



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



**OPTIMIZACIÓN DE LAS CONDICIONES DE EXTRACCION
ASISTIDA POR ULTRASONIDO DE ANTOCIANINAS,
COMPUESTOS FENÓLICOS Y ANTIOXIDANTES A PARTIR DE
LA RAIZ DE AJOTILLO (*Geranium sessiliflorum Cav.*)**

TESIS

PRESENTADA POR:

Bach. ADELMA LUDEMI CONDORI CACERES

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

INGENIERO AGROINDUSTRIAL

PUNO – PERÚ

2024



NOMBRE DEL TRABAJO

**OPTIMIZACIÓN DE LAS CONDICIONES D
E EXTRACCION ASISTIDA POR ULTRASO
NIDO DE ANTOCIANINAS, COMPUESTOS
F**

AUTOR

Adelma Ludemi Condori Caceres

RECUESTO DE PALABRAS

24477 Words

RECUESTO DE CARACTERES

137687 Characters

RECUESTO DE PÁGINAS

152 Pages

TAMAÑO DEL ARCHIVO

3.4MB

FECHA DE ENTREGA

Apr 30, 2024 4:34 PM GMT-5

FECHA DEL INFORME

Apr 30, 2024 4:36 PM GMT-5

● **18% de similitud general**

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

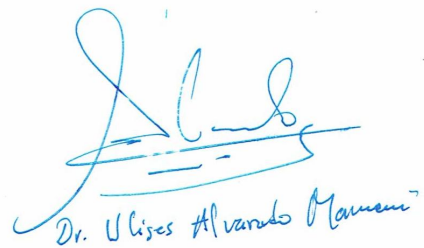
- 17% Base de datos de Internet
- Base de datos de Crossref
- 10% Base de datos de trabajos entregados
- 5% Base de datos de publicaciones
- Base de datos de contenido publicado de Crossref

● **Excluir del Reporte de Similitud**

- Material bibliográfico
- Material citado
- Material citado
- Coincidencia baja (menos de 8 palabras)



Dr. Alfredo Coloma Paxi
INGENIERO AGRICOLA INDUSTRIAL
CIP: 60697



Dr. Ulises Alvarado Mamani

Resumen



DEDICATORIA

Dedico este trabajo principalmente a Dios, que me permitió llegar hasta este punto, por darme la vida, salud y la Oportunidad de lograr mis objetivos de mi vida profesional.

A mi querida madre Clemencia Caceres, por su gran esfuerzo, confianza, apoyo incondicional y comprensión que siempre me da, pero más que nada por su amor y sus sabios consejos.

A mi padre Cirilo Z. Condori que me impulsa a seguir adelante, sus consejos, valores por la motivación constante por su paciencia y sus enseñanzas.

A mis hermanos, Roy Emerson y Flor por acompañarme en mi formación a la vez brindándome apoyo a quien aprecio muchísimo.

ADELMA LUDEMI CONDORI CACERES



AGRADECIMIENTO

A nuestra alma mater, la Universidad Nacional del Altiplano, la Facultad de Ciencias Agrarias y nuestra Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial, por brindarme la oportunidad de formarme en sus aulas y laboratorios.

A los docentes de la Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial por concederme la formación profesional.

A mí Asesor Dr. Alejandro Coloma Paxi por compartir su magnífico aporte en el proyecto y así alcanzar los objetivos propuestos.

A mis jurados evaluadores Ing. Edgar Gallegos Rojas, M. Sc. Cesar Paul Laqui Vilca y M. Sc. Juan Quispe Ccama. Por la contribución y correcciones a esta investigación y el tiempo requerido.

A mis padres Cirilo Zenón y Clemencia quienes día tras día me brindaron el apoyo emocional, consejo, orientación y ánimo.

A Roy Emerson mi hermano y amigo por estar ahí para mí siempre.

Al Dr. Oscar David Oros Butrón encargado del laboratorio del Centro de Investigación y Producción la Raya de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional del Altiplano por el apoyo que me brindo y por poner a mi disposición los equipos necesarios para inicio de esta investigación.

Tec. Pablo Condori Silva responsable del laboratorio de microbiología, por su apoyo durante el proyecto. Todas las personas que en forma directa o indirecta hicieron posible la culminación de la presente investigación.

ADELMA LUDEMI CONDORI CACERES



ÍNDICE GENERAL

DEDICATORIA

AGRADECIMIENTO

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE TABLAS

ÍNDICE DE FIGURAS

ÍNDICE DE ACRÓNIMOS

RESUMEN 16

ABSTRACT..... 17

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

1.1. OBJETIVOS GENERALES: 20

1.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS: 20

CAPÍTULO II

REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. ANTECEDENTES 21

2.2. MARCO TEORICO..... 27

2.2.1. Ajotillo 27

2.2.1.1. Distribución 27

2.2.1.2. Descripción 27



| | | |
|----------|---|----|
| 2.2.1.3. | Taxonomía del Ajotillo | 28 |
| 2.2.1.4. | Aspectos botánicos | 29 |
| 2.2.1.5. | Usos | 29 |
| 2.2.2. | Antocianinas | 31 |
| 2.2.2.1. | Estructura de las antocianinas | 31 |
| 2.2.2.2. | Biosíntesis de las antocianinas..... | 33 |
| 2.2.2.3. | Factores químicos y la estabilidad de las antocianinas..... | 34 |
| 2.2.2.4. | Método utilizado para la cuantificación de antocianinas..... | 36 |
| 2.2.3. | Antioxidantes | 37 |
| 2.2.3.1. | Radicales libres | 37 |
| 2.2.3.2. | Estrés oxidativo..... | 38 |
| 2.2.3.3. | Proceso de oxidación reducción | 38 |
| 2.2.3.4. | Función antioxidante..... | 39 |
| 2.2.3.5. | Clasificación de los antioxidantes..... | 41 |
| 2.2.3.6. | Método utilizado para evaluar la capacidad antioxidante..... | 45 |
| 2.2.4. | Compuestos fenólicos | 47 |
| 2.2.4.1. | Clasificación de compuestos fenólicos o polifenoles | 48 |
| 2.2.4.2. | Método utilizado para la cuantificación de compuesto fenólico | 56 |
| 2.2.5. | Tecnologías de extracción | 57 |
| 2.2.5.1. | Extracción convencional solido – liquido..... | 58 |
| 2.2.5.2. | Extracción no convencional..... | 60 |



| | |
|--------------------------------|-----------|
| 2.3. OPTIMIZACIÓN | 65 |
|--------------------------------|-----------|

| | |
|---|-----------|
| 2.4. SUPERFICIE DE RESPUESTA | 65 |
|---|-----------|

CAPÍTULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

| | |
|--|-----------|
| 3.1. LUGARES DE EJECUCIÓN | 66 |
|--|-----------|

| | |
|------------------------------|-----------|
| 3.2. MATERIALES | 66 |
|------------------------------|-----------|

| | |
|--|----|
| 3.2.1. Materiales de laboratorio | 66 |
|--|----|

| | |
|---------------------------|-----------|
| 3.3. EQUIPOS | 67 |
|---------------------------|-----------|

| | |
|-----------------------------|-----------|
| 3.4. REACTIVOS | 67 |
|-----------------------------|-----------|

| | |
|--------------------------------------|-----------|
| 3.5. MATERIAL BIOLÓGICO | 68 |
|--------------------------------------|-----------|

| | |
|---|-----------|
| 3.6. METODOLOGIA DEL PROCESOS EXPERIMENTAL | 68 |
|---|-----------|

| | |
|--------------------------------------|-----------|
| 3.7. METODO DE ANÁLISIS | 71 |
|--------------------------------------|-----------|

| | |
|--|----|
| 3.7.1. Determinación de antocianinas | 71 |
|--|----|

| | |
|------------------------------|----|
| 3.7.1.1. Procedimiento | 72 |
|------------------------------|----|

| | |
|--|----|
| 3.7.2. Determinación de compuestos fenólicos | 73 |
|--|----|

| | |
|------------------------------|----|
| 3.7.2.1. Procedimiento:..... | 73 |
|------------------------------|----|

| | |
|--|----|
| 3.7.3. Determinación de antioxidantes..... | 75 |
|--|----|

| | |
|------------------------------|----|
| 3.7.3.1. Procedimiento:..... | 75 |
|------------------------------|----|

| | |
|---------------------------------|----|
| 3.7.4. Factores de estudio..... | 76 |
|---------------------------------|----|



| | |
|---|-----------|
| 3.7.4.1. Factor de estudio para los tres objetivos..... | 76 |
| 3.7.4.2. Variable de respuesta | 77 |
| 3.8. DISEÑO EXPERIMENTAL | 77 |

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

| | |
|---|-----------|
| 4.1. DETERMINACIÓN DE CONTENIDO DE ANTOCIANINAS EN LA MUESTRA DE AJOTILLO (<i>Geranium sessiliflorum Cav.</i>)..... | 79 |
| 4.2. DETERMINACIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS TOTALES EN LA MUESTRA DE AJOTILLO (<i>Geranium sessiliflorum Cav.</i>)..... | 80 |
| 4.2.1. Comparación de contenido de compuestos fenólicos totales de las raíces de Ajotillo de la muestra de referencia (sin ultrasonido) y muestra de extracto obtenido mediante ultrasonido. | 80 |
| 4.2.2. Determinación de los parámetros óptimos en la extracción de compuestos fenólicos de las raíces de Ajotillo (<i>Geranium sessiliflorum Cav.</i>)..... | 83 |
| 4.3. DETERMINACIÓN DE ANTIOXIDANTES EN LA MUESTRA DE AJOTILLO (<i>Geranium sessiliflorum Cav.</i>)..... | 87 |
| 4.3.1. Comparación de contenido de antioxidantes de las raíces de Ajotillo de la muestra de referencia (sin ultrasonido) y muestra de extracto obtenido mediante ultrasonido. | 87 |
| 4.3.2. Determinación de los parámetros óptimos en la extracción de antioxidante de la raíz de Ajotillo (<i>Geranium sessiliflorum Cav.</i>)..... | 89 |



| | |
|--|------------|
| V. CONCLUSIONES..... | 95 |
| VI. RECOMENDACIONES..... | 96 |
| VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 97 |
| ANEXOS..... | 119 |

ÁREA: Ingeniería y tecnología

TEMA: Desarrollo de procesos y productos agroindustriales sostenibles y eficientes

FECHA DE SUSTENTACIÓN: 08 de mayo del 2024



ÍNDICE DE TABLAS

| | | |
|-----------------|---|-----|
| Tabla 1 | Contenido de antocianinas de algunas frutas y verduras comunes. | 35 |
| Tabla 2 | Clasificación de antioxidantes exógeno, endógeno y cofactores. | 45 |
| Tabla 3 | Alimentos que contienen fenoles. | 48 |
| Tabla 4 | Grupos que contienen para formar los ácidos hidroxicinámicos. | 50 |
| Tabla 5 | Contenido de compuestos fenólicos en frutas y tubérculos | 54 |
| Tabla 6 | Se presenta el análisis de varianza de (ANOVA) para la comparación del contenido de compuestos fenólicos en muestras de referencia sin ultrasonido y muestra de intervención de ultrasonido. | 82 |
| Tabla 7 | Se presenta el análisis de varianza de (ANOVA) para la comparación del contenido de antioxidantes en muestras de referencia sin ultrasonido y muestra de intervención de ultrasonido. | 88 |
| Tabla 8 | Datos de la determinación de antocianinas en la muestra de Ajotillo (<i>Geranium sessiliflorum Cav.</i>)..... | 119 |
| Tabla 9 | Datos de la determinación de compuestos fenólicos de muestras de referencia Ajotillo (<i>Geranium sessiliflorum Cav.</i>). | 120 |
| Tabla 10 | Datos de la determinación de compuestos fenólicos en extracto obtenido mediante ultrasonido de raíces de Ajotillo (<i>Geranium sessiliflorum Cav.</i>). | 121 |
| Tabla 11 | Datos de la determinación de compuestos fenólicos totales en la muestra de Ajotillo (<i>Geranium sessiliflorum Cav.</i>)..... | 122 |



| | | |
|-----------------|---|-----|
| Tabla 12 | Datos de la determinación de antioxidantes en la muestra de referencia de Ajotillo (<i>Geranium sessiliflorum Cav.</i>)..... | 123 |
| Tabla 13 | Datos de la determinación de antioxidantes en extracto obtenido mediante ultrasonido de raíces de Ajotillo (<i>Geranium sessiliflorum Cav.</i>). | 123 |
| Tabla 14 | Datos de la determinación de antioxidantes en la muestra de Ajotillo (<i>Geranium sessiliflorum Cav.</i>)..... | 124 |
| Tabla 15 | Análisis de varianza (ANOVA) para Extracción de compuestos fenólicos | 125 |
| Tabla 16 | Análisis de varianza (ANOVA) para extracción de antioxidantes | 126 |
| Tabla 17 | Datos para la extracción de compuestos fenólicos totales de Ajotillo (<i>Geranium sessiliflorum Cav.</i>)..... | 127 |
| Tabla 18 | Datos codificados para la extracción de antioxidantes de Ajotillo (<i>Geranium sessiliflorum Cav.</i>)..... | 129 |



ÍNDICE DE FIGURAS

| | | |
|------------------|---|----|
| Figura 1 | Estructura de antocianinas..... | 31 |
| Figura 2 | Las antocianinas de rábano (derivados de pelargonidina-3-soforosido-5-glucósido) se han purificado y en el gráfico se muestra que sus espectros están entre pH 1.0 y pH 4.5. | 32 |
| Figura 3 | Estructurales predominantes de antocianinas a diferentes niveles de pH. | 33 |
| Figura 4 | Interacción entre radicales libres y antioxidantes..... | 39 |
| Figura 5 | Estructura química de DPPH..... | 46 |
| Figura 6 | Clasificación de compuestos fenólicos o polifenoles..... | 49 |
| Figura 7 | Estructura del ácido cinámico..... | 50 |
| Figura 8 | Estructura básica de un flavonoide..... | 52 |
| Figura 9 | Clasificación de los compuestos polifenólicos..... | 53 |
| Figura 10 | Métodos principales de irradiación de los ultrasonidos: a) y b) indirecto y c) directo. | 60 |
| Figura 11 | Esquema de un baño de ultrasonido. | 61 |
| Figura 12 | Diagrama de flujo para la obtención de compuestos bioactivos de Ajotillo (<i>Geranium sessiliflorum Cav.</i>) y los diferentes análisis realizados..... | 68 |
| Figura 13 | Comparación de muestras sin la intervención de ultrasonido y con la intervención de ultrasonido. | 80 |
| Figura 14 | Superficie de respuestas que muestra los óptimos parámetros para la extracción de compuestos fenólicos total como la concentración de etanol, tiempo y temperatura. | 84 |
| Figura 15 | Grafica de los principales efectos de la concentración de etanol, tiempo y temperatura en la extracción de compuestos fenólicos totales en Ajotillo..... | 86 |



| | | |
|------------------|--|-----|
| Figura 16 | Comparación de muestras sin la intervención de ultrasonido y con la intervención de ultrasonido. | 87 |
| Figura 17 | Se presenta las Figuras de superficie de respuesta para el efecto de la concentración de etanol, tiempo y temperatura en la extracción de antioxidantes en Ajotillo..... | 91 |
| Figura 18 | Grafica del principal efecto de concentración de etanol, tiempo y temperatura en la extracción de antioxidantes de Ajotillo. | 93 |
| Figura 19 | a) La flor de Ajotillo (<i>Geranium sessiliflorum Cav.</i>). b) Raíces recolectados de Ajotillo (<i>Geranium sessiliflorum Cav.</i>)..... | 130 |
| Figura 20 | a) Raíces de Ajotillo (<i>Geranium sessiliflorum Cav.</i>) lavadas. b) Raíces de Ajotillo (<i>Geranium sessiliflorum Cav.</i>) deshilachadas..... | 131 |
| Figura 21 | a) y b) Ajotillo (<i>Geranium sessiliflorum Cav.</i>) pre secado y secando. ... | 131 |
| Figura 22 | a) Molino Pulverizador sometido los raíces de Ajotillo (<i>Geranium sessiliflorum Cav.</i>)..... | 132 |
| Figura 23 | a) Moliendo las raíces de Ajotillo (<i>Geranium sessiliflorum Cav.</i>), b) Polvo de Ajotillo (<i>Geranium sessiliflorum Cav.</i>)..... | 132 |
| Figura 24 | a) Equipo de ultrasonido para la extracción de compuesto fenólicos, antioxidantes y antocianinas..... | 133 |
| Figura 25 | Pesado del polvo de Ajotillo (<i>Geranium sessiliflorum Cav.</i>). para la extracción de compuestos fenólicos, antioxidantes y antocianinas..... | 133 |
| Figura 26 | Sumergido de polvo de Ajotillo (<i>Geranium sessiliflorum Cav.</i>). para su procedimiento de extracción..... | 134 |
| Figura 27 | Sumergido de muestras en baño ultrasónico para su extracción de compuestos fenólicos, antioxidantes y antocianinas. | 134 |



| | | |
|------------------|--|-----|
| Figura 28 | Filtrado de la concentración de compuestos fenólicos, antioxidantes y antocianinas. | 135 |
| Figura 29 | Concentración de compuestos fenólicos, antioxidantes y antocianinas listo para su almacenamiento y análisis..... | 135 |
| Figura 30 | Preparación de solución para su análisis de antocianinas, compuestos fenólicos totales y antioxidantes..... | 136 |
| Figura 31 | Preparación de solución para su análisis de antocianinas..... | 136 |
| Figura 32 | Muestra lista para el análisis de antocianinas con el reactivo. | 137 |
| Figura 33 | Muestra preparados en los tubos, también los reactivos Folin ciocalteu (amarillo) y Na_2CO_3 al 20%. | 137 |
| Figura 34 | La reacción de la muestra, Luego de 30 minutos se desarrolla el color azul por los polifenoles, Lectura del estándar Ácido gálico en diferentes concentraciones en el espectrofotómetro..... | 138 |
| Figura 35 | Evaluación de antocianinas, compuestos fenólicos y antioxidantes en espectrofotómetro uv - visible. | 138 |



ÍNDICE DE ACRÓNIMOS

| | | |
|--------------------------|---|--|
| FC | : | Folin - Ciocalteau |
| MSR | : | Metodología de superficie de respuesta |
| R² | : | Coefficiente de determinación |
| R² ajd | : | Coefficiente de determinación ajustado |
| DPPH | : | 2, 2- Difenil-1-picrilhidrazilo (por sus siglas en inglés) |
| EAU | : | Extracción asistida por ultrasonido |
| CI50 | : | Concentración inhibitoria al 50% |
| AA | : | Actividad Antioxidante |
| MAC | : | Contenido de Antocianinas Monoméricas |
| °C | : | Grados centígrados |
| ml | : | Mililitro |
| g | : | Gramo |
| min | : | Minutos |
| G | : | Fuerza centrífuga relativa |
| T | : | Temperatura (°C) |
| t | : | Tiempo (minutos o segundos según sea el caso). |
| min | : | Minuto. |
| DCCR | : | Diseño Compuesto Central Rotacional. |



RESUMEN

La demanda de colorantes naturales a nivel industrial es remplazada por los colorantes artificiales. El trabajo de investigación tuvo como objetivo: optimizar las condiciones de extracción asistida por ultrasonido de antocianinas, compuestos fenólicos y antioxidantes provenientes de la raíz de Ajotillo (*Geranium sessiliflorum Cav.*). Las variables experimentales son el porcentaje de etanol al (25, 65 y 96 %), tiempo (10, 40 y 60 min) y temperatura (20, 40 y 60 °C). La cuantificación de antocianinas se realizó mediante el método diferencial de pH, los compuestos fenólicos totales mediante el método de Folin - Ciocalteu, y la capacidad antioxidante mediante el método del 2,2-Difenil-1-Picrilhidrazilo (DPPH), Utilizando un espectrofotómetro UV-VIS para los tres análisis. Los resultados indicaron que no sea detectado antocianinas por el método aplicado, aunque se observó un color rojo intenso a medida de la incrementación de la temperatura y el tiempo de extracción. Las muestras 9 y 12 presentaron los valores más altos de compuestos fenólicos totales, con 59.7 y 53.4 mg de ácido gálico/ 1 ml respectivamente, y los parámetros más óptimos fueron 96 % de etanol, 59.9 minutos y 20 °C. En cuanto a la capacidad antioxidante DPPH, las muestras 14 y 1, presentaron las concentraciones inhibitorias del 50% (CI 50), con 10.0 y 15.2 mg de equivalente Trolox CI 50/ml ms respectivamente, considerando que a menor valor de CI 50, mayor poder antioxidante. Los parámetros óptimos para la extracción de antioxidantes fueron 25 % de etanol, 45.2 min y 60 °C. Este estudio destaca la importancia del uso del ultrasonido y las variables experimentales en la obtención de compuestos bioactivos, y el estudio contribuye al avance científico en el desarrollo de colorantes naturales, compuestos fenólicos y antioxidantes de alta calidad.

PALABRAS CLAVE: Ajotillo, antioxidantes, compuestos fenólicos, extracción, ultrasonido.



ABSTRACT

The demand for natural dyes at an industrial level is replaced by artificial colors. The objective of the research work was: to optimize the ultrasound-assisted extraction conditions of anthocyanins, phenolic compounds and antioxidants from Ajotillo (*Geranium sessiliflorum* Cav.). The experimental variables are the percentage of ethanol (25, 65 and 96%), time (10, 40 and 60 min) and temperature (20, 40 and 60 °C). The quantification of anthocyanins was carried out through the differential pH method, the total phenolic compounds through the Folin - Ciocalteu method, and the antioxidant capacity using the 2,2- Diphenyl-1-Picrylhydrazyl (DPPH), Using a UV-VIS spectrophotometer for all three analyses. The results indicated that anthocyanins were not detected by the method applied, although an intense red color was observed as the temperature and extraction time. Samples 9 and 12 presented the highest values high in total phenolic compounds, with 59.7 and 53.4 mg of gallic acid/1 ml respectively, and the most optimal parameters were 96% ethanol, 59.9 minutes and 20 °C. Regarding the DPPH antioxidant capacity, samples 14 and 1 presented the inhibitory concentrations of 50% (CI 50), with 10.0 and 15.2 mg of Trolox equivalent IC 50/ml more respectively, considering that the lower the CI 50 value, the greater the power antioxidant. The optimal parameters for the extraction of antioxidants were 25% of ethanol, 45.2 min and 60 °C. This study highlights the importance of the use of ultrasound and experimental variables in obtaining bioactive compounds, and the study contributes to scientific progress in the development of natural dyes, compounds high quality phenolics and antioxidants in the food and non-food industry

KEYWORDS: Ajotillo, antioxidants, phenolic compounds, extraction, ultrasound.



CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

El uso holístico de medicinas alternativas como plantas medicinales y los suplementos dietéticos es una práctica tradicional que no ha sido olvidada a pesar de la creciente demanda de sus ingredientes (*Barthelson et al., 2006, Ramírez Hernández et al., 2013 & Rahman et al., 2006*). Como compuestos bioactivos, antioxidantes y pigmentos naturales para aplicaciones alimentarias, no alimentarias, farmacéuticas y cosméticas (*Destandau et al., 2013*). Se utiliza habitualmente diversos colorantes sintéticos. En la industria alimentaria, El interés en los pigmentos naturales ha incrementado significativamente a medida que los consumidores se muestran cada vez más preocupados por los posibles efectos secundarios de los aditivos artificiales (*Xóchitl F et al., 2022*).

En los últimos años, se ha investigado profundamente sobre los tejidos vegetales por contenido de antocianinas, compuestos fenólicos, debido a que muestran propiedades convenientes para la salud tales como actividad antioxidante, capacidad cardioprotectora, efecto antiinflamatorio, y actividad anticarcinógena (*Barragán et al., 2018*), en especial a nivel del colon, por las modificaciones que pueden provocar en la composición de la microbiota intestinal (*Muntean, 2005*), varios estudios se han enfocado en el hallazgo de nuevas fuentes vegetales con alto contenido de compuestos bioactivos, muchas veces poco explorados en frutas y hortalizas ricas en estos compuestos, atraen el interés sustancial de la industria alimentaria, no alimentaria y farmacéutica, como alternativas naturales a los colorantes artificiales y por sus propiedades terapéuticas (*Sowbhagya & Chitra, 2010*).



Las antocianinas, los compuestos fenólicos y los antioxidantes son propiedades funcionales naturales hidrosolubles que podrían ser utilizados como colorantes (rojos y amarillos), Estas propiedades funcionales son particularmente escasos en la naturaleza; se encuentran en las semilla, hojas y raíces como betarraga (*Beta vulgaris*), amaranto (*Amaranthus sp.*) y algunos cactus de género Opunti, como la tuna púrpura, las pitayas y pitahayas (Jin et al., 2003; Kumar & Kumar, 2022)

El Ajotillo (*Geranium sessiliflorum Cav.*), es una especie originaria de las tierras altas del Perú, como regiones de Puno, Ayacucho, Apurímac y Huancavelica. En estas zonas se utiliza como alimento para animales, teñido de textiles y como medicina alternativa. Además, hay muchas variedades, entre las que destacan está el Ajotillo, carmesí, blanca y amarillo. Él Ajotillo contiene pigmentos naturales como las antocianinas, alógenos, quinonas y flavonoides (Tintaya, 2002).

Por lo tanto, la investigación de propiedades funcionales que eviten todos los posibles riesgos para la salud y el medio ambiente es de interés mundial. En general, este tipo de antioxidantes poseen menor actividad de que esta comparando que los sintéticos, por lo que existe mucho interés a nivel mundial en investigar nuevas fuentes naturales de antioxidantes que sean más efectivas y económicas, por ello (Asociación Wiñay Choquecampi, 2021). El Ajotillo no se abandonó la investigación sobre el aprovechamiento, para aumentar la productividad, diversificar su uso y obtener una amplia gama de productos secundarios y primarios para incentivar mayores esfuerzos por utilizarla. El proceso de extracción de ya sea de colorantes y compuestos bioactivos una de las deficiencias es el tiempo de extraer y el producto tiende a sufrir contaminación por el tiempo exceso de tiempos en maceración (Asociación Wiñay Choquecampi, 2021). Con el propósito de mejorar el proceso de extracción aplicando tecnologías emergentes como el ultrasonido de potencia.



Dentro de estos contextos, se plantea los objetivos de la presente investigación:

1.1. OBJETIVOS GENERALES:

- Optimizar las condiciones de extracción asistida por ultrasonido de antocianinas, compuestos fenólicos y antioxidantes a partir de la raíz de Ajotillo (*Geranium sessiliflorum Cav.*).

1.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- Determinar el efecto de la concentración de etanol (25, 65 y 96 %), tiempo (10, 40 y 60 min) y temperatura (20, 40 y 60 °C) sobre el contenido de antocianinas en la extracción asistida por ultrasonido a partir Ajotillo (*Geranium sessiliflorum Cav.*).
- Evaluar el efecto de la concentración de etanol (25, 65 y 96 %), tiempo (10, 40 y 60 min) y temperatura (20, 40 y 60 °C) sobre el contenido compuestos fenólicos en la extracción asistida por ultrasonido a partir Ajotillo (*Geranium sessiliflorum Cav.*).
- Evaluar el efecto de la concentración de etanol (25, 65 y 96 %), tiempo (10, 40 y 60 min) y temperatura (20, 40 y 60 °C) sobre el contenido de antioxidantes en la extracción asistida por ultrasonido a partir Ajotillo (*Geranium sessiliflorum Cav.*)



CAPÍTULO II

REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. ANTECEDENTES

Chen et al., (2015), realizaron una investigación sobre las condiciones óptimas para concentración de HCL, la concentración de etanol y tiempo de extracción para el rendimiento máximo de extracción de compuestos fenólicos, antioxidantes y antocianinas de los extractos de melaza de remolacha azucarará, donde utilizo el diseño compuesto central (CCD) para optimizar los parámetros de extracción como el contenidos total de compuestos fenólicos, antioxidantes y antocianinas en una concentración de HCl 1,55-1,72 mol/L, concentración de etanol al 57- 63 % (v/v), a una temperatura de 41 - 48 °C y un tiempo de sustracción 66-73 min. Los resultados obtenidos en fenólicos totales fueron 17,36 GAE/100 ml, la actividad antioxidante fue de 16,66 miligramo de TE/g y el total de antocianinas de 31,81 mg/100 g de extracto de melaza de remolacha, lo que corresponde a los valores esperados.

