UNIVERSIDAD NACIONAL DE MOQUEGUA

FACULTAD DE INGENIERÍA Y ARQUITECTURA

ESCUELA PROFESIONAL DE
INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL

ESTUDIO DEL USO DE LÍQUIDOS PRESURIZADOS PARA LA EXTRACCIÓN DE POLIFENOLES PRESENTES EN ALGAS MARINAS ROJAS

TESIS

Presentado por:

Bach. Frank Jorge Hervas Nina

Asesor:

Dr. Nils Leander Huamán Castilla

Para optar el Título Profesional de:

INGENIERO AGROINDUSTRIAL

MOQUEGUA – PERÚ

2024

UNAM
UNIVERSIDAD NACIONAL DE MOQUEGUA

ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL

Folio N° 23

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:

Resolucion de Facultad N° 104 - 2022 - FACIA - UNAM

Fecha: 21/06/2022

III. Documento de aprobación para la sustentación:

Resolución de Facultad N° 209 - 2023 - FACIA - UNAM

Fecha: 06/12/2023

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

TITULADO: Estudio del uso de líquidos presurizados para la extracción de polifenoles presentes en algas marinas rojas

Bachiller: Frank Jorge Hervas Nina

Asesor Principal: Dr. Nils Leander Huaman Castilla

Co-Asesor: .....

V. Se dictamina:

Como: APROBADO por UNANIMIDAD la sustentación de manera:

Presencial [x] Virtual [ ]

Con nota: QUINCE (15) por lo que; Sí [x] No [ ]

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

Siendo las 11:50 horas, del 11 de diciembre del año 2023 se procede con la firma en conformidad de lo dictaminado por el Jurado.

Presidente
Mg. Erik Edwin Allcca Alca
(Nombres y Apellidos)

Primer Miembro
MSC. KARINA EDUARDO PALOMINO
(Nombres y Apellidos)

Segundo Miembro
M.Sc. Lycet María Cáceres Bustinza
(Nombres y Apellidos)

Miembro Accesitario
Msc. Judson Valero Vasquez Rojas
(Nombres y Apellidos)

Asesor Principal
NILS HUAMAN CASTILLA
(Nombres y Apellidos)

Bachiller
Frank Jorge Hervas Nina
(Nombres y Apellidos)

Co-Asesor
(Nombres y Apellidos)

DEDICATORIA

La presente tesis se la dedico a mi familia que gracias a su apoyo pude concluir mi carrera profesional.

A mis madre y hermana por su apoyo y confianza en todo lo necesario para cumplir con mis objetivos como persona y como profesional.

A mi madre por hacer de mí una persona mejor a través de sus consejos, enseñanzas y amor.

A mi Esposa por apoyarme en todo momento, para que pueda darme el tiempo para poder realizarme profesionalmente.

A todo el resto de mi familia y amigos de que una u otra manera me han llenado de sabiduría para terminar mi tesis.

Y muy especialmente a mi hijo, por ser mi angelito que me impulsa todos los días a ser mejor persona y esforzarme para seguir adelante y así cumplir todos los objetivos como familia.

AGRADECIMIENTOS

“Dr.-Ing Nils Leander Huaman Catilla. Sin usted y sus virtudes, su paciencia y constancia este trabajo no lo hubiese logrado tan fácil. Sus consejos fueron siempre útiles cuando no salían de mi pensamiento las ideas para escribir lo que hoy he logrado. Usted formó parte importante de esta historia con sus aportes profesionales que lo caracterizan. Muchas gracias por sus múltiples palabras de aliento, cuando más las necesite; por estar allí cuando mis horas de trabajo se hacían confusas. Gracias por sus orientaciones”

A todos los docentes “Sus palabras fueron sabias, sus conocimientos rigurosos y precisos, a ustedes mis profesores queridos, les debo mis conocimientos. Donde quiera que vaya, los llevaré conmigo en mí transitar profesional. Su semilla de conocimientos, germinó en el alma y el espíritu. Gracias por su paciencia, por compartir sus conocimientos de manera profesional e invaluable, por su dedicación perseverancia y tolerancia.”

A mis padres “Ustedes han sido siempre el motor que impulsa mis sueños y esperanzas, quienes estuvieron siempre a mi lado en los días y noches más difíciles durante mis horas de estudio. Siempre han sido mis mejores guías de vida. Hoy cuando concluyo mis estudios, les dedico a ustedes este logro amado padres, como una meta más conquistada”.

A mi Esposa e Hijo “Gracias a mi pareja por entenderme en todo, gracias porque en todo instante fue un acompañamiento incondicional en mi vida, fue la alegría encajada en solo una persona, fue mi todo reflejado en otra persona a la cual yo amo bastante, y por la cual estoy dispuesto a combatir todo y en todo instante”.

Mis sinceros agradecimientos para mi pareja, jamás podré terminar de agradecerle por tantas ayudas.

RESUMEN

El sur del Perú presenta cultivos importantes de algas rojas. En la última década, las algas se han descrito como una gran fuente de compuestos de alto valor beneficiosos para la salud. Entre ellos, destacan los flavanoles, flavonoles, ácidos fenólicos y florotaninos, esto debido a su capacidad antioxidante superior y sus diversas actividades biológicas, como anticancerígena, antidiabética y antinflamatoria. Por ello, el objetivo de este trabajo fue diseñar evaluar el efecto de mezclas agua-etanol (0, 15 y 30%) a altas temperaturas (90, 120 y 150°C) sobre el contenido de polifenoles y capacidad antioxidante de los extractos obtenidos a partir de algas marinas rojas (*Chondracanthus chamissoi*) en un proceso de extracción por líquidos presurizados. Para tal fin, los extractos obtenidos fueron analizados en su contenido de polifenoles totales, capacidad antioxidante (DPPH y ORAC) y perfil de polifenoles, así como también la mejor condición obtenida fue comparada con un extracto obtenido con acetona (60%) a 30°C.

Los resultados mostraron que los incrementos de temperatura y etanol tienen un efecto positivo en la obtención de extractos con alta capacidad antioxidante. Por ello, las mejores condiciones de proceso fueron establecidas con 150°C y 30% de etanol, esto permitió obtener extractos con alto contenido de polifenoles (1.71 mg EAG/gss) y capacidad antioxidante (IC_{50}: 16.81 mg/mL, ORAC: 121.89 umol ET/gss). El perfil de polifenoles mostro que las altas temperaturas fueron efectivas para recuperar especificas familias de polifenoles, donde las altas concentraciones de etanol (30%) son efectivas para recuperar ácidos fenólicos (34.18 µg/gss) y florotaninos (58.67 µg/gss), mientras las concentraciones intermedias de etanol (15%) recuperaron altas concentraciones de flavanoles (126.74 µg/gss). Contrariamente, el uso de agua pura es más efectivo para recuperar flavonoles (136.45 µg/gss). Por otro lado, la mejor condición de proceso (150°C - 30% de etanol) bajo condiciones subcríticas resulto ser más efectiva obtener extractos polifenólicos en comparación con el uso de acetona bajo condiciones atmosféricas. Finalmente, los resultados obtenidos pueden ser utilizados para un futuro escalamiento industrial y el posible desarrollo de productos nutraceúticos.

Palabras clave: *Chondracanthus chamissoi,* polifenoles, capacidad antioxidante, perfil de polifenoles, líquidos presurizados.

ABSTRACT

Southern Peru has important crops of red algae. In the last decade, algae have been described as a great source of high-value compounds beneficial to health. Among them, flavanols, flavonols, phenolic acids and phlorotannins stand out, due to their superior antioxidant capacity and their various biological activities, such as anticancer, antidiabetic and anti-inflammatory. Therefore, the objective of this work was to design and evaluate the effect of water-ethanol mixtures (0, 15 and 30%) at high temperatures (90, 120 and 150°C) on the polyphenol content and antioxidant capacity of the extracts obtained. from red marine algae (Chondracanthus chamissoi) in a pressurized liquid extraction process. For this purpose, the extracts obtained were analyzed for their total polyphenol content, antioxidant capacity (DPPH and ORAC) and polyphenol profile, as well as the best condition obtained was compared with an extract obtained with acetone (60%) at 30°. c.

The results showed that the increases in temperature and ethanol have a positive effect in obtaining extracts with high antioxidant capacity. Therefore, the best process conditions were established with 150°C and 30% ethanol, this allowed obtaining extracts with a high content of polyphenols (1.71 mg EAG/gss) and antioxidant capacity (IC50: 16.81 mg/mL, ORAC: 121.89 umol ET/dgss). The polyphenol profile showed that high temperatures were effective to recover specific families of polyphenols, where high concentrations of ethanol (30%) are effective to recover phenolic acids (34.18 µg/gss) and phlorotannins (58.67 µg/gss), while intermediate concentrations of ethanol (15%) recovered high concentrations of flavanols (126.74 µg/gss). On the contrary, the use of pure water is more effective to recover flavonols (136.45 µg/gss). On the other hand, the best process condition (150°C - 30% ethanol) under subcritical conditions turned out to be more effective to obtain polyphenolic extracts compared to the use of acetone under atmospheric conditions. Finally, the results obtained can be used for future industrial scaling and the possible development of nutraceutical products.

Keywords: *Chondracanthus chamissoi*, polyphenols, antioxidant capacity, polyphenols profile.

ÍNDICE

DEDICATORIA i
AGRADECIMIENTOS ii
INTRODUCCIÓN 8
I. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA 9
1.1. Descripción y formulación del problema 9
1.2. Objetivos 10
1.2.1. Objetivo general 10
1.2.2. Objetivos específicos 10
1.3. Justificación e importancia 11
1.4. Hipótesis 11
1.4.1. Hipótesis general 11
1.5. Variables 12
II. MARCO TEÓRICO 13
2.1. Antecedentes 13
2.2. Bases teóricas 16
2.2.1. Algas marinas 16
2.2.1.1. Alga roja (Chondracanthus chamissoi) 17
2.2.2. Comercialización mundial 20
2.2.3. Cosecha y Comercialización local (Perú) 21
2.2.4. Características nutricionales 23
2.2.5. Polifenoles 23
2.2.5.1 Polifenoles presentes en algas marinas 25
2.2.6. Usos y perspectivas de los polifenoles como compuestos bioactivos 27
2.2.7. Extracción de polifenoles por diferentes tecnologías 28
III. METODOLOGÍA 33
3.1. Tipo y nivel de investigación 33
3.2. Ámbito temporal y espacial 33
3.3. Muestra 33
3.4. Instrumentos 34
3.4.1. Materiales 34
3.4.2. Equipos 34
3.4.3. Insumos y reactivos 35
3.5. Procedimientos 36
3.5.1. Extracción liquida presurizada 36
3.5.2. Determinación de polifenoles totales 37

3.5.3. Determinación de capacidad antioxidante 37
3.5.3.1. Método DPPH 37
3.5.3.2. Método ORAC 37
3.5.4. Cuantificación del perfil de polifenoles específicos 38
3.6. Análisis de datos 39
IV. RESULTADOS Y DISCUSIONES 40
4.1. Efecto de la composición del solvente y temperatura sobre la recuperación de polifenoles totales y capacidad antioxidante 40
4.1.1. Contenido de polifenoles 40
4.1.2. Capacidad antioxidante 43
4.1.2.1. Método DPPH 43
4.1.2.2. Método ORAC 45
4.2. El efecto del uso de mezclas agua – etanol a altas temperaturas sobre el perfil de polifenoles 46
4.2.1. Ácidos fenólicos 46
4.2.2. Flavanoles 47
4.2.3. Flavonoles 48
4.2.4. Florotaninos 49
4.3. Comparación de los rendimientos obtenidos mediante la ELP y un proceso de extracción convencional atmosférico 52
V. CONCLUSIONES 53
VI. RECOMENDACIONES 54
VII. REFERENCIAS 55
VIII. ANEXOS 69

Índice de tablas

Tabla 1. Variables independientes 12
Tabla 2. Variables dependientes 12
Tabla 3. Relación de algunas algas comestibles y sus aplicaciones alimentarias directas para el consumo humano. 21
Tabla 4. Datos de cosecha (recolección de algas marinas en Perú). 22
Tabla 5. Análisis proximal de algas pardas y rojas 23
Tabla 6. Perfil de polifenoles obtenido en los extractos de algas marinas rojas 27
Tabla 7. Parámetros de proceso para la recuperación de polifenoles por ELP 31
Tabla 8. Esquema del diseño experimental 39
Tabla 9. Contenido de polifenoles presente en los extractos de algas rojas 40
Tabla 10. Capacidad antioxidante por DPPH en los extractos de algas rojas 43
Tabla 11. Capacidad antioxidante por ORAC en los extractos de algas rojas 45
Tabla 12. Perfil de polifenoles obtenido en los extractos de algas marinas rojas 51
Tabla 13. Comparativo entre el uso de etanol versus el uso de acetona 52

Índice de figuras

Figura 1. Representación esquemática de macroalgas presentes en el ecosistema marino 17
Figura 2. Zona de distribución de Chondracanthus chamissoi 18
Figura 3. Características morfológicas de Chondracanthus chamissoi. 19
Figura 4. Producción anual mundial de algas a través de recolección de poblaciones silvestres y acuicultura. Producción en términos de tonelaje y precio en dólares. 20
Figura 5. Contenido total de polifenoles presentes en algas rojas y pardas 24
Figura 6. Clasificación de compuestos fenólicos 25
Figura 7. Florotaninos presentes en algas marinas. A: monómero de floroglucinol; B: dimero de Floroglucinol; C: trímero de floroglucinol 26
Figura 8. Esquema del sistema de extracción liquido presurizado 30
Figura 9. Esquema del proceso de extracción 36
Figura 10. Grupos funcionales del etanol capaces de interactuar con los polifenoles 42
Figura 11. Efecto de los parámetros de proceso sobre el contenido de ácidos fenólicos. 47
Figura 12. Efecto de los parámetros de proceso sobre el contenido de flavanoles 48
Figura 13. Efecto de los parámetros de proceso sobre el contenido de flavonoles 49
Figura 14. Efecto de los parámetros de proceso sobre el contenido de florotaninos 50

INTRODUCCIÓN

Las algas, o macroalgas marinas, son una de las biomasas renovables más grandes del mundo. El cultivo y recolección mundial de algas crece continuamente y representa 35,8 millones toneladas en 2022. La mayor parte de la producción depende de la acuicultura, cuyo valor de venta el año 2022 alcanzó los 14,4 mil millones de dólares en 2019. El cultivo de macroalgas se basa principalmente en algas rojas y pardas, que representan el 52,6% y el 47,3% de la producción mundial, los cuales son usados como alimentos de consumo directo (ensaladas, sopa y sushi), así como también son materia prima para la obtención de alginatos y carragenanos. No obstante, diversos trabajos han mencionado que las algas marinas son una fuente natural de polifenoles, cuyas propiedades bioactivas han despertado el interés de la industria farmacéutica para el tratamiento de enfermedades degenerativas.

La extracción de polifenoles es posible mediante métodos de extracción convencionales o liquido-solido bajo condiciones atmosféricas. Sin embargo, estos se caracterizan por emplear grandes volúmenes de solvente y largos periodos de tiempo de proceso (> 6 h), los cuales no solo reducen los rendimientos, sino también promueven la hidrolisis y oxidación de estos compuestos. Frente a este escenario, el uso de líquidos presurizados se ha mostrado como una tecnología alternativa que ha superado ampliamente los rendimientos en la obtención de polifenoles en comparación con los métodos convencionales. Además, si a este factor le agregamos el uso de solventes de grado alimentario como el etanol mejoraría considerablemente la obtención de extractos polifenólicos con alta capacidad antioxidante. No obstante, los parámetros de proceso óptimos para la extracción de este tipo de metabolitos presente en algas marinas rojas son aún una tarea pendiente por resolver.

I. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1. Descripción y formulación del problema

Perú entre los años 2015 y 2020 ha incrementado sus exportaciones de algas marinas a los mercados internacionales en ~216% (ADEX, 2022). En particular, durante este periodo la exportación de algas marinas rojas (*Chondracanthus chamissoi*) ha crecido considerablemente en ~140%, siendo los principales mercados de destino países como China, Canadá y EEUU, cuyos montos alcanzan los US$ 5'324,000 (ADEX, 2020). El interés del mercado internacional por esta materia prima se debe a sus importantes concentraciones de carbohidratos (<60%), proteínas (17-44%) y lípidos (<4,5%), de los cuales sus componentes específicos tales como carrageninas, aminoácidos y ácidos grasos insaturados son los más importantes (Carpena et al., 2021). Sin embargo, el precio de venta al mercado internacional realizado por las empresas manufactureras cuando el alga es secada (humedad < 15%) puede alcanzar el precio de S/. 800 por TM, el cual difiere considerablemente del precio que estas empresas pagan a los pescadores artesanales o pequeñas asociaciones por el alga fresca (Humedad > 75%) cuyo valor alcanza entre S/. 90 y S/. 110 por TM (Lecaro-Zambrano, 2021). Entonces, es importante realizar estudios de caracterización e identificar nuevos componentes específicos en las algas marinas que permitan incrementar su valor agregado, con la finalidad de establecer alternativas tecnológicas que permitan incrementar el valor referencial de las algas y mejorar la economía de las familias relacionadas con este rubro.

En general, las algas rojas son comercializadas por su alto contenido de carragenanos, el cual puede representar hasta el 25% de su peso seco (Reddy et al., 2018), cuyo precio puede variar entre 2 y 15 dólares por kilogramo según el grado de pureza (Alibaba, 2022). No obstante, la extracción y purificación de estos compuestos implica el uso de grandes volúmenes de ácidos orgánicos y bases, así como prolongados tiempos de proceso, los cuales finalmente pueden ocasionar graves problemas de gestión ambiental (Firdayanti et al., 2023). Sin embargo, estas algas presentan concentraciones importantes de polifenoles (florotaninos), cuyas propiedades bioactivas y nutraceúticas han sido relacionadas para el tratamiento de enfermedades relacionadas con el estrés oxidativo han despertado el interés de la industria farmacéutica (Vilcanqui et al., 2021). Además, el precio de estos compuestos es económicamente atractivo y superior al costo de las carrageninas. Por ejemplo, los precios de polifenoles específicos como la quercetina (≥95 %), resveratrol (≥99 %) y epigalocatequina (≥98 %) es de $1200, $1600 y $33 000 por gramo, respectivamente (Alibaba, 2022). Por ello, el desarrollo de tecnologías sostenibles para la extracción óptima de estos compuestos es aún una tarea pendiente por resolver.

Diferentes métodos de extracción bajo condiciones atmosféricas han sido desarrollados con la finalidad de recuperar polifenoles de diferentes matrices vegetales (Guido & Moreira, 2017). Sin embargo, estos métodos están asociados con el consumo excesivo de tiempo y energía, así como el uso de solventes tóxicos no amigables con el medio ambiente (acetona, metanol, hexano) los cuales limitan su producción a gran escala debido a que los extractos obtenidos no pueden ser considerados de grado alimentario (Fontana et al., 2013; Lama-Muñoz et al., 2019). Frente a este escenario, la extracción por líquidos presurizados (PLE) que es un proceso que opera a altas presiones (~10 atm) y altas temperaturas (90 – 250°C), el cual combinado con solventes de grado alimentario (etanol, glicerol, agua pura) reducen ampliamente los tiempos de proceso y superan los rendimientos en comparación con la extracción atmosférica (Ameer et al., 2017; Putnik et al., 2017). Si bien existen trabajos en ELP que reportan parámetros óptimos de proceso (temperatura y concentración de etanol) para recuperar polifenoles a partir de frutas y hortalizas, estos resultados no pueden ser extrapolados a la recuperación de polifenoles de algas marinas. Esto debido a que estas especies presentan una composición y distribución muy distinta de sus componentes en comparación con las demás especies vegetales. Por ello, es necesario establecer parámetros de proceso que permitan la eficiente extracción de polifenoles presentes en las algas marinas rojas.

1.2. Objetivos

1.2.1. Objetivo general

Evaluar el efecto del uso de mezclas agua-etanol sobre la recuperación de polifenoles presentes en algas marinas rojas (*Chondracanthus chamissoi*) mediante un proceso de extracción por líquidos presurizados (ELP).

1.2.2. Objetivos específicos

Evaluar el efecto de mezclas agua – etanol (0, 15 y 30%) a altas temperaturas (90, 120 y 150°C) sobre la recuperación de polifenoles totales, capacidad antioxidante (DPPH y ORAC) partir de alga marina roja (*Chondracanthus chamissoi*) mediante un proceso de ELP.

Evaluar el efecto de mezclas agua – etanol (0, 15 y 30%) a altas temperaturas (90, 120 y 150°C) sobre el perfil de polifenoles a partir de alga marina roja (*Chondracanthus chamissoi*) mediante un proceso de ELP.

Comparar los rendimientos obtenidos mediante la ELP y un proceso de extracción convencional atmosférico (acetona. 60%) a partir de alga marina roja (*Chondracanthus chamissoi*) mediante un proceso de ELP.

1.3. Justificación e importancia

El presente proyecto se enmarca dentro de las líneas de investigación de la Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial de la Universidad Nacional de Moquegua (UNAM), cuyo rubro es la aplicación de Ciencia para desarrollo de procesos tecnológicos limpios los cuales permitan el aprovechamiento de especies marinas como las algas rojas con la finalidad de recuperar compuestos específicos que permitan dar valor agregado a las especies antes mencionadas.

Si bien diversos trabajos de investigación han demostrado que las algas marinas son fuentes de alginatos, carrageninas y proteínas; son finalmente los polifenoles los compuestos de mayor interés para la industria farmacéutica y alimentaria debido a sus propiedades nutraceúticas y bioactivas (Huamán-Castilla et al., 2017), consecuentemente su recuperación permitirá una nueva alternativa de negocio que finalmente beneficie a las familias dedicadas a su recolección.

El uso de métodos alternativos como la extracción con líquidos presurizados combinado con el uso de solventes de grado alimentario (etanol) no solo permitirá mejorar los rendimientos en la recuperación de polifenoles (Erpel et al., 2021), sino también permitirá evitar el uso de solventes tóxicos como el metanol, acetona y hexano (Cvjetko Bubalo et al., 2015; Soquetta et al., 2018). Adicionalmente, los costos de proceso se verán significativamente reducidos para un futuro escalamiento industrial.

1.4. Hipótesis

1.4.1. Hipótesis general

Es posible mejorar la recuperación de los polifenoles presentes en algas marinas rojas (*Chondracanthus chamissoi*) mediante un proceso de ELP combinado con el uso de mezclas agua-etanol y altas temperaturas.

1.5. Variables

Tabla 1. Variables independientes

Variables independientes	Indicador
Tecnología alternativa de extracción	ELP
Solvente (v/v)	Agua pura Etanol 15% Etanol 30%
Temperatura (°C)	90 120 150

Tabla 2. Variables dependientes

Variables dependientes	Unidad
Polifenoles totales	mg equivalente a ácido gálico/ g de sólido seco
Capacidad antioxidante	
DPPH	mg/mL
ORAC	µmol equivalente a trolox/g sólido seco
Perfil de polifenoles	µg polifenol específico/ g sólido seco

II. MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes

Vilcanqui et al. (2021) caracterizaron químicamente dos especies de algas peruanas pardas (Macrocystis pyrifera) y rojas (Chondracanthus chamissoi). Ambas especies contenían cantidades significativas de proteínas (5–12 %), lípidos (0,16–0,74 %), carbohidratos (43,29–62,65 %) y minerales (1300–1800 mg/g). Cuyos perfiles de aminoácidos, ácidos grasos y minerales dependían en gran medida del tipo de especie. En ese sentido, C. chamissoi presentó 170% y 45% más contenido de aminoácidos esenciales y minerales comparado con M. pyrifera. Además, ambas especies presentaron concentraciones significativas de polifenoles totales (39–59 mg GAE/g) y una alta capacidad antioxidante (67–98 μM TE/g). Si bien ambas especies parecen ser excelentes materias primas para la industria alimentaria y nutracéutica, aún no se ha establecido estrategias para la recuperación de sus compuestos bioactivos que permitan darle un nuevo valor agregado a este tipo de especie marina.

Huamán-Castilla et al. (2019) reportaron que la estructura química del polifenol y la polaridad del solvente juegan un papel importante durante el proceso ELP, debido a que diferentes familias de polifenoles según su estructura química presentan una diferente afinidad por una concentración determinada de etanol en la ELP. Sin embargo, a altas temperaturas (150°C) el uso de altas concentraciones de etanol (>50%) afecta significativamente la recuperación de ácidos fenólicos presentes en orujo de uva, mientras que los flavonoles presentaron altos rendimientos a altas concentraciones de etanol. Por ello, al momento de estudiar otras fuentes de polifenoles como las algas es importante relacionar la importancia del rol de la polaridad del solvente, temperatura y definir las diferentes estructuras de sus polifenoles, con la finalidad de encontrar las condiciones óptimas de proceso.

