microwave-assisted extraction of total polyphenolic compounds from chokeberries by response surface methodology and artificial neural network. *Separation and Purification Technology*, *160*. https://doi.org/10.1016/j.seppur.2016.01.019

Simpson, K. L. (1985). Chemical Changes in Natural Food Pigments. *Chemical Changes in Food During Processing*. https://doi.org/10.1007/978-94-017-1016-9_18

Singleton, V. L., Rossi Jr., J. A., & Rossi J A Jr. (1965). Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, *16*(3), 144–158. https://doi.org/10.12691/ijebb-2-1-5

Skupień, K., & Oszmiański, J. (2004). Comparison of six cultivars of strawberries (Fragaria x ananassa Duch.) grown in northwest Poland. *European Food Research and Technology*, *219*(1). https://doi.org/10.1007/s00217-004-0918-1

Smith, M. A. L., Marley, K. A., Seigler, D., Singletary, K. W., & Meline, B. (2000). Bioactive properties of wild blueberry fruits. *Journal of Food Science*, *65*(2). https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2000.tb16006.x

Sridhar, A., Ponnuchamy, · Muthamilselvi, Ponnusamy, ·, Kumar, S., Kapoor, A., Dai-Viet, ·, Vo, N., & Prabhakar, S. (2021). *Techniques and modeling of polyphenol extraction from food: a review*. *1*, 3. https://doi.org/10.1007/s10311-021-01217-8

Suwal, S., & Marciniak, A. (2019). Technologies for the Extraction, Separation and Purification of polyphenols – A Review. *Nepal Journal of Biotechnology*, *6*(1). https://doi.org/10.3126/njb.v6i1.22341

Tomás Barberán, F., & others. (2003). Los polifenoles de los alimentos y la salud. *Alimentación Nutrición y Salud*, *10*, 41–53. http://digital.csic.es/handle/10261/18042

Torres, W. H. (2002). Biología De Las Especies De Oxígeno Reactivas. *Mensaje Bioquimica*, *XXVI*.

USDA; Departamento de agricultura de EE. UU. (2020). *Food Data Central*. https://fdc.nal.usda.gov/fdc-app.html#/?query=bluberry

Valls, J; Mateos, S; Lampreave, M. N., & M; Arola, L. (2005). Contenido y evolución de los antocianos en la maduración de variedades antóctonas y foráneas. *Revista Técnica de Interés Permanente*, 726–730.

Venkatesan, T., Choi, Y. W., & Kim, Y. K. (2019). Impact of Different Extraction Solvents on Phenolic Content and Antioxidant Potential of Pinus densiflora Bark Extract. *BioMed Research International*, *2019*. https://doi.org/10.1155/2019/3520675

Vergara-Salinas, J. R., Bulnes, P., Zúñiga, M. C., Pérez-Jiménez, J., Torres, J. L., Mateos-Martín, M. L., Agosin, E., & Pérez-Correa, J. R. (2013). Effect of pressurized hot water extraction on antioxidants from grape pomace before and after enological fermentation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *61*(28). https://doi.org/10.1021/jf4010143

Wang, S. Y., Chen, C. T., Sciarappa, W., Wang, C. Y., & Camp, M. J. (2008). Fruit quality, antioxidant capacity, and flavonoid content of organically and conventionally grown blueberries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *56*(14). https://doi.org/10.1021/jf703775r

Wang, S. Y., & Lin, H. S. (2000). Antioxidant activity in fruits and leaves of blackberry, raspberry, and strawberry varies with cultivar and developmental stage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *48*(2). https://doi.org/10.1021/jf9908345

Wang, Y., Fong, S. K., Singh, A. P., Vorsa, N., & Johnson-Cicalese, J. (2019). Variation of anthocyanins, proanthocyanidins, flavonols, and organic acids in cultivated and wild diploid blueberry species. *HortScience*, *54*(3). https://doi.org/10.21273/HORTSCI13491-18

Wu, X., Beecher, G. R., Holden, J. M., Haytowitz, D. B., Gebhardt, S. E., & Prior, R. L. (2006). Concentrations of anthocyanins in common foods in the United States and estimation of normal consumption. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *54*(11). https://doi.org/10.1021/jf060300l

Xu, Y., Cai, F., Yu, Z., Zhang, L., Li, X., Yang, Y., & Liu, G. (2016). Optimisation of pressurised water extraction of polysaccharides from blackcurrant and its antioxidant activity. *Food Chemistry*, *194*, 650–658. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.08.061

Zhao, H., Dong, J., Lu, J., Chen, J., Li, Y., Shan, L., Lin, Y., Fan, W., & Gu, G. (2006). Effects of extraction solvent mixtures on antioxidant activity evaluation and their extraction capacity and selectivity for free phenolic compounds in barley (Hordeum vulgare L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *54*(19). https://doi.org/10.1021/jf061087w

Zheng, W., & Wang, S. Y. (2003). Oxygen radical absorbing capacity of phenolics in blueberries, cranberries, chokeberries, and lingonberries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *51*(2). https://doi.org/10.1021/jf020728u

VIII. Anexos

Anexo 1

Panel fotográfico de recepción y acondicionamiento de muestra.

Figura 17

Descartes de arándanos obtenidos de la empresa Consorcio Agrícola Moquegua S.A.C.



Figura 18

Envasado de descartes en bolsas de polietileno.



Figura 19

Procesador de alimentos utilizado para reducción de muestra.



Figura 20

Reducción de tamaño de muestra < 2 mm.



Figura 21

Tamiz malla N°10 para verificar el tamaño de muestra.



Anexo 2

Panel fotográfico de la extracción líquida presurizada de compuestos fenólicos en arándanos de descarte.

Figura 22

Preparación de solvente para la extracción a concentración 0, 15, 30%.



Figura 23

Pesado de muestra y tierra de diatomea.

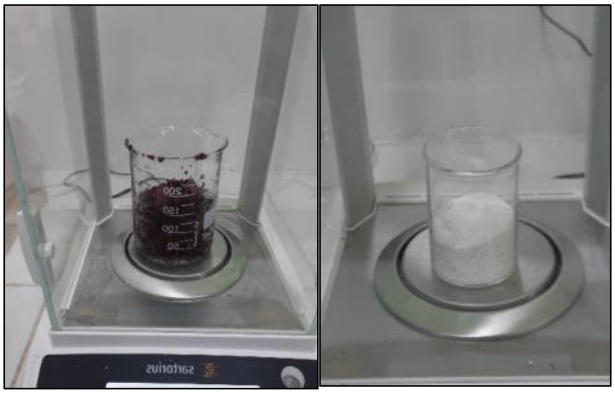


Figura 24

Incorporación de muestra y tierra de diatomeas en celda.