Rolny et al., (2016), realizaron estudios sobre los compuestos bioactivos presentes en las raíces de ahipha. El estudio se enfocó en los tejidos internos y externos de la planta, y se determinó la actividad antioxidante (AA) mediante los métodos ABTS y FRAP, junto con la cuantificación de fenoles, flavonoides y taninos. Encontraron que los tejidos externos presentaban una mayor concentración de fenoles ($2228,2 \pm 26,3$ mg ácido gálico/kg), flavonoides ($2979,0 \pm 202,7$ mg catequina /kg) y taninos ($3582,8 \pm 59,6$ mg ácido tánico/kg). Mientas que, en los tejidos internos, la concentración fue menor, con $359 \pm 5,5$ mg ácido gálico/ kg (fenoles), $605,1 \pm 21,9$ mg catequina / kg (flavonoides) y $313,8 \pm 20,5$ mg acido tánico / kg (tanino), respectivamente. En



conclusión, las raíces de ahipha podrían ser una excelente fuente de compuestos bioactivos

Human & Oroche (2016) informaron que tanto los extractos etanólicos al 70 % de *Geranium sessiliflorum Cavanilles* como los de *Oenothera rosea* mostraron una presencia abundante de compuestos fenólicos y flavonoides. Además, destacaron la alta concentración de lactonas y taninos en el extracto de clorofórmico de *Geranium sessiliflorum Cav.* Mientras que en el extracto clorofórmico de *Oenothera rosea* encontraron en cantidades más reducidas. En cuanto a la concentración Mínima Inhibitoria (CMI), se determinó que el extracto etanólico al 70 % de *Geranium sessiliflorum Cav.* frente a *Escherichia coli* cepa ATCC 35218 fue de 11 mg/50 uL. Cabe resaltar que no se observó toxicidad en la administración oral del extracto.

Flores et al., (2017), realizaron un estudio sobre “Extracción de antioxidantes de las bayas del saúco (*Sambucus nigra l.subsp. peruviana*)”, el propósito de este trabajo de investigación es evaluar el uso de catalizador, ultrasonido, microonda y maceración para optimizar la extracción de antioxidantes de las bayas de saúco. Concluyó que los métodos de maceración a 70 °C durante 20 minutos dieron las mejores propiedades antioxidantes, una combinación de enzimas y horno de microondas mejora el proceso de extracción, dependiendo del tipo de enzima.

Espalda & bellido (2017), informaron que los variables de extracción, incluido el metanol. Composición (50 – 100 %), temperatura (10 – 70 °C), amplitud de ultrasonido (30 – 70 %), ciclo (0,2 – 0,7 s), se consideraron dos variables de respuesta: total, antocianinas y compuestos fenólicos totales. Se encontraron la temperatura de extracción y la composición del disolvente. Ser los parámetros más influyentes para las antocianinas (48 °C y 76 %) y los compuestos fenólicos (64 °C y 61 %). Los métodos



desarrollados demostraron alta reproducibilidad y repetitividad ($RSD < 5 \%$). Al final, las nuevas técnicas se implementaron eficazmente en muestras reales para investigar la presencia de antocianinas y compuestos fenólicos totales en diversas mermeladas de morera.

Alicia et al., (2007), investigaron el efecto del uso moderado de vino tinto sobre varios marcadores de peligro cardiovascular, midiendo la actividad de compuestos activos como la capacidad antioxidante, antocianinas y polifenoles, que se cuantificaron mediante equipo de cromatografía. Obteniendo los siguientes resultados: antocianinas 226.9 mg/L en vino tinto, C.I.50% del radical libre DPPH igual a 42,27 mg/ml; cafeico = 11,82 mg/L, kaempherol = 1,08 mg/L, quercetina = 9,40 mg/L y polifenoles totales = 1281,57 mg/L. Concluyendo que el vino tinto aumentó el HDL y redujo el índice de peligro cardiovascular en mujeres.

Ahmed et al., (2022), en su investigación emplearon tres parámetros de extracción: X1: temperatura ultrasónica (40-60 °C), X2: tiempo ultrasónico (30-60 min) y X3: concentración de etanol (40-80 %) en los ensayos TPC, DPPH y FRAP. Mediante RSM, se determinó que las condiciones óptimas de extracción que maximizaban TPC, DPPH y FRAP eran 52,03 °C de temperatura, 30 min de tiempo y 79,99 % de etanol. En condiciones ideales, los valores experimentales para TPC, DPPH y FRAP fueron 370 ± 26 mg GAE/100 g MS, $57 \pm 7 \%$ y 7650 ± 460 mg AAE/100 g MS, respectivamente. Se observó una buena correspondencia entre los valores experimentales y los predichos, con un error estándar residual por debajo del 0,2 % en condiciones óptimas. Los coeficientes de correlación de Pearson (r) mostraron una correlación débilmente positiva entre TPC y DPPH ($r = 0,3508$) y una correlación moderada con FRAP ($r = 0,3963$).



Barragán et al., (2018), en su estudio del contenido de antocianinas (AT), capacidad antioxidante y polifenoles totales (PFT) en frutos nativos de mío mío (*Coriaria ruscifolia L*) de Abancay, Apurímac - Perú. Utilizaron el método de pH diferencial para antocianinas, Folin - Ciocalteu en polifenoles totales y las pruebas de capacidad antioxidante por TEAC ABTS y DPPH. El contenido de (AT) fueron de 440,22 (mg de cianidina 3 - glucósido /100g), TEAC DPPH 82.70 ($\mu\text{mol Trolox /g}$) y PFT fue de 371,71 (mg ácido gálico/100g), TEAC ABTS 134,40 ($\mu\text{mol Trolox /g}$). En esta investigación se encontró que el contenido de antocianinas totales y la capacidad antioxidante TEAC ABTS estaban significativamente correlacionados.

Oliveira et al., (2018), realizaron un estudio sobre nueva estrategia para la determinación de antocianinas, polifenoles y capacidad antioxidante del extracto líquido de col roja (*Brassica oleracea*), utilizando espectroscopias infrarrojas y regresión multivariante, donde estudiaron determinar las propiedades antioxidantes del extracto de col roja (*Brassica oleracea*) por espectroscopias infrarrojas medias (MID) y cercanas (NIR) y parciales regresiones de cuadrados (PLS). Variables de estudio etanol al 70% (v/v) se concentró a 9° Brix y más diluido (12 a 100%) en agua. Las diluciones se usaron como patrones externos para la obra de modelos PLS. Por primera ocasión se aplicó para la obra de multivariantes modelos de regresión. Selección de predictores ordenados (OPS) y genética, el algoritmo (GA) se usó para la selección de propiedades previo a la regresión PLS (PLS-1). Además, la regresión PLS-2 se aplicó a cada una de las características al mismo tiempo. Los modelos PLS-1 dieron más modelos predictivos que la regresión PLS-2. No obstante, los superiores modelos fueron obtenidos por medio de PLS y selección de cambiantes con el algoritmo OPS y los modelos basados en NIR los espectros se consideraron más predictivos para cada una de las características.



Entonces, dichos modelos dieron un procedimiento fácil, veloz y preciso para la decisión del antioxidante del extracto de col roja.

Velásquez & Ramírez (2020), durante su proyecto de investigación, recopilaron información de que se han utilizado desde tiempo pasado, entre ellas *Geranium ayavacense* y *Geranium sessiliflorum* que por sus diversas propiedades beneficiosos, incluso se dispensan en establecimientos de salud. Se registraron 20 estudios de investigación sobre estas plantas, la mayoría de ellos etnobotánicos. La planta se utiliza en infusión, ya sea seca o fresca. Se han realizado más investigaciones sobre el uso de *Geranium ayavacense* como agente hipoglucemiante y antibacteriano, mientras que *Geranium sessiliflorum Cav* se investigó por sus propiedades antibacterianas. Sin embargo, existe un vacío científico respecto a otras propiedades terapéuticas que aporta la medicina tradicional.

González de Peredo et al., (2019), reportaron un “Estudio de método alternativo asistido por ultrasonido para la extracción de los compuestos bioactivos presentes en bayas de mirto (*Myrtus communis L.*)”, el objetivo fue determinar las condiciones óptimas para los métodos de extracción y el rendimiento de actividad antioxidante, antocianinas y compuestos fenólicos de las bayas de mirto. Las variables de respuesta se optimizaron mediante un diseño de Box - Behnken. Los compuestos fenólicos totales se ven afectados por los cambios en la proporción doble de metanol (92,8% de metanol en agua, periodo de 0,2 s, 60 °C y 10: 0,5 ml/g) temperatura, periodo y disolvente, muestra. La relación de PH Y metanol (74,1% de metanol en agua a pH 7). Tuvo los mayores efectos en las antocianinas, Sin embargo, EAU presenta la ventaja de utilizar condiciones más suaves para la extracción de antocianinas del mirto, lo que hace de este un método más adecuado para la extracción de estos compuestos.



Los autores Dumitrascu et al., (2019), realizaron una investigación con el objetivo de identificar los parámetros óptimos para la extracción de antocianinas y compuestos fenólicos totales de la cereza de cornalina mediante el empleo de ultrasonido. La máxima recuperación de antocianinas y compuestos fenólicos totales se logró a 40 minutos a 30 °C al extraer con 80% y 60% etanol, respectivamente, según el método de superficie de respuestas utilizado para las variables dependientes. La cianidina - 3 - rutinósido y la cianidina - 3 - glucósido fueron las dos antocianinas encontradas por HPLC. Las antocianinas de la cereza de cornalina son termo resistentes hasta 120 °C, pero se degradan a temperatura severa según un estado cinético. Se observa un modelo cinético de primer orden en las antocianinas manométricas totales, facilitando la predicción de los parámetros de degradación térmica.

Arrocha et al., (2021), llevaron a cabo investigaciones sobre la "Extracción asistida por ultrasonido de antocianinas y compuestos polifenólicos en Lías Tintas" con el fin de maximizar la obtención de compuestos bioactivos, antocianinas y compuestos polifenoles. En este estudio, se empleó la técnica de extracción por ultrasonidos (EAU) para la extracción de antocianinas totales (AT) y compuestos polifenoles totales (CPT). Tras ajustar las seis variables de extracción (% de metanol, pH, temperatura, amplitud, ciclo y relación disolvente: masa), obteniendo de CPT: 73% de metanol en disolvente de agua con pH 4, temperatura de extracción de 10 °C, relación disolvente: masa de 20:0,5 ml:g y ondas ultrasónicas con un ciclo de 0,7 s y una amplitud del 68%, Condiciones óptimas de EAU para extraer antocianinas totales: 49% de metanol, pH 6,9, temperatura de 10 °C, relación disolvente: masa de 11:0,5 ml:g y ultrasonido con una amplitud del 51% por 0,7 s.



2.2. MARCO TEORICO

2.2.1. Ajotillo

Sinónimos

Geranium sessiliflorum Cav. *Geranium malpasense* R. Knuth; *Geranium pallidifolium* R. Knuth; *Geranium sessiliflorum* Car; *lanatum* R. *Sessiliflorum microphyllum* Kuntze; *Geranium razuhillcaense*; *Geranium santacruzense* Knuth; *Geranium sessiloflorum* Fo. *Geranium tucumanum* R. (Paniagua-Zambrana & Bussmann, 2020)

2.2.1.1. Distribución

La especie (Ajotillo) *Geranium sessiliflorum* Cav. Esta ampliamente difundido en la zona alto, andina de los departamentos de Puno, Cuzco, Apurímac, Arequipa, Huancavelica, Junín y Cajamarca (Fitogeográficos & Montoya, 2022)

Su hábitat es aproximadamente desde los 4,000 a 5,482 msnm en la zona alto, andina, se encuentra en abundancia en los lugares secos, laderas y quebradas, en los pastizales de pastoreo, invadiendo como maleza los campos de cultivo (Asociación Wiñay Choquecampi, 2021).

2.2.1.2. Descripción

Plantas herbáceas, poseen rizomas que permiten que la planta brote cada vez que haya humedad apropiada y desde los cuales brotan abundantes raíces secundarias (Blanca et al., 2012). Las hojas son palmas,



de color verde, en otro caso plúmbeo y pubescentes. Sus flores de color malva en algunos casos blanco rosácea (Philipp, 1987).

2.2.1.3. Taxonomía del Ajotillo

El Ajotillo (*Geranium sessiliflorum Cav.*) conocido también como Ajotillo y chili chili es una flora silvestre que crece en las zonas alto, andinas como en el distrito de Santa Rosa, Melgar, Puno, Perú podemos encontrar entre los 3000 - 5482 msnm, los meses de enero a junio está en pleno florecimiento el resto de meses se puede apreciar secándose esta planta, por lo visto no tienen un general aprovechamiento, solo como alimento para los animales y muy poca información donde dicen que este arbusto es utilizado como tintes naturales para el teñido de artesanal de fibras como medicina alternativa para algunos malestares (Tintaya, 2002).

Human & Oroche (2016), desde el punto de vista botánico clasifica al Ajotillo de forma siguiente:

Reino: Vegetal

Clase: Equisetopsida

Sub clase: Magnoliidae (dicotiledóneas)

Sub orden: Rosanae

Orden: Geraniales

Familia: Geraniaceae

Género: *Geranium*



Especie: *Geranium sessiliflorum Cavanilles*

Nombre científico: *Geranium diffusum*

Nombre vulgar: Ajotillo, chili chili

2.2.1.4. Aspectos botánicos

Geranium sessiliflorum Cav. (Ajotillo) una especie perenne con muchas ramas ascendentes o esparcidamente, delgadas, estambres retorcidos por debajo de 1,5 a 2,5 cm de altura casi ausentes, hojas comprimidas redondeadas semiformes pálmate 5 - 6 partidos el lóbulo obeuneado apucalmente trilobulados, el lóbulo central frecuente mente trilacenoado, todo los lóbulos ovados obtusamente mieronadas estipulas tubulados sin inflorescencia con extensión densamente pilosa, 2.3 cm de longitud sépalos elípticos oblongos alrededor de 5 ml de longitud con 0.3 ml de longitud pilosa ,corola 10-12 de ancho , las espinas de los pétalos ablancaados de 7 ml de longitud (Paniagua-Zambrana & Bussmann, 2020; Tintaya Sullca, 2002).

2.2.1.5. Usos

El Ajotillo (*Geranium sessiliflorum Cav.*) todavía sin uso industrial con un índice de valor de importancia (Lopez, 2019), Es una planta medicinal porque contiene compuestos volátiles responsables de su color, aroma y sabor, también como control de plagas y malezas en viñedos (Asociación Wiñay Choquecampi, 2021; Shields et al., 2016).



A.- Usos etnobotánicos

El (Ajotillo) *Geranium sessiliflorum Cav.* Crece espontáneamente en forma silvestre en las zonas alto, andinas de nuestra región. Existen plantas de este género como el *Geranium filipes killipi* que crece en estratos más bajos, es un herbáceo perenne de las montañas elevadas, dice que toda la planta es eficaz en la medicina y tintaría tradicional (Cano, 2022), cumple una función muy importante atribuye efectos terapéuticos de cicatrizantes, astringente interior y exterior, en infusiones y cocimientos, polvo y tintórea (Huaman & Oroche, 2016). Además, sirve para curar las heridas y fiebre, haciendo la infusión, poderoso cicatrizante que ejerce rápido crecimiento de células de la herida y los intestinos, órganos linfáticos, glandulares, analgésicos, alérgicos, antiasmático, antidiarreicos, antiinflamatorio, diuréticos, laxantes y sedantes (Oliveira et al., 2018; Instituto Cuencas, 2012)

B.- Tintorería

Las plantas vegetales a menudo derivan sus pigmentos de una variedad de componentes bioactivos que no están relacionados con el color de la planta o el tinte que contiene (Umaru, 2023). Se utilizan como agentes colorantes, siendo en su mayoría compuestos orgánicos que se emplean para dar color a diversas sustancias, incluyendo fibras de animales, vegetales o sintéticas, así como a productos afines como papel y plástico. (Tintaya, 2002).

2.2.2. Antocianinas

Las antocianinas son un grupo importante de pigmentos naturales pertenecientes a la familia de los flavonoides, hidrosolubles visible al ojo humano, que también son responsables de colores como rojos, morados y azules en diversas frutas, verduras, flores, vegetales y cereales. Presentes en las células de las plantas en la piel de frutas como uvas, arándanos, cereales, fresas y algunas hortalizas (Garzon, 2008).

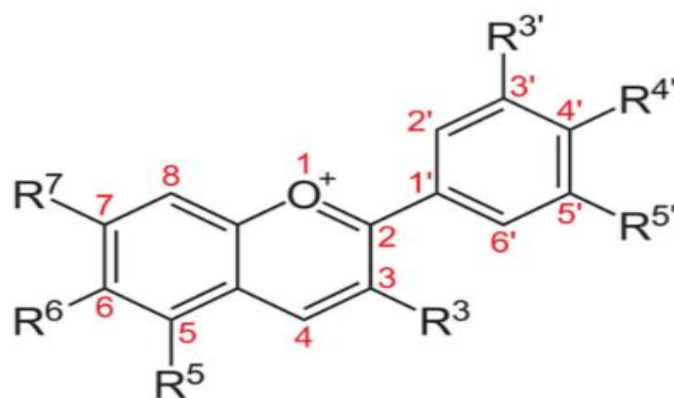
Además de proporcionar colores brillantes en la naturaleza, las antocianinas también tienen propiedades antioxidantes que benefician la salud humana al ayudar a proteger las células del daño oxidativo.

2.2.2.1. Estructura de las antocianinas

Estructuralmente, forma derivados polimetoxi, polihidroxiados y glicosilados de sales de 2 - fenil benzopirilio o sales de flavilo (Ver figura 3) (Jin et al., 2003).

Figura 1

Estructura de antocianinas.

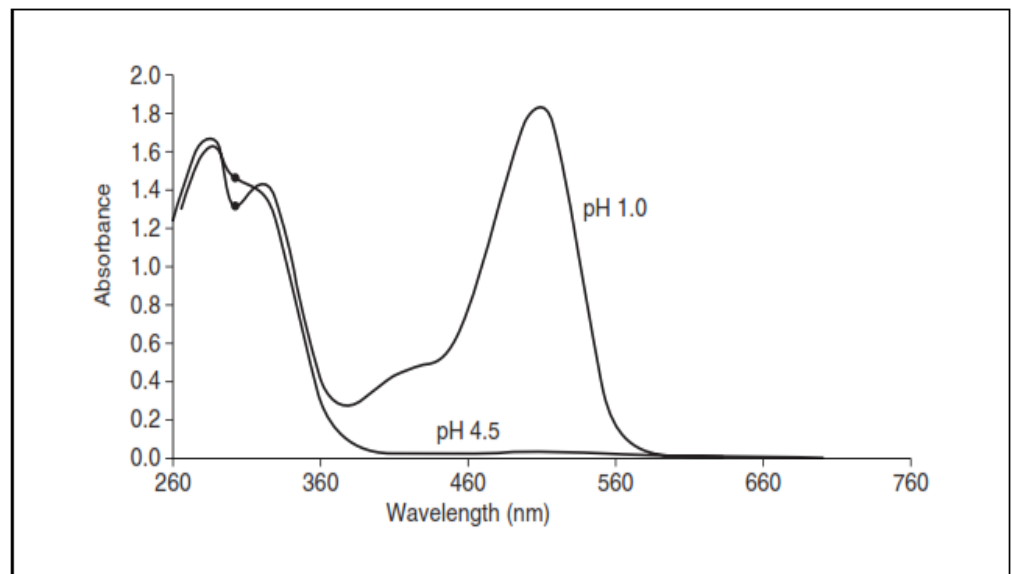


Fuente : Estructura de antocianinas (Khoo et al., 2017 & Lee et al., 2005).

Las antocianinas son glucósidos de antocianidinas (agliconas), pertenecen a compuestos llamados flavonoides (Bonev & Alexandrov, 1993). Sin embargo, la totalidad de los flavonoides son generalmente incolora o de color amarillo, tales como los flavonoles y las flavonas a la vez son colorantes naturales que han suscitado un interés creciente debido a su amplia gama decolorante, efectos inocuos y benéficos para la salud (Castañeda-Ovando et al., 2009).

Figura 2

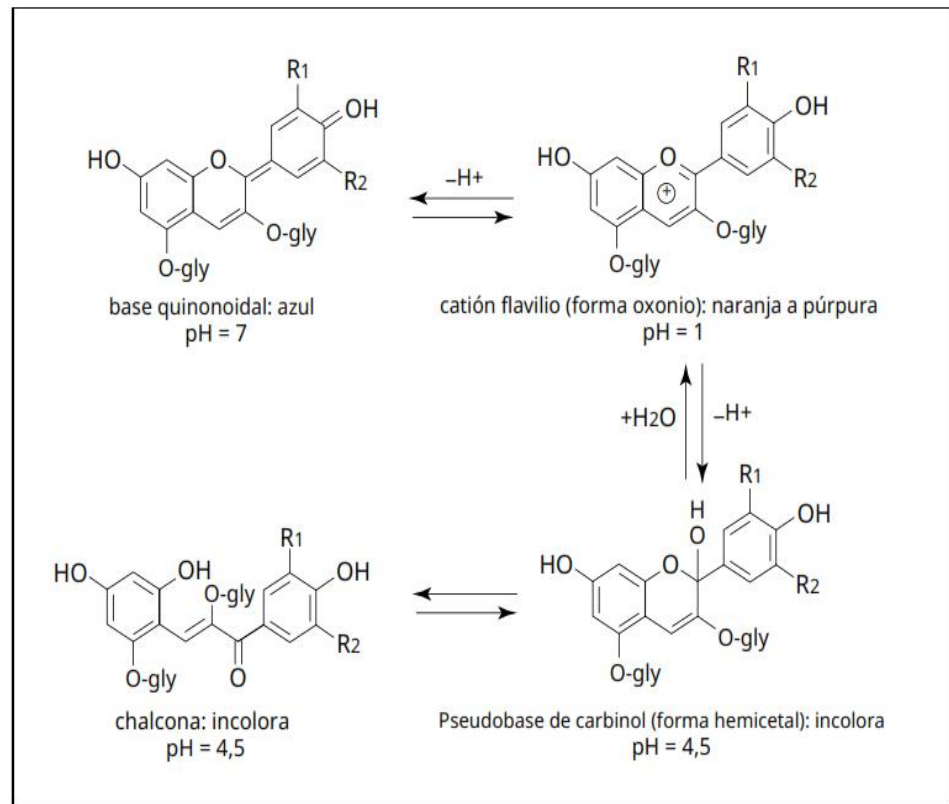
Las antocianinas de rábano (derivados de pelargónidina-3-soforosido-5-glucósido) se han purificado y en el gráfico se muestra que sus espectros están entre pH 1.0 y pH 4.5.



Fuente: (derivados de pelargónidina-3-soforosido-5-glucósido) de pH 1.0 y pH 4.5, (Lee et al., 2005).

Figura 3

Estructurales predominantes de antocianinas a diferentes niveles de pH.



Fuente: Antocianinas a diferentes niveles de pH (Giusti & Wrolstad, 1996 & Lee et al., 2005).

Incrementos en la hidroxilación originan hacia tonalidad azul, mientras que incrementa la metoxilaciones que producen coloraciones rojas (Garzon, 2008). Los grupos hidroxilo y metoxilo de la molécula determina su color tanto en número como su orientación.

2.2.2.2. Biosíntesis de las antocianinas

Malonil CoA y p - cumarii - CoA, dos moléculas precursoras que forman los anillos A y B se condensa para formar antocianinas. El anillo A de las antocianinas se sintetiza por la ruta del ácido malónico por la condensación de 3 moléculas de malonil - CoA, por lo tanto, el anillo B se



sintetiza por la ruta del ácido shikímico (Springob et al., 2003). El proceso de la chalcona sintetiza, implica la participación de P - cumaril - CoA en una reacción de condensación con 3 moléculas malonil CoA para formar la chalcona 15 C, una reacción promovida por la chalcona sintetiza. Este intermedio de 15 C se convierte en flavanonas en la reacción catalizada por chalcona isómeras (Garzon, 2008). Finalmente, las flavanonas se convierte en las antocianinas correspondientes a través de una reacción de hidroxilación en el carbono tres seguidas de deshidratación (Garzon, 2008).

2.2.2.3. Factores químicos y la estabilidad de las antocianinas

- a. **pH:** Afecta la estabilidad y estructura de las antocianinas se ven afectadas. (Timberlake, 1980).
- b. **Temperatura (C):** Los aumentos de temperatura dan como resultado una pérdida de azúcares glicosilantes. procesos térmicos (a temperaturas a superiores 60°C) se descomponen, Por lo tanto, las antocianinas están hidroxilasas son menos estables (Duan et al., 2024).
- c. **Oxígeno:** Ocurre en su forma quinoíde la eliminación del oxígeno protege contra la degradación térmica (Yuan et al., 2023).
- d. **Ácido ascórbico:** Se oxida para producir peróxido de hidrógeno, que degrada las antocianinas cuando hay oxígeno presente (Yuan et al., 2023).



Tabla 1

Contenido de antocianinas de algunas frutas y verduras comunes.

| Fuente | Contenido De Pigmento (Mg/100 gr De Peso Fresco) |
|------------------|---|
| Manzana | 10 |
| Mora | 83 – 326 |
| Arándanos | 25 – 495 |
| Repollo rojo | 25 |
| Arándanos | 60 – 200 |
| Sauco | 450 |
| Uva | 6 – 600 |
| Cebolla Roja | 7 – 21 |
| Ciruela | 2 – 25 |
| Rábanos Rojos | 11 – 60 |
| Fresas | 15 – 35 |



Fuente: (Lee et al., 2005 & Khoo et al., 2017).

Las antocianinas que se encuentran en las plantas tienen una amplia gama de uso (Guha, 2015). Se utilizan tradicionalmente como tinte y colorante alimentario, así como colorantes naturales. Algunas de las flores y frutas ricas en antocianinas se utilizan tradicionalmente como medicina para tratar diversas enfermedades (Khoo et al., 2017). Por lo tanto, las antocianinas derivadas de plantas comestibles han sido estudiadas por sus propiedades medicinales por poseer propiedades antidiabéticas, anticancerígenas, antiinflamatorio, antimicrobiano y antiobesidad efectos, así como la prevención de enfermedades cardiovasculares (CVD) (Khoo et al., 2017). Por lo tanto, las antocianinas extraídas de las plantas comestibles son posibles ingredientes farmacéuticos (Lopez, 2019).

2.2.2.4. Método utilizado para la cuantificación de antocianinas

A. Método espectrofotómetro

El método de diferencial de pH ha sido descrito como rápido y fácil para la cuantificación de antocianinas monoméricas (Giusti & Wrolstad, 1996). El método sustractivo se basa en el uso de un compuesto auxiliar bisulfito como agente bloqueador: el incoloro decolora las antocianinas, pero no tiene efecto sobre materiales que interfieren (Barragán et al., 2020). Mediante el uso de dos procedimientos espectrales, se puede obtener una medición precisa del contenido de pigmento de antocianina monomérica total. Para determinar el contenido total de antocianinas, se mide la absorbancia a pH 1.0 y 4.5 a $\lambda_{vis} - max$.