Tierney et al. (2013) compararon las eficiencias de la extracción líquida presurizada (ELP) y una extracción sólido-líquido tradicional (SLE) en la extracción de polifenoles de las macroalgas irlandesas *Ascophyllum nodosum*, *Pelvetia canaliculata, Fucus espiralis y Ulva intestinalis.* PLE fue más eficaz para extraer polifenoles con etanol/agua (80:20), el SLE dio como resultado un mayor contenido fenólico en los extractos de macroalgas marrones. Por ejemplo, los extractos de agua y etanol/agua de *Fucus espiralis* SLE mostraron contenidos fenólicos totales (TPC) de 130,58 ± 2,78 y 142,81 ± 1,77 μg de equivalentes de floroglucinol (PGE)/ mg muestra, respectivamente, en comparación con TPC de 90,79 ± 1,16 y 124. ± 6,54 μgPGE/ mg muestra para los extractos

PLE correspondientes. Todos los extractos acuosos etanólicos de macroalgas de SLE poseían mayores capacidades de eliminación de radicales DPPH (RSA) y poder antioxidante reductor férrico (FRAP) que sus equivalentes de PLE. Este estudio indica que la aplicación de altas temperaturas de extracción (50–200 °C) y presiones (500–3000 psi) utilizadas en PLE no mejora las actividades antioxidantes de los extractos de macroalgas en relación con la extracción de SLE. La capacidad de producir extractos antioxidantes de macroalgas aptos para los alimentos utilizando SLE podría representar reducciones significativas de costos a escala industrial, mejorando aún más el potencial de los polifenoles de macroalgas para usarse en preparaciones de alimentos funcionales.

Bover et al. (2016) el objetivo del estudio fue optimizar variables que afectan la extracción de polifenoles, entre ellas la cantidad de algas, el tipo de disolvente y el tiempo y temperatura de extracción. Posteriormente, determinaron el contenido fenólico total (TPC) y la actividad antioxidante. La condición optimizada se obtuvo para 6 gramos de alga, proporción etanol:agua de 60:40 y 2 h/60 ºC, logrando 548,33 mg AG/100 g de alga y 76% de actividad antioxidante. La caracterización de los polifenoles extraídos se realizó mediante HPLC/DAD. En el extracto se identificaron 11 polifenoles: floroglucinol, ácido gálico, catequina, rutina, ácido gentísico, ácido clorogénico, ácido cafeico, cumárico, ferúlico, miricetina y quercetina.

Otero et al. (2018) estudiaron el contenido de ácidos grasos y compuestos fenólicos del alga parda Laminaria ochroleuca (*L. ochroleuca*) mediante la técnica de extracción de líquidos presurizados (PLE). Se aplicaron cuatro disolventes de diferente polaridad (hexano, acetato de etilo, etanol y etanol:agua 1:1). El acetato de etilo y el etanol enriquecen ácidos grasos insaturados (palmitoleico, linolénico, linoleico, oleico, araquidónico) en la fracción lipídica de *L. ochroleuca*, aportando extractos hasta un 55% de su contenido total de ácidos grasos en comparación con otros disolventes. Por otro lado, los resultados para compuestos fenólicos mostraron que el mayor rendimiento (52%), se obtuvo con el disolvente etanol:agua. En donde se analizó la capacidad antioxidante de los extractos de alga en términos de contenido de fenoles totales (TPC) mediante el método de Folin-Ciocalteu. Los extractos etanol: agua mostraron el mayor TPC con una concentración de hasta 173,65 mg eq. ácido gálico / g de extracto.

Ariffin et al., (2015) el objetivo de este estudio fue evaluar los valores del contenido fenólico total (TPC) y las actividades antioxidantes en las algas rojas *Kappaphycus alvarezii* y *Kappaphycus striatum* con diferentes concentraciones de solventes. El contenido fenólico total (TPC) y las actividades antioxidantes (ensayo de eliminación de DPPH y ensayo de capacidad antioxidante equivalente de Trolox, TEAC) para los extractos

de *K. alvarezii* y *K. striatum* se determinaron utilizando diferentes disolventes en diferentes concentraciones (etanol: 50%, 70%, 100 %; acetona: 50%, 70%, 100%; metanol: 50%, 70%, 100%). El valor de TPC se midió mediante el método de Folin-Ciocalteu. Las actividades antioxidantes se midieron mediante el ensayo de eliminación de radicales libres 2, 2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) y el ensayo de capacidad antioxidante equivalente Trolox (TEAC). El valor más alto de TPC del extracto antioxidante de *K. alvarezii* se obtuvo con extractos de etanol al 50%, mientras que para *K. striatum* se obtuvo con extracto de metanol al 50%. Los valores de TPC y las actividades antioxidantes de todos los extractos solventes de *K. striatum* fueron significativamente más altos ($p<0,05$) que los extractos antioxidantes de *K. alvarezii*. En resumen, *K. striatum* mostró una mejor actividad antioxidante y un valor de TPC más alto que *K. alvarezii.*

Erpel et al. (2021). Estudiaron la recuperacion de polifenoles (florotaninos) de algas pardas del sur de Chile. Se evaluó por primera vez el uso de un proceso de extracción de líquida presurizada (ELP) a base de glicerol (15 % v/v de agua con glicerol) a 150°C. Se analizaron múltiples efectos, incluyendo el efecto de la especie, zona de cosecha (Las Cruces y Niebla), y parte anatómica (mordaza, estípite y fronda) sobre el contenido de polifenoles (TPC) y capacidad antioxidante (AC). La parte anatómica utilizada demostró un impacto significativo en el TPC y AC de los extractos, siendo las mordazas las que presentaron los valores más altos (TPC: 95 ± 24 mg/g; DPPH: 400 ± 140 µmol equivalentes Trolox/g; ORAC : 560 ± 130 µmol TE/g). Aunque no se detectó HMF. Por lo tanto, se sugiere utilizar otros tipos de solventes alternativos amigables con el medio ambiente que permita un escalamiento a futuro de los polifenoles presentes en algas marinas.

Fu et al. (2016) evaluaron el efecto de las condiciones de extracción tales como concentración de etanol (0, 25, 50, 75 y 100 %), relación sólido-solvente (1:10, 1:15, 1:20, 1:25 y 1:30, p/v), temperatura de extracción (25, 35, 45, 55 y 65°C) y tiempo de extracción (1, 2, 3, 4 y 5 h) en la extracción de compuestos antioxidantes y capacidades de cuatro especies de algas marinas (Sargassum polycystum, Eucheuma denticulatum, Kappaphycus alvarezzi variance Buaya y Kappaphycus alvarezzi variance Giant) de Sabah. Para tal fin, el contenido fenólico total (TPC), contenido total de flavonoides (TFC), asi como ensayos de capacidad antioxidante ABTS y DPPH. Los resultados mostraron que los parámetros de extracción tuvieron un efecto significativo positivo ($p <0,05$) sobre los compuestos antioxidantes y de las algas. Sin embargo, Sargassum polycystum presentó la mayor cantidad de compuestos antioxidantes (37,41 ± 0,01 mg GAE/g y 4,54 ± 0,02 mg CE/g) y capacidades (2,00 ± 0,01 µmol TEAC/g y 0,84 ± 0,01 µmol TEAC/g) comparado con las cuatro especies de algas.

Pacheco et al. (2020) exploraron el potencial de seis algas marinas chilenas para obtener extractos de polifenoles antihiperglucémicos, basándose en su capacidad para inhibir enzimas relacionadas con la digestión del almidón. Ellos compararon la extracción líquida presurizada con etanol/agua (ELP) con la extracción convencional con acetona. Se analizaron los polifenoles totales (TP), la actividad antioxidante, la citotoxicidad y la capacidad de inhibición de la α-glucosidasa y la α-amilasa. Los resultados mostraron que la ELP mejora los rendimientos en la recuperacion de compuestos bioactivos en comparacion con el metodo convencional. El extracto de Durvillaea antarctica (cochayuyo) tenía el mayor contenido de TP (6,7 ± 0,7 mg de equivalentes de ácido gálico/g de alga seca) y la mayor actividad antioxidante (680,1 ± 11,6 μmol E Trolox/g de algas secas). Estos extractos presentaron capacidad antienzimática relevante sobre ambas enzimas estudiadas (amilasa y glucosidasa). En conclusión, de todas las algas chilenas consideradas en este estudio, cochayuyo es la más adecuada para desarrollar ingredientes funcionales y tambien sirve para moderar la respuesta glucémica posprandial.

Puspita et al. (2017) estudiaron el efecto de diferentes enzimas sobre el contenido de compuestos antioxidantes presentes en alga parda Sargassum muticum (Yendo) Fensholt (Ochrophyta). Para cada extracto se realizó una evaluación del contenido de polifenoles y las actividades antioxidante, tirosinasa, elastasa e inhibición de 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH), así como una evaluación de la citotoxicidad. Adicionalmente, ee midió el contenido fenólico total para la caracterización del extracto y la extracción en fase sólida fue útil para purificar el extracto enzimático. Los extractos enzimáticos de Celluclast y Viscozyme tuvieron el valor más bajo de DPPH (IC_{50}), lo que indica una fuerte actividad antirradical, en comparación con otras enzimas. La actividad de inhibición de la tirosinasa del extracto de S. muticum Neutrase fue un 41,3% mayor en comparación con otras enzimas. La actividad de inhibición de la elastasa del extracto de S. muticum Shearzyme tuvo la mayor actividad (32,8%). Ninguno de los extractos enzimáticos mostró efecto citotóxico. Estos resultados indican el potencial prometedor de la extracción asistida por enzimas para recuperar el contenido fenólico y mejorar su bioactividad.

2.2. Bases teóricas

2.2.1. Algas marinas

Las algas marinas son especies que habitan los ecosistemas marinos y son consideradas el grupo más importante fotosintetizador debido a que cumplen un rol preponderante en la cadena trófica como productores primarios (Rodríguez et al., 2018). Taxonómicamente se clasifican en tres grandes grupos tales como Chlorophyta o clorofitas,

Phaeophyta o feófitas y Rhodophyta o rodófitas, que corresponden a algas verdes, pardas y rojas respectivamente (Figura 1) (Quitral et al., 2012).

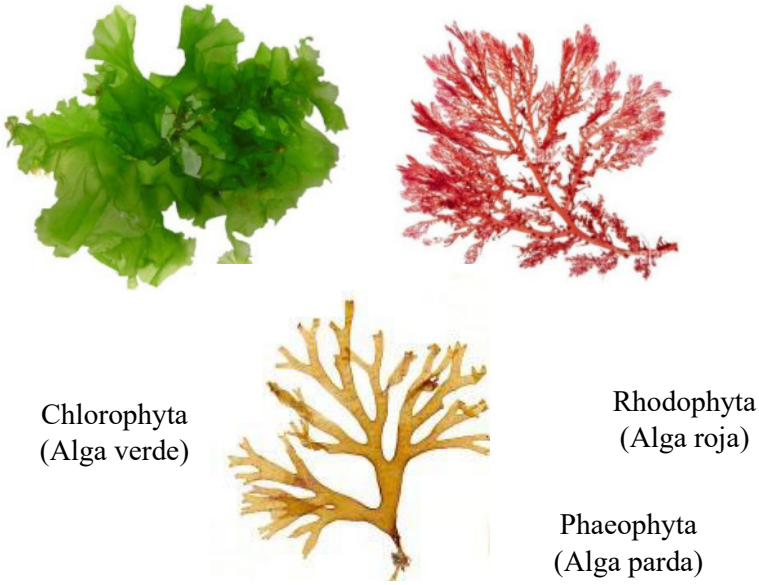


Figura 1. Representación esquemática de macroalgas presentes en el ecosistema marino

Adaptado de Erpel (2022)

Las algas pardas o Phaeophyta presentan una pigmentación de color amarillo pardo a pardo oscuro; dentro de este grupo de algas, las más conocidas en nuestro país son Macrocystis pyrifera (huiro), Lessonia nigrescens (huiro negro), Durvillaea antarctica (cochayuyo). Mientras, las algas rojas o Rhodophyta son el segundo grupo más grande de algas, cuyas especies más conocidas son Gracilaria (pelillo), Porphyra (luche) y Chondrus crispus (liquén). Finalmente, las algas verdes o Chlorophyta tienen menor presencia que las algas pardas y rojas, cuya pigmentación varía desde amarillo verdoso hasta verde oscuro, cuya especie más popular es conocida como Ulva lactuca conocido como ulte o lechuga de mar (Quitral et al., 2012; Rodríguez et al., 2018).

2.2.1.1. Alga roja (Chondracanthus chamissoi)

Esta alga roja comestible se distribuye a lo largo de la costa del Pacífico de América del Sur en aquellas zonas intermareales bajas (15 m de profundidad), la cual esta adherida a sustratos rocosos y calcáreos mediante un disco basal (Arbaiza et al., 2023). A la fecha se han identificado tres formas de este tipo de alga tales como *f. chauvini, f. lecciones, y f. glomerato*. Sin embargo, actualmente todos ellos son reconocidos como *C. chamissoi* (Atoche-Suclupe et al., 2023), cuya clasificación taxonómica se describe a continuación:

Dominio: Eukaryota

Clase: Florideophyceae

Subclase: Rhodymeniophycidae

Orden: Gigartinales

Familia: Gigartinaceae

Género: Chondracanthus

Especie: Chondracanthus chamissoi

Fuente: Carbajal et al. (2005)

La distribución de C. chamissoi en Sudamérica abarca las costas de Perú y Chile (desde 5°S hasta 42°S) (Figura 2).

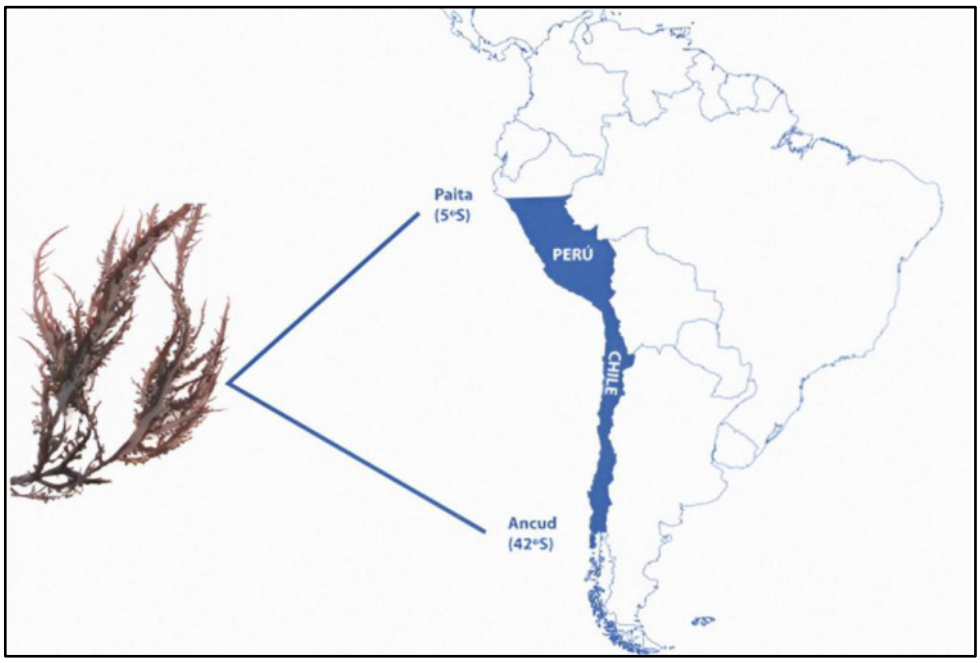


Figura 2. Zona de distribución de *Chondracanthus chamissoi*

Adaptado de Macchiavello et al. (2012)

Si bien existen tres eco tipos de *Chondracanthus chamissoi*, es posible distinguir algunos caracteres morfológicos que diferencia a esta especie particular de algas de otro tipo algas marinas:

.

- **Talo**: Es laminar, carnoso y compuesto por células que contienen pigmentos fotosintéticos. Esta estructura se caracteriza por su textura gelatinosa y su coloración que varía entre el rojo y el púrpura, dependiendo de factores ambientales y estacionales. El talo está constituido por un pequeño disco basal de fijación el cual puede llegar a medir 3 mm de diámetro, donde emergen uno o varios estípites cilíndricos que van aplanándose hacia el ápice, éstos son agudos (Uribe et al., 2018).

- **Ramificaciones:** Presentan uno o varios ejes principales aplanados, que pueden alcanzar hasta 50 cm y de los cuales emergen varios tipos de ramificaciones. Estos tipos de ramificaciones pueden ser ramas laterales, de forma semejante al eje principal y cuyos extremos se denominan ápices; pínulas, son ramas muy pequeñas donde se forman los cistocarpos y se encuentran en los márgenes del eje principal o ramas laterales; y ramas basales, son cilíndricas y orientadas hacia el sustrato (Figura 3) (Otaíza & Cáceres, 2015).

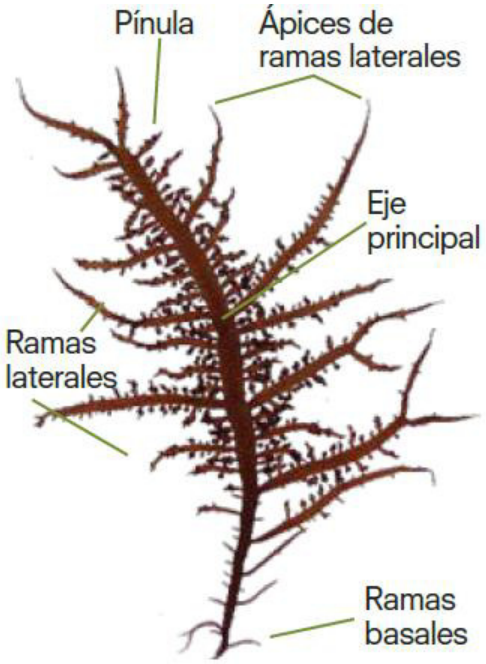


Figura 3. Características morfológicas de *Chondracanthus chamissoi.*

Fuente: Otaíza & Cáceres (2015)

2.2.2. Comercialización mundial

Las algas, o macroalgas marinas, son uno de los mayores recursos de biomasa renovable del mundo. Se estima que la cosecha mundial de algas alcanzo los 35,8 millones de toneladas en 2022 (Figura 4). La mayor parte de la producción depende de la acuicultura, que representa el 97% de la producción total, cuyo valor estimado en venta alcanza los $. 14, 400 millones dólares (FAO, 2022). La producción de algas marinas está liderada por Asia, que contribuyó al 97,4 % de la producción mundial en 2022 (99,1 % acuicultura). En cambio, la producción europea y americana representa una pequeña proporción del total mundial (0,8% y 1,4% en 2022) y se basa principalmente en la recolección silvestre (FAO, 2022).

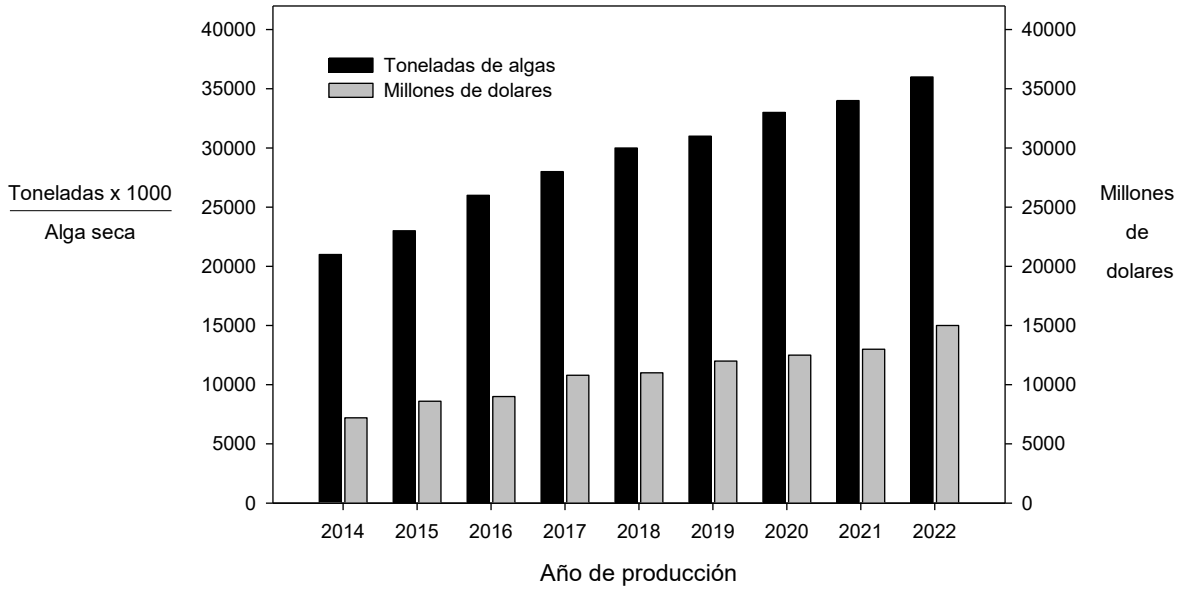


Figura 4. Producción anual mundial de algas a través de recolección de poblaciones silvestres y acuicultura. Producción en términos de tonelaje y precio en dólares.

Adaptado de FAO (2022).

El cultivo de macroalgas se basa en gran medida en las algas rojas y pardas, las cuales han representado el 52,6 % y el 47,3 % de la producción mundial en 2022; mientras la producción de algas verdes representó el 0,05% en el mismo año. La mayoría de las algas marinas producidas para consumo directo y para extraer metabolitos primarios de interés tales como alginatos y carragenanos (Tabla 3) (Sultana et al., 2023).

La mayor parte de la biomasa (60-100% de todas las exportaciones de C. chamissoi) se destina a la extracción de carragenanos, polisacáridos con múltiples

aplicaciones en la formulación de diversos alimentos debido a sus propiedades aglutinantes, emulsionantes y espesantes. El resto de la biomasa exportada (como máximo el 40%) se destina principalmente a China, Japón y Taiwán, donde se utiliza tradicionalmente en sopas y ensaladas (Sultana et al., 2023). Gracias a su uso como alimento humano y para la industria de hidrocoloides, muchas comunidades costeras peruanas (es decir, recolectores y buzos artesanales) dependen de C. chamissoi para su sustento económico.

Tabla 3. Relación de algunas algas comestibles y sus aplicaciones alimentarias directas para el consumo humano.

Especies de algas	Aplicación alimentaria
Rhodophyta (Alga roja)	
Porphyra spp.	Ensalada, sopas, sushi, curri, snacks
Gracilaria spp.	Ensalada
Kappaphycus sp., Eucheuma sp.	Ensalada
Palmaria palmata	Ensalada
Condrus crispus	Ensalada
Phaeophyceae (Alga parda)	
Laminaria sp./*Saccharin* sp.	ingredientes de sopa, harina, curri
Undaria pinnatifida	Ensalada, fideos, bocadillos, sopa
Himanthalia elongata	Ensalada
Sargassum spp.	Ensalada
Chlorophyta (Alga verde)	
Caulerpa spp*, Caulerpa racemosa*	Ensalada fresca y frita
Ulva lactuca, Ulva rigida	Ensalada fresca y frita
Cladophora spp.	Ensalada fresca y frita

Adaptado de Sultana et al. (2023)

2.2.3. Cosecha y Comercialización local (Perú)

La extracción de algas pardas y rojas se desarrolla en todo el litoral peruano, cuya actividad representa una fuente importante de ingresos económicos a las familias dedicadas a este rubro (G.S.I., 2018). En particular, las algas rojas son las especies de mayor extracción debido a sus importantes características nutricionales y bioactivas.

La Tabla 4, muestra los niveles de cosecha de algas peruanas en toneladas, el cual representa a todo el litoral costero (IMARPE, 2019). Si bien el litoral costero de Ilo representa los niveles de extracción más bajos, a la fecha existen 3 asociaciones

conformadas por 80 familias cada una, cuya actividad en algunos casos representaría su única fuente de ingresos. Por otro lado, en el litoral costero de Ilo existen 3 principales compradores de estas algas tales como Globe Seaweed International S.A.C., Algas Arequipa E.I.R.L. y Algas Multiexport del Perú S.A.C., cuyas actividades están relacionadas a la compra, procesamiento (secado de las algas y empacado) y venta de estas especies (IMARPE. 2019).