Figura 25

Extracción de compuestos fenólicos en el equipo extractor Dionex ASE150.



Figura 26

Obtención de extracto.

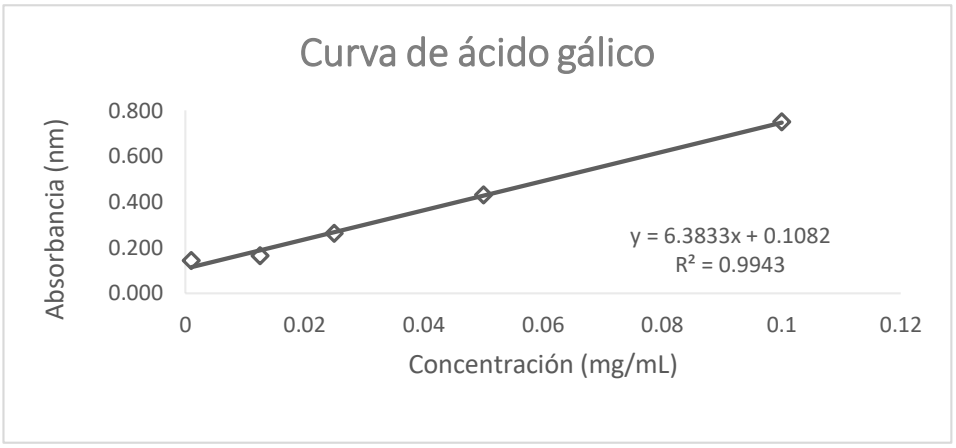


Anexo 3

Curva estándar de ácido gálico.

N°	Concentración mg/mL	Absorbancia nm
1	0,1	0,750
2	0,05	0,429
3	0,025	0,261
4	0,0125	0,162
5	0,001	0,142

Con ácido gálico, en concentraciones de 0,1 mg/mL, 0,05 mg/mL, 0,025 mg/mL, 0,0125 mg/mL y 0,001mg/mL.



Curva de ácido gálico concentración versus absorbancia para hallar R^2

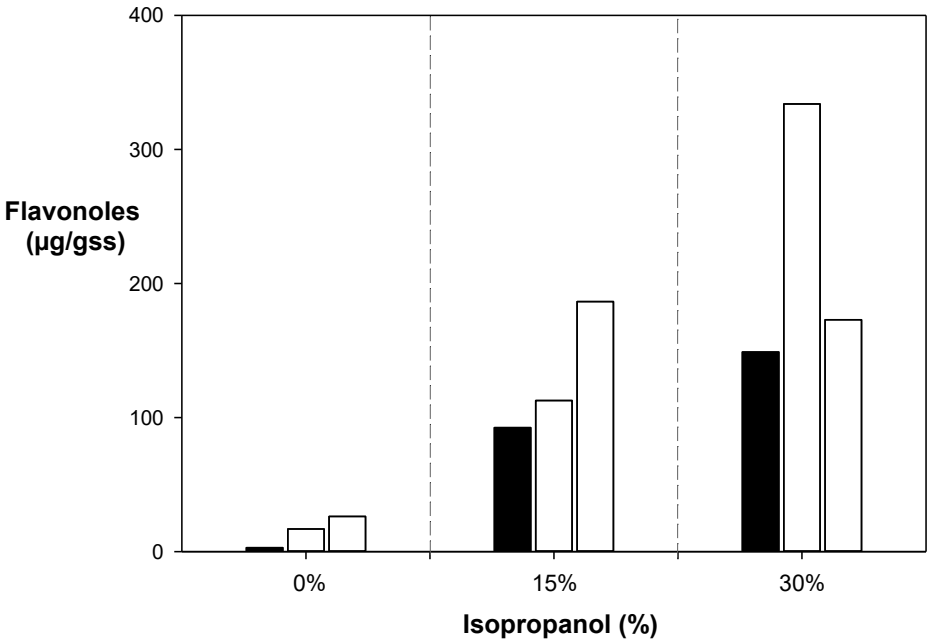
Anexo 4

Azúcares reductores AR (mg/gss) de extractos de arándano de descarte a diferentes concentraciones de isopropanol y temperaturas de extracción líquida presurizada.

Descripción AR	Concentración %	Temperatura 70°C x-cv	100°C x-cv	130°C x-cv
Fructuosa	0	$49.07^{A,a}$ 0.03	$64.58^{B,a}$ 0.01	$67.45^{C,a}$ 0.02
(mg/gss)	15	$6.12^{A,b}$ 0.03	$53.94^{B,b}$ 0.01	$54.35^{B,b}$ 0.02
	30	$5.67^{A,b}$ 0.01	$35.44^{B,c}$ 0.02	$47.51^{C,c}$ 0.02
Glucosa	0	$46.58^{A,a}$ 0.01	$61.18^{B,a}$ 0.02	$69.96^{C,a}$ 0.02
(mg/gss)	15	$7.67^{A,b}$ 0.04	$49.45^{B,b}$ 0.01	$53.95^{C,b}$ 0.02
	30	$6.17^{A,b}$ 0.02	$38.83^{B,c}$ 0.01	$48.47^{C,c}$ 0.01

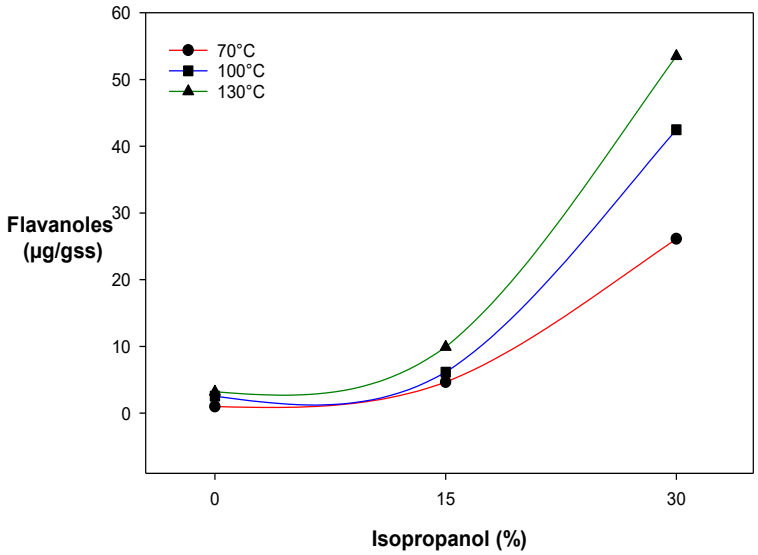
Anexo 5

Perfil de flavonoles (µg/gss) de extractos de arándano de descarte a diferentes concentraciones de isopropanol y temperaturas de extracción líquida presurizada.