2.2.3. Antioxidantes

Un antioxidante dietético es un ingrediente que se encuentra en los alimentos que la gente consume regularmente y que ayuda a proteger los procesos normales del cuerpo de los efectos nocivos de las especies reactivas (Shahidi & Zhong, 2015). Como también reducir la velocidad de las sustancias autooxidables y componentes clave que protegen la calidad de los alimentos retardando la oxidación y se pueden definirse como un grupo de moléculas conocidas por su capacidad de neutralizar los efectos nocivos de los radicales libres y el estrés oxidativo (Zygler et al., 2012).

Los antioxidantes actúan como un sistema de defensa que previene el daño oxidativo provocado por los radicales libres (Chen et al., 2023). Dado que actúan como un sistema de defensa del cuerpo, los ROS, esta es una función corporal extremadamente importante (Chen et al., 2023).

2.2.3.1. Radicales libres

En su estructura, uno o más electrones no apareados en una figura química se denomina radicales libres. En realidad, durante la reacción en cadena, un radical libre puede alterar a 1 millón de moléculas (Vazquez, 2014). Forman parte de las especies reactivas del oxígeno (ERO) o ROS (Reactive Oxígeno Especies) los compuestos en cuestión (Coronado et al., 2015). Durante el metabolismo humano, se liberan los radicales libres. También son causadas por la radiación (ultravioleta, hertziana, gamma), contaminantes ambientales (atmosféricos, suelo, acuáticos) y más. Podrían ser el resultado de una dieta inadecuada, la exposición a pesticidas o fertilizantes o el uso de



sustancias nocivas como el alcohol, el tabaco o las drogas (Irigaray et al., 2007). Además, existen altos niveles de estrés físico o psicológico del metabolismo de determinadas sustancias químicas.

2.2.3.2. Estrés oxidativo

El estrés oxidativo es un concepto vinculado a las células y las repercusiones provocadas por los radicales libres en su funcionamiento (Reyes et al., 2012). por lo tanto, en situaciones normales, existe un equilibrio entre la producción de radicales libres u otras formas reactivas con mecanismos antioxidantes (exógenos y endógenos) (Escorza et al., 2009). Cuando el equilibrio se debe a una deficiencia en la vía antioxidante o una proliferación descontrolada de radicales libres (Coronado et al., 2015).

2.2.3.3. Proceso de oxidación reducción

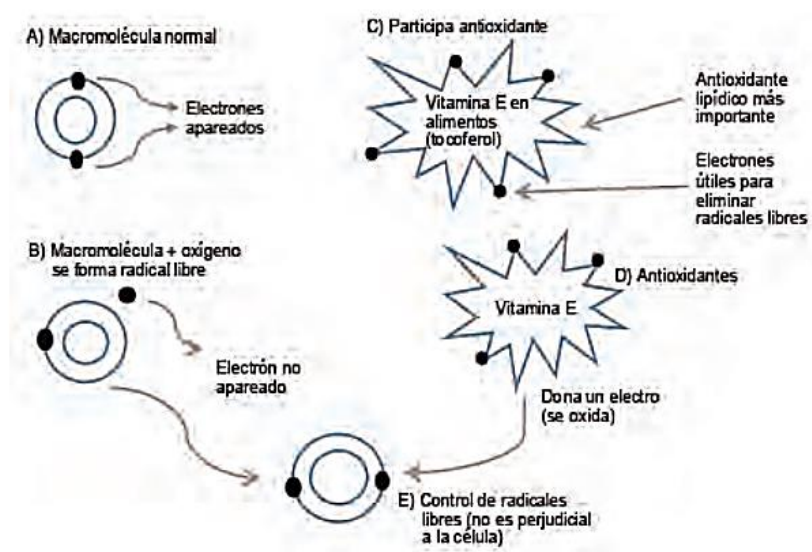
Existen 2 vías para prevenir al organismo de los radicales libres: enzimáticas y no enzimáticas, tanto endógenas como exógenas. Su interacción puede ser intracelular o extracelular (Escorza et al., 2009). El apoyo externo es necesario para la vía endógena, por lo tanto, se sugieren los antioxidantes exógenos, cuya importancia radica en que son aquellos que pueden ser incluidos en la diaria se señala en la sección posteriormente (Química, 2020). Se analiza a continuación un fenómeno natural biológico agrupado con la salud humana y con los antioxidantes (Coronado et al., 2015).

Se señaló que al disimular los efectos del proceso oxidativo, la expectativa humana de la vida humana podría aumentar (Miranda et al.,

2000). En consecuencia, las especies reactivas del oxígeno, como los radicales libres, conseguir alterar la membrana interna o el ADN mitocondrial, lo que resulta un mayor daño y aumento del estrés oxidativo (Islam et al., 2018). Esto se debe a una mayor producción de ERO y a la pérdida del equilibrio requerido por la célula, al generarse más oxidantes, señala que el genoma mitocondrial, el cual es producido por la misma mitocondria, es susceptible al ataque de los radicales libres (Zeng et al., 2023).

Figura 4

Interacción entre radicales libres y antioxidantes



Fuente: (Coronado et al., 2015).

2.2.3.4. Función antioxidante

En la actualidad, existe un gran interés en investigar los antioxidantes y productos de origen natural en comparación con los de origen sintético (Tamta et al., 2016). Aunque aditivos alimentarios como BHT (Butilhidroxitolueno), TBHQ (Terbutilhidroquinona), BHA



(Butilhidroxianisol) o Propilgalato se utilizan en productos de consumo diario y están regulados por la ley, su consumo excesivo puede tener efectos tóxicos (Estévez Brito, 2016). Se han establecido las propiedades médicas y fisiológicas de las especias y condimentos que son de gran interés para la sociedad (Arora & Kaur, 1999 & Simões et al., 1999), en especial, los antioxidantes alimentarios son importantes para prevenir lesiones inflamatorias, deficiencias nutricionales, enfermedades autoinmunitarias, Parkinson, infartos de miocardio, neurodegenerativo, envejecimiento, neoplasias y diabetes (Gutteridge & Halliwell, 2000). Esto se debe a la producción de radicales libres. En las últimas décadas, el número de publicaciones científicas relacionadas con antioxidantes ha crecido. Los antioxidantes de origen natural han sido objeto de interés por tres razones principales (Miller & Rice-Evans, 1996).

1. Beneficios están en la presencia de agentes fotoquímicos con propiedades antioxidantes en bajas concentraciones con respecto al sustrato a oxidar, puede retardar o incluso prevenir la autooxidación o la oxidación causada por radicales libres, pero no puede intervenir en las posteriores oxidaciones (Miller & Rice-Evans, 1996).

2. Las ventajas de incorporar antioxidantes naturales para combatir enfermedades crónicas degenerativas y ralentizar el proceso de envejecimiento (Coronado et al., 2015).

3. La mayor sensación de inseguridad de las personas al consumir antioxidantes sintéticos por ello una preferencia generalizada en la población mundial por los antioxidantes naturales en comparación con los



sintéticos, siendo los primeros mucho más aceptados y demandados en el ámbito comercial (Dorman & Hiltunen, 2004). La ingesta dietética de antioxidantes naturales sugieren un aumento significativo de las defensas naturales del organismo, lo que lleva al reconocimiento de que el consumo de antioxidantes es sinónimo de salud (Coronado et al., 2015).

Los alimentos que han sufrido oxidación pierden gran parte de su valor nutricional porque implica la pérdida de vitaminas, ácidos grasos esenciales, calidad sensorial, color, textura, sabor y acorta la vida útil del alimento y puede hacer que los consumidores lo rechacen (Singh et al., 2023).

Son sustancias que pueden proteger a las células y otras moléculas del daño de los radicales libres, estas son reacciones químicas que transfieren electrones de una molécula a un agente oxidante, generando radicales libre que inician la reacción cadena y terminando esta reacción en cadena al inactivar los radicales libres (Dorman & Hiltunen, 2004 & Olsen, 2021).

2.2.3.5. Clasificación de los antioxidantes

Se pueden clasificar en diferentes categorías según sus propiedades químicas y sus funciones en el organismo.

1) Antioxidantes endógenos:

- **Catalasa:** Enzima que convierte el peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno, reduciendo el estrés oxidativo (Criado & Moya, 2009).

2) Antioxidantes exógenos



- **Vitaminas:** Esta incluye la vitamina C (ácido ascórbico) y la vitamina E (tocoferoles y tocotrienoles) (Criado & Moya, 2009).
- **Minerales:** Como el selenio y zinc que forma parte de las enzimas antioxidantes (Criado & Moya, 2009).
- **Carotenoides:** Pigmentos vegetales como el betacaroteno, licopeno y la luteína (Criado & Moya, 2009).
- **Glutación:** Un tripéptido presente en muchas células que desempeña un papel central en la protección antioxidante (Criado & Moya, 2009).
- **Coenzima Q10:** Un componente importante en la cadena de transporte de electrones en las mitocondrias (Criado & Moya, 2009).

3) Antioxidantes Sintéticos

Se utilizan en la industria alimentaria como conservantes para prevenir la oxidación y el deterioro de los alimentos, contienen sustituciones alquílicas para aumentar su solubilidad en grasas y aceites, estables al calor y, a menudo, se usan para estabilizar las grasas en los alimentos cocidos y fritos (Koh & Surh, 2015). Pero desde el punto de vista de la seguridad alimentaria, siempre están sujetos a constantes cuestionamientos y limitaciones, dado que se ha reportado que serían carcinogénico (Ramis-Ramos, 2003b). Para evitar que se formen peróxidos durante el almacenamiento, se añaden antioxidantes sintéticos en cantidades no superiores al 0.02% del contenido de grasa o aceite del alimento, aconsejan antioxidantes naturales como sustancias más saludables (Ramis-Ramos, 2003a).



4) Antioxidantes Naturales

Los antioxidantes naturales presentes en los alimentos integrales son conocidos por sus beneficios para la salud. Estos compuestos fenólicos tienen su eficacia determinada por la reacción del hidrógeno fenólico con los radicales libres, la estabilidad de los radicales antioxidantes formados durante dicha reacción y las sustituciones químicas presentes en su estructura básica (Coelho et al., 2022). Este último factor contribuye a la capacidad antioxidante natural y estable de estos compuestos (Coelho et al., 2022).

Existen varios antioxidantes naturales que se destacan por su efectividad, como el β -caroteno, la vitamina C, la vitamina E y el selenio. Además, la vitamina E es un antioxidante importante que actúa en la fase lipídica de todas las células y dona electrones a los radicales libres, lo que protege a nuestras células del daño (Zamora, 2007).

Las clasificaciones de antioxidantes exógenos, endógenos y cofactores se clasifican en la tabla 2 (Hefied et al., 2023). Cuando el equilibrio entre antioxidantes y oxidantes aumenta, se pierde a favor de los radicales libres, se produce estrés oxidativo y se producen enfermedades (Mayor-Oxilia, 2010).

5) Hidrofílicos y lipofílicos

Algunas plantas producen antioxidantes como parte de su defensa contra las presiones ambientales y los depredadores.



- **Antocianinas:** Pigmentos responsables de los colores rojos y azules y morado de frutas y verduras (González Jamanca & Alfaro Cruz, 2017).
- **Curcumina:** Componente activo de la cúrcuma con propiedades antioxidantes y antiinflamatorias (González Jamanca & Alfaro Cruz, 2017).
- **Vitamina C:** Se encuentra en frutas cítricas, fresas, kiwi y verduras como pimientos y brócoli (González Jamanca & Alfaro Cruz, 2017).
- **Vitamina E:** Abundante en aceite vegetal, frutos secos y semillas (González Jamanca & Alfaro Cruz, 2017).



Tabla 2

Clasificación de antioxidantes exógeno, endógeno y cofactores.

| Exógenos | Endógenos | Cofactores |
|---------------------|----------------------|------------|
| Vitamina E | | Cobre |
| Vitamina C | | Zinc |
| Beta caroteno | | Manganeso |
| Fenoles Flavonoides | Enzimas | Hierro |
| | Superóxido | |
| | Dismutasa (SOD) | |
| | Catalasa | |
| | Glutación peroxidasa | |
| Licopeno | | Selenio |

Fuente: adoptado según la teoría de (Speisky & Jiménez, 2000).

2.2.3.6. Método utilizado para evaluar la capacidad antioxidante

El radical libre DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidracil) es estable en medio orgánicos y que puede obtenerse sin ninguna preparación previa.

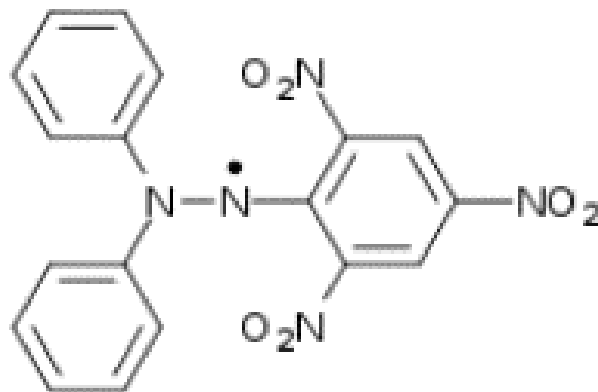
La reducción de DPPH se puede monitorear a través de la disminución en la absorbancia a una longitud de onda específica. En su forma de radicales libres, DPPH absorbe a 515 nm. Cuando se reduce con

antioxidantes, esta absorción característica desaparece (Brand- Williams et al., 1995).

El método DPPH es un método de neutralización de radical libre de 2,2 -difeníl-1-picrilhidracil (Figura 7). Los radicales libres y estables son sustancias que miden la capacidad de absorción de todo aquel compuesto con actividad antioxidante (Prior et al., 2005).

Figura 5

Estructura química de DPPH



Fuente: (Prior et al., 2005).

La solución de reactivo de DPPH tiene un color violeta y con una absorción de 515 nm (Prior et al., 2005). La reacción consiste en la sustracción de un átomo de hidrógeno del donador (antioxidante) por el radical libre DPPH (Kim et al., 2002). Lo que resulta en un cambio del color violeta a amarillo, el grado de descoloramiento indica la habilidad del antioxidante de secuestrar al radical libre; el que se lee en espectrofotómetro después de veinte a treinta minutos de reacción (Brand-Williams et al., 1995).



Método para medir la capacidad antioxidante, según Paduch et al el., (2008. Citado por Matuszewska et al., 2018).

El método descrito se fundamenta en la capacidad antioxidante de una muestra ante la decoloración del radical 1,1- difenil-2-picril-hidrazilo (DPPH). Para ello, se añadieron 100 µl de la muestra a concentraciones entre 6,25 y 800 µg/ml previamente mezclado con 0,1 ml de una solución de DPPH (0,2 mg/ml en etanol), y se midió la absorbancia a 517 nm tras 30 minutos de incubación a temperatura ambiente. Como controles positivos se utilizaron Trolox y ácido ascórbico (Vit. C), estándares reconocidos por su elevada actividad antioxidante.

2.2.4. Compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos se caracterizan por ser uno de los grupos de micronutrientes que se encuentran en el reino vegetal, formando por más de 8.000 estructuras identificadas (Shen et al., 2022). En la década de los noventa del siglo pasado, percepción de estos compuestos cambia drásticamente, incrementándose el interés por sus efectos beneficiosos para la salud, como las enfermedades cardiovasculares (Vita, 2005), las enfermedades neurodegenerativas, y en general en todas las enfermedades asociadas al estrés oxidativo. Los numerosos beneficios que aporta por la extensa variedad de compuestos fenólicos se ofrece según sus propiedades antiinflamatorias (Rahman et al., 2006). Anticancerígenas y fundamentalmente, a sus propiedades antioxidantes, así como la gran abundancia de estos compuestos en nuestra dieta cotidiana, son de un gran interés

desde el punto vista científico empresarial y farmacología, lo que ha generado un interés considerable (Pérez-Leonard & Heidy, 2006).

Tabla 3

Contenido de fenoles en algunos alimentos.

| Alimentos | Fenoles (Ácido gálico mg/ 100 gr Muestra) |
|----------------------|--|
| Uva | 24.63 |
| Hojas De Pepino | 0.38 |
| Papaya | 91.06 ± 3.00 |
| Hojas De Zanahoria | 0.74 |
| Cascara De Zanahoria | 0.66 |
| Ajo | 5.84 |
| Ciruela | 211,15 |
| Arándano 1 | 574 |
| Camote Morado | 945 |
| Manzana de anacardo | 41.01 |
| Rabano | 45.9 |

Fuente: contenido de fenoles según (Oliveira et al., 2023)

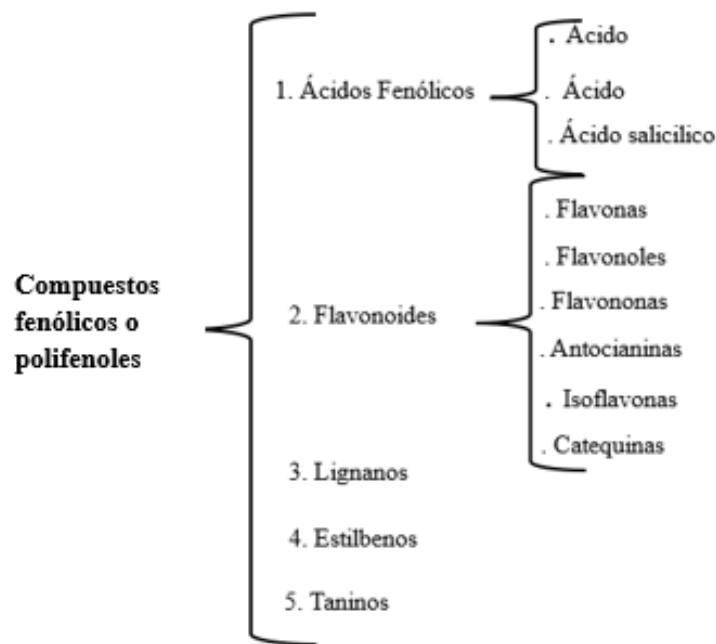
2.2.4.1. Clasificación de compuestos fenólicos o polifenoles

Los compuestos fenólicos o polifenoles se clasifican en clases y subclases que están determinadas por la cantidad de sus anillos fenólicos, como flavonoides, ácidos fenólicos, estilbenos y lignanos (Ignat et al., 2011).

Estos compuestos incluyen polímeros con varios anillos aromáticos, incluidos taninos, así como moléculas básicas de bajo peso molecular.

Figura 6

Clasificación de compuestos fenólicos o polifenoles.



Fuente: Adaptado según (Ignat et al., 2011).

1. Ácidos fenólicos:

Se encuentran enlazados en forma de éster, éter o enlace acetal o también se encuentran libres en las plantas, en ellos tenemos el ácido hidroxibenzóico y el ácido hidroxicinámico y desempeñando diversos roles (Quiñones & Aleixandre., 2012). Como protección contra el ambiente y la interacción con otros organismos (Ignat et al., 2011).

- b) Ácido hidroxicinámicos: Utilizado en la prevención y tratamientos de diversos enfermedades (Ebrahim et al., 2022), incluyen ácido ferúlico, ácido cafeico y ácido p - cumárico.

Figura 7

Estructura del ácido cinámico.

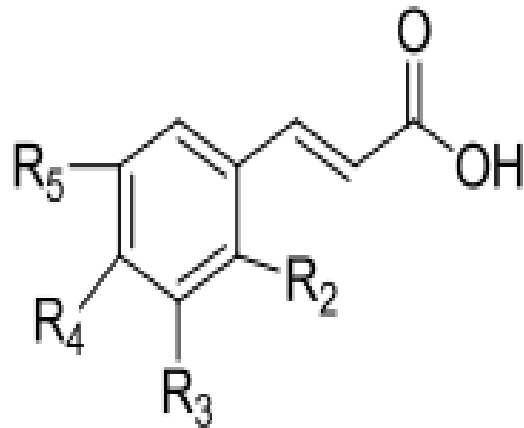


Tabla 4

Grupos que contienen para formar los ácidos hidroxicinámicos.

| Nombre del ácido cinámico | R2 | R3 | R4 | R5 |
|---------------------------|----|------------------|----|------------------|
| p-cumárico | H | H | OH | H |
| Cafeico | H | OH | OH | H |
| Ferúlico | H | OCH ₃ | OH | H |
| Sináptico | H | OCH ₃ | OH | OCH ₃ |

Fuente: Adaptado a (Robbins, 2003).



- c) **Ácido hidroxibenzóicos:** Tiene la estructura básica de C6-C1, como los ácidos gálicos, hidroxibenzoico, protocatecúlico, vanílico y sirínico. Al igual es un compuesto de estructura compleja como los taninos condensados e hidrolizables (Ebrahim et al., 2022).
- d) **Ácido salicólico:** Es un derivado del ácido benzoico, es importante mencionar debido a su relevancia biológica (Ebrahim et al., 2022).

2. Flavonoides:

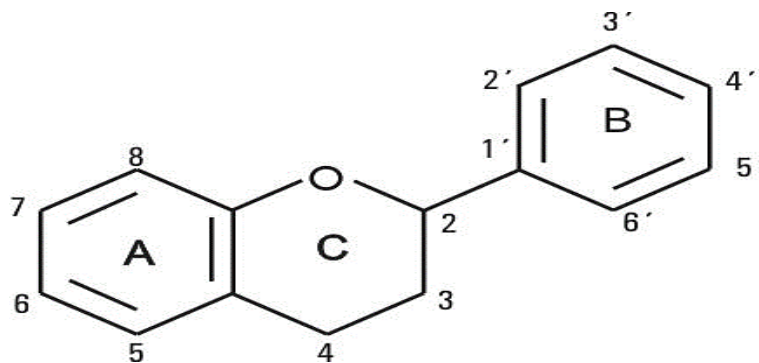
Son los responsables del color rojo - azul de las frutas, vinos y verduras, principales fuentes, flores y fruto de las plantas, existen más de 4000 (Estrada-Reyes et al., 2012).

Estos son flavonas, flavanonas, isoflavonas, antocianidinas y flavanoles compuestos de bajo peso molecular que comparten un esqueleto común de difenilpiranos (C6-C3-C6) (Tripoli et al., 2007).

(Figura 10), compuesto por dos anillos de fenilos (A y B) ligados a través de un anillo C de pirano (heterocíclico) (Ferreira et al., 2015).

Figura 8

Estructura básica de un flavonoide.



Fuente: (Ferreira et al., 2015).

- a) **Flavonas:** Sin embargo, podemos encontrarlos con gran abundancia en el perejil y apio. Poseen la luteolina y la apigenina (Ignat et al., 2011).
- b) **Flavonoles:** Son los que se encuentran en verduras, las frutas y algunos alimentos ricos en flavonoles incluyen quercetina, kaempferol y miricetina (Quiñones & Aleixandre., 2012).
- c) **Flafononas:** Son naringenina.
- d) **Antocianidinas:** Químicamente son glicósidos de las antocianidinas, es decir, están constituidas por una molécula de antocianidina, que es la aglicona, a la que se le une un azúcar por medio de un enlace glucosídico (Riverón, 2023).
- e) **Isoflavona:** Tienen grupos hidroxilos en los carbonos C7 y C4, que se encuentran en la estructura molecular de la hormona estriol, pueden unirse a los receptores de estrógeno y, por lo tanto, se clasifican como fitoestrógenos también encontramos en alimentos cuatro formas de Isoflavonas : aglicona, 7 - O - glucósido, 6'' - O

-acetil -7- O -glucósido y 6''- O – malonil - 7-Oglucosido (M .
Quiñones & Aleixandre., 2012).

- f) **Catequinas:** Presente ente verde otros alimentos, y se asocian con efectos antioxidantes.

3. **Lignanos:**

Compuestos encontrados en semillas, granos enteros y algunas frutas. Tienen actividad antioxidante, teniendo efectos beneficiosos para la salud (Boluda et al., 2005).

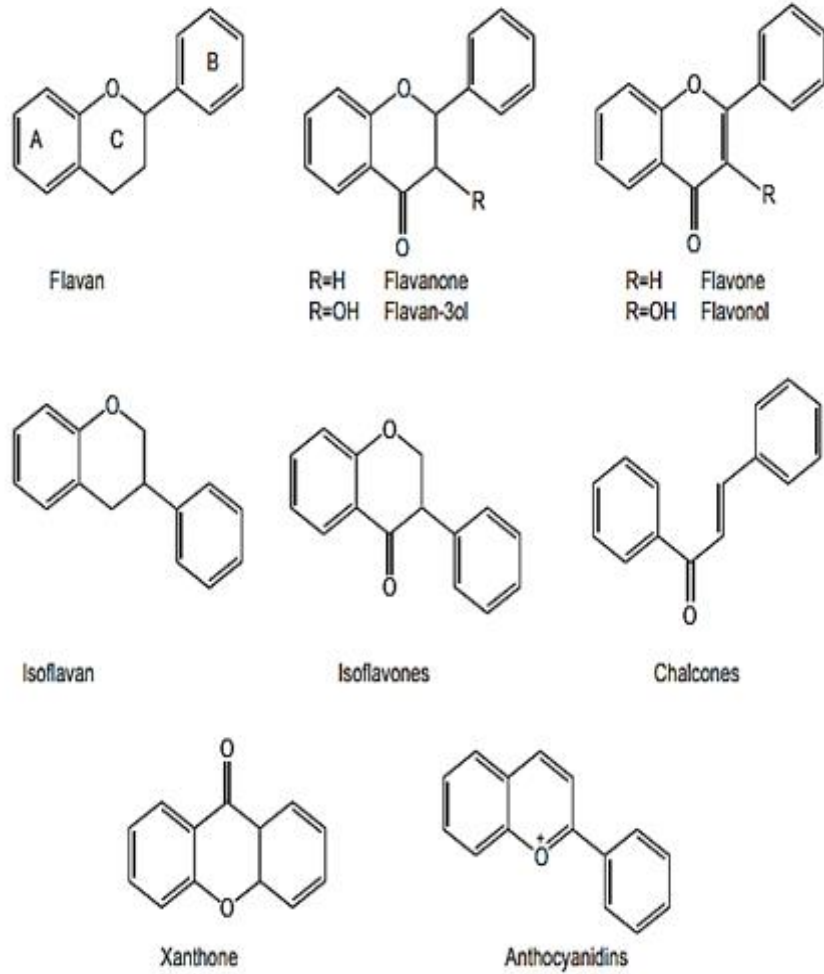
4. **Estilbenos:** Se encuentra en la piel de uvas y el vino tinto (resveratrol)y el piceatannol, asociada con propiedades antioxidantes y otros posibles beneficios para la salud (Moss et al., 2013).

5. **Taninos:**

Se encuentran en alimentos como el té, el vino tinto, algunas frutas y ciertos tipos de frutas secos. Tienen la capacidad de unirse a proteínas y otros compuestos, lo que puede afectar la astringencia y la opacidad precipitante de las proteínas (Mueller et al., 2019).

Figura 9

Clasificación de los compuestos polifenólicos.



Fuente: (Ferreira et al., 2015 & Hernández et al., 2019).