Tabla 4. Datos de cosecha (recolección de algas marinas en Perú).

Región/año	Puerto	2015	2016	2017	2018	2019
Total (TM)		**4999,51**	**3434,47**	**10786,26**	**13779,45**	**5676,75**
Áncash	Chimbote			2,31	0,94	60,14
	Dorado			0,05	0,05	204,22
	Huarmey			0,01	0,01	0,01
	La Gramita			0,04	0,04	0,04
Total				2,40	1,03	264,41
Arequipa	Ático			98,19	435,50	
	La Planchada			37,50	66,40	
	Matarani			1299,32	798,67	1304,56
	Mollendo	3311,22	2431,02	7828,75	10094,57	3512,21
	Quilca			18,00	168,00	4,00
Total		3311,22	2431,02	9281,76	11563,14	4820,77
Ica	El Chaco			0,54		
	Laguna Grande	35,65	45,85	41,27		
	Otros				125,00	
	Pisco	697,92	503,01	634,12	1698,82	521,45
	San Juan	402,94	26,05	749,99	348,40	
Total		1136,51	574,91	1425,91	2172,22	
La Libertad	Huanchaco		139,43	35,79	25,05	39,46
	Malabrigo					1,31
	Otros	33,26		0,36		
	Pacasmayo	375,06	107,36	21,34	16,44	29,36
	Salaverry					
Total		408,32	246,79	57,48	41,49	70,13
Lambayeque	Otros				1,57	
Total					1,57	
Lima	Ancón	28,52	23,39	18,71		
	Callao	1,19				
Total		29,71	23,39	18,71		
Moquegua	Ilo				113,75	158,38
Total					113,75	158,38

IMARPE (2019)

2.2.4. Características nutricionales

La composición química de las algas marinas depende del tipo de especie, lugar de cultivo o cosecha, condiciones ambientales y periodo de recolección (Vilcanqui et al., 2021). Por ello, desde un punto de vista nutricional, las algas son muy interesantes por su alto contenido en fibra alimentaria (33-50% peso seco), por ser una fuente importante de proteínas (pardas 5-24%; rojas y verdes 10-47%), minerales (8-40%), y por su bajo contenido lipídico (1-2%) rico en ácidos grasos insaturados (Rasyid, 2017).

Si bien existen dos tipos de algas marinas (pardas y rojas) presentes en el litoral peruano, son finalmente las algas rojas (Chondracanthus chamissoi) las que presentan ~2 y ~1.5 veces más contenido de proteínas y carbohidratos comparado con las algas pardas (Macrocystis pyrifera) (Vilcanqui et al., 2021) (Tabla 5).

Tabla 5. Análisis proximal de algas pardas y rojas

Descripción	CHC		MP	
	Promedio	CV	Promedio	CV
Humedad %	11.69a	0.04	6.37b	0.05
Proteína %	12.16a	0.05	5.86b	0.04
Grasa %	0.16b	0.09	0.74a	0.08
Ceniza %	13.34b	0.03	43.74a	0.02
Carbohidratos %	62.65a	0	43.29b	0.02

MP: Macrocystis pyrifera. CHC: Chondracanthus chamissoi. Los resultados están expresados como g por 100 g de peso seco; CV: coeficiente de variación. Diferentes letras en la misma fila indican diferencias significativas ($p < 0.05$).

Adaptado de Vilcanqui et al. (2021)

2.2.5. Polifenoles

Los polifenoles son metabolitos secundarios, que presentan un anillo aromático con uno o más grupos hidroxilo en su estructura química (Yu & Ahmedna, 2013). Estos compuestos presentan un peso molecular relativamente alto (200 Da - 3500 kDa) y una compleja estructura química que puede variar de simples monómeros a complejos polímeros (Huaman-Castilla et al., 2017)(Obreque-Slier et al., 2011).

En general en las algas marinas presentan importantes concentraciones de polifenoles (entre 10 – 25 mg EAG/g) (Choudhary et al., 2021; Gómez-Guzmán et al., 2018; Lafarga et al., 2020). Si bien en un proceso de extracción convencional se observó que la especie Macrocystis pyrifera (alga parda) presentó ~51% más contenido de polifenoles totales con alta capacidad antioxidante (ORAC: 98 μM ET/g) en comparación con la especie Chondracanthus chamissoi (Figura 5). Es importante resaltar que la especie

Chondracanthus presenta hasta ~9 veces más contenido de polifenoles en comparación con las algas rojas y pardas chilenas. No obstante, existen otros factores externos como temperatura, intensidad de luz, salinidad, composición química de nutrientes que puede afectar el contenido de polifenoles (Pacheco et al., 2020).

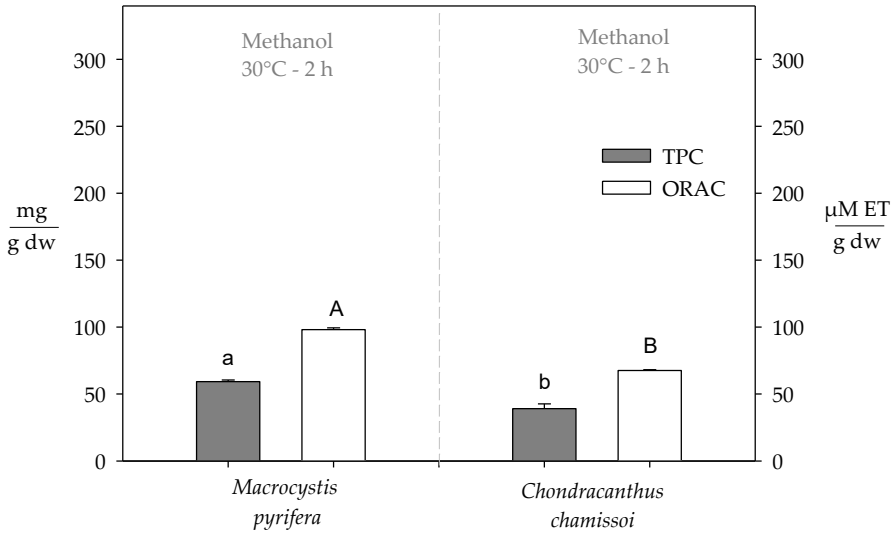


Figura 5. Contenido total de polifenoles presentes en algas rojas y pardas (Vilcanqui et al., 2021)

Los compuestos fenólicos presentes en diferentes matrices vegetales pueden ser clasificados en dos grupos principales tales como no flavonoides y flavonoides (Figura 6). En general, los compuestos no flavonoides son conocidos como ácidos fenoles (ácido benzoico y ácido cinámico), mientras que los compuestos flavonoides son de estructuras más complejas (flavonas, antocianos y taninos) (Huamán-Castilla et al., 2017).

Los polifenoles son sustancias sólidas cristalizadas de color blanco o amarillento, cuyos heterósidos son solubles en agua caliente, alcohol y disolventes orgánicos polares, siendo insolubles en los apolares. Sin embargo, cuando están en estado libre, son poco solubles en agua, pero son solubles en disolventes orgánicos más o menos oxigenados tales como etanol, metanol y acetona (Dai & Mumper, 2010). Sin embargo, estos compuestos son fácilmente oxidables y, por tanto, tienen efecto antioxidante. Esto debido a su habilidad para donar protones con la finalidad de reducir los radicales libres presentes en nuestro sistemas biológico (Antognoni et al., 2021; Dai & Mumper, 2010).

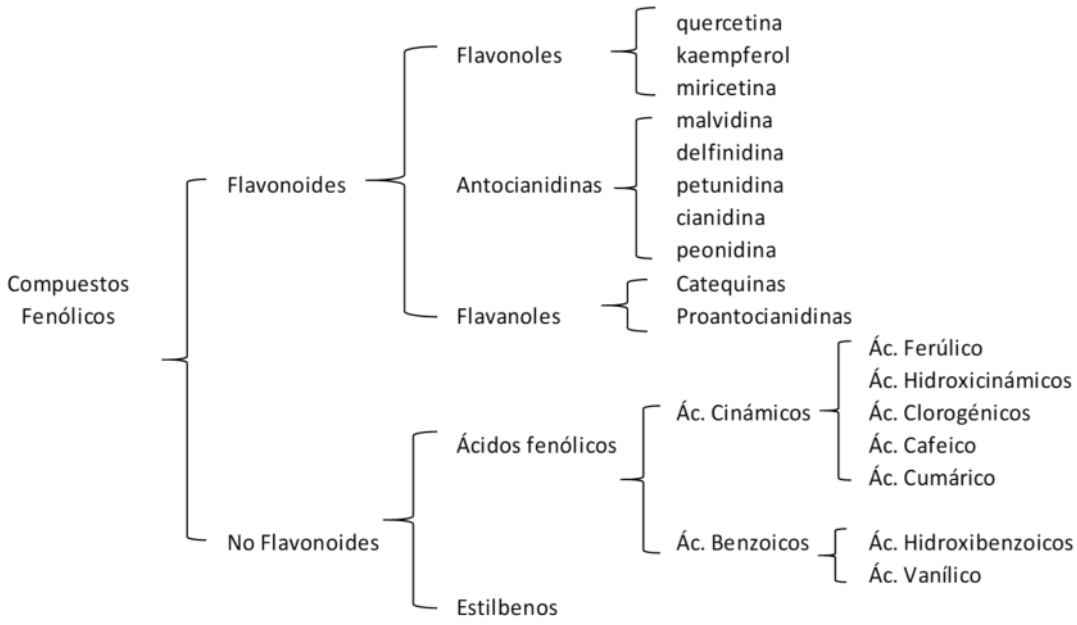


Figura 6. Clasificación de compuestos fenólicos

Fuente: Huang et al., (2012); Serafini et al., (2009)

2.2.5.1 Polifenoles presentes en algas marinas

Se ha informado de un grupo de compuestos fenólicos presentes en algas marinas, que se detallan a continuación.

- **Taninos hidrolizables:** Derivados principalmente de ácidos fenólicos simples como el ácido gálico o el ácido elágico. Se trata de moléculas con un núcleo central de poliol (normalmente D-glucosa). Los grupos hidroxilo de estos carbohidratos están total o parcialmente esterificados con grupos fenólicos como el ácido gálico (galotanino) o el ácido elágico. Cuando se calientan con ácido clorhídrico o ácido sulfúrico, estos taninos forman ácido gálico o elágico. Son comunes en las angiospermas (Freile-Pelegrin & Robledo, 2017).

- **Flavonoides:** Existen muchos estudios sobre los flavonoides procedentes de plantas terrestres, pero la información sobre el contenido de flavonoides en las algas es escasa. Un estudio sobre la distribución de flavonoides en 27 especies de algas marinas (6 Chlorophyta, 11 Phaeophyta y 10 Rhodophyta) demostró que tienen una composición de flavonoides totalmente diferente a la de las verduras y frutas (Yoshie-Stark et al., 2003). Otros estudios han informado que las macroalgas son fuentes ricas en catequinas, flavonoles y flavonol (Heo et al., 2005).

- **Florotaninos:** Existe un grupo importante de compuestos fenólicos que se encuentran en las algas marinas llamados florotaninos, los cuales están conformados por monómeros de floroglucinol (Figura 7) (Erpel et al., 2020). Estos compuestos también presentan fuertes propiedades antioxidantes con capacidad de eliminación de radicales libres, cuya capacidad de inhibición es más poderosa que la de otros polifenoles en comparación con las plantas terrestres (Pacheco et al., 2020).

  Químicamente, estos compuestos se construyen mediante la polimerización de unidades de floroglucinol (1,3,5-trihidroxibenceno), formando estructuras que pueden variar desde moléculas simples de 126 Da hasta polímeros muy grandes y complejos (Catarino et al., 2017), que según la naturaleza de los enlaces estructurales se puede caracterizar en diferentes subclases: floretoles, que contienen únicamente enlaces éter; fucoles, que contienen únicamente enlaces CC; fucofloretoles, que contienen enlaces éter; y eckols, que contienen un enlace dibenzodioxina. Dentro de la subclase de floretoles, también se encuentran los fuhaloles, que son florotaninos unidos por éter que poseen al menos un grupo hidroxilo adicional (Catarino et al., 2017; I. P. Singh et al., 2013)

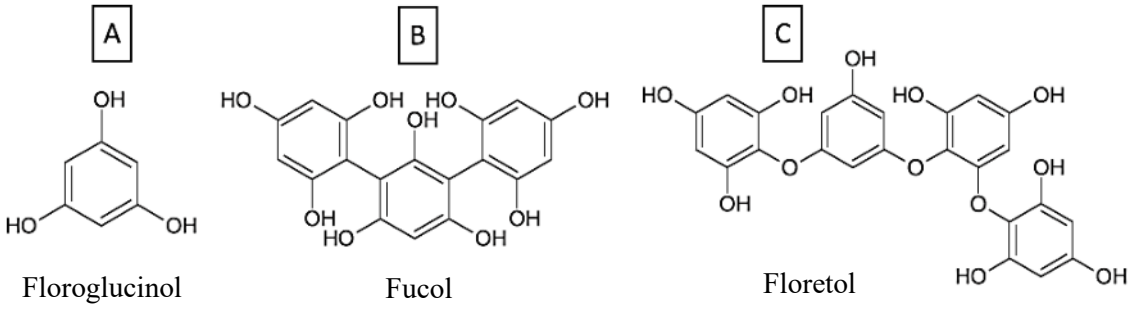


Figura 7. Florotaninos presentes en algas marinas. A: monómero de floroglucinol; B: dimero de Floroglucinol; C: trímero de floroglucinol

Fuente: Erpel et al. (2020)

Bajo estas consideraciones diversos trabajos han determinado el contenido de polifenoles específicos presentes en algas marinas rojas. Por ejemplo, Sánchez-Bonet et al. (2021) cuantificaron el contenido de polifenoles específicos presentes en algas marinas rojas mediante el uso de dos técnicas de extracción (Tabla 6).

Tabla 6. Perfil de polifenoles obtenido en los extractos de algas marinas rojas

Polifenol	Extracción con Ultrasonido	Extracción convencional
Floroglucinol	494,32 ± 13,55	621,43 ± 7,29
Ácido gálico	6,87 ± 0,18	15,26 ± 0,25
Catequina	30,17 ± 1,55	30,43 ± 1,25
Ácido vanilico	4,46 ± 0,06	6,86 ± 0,07
Epicatequina	31,01 ± 1,03	31,08 ± 1,47
Rutina	17,78 ± 0,74	17,10 ± 0,93
Ácido clorogénico	13,28 ± 0,85	20,27 ± 0,72
Acido cafeico	3,59 ± 0,15	3,95 ± 0,14
Ácido cumarico	2,27 ± 0,09	2,68 ± 0,07
Ácido ferúlico	5,23 ± 0,15	6,07 ± 0,12

2.2.6. Usos y perspectivas de los polifenoles como compuestos bioactivos

Actualmente, los polifenoles presentan una gran demanda para producir ingredientes funcionales para las industrias alimenticia, nutracéutica y farmacéutica (Grand View Research, 2019). Por ello, el precio de los polifenoles purificados se ha incrementado considerablemente en los últimos años. Por ejemplo, el precio de la quercetina (≥95%), el resveratrol (≥99%) y la epigalocatequina (≥98%) es de 1,200 USD, 1,600 USD y 33,000 USD por gramo respectivamente (SIGMA ALDRICH, 2023).

Las diferentes familias de polifenoles presentes en las algas tales como florotaninos, flavonoles, flavanoles y ácidos fenólicos son reconocidos como GRAS (generalmente reconocidos como seguros) (Shi et al., 2004). Estos compuestos presentan diferentes propiedades nutraceúticas y tecnológicas. Por ejemplo, los florotaninos son un grupo importante de polifenoles presentes en algas rojas, el cual ha mostrado efectos anticarcinogénicos, antiinflamatorios y antioxidantes debido a que mejora la actividad mitocondrial a través de la activación de enzimas específicas (Erpel et al., 2020). Los flavonoles como la quercetina, inhiben la liberación de histamina, por lo tanto, ellos muestran actividad antiinflamatoria y antialérgica (Mlcek et al., 2016; Shi et al., 2004). A su vez, los flavanoles (e.g., catequina) pueden modular la astringencia debido a que interactúan con proteínas específicas de la saliva (prolina) (Kennedy, 2008), y recientemente se ha demostrado que son útiles para recuperar proteínas de suero de soja (Xu et al., 2019). Por ello, dado el amplio espectro de aplicaciones de los polifenoles presentes en las algas marinas, el desarrollo y la optimización de tecnologías sostenibles de extracción y purificación que permita obtener extractos ricos en familias específicas de polifenoles es altamente deseable.

2.2.7. Extracción de polifenoles por diferentes tecnologías

En general, los polifenoles se encuentran en las vacuolas celulares, las cuales están protegidas por paredes de celulosa, hemicelulosa, pectina y lignina (Braidot et al., 2011). En ese sentido, el método de extracción empleado para su recuperación debe romper estas paredes para liberar estos compuestos (Gao et al., 2019).

A la fecha diferentes métodos de extracción han sido desarrollados, los cuales se pueden clasificar en métodos convencionales o extracciones atmosféricas (P°: 1 atm) cuyas temperaturas no superan el umbral de los 80°C y los métodos alternativos que operan a diferentes temperaturas (60 – 250°C) y presiones relativas subcríticas y supercríticas entre 2 y 20 atm respectivamente (Ameer et al., 2017). No obstante, la extracción de estos compuestos fenólicos también es influenciada por su naturaleza química, tamaño de partícula, tiempo de almacenamiento y sustancias interferentes tales como carbohidratos, azúcares, proteínas entre otros (Naczk & Shahidi, 2004). Por ello, la correcta elección del método de extracción no solo debe considerar los rendimientos en la recuperación de polifenoles, sino también la reutilización de los solventes orgánicos, la inocuidad del extracto y el impacto ambiental con la finalidad de desarrollar procesos sustentables (Huaman-Castilla, Martinez, et al., 2019).

a. Extracción convencional (sólido-líquido).

La extracción convencional (sólido-líquido) utiliza solventes orgánicos para obtener extractos ricos en polifenólicos de diferentes matrices vegetales (Babbar et al., 2014; Do et al., 2014; Fontana et al., 2017). Si bien diferentes solventes tales como acetona, metanol y hexano han dado buenos resultados en la recuperación de estos compuestos, son las característica químicas de los polifenoles los que finalmente definen el solvente apropiado para su recuperación (Ameer et al., 2017; Galanakis et al., 2013). Por ejemplo, una extracción convencional a 20°C con una solución de acetona (65%) es más eficiente para obtener flavanoles (Alberti et al., 2014). Mientras que una solución de metanol al 50% bajo las mismas condiciones de operación, es más eficiente para obtener flavonoles. Sin embargo, cuando la temperatura de esta mezcla se incrementa a 50°C, la extracción es más selectiva para los estilbenos (Kwak et al., 2017; Soural et al., 2015). Por ello, la extractabilidad de los polifenoles depende de muchos factores, tales como la polaridad del solvente, la temperatura, el tiempo de extracción y la estructura química de los polifenoles (Bosso et al., 2016; Roselló-Soto et al., 2019). No obstante, la extracción convencional, es una técnica tradicional que si bien es de fácil uso y escalamiento a nivel industrial, genera el uso de grandes volúmenes de solventes, los cuales por lo general no son aptos para

alimentos (acetona, metanol y hexano) y no son amigables con el medio ambiente (Soquetta et al., 2018). Por ello, el desarrollo de tecnologías alternativas (*Green Technologies*) que permitan la recuperación de polifenoles a bajos costos de producción, aptos para consumo humano y amigables con el medio ambiente siguen siendo una tarea pendiente para la industria de alimentos y farmacéutica.

b. Tecnologías alternativas (Green Technologies)

Actualmente, existen diferentes métodos alternativos de extracción para la obtención de extractos polifenólicos, tales como extracción asistida por microondas y ultrasonido, líquidos a presión, solventes acelerados, microondas y fluidos supercríticos. (Alara et al., 2021; da Silva et al., 2021). Sin embargo, independiente del método, es necesario considerar otros factores de extracción tales como temperatura, tiempo, composición del solvente, así como la formación de compuestos no deseados (azúcares, carbohidratos, proteínas y compuestos tóxicos) que dificulten la futura aplicación de los extractos en la formulación de alimentos nutraceúticos (Santos et al., 2012; Santos et al., 2010).

- **Extracción liquida presurizada (ELP):** La extracción líquida presurizada es una tecnología alternativa de grado alimentario y amigable con el medio ambiente que permite reducir los tiempos de extracción y los volúmenes de solventes, así como mejorar el rendimiento de extracción de los polifenoles hasta en un 200% en comparación con la extracción convencional y 80% comparado con la extracción por ultrasonido (Ameer et al., 2017; Plaza & Turner, 2015). Las altas presiones (~10 MPa) mantienen el solvente en estado líquido, reduciendo significativamente su polaridad, favoreciendo su difusión en la matriz vegetal mejorando la extractabilidad de los polifenoles (Plaza & Turner, 2015). No obstante, la ELP es influenciada por las características del solvente, la temperatura de extracción y la estructura química de polifenoles (Huamán-Castilla et al., 2020; Huaman-Castilla et al., 2019).

  Mustafa & Turner (2011) y Vergara-Salinas et al. (2015) mencionan que el funcionamiento de este sistema PLE es relativamente sencillo y se puede analizar por etapas (Figura 8):

  - En primer lugar, la muestra debe someterse a un proceso de reducción de tamaño para facilitar su acondicionamiento dentro de la celda de extracción y permitir una rápida difusión del solvente.

- En segundo lugar, se utiliza tierra de diatomeas o cuarzo como agente dispersante, que se mezcla con la muestra. Esto permite mejorar los fenómenos de transferencia de masa.
- En tercer lugar, el sistema inyecta un volumen específico de disolvente, que satura la celda de extracción a una temperatura constante, que se ha definido previamente.
- En cuarto lugar, el sistema inyecta nitrógeno (pureza > 99,9%) en la celda de extracción que permite que la presión alcance valores de hasta 10 atm (1,01 Mpa). En estas condiciones, el solvente permanece líquido, aumentando su energía cinética. Esto permite la descomposición de la matriz celular y aumenta la solubilidad de los polifenoles.

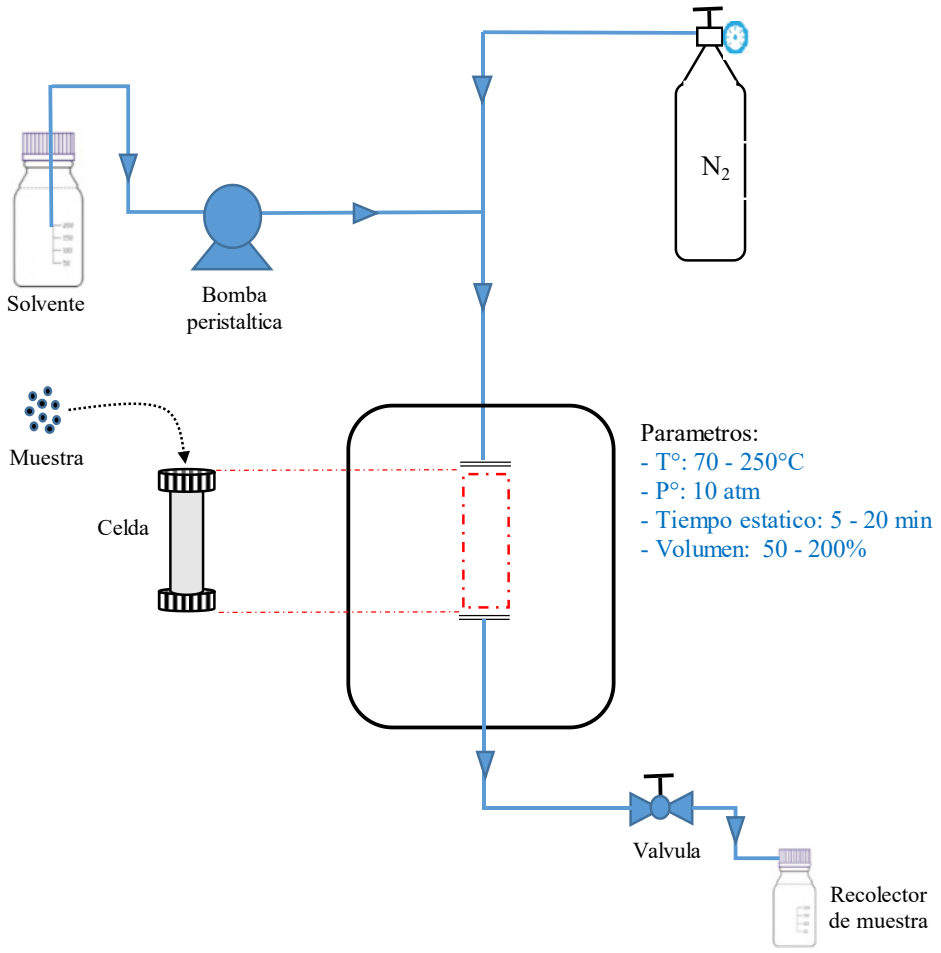


Figura 8. Esquema del sistema de extracción liquido presurizado

Si bien el uso de agua pura en la ELP ha sido ampliamente estudiada en la recuperación de polifenoles, el uso de temperaturas extremas (≥ 120 °C) afectan significativamente la composición química de los extractos debido a la hidrólisis del polifenol y la formación de compuestos tóxicos (compuestos de Maillard como

hidroximetilfurfural, HMF) (Mariotti-Celis et al., 2018; Vergara-Salinas et al., 2013). Por ello, el uso de cosolventes como el etanol permite no solo reducir la polaridad del solvente mejorando significativamente la recuperación de polifenoles, sino también reducen la recuperación de azúcares y la formación de HMF (Gui et al., 2016; Marcus, 2018; Monrad et al., 2010; Otero-Pareja et al., 2015; Tangkhavanich et al., 2014; Wijngaard & Brunton, 2009).