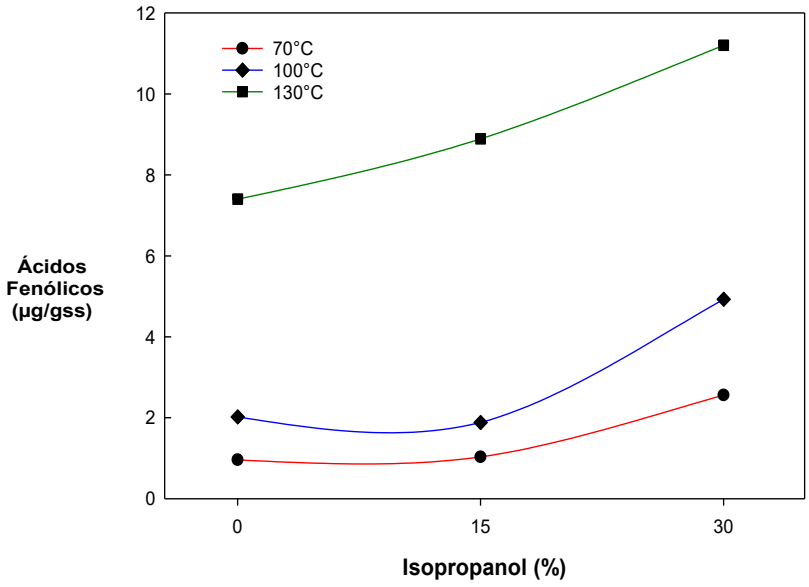
Anexo 6

Perfil de flavanoles (µg/gss) de extractos de arándano de descarte a diferentes concentraciones de isopropanol y temperaturas de extracción líquida presurizada.



Anexo 7

Perfil de ácidos fenólicos (µg/gss) de extractos de arándano de descarte a diferentes concentraciones de isopropanol y temperaturas de extracción líquida presurizada.



Anexo 8

Análisis de Varianza para polifenoles totales.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFECTOS PRINCIPALES					
A:Temperatura	196.609	2	98.3046	1011.56	0.0000
B:Concentracion	69.6429	2	34.8215	358.32	0.0000
INTERACCIONES					
AB	54.7149	4	13.6787	140.76	0.0000
RESIDUOS	0.87463	9	0.0971811		
TOTAL (CORREGIDO)	321.842	17			

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

Tabla de Medias por Mínimos Cuadrados para polifenoles totales con intervalos de confianza del 95.0%.

Nivel	Casos	Media	Error Est.	Límite Inferior	Límite Superior
MEDIA GLOBAL	18	6.97036			
Temperatura					
70	6	2.56333	0.127267	2.27543	2.85122
100	6	7.82567	0.127267	7.53777	8.11357
130	6	10.5221	0.127267	10.2342	10.81
Concentración					
0	6	4.68566	0.127267	4.39776	4.97356
15	6	6.73841	0.127267	6.45051	7.02631
30	6	9.487	0.127267	9.19911	9.7749
Temperatura por Concentración					
70,0	2	2.31978	0.220433	1.82113	2.81843
70,15	2	2.65901	0.220433	2.16035	3.15766
70,30	2	2.71119	0.220433	2.21254	3.20985

100,0	2	3.61145	0.220433	3.11279	4.1101
100,15	2	6.29916	0.220433	5.8005	6.79781
100,30	2	13.5664	0.220433	13.0678	14.0651
130,0	2	8.12575	0.220433	7.6271	8.62441
130,15	2	11.2571	0.220433	10.7584	11.7557
130,30	2	12.1834	0.220433	11.6848	12.6821

Pruebas de comparación

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD				
Temperatura	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
70	6	2.56333	0.127267	X
100	6	7.82567	0.127267	X
130	6	10.5221	0.127267	X

Contraste	**Sig.**	**Diferencia**	**+/- Límites**
70 - 100	*	-5.26234	0.502455
70 - 130	*	-7.95875	0.502455
100 - 130	*	-2.69641	0.502455

** indica una diferencia significativa.*

Anexo 9

Análisis de Varianza para ORAC.

Fuente	**Suma de Cuadrados**	**Gl**	**Cuadrado Medio**	**Razón-F**	**Valor-P**
EFECTOS PRINCIPALES					
A:Temperatura	23590.3	2	11795.2	1001.18	0.0000
B:Concentracion	11368.4	2	5684.22	482.48	0.0000
INTERACCIONES					
AB	7566.51	4	1891.63	160.56	0.0000
RESIDUOS	106.031	9	11.7812		
TOTAL (CORREGIDO)	42631.3	17			

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

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	150.042			
Temperatura					
70	6	98.9843	1.40126	95.8144	102.154
100	6	172.305	1.40126	169.136	175.475
130	6	178.837	1.40126	175.667	182.007
Concentración					
0	6	124.198	1.40126	121.028	127.368
15	6	141.836	1.40126	138.666	145.006
30	6	184.093	1.40126	180.923	187.263
Temperatura por Concentración					
70,0	2	90.8473	2.42706	85.3569	96.3377
70,15	2	97.5882	2.42706	92.0978	103.079
70,30	2	108.517	2.42706	103.027	114.008
100,0	2	121.852	2.42706	116.361	127.342
100,15	2	148.59	2.42706	143.1	154.081
100,30	2	246.474	2.42706	240.984	251.964
130,0	2	159.895	2.42706	154.404	165.385
130,15	2	179.329	2.42706	173.838	184.819
130,30	2	197.288	2.42706	191.798	202.779

Pruebas de comparación

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD				
Temperatura	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
70	6	98.9843	1.40126	X
100	6	172.305	1.40126	X
130	6	178.837	1.40126	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
70 - 100	*	-73.3211	5.53224
70 - 130	*	-79.853	5.53224
100 - 130	*	-6.53189	5.53224