Tabla 5

Contenido de compuestos fenólicos en frutas y tubérculos.

| Fruta/ tubérculo | Solvente | Contenido de compuestos fenólicos |
|------------------|-------------------------|-----------------------------------|
| Tamarillo | Metanol - fórmico (3 %) | 2010,40± 0,02 µg GA/g BH |
| Ciruela | Metanol - fórmico (3 %) | 1700,48 ± 0,0007 µg GA/g BH |



| | | |
|-----------|-----------------------------------|--------------------------------|
| Naranja | Metanol - fórmico (3 %) | 1511,26 ± 0,0162 μg GA/g BH |
| Patata | Metanol - fórmico (3 %) | 1441,44 ± 0,06 μg GA/g BH |
| Beterraga | Metanol - fórmico (3 %) | 1423,45 ± 0,02 μg GA/g BH |
| Kiwi | Metanol - fórmico (3 %) | 1298,90 ± 0,03 μg GA/g BH |
| Carambola | Metanol - fórmico (3 %) | 1140,26 ± 0,02 μg GA/g BH |
| Papaya | Metanol - fórmico (3 %) | 977,16 ± 0,02 μg GA/g BH |
| Cereza | Metanol - fórmico (3 %) | 994,08 ± 0,0157 μg GA/g BH |
| Mango | Metanol - fórmico (3 %) | 971,52 ± 0,0135 μg GA/g BH |
| Aguacate | Metanol - fórmico (3 %) | 597,96 ± 0,0061 μg GA/g BH |
| Lulo | Metanol - Agua (1:1) | 583 ± 23,9 μg AG/ g BH |
| Uchuva | Metanol - Agua (1:1) | 404,5 ± 9,3 μg AG/ g BH |
| Araza | Metanol - Agua (1:1, v/v pH 2) | 1110 ± 3,64 μg GA/g BH |
| Arrayana | Metanol - Agua (1:1, v/v pH 2) | 1870 ± 3,87 μg GA/g BH |



| | | |
|------------|--------------------------------|---|
| Curuba | Metanol - Agua (1:1, v/v pH 2) | $6350 \pm 2,71 \mu\text{g}$ GA/g BH |
| Borojó | Metanol - Agua (1:1, v/v pH 2) | $418 \pm 1,54 \mu\text{g}$ GA/g BH |
| Guabá | Metanol - Agua (1:1, v/v pH 2) | $1920 \pm 11,5 \mu\text{g}$ GA/g BH |
| Marañón | Metanol - Agua (1:1, v/v pH 2) | $4450 \pm 15,2 \mu\text{g}$ GA/g BH |
| Granadilla | Metanol - Agua (1:1, v/v pH 2) | $707 \pm 2,27 \mu\text{g}$ GA/g BH |
| Guayaba | Metanol - Agua (1:1, v/v pH 2) | $3090 \pm 6,81 \mu\text{g}$ GA/ g BH |
| Papaya | Metanol - Agua (1:1, v/v pH 2) | $368 \pm 0,76 \mu\text{g}$ GA/g BH |

Fuente: (Muñoz et al., 2015).

2.2.4.2. Método utilizado para la cuantificación de compuesto fenólico

Dada su importancia para la preservación de la salud humana, actualmente resulta cada vez más necesario medir las cantidades de compuestos fenólicos que se encuentran en los alimentos incluidos los que se encuentra en diversas plantas y cultivos.

a) Método espectrofotometría

La prueba de Folin - Ciocalteu se emplea para la determinación cuantitativa de la cantidad total de compuestos fenólicos siendo este método más comúnmente aplicado. El reactivo de Folin - Ciocalteu



utiliza en un entorno alcalino para evaluar la cantidad de compuestos fenólicos de una muestra dada (Brune & Hallberg, 2000 & Arora & Kaur, 1999).

Para cuantificar los compuestos fenólicos totales, se preparó una solución de carbonato de sodio y Folin-ciocalteu 0,2N. Se tomaron 500 μ l de muestra y se mezclaron con 250 μ l de Folin-ciocalteu 0,2N. Posteriormente, se agregaron 1250 μ l de carbonato de sodio (Cruz, 2014). La solución total se homogeneizó y agitó con un agitador eléctrico antes de dejarla reposar por 30 minutos a temperatura ambiente en la oscuridad. Luego, se midió la lectura correspondiente a una longitud de onda de 765 nm. Se preparó un blanco con agua destilada en lugar de la muestra y se trabajó bajo las mismas condiciones. Este blanco se utilizó para calibrar el espectrofotómetro (Cruz, 2014).

2.2.5. Tecnologías de extracción

El proceso de extracción es una técnica que se centra en la separación de uno o más elementos contenidos en un producto, empleando para ello un disolvente que en circunstancias específicas, transferirá el compuesto presente en una mezcla a una forma líquida o sólida que se puede utilizar como subproductos, ya que las técnicas propuestas se consideran amigables con el medio ambiente y permiten el uso de solventes GRAS, que son favorables para aplicaciones en alimentos, los procesos de extracción secuencial se ven con expectativa para la recuperación de fotoquímicos a partir de subproductos alimentarios (Viganó & Martínez, 2015). Las técnicas combinadas promueven una mejor exploración de



la matriz vegetal, lo que conduce a la extracción de diferentes clases de sustancias de la misma fuente (Viganó & Martínez, 2015).

La extracción es importante en la recuperación de residuos agroindustrial así obtener compuestos bioactivos, Sin embargo, es crucial investigar estos compuestos porque no existen protocolos establecidos para su extracción (Soto, 2015). Donde se encuentra disponibles técnicas de extracción no convencionales y convencionales.

Las técnicas convencionales para extraer compuestos fenólicos de vegetales, demandan grandes cantidades de solvente, un periodo de extracción prolongado y temperaturas altas, todo lo cual resulta en la pérdida de estos compuestos fenólicos por ionización, hidrólisis y oxidación durante la ejecución, y la recuperación se dificulta al emplear mayor cantidad de disolvente, debido a su naturaleza polar (Fernandes et al., 2022).

Actualmente existe métodos no convencionales que tienen un proceso más efectivo, requieren menos solventes y tiempos de extracción y además logran una mejor recuperación de estos compuestos (Larrea, 2012).

2.2.5.1. Extracción convencional sólido – líquido

Métodos clásicos de extracción de compuestos de matrices vegetales, se realizan mediante el uso de un disolvente, también conocida como extracción sólido -líquido, que involucra calor y agitación (Farooq et al., 2022). El Soxhlet, la percolación, la maceración y destilación son algunos de los métodos utilizados en vegetales, en particular para obtener compuestos fenólicos presentes en residuos (Viganó & Martínez, 2015).



Tenga en cuenta que la extracción convencional se caracteriza por utilizar tiempos prolongados de extracción y grandes volúmenes de solventes.

a) Extracción por maceración: Es la extracción de los compuestos químicos de un producto en estado sólido al sumergir en líquido durante un periodo de tiempo y temperatura ambiente o frío en agitación frecuente y protegido de luz solar pasado la última etapa por separar por medio de colado o prensado (Buxing Han, 2019; Flores, 2017).

b) Extracción por Soxhlet: La extracción de compuestos lipídicos se realiza a menudo utilizando esta técnica. Una de las ventajas de este método es que no depende de la matriz y no requiere supervisión constante. Además, existen equipos automáticos que se pueden utilizar. Sin embargo, este método también tiene desventajas. Se necesita mucho tiempo para la extracción, así como una gran cantidad de solvente. Además, después de la extracción, se debe realizar una concentración (Zygler et al., 2012).

c) Extracción por percolación: Es uno de los métodos más efectivos para realizar extracciones, consistente en la percolación de drogas o mezclas de drogas pulverizadas. Este proceso se lleva a cabo mediante un dispositivo denominado percolador, donde un disolvente fluye de manera continua y descendente hasta agotar el material (Qiang et al., 2017).

d) Extracción por decocción: Método extractivo energético en que el solvente actúa a temperatura de ebullición lenta, durante 15 a 30

minutos, dejando enfriar a 40 - 45 °C en seguida pasa por filtración (Lopez, 2019).

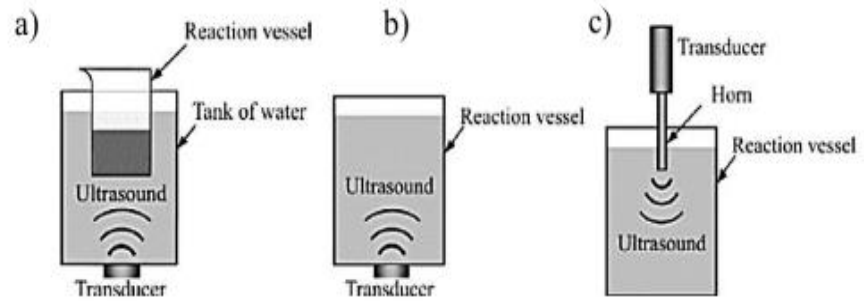
2.2.5.2. Extracción no convencional

Estas nuevas técnicas se desarrollaron con el fin Brinda la extracción de compuestos de alta calidad, al emplear cantidades reducidas de solvente, lo cual resulta en la generación de menores residuos, contribuyendo así a prácticas más sostenibles y respetuosas con el medio ambiente según (Farooq et al., 2022; Viganó & Martinez, 2015). Estos métodos como: extracción asistida por ultrasonido, fluidos supercríticos, turbo, tecnología de microondas, y eléctrica, técnicas con la finalidad de facilitar buenos resultados (Viganó & Martinez, 2015).

a) Extracción asistida por ultrasonido (EAU): Dependiendo de efectos que se producirán en el mismo existente varios tipos de sistemas de aplicación del equipo es fundamental conseguir un buen acople entre el sistema de aplicación y el medio para que el sistema sea eficiente, haciendo llegar así la mayor cantidad posible de energía a la muestra a tratar es una de las más recientes tecnologías (morata, 2015). Los baños de ultrasonido (sonicación indirecta) y los sistemas tipo sonda (sonicación directa) son los dos principales sistemas comerciales para aplicar ultrasonido en un medio líquido (Lavilla & Bendicho, 2017).

Figura 10

Métodos principales de irradiación de los ultrasonidos: a) y b) indirecto y c) directo.

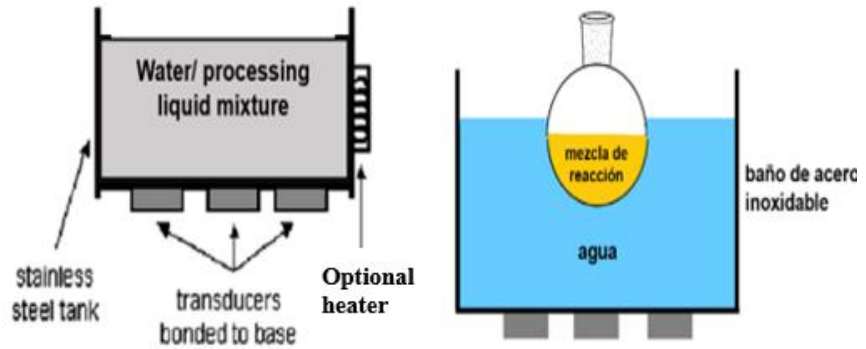


Fuente: (Inmaculada et al., 2014)

Los baños de ultrasonido constituyen quizás el sistema de generación de ultrasonido indirecto más conocido y accesible en un laboratorio dado su bajo coste y fácil mantenimiento (Koshani & Jafari, 2019; Ciudad, 2018). Estos dispositivos constan de un tanque en el que se han fijado uno o más transductores o generadores electromecánicos de ultrasonido, normal mente en el fondo, a frecuencia entre 20 y 40 KHZ. También se puede utilizar titanio u cuarzo, han sido fijados, a menudo en la parte inferior (Xu et al., 2021). Donde la muestra es sumergida en agua o en una disolución de forma que el ultrasonido son irradiados a través del medio líquido (Mason,1998, citado por Ciudad S, 2018).

Figura 11

Esquema de un baño de ultrasonido.



Fuente: (Koshani & Jafari, 2019).

- Las ondas ultrasónicas abarcan distintos parámetros según el manual de uso (Codigo, 2011).
- Longitud: Es la separación entre dos puntos consecutivos en una onda ultrasónica (Codigo, 2011).
- Amplitud: magnitud máxima de la onda de ultrasonido, distancia del punto medio hasta el pico de la onda (Codigo, 2011).
- Frecuencia: en kHz, es la relación entre el número de ciclo de onda y un segundo.
- Velocidad: medida en metros por segundo (m/s), la frecuencia y longitud de onda (Codigo, 2011).
- Potencia: relación entre cantidad de energía trasladada y la cantidad de tiempo utilizado expresada en (W) (Codigo, 2011).
- Intensidad: se mide en W/cm^2 y es la relación entre una unidad de potencia y una unidad de área.



La erosión es otro proceso que permite que el disolvente atraviese la matriz con mayor facilidad. Sucede cuando las burbujas implosionan.

a.1.) Parámetros que afecta el proceso de EAU

Para aumentar la extracción de compuestos en una matriz mediante el uso de ondas ultrasónicas, es esencial optimizar diversos parámetros que afectan la generación de ondas. Estos incluyen factores como frecuencia, temperatura, tiempo de exposición, concentración de solvente, potencia, distribución de ondas, tamaño de partícula, entre (Coelho et al., 2022).

- 1) **Tiempo:** Crucial ya que amplifica la interacción soluto – disolvente y la transferencia de masa. Cuando mayor sea el tiempo de extracción, mayor será la eficiencia en la extracción (Coelho et al., 2022). Es importante recordar que la Zonificación puede alterar los compuestos de la muestra en función de la estabilidad o la energía del ultrasonido.
- 2) **Temperatura:** Es recomendable para extraer compuestos bioactivos, durante bajas temperaturas, ya que puede alterar la muestra a altas temperaturas (Azuola & Vargas, 2007).
- 3) **Disolvente:** Cantidad de cavitación depende de la tensión superficial, la densidad y la presión de vapor del medio (Azuola & Vargas, 2007; Santos et al., 2005).



- 4) Tamaño de Partícula:** Para mejor transferencia de masa, el tamaño de partícula de la muestra debe ser pequeño porque esto facilita la penetración del líquido en la matriz (Azuola & Vargas, 2007; Santos et al., 2005).
- b) Extracción con líquidos a alta presión (PLE):** El proceso se basa en la utilización de alta presión (0.1 – 20 MPa) junto con un solvente, como metanol, hexano, etanol, éter, entre otros, para la extracción de compuestos de matrices vegetales. La particularidad radica en que, al someter los solventes a altas presiones, se conservan en estado líquido incluso a temperaturas superiores a su punto de ebullición, ofreciendo así una ventaja significativa en el proceso (Buxing-Han, 2019).
- c) Extracción por microondas:** En comparación con otras técnicas, la extracción por microondas tiene la ventaja de ser rápido y utilizar menor cantidad de disolventes. También se puede inspeccionar parámetros como tiempo, energía y temperatura en el proceso (Gomez et al., 2020).
- d) Extracción con fluidos supercríticos (SFE):** El fluido Dióxido de Carbono (CO₂), disolvente más utilizado en estado supercrítico, se pueden ajustar para proporcionar extractos con composiciones deseables (mejoras de selectividad), mientras que al mismo tiempo asegura un proceso de separación inocuo tanto para la salud humana como para el medio ambiente (López-Hortas et al., 2022).



2.3. OPTIMIZACIÓN

La optimización se puede definir como el proceso de seleccionar de un conjunto de alternativas posibles la que mejor satisfaga con los objetivos propuestos (Wang et al., 2023). Actualmente, el mejor proceso debe ajustar el flujo de actividades, entradas y salidas para asegurar la mejor calidad al menor costo y en el menor tiempo posible (Kumar et al., 2008).

2.4. SUPERFICIE DE RESPUESTA

Es un conjunto de técnicas matemáticas y estadísticas para modelar y analizar problemas que se ven afectados por una variable de interesen (Wang et al., 2023). Esto se logra determinando las condiciones óptimas de operación del sistema (Bezerra et al., 2008). La optimización mediante superficies de respuesta permite al tecnólogo de alimentos minimizar los costos, maximizar ganancias, reducir el uso de ingredientes o conservantes costosos y mejorar características deseadas de un producto alimenticio sin comprometer, la seguridad alimentaria durante el desarrollo de un nuevo producto (Ferreira et al., 2007). La principal ventaja de las superficies de respuesta es que reducen el número de experimentos necesarios para obtener resultados estadísticamente válidos y son más rápidas y entregan más información que las evaluaciones clásicas en las que se estudia una variable a la vez (Hefied et al., 2023).

Factores. - Estas son las condiciones del proceso que influyen la variable de respuesta pueden ser cuantitativos o cualitativos.

Respuesta. - Cantidad con unidad de medida medible cuyo valor está influenciado por el cambio en nivel del factor. El interés principal es optimizar dicho valor.



CAPÍTULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. LUGARES DE EJECUCIÓN

El estudio de investigación se llevó a cabo en varios lugares de Perú, los cuales son:

- Laboratorio de la Facultad de Medicina Veterinaria Zootecnia, ubicado en el Centro Experimental La Raya UNA - Puno, a una altitud de 5.482 msnm.
- Laboratorio de Microbiología de la Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial, en la Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional del Altiplano, a una altitud de 3.824 msnm.
- Laboratorio de Cromatografía y Espectrometría, Pabellón de Control de Calidad, de la Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco, ubicado en AV. De la Cultura 733 Cusco, a una altitud de 3.399 msnm.

3.2. MATERIALES

3.2.1. Materiales de laboratorio

- Tubos de ensayo con tapón.
- Pipetas (0,5 ml a 10 ml).
- Probetas (100 ml y 500 ml).
- Vasos de precipitados (100 y 250 ml).
- Embudo de vidrio PIREX ®.
- Papel filtro N.º 40.



- Matraz Erlenmeyer (250 ml y 500 ml).
- Envase bolsa hermético.
- Fiola (10,100 y 150 ml).
- Pizeta (500 ml)
- Cubetas de plástico de 3 ml para espectrofotometría visible.
- 60 envases de vidrio de color ámbar.
- Papel aluminio.

3.3. EQUIPOS

- Centrifugador, Centurión Scientific C2006.
- Estufa marca FELISA, Modelo FE-230.
- Balanza analítica Ohaus, Adventure (Parsippany, New Jersey).
- Molino Pulverizador FRITSCH (6,000 y 20,000 rpm)
- Ultrasonidos UP100ST (100W, 24kHz).
- Refrigerador HLR120-GX.
- Termómetro digital HANNA INSTRUMENTS (-35 A 300°C).
- Espectrofotómetro Genesis 20 Thermo Electrón.
- pH- Metro – HANNA EDGE®HI2020.
- Cronometro digital 30 tiempo Leap.

3.4. REACTIVOS

- Etanol de uso alimentario de graduación de 96 / 96 (C₂H₆O).
- Reactivo de Folin - Ciocalteu.
- Carbonato sódico (Na₂CO₃).
- 2,2- difenil-1- picrilhidrazil (DPPH)



- Acetato de sodio ($C_2H_3NaO_2$).
- Ácido clorhídrico (HCL).
- Hipoclorito de sodio ($NaClO$).
- Metanol (CH_3OH o CH_4O).
- Solución buffer de Cloruro de potasio (K Cl).
- Material de limpieza.

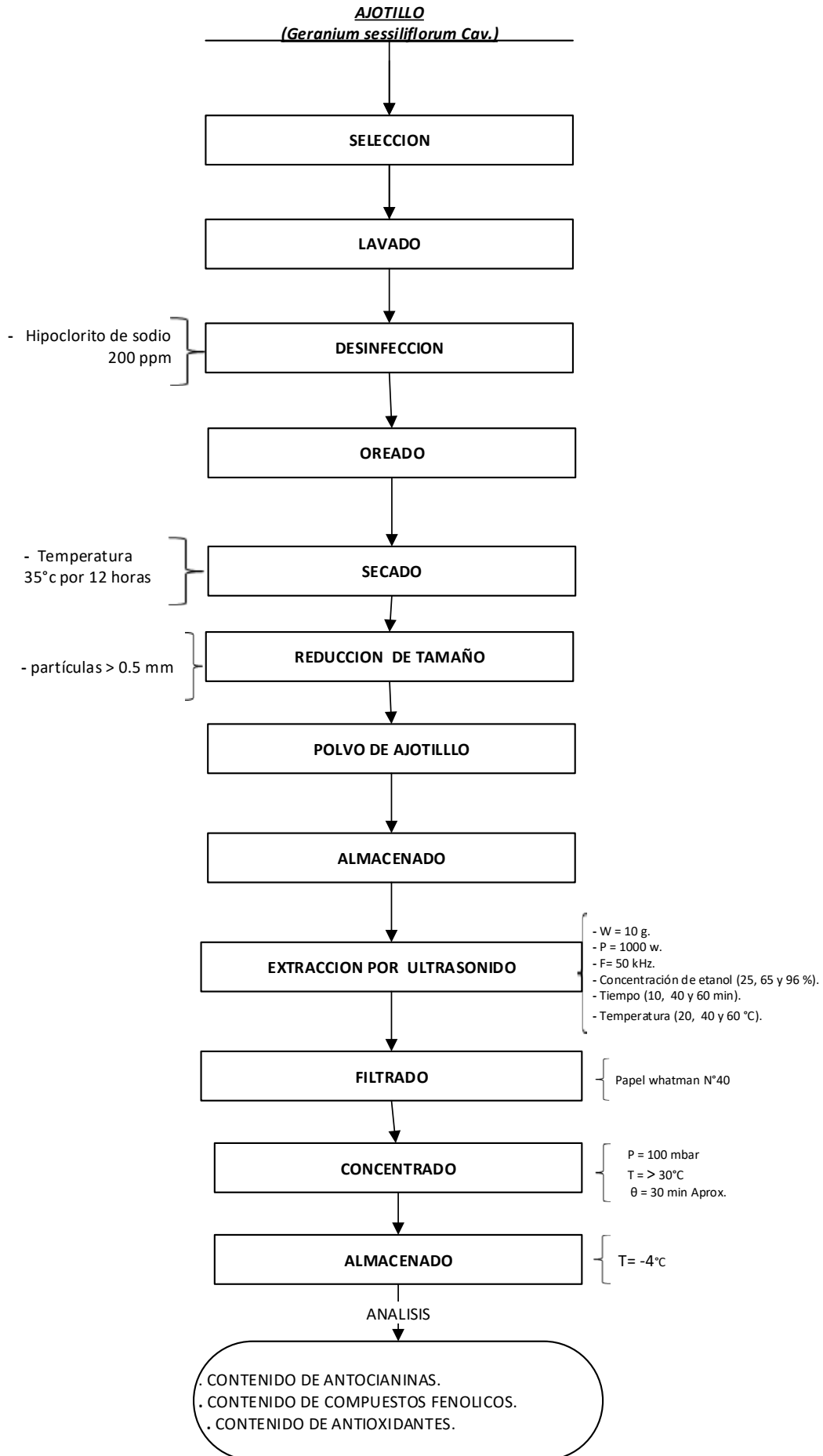
3.5. MATERIAL BIOLÓGICO

- Ajotillo (*Geranium sessiliflorum Cav.*), procedente del Departamento de Puno, Provincia de Melgar, Distrito de Santa Rosa.

3.6. METODOLOGIA DEL PROCESOS EXPERIMENTAL

Figura 12

*Diagrama de flujo para la obtención de compuestos bioactivos de Ajotillo (*Geranium sessiliflorum Cav*) y los diferentes análisis realizados.*





a) Materia prima:

Se recolectó 5 kg de Ajotillo en el Centro Experimental La Raya UNA-PUNO, ubicado en el Distrito de Santa Rosa, Provincia de Melgar, Departamento de Puno, en Perú.

b) Seleccionado y limpieza:

En el laboratorio del Centro de Investigación y Producción La Raya de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional del Altiplano, se aislaron materiales extraños y raíces dañadas del Ajotillo. Luego, se lavó con agua potable para remover la suciedad asociada. Para la desinfección, se utilizó hipoclorito de sodio a 200 ppm, a fin de eliminar cualquier carga microbiana que pudiera estar presente.

c) Secado

Las raíces se deshilaron y se secaron en una estufa a una temperatura de 35 °C durante 12 horas. Posteriormente, se almacenaron por un período de 30 días en un ambiente con humedad equilibrada.

d) Reducción de tamaño y Almacenamiento

Las raíces de Ajotillo se trituraron hasta obtener partículas con un tamaño menor a 0.5 mm, y se almacenaron en bolsas plásticas con cierre hermético y en condiciones asépticas a temperatura ambiente.

La extracción de antocianinas, compuestos fenólicos y antioxidantes se realizará según el método propuesto por (Koshani & Jafari, 2019 & Dumitrașcu et al., 2019). Con modificaciones de masa con 10 g para cada pretratamiento.



a) Extracción ultrasónica:

La extracción de los compuestos fenólicos, antioxidantes y antocianinas se realizó mediante un método de baños ultrasónicos (Koshani & Jafari, 2019; Matuszewska et al., 2018). Este método tiene un efecto mecánico que rompe la pared celular, debido a la cavitación que se produce en la matriz del tejido vegetal. Se empleó una intensidad de potencia constante de 1000 W, operando a una frecuencia de 50 kHz, de acuerdo con la bibliografía del autor. Se modificaron los factores de estudio, como la concentración de etanol (25, 65, 96%), el tiempo (10, 40, 60 min) y la temperatura (20, 40, 60 °C). En este estudio se utilizó una solución de etanol: agua, que se pesó en 15 tratamientos y se añadió 100 ml de solvente con diferentes concentraciones de etanol.

b) Filtrado:

Después de enfriar el producto, se filtró con papel N.º 40 durante un tiempo aproximado de 30 minutos.

c) Concentrado:

Se llevó a cabo en una rota vapor a presión reducida de 100 mbar a una temperatura menor de 30 °C.

d) Almacenamiento:

Se almacenó a una temperatura de - 4 °C para las repeticiones.

3.7. METODO DE ANÁLISIS

3.7.1. Determinación de antocianinas

Para determinar la concentración de antocianinas se utilizó la metodología de pH diferencial (Muntean, 2005; Pesantes et al., 2021).



El método se basa en el contenido de pigmento, que se calcula como cianidina 3 –glucósido/gr según la ecuación 1, donde las mediciones espectrales utilizaron un espectrofotómetro genesis 20 thermo electron.

3.7.1.1. Procedimiento

En primero se preparó buffer KCl 0,025M con pH 1,0 y otro buffer que es de acetato de sodio 0,4 M a pH 4,5. Posteriormente, se diluyó 1 ml de muestra de extracto hidroalcohólico de Ajotillo (*Geranium sessiliflorum Cav.*), con 4 ml de agua destilada. También se prepararon valores en blanco a partir de 1 ml de etanol al 80 % y 4 ml de agua destilada. Se colocaron en tubos de ensayo 0,3 ml de muestra de extracto hidroalcohólico de Ajotillo (*Geranium sessiliflorum Cav.*) diluido, se agregaron 0,6 ml de Buffer KCl 0,025 M pH 1 por triplicado, y se realizó el mismo procedimiento con 0.6 ml de buffer acetato de sodio 0,4 M a pH 4,5. También se utilizó etanol diluido al 80% como blanco para ambos buffers. Todas las soluciones se colocaron en un espectrofotómetro Génesis 20 Thermo Electrón se tomaron las lecturas de absorbancia a 520 - 700 nm, utilizando agua destilada como blanco, a pH 1 y a pH 4,5 (la lectura de las 15 muestras se realizó por triplicado para disminuir el margen de error).

Para el cálculo de la concentración de antocianinas, se utilizó la siguiente fórmula:

$$Total\ de\ antocianinas\ (mg\ /l) = (A * PM * FD * 1000) \epsilon * 1\ 454 \quad (1)$$

Dónde:

TA= contenido de cianidina -3-glucósido.



A = absorbancia de la muestra a 350 nm (pH 1,0 – pH 4,5).

PM = (Peso molecular) = 449,2 g/mol para cianidina – 3 – glucósido.

FD = factor de dilución (1 en 50).