Tabla 7. Parámetros de proceso para la recuperación de polifenoles por ELP

Variables de proceso			**Variables respuesta**	
Fuente	Solvente (% v/v)	T (°C)	Polifenoles (mg GAE/gds)	Polifenoles específicos (µg/gds)
Piel de cebolla	Agua	110 – 190	n.s.	Quercetina: 4 – 14
Thimo (Thymus vulgaris)	Agua	50 - 200	131 -247	Acido gálico: 1 - 8 Quercetina: 0.5 - 3.3
Piel y semilla de uva	Agua	80 – 120	41 - 58 44 - 124	n.s.
Orujo de uva	Etanol (0 – 15%)	65 – 90	5.28 - 11.51	n.s.
Residuo de café	Etanol (0 – 15%)	65 – 90	8.21 - 13.87	Epicatequina: 429.38
Orujo de uva	Etanol (15 – 50%)	90 - 150	n.s.	Ácidos fenólicos: 1.86 - 85.98 Flavanoles: 3.26 - 105.46 Flavonoles: 8.07 - 64.04
Orujo de uva	Glicerol (15 – 50%)	90 - 150	n.s.	Ácidos fenólicos: 2. 97 - 98.53 Flavanoles: 7.94 - 143. 03 Flavonoles: 14.21 - 243.96
Orujo de uva	Etanol (20 - 60%)	100 – 160	0.46 - 1.98 5.66 - 12.64	Ácido gálico: 6.52 - 21.66 Quercetina: 3.21 - 12.41 Catequina: 47.33 - 96.73
Residuo de té verde	Agua Etanol (50%)	90 – 125	72.35 146.42	n.s.

Equivalente de ácido gálico por g de muestra seca; n.s. (no significativo). Fuente: (Allcca-Alca et al., 2021; Duba et al., 2015; Huamán-Castilla et al., 2020; Huaman-Castilla et al., 2019; Ko et al., 2011; Mariotti-Celis et al., 2018; Rajapaksha & Shimizu, 2022; Vergara-Salinas et al., 2012)

No obstante, el uso de etanol a altas temperaturas como solvente alternativo para recuperar polifenoles presentes en las algas marinas aún es un tema pendiente por resolver. Esto permitiría mejorar las estrategias de operación para un futuro escalamiento a nivel industrial, considerando el relevante rol de la polaridad del solvente en este tipo de procesos.

PLE puede obtener eficientemente extractos de polifenoles de diferentes fuentes naturales a bajo costo (Tabla 7). Sin embargo, optimizar el rendimiento, la pureza, la formación de compuestos tóxicos y la selectividad de polifenoles específicos sigue siendo un desafío. En este sentido, futuras investigaciones deberán considerar y analizar la temperatura y la composición del solvente como variables de diseño y operación.

III. METODOLOGÍA

3.1. Tipo y nivel de investigación

El trabajo de investigación es de tipo experimental, cuantitativa y el nivel de investigación explicativo.

3.2. Ámbito temporal y espacial

El presente proyecto de investigación se realizó en diferentes laboratorios de análisis. La liofilización de las muestras se realizó en el laboratorio de química del departamento de ciencias básicas; mientras las etapas de extracción 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. Finalmente, el análisis de perfil de polifenoles se realizó en el Laboratorio de Contaminantes Orgánicos y Ambiente (GICOA) de la Escuela Profesional de Ingeniería Ambiental de la UNAM.

3.3. Muestra

Para la recolección de algas marinas se realizó de acuerdo con la metodología propuesta por Vilcanqui et al. (2021) con algunas modificaciones. En resumen, ~10 kg de alga marina roja fresca fueron recolectadas del litoral costero de Ilo (coordenadas 17°38′38 S 71°20′47 N). Estas muestras fueron transferidas inmediatamente en un cooler, el cual fue acondicionado a 10°C mediante el uso de geles refrigerantes, esto permitió su conservación y traslado a las instalaciones del laboratorio de la UNAM.

Las muestras fueron lavadas y posteriormente liofilizadas entre los meses de agosto – setiembre del 2022 (Alpha 1-4 LSCbasic, Martin Christ, Alemania). Esto consistió en colocar las muestras dentro de una cámara donde la muestra fue congelada a -35°C, luego mediante una presión de vacío (0.2 mm Hg) y un condensador de frío se procedió a sublimar el agua. Finalmente, las muestras liofilizadas fueron reducidas de tamaño hasta alcanzar un diámetro de partícula de ~0.5 mm mediante el uso de un molino de pulso. Seguidamente para alcanzar un tamaño uniforme, las muestras fueron llevadas a un tamizador vibratorio donde se utilizó 3 bandejas hasta alcanzar 0.5mm de muestra, Posteriormente, las muestras fueron almacenadas en bolsas Ziploc donde fueron protegidas de la luz y almacenadas a -20°C para su posterior análisis.

3.4. Instrumentos

3.4.1. Materiales

- Balón de 10 m^3 de nitrógeno
- Botellas ámbar 250 mL
- Cartuchos SPE C18
- Celda de 100 mL para ASE 150
- Espátulas
- Embudos
- Filtros de celulosa para ASE 150
- Filtros de jeringa 0.22 µm
- Fiolas (5, 10, 25, 100, 250, 500 y 1000 mL)
- Jeringas de 3 mL
- Micropipetas (20 – 200 µL, 100 – 1000 µL y 1 – 5 mL)
- Microplacas blancas y negras de 96 pocillos
- Papel absorbente
- Papel aluminio
- Papel filtro
- Papel secante
- Piseta (500ml)
- Probetas de vidrio (50, 100 y 250 mL)
- Tubos de polipropileno para centrifuga (50 mL)
- Tubos Eppendorf de polipropileno para microcentrífuga (2 mL)
- Vasos de precipitados de vidrio (50, 100 y 250 mL)
- Viales ámbar (1,5 mL)

3.4.2. Equipos

- Balanza analítica (ENTRIS224-1S, Sartorius Lab Instruments GmbH & Co, KG, Goettingen, Alemania)
- Balanza semimicro (EX225/AD, OHAUS, USA)
- Baño termostático (LWB-122D, ISOLAB)
- Centrifuga (Pro-analityt.C2004, Centurion Scientific Ltd, UK)
- Congeladora (modelo Rh25h5613sg, Samsung)
- Cromatógrafo Líquido de Ultra Alta Performance (UHPLC) 1290 Infinity II (Agilent, USA) acoplado a un detector de arreglo de diodos 1290 Infinity II (Agilent, USA)

- Espectrofotómetro UV-Vis (Genesys 150, Thermofisher, San Jose, CA, USA)
- Extractor de líquidos presurizados (ASE 150, Dionex, Thermofisher, San Jose, CA, USA)
- Lector de microplacas (Synergy/HTX, Biotek Instruments Inc, Winooski, VT, USA)
- Liofilizador (Alpha 1-4 LSCbasic, Martin Christ, Alemania)
- Sistema de extracción en fase solida
- Rotavapor (Hei-vap Ultimate control, Heidolph, Alemania)
- Tamiz vibratorio (Analysette 3 pro, Fritsch, Idar-Oberstein, Alemania)

3.4.3. Insumos y reactivos

- 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo – DPPH (> 90%)
- Acetonitrilo (grado analítico masa, > 99.8%)
- Ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromano-2-carboxílico - Trolox (> 98%)
- Ácido fórmico (≥ 98%)
- Agua destilada
- Agua MiliQ (agua desionizada)
- Acetona 60%
- Arena de cuarzo
- Carbonato de sodio (15%, p/p)
- Dihidrocloruro de 2,2'-Azinobis (2-metilpropionamidina) – AAPH (>97%)
- Estándar de ácido vanílico (97%)
- Estándar de catequina (95%)
- Estándar de epicatequina (90%)
- Estándar de kaempferol (97%)
- Estándar de procianidina A2 (90%)
- Estándar de resveratrol (99%)
- Estándar de rutina (93%)
- Estándar de tirosol (97%)
- Estándar de floroglucinol (97%)
- Etanol (99,5%)
- Fosfato monobásico de potasio (2.5%)
- Fosfato monobásico de sodio (2.5%)
- Fluoresceína sódica (≥ 95%)
- Metanol (grado HPLC, >95%, p/p)
- Reactivo Folin-Ciocalteu (2N)

3.5. Procedimientos

3.5.1. Extracción liquida presurizada

Para ELP se empleó la metodología propuesta por Huamán-Castilla et al. (2020) con algunas modificaciones. En resumen, ~10 g de alga roja (base seca) se mezclaron con arena de cuarzo (proporción 1:4) como agente de dispersión. Luego, la muestra acondicionada fue colocada en una celda de extracción de 100 mL en un sistema de líquidos presurizados (ASE 150, Dionex, Thermofisher, San Jose, CA, USA), la cual previamente fue cargada con 10 g de arena de cuarzo. Los parámetros de extracción fueron los siguientes: presión 10 MPa, un ciclo de extracción, 20% de volumen de lavado, 250 s de tiempo de purga de nitrógeno y 5 minutos de tiempo de extracción estático con Temperaturas de 90, 120 y 150°C. Etanol (0, 15% y 30% v/v) fue utilizado como solvente de extracción (Figura 9). Estas condiciones permitieron obtener una relación muestra solida: volumen de extracto de 1:10. Después de la extracción, los extractos crudos obtenidos fueron envasados en viales ámbar y almacenados a -20 °C hasta su posterior análisis.

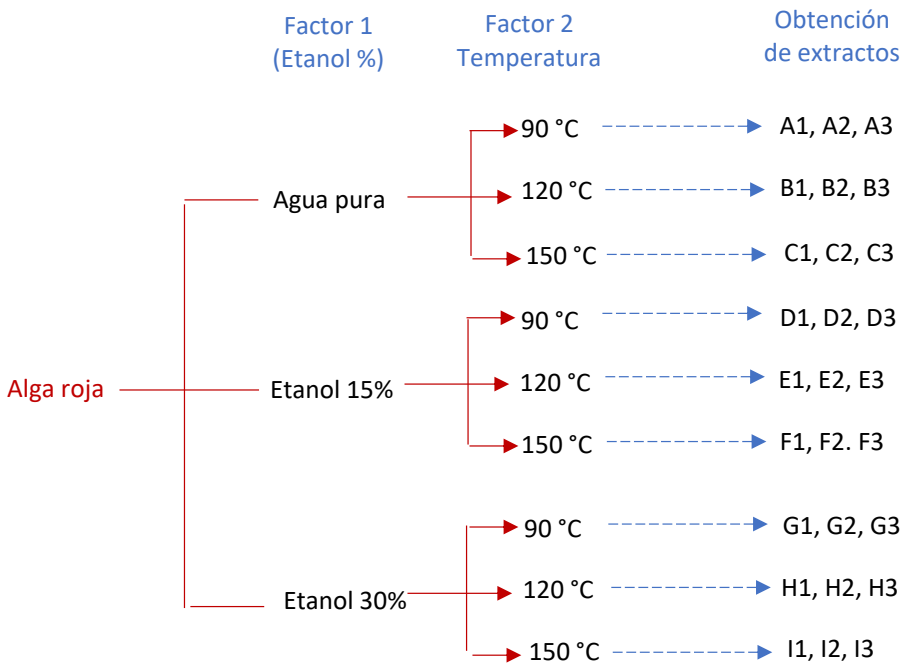


Figura 9. Esquema del proceso de extracción

*Las letras mayúsculas indican los tratamientos para cada extracto obtenido, los números indican las repeticiones.

En paralelo a la ELP, un proceso de extracción convencional fue realizado, donde 10g de muestra fueron disueltos en 100mL de solvente (acetona 60%) a 30°C por 1h. Los extractos obtenidos fueron filtrados y centrifugados a 500 RPM para luego ser almacenados a -20°C.

3.5.2. Determinación de polifenoles totales

El contenido de polifenoles totales de los extractos crudos de algas rojas se determinó mediante el ensayo de Folin-Ciocalteu (Singleton et al., 1965). Un volumen de 3,75 mL de agua destilada, 0,5 mL de extracto de crudo y 0,25 mL de reactivo Folin-Ciocalteu (1N) se mezclaron con 0,5 mL de una solución de carbonato de sodio (10% p/v). La mezcla se dejó reaccionar a temperatura ambiente y en oscuridad durante 1 h. La absorbancia fue medida a una longitud de onda de 765 nm en un espectrofotómetro (UV-Vis Genesys 150, Thermofisher, San Jose, CA, USA).

Se preparó una curva de calibración (r^2 = 0,9988) a partir de una solución stock ácido gálico (200 mg/L) con las siguientes diluciones 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 y 100 mg/L. Los resultados fueron expresados en mg EAG/gss (equivalente a ácido gálico por gramo de sólido seco).

3.5.3. Determinación de capacidad antioxidante

3.5.3.1. Método DPPH

La capacidad antioxidante de los extractos de algas rojas se determinó utilizando el método de inhibición del radical DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo) reportado por Brand-Williams et al., (1995). En resumen, 0,1 mL del extracto fue mezclado con 3,9 ml de solución DPPH (50 μM). Luego la solución se incubó a temperatura ambiente en oscuridad durante 30 minutos. La reducción del radical DPPH fue medida a una longitud de onda de 517 nm en un espectrofotómetro (UV-Vis Genesys 150, Thermofisher, San Jose, CA, USA). Como control positivo se utilizó metanol y el control negativo fue la solución metanólica de DPPH. Los resultados de expresaron en factor CI_{50} (mg/mL), definido como la concentración de extracto efectivo necesario para inhibir el 50% de la actividad del radical DPPH.

3.5.3.2. Método ORAC

El análisis ORAC de los extractos se realizaron en un lector de microplacas (Synergy/HTX, Biotek Instruments Inc, Winooski, VT, USA) de acuerdo con la metodología propuesta por Chirinos et al., (2013). En resumen, se preparó una solución

buffer PBS 75 mM a un pH de 7,4. Con el buffer PBS se diluyo fluoresceína (55 nM), AAPH (153 mM), Trolox como estándar de referencia (8, 16, 24, 32 y 40 µM) y cada muestra. En una microplaca negra de 96 pocillos, se agregó 25 µL de muestra, Trolox y blanco (buffer PBS) y fue llevado al lector de microplacas. El equipo inyectó automáticamente 250 µL de fluoresceína a cada pocillo, la mezcla fue incubada a 37°C durante 10 minutos. Seguidamente fue inyectado 25 µL de AAPH a cada pocillo. La fluorescencia se medió a una longitud de onda de excitación y emisión de 485 nm y 520 nm respectivamente cada minuto durante 50 minutos. Los valores ORAC finales se calcularon utilizando el área bajo la curva y fueron expresados como µmol ET/gss (micro mol equivalente a Trolox por gramo de sólido seco).

3.5.4. Cuantificación del perfil de polifenoles específicos

La cuantificación de polifenoles específicos se realizó utilizando la metodología propuesta por Maldonado et al., (2022) con algunas modificaciones. Primero, se realizó la preparación de la muestra a través de una extracción en fase sólida (SPE) antes del análisis cromatográfico. Para ello, cartuchos SPE SiliaPrep C18 6 mL, 500 mg (Silicycle, Québec, Cánada) fueron activados con 10 mL de metanol grado HPLC seguidos de 10 mL de agua miliQ. Inmediatamente se agregó 25 mL del extracto crudo. Los analitos retenidos en el cartucho se recuperaron con 5 mL de metanol grado HPLC. Luego, 100 µL de la muestra preparada fue mezclada con 900 µL metanol grado HPLC, la mezcla fue filtrada a través de un filtro de jeringa de 0,22 µm y almacenada en viales ámbar de 1,5 mL. Posteriormente, 2 µL de cada muestra fue inyectada en un cromatógrafo líquido de ultra alta performance (Agilent 1290 Infinity II, USA) acoplado a un detector de arreglo de diodos (DAD). La separación de compuestos se realizó a través de una columna analítica de fase reversa InfinityLab (Agilent, USA) Poroshell EC-C18 (2,1 mm × 150 mm x 1,9 µm) a 30 °C. La fase móvil estuvo conformada por agua miliQ con 0,1% de ácido fórmico (A) y acetonitrilo con 0,1% ácido fórmico (B), utilizando una elución en gradiente: 0 min 95 % A – 5 % B, 15 min 60 % A – 40 % B y 18 min 95 % A – 5 % B a un flujo de 0,3 mL/min. Diferentes estándares de polifenoles fueron previamente diluidos a concentraciones de 0,3, 1, 3, 6, 10 y 20 µg/mL para construir las curvas de calibración. Finalmente, los polifenoles específicos fueron cuantificados comparando el tiempo de detención y el área bajo la curva de cada uno de los estándares analizados (λ: 270 nm tirosol, rutina y quercitrina; λ: 280 nm, ácido vanílico, catequina, epicatequina, hidroxitirosol, procianidina A2 y oleuropeína; λ: 324 nm, resveratrol y apigenina; λ: 373 nm, Kaempferol). Los análisis se realizaron por triplicado y los resultados se expresaron en µg de polifenol específico por gramo en base seca.

3.6. Análisis de datos

Un total de 18 pruebas fueron conducidas mediante un arreglo multifactorial completo (3x3 con 2 repeticiones) con la finalidad de evaluar el efecto de los factores de estudio (temperatura y solvente) sobre las variables respuesta (polifenoles totales, capacidad antioxidante, perfil de polifenoles). Luego, un Análisis de Varianza (ANOVA) permitió establecer si existen diferencias significativas entre tratamientos e interacciones (p-valor < 0,05). Las diferencias significativas fueron analizadas mediante una prueba de comparación Tukey (p-valor < 0,05).

Tabla 8. Esquema del diseño experimental

Tratamiento	Temperatura (°C)	Solvente (%)	Variables respuesta
T1	90	0	
T2	120	15	
T3	150	30	
T4	90	0	
T5	120	15	
T6	150	30	
T7	90	0	
T8	120	15	
T9	150	30	

Modelo factorial

$$Y_{ijl} = \mu + S_i + T_j + (ST)_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

Donde: Y_{ijk} representa a la variable respuesta; μ es la media global de todos los tratamientos; S es el factor solvente, i representa los niveles del factor S; T es el factor temperatura, j representa los niveles del factor T; $(STe)_{ij}$ representa la interacción de los niveles ij de los factores S y T; ε_{ikj} representa el error experimental.

Por otro lado, la mejor condición de la ELP fue comparada versus un proceso de extracción convencional. Este análisis se realizó mediante una prueba de comparación t para dos muestras. Entonces, el estadístico de prueba apropiado para comparar dos medias de tratamientos considerando un nivel de significancia (p < 0,05).

IV. RESULTADOS Y DISCUSIONES

4.1. Efecto de la composición del solvente y temperatura sobre la recuperación de polifenoles totales y capacidad antioxidante

4.1.1. Contenido de polifenoles

De acuerdo con nuestros resultados cuanto mayor es la temperatura y composición de etanol, el contenido de polifenoles totales se incrementa, cuyos valores varían entre 0.21 y 1.71 mg EAG/gss ($p < 0,05$) (Tabla 9). Independiente de la composición del solvente, los incrementos de temperatura durante el proceso de extracción liquido presurizada (ELP) mejoraron la recuperación de polifenoles ($p < 0,05$). Por ejemplo, cuando la temperatura incrementa de 90 a 150°C, el contenido de polifenoles totales mejora en 4, 4.5 y 6.3 veces más con agua pura, etanol al 15% y etanol al 30%, respectivamente (Tabla 9).

Tabla 9. Contenido de polifenoles presente en los extractos de algas rojas

Condiciones de proceso	Agua pura		Etanol 15%		Etanol 30%	
	Promedio	CV%	Promedio	CV%	Promedio	CV%
90	$0.25^{b,A}$	4.81	$0.26^{a,A}$	3.74	$0.27^{a,A}$	4.38
120	$0.21^{a,A}$	2.62	$0.27^{a,B}$	1.21	$0.29^{a,B}$	7.39
150	$1.04^{c,A}$	0.04	$1.18^{b,B}$	5.64	$1.71^{b,C}$	2.23

El contenido de polifenoles totales es expresado como miligramos equivalentes a ácido gálico por gramo de sólido seco (mg EAG/g de alga seca). CV representa el coeficiente de variación (n= 2). Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$). Las letras minúsculas indican diferencias significativas entre filas; mientras que las letras mayúsculas indican diferencias entre columnas.

Para discutir el efecto de la temperatura, si bien no existen reportes del efecto de altas temperaturas bajo condiciones subcríticas (10 atm) en la recuperación de polifenoles totales a partir de algas marinas, existen algunos trabajos que recuperaron estos compuestos en otras matrices vegetales. Otero et al. (2018) demostraron que incrementos de temperatura de 80 a 160°C combinado con mezclas agua-etanol (50%) mejoró la recuperación de polifenoles en 39% a partir de alga *L.ochroleuca.* Fu et al. (2016), reportaron que un cambio de temperatura de 25 a 65°C combinado con 50% de etanol mejora en 33% la recuperación de polifenoles presentes en algas marinas rojas. Similar comportamiento en otras matrices vegetales también fue reportado por Huamán-Castilla et al. (2023) quienes observaron que un aumento de la temperatura de 70 a 130 °C, permite incrementar la recuperación de polifenoles se incrementó en 3,5, 4,2 y 5,7 veces con 0 (agua pura), 15% y 30% de etanol, respectivamente.

Los incrementos de temperatura en un proceso de extracción subcrítica incrementan la energía cinética del solvente, esto propicia que el solvente no solo pueda acelerar y colapsar la matriz vegetal, sino también mejora la solubilidad de los polifenoles debido a la ruptura de esta matriz (Mustafa & Turner, 2011; Plaza & Turner, 2015). Además, Vergara-Salinas et al. (2013) mencionan que los incrementos de temperatura bajo condiciones subcríticas favorece los fenómenos de transferencia de masa debido a un incremento en la permeabilidad del tejido vegetal que permite la difusión de los polifenoles al solvente de extracción. Por otro lado, si bien la temperatura tiene un efecto positivo en la recuperación de polifenoles, es importante considerar algunos reportes que mencionan que temperaturas mayores a 150°C podrían favorecer la formación de compuestos tóxicos como el hidroximetil furfural, un compuesto carcinogénico en roedores (Vergara-Salinas et al., 2015).

Para discutir el efecto de la composición del solvente, el incremento de la concentración de etanol en los extractos mejoró la concentración de polifenoles presentes en los extractos (Tabla 9). Por ejemplo, si fijamos la temperatura a 150°C, un incremento de 0 a 30% de etanol en el solvente de extracción mejora en 64% la extracción de polifenoles (Tabla 9). Al respecto, Tierney et al. (2013) demostraron bajo condiciones subcríticas que un incremento de concentración de 0 a 80% de etanol a 60°C favorece en 37% la recuperación de polifenoles presentes en algas pardas *F. Spiralis*. Por otro lado bajo condiciones atmosféricas, Fu et al. (2016) reportaron que un cambio de 0 a 50% de etanol a 30°C mejora en 60% la recuperación de polifenoles en algas marinas rojas; mientras Castejón et al. (2021) demostraron que un incremento de 0 a 50% de etanol mejora en 5 veces la recuperación de polifenoles a 65°C en algas marinas rojas. Por otro lado, algunos estudios en diferentes matrices vegetales también reportaron comportamientos similares. Por ejemplo, Rosa et al. (2019) observaron que el uso de 80% de etanol a 60 °C permitió recuperar un 48% más de contenido de polifenoles en comparación con el uso de agua pura en las mismas condiciones. Mariotti-Celis et al. (2018) informaron que el uso de etanol al 15% a 60°C mejoró en un 37% la recuperación de polifenoles en comparación con el agua pura a 60°C.