** indica una diferencia significativa.*

Anexo 10

Análisis de Varianza para DPPH.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFECTOS PRINCIPALES					
A:Temperatura	156.045	2	78.0224	411.53	0.0000
	44.9518	2	22.4759	118.55	0.0000
B:Concentracion					
INTERACCIONES					
AB	15.3074	4	3.82684	20.18	0.0002
RESIDUOS	1.7063	9	0.189589		
TOTAL (CORREGIDO)	218.01	17			

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

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

Nivel	Casos	Media	Error Est.	Límite Inferior	Límite Superior
MEDIA GLOBAL	18	15.1184			
Temperatura					
70	6	19.2147	0.177759	18.8126	19.6169
100	6	13.7172	0.177759	13.3151	14.1193
130	6	12.4232	0.177759	12.0211	12.8253
Concentración					
0	6	16.9961	0.177759	16.594	17.3983
15	6	15.229	0.177759	14.8269	15.6312
30	6	13.13	0.177759	12.7279	13.5321
Temperatura por Concentración					
70,0	2	20.4393	0.307887	19.7428	21.1358
70,15	2	19.2171	0.307887	18.5206	19.9136
70,30	2	17.9879	0.307887	17.2914	18.6844
100,0	2	16.944	0.307887	16.2475	17.6405
100,15	2	14.2354	0.307887	13.5389	14.9319

100,30	2	9.9722	0.307887	9.27571	10.6687
130,0	2	13.6052	0.307887	12.9087	14.3017
130,15	2	12.2346	0.307887	11.5382	12.9311
130,30	2	11.4298	0.307887	10.7333	12.1263

Pruebas de comparación

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD				
Temperatura	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
130	6	12.4232	0.177759	X
100	6	13.7172	0.177759	X
70	6	19.2147	0.177759	X

Contraste	**Sig.**	**Diferencia**	**+/- Límites**
70 - 100	*	5.49756	0.701799
70 - 130	*	6.79153	0.701799
100 - 130	*	1.29398	0.701799

** indica una diferencia significativa.*

Anexo 11

Análisis de Varianza para glucosa.

Fuente	**Suma de Cuadrados**	**Gl**	**Cuadrado Medio**	**Razón-F**	**Valor-P**
EFECTOS PRINCIPALES					
A:Temperatura	4665.0	2	2332.5	4935.35	0.0000
B:Concentracion	2632.23	2	1316.11	2784.77	0.0000
INTERACCIONES					
AB	465.122	4	116.28	246.04	0.0000
RESIDUOS	4.2535	9	0.472611		
TOTAL (CORREGIDO)	7766.61	17			

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

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

Nivel	Casos	Media	Error Est.	Límite Inferior	Límite Superior
MEDIA GLOBAL	18	42.4722			
Temperatura					
70	6	20.1367	0.280657	19.5018	20.7716
100	6	49.82	0.280657	49.1851	50.4549
130	6	57.46	0.280657	56.8251	58.0949
Concentración					
0	6	59.235	0.280657	58.6001	59.8699
15	6	37.025	0.280657	36.3901	37.6599
30	6	31.1567	0.280657	30.5218	31.7916
Temperatura por Concentración					
70,0	2	46.575	0.486113	45.4753	47.6747
70,15	2	7.665	0.486113	6.56533	8.76467
70,30	2	6.17	0.486113	5.07033	7.26967
100,0	2	61.175	0.486113	60.0753	62.2747
100,15	2	49.455	0.486113	48.3553	50.5547
100,30	2	38.83	0.486113	37.7303	39.9297
130,0	2	69.955	0.486113	68.8553	71.0547
130,15	2	53.955	0.486113	52.8553	55.0547
130,30	2	48.47	0.486113	47.3703	49.5697

Pruebas de comparación

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD				
Temperatura	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
70	6	20.1367	0.280657	X
100	6	49.82	0.280657	X
130	6	57.46	0.280657	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
70 - 100	*	-29.6833	1.10805
70 - 130	*	-37.3233	1.10805
100 - 130	*	-7.64	1.10805

** indica una diferencia significativa.*

Anexo 12

Análisis de Varianza para fructuosa.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFECTOS PRINCIPALES					
A:Temperatura	4592.07	2	2296.04	3968.95	0.0000
B:Concentracion	3036.54	2	1518.27	2624.49	0.0000
INTERACCIONES					
AB	729.067	4	182.267	315.07	0.0000
RESIDUOS	5.2065	9	0.5785		
TOTAL (CORREGIDO)	8362.88	17			

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

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

Nivel	Casos	Media	Error Est.	Límite Inferior	Límite Superior
MEDIA GLOBAL	18	42.6789			
Temperatura					
70	6	20.285	0.31051	19.5826	20.9874
100	6	51.315	0.31051	50.6126	52.0174
130	6	56.4367	0.31051	55.7342	57.1391
Concentración					
0	6	60.3633	0.31051	59.6609	61.0658
15	6	38.1367	0.31051	37.4342	38.8391
30	6	29.5367	0.31051	28.8342	30.2391
Temperatura por Concentración					
70,0	2	49.065	0.53782	47.8484	50.2816
70,15	2	6.12	0.53782	4.90336	7.33664
70,30	2	5.67	0.53782	4.45336	6.88664
100,0	2	64.575	0.53782	63.3584	65.7916
100,15	2	53.935	0.53782	52.7184	55.1516
100,30	2	35.435	0.53782	34.2184	36.6516
130,0	2	67.45	0.53782	66.2334	68.6666
130,15	2	54.355	0.53782	53.1384	55.5716

130,30	2	47.505	0.53782	46.2884	48.7216

Pruebas de comparación

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD				
Temperatura	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
70	6	20.285	0.31051	X
100	6	51.315	0.31051	X
130	6	56.4367	0.31051	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
70 - 100	*	-31.03	1.22591
70 - 130	*	-36.1517	1.22591
100 - 130	*	-5.12167	1.22591

** indica una diferencia significativa.*

Anexo 13

Análisis de Varianza para quercitrina.