ϵ = 26900 (L/mol) cm coeficiente de extinción molar para cianidina – 3 – glucósido.

L = longitud de paso de celda en cm = 1 cm.

3.7.2. Determinación de compuestos fenólicos

Utilizamos el método de Folin - Ciocalteu descrito por (Singleton et al., 1999). El método se basa en la cuantificación espectrofotométría de un complejo coloreado en la muestra formado por la reacción de un compuesto fenólico con el reactivo Folin - Ciocalteu en un medio básico ($\text{Na}_2 \text{CO}_3$) y determinado espectrofotométricamente con absorbancia a 765 nm. El procedimiento utilizado fue la siguiente sugerencia (S. Hernández et al., 2020).

3.7.2.1. Procedimiento:

Preparamos una solución de carbonato de sodio y de Folin - ciocalteu 0,2N. Para cuantificar los compuestos fenólicos totales se tomó 500 μL de la muestra y se hicieron reaccionar con 250 μL de reactivo Folin - ciocalteu 0,2N, con 1250 μL de carbonato de sodio. Toda la mezcla se homogenizo mediante el equipo (agitador eléctrico) y se deja en la oscuridad a temperatura ambiente durante 30 min, después de lo cual se tomó la lectura a una longitud de onda de 765 nm. Usando agua



en lugar de muestra esto se utiliza para calibrar el equipo, la muestra se trabajó bajo las mismas condiciones(S. Hernández et al., 2020).

Los resultados se expresaron como mg de ácido gálico equivalente (AGE) por cada 1 ml de Ajotillo.

La ecuación para la cuantificación de compuestos fenólicos es la siguiente:

$$y = 0.0469 \times Abs - 0.0159 \quad (2)$$

Dónde:

Y = contenido en mg de ácido gálico/ml.

Abs = Absorbancia a 765 nm.

El contenido de compuestos fenólicos totales se calculó con la siguiente ecuación:

$$mg. \text{acido galico}/100g = ((0.0469 \times Abs) - 0.0159) \times Fd \times A \times 100$$

Donde:

Abs = Absorbancia de la muestra medidas a 765nm

Fd = Factor de dilución

A = Volumen (ml) de solvente utilizado + peso de la muestra (gr) peso de la muestra(ml)

Fuente: (Coarita, 2019)



3.7.3. Determinación de antioxidantes

Para determinar la capacidad antioxidante se determinó por la metodología descrito por (Bondet et al., 1997). Por otra parte, se conoce el método del DPPH, en el que el radical se puede obtener es directamente sin preparar alguna. El DPPH etanol, lo cual es una limitación importante a la hora de interpretar el rol de los antioxidantes hidrofílicos. Este radical tiene un electrón desapareado y es de color azul violeta pero, se decolorándose hacia amarillo pálido cuando reacciona con antioxidante (Kim et al., 2002), donde los compuestos con actividad antioxidante reaccionan con el radical estable 2,2-difenil -1- piclhidrazil (DPPH) en una solución de etanol, procedimiento es el siguiente :

3.7.3.1. Procedimiento:

La cuantificación de la capacidad antioxidante utilizando espectrofotómetro a cero con etanol a una absorbancia inicial a 517 nm de la solución diluida de DPPH alrededor de $1,1 \pm 0,02$. Usando pipeta, se añadió una alícuota de 150 uL de la muestra (en este caso la fase acuosa) a un tubo de ensayo limpio que contenía 2850 uL de solución de DPPH diluida y se cerraron. Las muestras en blanco 150 uL de disolvente puro (equivalente a una solución de extracción) hasta que se obtuvo un factor de corrección (debido a la dilución). La muestra se agitó (agitador eléctrico) y se dejó reaccionar la muestra y el DPPH en la oscuridad durante 30 min. A temperatura ambiente así repitiendo las lecturas a través del tiempo hasta que no haya cambios significativos en la absorbancia. Golpear suavemente la cubeta de vidrio para eliminar las



burbujas de aire procediendo a tomar la lectura del espectrofotómetro a 517 nm (Bondet et al., 1997).

El contenido de la capacidad antioxidante se estimó utilizando curva estándar elaborada con Trolox como patrón. Los resultados se expresarán como Trolox CI50 por cada 1 ml de extracto etanólico de raíces de Ajotillo (*geranium sessiliflorum Cav*).

La ecuación de la curva estándar para cuantificar la capacidad antioxidante en etanol es la siguiente:

$$trolox(abX)(0,25) \left(\frac{\text{ml de extracto total}}{\text{gr de muestra}} \right) \left(\frac{150 \text{ ul de muestra reactante}}{\text{ul extracto de muestra}} \right) \quad (3)$$

Curva estándar:

$$y = 0.0393 x + 0.0154$$

Donde:

Y = Trolox gr. /ml de muestra

Fuente: (Coarita, 2019)

3.7.4. Factores de estudio

3.7.4.1. Factor de estudio para los tres objetivos

- Muestra 1 (etanol 25%, tiempo 10 min y temperatura 20°C)
- Muestra 2 (etanol 65%, tiempo 40 min y temperatura 40°C)
- Muestra 3 (etanol 96%, tiempo 60 min y temperatura 60°C)

3.7.4.2. Variable de respuesta

- Antocianinas
- Compuestos fenólicos totales
- Antioxidantes

3.8. DISEÑO EXPERIMENTAL

La presente investigación, es un análisis experimental, ya que se presentan todos los resultados del estudio; debido al tratamiento matemático propuesto que permite la validación cuantitativa de los resultados. Con el fin de encontrar el mejor rango de optimización para la extracción de antocianinas compuestos fenólicos y antioxidantes, se aplicó el Método de Superficie de Respuesta (MSR), para evaluar el efecto de la concentración de etanol, el tiempo y la temperatura sobre las antocianinas, capacidad antioxidante y compuestos fenólicos totales en raíces de Ajotillo (*Geranium sessiliflorum Cav.*) (Martínez et al., 2009). Para determinar el nivel de significancia de cada tratamiento, se describe una tabla que permite evaluar que tratamiento afecto la capacidad antioxidante y compuestos fenólicos de las Raíces de Ajotillo. Un nivel de significancia del 95%. Se generan gráficos de superficie de respuesta, que nos ayudara a seleccionar el rango de concentración de etanol, tiempo y temperatura óptimos para la extracción de contenido de la capacidad antioxidante y compuestos fenólicos (Martínez et al., 2009).

$$Y = f(X_1, X_2) + \varepsilon \quad (4)$$

Donde ε representa el ruido o error observado en la respuesta y. Si la respuesta esperada se denota por $E(y) = f(X_1 \text{ y } X_2) = \eta$, entonces a la superficie representada por

$$\eta = f(X_1, X_2) \quad (5)$$



Donde η se grafica contra los niveles de $(X_1, X_2$ y $X_3)$ (Montgomery, 2013)

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. DETERMINACIÓN DE CONTENIDO DE ANTOCIANINAS EN LA MUESTRA DE AJOTILLO (*Geranium sessiliflorum Cav.*).

En la determinación de antocianinas en muestra de referencia como resultado del análisis por el método de pH diferencial no se ha detectado antocianinas.

Es posible confundirse las antocianinas y las quinonas en ciertos contextos, especialmente porque ambas pueden ser compuestos pigmentados que se encuentra en la naturaleza (Dumancas et al., 2024). Sin embargo, son diferentes en términos de estructura química, propiedades y funciones. Las antocianinas son responsables de colores rojo, morados y azules en plantas, mientras que las quinonas tienen una variedad de funciones que pueden incluir propiedades antioxidantes o participar en reacciones bioquímicas específicas (Khoo et al., 2017). Aunque pueden tener algunas similitudes visuales o propiedades generales, son compuestos distintos con roles diferentes en biología y química (Lock, 1997).

Un fenómeno subjetivo, es una sensación creada en el cerebro por un mensaje estimulado por radiación de una longitud de onda particular sobre los nervios sensibles del ojo. Las observaciones visuales se notaron resaltantes a una temperatura de 60 °C a una concentración de 96% de etanol por un tiempo de 60 minutos el color rojo fue más intenso, conforme va bajando los variables de estudio hubo muy poca coloración. Extracción de Colorantes Alimentarios Naturales con ultrasonido se ha convertido en una estrategia ecológica ideal gracias a sus beneficios como el alto rendimiento y calidad, períodos de extracción cortos y el uso de bajas temperaturas. Los pigmentos

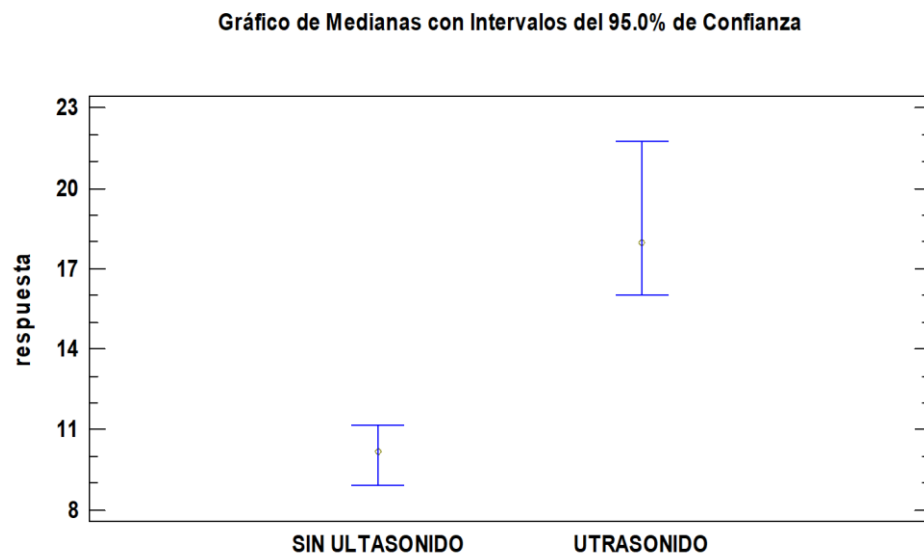
vegetales son una rica fuente de componentes bioactivos, lo que los hace ideales para la producción de nuevos aditivos alimentarios funcionales (Das et al., 2022). Además, son una alternativa saludable a las sustancias sintéticas y pueden mejorar la salud de los consumidores.

4.2. DETERMINACIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS TOTALES EN LA MUESTRA DE AJOTILLO (*Geranium sessiliflorum Cav.*).

4.2.1. Comparación de contenido de compuestos fenólicos totales de las raíces de Ajotillo de la muestra de referencia (sin ultrasonido) y muestra de extracto obtenido mediante ultrasonido.

Figura 13

Comparación de muestras sin la intervención de ultrasonido y con la intervención de ultrasonido.



En la Figura 13, se presenta el contenido total de compuestos fenólicos en las raíces de Ajotillo, destacando las distintas concentraciones de etanol (25%, 65% y 96%) sin la intervención del equipo de ultrasonido, Se registraron



valores de 9.1 mg de equivalente de ácido gálico por cada 1 ml de extracto de muestra con un 25% de etanol, 10,2 mg de ácido gálico mg/ml de extracto de muestra con un 65% de etanol, y 11,1 mg ácido gálico mg/1 ml de extracto de muestra con un 96% de etanol, todos a temperatura ambiente.

Por otro lado, en las muestras sometidas en el equipo de ultrasonido y utilizando las mismas concentraciones de etanol (25%, 65% y 96), se obtuvieron valores más elevados como 16,3 mg de ácido gálico/1ml de extracto de muestra al 25% de etanol, 18,1 mg de ácido gálico/ml de extracto de muestra con un 65% de etanol, y 21,5 mg de ácido gálico/ml de extracto de muestra con un 96% de etanol respectivamente a temperatura ambiente.

Las pruebas realizadas señalan que el uso de ultrasonido durante la extracción, junto con concentraciones más altas de etanol, influye significativamente en el aumento del contenido de compuestos fenólicos en las raíces de Ajotillo. En contraste con los métodos tradicionales, la técnica de extracción con ultrasonido asistido proporciona una mayor eficiencia, simplifica el proceso y requiere menos energía. No obstante, para lograr la máxima recuperación de compuestos bioactivos, es crucial optimizar las condiciones de extracción. Esta técnica ha demostrado ser efectiva en la extracción de compuestos fenólicos de diversas fuentes alimenticias, como tintas (Sancho et al., 2021) y cerezas de cornalina (Dumitrașcu et al., 2019).

Tabla 6

Se presenta el análisis de varianza de (ANOVA) para la comparación del contenido de compuestos fenólicos en muestras de referencia sin ultrasonido y muestra de intervención de ultrasonido.

| <i>Fuente</i> | <i>Suma de Cuadrados</i> | <i>Gl</i> | <i>Cuadrado Medio</i> | <i>Razón-F</i> | <i>Significancia</i> |
|---------------------|--------------------------|-----------|-----------------------|----------------|----------------------|
| Entre grupos | 327.112 | 1 | 327.112 | 106.21 | 0.0000 |
| Intra grupos | 49.2758 | 16 | 3.07974 | | |
| Total | 376.388 | 17 | | | |

(Corrido.)

En la Tabla 6, análisis de varianza (ANOVA) se observó una diferencia significativa a un nivel de confianza del 95% entre la media de las muestras de análisis sin ultrasonido y con la intervención de ultrasonido, esto implica que los contenidos de compuestos fenólicos son diferentes en las muestras de referencia (sin ultrasonido) y muestra (ultrasonido) en donde nos indica que el equipo de ultrasonido influencia en la extracción de compuestos fenólicos.

Según los autores Huaman & Oroche, (2016), al usar una concentración del 70 % de etanol logro una abundancia significativa de compuestos fenólicos totales. Al comparar los resultados entre la muestra de referencia y la obtenida con ultrasonido, se encontró que la última presentaba la mayor cantidad de compuestos fenólicos totales, alcanzando 21.5 mg de ácido gálico por cada 1 ml de extracto. Este logro se obtuvo al emplear una solución acuosa compuesta por un 96 % de etanol. El proceso de extracción se realizó en un equipo de



ultrasonido durante 10 minutos a temperatura ambiente, demostrando ser altamente efectivo para obtener un extracto con un contenido notablemente elevado de compuestos fenólicos totales, cercano a investigaciones previas como la de (Barragán et al., 2018), quienes lograron extraer 371,71 mg AG/100 g de frutos de mío mío. Los ensayos realizados indican que el uso del ultrasonido durante la extracción, junto con concentraciones más altas de etanol, es un factor clave para aumentar el contenido de compuestos fenólicos en las raíces de Ajotillo. En comparación con los métodos tradicionales, la técnica de extracción asistida por ultrasonido ofrece una mayor eficiencia, simplifica el proceso y requiere menos energía (Das et al., 2022). Sin embargo, para lograr la máxima recuperación de compuestos bioactivos como polifenoles y antioxidantes, es necesario seguir investigando.

4.2.2. Determinación de los parámetros óptimos en la extracción de compuestos fenólicos de las raíces de Ajotillo (*Geranium sessiliflorum Cav.*).

Los datos recopilados se sometieron al diseño estadístico de DCCR mediante superficie de respuestas a través del software STATGRAPHIC, este enfoque permitió identificar los valores óptimos de los parámetros, la ecuación de la superficie de respuesta para el modelo ajustado del diseño compuesto central en escala codificada para el contenido de compuestos fenólicos se presenta en la Figura 14.

La ecuación de regresión demuestra que los valores de compuestos fenólicos no aumentan a bajas concentraciones de etanol (25%) ($\beta = -1,43$) ni con tiempos cortos de extracción (10 minutos) ($\beta = -0,36$) ni a temperaturas de

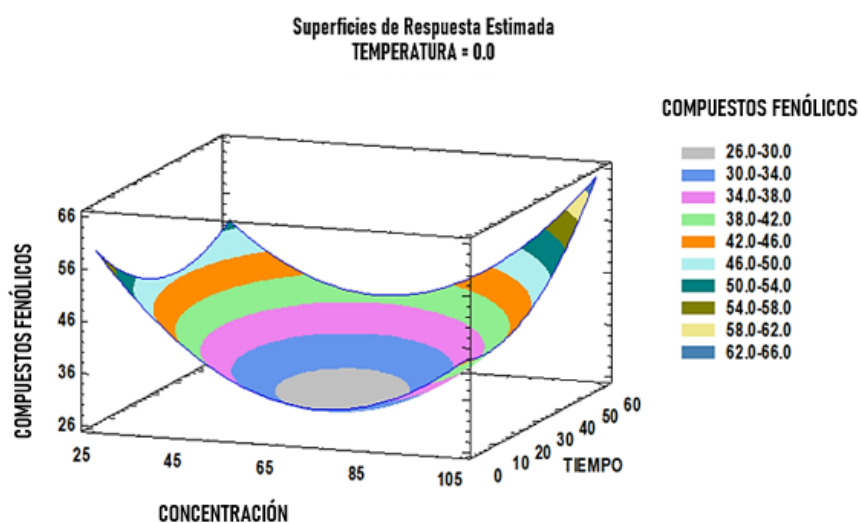
20 °C ($\beta = -0,04$). Sin embargo, se observa un aumento en los valores de compuestos fenólicos con el efecto cuadrático de concentraciones más altas de etanol (96%) ($\beta = 0,01$) y no se registra una disminución significativa en el efecto cuadrático de tiempos de extracción prolongadas y concentración ($\beta = 0,01$).

Los parámetros óptimos para la extracción de compuestos fenólicos, se encuentran con una concentración de etanol del 96%, un tiempo de extracción de 59.9 minutos a una temperatura de 20°C, como se detalla en la Figura 14.

$$\begin{aligned} \text{COMPUESTOS FENÓLICOS} = & 82.9276 - 1.42774 * \text{etanol (\%)} - \\ & 0.364246 * T(\text{min}) - 0.0434041 * T(^{\circ}\text{C}) + 0.0114819 * \text{etanol (\%)}^2 + \\ & 0.00620305 * \text{etanol (\%)} * T(\text{min}) - 0.0067295 * \text{etanol (\%)} * T(^{\circ}\text{C}) + \\ & 0.00901667 * T(\text{min})^2 - 0.011604 * T(\text{min}) * T(^{\circ}\text{C}) + 0.00836196 * T(^{\circ}\text{C})^2. \end{aligned}$$

Figura 14

Superficie de respuestas que muestra los óptimos parámetros para la extracción de compuestos fenólicos total como la concentración de etanol, tiempo y temperatura.



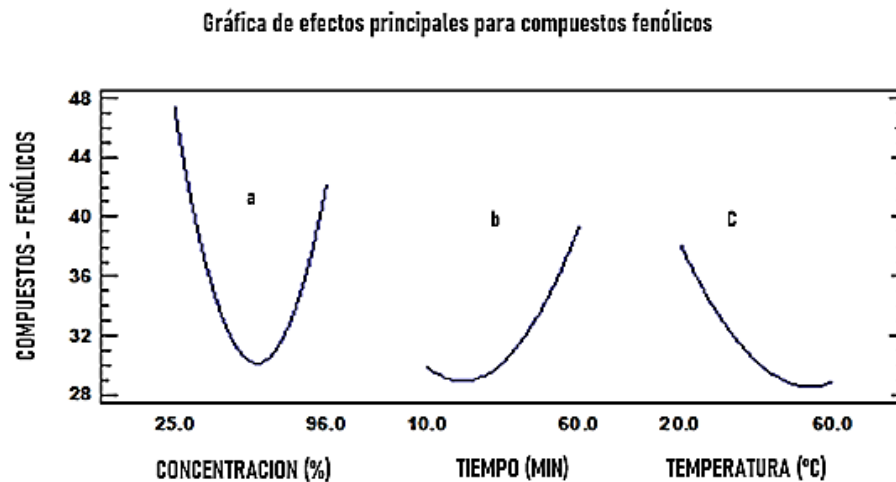
Valor óptimo = 73.639

| <i>Factor</i> | <i>Bajo</i> | <i>Alto</i> | <i>Óptimo</i> |
|----------------------|-------------|-------------|---------------|
| CONCENTRACIÓN | 25.0 | 96.0 | 96.0 |
| TIEMPO | 10.0 | 60.0 | 59.9921 |
| TEMPERATURA | 20.0 | 60.0 | 20.0 |

En la Figura 14, se observa que la presencia de compuestos fenólicos son menores como se aprecia en el contorno de los colores (plomo, azul y rosado) con los parámetros que se aprecia a una concentración de 65 % de etanol, a un tiempo de 40 min y 40°C de temperatura, en cambio a una concentración de 96% de etanol, tiempo de 60 min y temperatura de 20°C, se observa mayor presencia de compuestos fenólicos totales contorno al color (azul oscuro, beige y menta verde), la disminución de contenido de compuestos fenólico es a altas temperaturas y menor tiempo de extracción por la homogenización del tejido vegetal, por ello la disminución de la temperatura a 20°C, con un porcentaje de 96% de etanol a un tiempo de 58,3 minutos tal como se observa en la Figura 14. (Huaman & Oroche, 2016) reporta en uno de sus cuadros que si hay una presencia abundante de compuestos fenólicos al 70% de etanol a una temperatura ambiente. Estos resultados concuerdan con reportes con otros autores que a mayor porcentaje de etanol aumenta el contenido de compuestos fenólicos totales (Rolny et al., 2016), encontrado 26,3 mg ácido gálico/1 kg ms datos muy cercanos a nuestro estudio de investigación de la raíces de Ajotillo en cambio (Barragán et al., 2018), Obtuvo 371,71 ácido gálico/100gr, en mío mío como (Barragán et al., 2018), Obtuvo 246,98 mg acido gálico/100gr.

Figura 15

Grafica de los principales efectos de la concentración de etanol, tiempo y temperatura en la extracción de compuestos fenólicos totales en Ajotillo.



En la Figura 15 ilustra cómo varios factores afectan el proceso de extracción de compuestos fenólicos, con el objetivo de obtener la mayor cantidad posible, según se evidencia en las Figuras 14 y 15. Para lograr esto, se recomienda el uso de una concentración elevada de etanol, un tiempo prolongado y una temperatura baja, los cuales demuestran un efecto cuadrático en la cantidad de compuestos fenólicos extraídos. Además, se encontró que los solventes utilizados en la extracción de compuestos fenólicos afectan significativamente la cantidad de compuestos extraídos, dependiendo de su composición. Los solventes tienden a solubilizar compuestos similares a ellos, lo que explica su efectividad en la extracción es (Ahmed et al., 2022 & Rolny et al., 2016). Finalmente, se encontró que el mayor rendimiento en la extracción de compuestos fenólicos se obtiene utilizando una concentración de etanol del 96% (figura 14).

Se estima que la concentración de etanol tiene un efecto cuadrático cuando hay pérdida de compuesto fenólico. Por otro lado, el tiempo muestra un efecto cuadrático positivo, mientras que la temperatura presenta un efecto cuadrático en la disminución de la extracción de compuesto fenólico, Por consiguiente, se concluyó que la extracción de compuestos fenólicos es optimas cuando se emplea una concentrada de 96% de etanol, un tiempo de 59,9 minutos y se mantiene la temperatura de extracción a 20°C. estos resultados coinciden con que afirma mientras aumentaba el porcentaje de etanol, lo que llevó a la formación de la burbuja de cavitación y aumentó el rendimiento de extracción (Pandey et al., 2018).

Realizando el análisis de varianza (ANVA), (Anexo 4) tabla 15 para la variable de los compuestos fenólicos de las raíces de Ajotillo, se obtuvo que los efectos principales (Concentración de etanol, Tiempo y Temperatura) fueron significativos ($p = 0,05$), lo cual nos da entender que la concentración de etanol, tiempo y temperatura de extracción influye en el contenido de compuestos fenólicos totales de las raíces de Ajotillo (Dumitraşcu et al., 2019).

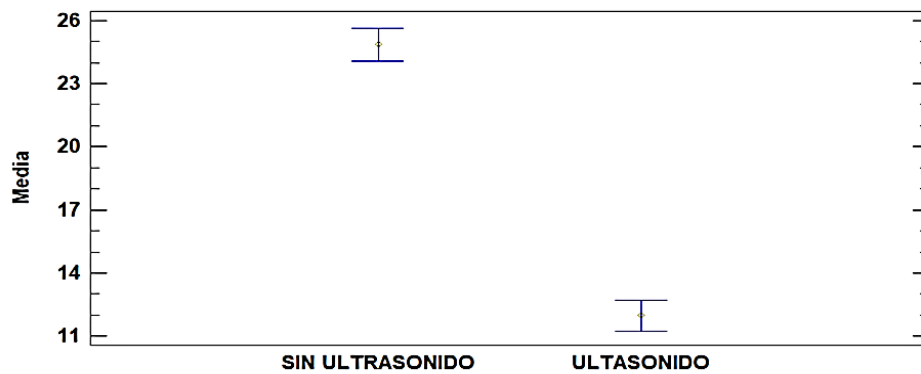
4.3. DETERMINACIÓN DE ANTIOXIDANTES EN LA MUESTRA DE AJOTILLO (*Geranium sessiliflorum* Cav.).

4.3.1. Comparación de contenido de antioxidantes de las raíces de Ajotillo de la muestra de referencia (sin ultrasonido) y muestra de extracto obtenido mediante ultrasonido.

Figura 16

Comparación de muestras sin la intervención de ultrasonido y con la intervención de ultrasonido.

Gráfico de Medianas con Intervalos del 95.0% de Confianza



En la Figura 16, se presenta el contenido de antioxidantes en las raíces de Ajotillo, destacando las distintas concentraciones de etanol (25%, 65% y 96%) sin la intervención del equipo de ultrasonido, Se registraron valores de 22.7 Trolox CI 50 mg/1ml de extracto de muestra con un 25% de etanol, 24.8 Trolox CI50 mg/ml de extracto de muestra con un 65% de etanol, y 27,1 Trolox CI50 mg/ml de extracto de muestra con un 96% de etanol sometidos a temperatura ambiente.

Tabla 7

Se presenta el análisis de varianza de (ANOVA) para la comparación del contenido de antioxidantes en muestras de referencia sin ultrasonido y muestra de intervención de ultrasonido.

| <i>Fuente</i> | <i>Suma de Cuadrados</i> | <i>Gl</i> | <i>Cuadrado Medio</i> | <i>Razón-F</i> | <i>Significancia</i> |
|---------------------|--------------------------|-----------|-----------------------|----------------|----------------------|
| Entre grupos | 701.925 | 1 | 701.925 | 326.82 | 0.0000 |
| Intra grupos | 32.2164 | 15 | 2.14776 | | |

Total 734.141 16
(Corrido)

En la Tabla 7, análisis de varianza (ANOVA) se observó una diferencia significativa del 95% de nivel de confianza entre la media de las muestras de análisis sin ultrasonido y con la intervención de ultrasonido, esto implica que los contenidos de antioxidantes son diferentes en las muestras de referencia (sin ultrasonido) y muestra de (ultrasonido) en donde nos indica que el equipo de ultrasonido tiene una influencia en la extracción de antioxidantes, lo que explica su efectividad en la extracción (Ahmed et al., 2022). Finalmente, se encontró que el mayor rendimiento en la extracción de antioxidantes obtiene utilizando una concentración de etanol del 25% a 22,7 Trolox CI50 mg/ml.

4.3.2. Determinación de los parámetros óptimos en la extracción de antioxidante de la raíz de Ajotillo (*Geranium sessiliflorum Cav.*).

Por ello los datos de la Tabla 10 y Anexo 2 se sometieron al diseño estadístico de DCCR mediante superficie de respuestas a través del software STATGRAPHIC, el cual permitió identificar los valores óptimos de los parámetros, por tanto, la ecuación de la superficie de respuesta para el modelo ajustado del diseño compuesto central propuesto en escala codificada para el contenido de antioxidantes de compuestos fenólicos se muestra en la Figura 13.