Los polifenoles son compuestos con una mayor habilidad para establecer interacciones con solventes de polaridad intermedia. Entonces, el uso de solventes como el etanol favorecerá el proceso de extracción de estos compuestos en comparación con el uso de agua pura (Cuevas-Valenzuela et al., 2015). El etanol presenta un grupo hidroxilo (fracción polar) y un grupo metilo (fracción no polar) que le permite establecer interacciones intermoleculares con los grupos funcionales del polifenol (grupo hidroxilo y anillos

aromáticos) en comparación con el agua que solo presenta grupos hidroxilo en su estructura química (Figura 10) (Galanakis et al., 2013).

Las interacciones intermoleculares también se pueden explicar mediante los parámetros solvatocrómicos Kamlet-Taft considerando la habilidad del solvente para donar (acidez: α) y aceptar (basicidad: β) enlaces hidrogeno con otras moléculas (Jessop et al., 2012). Por ejemplo, el etanol presenta una menor polaridad (π*: 0,51) en comparación con agua (π*: 1,14). Además, presenta una menor habilidad para formar enlaces hidrogeno (α: 0.9) en comparación con el agua (α: 1,07), esto debido a que una fracción de la molécula esta interactuando con los anillos aromáticos del polifenol mediante interacciones no polares.

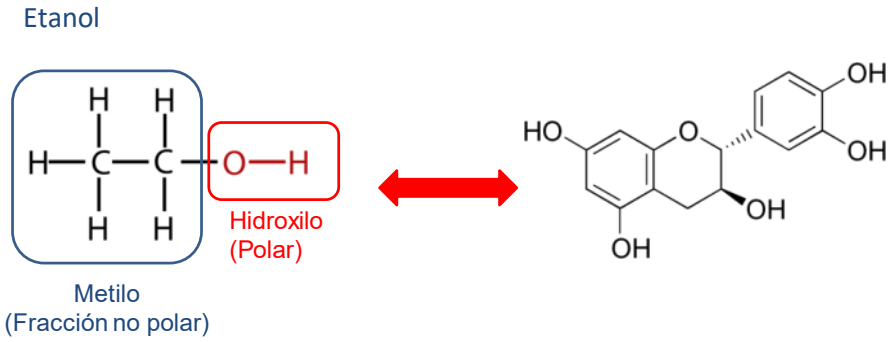


Figura 10. Grupos funcionales del etanol capaces de interactuar con los polifenoles

Por otro lado, cuando la temperatura y solvente se combinan en un proceso de extracción subcrítica, las interacciones electrostáticas (enlaces de hidrógeno) entre solvente disminuyen, favoreciendo las interacciones no polares o fuerzas de dispersión de London. Consecuentemente, aquellos compuestos con grupos aromáticos como los polifenoles son favorecidos debido a este tipo de interacciones (Allcca-Alca et al., 2021; Huaman-Castilla et al., 2019; Mariotti-Celis et al., 2018).

Las mejores condiciones de extracción fueron establecidas con 150°C y 30% de etanol, esto permitió recuperar 1.71 mg EAG/gss (Tabla 9). Al respecto, Pacheco et al. (2020) bajo condiciones subcriticas (120°C – etanol: 50%) obtuvieron extractos con una concentración de 1.9, 2.2 y 4.8 en algas rojas del sur de Chile tales como *Nothogenia sp. Mazzaella laminarioides* y *Pyropia sp.,* respectivamente. Si bien existen diferencias entre las concentraciones de polifenoles reportadas y nuestros resultados, es importante resaltar que factores como el lugar colección, condiciones ambientales y ecotipo de alga pueden afectar los resultados Erpel et al. (2020).

4.1.2. Capacidad antioxidante

Los métodos DPPH y ORAC nos permiten evaluar la capacidad de los polifenoles para inhibir un radical específico. Por ejemplo, el método DPPH evalúa la capacidad de los polifenoles para neutralizar el radical DPPH, un radical libre que difiere de otras especies reactivas generadas biológicamente; mientras, el método ORAC mide la capacidad de los polifenoles para neutralizar los radicales peroxilo, similar a los radicales libres generados dentro de un organismo (Gulcin, 2020; Munteanu & Apetrei, 2021). Por ello, para el presente estudio ambos métodos fueron realizados como pruebas de aproximación complementarias para correlacionar la capacidad antioxidante de los polifenoles presentes en nuestros extractos.

4.1.2.1. Método DPPH

El uso de etanol a altas temperaturas en un proceso de extracción liquido presurizada permito obtener extractos con importantes valores de capacidad antioxidante (IC_{50}: 16.81 – 36.49 mg/mL) (Tabla 10). No obstante, es importante mencionar que cuanto menor es el valor IC_{50} mayor es la capacidad antioxidante del extracto. Esto considerando que se necesitará una menor cantidad de extracto para inhibir el radical DPPH. Por ello, diversos trabajos mencionan que el Valor IC_{50} es inversamente proporcional con el contenido de polifenoles.

Tabla 10. Capacidad antioxidante por DPPH en los extractos de algas rojas

Condiciones de proceso	Agua pura		Etanol 15%		Etanol 30%	
	Promedio	CV%	Promedio	CV%	Promedio	CV%
90	$36.49^{c,A}$	0.59	$29.16^{c,B}$	2.04	$26.78^{c,C}$	5.85
120	$27.33^{b,A}$	3.39	$26.86^{b,B}$	1.40	$24.31^{b,B}$	2.76
150	$25.17^{a,A}$	0.90	$19.11^{a,B}$	0.28	$16.81^{a,C}$	8.27

DPPH es expresado como factor IC_{50} en miligramos por mililitro (mg/mL). CV representa el coeficiente de variación (n= 2). Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$). Las letras minúsculas indican diferencias significativas entre filas; mientras que las letras mayúsculas indican diferencias entre columnas.

Para discutir el efecto de la temperatura, un incremento en la temperatura de extracción reduce el valor IC_{50}. Por ejemplo, cuando la temperatura incremento de 90 a 150°C el valor IC50 fue reducido en 31, 34 y 37% para agua pura, etanol al 15% y etanol al 30%, respectivamente (Tabla 10). Bajo condiciones subcríticas (Gan & Baroutian, 2022) reportaron que un incremento de temperatura de 120 a 150°C reduce el valor IC50 en 65% en extractos obtenidos a partir de algas marinas (*Undaria pinnatifida*). Otros estudios bajo

condiciones subcríticas también confirman el rol de la temperatura sobre el valor IC_{50}. Por ejemplo, Nastić et al. (2018) reportaron una disminución del 40% en el valor IC_{50} cuando la temperatura de proceso incremento de 100 a 160°C en extractos obtenidos a partir de flores de Trifolium montanum. Mariotti-Celis et al. (2018) observaron que un incremento de 75 a 90°C redujo en 15% el valor de capacidad antioxidante expresado como IC_{50} en extractos de orujo de uva. Por ejemplo, Xynos et al. (2014) observaron que cuando la temperatura aumentó de 40 a 62 °C usando mezclas de agua-etanol (50%) reducen el volumen necesario de extracto para inhibir el radical DPPH en un 14%. Al respecto, los incrementos de temperatura permiten acelerar las moléculas del solvente (energía cinética) favoreciendo la ruptura de la matriz celular y posterior liberación de polifenoles (Huamán-Castilla, Gajardo-Parra, et al., 2023). Entonces, una mayor concentración de polifenoles presente en el extracto durante la ELP permitirá incrementar la capacidad antioxidante de los extractos. Consecuentemente, el valor IC_{50} de los extractos obtenidos será menor.

Para discutir el efecto de la composición del solvente, el valor IC_{50} en los extractos obtenidos presenta un comportamiento similar al observado con los cambios de temperatura. Por ejemplo, a 150°C el uso de etanol (30%) fue 36% más efectivo para reducir el valor IC_{50} en comparación con el agua pura (Tabla 10). Bajo condiciones subcríticas, Tierney et al. (2013) demostraron que un incremento de concentración de 0 a 80% de etanol a 60°C reduce en 64% el valor IC_{50} en los extractos obtenidos en algas pardas *F. Spiralis*. Al respecto, Diferentes trabajos han reportado que el uso de solventes de polaridad intermedia como el etanol y glicerol ha permitido mejorar la capacidad antioxidante de los extractos en un proceso de extracción liquido presurizado en comparación con el agua pura (Allcca-Alca et al., 2021; Huamán-Castilla., 2020; Huaman-Castilla et al., 2019). Asimismo, Xynos et al. (2014) informaron que un incremento en la concentración de etanol del 0% al 30% redujo en un 16% la cantidad de extracto requerida para reducir el radical DPPH de las hojas de Dendropanax morbifera.

Los polifenoles presentan grupos hidroxilo (OH) en su estructura química, los cuales tienen la capacidad de transferir átomos de hidrógeno con la finalidad de reducir el radical DPPH (Singh et al., 2016). Entonces, el uso de solventes que presentan una fracción polar y no polar en su estructura química facilitara las interacciones entre el solvente y el polifenol mejorando la capacidad antioxidante de los extractos. Por ello, mientras menor sea el valor IC_{50}, menor es la cantidad de extracto necesario para inhibir el radical DPPH.

4.1.2.2. Método ORAC

El análisis ORAC evalúa la habilidad de los polifenoles para reducir los radicales biológicos conocidos como peróxilos (ROO·), el cual es una de las más comunes especies reactivas de oxígeno en el organismo (Roy et al., 2010). Por ello, cuando los extractos presentan un alto contenido de polifenoles, la capacidad antioxidante del extracto es mayor (Goyeneche et al., 2015). La capacidad antioxidante evaluada por ORAC en los extractos obtenidos incremento con la temperatura y concentraciones de etanol. Independiente de la concentración del solvente, cuando la temperatura incremento de 90 a 150°C la capacidad antioxidante mejoro 1.2, 3.3 y 4.5 con agua pura, 15% de etanol y 30% de etanol, respectivamente (Tabla 11).

Tabla 11. Capacidad antioxidante por ORAC en los extractos de algas rojas

Condiciones de proceso	**Agua pura**		**Etanol 15%**		**Etanol 30%**	
	Promedio	CV%	Promedio	CV%	Promedio	CV%
90	$9.16^{c,A}$	6.16	$19.51^{c,B}$	4.62	$27.11^{c,C}$	5.34
120	$8.81^{b,A}$	4.63	$42.16^{b,B}$	8.69	$73.47^{b,B}$	6.22
150	$11.63^{a,A}$	2.03	$60.74^{a,B}$	6.57	$121.89^{a,C}$	2.84

La capacidad antioxidante por ORAC esta expresado como micromoles de equivalente trolox por gramo de solido seco (µmol ET/gss). CV representa el coeficiente de variación (n= 2). Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$). Las letras minúsculas indican diferencias significativas entre filas; mientras que las letras mayúsculas indican diferencias entre columnas.

Para discutir el efecto de la temperatura, diversos trabajos han referido que los incrementos de temperatura en un proceso de extracción subcrítica favorecen la recuperación de polifenoles, esto debido a la reducción de la polaridad del solvente, así como la ruptura de la matriz vegetal; y por ende mejoran la capacidad de los extractos (Allcca-Alca et al., 2021; Castejón et al., 2021; Erpel, 2022; Nastić et al., 2018). No obstante, Plaza et al. (2010) reportaron que cuando en un proceso de extracción con líquidos presurizados (ELP) la temperatura excede los 120°C, se favorece la formación de compuestos antioxidante como producto de la reacción de Maillard. Consecuentemente, la capacidad antioxidante de los extractos es favorecida. Esto podría proponer que se utilicen altas temperaturas de extracción durante la ELP con la finalidad de mejorar las características antioxidantes del extracto. Sin embargo, Vergara-Salinas et al. (2015) y Mariotti-Celis et al. (2018) mencionan que las altas temperaturas de proceso (>120°C) favorecen la formación de compuestos tóxicos que podrían limitar el uso de los extractos en futuras aplicaciones alimentarias.

Para discutir el efecto de la composición del solvente, El uso de altas concentraciones de etanol (30%) permitió mejorar 10 veces la capacidad antioxidante en comparación con el uso de agua bajo las mismas condiciones (150°C) (Tabla 11). El uso de etanol como cosolvente durante el proceso ELP reduce la polaridad del solvente, promoviendo interacciones favorables no solo entre los grupos hidroxilo de los polifenoles y el solvente, sino también entre sus grupos aromáticos (Huamán-Castilla, Gajardo-Parra, et al., 2023). Además, la alta presión aplicada en el proceso ELP aumenta la energía cinética de las moléculas, lo que aumenta la solubilidad.

4.2. El efecto del uso de mezclas agua – etanol a altas temperaturas sobre el perfil de polifenoles

Para mejorar la comprensión del rol de la polaridad del solvente sobre la recuperación de polifenoles específicos, se realizó un análisis de perfil de polifenoles a cada condición de proceso. Esto considerando la temperatura de extracción (90, 120 y 150 °C) y diferentes mezclas de agua - etanol (0, 15 y 30%) como factores estudio (Tabla 12).

4.2.1. Ácidos fenólicos

El rendimiento de ácidos fenólicos mejoro con el incremento de etanol y temperatura durante la ELP (Tabla 12 y Figura 11). Por ejemplo, cuando la temperatura incrementa de 90 a 150 °C, la capacidad de extracción de los ácidos fenólicos mejoró ~3, ~4 y ~2 veces con 0%, 15% y 50% de etanol respectivamente (Figura 11). El efecto positivo de la temperatura también fue reportado por Garcia-Jares et al. (2015) quienes informaron que la extractabilidad de los ácidos fenólicos mejoró aproximadamente 8 veces cuando la temperatura aumentó de 100 a 150 °C, utilizando agua pura como solvente de extracción en un proceso ELP; mientras Huaman-Castilla et al. (2019) reportaron que los cambios de 0 a 50% de etanol a 150°C mejoran 4 veces la recuperación de ácidos fenólicos.

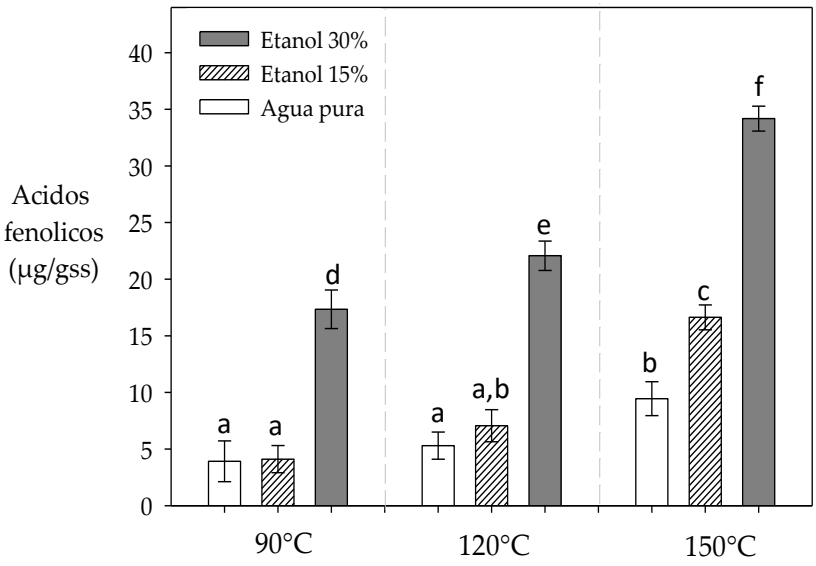


Figura 11. Efecto de los parámetros de proceso sobre el contenido de ácidos fenólicos. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0.05$)

El uso de etanol como cosolvente en el proceso ELP permite disminuir la polaridad del solvente favoreciendo las interacciones no polares (Erpel, 2022). Esto explicaría la afinidad de la molécula de etanol para formar interacciones intermoleculares con los grupos funcionales de los ácidos fenólicos (hidroxilo y fenólico). Por ello, diversos estudios han demostrado que los ácidos fenólicos son moléculas orgánicas que tienen mayor afinidad por solventes orgánicos, como el etanol, debido a interacciones intermoleculares (fuerzas de dispersión de London) (Allcca-Alca et al., 2021; Huaman-Castilla et al., 2019; Mariotti-Celis et al., 2018). La mejor condición de proceso fue establecida a 150°C con 30% de etanol (Figura 11). Esto permitió recuperar ácidos fenólicos específicos tales como el gálico, vanilico, y cafeico, donde el ácido fenólico mayoritario fue el ácido gálico con 15.26 µg/gss (Tabla 12).

4.2.2. Flavanoles

Bajo condiciones subcríticas (P: ~10MPa), las altas temperaturas favorecen la recuperación de estos compuestos. Sin embargo, cuando la concentración de etanol es mayor al 15% la recuperación disminuye (Tabla 12 y Figura 12). Si bien mayor recuperación de flavanoles se logró a la temperatura más alta (150 °C), cuando la concentración de etanol se incrementó de 0 a 15% la recuperación de flavanoles mejora en 88%; mientras si la concentración de etanol incrementa de 15 a 30% la recuperación de estos compuestos se reduce en 44% (Tabla 12). Este efecto del etanol bajo condiciones atmosféricas también fue advertido por otros trabajos de investigación sobre este tipo de familias específicas. Por ejemplo, Downey & Hanlin (2010) observaron que

concentraciones de etanol superiores al 50% disminuyeron la recuperación de flavanoles a 60°C.

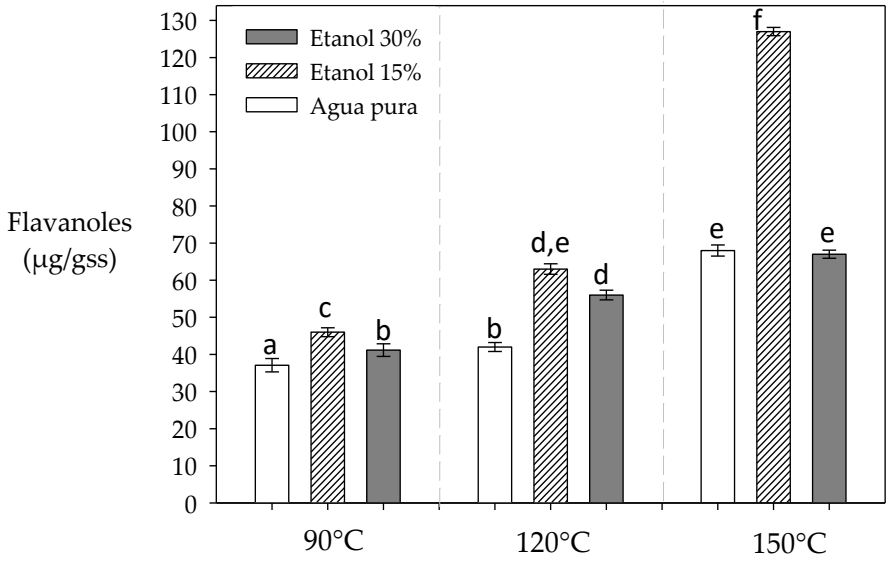


Figura 12. Efecto de los parámetros de proceso sobre el contenido de Flavanoles. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0.05$)

La mejor condición de proceso fue establecida a 150°C con 15% de etanol (Figura 12). Esto permitió recuperar importantes concentraciones de flavanoles tales como catequina, epicatequina y procianidinas (B2 y A2) con 13.46, 23.53, 17.88 y 28.15 µg/gss, respectivamente (Tabla 12).

4.2.3. Flavonoles

Si bien las altas temperaturas de extracción mejoraron la extracción de flavonoles, un aumento en la concentración de etanol disminuyó significativamente la recuperación de estos compuestos (Tabla 12 y Figura 13). Por ejemplo, si fijamos la temperatura a 150°C, un cambio de 0 a 30% de etanol reduce la recuperación de flavonoles en 67% (Tabla 11). Al respecto, Huaman-Castilla et al. (2019) reporto que el uso de cosolventes como el etanol desfavorece la recuperación de estos compuestos. Probablemente, la presencia de grupos carbonilo en la estructura de los flavonoles favorece su solubilidad en agua. Por ello, a medida que aumenta la concentración de etanol, las interacciones etanol-agua son más favorecidas que las interacciones con los polifenoles, lo que disminuiría la solubilidad de los flavonoles, reduciendo su recuperación durante la extracción. La mayor recuperación de flavonoles se recuperó a 150°C con agua pura, recuperando altas concentraciones de quercetina, Kaempferol y rutina. (Tabla 12).

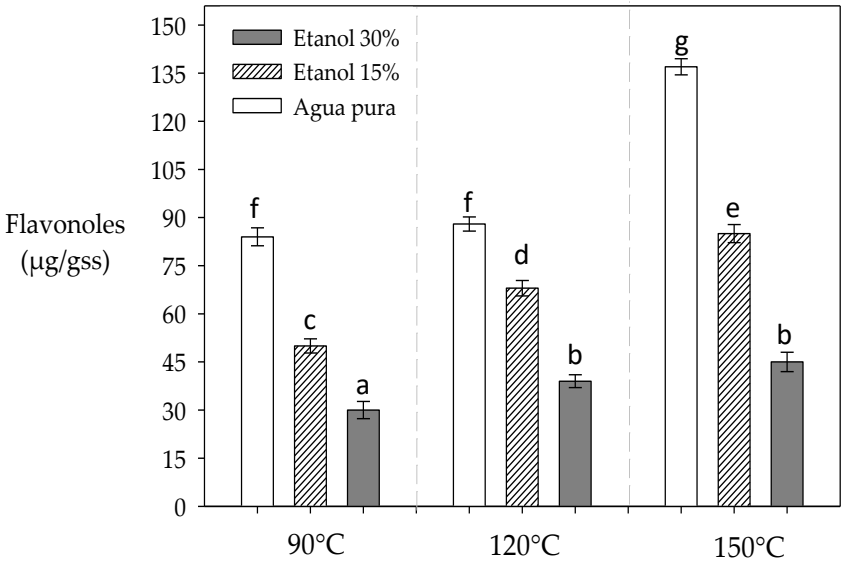


Figura 13. Efecto de los parámetros de proceso sobre el contenido de flavonoles. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0.05$)

4.2.4. Florotaninos

Al igual que los ácidos fenólicos, la recuperación de florotanino aumentó con la cantidad etanol y temperatura, cuyas concentraciones varían de 12.09 a 58.67 µg/gss (Tabla 12 y Figura 14). En investigaciones anteriores Erpel et al. (2021) y Pacheco et al. (2020) reportaron en algas pardas, que si bien existe presencia de familias de ácidos fenólicos, flavanoles y flavonoles, también existe una importante concentración de florotaninos. La capacidad antioxidante de estos polifenoles (florotaninos) se estiman que son de 2 a 3 veces mejores en comparación con otras familias especificas (Erpel et al., 2020; Yoon et al., 2017). Por ello, las estrategias futuras deben proponer el uso de tecnologías que permitan mejorar la selectividad en un proceso de extracción.