Fuente	**Suma de Cuadrados**	**Gl**	**Cuadrado Medio**	**Razón-F**	**Valor-P**
EFECTOS PRINCIPALES					
A:Temperatura	3788.32	2	1894.16	40.29	0.0000
B:Concentracion	30442.2	2	15221.1	323.74	0.0000
INTERACCIONES					
AB	6968.86	4	1742.22	37.05	0.0000
RESIDUOS	423.154	9	47.0171		
TOTAL (CORREGIDO)	41622.5	17			

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

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

			Error	**Límite**	**Límite**
Nivel	**Casos**	**Media**	**Est.**	**Inferior**	**Superior**

MEDIA GLOBAL	18	71.2302			
Temperatura					
70	6	52.1902	2.79932	45.8577	58.5227
100	6	87.3685	2.79932	81.036	93.701
130	6	74.1318	2.79932	67.7993	80.4643
Concentración					
0	6	13.2681	2.79932	6.93558	19.6006
15	6	96.0703	2.79932	89.7378	102.403
30	6	104.352	2.79932	98.0196	110.685
Temperatura por Concentración					
70,0	2	1.99841	4.84856	-8.96982	12.9666
70,15	2	78.4637	4.84856	67.4955	89.432
70,30	2	76.1084	4.84856	65.1402	87.0767
100,0	2	11.2672	4.84856	0.298937	22.2354
100,15	2	92.8596	4.84856	81.8914	103.828
100,30	2	157.979	4.84856	147.011	168.947
130,0	2	26.5387	4.84856	15.5705	37.5069
130,15	2	116.887	4.84856	105.919	127.856
130,30	2	78.9691	4.84856	68.0009	89.9374

Pruebas de comparación

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD				
Temperatura	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
70	6	52.1902	2.79932	X
130	6	74.1318	2.79932	X
100	6	87.3685	2.79932	X

Contraste	**Sig.**	**Diferencia**	**+/- Límites**
70 - 100	*	-35.1783	11.0518
70 - 130	*	-21.9416	11.0518
100 - 130	*	13.2367	11.0518

** indica una diferencia significativa.*

Anexo 14

Análisis de Varianza para rutina.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFECTOS PRINCIPALES					
A:Temperatura	2863.38	2	1431.69	51.2	0.0000
B:Concentracion	33377.2	2	16688.6	596.77	0.0000
INTERACCIONES					
AB	6687.02	4	1671.75	59.78	0.0000
RESIDUOS	251.685	9	27.965		
TOTAL (CORREGIDO)	43179.3	17			

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

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

Nivel	Casos	Media	Error Est.	Límite Inferior	Límite Superior
MEDIA GLOBAL	18	46.3719			
Temperatura					
70	6	28.9528	2.15889	24.0691	33.8366
100	6	58.4051	2.15889	53.5213	63.2889
130	6	51.7577	2.15889	46.874	56.6415
Concentración					
0	6	1.4774	2.15889	-3.40638	6.36117
15	6	33.1849	2.15889	28.3012	38.0687
30	6	104.453	2.15889	99.5696	109.337
Temperatura por Concentración					
70,0	2	0	3.73932	-8.45894	8.45894
70,15	2	15.4691	3.73932	7.01017	23.928
70,30	2	71.3894	3.73932	62.9305	79.8483
100,0	2	4.43219	3.73932	-4.02675	12.8911
100,15	2	20.4677	3.73932	12.0088	28.9267
100,30	2	150.315	3.73932	141.856	158.774

130,0	2	0	3.73932	-8.45894	8.45894
130,15	2	63.618	3.73932	55.1591	72.077
130,30	2	91.6552	3.73932	83.1962	100.114

Pruebas de comparación

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD				
Temperatura	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
70	6	28.9528	2.15889	X
130	6	51.7577	2.15889	X
100	6	58.4051	2.15889	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
70 - 100	*	-29.4523	8.52341
70 - 130	*	-22.8049	8.52341
100 - 130		6.64738	8.52341

** indica una diferencia significativa.*

Anexo 15

Análisis de Varianza para kaempferol.

Fuente	**Suma de Cuadrados**	**Gl**	**Cuadrado Medio**	**Razón-F**	**Valor-P**
EFECTOS PRINCIPALES					
A:Temperatura	1.16996	2	0.584981	81.53	0.0000
B:Concentracion	0.0136726	2	0.00683629	0.95	0.4214
INTERACCIONES					
AB	0.201243	4	0.0503108	7.01	0.0076
RESIDUOS	0.0645752	9	0.00717502		
TOTAL (CORREGIDO)	1.44945	17			

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

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

Nivel	Casos	Media	Error Est.	Límite Inferior	Límite Superior
MEDIA GLOBAL	18	1.27141			
Temperatura					
70	6	0.942928	0.0345809	0.8647	1.02116
100	6	1.30692	0.0345809	1.22869	1.38515
130	6	1.56438	0.0345809	1.48615	1.64261
Concentración					
0	6	1.24416	0.0345809	1.16593	1.32239
15	6	1.2609	0.0345809	1.18267	1.33913
30	6	1.30917	0.0345809	1.23094	1.3874
Temperatura por Concentración					
70,0	2	0.888719	0.0598958	0.753225	1.02421
70,15	2	1.01252	0.0598958	0.877028	1.14802
70,30	2	0.927543	0.0598958	0.792049	1.06304
100,0	2	1.33584	0.0598958	1.20035	1.47133
100,15	2	1.09341	0.0598958	0.95792	1.22891
100,30	2	1.49151	0.0598958	1.35602	1.62701
130,0	2	1.50793	0.0598958	1.37243	1.64342
130,15	2	1.67676	0.0598958	1.54127	1.81226
130,30	2	1.50846	0.0598958	1.37296	1.64395

Pruebas de comparación

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

Temperatura	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
70	6	0.942928	0.0345809	X
100	6	1.30692	0.0345809	X
130	6	1.56438	0.0345809	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
70 - 100	*	-0.363994	0.136527
70 - 130	*	-0.621453	0.136527
100 - 130	*	-0.257459	0.136527

** indica una diferencia significativa.*

Anexo 16

Análisis de Varianza para catequina.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFECTOS PRINCIPALES					
A:Temperatura	26.1496	2	13.0748	117.76	0.0000
B:Concentracion	860.911	2	430.456	3876.84	0.0000
INTERACCIONES					
AB	36.5875	4	9.14687	82.38	0.0000
RESIDUOS	0.999294	9	0.111033		
TOTAL (CORREGIDO)	924.648	17			