Ecuación de regresión demuestra que los valores de antioxidantes aumentan a bajas concentraciones de etanol (25%) ($\beta = 1,10$) a tiempos cortos de extracción (10 minutos) ($\beta = - 0,50$) a temperaturas de 20°C ($\beta = 0,24$). sin embargo, se observa una disminución del contenido de antioxidantes con un



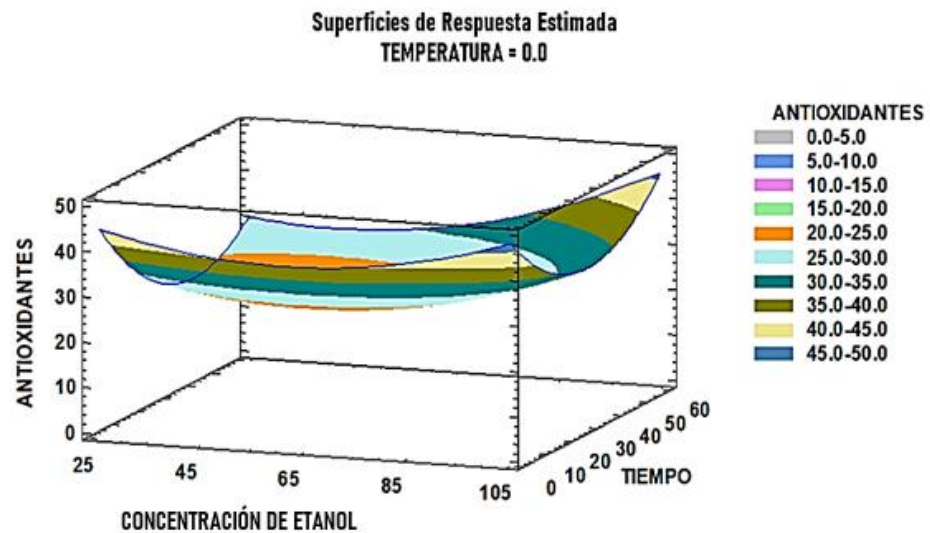
efecto cuadrático de concentraciones más altas de etanol (96%) ($\beta = - 0,003$) y no se registra una disminución significativa en el efecto cuadrático de tiempos de extracción prolongadas y concentración ($\beta = 0,01$).

Los parámetros óptimos para la extracción de antioxidantes, se encuentran con una concentración de etanol del 25%, un tiempo de extracción de 45,2 minutos a una temperatura de 60°C, como se detalla en la Figura 13. Los solventes tienden a solubilizar compuestos basados en el principio “como se disuelve como”; así, los compuestos que poseen propiedades similares al solvente se solubilizan fácilmente (Ahmed et al., 2022). La extracción de alcanzó un máximo al utilizar una concentración de etanol al 80% (Figura 13).

$$\begin{aligned} \text{ANTIOXIDANTES} = & 20,0307 + 1,10032* \text{Etanol } (\%) - \\ & 0,506786*T(\text{min}) + 0,246019*T(^{\circ}\text{C}) - 0,00333928*\text{Etanol } (\%)^2 + \\ & 0,00146479* \text{Etanol}(\%)*T(\text{min}) - 0,025141* \text{Etanol}(\%)*T(^{\circ}\text{C}) - 0,00833333* \\ & T(\text{min})^2 + 0,02035* T(\text{min}) * T(^{\circ}\text{C}) + 0,00529167* T(^{\circ}\text{C})^2. \end{aligned}$$

Figura 17

Se presenta las Figuras de superficie de respuesta para el efecto de la concentración de etanol, tiempo y temperatura en la extracción de antioxidantes en Ajotillo.



| <i>Factor</i> | <i>Bajo</i> | <i>Alto</i> | <i>Óptimo</i> |
|---------------|-------------|-------------|---------------|
| CONCENTRACIÓN | 25.0 | 96.0 | 25.0 |
| TIEMPO | 10.0 | 60.0 | 45.289 |
| TEMPERATURA | 20.0 | 60.0 | 60.0 |

La Figura 17, demuestra que la presencia de antioxidantes son menores como se aprecia en el contorno de los colores (azul oscuro ,beige y verde menta) con los parámetros que se aprecia a una concentración de 96 % de etanol, a un tiempo de 60 min y temperaturas de 20 °C, en cambio a una concentración de 65% de etanol, tiempo de 40 min y 40 °C de temperatura, se observa mayor presencia de antioxidantes contorno al color (plomo, azul y rosado), Las altas temperaturas pueden mejorar el rendimiento de los antioxidantes al aumentar la



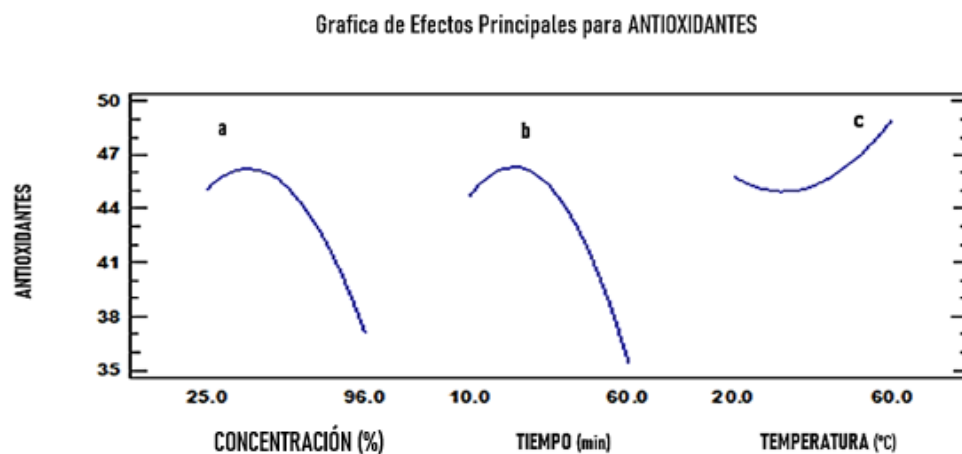
solubilidad y difusión de los compuestos. No obstante, temperaturas excesivamente altas siempre degradaban los compuestos fenólicos, lo que resultaba en la disminución de los antioxidantes (Dorta et al., 2012 & Ling et al., 2009). la disminución del antioxidante se debe por mayor tiempo de extracción y baja temperatura, por ello la disminución del tiempo de extracción a 45 min, por una temperatura de 60 °C, con un porcentaje de 25% de etanol tal como se observa en la Figura 17. Por otro lado Ahmed et al., (2022), en su estudio de extracción de antioxidantes a un 70 % de etanol a temperatura 50 (°C). Obteniéndose los mejores resultados de un rendimiento de actividad antioxidante del (94,99%).

La actividad antioxidante, en la Tabla 14 anexo 3, se realizó siguiendo el método descrito por Bondet et al., (1997). ya que se asume como mejor tratamiento aquel que tenga el menor valor, el resultado más resaltante fue el de la muestra 14 a una temperatura de 40 °C, por un tiempo de 40 minutos y a una concentración de 65 % de etanol expresado como equivalentes Trolox CI50 con un valor de 10 mg/ml y la muestra 1 con los parámetros siguientes como la temperatura de 60 °C por un tiempo de 40 minutos a una concentración de 25% de etanol expresado como equivalentes Trolox CI50 con un valor de 15.2 mg/ml, en cambio Gonzalez & Saavedra, (2018) en su trabajo de investigación obtuvieron los mejores resultado de hojas almendro en filtrantes a una temperatura de 40 °C con un coeficiente de inhibición del radical libre DPPH (CI50) DE 0.0192 mg/ml , las evaluaciones por Alicia et al., (2007) nos dice que necesita 42,27 mg/ml del vino para que produzca 50% de inhibición del radical libre NDPPH. Los autores Muñoz Jáuregui et al., (2007), estudio los 13

vinos peruanos donde encontraron capacidad de secuestro del radical libre DPPH entre 36,17 A 1007,88 obtenidos a los 10 minutos de reacción.

Figura 18

Grafica del principal efecto de concentración de etanol, tiempo y temperatura en la extracción de antioxidantes de Ajotillo.



En la Figura 18, se estima que la concentración de etanol y tiempo posee un efecto cuadrático negativo en cambio la temperatura posee un efecto cuadrático positivo en la extracción de antioxidantes, por lo que representa el incremento de antioxidantes, ocurre cuando se somete a una concentración de 25% de etanol por un tiempo de 45 minutos y una temperatura de 60 °C, como se aprecia en la Figura 17 y 18. En su investigación de (Flores, 2017), en bayas de sauco dio mejores resultados de antioxidantes a temperatura 70 °C por un tiempo de 20 minutos valores similares a del autor (González et al., 2019).

Realizando el análisis de varianza (ANVA), (Anexo 4) Tabla 16 para la variable de antioxidantes de las raíces de Ajotillo, se obtuvo que los factores principales (Concentración de etanol, Tiempo y Temperatura) fueron no significativos ($p = 0,05$), lo cual nos da entender que la concentración de etanol,



tiempo y temperatura de extracción no influye en la extracción de antioxidantes de las raíces de Ajotillo y en el efecto cuadrático de concentración de etanol, tiempo y temperatura, porque estas son independientes en la extracción de antioxidantes, ya que presentaron diferencias significativas para los análisis realizados, en la investigaciones de los autores de (Rolny et al., 2016 & Barragán et al., 2018) encontramos los mismo comportamientos en el análisis estadístico.



V. CONCLUSIONES

La concentración de etanol, tiempo y temperatura no afectaron sobre el contenido de antocianinas en la extracción asistida por el equipo de ultrasonido a partir de la raíz de Ajotillo. Sin embargo, los resultados revelaron un bajo contenido de antocianinas. Por otro lado, se observaron cambios notables en la intensidad del color rojo cuando se empleó una temperatura de 60°C, concentración de 96% de etanol y un tiempo de 60 minutos. sin embargo, se registró una coloración mínima cuando se disminuyeron las variables de estudio.

La extracción de compuestos fenólicos es óptima cuando se emplea una concentración de 96% de etanol, un tiempo de 60 minutos y se mantiene la temperatura de extracción a 40 °C, obteniendo 59,75 ácido gálico mg/1ml el cual nos hace concluir que con la intervención del equipo de ultrasonidos se puede optimizar mayor rendimiento comparado a los datos obtenidos sin la intervención del equipo de ultrasonido.

En la evaluación de antioxidantes se observó que con la intervención del equipo de ultrasonidos con la temperatura 40 °C, tiempo de 40 min y concentración 65 % de etanol se obtuvo el máximo rendimiento de 10,0 Trolox CI50mg/1ml muestra, estos resultados sugieren que el uso del equipo de ultrasonido durante la extracción, junto con concentraciones de etanol, contribuye significativamente al incremento del contenido de antioxidantes en las raíces de Ajotillo.



VI. RECOMENDACIONES

- Evaluar el uso potencial de los compuestos fenólicos de las raíces de Ajotillo (*Geranium sessiliflorum Cav.*). Como producto funcional o nutraceútico, por medio de investigaciones in vivo, incluyendo estudios de absorción y el metabolismo en el tracto gastrointestinal.
- Realizar estudios adicionales sobre el aislamiento e identificación estructural del principio activo presente en este extracto de Ajotillo (*Geranium sessiliflorum Cav.*), por lo que recomienda realizar un estudio similar sobre el efecto del ultrasonido de potencia en la aplicación de alimentarias a nivel estructural.
- Realizar un estudio sobre la aplicación de antioxidantes en alimentos funcionales y colorantes en extractos alimentos, tanto líquido como en polvo.



VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ahmed, T., Rana, M. R., Maisha, M. R., Sayem, A. S. M., Rahman, M., & Ara, R. (2022). Optimization of ultrasound-assisted extraction of phenolic content & antioxidant activity of hog plum (*Spondias pinnata L. f. kurz*) pulp by response surface methodology. *Heliyon*, 8(10), e11109.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e11109>
- Alicia, F., Muñoz, A., Cambillo, E., Ramos, F., & Alvarado, C. (2007). Efecto del consumo moderado de vino tinto sobre algunos factores de riesgo cardiovascular. In *Universidad Pública de Navarra ESCUELA TÉCNICA SUPERIOR DE INGENIEROS AGRÓNOMOS* (Vol. 24, Issue 3).
- Arora, D. S., & Kaur, J. (1999). Antimicrobial activity of spices. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 12(3), 257–262.
[https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0924-8579\(99\)00074-6](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0924-8579(99)00074-6)
- Asociación Wiñay Choquecampi. (2021). Alimentos que sanan "Conservación y puesta en valor de la belleza escénica de las plantas nativas y silvestres en la comunidad de Echocollo articulada al turismo para la asociación Wiñay Choquecampi. *Sistematización Del Proyecto*.
- Azuola, R., & Vargas, P. (2007). Extracción de sustancias asistida por ultrasonido(EUA). *Tecnología En Marcha*.
- Barragán, M., Aro, J. M., Muñoz, A. E., & Rodríguez, J. (2020). Determinación de antocianinas y capacidad antioxidante en extractos de (*Muehlebeckia volcanica*). *Revista de Investigaciones Altoandinas - Journal of High Andean Research*, 22(2), 161–169. <https://doi.org/10.18271/ria.2020.604>



- Barragán, M., Cartagena, R., Aro, J. M., & Meléndez, V. J. (2018). Antocianinas, compuestos fenólicos y capacidad antioxidante del mio – mio (*Coriaria ruscifolia* L) Characteristics. *Revista de Investigaciones Altoandinas*, 20(4), 419–428.
- Barthelson, R. A., Sundareshan, P., Galbraith, D. W., & Woosley, R. L. (2006). Development of a comprehensive detection method for medicinal and toxic plant species. *American Journal of Botany*, 93(4), 566–574.
<https://doi.org/10.3732/ajb.93.4.566>
- Bezerra, M. A., Santelli, R. E., Oliveira, E. P., Villar, L. S., & Escaleira, L. A. (2008). Response surface methodology (RSM) as a tool for optimization in analytical chemistry. *Talanta*, 76(5), 965–977.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.talanta.2008.05.019>
- Blanca, F., Weberbauer, I., Blanca, F., Suess, I. W., Alonso, J., L. X. S., Alonso, J., & Fourr, A. L. (2012). conocimientos tradicionales Plantas Medicinales de Cajamarca. In C. S.R.L. (Ed.), *Deutsche Gesellschaft fur Internationale Zusammenarbeit (GIZ) GmbH Programa Desarrollo Rural Sostenible (PDRS)*. (1st ed.). Carlos Ruiz Florindez.
- Boluda, C., Duque, B., & Aragón, Z. (2005). Lignanos (I): Estructura y funciones en las plantas. *Revista de Fitoterapia*, 5(1), 55–68.
- Bondet, V., Brand, W., & Berset, C. (1997). Kinetics and mechanisms of antioxidant activity using the DPPH• free radical method. *Lwt*, 30(6), 609–615.
<https://doi.org/10.1006/fstl.1997.0240>
- Bonev, A., & Alexandrov, S. (1993). No TitleБагачина – тракийски култов център



(предварително съобщение). *Археология*, 1(August), 117–125.

Brand- Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. (1995). 4A Standard Calibration Techniques. *The Microflown E-Book*, 28, 25–30.

Brune, M., & Hallberg, L. (2000). *Determination of Iron-Binding Phenolic Groups in Foods*. 56(I).

Buxing Han, T. W. (2019). *Encyclopedia of Sustainability Science and Technology Series*. Springe Link.

https://doi.org/https://chempedia.info/info/maceration_extraction_method/

Cano, Z. A. (2022). Evaluación etnobotánica de las plantas medicinales en el sector quechua del altiplano de Puno. *Revista Peruana de Medicina Integrativa*, 7(4).

<https://doi.org/10.26722/rpmi.2022.v7n4.689>

Castañeda-Ovando, A., Pacheco-Hernández, M. de L., Páez-Hernández, M. E., Rodríguez, J. A., & Galán-Vidal, C. A. (2009). Chemical studies of anthocyanins: A review. *Food Chemistry*, 113(4), 859–871.

<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.09.001>

Chen, H., Chen, X., & Ma, J. (2023). The mitigation mechanism of hesperidin on deoxynivalenol toxicity in grass carp hepatocytes via decreasing ROS accumulation and inhibiting JNK phosphorylation. *Fish & Shellfish Immunology*, 134, 108646.

<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.fsi.2023.108646>

Chen, M., Zhao, Y., & Yu, S. (2015). Optimisation of ultrasonic-assisted extraction of phenolic compounds, antioxidants, and anthocyanins from sugar beet molasses.

Food Chemistry, 172, 543–550. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.09.110>



- Ciudad, S. (2018). Aplicación de ultrasonidos al cocinado de alimentos. In *Universidad de Zaragoza*.
- Ciudad S. (2018). *Aplicación de ultrasonidos al cocinado de alimentos*. Universidad de Zaragoza.
- Coarita, D. (2019). Optimización del liofilizado y secado, para la evaluación de la capacidad antioxidante y compuestos fenólicos de las hojas de nabo silvestre (*Brassica campestris L.*). *Universidad Nacional Del Altiplano*.
<http://tesis.unap.edu.pe/handle/UNAP/9391>
<http://repositorio.unap.edu.pe/handle/UNAP/10037>
- Código, M. D. E. I. (2011). *Índice*. 2011, 1–8.
- Coelho, T. L. S., Silva, D. S. N., dos Santos Junior, J. M., Dantas, C., Nogueira, A. R. de A., Lopes Júnior, C. A., & Vieira, E. C. (2022). Multivariate optimization and comparison between conventional extraction (CE) and ultrasonic-assisted extraction (UAE) of carotenoid extraction from cashew apple. *Ultrasonics Sonochemistry*, 84, 105980.
<https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2022.105980>
- Coronado, M., Vega, S., Gutierrez, R., Vázquez, M., & Radilla, C. (2015). *Antioxidantes : perspectiva actual para la salud humana Antioxidants : present perspective for the human health*. 42(7).
- Criado, C., & Moya, M. (2009). Vitaminas y antioxidantes. *Departamento De Medicina De La Universidad Autonoma De Madrid*, 5–33.
www.elmedicointeractivo.com/Documentos/Evaluacion
http://2011.elmedicointeractivo.com/Documentos/doc/VITAMINAS_Y_ANTIOX_EL_MEDICO.p



df?botsearch

- Cruz, J. E. (2014). *Determinacion fenoles, flavonoides en extractos de hojas de plantas con actividad antioxidante empleando espectroscopia FTIR y análisis multivariado*. 1–123.
- Das, P., Nayak, P., & Kesavan, R. (2022). Ultrasound assisted extraction of food colorants: Principle, mechanism, extraction technique and applications: A review on recent progress. *Food Chemistry Advances*, *1*, 100144.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.focha.2022.100144>
- de Oliveira, I. R. N., Roque, J. V., Maia, M. P., Stringheta, P. C., & Teófilo, R. F. (2018). New strategy for determination of anthocyanins, polyphenols and antioxidant capacity of Brassica oleracea liquid extract using infrared spectroscopies and multivariate regression. *Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, *194*, 172–180.
<https://doi.org/10.1016/j.saa.2018.01.006>
- Destandau, E., Michel, T., & Elfakir, C. (2013). *Natural Product Extraction (RSC Publishing)*. Extraction of Natural Products: Principles and Applications.
<https://doi.org/DOI> <https://doi.org/10.1039/9781849737579-00113>
- Dorman, H. J. D., & Hiltunen, R. (2004). Fe(III) reductive and free radical-scavenging properties of summer savory (*Satureja hortensis L.*) extract and subfractions. *Food Chemistry*, *88*(2), 193–199.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2003.12.039>
- Dorta, E., Lobo, M. G., & González, M. (2012). Using drying treatments to stabilise mango peel and seed: Effect on antioxidant activity. *Lwt*, *45*(2), 261–268.



<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2011.08.016>

Duan, C., Xiao, X., Yu, Y., Xu, M., Zhang, Y., Liu, X., Dai, H., Pi, F., & Wang, J.

(2024). In situ Raman characterization of the stability of blueberry anthocyanins in aqueous solutions under perturbations in temperature, UV, pH. *Food Chemistry*, *431*, 137155.

<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.137155>

Dumancas, G. G., Viswanath, L., Wang, R., Gondek, E., Lageshetty, S. K., Solivio,

B., Lubguban, A. A., & Malaluan, R. M. (2024). *Quinone* (P. B. T.-E. of T. (Fourth E. Wexler (ed.)). Academic Press.

<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-12-824315-2.00255-4>

Dumitrașcu, L., Enachi, E., Stănciuc, N., & Aprodu, I. (2019). Optimization of

ultrasound assisted extraction of phenolic compounds from cornelian cherry fruits using response surface methodology. *CYTA - Journal of Food*, *17*(1), 814–823. <https://doi.org/10.1080/19476337.2019.1659418>

Ebrahim, S., Elmetwalli, A., Abu El-Magd, M., El-Naggat, S., & Salama, A. (2022).

The Rationale Behind the Therapeutic Potential of Drugs Containing Hydroxycinnamic Acid on Hepatocellular Cancer Induced by 4-Dimethylaminoazobenzene: Technique-Related Implications. *Egyptian Academic Journal of Biological Sciences, D. Histology & Histochemistry*, *14*(2), 13–23. <https://doi.org/10.21608/eajbsd.2022.253527>

Escorza, Q., Angélica, M., Salinas, C., & Víctor, J. (2009). La Capacidad a

Antioxidante Total. *Revista de Educación Bioquímica*, *28*(3), 89–101.

Espada-Bellido, E., Ferreiro-González, M., Carrera, C., Palma, M., Barroso, C. G., &



- Barbero, G. F. (2017). Optimization of the ultrasound-assisted extraction of anthocyanins and total phenolic compounds in mulberry (*Morus nigra*) pulp. *Food Chemistry*, 219, 23–32. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.09.122>
- Estévez Brito, R. (2016). *Antioxidantes alimentarios: mecanismos de oxidación electródica, medida electroquímica de capacidad antioxidante y composición en té, infusiones y especias* (p. 337).
- Estrada-Reyes, R., Ubaldo-Suárez, D., & Araujo-Escalona, A. G. (2012). Los flavonoides y el Sistema Nervioso Central. *Los Flavonoides y El Sistema Nervioso Central*, 35(5), 375–384.
- Farooq, S., Mir, S. A., Shah, M. A., & Manickavasagan, A. (2022). Chapter 2 - *Extraction techniques* (S. A. Mir, A. Manickavasagan, & M. A. B. T.-P. E. A. in the F. I. Shah (eds.); pp. 23–37). Academic Press. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-12-822475-5.00005-3>
- Fernandes, A., Oliveira, H., Teixeira, N., Mateus, N., & de Freitas, V. (2022). Chapter 12 - Extraction efficiency of phenolic compounds by bioconversion and their implication on their biological effects. In M. E. Pintado, J. M. A. Saraiva, & E. M. da C. B. T.-T. to R. P. from A. B. and W. Alexandre (Eds.), *Technologies to Recover Polyphenols from AgroFood By-products and Wastes* (pp. 271–300). Academic Press. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-323-85273-9.00003-X>
- Ferreira, R., Greco, S., Delarmelina, M., & Weber, K. (2015). Electrochemical quantification of the structure/antioxidant activity relationship of flavonoids. *Electrochimica Acta*, 163, 161–166. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2015.02.164>



- Ferreira, S., Bruns, R. E., Ferreira, H. S., Matos, G. D., David, J. M., Brandão, G. C., da Silva, E. G. P., Portugal, L. A., dos Reis, P. S., Souza, A. S., & dos Santos, W. N. L. (2007). Box-Behnken design: An alternative for the optimization of analytical methods. *Analytica Chimica Acta*, 597(2), 179–186.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.aca.2007.07.011>
- Fitogeográficos, & Montoya, J. (2022). *Nuevos datos sobre la vegetación del sur del Perú : adiciones a los departamentos de Arequipa , Cusco y Puno New data on the vegetation of Southern Peru : Additions to the departments of Arequipa , Cusco and Puno*. 29(1), 9–30.
- Flores, E. (2017). Extracción de Antioxidantes de las Bayas del Sauco (*Sambucus nigra L. subsp. peruviana*) con Ultrasonido, Microondas, Enzimas y Maceración para la Obtención de Zumos Funcionales. *Informacion Tecnologica*, 28(1), 121–132. <https://doi.org/10.4067/S0718-07642017000100012>
- Garzon, G. A. (2008). Las antocianinas como colorantes naturales y compuestos bioactivos: Revisión. *Acta Biol. Colomb.*, 13(3), 27–36.
- Giusti, M. M., & Wrolstad, R. E. (1996). Characterization of red radish anthocyanins. *Journal of Food Science*, 61(2), 322–326. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1996.tb14186.x>
- Gomez, L., Tiwari, B., & Garcia-Vaquero, M. (2020). Chapter 9 - Emerging extraction techniques: Microwave-assisted extraction. In M. D. Torres, S. Kraan, & H. B. T.-S. S. T. Dominguez (Eds.), *Advances in Green and Sustainable Chemistry* (pp. 207–224). Elsevier. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-12-817943-7.00008-1>



- González Jamanca, N. C., & Alfaro Cruz, S. (2017). Antioxidantes en los alimentos. *Editorial UNAB*, 105.
- Gonzalez, H., & Saavedra, G. (2018). Evaluación de la actividad antioxidante en la infusión filtrante de las hojas de almendro de las indias (*Terminalia catappa L.*) por el método DPPH in vitro, en tres temperaturas de deshidratación. *Revista de Investigacion Univercitaria de La Facultal Ciencias Agropecuarias - Unu*, 8(2).
- González, A. V., Vázquez, M., Espada, E., Ferreiro, M., Amores, A., Palma, M., Barbero, G. F., & Jiménez, A. (2019). Alternative Ultrasound-Assisted Method for the Extraction of the Bioactive Compounds Present in Myrtle (*Myrtus communis L.*). *Molecules*, 24(5). <https://doi.org/10.3390/molecules24050882>
- Guha, S. (2015). *Health benefits of anthocyanins*. 7th Indo-Global Summit and Expo on Food & Beverages.
- Gutteridge, J. M. C., & Halliwell, B. (2000). Free radicals and antioxidants in the year 2000. A historical look to the future. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 899, 136–147. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2000.tb06182.x>
- Hefied, F., B Ahmed, Z., & Yousfi, M. (2023). Optimization of ultrasonic-assisted extraction of phenolic compounds and antioxidant activities From *Pistacia atlantica* Desf. galls using response surface methodology. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 32, 100449. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jarmap.2022.100449>
- Hernández, P., Pabón, L., & Harold Rodríguez, L. (2019). Flavonoids: Potential Therapeutic Agents by Their Antioxidant Capacity. *Bioactive Compounds: Health Benefits and Potential Applications*, 265–288.



<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814774-0.00014-1>

Hernández, S., Quiroz, C. N., Ramírez, M. E., Ronquillo, E., & Aguilar, M. Á. (2020).

Optimización del proceso de extracción asistida por ultrasonido de compuestos fenólicos de *Justicia spicigera* Schltdl. *TIP Revista Especializada En Ciencias Químico-Biológicas*, 23(0), 1–7.