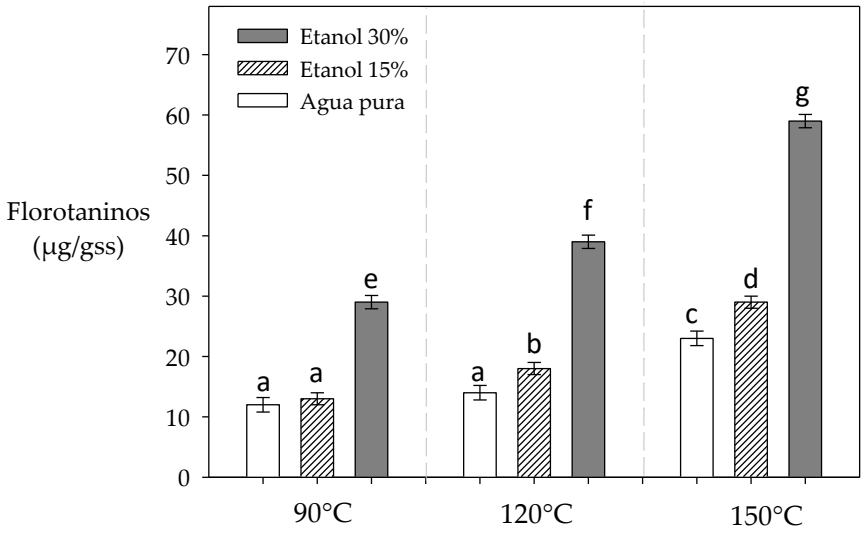


Figura 14. Efecto de los parámetros de proceso sobre el contenido de florotaninos. Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0.05$)

Tabla 12. Perfil de polifenoles obtenido en los extractos de algas marinas rojas

Descripción	**Agua pura**			**Etanol 15%**			**Etanol 30%**		
	90°C	120°C	150°C.	90°C	120°C	150°C.	90°C	120°C	150°C
	$\bar{x}$ DE	$\bar{x}$ DE	$\bar{x}$ DE	$\bar{x}$ DE	$\bar{x}$ DE	$\bar{x}$ DE	$\bar{x}$ DE	$\bar{x}$ DE	$\bar{x}$ DE
Ácidos (µg/gss)									
Ácido gálico	2.83 ± 0.03	3.08 ± 0.12	5.63 ± 0.41	4.11 ± 0.33	5.16 ± 1.02	8.86 ± 1.52	7.23 ± 1.88	8.66 ± 1.23	15.26 ± 2.32
Ácido cafeico	ND	ND	0.47 ± 0.07	ND	0.89 ± 0.06	1.35 ± 0.22	3.44 ± 0.78	4.98 ± 0.79	7.78 ± 1.71
Vanilina	ND	2.22 ± 0.09	4.35 ± 0.61	ND	3.01 ± 0.44	6.42 ± 1.11	5.67 ± 1.03	8.43 ± 1.21	11.14 ± 2.02
Subtotal	**3.92**	**5.30**	**10.35**	**4.11**	**9.06**	**5.77**	**16.34**	**22.07**	**34.18**
Flavanoles (µg/gss)									
Catequina	2.11 ± 0.27	3.67 ± 0.92	10.26 ± 1.95	4.11 ± 1.27	12.09 ± 2.55	23.05 ± 3.45	1.18 ± 0.21	5.89 ± 0.83	13.46 ± 3.01
Epicatequina	13.45 ± 2.78	16.78 ± 2.45	24.21 ± 3.12	15.23 ± 1.98	21.87 ± 1.98	46.03 ± 3.88	6.23 ± 1.04	13.53 ± 2.78	23.53 ± 2.77
Procianidina B2	6.77 ± 1.51	7.12 ± 1.89	14.85 ± 2.15	12.33 ± 1.33	18.44 ± 2.89	33.34 ± 1.76	4.78 ± 1.11	7.89 ± 1.47	17.88 ± 2.99
Procianidina A2	16.88 ± 2.21	18.33 ± 3.01	28.93 ± 3.81	19.36 ± 2.78	23.41 ± 3.08	47.37 ± 2.98	8.15 ± 1.75	14.56 ± 2.47	28.15 ± 3.22
Subtotal	**39.21**	**45.90**	**78.25**	**51.03**	**75.81**	**149.79**	**20.34**	**41.87**	**83.02**
Flavonoles (µg/gss)									
Quercetina	6.89 ± 1.38	7.89 ± 1.11	13.15 ± 1.55	4.35 ± 1.55	5.92 ± 1.09	7.89 ± 1.78	4.09 ± 1.05	4.78 ± 1.61	6.15 ± 1.56
Kaempferol	8.96 ± 1.82	8.66 ± 2.29	10.60 ± 1.21	5.18 ± 1.22	6.02 ± 1.44	8.13 ± 1.66	3.92 ± 0.96	4.03 ± 1.98	5.60 ± 1.09
rutina	67.87 ± 5.44	71.34 ± 8.13	112.70 ± 13.9	40.54 ± 7.41	55.66 ± 9.28	69.01 ± 7.27	21.67 ± 8.34	29.77 ± 9.33	32.70 ± 5.77
Subtotal	**83.72**	**87.89**	**136.45**	**50.07**	**67.60**	**85.03**	**29.68**	**38.58**	**44.45**
Florotaninos (µg/gss)									
Floroglucinol	12.09 ± 2.56	13.67 ± 1.78	23.45 ± 2.88	13.11 ± 1.78	17.55 ± 2.31	28.67 ± 3.05	28.99 ± 3.43	39.24 ± 3.77	58.67 ± 4.15

4.3. Comparación de los rendimientos obtenidos mediante la ELP y un proceso de extracción convencional atmosférico

El uso de etanol bajo condiciones subcríticas mostro ser más efectivo para obtener extractos polifenólicos con alta capacidad antioxidante en comparación con la extracción convencional que uso 60% de acetona a 30°C (Tabla 13). Si bien el etanol bajo condiciones atmosféricas presenta una polaridad mayor (π^*: 0.71) que la acetona (π^*: 0,51), el uso de altas presiones (10 atm) permite que su polaridad del etanol disminuya en 45% y se comporte como un solvente no polar (Jessop, 2011; Jessop et al., 2012). Esto explicaría porque el etanol es más efectivo para obtener extractos polifenólicos con alta capacidad antioxidante. Además, los polifenoles presentan anillos aromáticos (fracción no polar) y uno o más grupos hidroxilo (fracción polar) en su estructura química. Estas características químicas permiten que el etanol pueda interactuar con su fracción polar (grupo hidroxilo) y grupo no polar (metilo) durante un proceso de extracción (Yang et al., 2022). Por otro lado, la ELP permite la ruptura de los tejidos liberando los polifenoles de alto peso molecular que están interactuando con proteínas y carbohidratos, a diferencia de la extracción convencional que solo logra extraer los compuestos fenólicos de bajo peso molecular (Huaman-Castilla et al., 2019)

Tabla 13. Comparativo entre el uso de etanol versus el uso de acetona

Tipo de solvente	Polifenoles totales		IC_{50}		ORAC	
	Promedio	CV%	Promedio	CV%	Promedio	CV%
Etanol (30%) a 150°C	1.71[a]	2.23	16.81[a]	8.27	121.89[a]	2.84
Acetona (60%) a 30°C	0.24[b]	2.63	28.58[b]	3.13	41.49[b]	3.67

El contenido de polifenoles totales es expresado como miligramos equivalentes a ácido gálico por gramo de sólido seco (mg EAG/gss). DPPH es expresado como factor IC_{50} en miligramos por mililitro (mg/mL). La capacidad antioxidante por ORAC esta expresado como micromoles de equivalente trolox por gramo de solido seco (µmol ET/gss). CV representa el coeficiente de variación (n= 2). Letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

V. CONCLUSIONES

- El uso de altas temperaturas (150°C) y concentraciones de etanol (30%) permitió obtener extractos polifenólicos (1.71 mg EAG/gss) con alta capacidad antioxidante (IC50: 16.81 mg/mL, ORAC: 121.89 umol ET/gss). Esto debido a que la estructura química del etanol presenta una fracción polar (hidroxilo) y no polar (metilo) que permite una mayor habilidad del solvente para interactuar con los polifenoles.

- Si bien las altas temperaturas fueron efectivas para recuperar especificas familias de polifenoles, la composición del solvente permitió realizar un proceso selectivo. Altas concentraciones de etanol (30%) fue efectivo para recuperar ácidos fenólicos (34.18 µg/gss) y florotaninos (58.67 µg/gss), concentraciones intermedias recuperaron altas concentraciones de flavanoles (126.74 µg/gss). Contrariamente, el uso de agua pura es más efectivo para recuperar flavonoles (136.45 µg/gss).

- La mejor condición de proceso fue establecida a 150°C con 30% de etanol bajo condiciones subcríticas. Estas condiciones fueron más eficientes para obtener extractos polifenólicos en comparación con el uso de acetona bajo condiciones atmosféricas. Estos resultados se pueden proyectar para futuros escalamientos que permitan optimizar la recuperación de polifenoles.

VI. RECOMENDACIONES

- Si bien el uso de etanol como solvente de extracción es una buena alternativa de extracción sustentable, se recomienda seguir realizando estudios en búsqueda de otros solventes amigables de bajo costo.

- Antes del escalamiento industrial es necesario continuar los estudios en este tipo de algas rojas, considerando las variables respuesta tales como azucares reductores, aminoácidos y compuestos tóxicos en los extractos obtenidos a partir de algas rojas.

VII. REFERENCIAS

Alara, O. R., Abdurahman, N. H., & Ukaegbu, C. I. (2021). Extraction of phenolic compounds: A review. *Current Research in Food Science*, *4*(March), 200–214. https://doi.org/10.1016/j.crfs.2021.03.011

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

Allcca-Alca, E. E., León-Calvo, N. C., Luque-Vilca, O. M., Martínez-Cifuentes, M., Pérez-Correa, J. R., Mariotti-Celis, M. S., & Huamán-Castilla, N. L. (2021). Hot pressurized liquid extraction of polyphenols from the skin and seeds of vitis vinifera L. Cv. negra criolla pomace a peruvian native pisco industry waste. *Agronomy*, *11*(5), 0–9. https://doi.org/10.3390/agronomy11050866

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

Antognoni, F., Potente, G., Biondi, S., Mandrioli, R., Marincich, L., & Ruiz, K. (2021). Free and Conjugated Phenolic Profiles and Antioxidant Activity and Environment. *Plants*, *10*, 1046.

Arbaiza, S., Avila-Peltroche, J., Castañeda-Franco, M., Mires-Reyes, A., Advíncula, O., & Baltazar, P. (2023). Vegetative Propagation of the Commercial Red Seaweed Chondracanthus chamissoi in Peru by Secondary Attachment Disc during Indoor Cultivation. *Plants*, *12*(10). https://doi.org/10.3390/plants12101940

Ariffin, F. D., Abdullah, A., Hisham, S., Ariffin, Z., & Chan, K. M. (2015). Antioxidant activity of red algae Kappaphycus alvarezii and Kappaphycus striatum Antioxidant activity of red algae Kappaphycus alvarezii and Kappaphycus striatum. *International Food Research Journal*, *5*(January 2018), 1977–1984.

Atoche-Suclupe, D., Campos, L., Uribe, R. A., Buitrón, B., Veneros, B., & Berríos, F. (2023). Describing factors that influence Chondracanthus chamissoi (Rhodophyta) fishery in northern Peru under the DPSIR conceptual framework: Implications for the design of integral management strategies. *Ocean and Coastal Management*, *244*(August). https://doi.org/10.1016/j.ocecoaman.2023.106814

Babbar, N., Oberoi, H. S., Sandhu, S. K., & Bhargav, V. K. (2014). Influence of different solvents in extraction of phenolic compounds from vegetable residues and their evaluation as natural sources of antioxidants. *Journal of Food Science and Technology*, *51*(10), 2568–2575. https://doi.org/10.1007/s13197-012-0754-4

Bosso, A., Guaita, M., & Petrozziello, M. (2016). Influence of solvents on the composition of condensed tannins in grape pomace seed extracts. *Food Chemistry*, *207*, 162–169. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.03.084

Bover, E., Padr, P. C., Jose, C., & Lloris, M. (2016). Extraction of polyphenols in Himanthalia elongata and determination by High Performance Liquid Chromatography with Diode Array Detector prior to its potential use against oxidative stress. *Journal of Chromatography B*. https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2016.09.001

Braidot, E., Zancani, M., Petrussa, E., Vianello, A., Bertolini, A., Peresson, C., Macrì, F., & Patui, S. (2011). Transport and accumulation of flavonoids in grapevine (Vitis vinifera L.). *Plant Signaling & Behavior*, *3*(9), 626–632. https://doi.org/10.4161/psb.3.9.6686

Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. In *LWT - Food Science and Technology*. https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5

Carbajal, W., De la Cruz, J., & Galán, J. (2005). "Prospección del recurso Chondracanthus chamissoi en la playa de Huanchaco (Trujillo): Santa Rosa." In *Instituo del mar del Perú*.

Carpena, M., Caleja, C., Pereira, E., Pereira, C., Ćirić, A., Soković, M., Soria-Lopez, A., Fraga-Corral, M., Simal-Gandara, J., Ferreira, I. C. F. R., Barros, L., & Prieto, M. A. (2021). Red seaweeds as a source of nutrients and bioactive compounds: Optimization of the extraction. *Chemosensors*, *9*(6). https://doi.org/10.3390/chemosensors9060132

Castejón, N., Parailloux, M., Izdebska, A., Lobinski, R., & Fernandes, S. C. M. (2021). Valorization of the red algae gelidium sesquipedale by extracting a broad spectrum of minor compounds using green approaches. *Marine Drugs*, *19*(10). https://doi.org/10.3390/md19100574

Catarino, M. D., Silva, A. M. S., & Cardoso, S. M. (2017). Fucaceae : A Source of Bioactive Phlorotannins. *International Journal of Molecular Sciences*. https://doi.org/10.3390/ijms18061327

Chirinos, R., Pedreschi, R., Rogez, H., Larondelle, Y., & Campos, D. (2013). Phenolic

compound contents and antioxidant activity in plants with nutritional and/or medicinal properties from the Peruvian Andean region. *Industrial Crops and Products*, *47*, 145–152. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.02.025

Choudhary, B., Chauhan, O. P., & Mishra, A. (2021). Edible Seaweeds: A Potential Novel Source of Bioactive Metabolites and Nutraceuticals With Human Health Benefits. *Frontiers in Marine Science*, *8*(October). https://doi.org/10.3389/fmars.2021.740054

Cuevas-Valenzuela, J., González-Rojas, Á., Wisniak, J., Apelblat, A., & Pérez-Correa, J. R. (2015). Solubility of (+)-catechin in water and water-ethanol mixtures within the temperature range 277.6-331.2K: Fundamental data to design polyphenol extraction processes. *Fluid Phase Equilibria*, *382*, 279–285. https://doi.org/10.1016/j.fluid.2014.09.013

Cvjetko Bubalo, M., Vidović, S., Radojčić Redovniković, I., & Jokić, S. (2015). Green solvents for green technologies. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, *90*(9), 1631–1639. https://doi.org/10.1002/jctb.4668

da Silva, L. C., Viganó, J., de Souza Mesquita, L. M., Dias, A. L. B., de Souza, M. C., Sanches, V. L., Chaves, J. O., Pizani, R. S., Contieri, L. S., & Rostagno, M. A. (2021). Recent advances and trends in extraction techniques to recover polyphenols compounds from apple by-products. *Food Chemistry: X*, *12*. https://doi.org/10.1016/j.fochx.2021.100133

Dai, J., & Mumper, R. J. (2010). Plant phenolics: Extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. *Molecules*, *15*(10), 7313–7352. https://doi.org/10.3390/molecules15107313

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

Downey, M. O., & Hanlin, R. L. (2010). Comparison of ethanol and acetone mixtures for extraction of condensed tannin from grape skin. *South African Journal of Enology and Viticulture*, *31*(2), 154–159.

Duba, K. S., Casazza, A. A., Mohamed, H. Ben, Perego, P., & Fiori, L. (2015). Extraction of polyphenols from grape skins and defatted grape seeds using subcritical water: Experiments and modeling. *Food and Bioproducts Processing*, *94*, 29–38. https://doi.org/10.1016/j.fbp.2015.01.001

Erpel, A. F. (2022). *ASSESSMENT OF AN INTEGRATED EXTRACTION-PURIFICATION PROCESS FOR OBTAINING PHLOROTANNIN-RICH EXTRACTS WITH ANTIHYPERGLYCEMIC POTENTIAL FROM CHILEAN BROWN SEAWEEDS ASSESSMENT OF AN INTEGRATED EXTRACTION-PURIFICATION PROCESS FOR OBTAINING PHLOROTANNIN-RICH E* (Issue December).

Erpel, F., Mariotti-Celis, M. S., Parada, J., Pedreschi, F., & Pérez-Correa, J. R. (2021). Pressurized hot liquid extraction with 15% v/v glycerol-water as an effective environment-friendly process to obtain durvillaea incurvata and lessonia spicata phlorotannin extracts with antioxidant and antihyperglycemic potential. *Antioxidants*, *10*(7). https://doi.org/10.3390/antiox10071105

Erpel, F., Mateos, R., Pérez-Jiménez, J., & Pérez-Correa, J. R. (2020). Phlorotannins: From isolation and structural characterization, to the evaluation of their antidiabetic and anticancer potential. *Food Research International*, *137*(March), 109589. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109589

FAO. (2022). *La Industria de las algas marinas*. https://www.fao.org/3/y3550s/y3550s04.htm

Firdayanti, L., Yanti, R., Rahayu, E. S., & Hidayat, C. (2023). Carrageenan extraction from red seaweed (Kappaphycopsis cottonii) using the bead mill method. *Algal Research*, *69*(November 2022), 102906. https://doi.org/10.1016/j.algal.2022.102906

Fontana, A., Antoniolli, A., D'Amario Fernández, M. A., & Bottini, R. (2017). Phenolics profiling of pomace extracts from different grape varieties cultivated in Argentina. *RSC Adv.*, *7*(47), 29446–29457. https://doi.org/10.1039/C7RA04681B

Fontana, A. R., Antoniolli, A., & Bottini, R. (2013). Grape pomace as a sustainable source of bioactive compounds: Extraction, characterization, and biotechnological applications of phenolics. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *61*(38), 8987–9003. https://doi.org/10.1021/jf402586f

Freile-Pelegrin, & Robledo, D. (2017). Bioactive phenolic compounds from algae. In *Bioactive Compounds from Marine Foods* (Issue May).

Fu, C. W. F., Ho, C. W., Yong, W. T. L., Abas, F., Tan, T. B., & Tan, C. P. (2016). Extraction of phenolic antioxidants from four selected seaweeds obtained from Sabah. *International Food Research Journal*, *23*(6), 2363–2369.

Galanakis, C. M., Goulas, V., Tsakona, S., Manganaris, G. A., & Gekas, V. (2013). A knowledge base for the recovery of natural phenols with different solvents.

International Journal of Food Properties, *16*(2), 382–396. https://doi.org/10.1080/10942912.2010.522750

Gan, A., & Baroutian, S. (2022). Subcritical water extraction for recovery of phenolics and fucoidan from New Zealand Wakame (Undaria pinnatifida) seaweed. *Journal of Supercritical Fluids*, *190*(August), 105732. https://doi.org/10.1016/j.supflu.2022.105732

Gao, Y., Zietsman, A. J. J., Vivier, M. A., & Moore, J. P. (2019). Deconstructing wine grape cell walls with enzymes during winemaking: New insights from glycan microarray technology. *Molecules*, *24*, 1–19. https://doi.org/10.3390/molecules24010165

Garcia-Jares, C., Vazquez, A., Lamas, J., Pajaro, M., Alvarez-Casas, M., & Lores, M. (2015). Antioxidant White Grape Seed Phenolics: Pressurized Liquid Extracts from Different Varieties. *Antioxidants*, *4*(4), 737–749. https://doi.org/10.3390/antiox4040737

Gómez-Guzmán, M., Rodríguez-Nogales, A., Algieri, F., & Gálvez, J. (2018). Potential role of seaweed polyphenols in cardiovascular-associated disorders. In *Marine Drugs*. https://doi.org/10.3390/md16080250

Goyeneche, R., Roura, S., Ponce, A., Vega-Gálvez, A., Quispe-Fuentes, I., Uribe, E., & Di Scala, K. (2015). Chemical characterization and antioxidant capacity of red radish (Raphanus sativus L.) leaves and roots. *Journal of Functional Foods*, *16*, 256–264. https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.04.049

Grand View Research. (2019). *Polyphenols Market Size, Share & Trends Analysis Report By Product (Grape Seed, Green Tea, Cocoa), By Application (Beverages, Food, Feed, Dietary Supplements, Cosmetics), And Segment Forecasts, 2019 - 2025*. Grand View Research. https://www.grandviewresearch.com/industry-analysis/polyphenols-market-analysis

Gui, J., Ding, H., Wang, Y., Gao, Y., Han, X., Liu, S., & Liu, D. (2016). Subcritical ethanol extraction of flavonoids from Moringa oleifera leaf and evaluation of antioxidant activity. *Food Chemistry*, *218*, 152–158. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.09.058

Guido, L. F., & Moreira, M. M. (2017). Techniques for Extraction of Brewer ' s Spent Grain Polyphenols : a Review. In *Food Bioprocess Technol*. Food and Bioprocess Technology. https://doi.org/10.1007/s11947-017-1913-4

Gulcin, İ. (2020). Antioxidants and antioxidant methods: an updated overview. In *Archives*

of Toxicology (Vol. 94, Issue 3). https://doi.org/10.1007/s00204-020-02689-3

Heo, S., Park, E., Lee, K., & Jeon, Y. (2005). Antioxidant activities of enzymatic extracts from brown seaweeds. *Bioresource Technology*, *96*, 1613–1623. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2004.07.013

Huamán-Castilla, N. L., Copa-Chipana, C., Mamani-Apaza, L. O., Luque-Vilca, O. M., Campos-Quiróz, C. N., Zirena-Vilca, F., & Mariotti-Celis, M. S. (2023). Selective Recovery of Polyphenols from Discarded Blueberries (Vaccinium corymbosum L.) Using Hot Pressurized Liquid Extraction Combined with Isopropanol as an Environmentally Friendly Solvent. *Foods*, *12*(19), 1–11. https://doi.org/10.3390/foods12193694

Huamán-Castilla, N. L., Gajardo-Parra, N., Pérez-Correa, J. R., Canales, R. I., Martínez-Cifuentes, M., Contreras-Contreras, G., & Mariotti-Celis, M. S. (2023). Enhanced Polyphenols Recovery from Grape Pomace: A Comparison of Pressurized and Atmospheric Extractions with Deep Eutectic Solvent Aqueous Mixtures. *Antioxidants*, *12*(7). https://doi.org/10.3390/antiox12071446

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.