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

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

Nivel	Casos	Media	Error Est.	Límite Inferior	Límite Superior
MEDIA GLOBAL	18	5.72801			
Temperatura					
70	6	4.0771	0.136035	3.76937	4.38483
100	6	6.18601	0.136035	5.87828	6.49375
130	6	6.9209	0.136035	6.61317	7.22863
Concentración					
0	6	0.679178	0.136035	0.371446	0.986911
15	6	0.998136	0.136035	0.690403	1.30587
30	6	15.5067	0.136035	15.199	15.8144
Temperatura por Concentración					
70,0	2	0.492726	0.235619	-0.0402824	1.02573
70,15	2	0.703526	0.235619	0.170517	1.23653
70,30	2	11.0351	0.235619	10.502	11.5681
100,0	2	0.544375	0.235619	0.0113668	1.07738
100,15	2	0.993017	0.235619	0.460009	1.52603
100,30	2	17.0206	0.235619	16.4876	17.5537
130,0	2	1.00043	0.235619	0.467424	1.53344
130,15	2	1.29786	0.235619	0.764855	1.83087

130,30	2	18.4644	0.235619	17.9314	18.9974

Pruebas de comparación

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD				
Temperatura	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
70	6	4.0771	0.136035	X
100	6	6.18601	0.136035	X
130	6	6.9209	0.136035	X

Contraste	**Sig.**	**Diferencia**	**+/- Límites**
70 - 100	*	-2.10891	0.537071
70 - 130	*	-2.8438	0.537071
100 - 130	*	-0.734888	0.537071

** indica una diferencia significativa.*

Anexo 17

Análisis de Varianza para epicatequina.

Fuente	**Suma de Cuadrados**	**Gl**	**Cuadrado Medio**	**Razón-F**	**Valor-P**
EFECTOS PRINCIPALES					
A:Temperatura	59.8936	2	29.9468	122.48	0.0000
B:Concentracion	1146.18	2	573.09	2343.9	0.0000
INTERACCIONES					
AB	76.0133	4	19.0033	77.72	0.0000
RESIDUOS	2.20053	9	0.244503		
TOTAL (CORREGIDO)	1284.29	17			

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

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

Nivel	Casos	Media	Error Est.	Límite Inferior	Límite Superior
MEDIA GLOBAL	18	6.66317			

Temperatura					
70	6	4.51748	0.201868	4.06082	4.97414
100	6	6.49581	0.201868	6.03915	6.95246
130	6	8.97623	0.201868	8.51958	9.43289
Concentración					
0	6	0	0.201868	-0.456657	0.456657
15	6	2.10701	0.201868	1.65036	2.56367
30	6	17.8825	0.201868	17.4258	18.3392
Temperatura por Concentración					
70,0	2	0	0.349645	-0.790953	0.790953
70,15	2	1.42156	0.349645	0.630603	2.21251
70,30	2	12.1309	0.349645	11.3399	12.9218
100,0	2	0	0.349645	-0.790953	0.790953
100,15	2	1.56201	0.349645	0.771061	2.35297
100,30	2	17.9254	0.349645	17.1345	18.7164
130,0	2	0	0.349645	-0.790953	0.790953
130,15	2	3.33747	0.349645	2.54652	4.12842
130,30	2	23.5912	0.349645	22.8003	24.3822

Pruebas de comparación

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD				
Temperatura	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
70	6	4.51748	0.201868	X
100	6	6.49581	0.201868	X
130	6	8.97623	0.201868	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
70 - 100	*	-1.97833	0.796981
70 - 130	*	-4.45875	0.796981
100 - 130	*	-2.48043	0.796981

** indica una diferencia significativa.*

Anexo 18

Análisis de Varianza para procianidina A2.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P

EFECTOS PRINCIPALES					
A:Temperatura	2.47187	2	1.23594	176.04	0.0000
B:Concentracion	2.68748	2	1.34374	191.4	0.0000
INTERACCIONES					
AB	2.40109	4	0.600273	85.5	0.0000
RESIDUOS	0.0631867	9	0.00702075		
TOTAL (CORREGIDO)	7.62363	17			

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

Tabla de Medias por Mínimos Cuadrados para procianidina A2 con intervalos de confianza del 95.0%.

Nivel	Casos	Media	Error Est.	Límite Inferior	Límite Superior
MEDIA GLOBAL	18	1.18095			
Temperatura					
70	6	0.665217	0.0342071	0.587835	0.742599
100	6	1.51948	0.0342071	1.4421	1.59686
130	6	1.35814	0.0342071	1.28076	1.43552
Concentración					
0	6	0.634639	0.0342071	0.557257	0.712021
15	6	1.44321	0.0342071	1.36583	1.52059
30	6	1.46499	0.0342071	1.38761	1.54237
Temperatura por Concentración					
70,0	2	0.477721	0.0592484	0.343691	0.61175
70,15	2	0.727312	0.0592484	0.593283	0.861342
70,30	2	0.790618	0.0592484	0.656589	0.924648
100,0	2	0.661862	0.0592484	0.527833	0.795892
100,15	2	1.4848	0.0592484	1.35077	1.61883
100,30	2	2.41177	0.0592484	2.27774	2.5458
130,0	2	0.764334	0.0592484	0.630305	0.898364
130,15	2	2.11751	0.0592484	1.98348	2.25154
130,30	2	1.19258	0.0592484	1.05855	1.32661

Pruebas de comparación

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD				
Temperatura	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
70	6	0.665217	0.0342071	X
130	6	1.35814	0.0342071	X
100	6	1.51948	0.0342071	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
70 - 100	*	-0.854262	0.135051
70 - 130	*	-0.692924	0.135051
100 - 130	*	0.161337	0.135051

** indica una diferencia significativa.*

Anexo 19

Análisis de Varianza para procianidina B2.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFECTOS PRINCIPALES					
A:Temperatura	35.3019	2	17.6509	399.91	0.0000
B:Concentracion	89.4638	2	44.7319	1013.47	0.0000
INTERACCIONES					
AB	32.0319	4	8.00798	181.43	0.0000
RESIDUOS	0.397235	9	0.0441372		
TOTAL (CORREGIDO)	157.195	17			

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

Tabla de Medias por Mínimos Cuadrados para procianidina B2 con intervalos de confianza del 95.0%.