<https://doi.org/10.22201/fesz.23958723e.2020.0.246>

Huaman, Y., & Oroche, Y. (2016). “*Determinación de la actividad bacteriana in vitro*

de los extractos etanólicos y clorofórmicos de Oenothera rosea “YAWAR CHONQ’A” Y Geranium sessiliflorum “OJOTILLO” frente a Staphylococcus aureus cepa ATCC Y Escherichia coli cepa ATCC y determinación de . tesis

Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco Facultad de Ciencias de la Salud Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica,

Ignat, I., Volf, I., & Popa, V. I. (2011). A critical review of methods for

characterisation of polyphenolic compounds in fruits and vegetables. *Food*

Chemistry, 126(4), 1821–1835. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.12.026>

Inmaculada, A., Casamitjana, N., Caubet, A., Dinarès, I., Llor, N., Muñoz-Torrero, D.,

Nicolás, E., Pérez- García, M. L., Pujol, M. D., Rosell, G., Seco, M., & Velasco,

D. (2014). *Portal on es recull la documentació sobre Tècniques i operacions*

avançades en el laboratori químic (TALQ), que ha estat portat a terme dins del marc del PROJECTE 2008PID-UB/118. GIDOLQUIM.

<https://doi.org/https://www.ub.edu/talq/ca/node/265>

Instituto Cuencas. (2012). *3.Conocimientos tradicionales plantas medicinales de*

cajamarca.



- Irigaray, P., Newby, J. A., Clapp, R., Hardell, L., Howard, V., Montagnier, L., Epstein, S., & Belpomme, D. (2007). Lifestyle-related factors and environmental agents causing cancer: An overview. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, *61*(10), 640–658. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.biopha.2007.10.006>
- Islam, S. U., Nazeer, G., Islam, Z. U., Ying, Z. C., & Khan, A. (2018). Numerical investigation of unsteady wakes transition and aerodynamic characteristics of flow past cylinders. *Journal of Computational and Theoretical Nanoscience*, *15*(1), 191–209. <https://doi.org/10.1166/jctn.2018.7073>
- Jin, K., Lian, C., Ngoh, G., Tet, C., & Brouillard, R. (2003). Analysis and biological activities of anthocyanins. *Phytochemistry*, *64*(5), 923–933. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(03\)00438-2](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(03)00438-2)
- Khoo, H. E., Azlan, A., Tang, S. T., & Lim, S. M. (2017). Anthocyanidins and anthocyanins : colored pigments as food , pharmaceutical ingredients , and the potential health benefits. *Food & Nutrition Research*, *61*(1). <https://doi.org/10.1080/16546628.2017.1361779>
- Kim, D. O., Lee, K. W., Lee, H. J., & Lee, C. Y. (2002). Vitamin C equivalent antioxidant capacity (VCEAC) of phenolic phytochemicals. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *50*(13), 3713–3717. <https://doi.org/10.1021/jf020071c>
- Koh, E., & Surh, J. (2015). Food types and frying frequency affect the lipid oxidation of deep frying oil for the preparation of school meals in Korea. *Food Chemistry*, *174*, 467–472. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.11.087>
- Koshani, R., & Jafari, S. M. (2019). Chapter Eight - Production of food bioactive-



- loaded nanostructures by ultrasonication. In S. M. B. T.-N. of F. I. by S. E. Jafari (Ed.), *Nanoencapsulation in the Food Industry* (Vol. 3, pp. 391–448). Academic Press. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-12-815671-1.00008-1>
- Kumar, A., Prasad, B., & Mishra, I. M. (2008). Optimization of process parameters for acrylonitrile removal by a low-cost adsorbent using Box–Behnken design. *Journal of Hazardous Materials*, *150*(1), 174–182. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2007.09.043>
- Kumar, V., & Kumar, A. (2022). Chapter 4 - Betalain. In J. Kour & G. A. B. T.-N. and H. C. Nayik (Eds.), *Nutraceuticals and Health Care* (pp. 87–104). Academic Press. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-323-89779-2.00011-9>
- Larrea, J. (2012). Obtención de extractos polifenólicos a partir de uva para uso alimentario. *Universidad Publica de Navarra*.
- Lavilla, I., & Bendicho, C. (2017). *Chapter 11 - Fundamentals of Ultrasound-Assisted Extraction* (H. Dominguez González & M. J. B. T.-W. E. of B. C. González Muñoz (eds.); pp. 291–316). Elsevier. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809380-1.00011-5>
- Lee, J., Durst, R. W., & Wrolstad, R. E. (2005). Determination of total monomeric anthocyanin pigment content of fruit juices, beverages, natural colorants, and wines by the pH differential method: Collaborative study. *Journal of AOAC International*, *88*(5), 1269–1278. <https://doi.org/10.1093/jaoac/88.5.1269>
- Ling, L. T., Yap, S. A., Radhakrishnan, A. K., Subramaniam, T., Cheng, H. M., & Palanisamy, U. D. (2009). Standardised *Mangifera indica* extract is an ideal antioxidant. *Food Chemistry*, *113*(4), 1154–1159.



<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.09.004>

Lock, O. (1997). Colorantes naturales. In *Colorantes naturales* (PRIMERA ED).

PRINTED IN PERU. <https://doi.org/10.18800/9972420930>

López-Hortas, L., Rodríguez, P., Díaz-Reinoso, B., Gaspar, M. C., de Sousa, H. C.,

Braga, M. E. M., & Domínguez, H. (2022). Supercritical fluid extraction as a suitable technology to recover bioactive compounds from flowers. *The Journal of Supercritical Fluids*, 188, 105652.

<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.supflu.2022.105652>

Lopez, M. C. (2019). *Composición florística y diversidad de los bosques de la microcuenca de Cotabana Distrito de Huanoquite Provincia de Paruro Región Cusco* (Vol. 1, Issue 1).

M. Quiñones, M. M. Y. A., & Aleixandre. (2012). Los polifenoles, compuestos de origen natural con efectos saludables sobre el sistema cardiovascular. *Vibrations in Physical Systems*, 27(1), 76–89. <https://doi.org/10.3305/nh.2012.27.1.5418>

Martínez, E., Guillén, J. A., Stremms, M., Miguel, V., & Garrido, A. (2009). Aplicación De La Metodología De Superficie De Respuesta Para La Optimización De Parámetros De Soldadura En Función De La Distribución Térmica Resultante. *Escuela de Arquitectura e Ingeniería de Edificación*, 1–14.

Matuszewska, A., Jaszek, M., Stefaniuk, D., Ciszewski, T., & Matuszewski, Ł. (2018). Anticancer, antioxidant, and antibacterial activities of low molecular weight bioactive subfractions isolated from cultures of wood degrading fungus *Cerrena unicolor*. *PLoS ONE*, 13(6), 1–14. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0197044>

Mayor-Oxilia, R. (2010). Estrés Oxidativo y Sistema de Defensa Antioxidante. *Inst.*



Med. Trop, 5(2), 23–29.

Miller, N. J., & Rice-Evans, C. A. (1996). Spectrophotometric determination of antioxidant activity. *Redox Report*, 2(3), 161–171.

<https://doi.org/10.1080/13510002.1996.11747044>

Miranda, E. C., Capote, K. R., Janer, N. L., & Martí, N. C. (2000). Un acercamiento a la teoría de los radicales libres y el estrés oxidativo en el envejecimiento. *Revista Cubana de Investigaciones Biomedicas*, 19(3), 186–190.

Montgomery, D. (2013). *Diseño y Análisis de Experimentos* (L. Wiley (ed.); 2da Ed.).

Limusa y Wiley.

<https://doi.org/https://www.wiley.com/legacy/college/engin/montgomery316490/student/student.html>

Morata, A. (2015). Nuevas Tecnologías de Conservación de Alimentos 2010 2Ed-Resumen. In *Research gate* (Issue June).

<https://doi.org/10.13140/RG.2.1.4187.6641>

Moss, R., Mao, Q., Taylor, D., & Saucier, C. (2013). Investigation of monomeric and oligomeric wine stilbenoids in red wines by ultra-high-performance liquid chromatography/electrospray ionization quadrupole time-of-flight mass spectrometry. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 27(16), 1815–

1827. <https://doi.org/10.1002/rcm.6636>

Mueller, I., Giuseppe, B., Dohme, F., Hoste, H., Karonen, M., Kölliker, R., Lüscher, A., Niderkorn, V., Pellikaan, W. F., Juha-Pekka, S., Skøt, L., Smith, L. M. J., Thamsborg, S. M., Totterdell, P., Wilki, I., & Waghorn, G. C. (2019). Benefits of Condensed Tannins in Forage Legumes Fed to Ruminants: Importance of



Structure, Concentration, and Diet Composition. *Crop Science*, 59, Issue3, 861–885. <https://doi.org/10.2135/cropsci2017.06.0369>

Muñoz Jáuregui, A. M., Fernández Giusti, A., & Ramos Escudero, F. (2007). Evaluación De La Actividad Antioxidante Y Contenido De Compuestos Fenólicos En Vinos Evaluation of the Antioxidant Activity and Content of Phenolics Compounds in Wines Produced in Peru. *Rev Soc Quím Perú*, 73, 30–40.

Muñoz, W., Chavez, W., Pabón, L., Rendón, M., Patricia-Chaparro, M., & Otálvaro-Álvarez, Á. M. (2015). Extracción de compuestos fenólicos con actividad antioxidante a partir de Champa. *Revista CENIC. Ciencias Químicas*, 46, 38–46.

Muntean, E. (2005). Producción de un colorante alimentario natural Extracto del epicarpiode Cucurbita Pepo L. Var. Giromontía frutas. *Serie F Chemia*, 2, 65–68.

Oliveira, T. C. G., Caleja, C., Oliveira, M. B. P. P., Pereira, E., & Barros, L. (2023). Reuse of fruits and vegetables biowaste for sustainable development of natural ingredients. *Food Bioscience*, 53, 102711. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.fbio.2023.102711>

Olsen, N. (2021). *¿Cómo pueden los antioxidantes beneficiar tu salud?* Medical News Today.

Pandey, A., Belwal, T., Sekar, K. C., Bhatt, I. D., & Rawal, R. S. (2018). Optimization of ultrasonic-assisted extraction (UAE) of phenolics and antioxidant compounds from rhizomes of *Rheum moorcroftianum* using response surface methodology (RSM). *Industrial Crops and Products*.



- Paniagua-Zambrana, N. Y., & Bussmann, R. W. (2020). *Geranium ayavacense* Willd. ex Kunth *Geranium humboldtii* Willd. ex Spreng. *Geranium sessiliflorum* Cav. *Geraniaceae*. 1–11. https://doi.org/10.1007/978-3-319-77093-2_129-1
- Pérez-Leonard, & Heidy. (2006). Nutraceúticos: componente emergente para el beneficio de la salud. *ICIDCA. Sobre Los Derivados de La Caña de Azúcar*, XL(3), 20–28.
- Pesantes, G. C., Paucar, J., & Franco, J. L. (2021). Elaboración de una bebida de maíz morado con máxima retención de antocianinas. *Alpha Centauri*, 2(1), 52–61. <https://doi.org/10.47422/ac.v2i1.29>
- Philipp, M. (1985). Reproductive biology of *Geranium sessiliflorum*. 1. Flower and flowering biology. *New Zealand Journal of Botany*, 23(4), 567–580. <https://doi.org/10.1080/0028825X.1985.10434228>
- Philipp, M. (1987). Reproductive biology of *Geranium sessiliflorum*. II. The genetics and morph frequencies of the leaf colour polymorphism. *New Zealand Journal of Botany*, 25(2), 309–313. <https://doi.org/10.1080/0028825X.1987.10410077>
- Prior, R., Wu, X., & Schaich, K. (2005). Standardized Methods for the Determination of Antioxidant Capacity and Phenolics in Foods and Dietary Supplements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 4290–4302. <https://doi.org/10.1021/jf0502698>
- Qiang, L., Liu, W., Pei, Y., Wang, G., & Yao, R. (2017). Trap states extraction of p-channel SnO thin-film transistors based on percolation and multiple trapping carrier conduction. *Solid-State Electronics*, 129, 163–167. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.sse.2016.11.010>



- Química, G. N. (2020). *Las reacciones de oxidación – reducción , son muy importantes para nuestra vida cotidiana . La energía que necesitamos para realizar cualquier actividad , la obtenemos de procesos de oxidación – reducción , como el metabolismo de los alimentos , la respir.* 2019–2020.
- Rahman, I., Biswas, S. K., & Kirkham, P. A. (2006). Regulation of inflammation and redox signaling by dietary polyphenols. *Biochemical Pharmacology*, 72(11), 1439–1452. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2006.07.004>
- Ramírez-Hernández, B. C., Robles-Arellano, G., García-de-Alba-García, J. E., Zañudo-Hernández, J., Salcedo-Rocha, A. L., & García-de-Alba-Verduzco, J. (2013). Conocimiento y uso de las plantas medicinales en la zona metropolitana de Guadalajara. *Desacatos. Revista de Ciencias Sociales*, 39, 29. <https://doi.org/10.29340/39.238>
- Ramis-Ramos, G. (2003a). *ANTIOXIDANTS / Synthetic Antioxidants, Characterization and Analysis* (B. B. T.-E. of F. S. and N. (Second E. Caballero (ed.); pp. 275–282). Academic Press. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B0-12-227055-X/00055-9>
- Ramis-Ramos, G. (2003b). *ANTIOXIDANTS / Synthetic Antioxidants* (B. B. T.-E. of F. S. and N. (Second E. Caballero (ed.); pp. 265–275). Academic Press. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B0-12-227055-X/00054-7>
- Reyes, A., Galicia, M., & Carrillo, M. (2012). Antioxidantes: La magia de lo natural. In *Tlatemoani. revista Académica de Investigación* (Vol. 8, pp. 1–16).
- Riverón, B. (2023). *Las antocianinas, atractivos colores y poderosos antioxidantes.* Actual Fruveg.



- Robbins, R. J. (2003). Phenolic acids in foods: An overview of analytical methodology. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(10), 2866–2887.
<https://doi.org/10.1021/jf026182t>
- Rolny, N., Zaro, M., Díaz, A., Dini, C., & Viña, S. (2016). Pigmentos antociánicos y actividad antioxidante de raíces de ahípa (*Pachyrhizus ahípa*). *VI Congreso Internacional de Ciencia y Tecnología de Los Alimentos 2016 – Córdoba, Argentina.*, 3(1).
- Sancho, P., Arrocha, A. A., Jiménez, A., & Palacios, V. (2021). Extracción Asistida Por Ultrasonidos De Antocianinas Y Compuestos Polifenólicos En Lías Tintas. *Revista En Internet De Viticultura Y Enología.*, 3–4, 1–11.
- Santos, E., Cancino, N., Yenque, J., Ramírez, D., & Palomino, M. (2005). El ultrasonido y su aplicación. *Universidad Nacional Mayor de San Marcos*, 25–28.
- Shahidi, F., & Zhong, Y. (2015). Measurement of antioxidant activity. *Journal of Functional Foods*, 18, 757–781.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.01.047>
- Shen, N., Wang, T., Gan, Q., Liu, S., Wang, L., & Jin, B. (2022). Plant flavonoids: Classification, distribution, biosynthesis, and antioxidant activity. *Food Chemistry*, 383, 132531.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.132531>
- Shields, M. W., Tompkins, J. M., Saville, D. J., Meurk, C. D., & Wratten, S. (2016). Potential ecosystem service delivery by endemic plants in New Zealand vineyards: Successes and prospects. *PeerJ*, 2016(6).



<https://doi.org/10.7717/peerj.2042>

- Simões, C. M. O., Falkenberg, M., Mentz, L. A., Schenkel, E. P., Amoros, M., & Girre, L. (1999). Antiviral activity of South Brazilian medicinal plant extracts. *Phytomedicine*, 6(3), 205–214. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0944-7113\(99\)80010-5](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0944-7113(99)80010-5)
- Singh, P., Sultan, Z., Pandey, V. K., & Singh, R. (2023). Sous vide processing for food quality enhancement: A review. *Food and Humanity*, 1, 543–552. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foohum.2023.06.028>
- Singleton, V. L., Orthofer, R., & Lamuela-Raventós, R. M. B. T.-M. in E. (1999). [14] Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. In *Oxidants and Antioxidants Part A* (Vol. 299, pp. 152–178). Academic Press. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(99\)99017-1](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0076-6879(99)99017-1)
- Soto, M. (2015). Extracción y purificación de compuestos fenólicos a partir de subproductos de destilería de vino. *Universidad de Vigo*, 247.
- Sowbhagya, H. B., & Chitra, V. N. (2010). Enzyme-assisted extraction of flavorings and colorants from plant materials. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 50(2), 146–161. <https://doi.org/10.1080/10408390802248775>
- Speisky, H., & Jiménez, I. (2000). *Radicales libres y antioxidantes en la prevención de enfermedades: I mecanismos de generación de radicales libres*. Rev. Chil. Nutr. <https://doi.org/lil-284962>
- Springob, K., Nakajima, J., Yamazaki, M., & Saito, K. (2003). *Recent advances in the biosynthesis and accumulation of anthocyanins*. 288–303.



<https://doi.org/10.1039/b109542k>

Tamta, A., Prakash, O., Punetha, H., & Pant, A. K. (2016). Chemical composition and in vitro antioxidant potential of essential oil and rhizome extracts of *Curcuma amada* Roxb. *Cogent Chemistry*, 2(1), 1168067.

<https://doi.org/10.1080/23312009.2016.1168067>

Timberlake, C. F. (1980). Anthocyanins—Occurrence, extraction and chemistry. *Food Chemistry*, 5(1), 69–80. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0308-8146\(80\)90065-5](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0308-8146(80)90065-5)

Tintaya, B. (2002). Evaluación fitoquímica y su actividad tintoria del *geranium diffusum* HBK (Ajotillo). In *biblioteca.unsaac.edu.pe*.

Tintaya Sulca, B. (2002). Bibliotecas Especializadas - UNSAAC Koha › Detalles para_ Evaluación fitoquímica y su actividad tintoria del *geranium diffusum* HBK (Ajotillo) _. In *biblioteca.unsaac.edu.pe*.

Tripoli, E., Guardia, M. La, Giammanco, S., Majo, D. Di, & Giammanco, M. (2007). Citrus flavonoids: Molecular structure, biological activity and nutritional properties: A review. *Food Chemistry*, 104(2), 466–479. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.11.054>

Umaru, I. J. (2023). *Chapter 2 - Introduction to natural product* (S. A. Bhawani, A. Khan, & F. B. B. T.-E. of N. P. from A.-I. W. Ahmad (eds.); pp. 19–34). Elsevier. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-12-823349-8.00002-2>

Vázquez, L. (2014). ¿Qué son los radicales libres? In *Batanga* (Issue Figura 5, pp. 7–9).



- Velasquez-arevalo, S., & Ramirez, J. (2020). Etnobotánica , etnofarmacología y toxicidad de *Geranium ayavacense* Willd . ex Kunth y *Geranium* (*Geraniaceae*): Una revisión. *ResearchGate, March*. <https://doi.org/10.32859/era.19.23.1-12>
- Viganó, J., & Martinez, J. (2015). Trends for the Application of Passion Fruit Industrial By-products: A Review on the Chemical Composition and Extraction Techniques of Phytochemicals. *Food and Public Health, 5*(5), 164–173. <https://doi.org/10.5923/j.fph.20150505.03>
- Vita, J. A. (2005). Polyphenols and cardiovascular disease: effects on endothelial and platelet function. *The American Journal of Clinical Nutrition, 81*(1 Suppl), 292–297. <https://doi.org/10.1093/ajcn/81.1.292s>
- Wang, P., Feng, Y., Chen, Z., & Dai, Y. (2023). Study of a hull form optimization system based on a Gaussian process regression algorithm and an adaptive sampling strategy, Part I: Single-objective optimization. *Ocean Engineering, 279*, 114502. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.oceaneng.2023.114502>
- Xóchitl F, R., Garcia León, Srael Hernández Mendoza, J., Morales Baquera, J., & Quiroz Velásquez, J. D. C. (2022). Antocianinas, Propiedades Funcionales Y Potenciales Aplicaciones Terapéuticas. *Revista Boliviana de Química, 39*(5). <https://doi.org/10.34098/2078-3949.39.5.1>
- Xu, B., Ren, A., Chen, J., Li, H., Wei, B., Wang, J., Azam, S. M. R., Bhandari, B., Zhou, C., & Ma, H. (2021). Effect of multi-mode dual-frequency ultrasound irradiation on the degradation of waxy corn starch in a gelatinized state. *Food Hydrocolloids, 113*, 106440. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.106440>



- Yuan, Y., Tian, Y., Gao, S., Zhang, X., Gao, X., & He, J. (2023). Effects of environmental factors and fermentation on red raspberry anthocyanins stability. *LWT*, *173*, 114252. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.lwt.2022.114252>
- Zamora, S. J. D. (2007). Antioxidantes: micronutrientes en lucha por la salud. *Revista Chilena de Nutrición*, *34*(1), 23.
- Zeng, F.-S., Yao, Y.-F., Wang, L.-F., & Li, W.-J. (2023). Polysaccharides as antioxidants and prooxidants in managing the double-edged sword of reactive oxygen species. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, *159*, 114221. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.biopha.2023.114221>
- Zygler, A., Słomińska, M., & Namieśnik, J. (2012). *2.04 - Soxhlet Extraction and New Developments Such as Soxtec* (J. B. T.-C. S. and S. P. Pawliszyn (ed.)); pp. 65–82). Academic Press. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-12-381373-2.00037-5>



ANEXOS

ANEXO 1: Determinación de antocianinas.

Tabla 8

Datos de la determinación de antocianinas en la muestra de Ajotillo (Geranium sessiliflorum Cav.).

| Extracto Etanolito de | | |
|-----------------------|-----------------|-----------------|
| Ajotillo | EQ-Cya- 3G mg/L | EQ-Cya- 3G mg/L |
| Mtra 1 | -0.06 | -0.03 |
| Mtra 2 | -0.02 | -0.05 |
| Mtra 3 | -0.03 | -0.02 |
| Mtra 4 | -0.02 | -0.01 |
| Mtra 5 | -0.14 | -0.03 |
| Mtra 6 | -0.05 | -0.04 |
| Mtra 7 | -0.03 | -0.03 |
| Mtra 8 | 0.00 | 0.00 |
| Mtra 9 | -0.03 | -0.04 |
| Mtra 10 | -0.04 | -0.01 |
| Mtra 11 | -0.04 | -0.03 |
| Mtra 12 | 0.00 | 0.00 |
| Mtra 13 | -0.03 | -0.03 |
| Mtra 14 | -0.07 | -0.05 |
| Mtra 15 | -0.08 | -0.06 |



ANEXO 2: Determinación de compuestos fenólicos totales.

Tabla 9

*Datos de la determinación de compuestos fenólicos de muestras de referencia Ajotillo
(Geranium sessiliflorum Cav.).*

| | Repeticiones | | | Promedio |
|---------------------------|--------------|----------|----------|------------------------|
| Extracto Etanólico | | | | |
| de | | | | Equivalentes |
| Ajotillo | 1 | 2 | 3 | Acido Gálico |
| temperatura | | | | mg/1ml extracto |
| Ambiente | | | | |
| Etanol 25% | 9.3589 | 8.9134 | 8.9051 | 9.1 |
| Etanol 65% | 10.4531 | 9.9000 | 10.1822 | 10.2 |
| Etanol 96% | 10.9981 | 11.0862 | 11.1680 | 11.1 |



Tabla 10

*Datos de la determinación de compuestos fenólicos en extracto obtenido mediante ultrasonido de raíces de Ajotillo (*Geranium sessiliflorum* Cav).*

| Extracto Etanólico de Ajotillo temperatura Ambiente | Repeticiones | | | Promedio |
|--|---------------------|----------|----------|--|
| | 1 | 2 | 3 | Equivalentes Acido Gálico mg/1ml extracto |
| Etanol 25% | 16.3689 | 15.9904 | 16.4567 | 16.3 |
| Etanol 65% | 18.4561 | 17.9874 | 17.9080 | 18.1 |
| Etanol 96% | 21.5458 | 21.2260 | 21.7591 | 21.5 |



Tabla 11

Datos de la determinación de compuestos fenólicos totales en la muestra de Ajotillo

(Geranium sessiliflorum Cav.).

| Extracto Etanólico de Ajotillo | Repeticiones | | | Promedio |
|---|---------------------|----------|----------|--|
| | 1 | 2 | 3 | Equivalentes Acido Gálico mg/1ml de Muestra |
| Mtra. 1 | 52.2495 | 52.0362 | 51.9296 | 52.07 |
| Mtra. 2 | 35.2985 | 35.5117 | 35.4051 | 35.41 |
| Mtra. 3 | 35.4051 | 35.0853 | 35.6183 | 35.37 |
| Mtra. 4 | 35.2985 | 35.1919 | 35.6183 | 35.37 |
| Mtra. 5 | 33.1663 | 33.8060 | 33.3795 | 33.45 |
| Mtra. 6 | 50.9701 | 51.3966 | 50.7569 | 51.04 |
| Mtra. 7 | 51.6298 | 51.0768 | 51.2900 | 51.33 |
| Mtra. 8 | 30.3945 | 30.9275 | 30.1812 | 30.50 |
| Mtra. 9 | 59.7122 | 59.6055 | 59.9254 | 59.75 |
| Mtra. 10 | 25.4627 | 52.3561 | 52.1429 | 43.32 |
| Mtra. 11 | 50.2239 | 50.5437 | 51.4925 | 50.75 |
| Mtra. 12 | 53.6354 | 53.4222 | 53.2090 | 53.42 |
| Mtra. 13 | 31.3539 | 31.6738 | 31.2473 | 31.43 |
| Mtra. 14 | 33.3795 | 33.2729 | 33.0597 | 33.24 |
| Mtra. 15 | 26.1301 | 25.8102 | 25.9168 | 25.95 |



ANEXO 3: Determinación de antioxidantes.

Tabla 12

Datos de la determinación de antioxidantes en la muestra de referencia de Ajotillo (Geranium sessiliflorum Cav.).

| Extracto Etanólico de Ajotillo temperatura Ambiente | Repeticiones | | | Promedio |
|--|---------------------|----------|----------|---|
| | 1 | 2 | 3 | Equivalentes Trolox CI50 mg/1ml extracto |
| Etanol 25% | 22.6630 | 22.6630 | 22.6630 | 22.7 |
| Etanol 65% | 24.7938 | 24.6973 | 24.8902 | 24.8 |
| Etanol 96% | 27.6210 | 26.1090 | 27.5800 | 27.1 |

Tabla 13

Datos de la determinación de antioxidantes en extracto obtenido mediante ultrasonido de raíces de Ajotillo (Geranium sessiliflorum Cav.).

| Extracto Etanólico de Ajotillo temperatura Ambiente | Repeticiones | | | Promedio |
|--|---------------------|----------|----------|---|
| | 1 | 2 | 3 | Equivalentes Trolox CI50 mg/1ml extracto |
| Etanol 25% | 12.0738 | 12.0981 | 12.2193 | 12.1 |
| Etanol 65% | 12.3889 | 12.2678 | 12.3162 | 12.3 |
| Etanol 96% | 11.5635 | 11.5391 | 11.4173 | 11.5 |



Tabla 14

Datos de la determinación de antioxidantes en la muestra de Ajotillo (Geranium sessiliflorum Cav.).

| Extracto Etanolico de Ajotillo | Repeticiones | | | Promedio |
|--------------------------------------|--------------|---------|---------|--|
| | 1 | 2 | 3 | Equivalente Trolox CI50 mg/1ml extracto |
| Mtra 1 | 15.0941 | 15.1959 | 15.2468 | 15.2 |
| Mtra 2 | 32.6139 | 32.7503 | 32.2947 | 32.6 |
| Mtra 3 | 29.1830 | 29.1359 | 29.2771 | 29.2 |
| Mtra 4 | 37.2683 | 37.2276 | 37.1458 | 37.2 |
| Mtra 5 | 24.6490 | 24.5042 | 24.5525 | 24.6 |
| Mtra 6 | 31.7863 | 31.8880 | 31.9898 | 31.9 |
| Mtra 7 | 26.7990 | 26.3954 | 26.4427 | 26.5 |
| Mtra 8 | 40.0527 | 40.0204 | 40.0848 | 40.1 |
| Mtra 9 | 33.7489 | 33.7944 | 34.2022 | 33.9 |
| Mtra 10 | 31.5603 | 31.3757 | 31.3295 | 31.4 |
| Mtra 11 | 40.4949 | 40.3496 | 40.2723 | 40.4 |
| Mtra 12 | 41.7131 | 41.7039 | 41.7167 | 41.7 |
| Mtra 13 | 30.9211 | 31.0229 | 31.0738 | 31.0 |
| Mtra 14 | 10.0510 | 9.9514 | 9.9016 | 10.0 |
| Mtra 15 | 24.7938 | 24.6973 | 24.8902 | 24.8 |



ANEXO 4: Resultados de análisis de varianza para compuestos fenólicos totales y antioxidantes.