Huamán-Castilla, N. L., Mariotti-Celis, M. S., Martínez-Cifuentes, M., & Pérez-Correa, J. R. (2020). Glycerol as alternative co-solvent for water extraction of polyphenols from Carménère pomace: Hot pressurized liquid extraction and computational chemistry calculations. *Biomolecules*, *10*(3), 1–14. https://doi.org/10.3390/biom10030474

Huaman-Castilla, N. L., Mariotti-Celis, M. S., & Perez-Correa, J. R. (2017). Polyphenols of Carménère Grapes. *Mini-Reviews in Organic Chemistry*, *14*(3), 176–186. https://doi.org/10.2174/1570193X14666170206151439

Huamán-Castilla, N. L., Mariotti-Celis, M. S., & Pérez-Correa, J. R. (2017). Polyphenols of carménère grapes. *Mini-Reviews in Organic Chemistry*, *14*(3). https://doi.org/10.2174/1570193X14666170206151439

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

https://doi.org/10.3390/molecules24173145

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

Huang, W. Y., Zhang, H. C., Liu, W. X., & Li, C. Y. (2012). Survey of antioxidant capacity and phenolic composition of blueberry, blackberry, and strawberry in Nanjing. In *Journal of Zhejiang University: Science B* (Vol. 13, Issue 2). https://doi.org/10.1631/jzus.B1100137

IMARPE. (2019). *Estudios sobre macroalgas pardas en el sur del perú. 2011 - 2015: Vol. Extraordin*. http://biblioimarpe.imarpe.gob.pe:8080/handle/123456789/2179

Jessop, P. G. (2011). Searching for green solvents. *Green Chemistry*, *13*(6), 1391–1398. https://doi.org/10.1039/c0gc00797h

Jessop, P. G., Jessop, D. A., Fu, D., & Phan, L. (2012). Solvatochromic parameters for solvents of interest in green chemistry. *Green Chemistry*, *14*(5), 1245–1259. https://doi.org/10.1039/c2gc16670d

Jorge Luis Lecaro-Zambrano. (2021). *Las Algas en la Productividad Económica de las Industrias Internacionales* [Universidad Técnica de Machala]. file:///C:/Users/Usuario/Downloads/Dialnet-LasAlgasEnLaProductividadEconomicaDeLasIndustriasI-8219264.pdf

Kennedy, J. A. (2008). Grape and wine phenolics: Observations and recent findings. *Ciencia e Investigacion Agraria*, *35*(2), 77–90. https://doi.org/10.4067/S0718-16202008000200001

Ko, M. J., Cheigh, C. I., Cho, S. W., & Chung, M. S. (2011). Subcritical water extraction of flavonol quercetin from onion skin. *Journal of Food Engineering*, *102*(4), 327–333. https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2010.09.008

Kwak, J. H., Seo, J. M., Kim, N. H., Arasu, M. V., Kim, S., Yoon, M. K., & Kim, S. J. (2017). Variation of quercetin glycoside derivatives in three onion (Allium cepa L.) varieties. *Saudi Journal of Biological Sciences*, *24*(6), 1387–1391. https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2016.05.014

Lafarga, T., Acién-Fernández, F. G., & Garcia-Vaquero, M. (2020). Bioactive peptides and carbohydrates from seaweed for food applications: Natural occurrence, isolation, purification, and identification. *Algal Research*, *48*(April).

https://doi.org/10.1016/j.algal.2020.101909

Lama-Muñoz, A., del Mar Contreras, M., Espínola, F., Moya, M., de Torres, A., Romero, I., & Castro, E. (2019). Extraction of oleuropein and luteolin-7-O-glucoside from olive leaves: Optimization of technique and operating conditions. *Food Chemistry*, *293*(January), 161–168. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.04.075

Macchiavello, J., Bulboa, C., Sepúlveda, C., Veliz, K., Sáez, F., Vega, L., & Veliz, R. (2012). *"Manual de Cultivo de Chondracanthus chamissoi Chicorea de Mar".Chile: FONDEF.*

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

Marcus, Y. (2018). Extraction by Subcritical and Supercritical Water, Methanol, Ethanol and Their Mixtures. *Separations*, *5*(1), 4. https://doi.org/10.3390/separations5010004

Mariotti-Celis, M. S., Martínez-Cifuentes, M., Huamán-Castilla, N., Pedreschi, F., Iglesias-Rebolledo, N., & Pérez-Correa, J. R. (2018a). 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., Pedreschi, F., Iglesias-Rebolledo, N., & Pérez-Correa, J. R. (2018b). 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). 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

Mlcek, J., Jurikova, T., Skrovankova, S., & Sochor, J. (2016). Quercetin and its anti-allergic immune response. *Molecules*, *21*(5), 1–15.

https://doi.org/10.3390/molecules21050623

Monrad, J. K., Howard, L. R., King, J. W., Srinivas, K., & Mauromoustakos, A. (2010). Subcritical solvent extraction of anthocyanins from dried red grape pomace. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *58*(5), 2862–2868. https://doi.org/10.1021/jf904087n

Munteanu, I. G., & Apetrei, C. (2021). Analytical methods used in determining antioxidant activity: A review. *International Journal of Molecular Sciences*, *22*(7). https://doi.org/10.3390/ijms22073380

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, pp. 8–18). https://doi.org/10.1016/j.aca.2011.07.018

Naczk, M., & Shahidi, F. (2004). Extraction and analysis of phenolics in food. *Journal of Chromatography A*, *1054*(1–2), 95–111. https://doi.org/10.1016/j.chroma.2004.08.059

Nastić, N., Švarc-Gajić, J., Delerue-Matos, C., Morais, S., Barroso, M. F., & Moreira, M. M. (2018). Subcritical water extraction of antioxidants from mountain germander (Teucrium montanum L.). *Journal of Supercritical Fluids*, *138*(March), 200–206. https://doi.org/10.1016/j.supflu.2018.04.019

Obreque-Slier, E., Peña-Neira, Á., & López-Solís, R. (2011). Precipitation of low molecular weight phenolic compounds of grape seeds cv. Carménère (Vitis vinifera L.) by whole saliva. *European Food Research and Technology*, *232*(1), 113–121. https://doi.org/10.1007/s00217-010-1365-9

Otaíza, R., & Cáceres, J. (2015). *Manual de una técnica para el repoblamiento de la chicoria de mar , Chondracanthus chamissoi (C . Agardh) Kützing (Rhodophyta , Gigartinales), en praderas naturales , Región del Biobío* . (Issue May 2015).

Otero-Pareja, M. J., Casas, L., Fernández-Ponce, M. T., Mantell, C., & De La Ossa, E. J. M. (2015). Green extraction of antioxidants from different varieties of red grape pomace. *Molecules*, *20*(6), 9686–9702. https://doi.org/10.3390/molecules20069686

Otero, P., López-martínez, M. I., & García-risco, M. R. (2018). Application of Pressurized Liquid Extraction (PLE) to obtain bioactive fatty acids and phenols from Laminaria ochroleuca collected in Galicia (NW Spain). *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. https://doi.org/10.1016/j.jpba.2018.09.057

Pacheco, L. V., Parada, J., Pérez-Correa, J. R., Mariotti-Celis, M. S., Erpel, F., Zambrano,

A., & Palacios, M. (2020). Bioactive Polyphenols from Southern Chile Seaweed as Inhibitors of Enzymes for Starch Digestion. *Marine Drugs*, *18*(7), 1–12. https://doi.org/10.3390/md18070353

Plaza, M., Amigo-Benavent, M., del Castillo, M. D., Ibáñez, E., & Herrero, M. (2010). Neoformation of antioxidants in glycation model systems treated under subcritical water extraction conditions. *Food Research International*, *43*(4), 1123–1129. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.02.005

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

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

Puspita, M., Déniel, M., Widowati, I., Radjasa, O. K., Douzenel, P., Marty, C., Vandanjon, L., Bedoux, G., & Bourgougnon, N. (2017). Total phenolic content and biological activities of enzymatic extracts from Sargassum muticum (Yendo) Fensholt. *Journal of Applied Phycology*, *29*(5), 2521–2537. https://doi.org/10.1007/s10811-017-1086-6

Putnik, P., Barba, F. J., Španić, I., Zorić, Z., Dragović-Uzelac, V., & Bursać Kovačević, D. (2017). Green extraction approach for the recovery of polyphenols from Croatian olive leaves (Olea europea). *Food and Bioproducts Processing*, *106*, 19–28. https://doi.org/10.1016/j.fbp.2017.08.004

Quitral R., V., Morales G., C., Sepúlveda L., M., & Schwartz M., M. (2012). Propiedades nutritivas y saludables de algas marinas y su potencialidad como ingrediente funcional. *Revista Chilena de Nutricion*, *39*(4), 196–202. https://doi.org/10.4067/S0717-75182012000400014

Rajapaksha, S., & Shimizu, N. (2022). Pilot-scale extraction of polyphenols from spent black tea by semi-continuous subcritical solvent extraction. *Food Chemistry: X*, *13*(November 2021), 100200. https://doi.org/10.1016/j.fochx.2021.100200

Rasyid, A. (2017). Evaluation of nutritional composition of the dried seaweed Ulva lactuca from Pameungpeuk waters, Indonesia. *Tropical Life Sciences Research*, *28*(2), 119–125. https://doi.org/10.21315/tlsr2017.28.2.9

Rodríguez, E., Fernández, M., Alvítez, E., Pollack, L., Luján, L., Geldres, C., & Paredes, Y. (2018). Seaweeds of the coast of La Libertad region, Peru. *Scientia Agropecuaria*, *9*(1), 71–81. https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2018.01.08

Rosa, A. D., Junges, A., Fernandes, I. A., Cansian, R. L., Corazza, M. L., Franceschi, E., Backes, G. T., & Valduga, E. (2019). High pressure extraction of olive leaves (Olea europaea): bioactive compounds, bioactivity and kinetic modelling. *Journal of Food Science and Technology*, *56*(8), 3864–3876. https://doi.org/10.1007/s13197-019-03856-w

Roselló-Soto, E., Martí-Quijal, F., Cilla, A., Munekata, P., Lorenzo, J., Remize, F., & Barba, F. (2019). Influence of Temperature, Solvent and pH on the Selective Extraction of Phenolic Compounds from Tiger Nuts by-Products: Triple-TOF-LC-MS-MS Characterization. *Molecules*, *24*(4), 797. https://doi.org/10.3390/molecules24040797

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), 109–124. https://doi.org/10.3109/09637480903292601

Sánchez-Bonet, D., García-Oms, S., Belda-Antolí, M., Padrón-Sanz, C., Lloris-Carsi, J. M., & Cejalvo-Lapeña, D. (2021). RP-HPLC-DAD determination of the differences in the polyphenol content of Fucus vesiculosus extracts with similar antioxidant activity. *Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*, *1184*(June). https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2021.122978

Santos, D. T., Veggi, P. C., & Meireles, M. A. A. (2010). Extraction of antioxidant compounds from Jabuticaba (Myrciaria cauliflora) skins: Yield, composition and economical evaluation. *Journal of Food Engineering*, *101*(1), 23–31. https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2010.06.005

Santos, D. T., Veggi, P. C., & Meireles, M. A. A. (2012). Optimization and economic evaluation of pressurized liquid extraction of phenolic compounds from jabuticaba skins. *Journal of Food Engineering*, *108*(3), 444–452. https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2011.08.022

Serafini, M., Testa, M. F., Villaño, D., Pecorari, M., van Wieren, K., Azzini, E., Brambilla, A., & Maiani, G. (2009). Antioxidant activity of blueberry fruit is impaired by association with milk. *Free Radical Biology and Medicine*, *46*(6). https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2008.11.023

Shi, J., Yu, J., Pohorly, J. E., & Kakuda, Y. (2004). Polyphenolics in Grape Seeds—Biochemistry and Functionality. *Journal of Medicinal Food*, *6*(4), 291–299. https://doi.org/10.1089/109662003772519831

SIGMA ALDRICH. (2023). *Catalog Products*. http://www.sigmaaldrich.com/

Singh, I. P., Sidana, J., & Education, P. (2013). 5 Phlorotannins. In *Functional ingredients from algae for foods and nutraceuticals* (pp. 181–204). https://doi.org/10.1533/9780857098689.1.181

Singh, V., Al-Malki, F., Sadat Ali, M., Sheikha, S. I., Fletcher, P., Guizani, N., Al-Saidi, O., Al-Hanaai, R., Al-bahri, R., Al-Ghdani, S., Hasan, S. S., & Shah, H. H. (2016). Rhus aucheri Boiss, an Omani herbal medicine: Identification and in-vitro antioxidant and antibacterial potentials of its leaves' extracts. *Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences*, *5*(4), 334–339. https://doi.org/10.1016/j.bjbas.2016.11.002

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

Soquetta, M. B., Terra, L. de M., & Bastos, C. P. (2018). 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

Soural, I., Vrchotová, N., Tříska, J., Balík, J., Horník, Š., Cuřínová, P., & Sýkora, J. (2015). Various extraction methods for obtaining stilbenes from grape cane of Vitis vinifera L. *Molecules*, *20*(4), 6093–6112. https://doi.org/10.3390/molecules20046093

Sultana, F., Wahab, M. A., Nahiduzzaman, M., Mohiuddin, M., Iqbal, M. Z., Shakil, A., Mamun, A. Al, Khan, M. S. R., Wong, L. L., & Asaduzzaman, M. (2023). Seaweed farming for food and nutritional security, climate change mitigation and adaptation, and women empowerment: A review. *Aquaculture and Fisheries*, *8*(5), 463–480. https://doi.org/10.1016/j.aaf.2022.09.001

Surender Reddy, K., Abraham, A., Afewerki, B., Tsegay, B., Ghebremedhin, H., & Teklehaimanot, B. (2018). Extraction of Agar and Alginate from Marine Seaweeds in Red Sea Region. *International Journal of Marine Biology and Research*, *3*(2), 1–8. https://doi.org/10.15226/24754706/3/2/00126

Tangkhavanich, B., Kobayashi, T., & Adachi, S. (2014). Effects of repeated treatment on the properties of rice stem extract using subcritical water, ethanol, and their mixture. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, *20*(4), 2610–2614. https://doi.org/10.1016/j.jiec.2013.10.048

Tierney, M. S., Smyth, T. J., Hayes, M., Soler-vila, A., Croft, A. K., & Brunton, N. (2013). Original article Influence of pressurised liquid extraction and solid – liquid extraction

methods on the phenolic content and antioxidant activities of Irish macroalgae. *International Journal of Food Science and Technology*, 860–869. https://doi.org/10.1111/ijfs.12038

Uribe, R. A., Paredes-paredes, J., & Atoche-suclupe, D. (2018). *CARACTERÍSTICAS BIOECOLÓGICAS DE LA MACROALGA ROJA Chondracanthus chamissoi (C . Agardh) Kützing (Rhodophyta , Gigartinaceae) EN LA ZONA INTERMAREAL DEL NORTE DE PERÚ*.

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), 6929–6936. https://doi.org/10.1021/jf4010143

Vergara-Salinas, J. R., Pérez-Jiménez, J., Torres, J. L., Agosin, E., & Pérez-Correa, J. R. (2012). Effects of temperature and time on polyphenolic content and antioxidant activity in the pressurized hot water extraction of deodorised thyme (Thymus vulgaris). Effects of temperature and time on polyphenolic content and antioxidant activity in the press. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *60*, 10920–10929. https://doi.org/doi.org/10.1021/jf3027759

Vergara-Salinas, J. R., Vergara, M., Altamirano, C., Gonzalez, Á., & Pérez-Correa, J. R. (2015). Characterization of pressurized hot water extracts of grape pomace: Chemical and biological antioxidant activity. *Food Chemistry*, *171*, 62–69. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.08.094

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

Wijngaard, H., & Brunton, N. (2009). The optimization of extraction of antioxidants from apple pomace by pressurized liquids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *57*(22), 10625–10631. https://doi.org/10.1021/jf902498y

Xu, Z., Hao, N., Li, L., Zhang, Y., Yu, L., Jiang, L., & Sui, X. (2019). Valorization of Soy Whey Wastewater: How Epigallocatechin-3-gallate Regulates Protein Precipitation. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, acssuschemeng.9b03208. https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.9b03208

Xynos, N., Papaefstathiou, G., Gikas, E., Argyropoulou, A., Aligiannis, N., & Skaltsounis, A. L. (2014). Design optimization study of the extraction of olive leaves performed with pressurized liquid extraction using response surface methodology. *Separation and Purification Technology*, *122*, 323–330. https://doi.org/10.1016/j.seppur.2013.10.040

Yang, W., Guo, Y., Liu, M., Chen, X., Xiao, X., Wang, S., Gong, P., Ma, Y., & Chen, F. (2022). Structure and function of blueberry anthocyanins: A review of recent advances. *Journal of Functional Foods*, *88*, 104864. https://doi.org/10.1016/j.jff.2021.104864

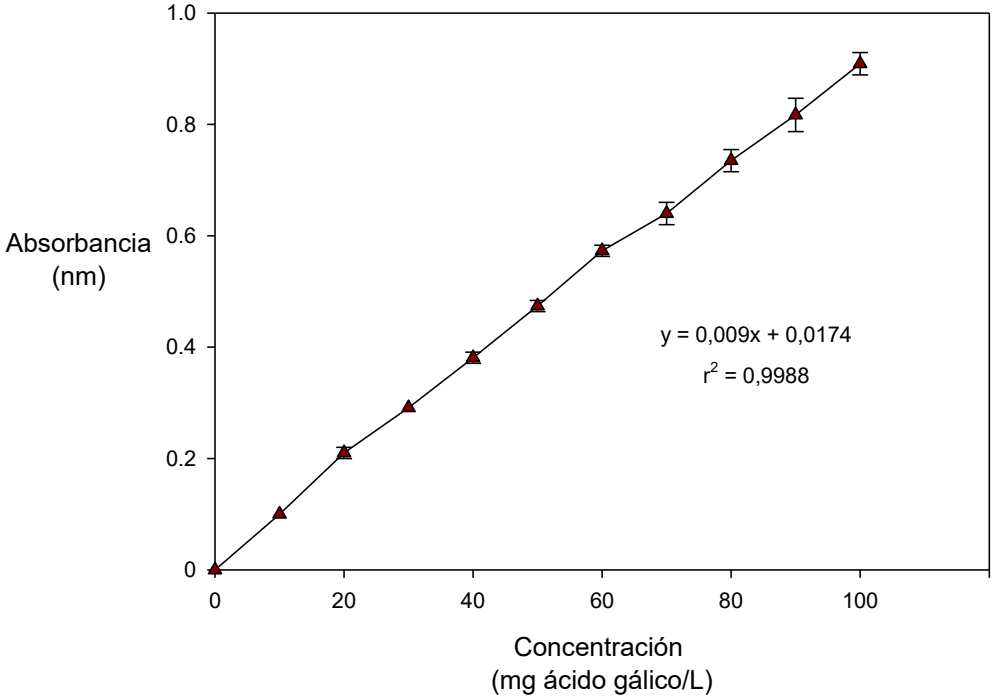
Yoon, M., Kim, J. S., Um, M. Y., Yang, H., Kim, J., Kim, Y. T., Lee, C., Kim, S. B., Kwon, S., & Cho, S. (2017). Extraction Optimization for Phlorotannin Recovery from the Edible Brown Seaweed Ecklonia Cava. *Journal of Aquatic Food Product Technology*, *26*(7), 801–810. https://doi.org/10.1080/10498850.2017.1313348

Yoshie-Stark, Y., Hsieh, Y.-P., & Susuki, T. (2003). Distribution of flavonoids and related compounds from seaweeds in Japan. *Journal of Tokyo University of Fisheries*, *88*, 1–6.

Yu, J., & Ahmedna, M. (2013). Functional components of grape pomace: Their composition, biological properties and potential applications. *International Journal of Food Science and Technology*, *48*(2), 221–237. https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2012.03197.x

VIII. ANEXOS

Anexo 1. Curva de calibración a partir de ácido gálico



Punto de calibración	Concentración (mg ácido gálico/L)	Absorbancia (nm)
	x	y
1	0	0,000
2	10	0,100
3	20	0,210
4	30	0,291
5	40	0,381
6	50	0,474
7	60	0,573
8	70	0,640
9	80	0,735
10	90	0,817
11	100	0,909

Anexo 2. Contenido de polifenoles totales

TRATAMIENTO		Peso base SECA	ABSORBANCIA 765 NM	mgGAE/L	concentración mgGAE/gss
H20	90-1	5.004	0.16	16.9565	0.2406
	90-2	5.0042	0.171	18.1522	0.2575
	120-1	5.0023	0.142	15.0000	0.2129
	120-2	5.003	0.137	14.4565	0.2052
	150-1	5.004	0.657	70.9783	1.0071
	150-2	5.0047	0.697	75.3261	1.0686
Etanol 15%	90-1	5.0055	0.17	18.0435	0.2559
	90-2	5.005	0.179	19.0217	0.2698
	120-1	5.0035	0.182	19.3478	0.2745
	120-2	5.004	0.179	19.0217	0.2699
	150-1	5.0039	0.738	79.7826	1.1320
	150-2	5.004	0.799	86.4130	1.2261
Etanol 30%	90-1	5.004	0.187	19.8913	0.2822
	90-2	5.0042	0.176	18.6957	0.2653
	120-1	5.0045	0.185	19.6739	0.2791
	120-2	5.004	0.167	17.7174	0.2514
	150-1	5.0044	1.095	118.5870	1.6825
	150-2	5.0044	1.13	122.3913	1.7364

Anexo 3. Capacidad antioxidante DPPH

Solvente	Condición	Concentración (mg/ml)	Absorbancia (nm)	%inhibición R1	IC 50 (mg/ml)
H20	90-1	70.48	0.499	5.49242424	36.3368503
		35.24	0.501	5.11363636	
		17.62	0.503	4.73484848	
	90-2	70.48	0.495	6.25	36.6401661
		35.24	0.501	5.11363636	
		17.62	0.505	4.35606061	
	120-1	70.45	0.46	12.8787879	26.6780234
		17.61	0.49	7.1969697	
		8.81	0.509	3.59848485	
	120-2	70.46	0.467	11.5530303	27.9880564
		17.62	0.498	5.68181818	
		8.81	0.516	2.27272727	
	150-1	70.48	0.443	16.0984848	25.3190751
		17.62	0.478	9.46969697	
		8.81	0.504	4.54545455	
	150-2	70.49	0.448	15.1515152	24.9983739
		17.62	0.481	8.90151515	
		8.81	0.501	5.11363636	
Etanol 15%	90-1	70.50	0.499	5.49242424	29.58327
		17.625	0.508	3.78787879	
		8.81	0.517	2.08333333	
	90-2	70.49	0.499	5.49242424	28.7423216
		17.62	0.507	3.97727273	
		8.81	0.512	3.03030303	
	120-1	70.47	0.4111	22.1401515	27.1229178
		17.62	0.508	3.78787879	
		8.81	0.52	1.51515152	
	120-2	70.48	0.409	22.5378788	26.592978
		17.62	0.498	5.68181818	
		8.81	0.521	1.32575758	
	150-1	70.48	0.277	47.5378788	20.1515061
		17.62	0.425	19.5075758	
		8.81	0.516	2.27272727	
	150-2	70.48	0.2267	57.0643939	20.070613
		17.62	0.489	7.38636364	
		8.81	0.509	3.59848485	
	90-1	70.48	0.38	28.030303	24.7297348
		17.62	0.496	6.06060606	
		8.81	0.512	3.03030303	
	90-2	70.48	0.487	7.76515152	28.8383753
		17.62	0.501	5.11363636	
		8.81	0.515	2.46212121	
	120-1	70.49	0.387	26.7045455	

Etanol 30%	120-2	17.62	0.498	5.68181818	24.7848556
		8.81	0.509	3.59848485	
		70.48	0.372	29.5454545	
		17.62	0.494	6.43939394	23.8360926
		8.81	0.506	4.16666667	
	150-1	70.48	0.243	53.9772727	
		17.62	0.387	26.7045455	15.8311191
		8.81	0.494	6.43939394	
	150-2	70.48	0.264	50	
		17.62	0.398	24.6212121	17.7976431
		8.81	0.501	5.11363636	

Anexo 4. Capacidad antioxidante ORAC

TRATAMIENTO		R1	R2	µmoles eq trolox/L (uM)		µmoles eq trolox/gr de materia seca		Promedio µMeq trolox/gr
H20	90-1	24.58	24.74	24.58	24.74	8.7329	8.7897	8.7613
	90-2	26.8	27.01	26.8	27.01	9.5220	9.5966	9.5593
	120-1	24.06	23.94	24.06	23.94	8.5452	8.5026	8.5239
	120-2	25.38	25.86	25.38	25.86	9.0153	9.1858	9.1006
	150-1	27.19	26.25	27.19	26.25	9.6602	9.3262	9.4932
	150-2	26.25	28.74	26.25	28.74	9.3275	10.2123	9.7699
Etanol 15%	90-1	25.32	26.43	25.32	26.43	8.9985	9.3930	9.1957
	90-2	27.14	28.11	27.14	28.11	9.6443	9.9890	9.8167
	120-1	22.17	22.38	110.85	111.9	39.3793	39.7523	39.5658
	120-2	25.01	25.37	125.05	126.85	44.4283	45.0678	44.7480
	150-1	31.35	33.86	156.75	169.3	55.6897	60.1484	57.9190
	150-2	35.7	35.86	178.5	179.3	63.4182	63.7024	63.5603
Etanol 30%	90-1	19.45	20.35	194.5	203.5	69.1027	72.3003	70.7015
	90-2	20.58	22.34	205.8	223.4	73.1204	79.3736	76.2470
	120-1	17.39	16.57	173.9	165.7	61.7901	58.8764	60.3333
	120-2	18.23	18.86	182.3	188.6	64.7683	67.0066	65.8874
	150-1	24.33	26.36	243.3	263.6	86.4406	93.6529	90.0467
	150-2	25.37	27.39	253.7	273.9	90.1428	97.3201	93.7314

Anexo 5. ANOVA - Polifenoles

Análisis de Varianza para Polifenoles - Suma de Cuadrados Tipo III

Fuente	*Suma de Cuadrados*	*Gl*	*Cuadrado Medio*	*Razón-F*	*Valor-P*
EFECTOS PRINCIPALES					
A: Temperatura	4.43933	2	2.21966	2329.07	0.0000
B: Composición del solvente	0.199861	2	0.0999306	104.86	0.0000
INTERACCIONES					
AB	0.307087	4	0.0767717	80.56	0.0000
RESIDUOS	0.00857722	9	0.000953024		
TOTAL (CORREGIDO)	4.95485	17			

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

Pruebas de Múltiple Rangos para Polifenoles por Temperatura

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

Temperatura	*Casos*	*Media LS*	*Sigma LS*	*Grupos Homogéneos*
120	6	0.248833	0.0126031	X
90	6	0.261883	0.0126031	X
150	6	1.30878	0.0126031	X

Contraste	*Sig.*	*Diferencia*	*+/- Límites*
90 - 120		0.01305	0.0497575
90 - 150	*	-1.0469	0.0497575
120 - 150	*	-1.05995	0.0497575

* indica una diferencia significativa.