Nivel	Casos	Media	Error Est.	Límite Inferior	Límite Superior
MEDIA GLOBAL	18	3.16626			
Temperatura					

70	6	1.79053	0.0857683	1.5965	1.98455
100	6	2.62028	0.0857683	2.42626	2.81431
130	6	5.08796	0.0857683	4.89393	5.28198
Concentración					
0	6	0.946602	0.0857683	0.75258	1.14062
15	6	2.33697	0.0857683	2.14294	2.53099
30	6	6.2152	0.0857683	6.02118	6.40922
Temperatura por Concentración					
70,0	2	0	0.148555	-0.336056	0.336056
70,15	2	1.92653	0.148555	1.59047	2.26258
70,30	2	3.44505	0.148555	3.109	3.78111
100,0	2	1.34848	0.148555	1.01242	1.68454
100,15	2	2.0847	0.148555	1.74865	2.42076
100,30	2	4.42767	0.148555	4.09161	4.76373
130,0	2	1.49133	0.148555	1.15527	1.82738
130,15	2	2.99967	0.148555	2.66361	3.33573
130,30	2	10.7729	0.148555	10.4368	11.1089

Pruebas de comparación

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD				
Temperatura	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
70	6	1.79053	0.0857683	X
100	6	2.62028	0.0857683	X
130	6	5.08796	0.0857683	X

Contraste	**Sig.**	**Diferencia**	**+/- Límites**
70 - 100	*	-0.829758	0.338617
70 - 130	*	-3.29743	0.338617
100 - 130	*	-2.46767	0.338617

** indica una diferencia significativa.*

Anexo 20

Análisis de varianza para ácido cafeico.

Fuente	**Suma de Cuadrados**	**Gl**	**Cuadrado Medio**	**Razón-F**	**Valor-P**

EFECTOS PRINCIPALES					
A:Temperatura	0.251488	2	0.125744	42.39	0.0000
B:Concentracion	8.31446	2	4.15723	1401.47	0.0000
INTERACCIONES					
AB	0.171846	4	0.0429614	14.48	0.0006
RESIDUOS	0.0266971	9	0.00296634		
TOTAL (CORREGIDO)	8.76449	17			

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

Tabla de Medias por Mínimos Cuadrados para ácido cafeico con intervalos de confianza del 95.0%.

			Error	Límite	Límite
Nivel	Casos	Media	Est.	Inferior	Superior
MEDIA GLOBAL	18	0.539944			
Temperatura					
70	6	0.410353	0.0222349	0.360054	0.460652
100	6	0.513295	0.0222349	0.462996	0.563594
130	6	0.696183	0.0222349	0.645884	0.746482
Concentración					
0	6	0.00335438	0.0222349	-0.0469445	0.0536533
15	6	0.117641	0.0222349	0.067342	0.16794
30	6	1.49884	0.0222349	1.44854	1.54914
Temperatura por Concentración					
70,0	2	0	0.0385119	-0.0871203	0.0871203
70,15	2	0.0188172	0.0385119	-0.0683031	0.105937
70,30	2	1.21224	0.0385119	1.12512	1.29936
100,0	2	0	0.0385119	-0.0871203	0.0871203
100,15	2	0.0498917	0.0385119	-0.0372286	0.137012
100,30	2	1.48999	0.0385119	1.40287	1.57711
130,0	2	0.0100631	0.0385119	-0.0770571	0.0971834
130,15	2	0.284214	0.0385119	0.197094	0.371334
130,30	2	1.79427	0.0385119	1.70715	1.88139

Pruebas de comparación

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD				
Temperatura	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
70	6	0.410353	0.0222349	X
100	6	0.513295	0.0222349	X
130	6	0.696183	0.0222349	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
70 - 100	*	-0.102942	0.0877842
70 - 130	*	-0.28583	0.0877842
100 - 130	*	-0.182888	0.0877842

** indica una diferencia significativa.*

Anexo 21

Análisis de varianza para ácido vanílico

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFECTOS PRINCIPALES					
A:Temperatura	191.385	2	95.6923	1425.51	0.0000
B:Concentracion	3.70429	2	1.85215	27.59	0.0001
INTERACCIONES					
AB	1.15415	4	0.288538	4.3	0.0323
RESIDUOS	0.604155	9	0.0671283		
TOTAL (CORREGIDO)	196.847	17			

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

Tabla de Medias por Mínimos Cuadrados para ácido vanílico con intervalos de confianza del 95.0%.

Nivel	Casos	Media	Error Est.	Límite Inferior	Límite Superior
MEDIA GLOBAL	18	3.9965			

Temperatura					
70	6	1.0987	0.105774	0.859427	1.33798
100	6	2.33883	0.105774	2.09956	2.57811
130	6	8.55198	0.105774	8.3127	8.79125
Concentración					
0	6	3.55675	0.105774	3.31747	3.79603
15	6	3.81184	0.105774	3.57257	4.05112
30	6	4.62092	0.105774	4.38164	4.8602
Temperatura por Concentración					
70,0	2	0.950729	0.183205	0.536289	1.36517
70,15	2	1.05185	0.183205	0.637415	1.46629
70,30	2	1.29353	0.183205	0.879089	1.70797
100,0	2	1.88926	0.183205	1.47482	2.3037
100,15	2	1.86847	0.183205	1.45403	2.28291
100,30	2	3.25877	0.183205	2.84433	3.67321
130,0	2	7.83026	0.183205	7.41582	8.2447
130,15	2	8.5152	0.183205	8.10076	8.92964
130,30	2	9.31047	0.183205	8.89603	9.72491

Pruebas de comparación

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD				
Temperatura	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
70	6	1.0987	0.105774	X
100	6	2.33883	0.105774	X
130	6	8.55198	0.105774	X

Contraste	**Sig.**	**Diferencia**	**+/- Límites**
70 - 100	*	-1.24013	0.417599
70 - 130	*	-7.45327	0.417599
100 - 130	*	-6.21314	0.417599

** indica una diferencia significativa.*

Anexo 22

Análisis de varianza para resveratrol.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFECTOS PRINCIPALES					
A:Temperatura	0.00965305	2	0.00482652	64.79	0.0000
B:Concentracion	257.778	2	128.889	1730206.85	0.0000
INTERACCIONES					
AB	0.00550623	4	0.00137656	18.48	0.0002
RESIDUOS	0.00067044	9	7.4493E-05		
TOTAL (CORREGIDO)	257.794	17			

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

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

Nivel	Casos	Media	Error Est.	Límite Inferior	Límite Superior
MEDIA GLOBAL	18	5.35179			
Temperatura					
70	6	5.32361	0.00352357	5.31564	5.33159
100	6	5.35142	0.00352357	5.34345	5.35939
130	6	5.38034	0.00352357	5.37236	5.38831
Concentración					
0	6	8.04369	0.00352357	8.03572	8.05166
15	6	8.01168	0.00352357	8.00371	8.01965
30	6	0	0.00352357	-0.0079709	0.0079709
Temperatura por Concentración					
70,0	2	7.99267	0.00610301	7.97887	8.00648
70,15	2	7.97817	0.00610301	7.96437	7.99198
70,30	2	0	0.00610301	-0.013806	0.013806
100,0	2	8.05276	0.00610301	8.03895	8.06657
100,15	2	8.00151	0.00610301	7.9877	8.01532
100,30	2	0	0.00610301	-0.013806	0.013806
130,0	2	8.08565	0.00610301	8.07184	8.09945
130,15	2	8.05536	0.00610301	8.04156	8.06917

130,30	2	0	0.00610301	-0.013806	0.013806

Pruebas de comparación

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD				
Temperatura	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
70	6	5.32361	0.00352357	X
100	6	5.35142	0.00352357	X
130	6	5.38034	0.00352357	X

Contraste	**Sig.**	**Diferencia**	**+/- Límites**
70 - 100	*	-0.0278085	0.0139112
70 - 130	*	-0.056721	0.0139112
100 - 130	*	-0.0289125	0.0139112

** indica una diferencia significativa.*

Anexo 23

Regresión lineal y coeficiente de regresión de Polifenoles específicos.

Polifenol	**Regresión lineal**	**R2**
Rutina	Y = 6.6151462X+1.7802541	0.99922
Quercitrina	Y = 24.4618691X+2.2829876	0.99971
Catequina	Y = 25.251136X-0.5309875	0.99994
Procianidina B2	Y = 41.3596684X-2.4846145	0.99974
Epicatequina	Y = 43.3950296X-2.1554659	0.99985
Ácido. Vanílico	Y = 141.991849X-5.4568242	0.99980
Procianidina A2	Y = 59.2803924X-0.7963507	0.99990

Ácido Cafeico	Y = 149.119813X+0.9753017	0.99980
Resveratrol	Y = 78.8100873X-31.357898	0.99845
Kaempferol	Y = 38.0226353X-1.5363721	0.99971

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	: CECILIA MARGARITA COPA CHIPANA
DNI/Carnet de Extranjería/Pasaporte N°	: 71875090
Correo electrónico	: ceciliacopa1992@gmail.com
Teléfono/Celular	: 941036782

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 isopropanol como solvente alternativo bajo condiciones subcríticas sobre la recuperación de compuestos bioactivos a partir de arándanos (*vaccinium corymbosum L.*) de descarte.

b) Campo del conocimiento OCDE (Indicar el código de clasificación OCDE de la obra : https://catalogos.concytec.gob.pe/vocabulario/ocde_ford.html) : 2.11.02
c) Fecha de publicación: 17 de mayo del 2023

6. DATOS DEL ASESOR:

a) Nombres y Apellidos : Nils Leander Huaman Castilla
b) DNI/Pasaporte/Cédula : 41939181
c) ORCID : https://orcid.org/ 0000-0002-3748-0883

7. DATOS DEL Co - ASESOR:

d) Nombres y Apellidos : Erick Manuel Saldaña Villa
e) DNI/Pasaporte/Cédula : 45469129
f) ORCID : https://orcid.org/ 0000-0002-4018-2852

FIRMA : .....

DOCUMENTO DE IDENTIDAD : 71875090
NOMBRES Y APELLIDOS : CECILIA MARGARITA COPA CHIPANA

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 : 71875090
NOMBRES Y APELLIDOS : CECILIA MARGARITA COPA CHIPANA
FECHA : 13 de junio del 2023

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

Yo, Cecilia Margarita Copa Chipana bachiller de la Escuela Profesional de: Ingeniería Agroindustrial, de la Universidad Nacional de Moquegua, identificado(a) con DNI Nº 71875090 , autor(a) del Trabajo de Tesis, denominado :

Estudio del uso de isopropanol como solvente alternativo bajo condiciones subcríticas sobre la recuperacíon de compuestos bioactivos a partir de arándanos (vaccinium corymbosum L.) de descarte.•

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, 13 de junio del 2023



Huella digital

Nombres y Apellidos:Cecilia Margarita Copa Chipana
DNI: 71875090

Document Information

Analyzed document	TESIS PARA EMPASTAR 26 - 05 - 2023_Analisis.docx (D171261167)
Submitted	6/25/2023 3:50:00 AM
Submitted by	
Submitter email	nhuamanc@unam.edu.pe
Similarity	12%
Analysis address	nhuamanc.unampe@analysis.urkund.com

Sources included in the report

SA **Universidad Nacional de Moquegua / Proyecto de tesis_Cecilia Copa Chipana.docx**
Document Proyecto de tesis_Cecilia Copa Chipana.docx (D110940112) 28
Submitted by: ollallac@unam.edu.pe
Receiver: ollallac.unampe@analysis.urkund.com

SA **Tesis-informaciónplagio.pdf**
Document Tesis-informaciónplagio.pdf (D143156491) 5

Entire Document

UNIVERSIDAD NACIONAL DE MOQUEGUA
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL ESTUDIO DEL USO DE ISOPROPANOL COMO SOLVENTE ALTERNATIVO BAJO CONDICIONES SUBCRÍTICAS SOBRE LA RECUPERACIÓN DE COMPUESTOS BIOACTIVOS A PARTIR DE ARÁNDANOS (Vaccinium corymbosum L.) DE DESCARTE.
TESIS
PRESENTADO POR: Bach. CECILIA MARGARITA COPA CHIPANA Asesor: Dr. NILS LEANDER HUAMAN CASTILLA
Co-Asesor: Dr. ERICK MANUEL SALDAÑA VILLA Para optar el Título Profesional de: INGENIERO AGROINDUSTRIAL
MOQUEGUA – PERÚ 2023
UNIVERSIDAD NACIONAL DE MOQUEGUA
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL ESTUDIO DEL USO DE ISOPROPANOL COMO SOLVENTE ALTERNATIVO BAJO CONDICIONES SUBCRÍTICAS SOBRE LA RECUPERACIÓN DE COMPUESTOS BIOACTIVOS A PARTIR DE ARÁNDANOS (Vaccinium corymbosum L.) DE DESCARTE.
Tesis sustentada y aprobada el 17 de Mayo del 2023, estando presentes el jurado calificador y asesor integrados por:
PRESIDENTE: ..... Dr. Franz Zirena Vilca
1ER MIEMBRO: ..... Dr. Jhony Mayta Hancco
2DO MIEMBRO: ..... Mg. Cesar Augusto Napa Almeyda
ASESOR: ..... Dr. Nils Leander Huaman Castilla
Co – ASESOR: ..... Dr. Erick Manuel Saldaña Villa DEDICATORIA