Pruebas de Múltiple Rangos para Polifenoles por Composición del solvente

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

Composición del solvente	*Casos*	*Media LS*	*Sigma LS*	*Grupos Homogéneos*
0	6	0.49865	0.0126031	X
15	6	0.571367	0.0126031	X
30	6	0.749483	0.0126031	X

Contraste	*Sig.*	*Diferencia*	*+/- Límites*
0 - 15	*	-0.0727167	0.0497575
0 - 30	*	-0.250833	0.0497575
15 - 30	*	-0.178117	0.0497575

* indica una diferencia significativa.

Anexo 6. ANOVA - DPPH

Análisis de Varianza para DPPH - Suma de Cuadrados Tipo III

Fuente	*Suma de Cuadrados*	*Gl*	*Cuadrado Medio*	*Razón-F*	*Valor-P*
EFECTOS PRINCIPALES					
A: Temperatura	104.042	2	52.0208	198.47	0.0000
B: Composición del solvente	29.9783	2	14.9892	57.19	0.0000
INTERACCIONES					
AB	69.0439	4	17.261	65.85	0.0000
RESIDUOS	2.35901	9	0.262112		
TOTAL (CORREGIDO)	205.423	17			

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

Pruebas de Múltiple Rangos para DPPH por Temperatura

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

Temperatura	*Casos*	*Media LS*	*Sigma LS*	*Grupos Homogéneos*
150	6	25.7235	0.20901	X
120	6	27.8915	0.20901	X
90	6	31.5493	0.20901	X

Contraste	*Sig.*	*Diferencia*	*+/- Límites*
90 - 120	*	3.6578	0.825181
90 - 150	*	5.82587	0.825181
120 - 150	*	2.16807	0.825181

* indica una diferencia significativa.

Pruebas de Múltiple Rangos para DPPH por Composición del solvente

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

Composición del solvente	*Casos*	*Media LS*	*Sigma LS*	*Grupos Homogéneos*
30	6	26.6187	0.20901	X
15	6	28.8856	0.20901	X
0	6	29.6601	0.20901	X

Contraste	*Sig.*	*Diferencia*	*+/- Límites*
0 - 15		0.774523	0.825181
0 - 30	*	3.04144	0.825181
15 - 30	*	2.26692	0.825181

* indica una diferencia significativa.

Anexo 7. ANOVA - ORAC

Análisis de Varianza para ORAC - Suma de Cuadrados Tipo III

Fuente	*Suma de Cuadrados*	*Gl*	*Cuadrado Medio*	*Razón-F*	*Valor-P*
EFECTOS PRINCIPALES					
A: Temperatura	1715.43	2	857.715	114.12	0.0000
B: Composición del solvente	13558.2	2	6779.09	901.95	0.0000
INTERACCIONES					
AB	1825.9	4	456.475	60.73	0.0000
RESIDUOS	67.6443	9	7.51604		
TOTAL (CORREGIDO)	17167.2	17			

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

Pruebas de Múltiple Rangos para ORAC por Temperatura

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

Temperatura	*Casos*	*Media LS*	*Sigma LS*	*Grupos Homogéneos*
90	6	30.7136	1.11923	X
120	6	38.0265	1.11923	X
150	6	54.0867	1.11923	X

Contraste	*Sig.*	*Diferencia*	*+/- Límites*
90 - 120	*	-7.31292	4.41876
90 - 150	*	-23.3732	4.41876
120 - 150	*	-16.0602	4.41876

* indica una diferencia significativa.

Pruebas de Múltiple Rangos para ORAC por Composición del solvente

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

Composición del solvente	*Casos*	*Media LS*	*Sigma LS*	*Grupos Homogéneos*
0	6	9.20137	1.11923	X
15	6	37.4676	1.11923	X
30	6	76.1579	1.11923	X

Contraste	*Sig.*	*Diferencia*	*+/- Límites*
0 - 15	*	-28.2662	4.41876
0 - 30	*	-66.9565	4.41876
15 - 30	*	-38.6903	4.41876

* indica una diferencia significativa.

Anexo 8. Prueba t:

Para Polifenoles totales:

Prueba de Hipótesis para Muestra 1 (Etanol: 30% - 150°C) y Muestra 2 (Acetona: 60%-30°C)
Media Muestral = 1.47
Mediana Muestral = 1.47
Desviación Estándar de la Muestra = 0.032

Prueba t
Hipótesis Nula: media = 0
Alternativa: no igual

Estadístico t = 79.5661
Valor-P = 0.000157921
Se rechaza la hipótesis nula para alfa = 0.05.

Para Capacidad Antioxidante (DPPH):

Prueba de Hipótesis para Muestra 1 (Etanol: 30% - 150°C) y Muestra 2 (Acetona: 60%-30°C)
Media Muestral = -11.77
Mediana Muestral = -11.77
Desviación Estándar de la Muestra = 0.495

Prueba t
Hipótesis Nula: media = 0
Alternativa: no igual

Estadístico t = -41.1843
Valor-P = 0.00058905
Se rechaza la hipótesis nula para alfa = 0.05.

Para Capacidad Antioxidante (ORAC):

Prueba de Hipótesis para Muestra 1 (Etanol: 30% - 150°C) y Muestra 2 (Acetona: 60%-30°C)
Media Muestral = 80.4
Mediana Muestral = 80.4
Desviación Estándar de la Muestra = 1.939

Prueba t
Hipótesis Nula: media = 0
Alternativa: no igual

Estadístico t = 71.8189
Valor-P = 0.000193819
Se rechaza la hipótesis nula para alfa = 0.05.

Análisis de Residuos: Polifenoles totales

Resumen	
Recuento	18
Promedio	0
Mediana	0
Desviación Estándar	0.022462
Coeficiente de Variación	%
Mínimo	-0.04705
Máximo	0.04705
Rango	0.0941
Sesgo Estandarizado	0
Curtosis Estandarizada	0.505472

Esta tabla muestra los estadísticos de resumen para RESIDUOS. Incluye medidas de tendencia central, medidas de variabilidad y medidas de forma. De particular interés aquí son el sesgo estandarizado y la curtosis estandarizada, las cuales pueden utilizarse para determinar si la muestra proviene de una distribución normal. Valores de estos estadísticos fuera del rango de -2 a +2 indican desviaciones significativas de la normalidad, lo que tendería a invalidar cualquier prueba estadística con referencia a la desviación estándar. En este caso, el valor del sesgo estandarizado se encuentra dentro del rango esperado para datos provenientes una distribución normal. El valor de curtosis estandarizada se encuentra dentro del rango esperado para datos provenientes de una distribución normal.

Análisis de Residuos: DPPH

Resumen	
Recuento	18
Promedio	0
Mediana	0
Desviación Estándar	0.372512
Coeficiente de Variación	%
Mínimo	-0.655017
Máximo	0.655017
Rango	1.31003
Sesgo Estandarizado	0
Curtosis Estandarizada	-0.862009

Esta tabla muestra los estadísticos de resumen para RESIDUOS. Incluye medidas de tendencia central, medidas de variabilidad y medidas de forma. De particular interés aquí son el sesgo estandarizado y la curtosis estandarizada, las cuales pueden utilizarse para determinar si la muestra proviene de una distribución normal. Valores de estos estadísticos fuera del rango de -2 a +2 indican desviaciones significativas de la normalidad, lo que tendería a invalidar cualquier prueba estadística con referencia a la desviación estándar. En este caso, el valor del sesgo estandarizado se encuentra dentro del rango esperado para datos provenientes una distribución normal. El valor de curtosis estandarizada se encuentra dentro del rango esperado para datos provenientes de una distribución normal.

Análisis de Residuos: ORAC

Resumen	
Recuento	18
Promedio	0
Mediana	0
Desviación Estándar	1.99476
Coeficiente de Variación	%
Mínimo	-2.82065
Máximo	2.82065
Rango	5.6413
Sesgo Estandarizado	0
Curtosis Estandarizada	-0.941332

Esta tabla muestra los estadísticos de resumen para RESIDUOS. Incluye medidas de tendencia central, medidas de variabilidad y medidas de forma. De particular interés aquí son el sesgo estandarizado y la curtosis estandarizada, las cuales pueden utilizarse para determinar si la muestra proviene de una distribución normal. Valores de estos estadísticos fuera del rango de -2 a +2 indican desviaciones significativas de la normalidad, lo que tendería a invalidar cualquier prueba estadística con referencia a la desviación estándar. En este caso, el valor del sesgo estandarizado se encuentra dentro del rango esperado para datos provenientes una distribución normal. El valor de curtosis estandarizada se encuentra dentro del rango esperado para datos provenientes de una distribución normal.

Anexo 9. Panel fotográfico

Fotografía 1 y 2. Pesado y lavado de alga roja





Fotografía 3. Algas rojas



Fotografía 4. Algas liofilizadas



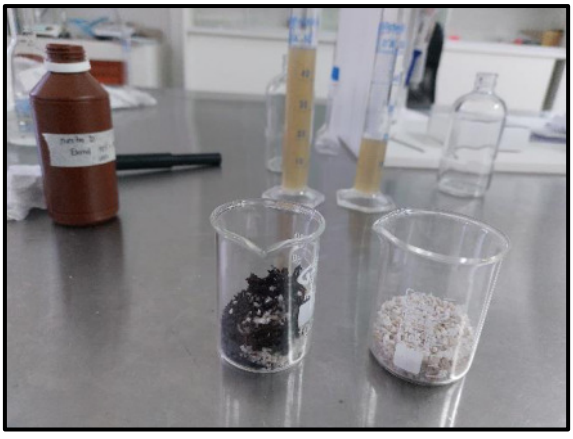
Fotografía 5. Molienda de algas mediante molino de pulso



Fotografía 6. Pesado de alga



Fotografía 7. Preparación de celda





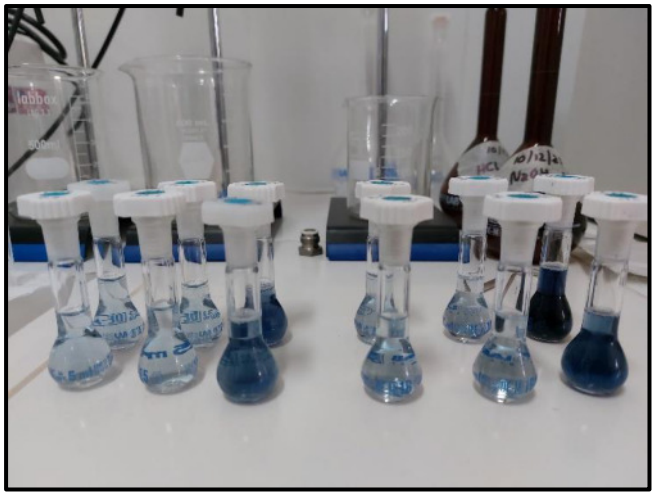
Fotografía 8. Extracción por Líquidos Presurizados



Fotografía 9. Extracción convencional

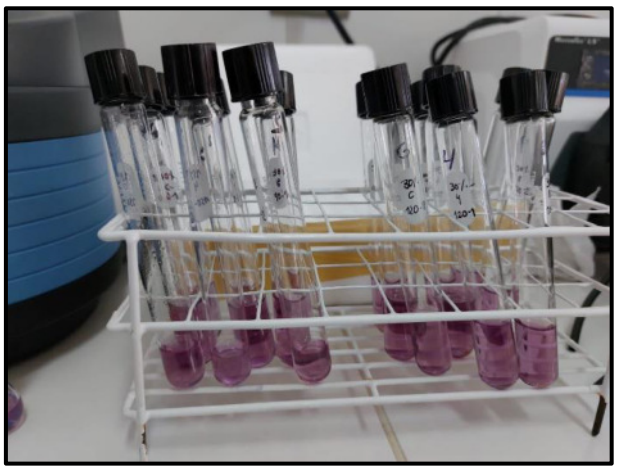


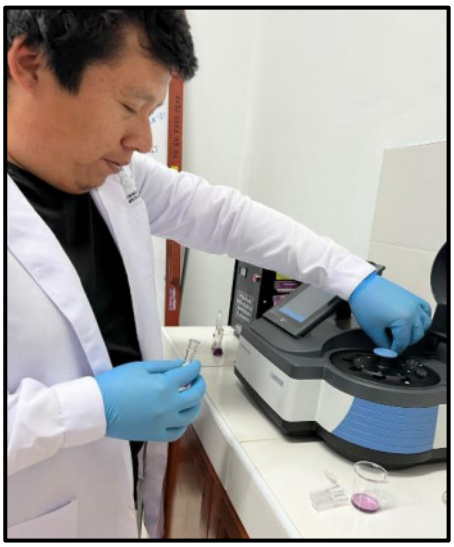
Fotografía 10 y 11. Análisis de contenido de polifenoles





Fotografía 12 y 13. Análisis de capacidad antioxidante por DPPH





Fotografía 14 y 15. Análisis de capacidad Antioxidante por ORAC





"UNIVERSIDAD NACIONAL DE MOQUEGUA"

VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN

|FORMATO DE AUTORIZACIÓN DE PUBLICACIÓN EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL UNAM

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

1. DATOS DEL AUTOR

Nombres y Apellidos	: Frank Jorge Hervas Nina
DNI/Carnet de Extranjería/Pasaporte N°	: 70927842
Correo electrónico	: frankhervas17@gmail.com
Teléfono/Celular	: 915336155

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 LIQUIDOS PRESURIZADOS PARA LA EXTRACCION DE POLIFENOLES PRESENTES EN ALGAS MARINAS ROJAS.
b) Campo del conocimiento OCDE (Indicar el código de clasificación OCDE de la obra: https://catalogos.concytec.gob.pe/vocabulario/ocde_ford.html): b) 2.11.02
c) Fecha de publicación: .....

6. DATOS DEL ASESOR:

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

FIRMA : .....
DOCUMENTO DE IDENTIDAD : 70927842
NOMBRES Y APELLIDOS : Frank Jorge Hervas Nina

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 : 70927842
NOMBRES Y APELLIDOS : Frank Jorge Hervas Nina
FECHA : 15/01/2024

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

Yo, Frank Jorge Hervas Nina,
bachiller de la Escuela Profesional de: Ingeniería Agroindustrial
,
de la Universidad Nacional de Moquegua, identificado(a) con DNI Nº. 70927842, autor(a) del Trabajo de Investigación / Tesis / Trabajo de suficiencia profesional, denominado:
Estudio del uso de líquidos presurizados para la Extracción de policenoles presentes en algas marinas rojas

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, 15 de Enero del 2024



Huella digital

Nombres y Apellidos: Frank Hervas Nina
DNI: 70927842

CERTIFICADO DE ANÁLISIS
magister

TESIS FRANK FINAL 12192023

11% Textos sospechosos

11% Similitudes
1% similitudes entre comillas
2% entre las fuentes mencionadas
5% Idioma no reconocido

Nombre del documento: TESIS FRANK FINAL 12192023.docx
ID del documento: bb62b6e54b8df56c3bc7b4684ed2235dad18a850
Tamaño del documento original: 4,18 MB

Depositante: NILS LEANDER HUAMAN CASTILLA
Fecha de depósito: 11/1/2024
Tipo de carga: interface
fecha de fin de análisis: 11/1/2024

Número de palabras: 21.448
Número de caracteres: 150.103

Ubicación de las similitudes en el documento:



Fuentes principales detectadas

N°	Descripciones	Similitudes	Ubicaciones	Datos adicionales
1	**unam.edu.pe** | TECNOLOGÍAS SUSTENTABLES PARA LA EXTRACCIÓN DE COMPUEST... https://unam.edu.pe/iindep/grupos-de-investigac/tecnologias-sustentables-para-la-extraccion-de-co... **13 fuentes similares**	< 1%		Palabras idénticas: < 1% (193 palabras)
2	**riunet.upv.es** https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/129239/Montava - La teoria Demandas-Recursos y su ... **6 fuentes similares**	< 1%		Palabras idénticas: < 1% (207 palabras)
3	**repositorio.uc.cl** https://repositorio.uc.cl/dspace/bitstreams/68c2a744-ebef-4e0a-9661-0dcb6ffd71b8/download **18 fuentes similares**	< 1%		Palabras idénticas: < 1% (173 palabras)
4	**www.euroinnova.edu.es** | EJEMPLOS DE AGRADECIMIENTOS PARA TESIS DE LICEN... https://www.euroinnova.edu.es/ejemplos-de-agradecimientos-para-tesis-de-licenciatura **3 fuentes similares**	< 1%		Palabras idénticas: < 1% (193 palabras)
5	**riubu.ubu.es** https://riubu.ubu.es/bitstream/10259/5611/1/Arciniegas_Cabrera.pdf **9 fuentes similares**	< 1%		Palabras idénticas: < 1% (129 palabras)

Fuentes con similitudes fortuitas

N°	Descripciones	Similitudes	Ubicaciones	Datos adicionales
1	**tip.zaragoza.unam.mx** | Impacto de las tecnologías de extracción verdes para la o... http://tip.zaragoza.unam.mx/index.php/tip/article/view/255/360	< 1%		Palabras idénticas: < 1% (40 palabras)
2	**bdigital.uncu.edu.ar** https://bdigital.uncu.edu.ar/objetos_digitales/11475/tesis-brom.-damario-2018.pdf	< 1%		Palabras idénticas: < 1% (33 palabras)
3	**digibug.ugr.es** https://digibug.ugr.es/bitstream/10481/53827/4/29120421.pdf	< 1%		Palabras idénticas: < 1% (40 palabras)
4	**doi.org** | Marine Drugs | Free Full-Text | Bioactive Polyphenols from Southern Chil... https://doi.org/10.3390/md18070353	< 1%		Palabras idénticas: < 1% (35 palabras)
5	**www.ncbi.nlm.nih.gov** https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6213729/pdf/marinedrugs-16-00348.pdf	< 1%		Palabras idénticas: < 1% (32 palabras)

Fuentes mencionadas (sin similitudes detectadas)

Estas fuentes han sido citadas en el documento sin encontrar similitudes.

1 https://doi.org/10.1016/j.crfs.2021.03.011
2 https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.10.086
3 https://doi.org/10.1111/1541-4337.12253
4 https://doi.org/10.1016/j.ocecoaman.2023.106814
5 https://doi.org/10.1007/s13197-012-0754-4

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

RESOLUCIÓN DE COMISIÓN ORGANIZADORA N° 273-2024-UNAM/CO

Moquegua, 22 de abril de 2024

LA COMISIÓN ORGANIZADORA DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE MOQUEGUA

VISTOS:

El Acuerdo de Sesión Ordinaria de Comisión Organizadora de fecha 17 de abril de 2024; PROVEÍDO N° 9030-2024 de fecha 17 de abril de 2024 emitido por la Presidencia de la Comisión Organizadora; INFORME N° 273-2024-UNAM-CO-P/SG de fecha 17 de abril de 2024 emitido por la Secretaría General; CARTAS N° 022 y 027-2024-GYT/UNAM-PCAS emitidos por el Especialista de Grados y Títulos; Sobre el otorgamiento del Título Profesional de Ingeniero Agroindustrial y demás documentos que escoltan el expediente administrativo, y;

CONSIDERANDO:

Que, la Constitución Política del Perú en su artículo 18° prevé que cada Universidad es autónoma en su régimen normativo, de gobierno, académico, administrativo y económico, y el artículo 8° de la Ley N° 30220, Ley Universitaria, establece que la referida autonomía inherente a las Universidades, se ejerce de conformidad con la Constitución y las Leyes de la República e implica las organizaciones de su sistema académico, económico y administrativo, así como la administración de sus bienes y rentas, elaborar su presupuesto y aplicar sus fondos con la responsabilidad que impone la Ley;

Que, de conformidad con la Ley N° 28520 de fecha 23/05/2005, se creó la Universidad Nacional de Moquegua, cuyo artículo 1° dispone: "créase la Universidad Nacional de Moquegua como persona jurídica de derecho público interno, con sede en la ciudad de Moquegua, Provincia de Mariscal Nieto, Departamento de Moquegua";

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

Que, mediante Resolución Viceministerial N° 011-2024-MINEDU de fecha 31/01/2024, se reconformó la Comisión Organizadora de la Universidad Nacional de Moquegua, integrada por los académicos: Dr. Jorge Lázaro Franco Medina, como Presidente; Dr. Edwin Molina Porcel, como Vicepresidente Académico y Dr. Avid Roman Gonzalez, como Vicepresidente de Investigación;

Que, el artículo 58° de la Ley Universitaria, Ley N° 30220, concordado con el artículo 14° del Estatuto de la Universidad Nacional de Moquegua, aprobado con Resolución de Comisión Organizadora N° 578-2021-UNAM, establecen que el **Consejo Universitario es el máximo órgano de gestión, dirección y ejecución académica y administrativa de la universidad.** En el caso de la Universidad Nacional de Moquegua, dada su condición y naturaleza, corresponde ejercer dicha atribución a la Comisión Organizadora quien hace las veces de Consejo Universitario, disposición relacionada con la Resolución Viceministerial N° 244-2021-MINEDU y sus modificatorias;

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

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

///... **Resolución de Comision Organizadora Nº 273-2024-UNAM/CO**

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

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

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

Que, mediante las Cartas N° 022 y 027-2024-GYT/UNAM-PCAS, el Especialista del Área de Grados y Títulos, remite a Secretaria General, la relación de cinco (5) bachilleres de la Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial, quienes se encuentran aptos para la expedición del Título Profesional de Ingeniero Agroindustrial, al haber cumplido satisfactoriamente con los requisitos legales y reglamentarios[1], exigidos en el Reglamento de Grados y Títulos de la Universidad Nacional de Moquegua, conforme lo señala la Dirección de la Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial,, razón por la cual la Secretaría General incluye el expediente como punto de agenda para ser tratado en Sesión de Comisión Organizadora de fecha 17 de abril de 2024;

Que, se ha establecido como atribución de la Comision Organizadora de la UNAM, la facultad de conferir los grados académicos y los títulos profesionales (...), por lo que en mérito al pedido del Secretario General y debatido el caso en Sesión Ordinaria de fecha 17 de abril de 2024, se acordó por unanimidad **conferir a nombre de la Nación el Título Profesional de Ingeniero Agroindustrial, por la**

---

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

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

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

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

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

///... **Resolución de Comision Organizadora Nº 273-2024-UNAM/CO**

modalidad de la Sustentación de Tesis, a cinco (5) Bachilleres de la Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial de la Universidad Nacional de Moquegua;

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

SE RESUELVE:

ARTÍCULO PRIMERO: CONFERIR, a nombre de la Nación el **TÍTULO PROFESIONAL DE INGENIERO AGROINDUSTRIAL,** por la modalidad de la Sustentación de Tesis, a los Bachilleres de la Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial de la Facultad de Ingeniería y Arquitectura de la Universidad Nacional de Moquegua, que se consigna en el listado siguiente:

1. **FROILAN ROQUE CACERES**

   TESIS : "TIPIFICACIÓN FLORAL DE MIELES DE *Apis Mellifera* EN EL VALLE INTERANDINO DEL TICSANI, REGIÓN DE MOQUEGUA"

2. **LIDIA YESENIA MALDONADO MAMANI**

   TESIS : "EFECTO DEL ESTADO DE MADUREZ SOBRE LAS PROPIEDADES FÍSICAS Y QUÍMICAS DEL ACEITE ESENCIAL DE CÁSCARA DE LIMA DE OLOR (*Citrus Limetta*)"

3. **KARLA SYNDEL DIAZ HUAMANI**

   TESIS : "ESTUDIO DE UN PROCESO INTEGRADO SOSTENIBLE PARA LA EXTRACCIÓN DE POLIFENOLES A PARTIR DE HOJAS DE OLIVO".

4. **YOLANDA CRISTINA PALOMINO VILLEGAS**

   TESIS : "ESTUDIO DE UN PROCESO INTEGRADO SOSTENIBLE PARA LA EXTRACCIÓN DE POLIFENOLES A PARTIR DE HOJAS DE OLIVO".

5. **FRANK JORGE HERVAS NINA**

   TESIS : "ESTUDIO DEL USO DE LÍQUIDOS PRESURIZADOS PARA LA EXTRACCIÓN DE POLIFENOLES PRESENTES EN ALGA MARINAS ROJAS".

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

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

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

///... **Resolución de Comision Organizadora Nº 273-2024-UNAM/CO**

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

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

REGÍSTRESE, COMUNÍQUESE, CUMPLASE Y ARCHÍVESE.

DR. JORGE LAZARO FRANCO MEDINA
Presidente de la Comisión Organizadora
Universidad Nacional de Moquegua

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

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