Tabla 15

Análisis de varianza (ANOVA) para extracción de compuestos fenólicos.

| Fuente | Suma de Cuadrados | Gl | Cuadrado Medio | Razón-F | Valor-P |
|------------------|-------------------|----|----------------|---------|---------|
| A: CONCENTRACIÓN | 81.012 | 1 | 81.012 | 5.50 | 0.0659 |
| B: TIEMPO | 157.268 | 1 | 157.268 | 10.68 | 0.0222 |
| C: TEMPERATURA | 109.708 | 1 | 109.708 | 7.45 | 0.0413 |
| AA | 742.945 | 1 | 742.945 | 50.46 | 0.0009 |
| AB | 124.628 | 1 | 124.628 | 8.47 | 0.0334 |
| AC | 92.0342 | 1 | 92.0342 | 6.25 | 0.0545 |
| BB | 106.108 | 1 | 106.108 | 7.21 | 0.0436 |
| BC | 137.326 | 1 | 137.326 | 9.33 | 0.0283 |
| CC | 41.302 | 1 | 41.302 | 2.81 | 0.1548 |
| Error total | 73.6103 | 5 | 14.7221 | | |
| Total | 1677.13 | 14 | | | |

$$R^2 = 95.6109\%$$



Tabla 16

Análisis de varianza (ANOVA) para extracción de antioxidantes.

| Fuente | Suma de Cuadrados | Gl | Cuadrado Medio | Razón-F | Valor-P |
|------------------|--------------------------|-----------|-----------------------|----------------|----------------|
| A: CONCENTRACIÓN | 82.7413 | 1 | 82.7413 | 0.67 | 0.4508 |
| B: TIEMPO | 0.203605 | 1 | 0.203605 | 0.00 | 0.9692 |
| C: TEMPERATURA | 5.49937 | 1 | 5.49937 | 0.04 | 0.8414 |
| AA | 106.891 | 1 | 106.891 | 0.86 | 0.3954 |
| AB | 23.7584 | 1 | 23.7584 | 0.19 | 0.6796 |
| AC | 0.508282 | 1 | 0.508282 | 0.00 | 0.9514 |
| BB | 295.017 | 1 | 295.017 | 2.38 | 0.1833 |
| BC | 2.73706 | 1 | 2.73706 | 0.02 | 0.8876 |
| CC | 6.37229 | 1 | 6.37229 | 0.05 | 0.8295 |
| Error total | 618.935 | 5 | 123.787 | | |
| Total | 1114.86 | 14 | | | |

$$R^2 = 44.4829\%$$

ANEXO 5: Datos codificados para la extracción de compuestos fenólicos totales y antioxidantes de Ajotillo.

Tabla 17

Datos para la extracción de compuestos fenólicos totales de Ajotillo (Geranium sessiliflorum Cav.).

| Extracto etanolico de Ajotillo | factores codificados | | | Factores | | | Compuest os fenólicos totales |
|--------------------------------------|------------------------------------|---------------------|-------------------------|-------------------|---------------------|-------------------|--|
| | Concentraci ón de etanol (%) | Tiem po (min) | Temperat ura (°C) | etan ol (%) | Tiem po (min) | Tem p. (°C) | Equivalen tes Acido Gálico mg/ ml de extracto. |
| M1 | -1 | 0 | 1 | 25 | 40 | 60 | 52.07 |
| M2 | 0 | -1 | 1 | 65 | 10 | 60 | 35.41 |
| M3 | 1 | 0 | 1 | 96 | 40 | 60 | 35.37 |
| M4 | 1 | -1 | 0 | 96 | 10 | 40 | 35.37 |
| M5 | 0 | -1 | -1 | 65 | 10 | 20 | 33.45 |
| M6 | -1 | 1 | 0 | 25 | 60 | 40 | 51.04 |
| M7 | -1 | 0 | -1 | 25 | 40 | 20 | 51.33 |
| M8 | 0 | 1 | 1 | 65 | 60 | 60 | 30.50 |
| M9 | 1 | 1 | 0 | 96 | 60 | 40 | 59.75 |
| M10 | 0 | 1 | -1 | 65 | 60 | 20 | 43.32 |



| | | | | | | | |
|-----|----|----|----|----|----|----|-------|
| M11 | -1 | -1 | 0 | 25 | 10 | 40 | 50.75 |
| M12 | 1 | 0 | -1 | 96 | 40 | 20 | 53.42 |
| M13 | 0 | 0 | 0 | 65 | 40 | 40 | 31.43 |
| M14 | 0 | 0 | 0 | 65 | 40 | 40 | 33.24 |
| M15 | 0 | 0 | 0 | 65 | 40 | 40 | 25.95 |

Tabla 18

Datos codificados para la extracción de antioxidantes de Ajotillo (Geranium sessiliflorum Cav.).

| Extracto etanolico de Ajotillo | factores codificados | | | Factores | | | Antioxidan tes |
|--------------------------------------|------------------------------------|---------------------|-------------------------|-------------------|---------------------|-------------------|---|
| | Concentraci ón de etanol (%) | Tiemp o (min) | Temperatu ra (°C) | etan ol (%) | Tiemp o (min) | Tem p. (°C) | Equivalent e Trolox CI50 mg/1 ml de extracto. |
| M1 | -1 | 0 | 1 | 25 | 40 | 60 | 15.2 |
| M2 | 0 | -1 | 1 | 65 | 10 | 60 | 32.6 |
| M3 | 1 | 0 | 1 | 96 | 40 | 60 | 29.2 |
| M4 | 1 | -1 | 0 | 96 | 10 | 40 | 37.2 |
| M5 | 0 | -1 | -1 | 65 | 10 | 20 | 24.6 |
| M6 | -1 | 1 | 0 | 25 | 60 | 40 | 31.9 |
| M7 | -1 | 0 | -1 | 25 | 40 | 20 | 26.5 |
| M8 | 0 | 1 | 1 | 65 | 60 | 60 | 40.1 |
| M9 | 1 | 1 | 0 | 96 | 60 | 40 | 33.9 |
| M10 | 0 | 1 | -1 | 65 | 60 | 20 | 31.4 |
| M11 | -1 | -1 | 0 | 25 | 10 | 40 | 40.4 |
| M12 | 1 | 0 | -1 | 96 | 40 | 20 | 41.7 |
| M13 | 0 | 0 | 0 | 65 | 40 | 40 | 31.0 |

| | | | | | | | |
|-----|---|---|---|----|----|----|------|
| M14 | 0 | 0 | 0 | 65 | 40 | 40 | 10.0 |
| M15 | 0 | 0 | 0 | 65 | 40 | 40 | 24.8 |

ANEXO 6: Galería de fotografías

Figura 19

a) La flor de Ajotillo (Geranium sessiliflorum Cav.). b) Raíces recolectados de Ajotillo (Geranium sessiliflorum Cav.).



Figura 20

*a) Raíces de Ajotillo (*Geranium sessiliflorum* Cav.) lavadas. b) Raíces de Ajotillo (*Geranium sessiliflorum* Cav.) deshilachadas.*



Figura 21

*a) y b) Ajotillo (*Geranium sessiliflorum* Cav.) pre secado y secando.*



Figura 22

*a) Molino Pulverizador sometido los raíces de Ajotillo (*Geranium sessiliflorum* Cav.).*



Figura 23

*a) Moliendo las raíces de Ajotillo (*Geranium sessiliflorum* Cav.), b) Polvo de Ajotillo (*Geranium sessiliflorum* Cav.).*



Figura 24

a) Equipo de ultrasonido para la extracción de compuesto fenólicos, antioxidantes y antocianinas.



Figura 25

*Pesado del polvo de Ajotillo (*Geranium sessiliflorum* Cav.) para la extracción de compuestos fenólicos, antioxidantes y antocianinas.*



Figura 26

*Sumergido de polvo de Ajotillo (*Geranium sessiliflorum* Cav.), para su procedimiento de extracción.*



Figura 27

Sumergido de muestras en baño ultrasónico para su extracción de compuestos fenólicos, antioxidantes y antocianinas.

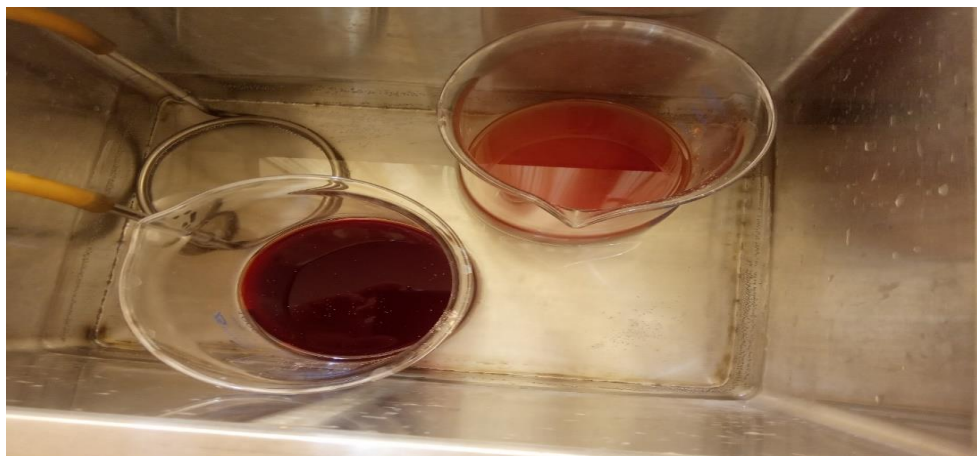


Figura 28

Filtrado de la concentración de compuestos fenólicos, antioxidantes y antocianinas.



Figura 29

Concentración de compuestos fenólicos, antioxidantes y antocianinas listo para su almacenamiento y análisis.



Figura 30

Preparación de solución para su análisis de antocianinas, compuestos fenólicos totales y antioxidantes.



Figura 31

Preparación de solución para su análisis de antocianinas.



Figura 32

Muestra lista para el análisis de antocianinas con el reactivo.



Figura 33

Muestra preparados en los tubos, también los reactivos Folin ciocalteu (amarillo) y Na_2CO_3 al 20%.

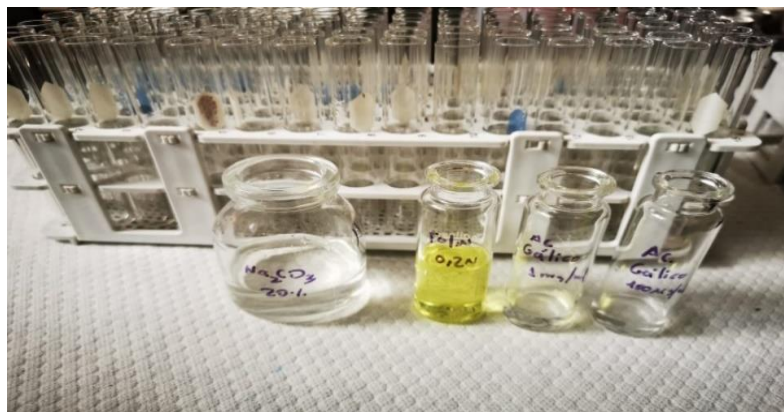


Figura 34

La reacción de la muestra, Luego de 30 minutos se desarrolla el color azul por los polifenoles, Lectura del estándar Ácido gálico en diferentes concentraciones en el espectrofotómetro.



Figura 35

Evaluación de antocianinas, compuestos fenólicos y antioxidantes en espectrofotómetro uv - visible.



ANEXO 6: Reporte de los resultados



UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO
FACULTAD DE CIENCIAS
LABORATORIO DE CROMATOGRAFIA Y ESPECTROMETRÍA – Pabellón de Control de Calidad
AV. De la Cultura 733 CUSCO-PERÚ Contacto: 973898855

RESULTADOS

Cusco 20 de Octubre 2022 ^{AFACD}

Solicitantes : Adelma Ludemil Condori Caceres
Tipo de Análisis : Determinación de Antioxidantes, Compuestos Fenólicos,
Antocianinas Totales, Carotenolde y Betalainas
Métodos : DPPH, Foiln Clocaiteu, pH diferencial y Marcha fitoquímica
Tipo de Muestras : Extracto Etanólico de Ajotillo *Geranium sessiliflorum* Cav
Cantidad de Muestra : 30 frascos con 50 ml aprox.
Almacenamiento : 4 °C.

Antioxidantes

Condiciones de Análisis por Espectrofotómetro

Equipo : Espectrofotómetro Génesis 20 Thermo Electrón
Longitud de Onda : 517 nm
Celda de Lectura : Cubetas de Vidrio de 1cm.
Ecuación de la curva patrón : $y = 0.0393x + 0.0154$, $R^2 = 0.9977$

| Extracto Etanólico de Ajotillo temperatura Ambiente | Repeticiones | | | Promedio |
|---|--------------|---------|---------|---|
| | 1 | 2 | 3 | Equivalentes Trolox C150 mg/1ml extracto |
| Etanol 25% | 22.6630 | 22.6630 | 22.6630 | 22.7 |
| Etanol 65% | 24.7938 | 24.6973 | 24.8902 | 24.8 |
| Etanol 96% | 27.6210 | 26.1090 | 27.5800 | 27.1 |

Nota:

Los resultados obtenidos en la determinación de actividad antioxidante expresa el Coeficiente de inhibición al 50% (CI_{50} o IC_{50}) en miligramos equivalentes Trolox que están presente en un mililitro de muestra. Los valores bajos poseen mayor actividad antioxidante^{2,8}

Determinación de Carotenoides y Betalainas.

Mediante el ensayo preliminar en la extracción con solventes Hexano : Isopropanol (1: 1) no se ha detectado la presencia de Carotenoides, mediante la extracción en sistema en fase solida (SPE) no se ha detectado la presencia de Betalainas.

- Rodríguez-Saona, L. E., & Wrolstad, R. E. (2005). Acetone extraction and chloroform partition of anthocyanins. Unit F1.1. In R. E. Wrolstad, & S. J. Schwartz (Eds.), Handbook of food analytical chemistry (pp. 7). New York: John Wiley & Sons, Inc.



Químico Jorge Chiquenaira Pari
Analista del Laboratorio de Cromatografía y
Espectrometría - UNISAAC
EQP - 914



Determinación de Antioxidantes de Extracto obtenido Mediante Ultrasonido

| Extracto etanolico de ajonjolillo temperatura ambiente | | Repeticiones | | | Promedio |
|--|-----|--------------|---------|---------|--|
| | | 1 | 2 | 3 | Equivalentes Trolox C150 mg/1ml extracto |
| Etanol | 25% | 12.0738 | 12.0981 | 12.2193 | 12.1 |
| Etanol | 65% | 12.3889 | 12.2678 | 12.3162 | 12.3 |
| Etanol | 96% | 11.5635 | 11.5391 | 11.4173 | 11.3 |

Nota:

Los resultados obtenidos en la determinación de actividad antioxidante expresa el Coeficiente de Inhibición al 50% (CI₅₀ o IC₅₀) en miligramos equivalentes Trolox que están presente en un mililitro de muestra. Los valores bajos poseen mayor actividad antioxidante^{2,5}




Químico, Jorge Chiguena Pari
Analista del Laboratorio de Cromatografía y
Espectrometría - UNBAAC.
CQP - 984



RESULTADOS Antioxidantes

Replica Extracto Etanólico de Ajoillo

| Extracto Etanólico de Ajoillo | Repeticiones | | | Promedio Equivalentes Trolox CI50 mg/1ml extracto |
|-------------------------------|--------------|---------|---------|--|
| | 1 | 2 | 3 | |
| Mtra 1 | 15.0941 | 15.1959 | 15.2468 | 15.2 |
| Mtra 2 | 32.6139 | 32.7503 | 32.2947 | 32.6 |
| Mtra 3 | 29.1830 | 29.1359 | 29.2771 | 29.2 |
| Mtra 4 | 37.2683 | 37.2276 | 37.1458 | 37.2 |
| Mtra 5 | 24.6490 | 24.5042 | 24.5525 | 24.6 |
| Mtra 6 | 31.7863 | 31.8880 | 31.9898 | 31.9 |
| Mtra 7 | 26.7990 | 26.5954 | 26.4427 | 26.6 |
| Mtra 8 | 40.0527 | 40.0204 | 40.0848 | 40.1 |
| Mtra 9 | 33.7489 | 33.7944 | 34.2022 | 33.9 |
| Mtra 10 | 31.5603 | 31.3757 | 31.3295 | 31.4 |
| Mtra 11 | 40.4949 | 40.3496 | 40.2723 | 40.4 |
| Mtra 12 | 41.7131 | 41.7039 | 41.7167 | 41.7 |
| Mtra 13 | 30.9211 | 31.0229 | 31.0738 | 31.0 |
| Mtra 14 | 10.0510 | 9.9514 | 9.9016 | 10.0 |
| Mtra 15 | 24.7938 | 24.6973 | 24.8902 | 24.8 |

Nota:

Los resultados obtenidos en la determinación de actividad antioxidante expresa el Coeficiente de Inhibición al 50% (CI₅₀ o IC₅₀) en miligramos equivalentes Trolox que están presente en un mililitro de muestra. Los valores bajos poseen mayor actividad antioxidante^{2,6}

Referencia

1. Brand-Williams W., M. Cuvelier and C. Berset; (1997) Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity, *Lebensm. Wiss. U. Technol.* 20, 25-30.
2. Maluszewska, A., Jaszek, M., Stefaniuk, D., Ciszewski, T., & Maluszewski, L. (2016). Anticancer, antioxidant, and antibacterial activities of low molecular weight bioactive subfractions isolated from cultures of wood degrading fungus *Cerrena unicolor*. *PLOS ONE*, 13(6), e0197044. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0197044>
3. Norul Liza A-Rahaman, Lee Suan Chua, Mohamad Roji Samidi, Ramlan Aziz (2013) Physicochemical and radical scavenging activities of honey samples from Malaysia *Agricultural Sciences* Vol.4, No.5B, 46-51.
4. Philip Molyneux 2004, The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity *Songklanakarin J. Sci. Technol.*, 26(2) : 211-219.
5. Pugliese A.G, Francisco A. Tomas-Barberan, Pilar Truchado, Maria I. Genovese, Flavonoids, Proanthocyanidins, Vitamin C, and Antioxidant Activity of *Theobroma grandiflorum* (Cupuassu) Pulp and Seeds *J Agric Food Chem.* 2013 Mar 20;61(11):2720-8. doi: 10.1021/jf304349u.
6. Zhang, X., Yu, Y., Cen, Y., Yang, D., Qi, Z., Hou, Z., Han, S., Cai, Z., & Liu, K. (2016). Bivariate Correlation Analysis of the Chemometric Profiles of Chinese Wild *Salvia miltiorrhiza* Based on UPLC-Qq-MS and Antioxidant Activities. *Molecules*, 23(3), 536. <https://doi.org/10.3390/molecules23030536>



Químico Jorge Chiquitains Pari
Analista del Laboratorio de Cromatografía y
Espectrometría - UNDAAC.
CGP - 814



RESULTADOS

Determinación de Compuestos Fenólicos Totales

Condiciones de Análisis por Espectrofotómetro

Equipo : Espectrofotómetro Génesis 20 Thermo Electrón

Longitud de Onda : 765 nm

Celda de Lectura : Cubetas de Vidrio de 1cm

Ecuación de la curva patrón : $y = 0.0469x + 0.0159$, $R^2 = 0.9950$

| Extracto Etanólico de Ajorillo temperatura Ambiente | Repeticiones | | | Promedio |
|---|--------------|---------|---------|---|
| | 1 | 2 | 3 | Equivalentes Ácido Gálico mg/ml de Extracto |
| Etanol 25% | 9.3589 | 8.9134 | 8.9051 | 9.1 |
| Etanol 65% | 10.4531 | 9.9000 | 10.1822 | 10.2 |
| Etanol 96% | 10.9981 | 11.1680 | 11.1680 | 11.1 |

Determinación de Compuestos Fenólicos Totales de Extracto obtenido Mediante Ultrasonido

| Extracto Etanólico de Ajorillo temperatura Ambiente | Repeticiones | | | Promedio |
|---|--------------|---------|---------|---|
| | 1 | 2 | 3 | Equivalentes Ácido Gálico mg/ml de Extracto |
| Etanol 25% | 16.3689 | 15.9904 | 16.4567 | 16.3 |
| Etanol 65% | 18.4561 | 17.9874 | 17.9080 | 18.1 |
| Etanol 96% | 21.5458 | 21.2260 | 21.7591 | 21.5 |

Nota: La cuantificación se basó utilizando un estándar, expresa los miligramos en equivalentes de Ácido Gálico que están presente en un mililitro de muestra.



Químico, Jorge Chiquenaira Paiz
Analista del Laboratorio de Cromatografía y
Espectrometría - UNAAAC,
COP - III



RESULTADOS

Cusco 20 de Octubre 2022 ^{AFAS}

Solicitantes : Adelma Ludemil Condori Caceres
 Tipo de Análisis : Determinación de Antioxidantes, Compuestos Fenólicos, Antocianinas Totales, Carotenoides y Betalainas
 Métodos : DPPH, Folin Ciocalteu, pH diferencial y Marcha fitoquímica
 Tipo de Muestras : Extracto Etanólico de Ajotillo *Geranium sessiliflorum Cav*
 Cantidad de Muestra : 30 frascos con 50 ml aprox.
 Almacenamiento : 4 °C.

Antioxidantes

Condiciones de Análisis por Espectrofotómetro
 Equipo : Espectrofotómetro Génesis 20 Thermo Electrón
 Longitud de Onda : 517 nm
 Celda de Lectura : Cubetas de Vidrio de 1cm.
 Ecuación de la curva patrón : $y = 0.0393x + 0.0154$, $R^2 = 0.9977$

| Extracto Etanólico de Ajotillo temperatura Ambiente | Repeticiones | | | Promedio Equivalentes Trolox C150 mg/1ml extracto |
|---|--------------|---------|---------|---|
| | 1 | 2 | 3 | |
| Etanol 25% | 22.6630 | 22.6630 | 22.6630 | 22.7 |
| Etanol 65% | 24.7938 | 24.6973 | 24.8902 | 24.8 |
| Etanol 95% | 27.6210 | 26.1090 | 27.5800 | 27.1 |

Nota:

Los resultados obtenidos en la determinación de actividad antioxidante expresa el Coeficiente de Inhibición al 50% (CI₅₀ o IC₅₀) en miligramos equivalentes Trolox que están presente en un mililitro de muestra. Los valores bajos poseen mayor actividad antioxidante^{2,8}

Determinación de Carotenoides y Betalainas.

Mediante el ensayo preliminar en la extracción con solventes Hexano : Isopropanol (1: 1) no se ha detectado la presencia de Carotenoides, mediante la extracción en sistema en fase sólida (SPE) no se ha detectado la presencia de Betalainas.

- Rodríguez-Saona, L. E., & Wrolstad, R. E. (2005). Acetone extraction and chloroform partition of anthocyanins. Unit F1.1. In R. E. Wrolstad, & S. J. Schwartz (Eds.), Handbook of food analytical chemistry (pp. 7). New York: John Wiley & Sons, Inc.



Quilico Jorge Chiquenaño Pari
 Analista del Laboratorio de Cromatografía y
 Espectrometría – LBELAC.
 CCP - 014




Determinación de Antioxidantes de Extracto obtenido Mediante Ultrasonido

| | | Repeticiones | | | Promedio |
|--|-----|--------------|---------|---------|--|
| Extracto etanolico de ajonjolillo temperatura ambiente | | 1 | 2 | 3 | Equivalentes Trolox CISD mg/1ml extracto |
| Etanol | 25% | 12.0738 | 12.0981 | 12.2193 | 12.1 |
| Etanol | 65% | 12.3889 | 12.2678 | 12.3162 | 12.3 |
| Etanol | 96% | 11.5635 | 11.5391 | 11.4173 | 11.3 |

Nota:

Los resultados obtenidos en la determinación de actividad antioxidante expresa el Coeficiente de Inhibición al 50% (CI₅₀ o IC₅₀) en miligramos equivalentes Trolox que están presente en un mililitro de muestra. Los valores bajos poseen mayor actividad antioxidante^{2,9}




Químico, Jorge Chiguera Pari
Analista del Laboratorio de Cromatografía y
Espectrometría - UNIAAC,
COP - 014



RESULTADOS Antioxidantes

Replica Extracto Etanolico de Ajoitillo

| Extracto Etanolico de Ajoitillo | Repeticiones | | | Promedio |
|---------------------------------|--------------|---------|---------|--|
| | 1 | 2 | 3 | Equivalentes Trolox C150 mg/1ml extracto |
| Mtra 1 | 15.0941 | 15.1959 | 15.2468 | 15.2 |
| Mtra 2 | 32.6139 | 32.7503 | 32.2947 | 32.6 |
| Mtra 3 | 29.1830 | 29.1359 | 29.2771 | 29.2 |
| Mtra 4 | 37.2683 | 37.2276 | 37.1458 | 37.2 |
| Mtra 5 | 24.6490 | 24.5042 | 24.5525 | 24.6 |
| Mtra 6 | 31.7863 | 31.8880 | 31.9898 | 31.9 |
| Mtra 7 | 26.7990 | 26.5954 | 26.4427 | 26.6 |
| Mtra 8 | 40.0527 | 40.0204 | 40.0848 | 40.1 |
| Mtra 9 | 33.7489 | 33.7944 | 34.2022 | 33.9 |
| Mtra 10 | 31.5603 | 31.3757 | 31.3295 | 31.4 |
| Mtra 11 | 40.4949 | 40.3496 | 40.2723 | 40.4 |
| Mtra 12 | 41.7131 | 41.7039 | 41.7167 | 41.7 |
| Mtra 13 | 30.9211 | 31.0229 | 31.0738 | 31.0 |
| Mtra 14 | 10.0510 | 9.9514 | 9.9016 | 10.0 |
| Mtra 15 | 24.7938 | 24.6973 | 24.8902 | 24.8 |

Nota:

Los resultados obtenidos en la determinación de actividad antioxidante expresa el Coeficiente de Inhibición al 50% (C₅₀ o IC₅₀) en miligramos equivalentes Trolox que están presente en un mililitro de muestra. Los valores bajos poseen mayor actividad antioxidante^{2,6}

Referencia

1. Brand-Williams W., M. Cuvelier and C. Berset; (1997) Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity, *Lebensm. Wiss. U. Technol.* 28, 25-30.
2. Matuszewska, A., Jaszek, M., Stefanik, D., Ciszewski, T., & Matuszewski, L. (2018). Anticancer, antioxidant, and antibacterial activities of low molecular weight bioactive subfractions isolated from cultures of wood degrading fungus *Cerrena unicolor*. *PLOS ONE*, 13(6), e0197044. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0197044>
3. Norul Liza A-Rahaman, Lee Suan Chua, Mohamad Roji Samidi, Ramlan Aziz (2013) Physicochemical and radical scavenging activities of honey samples from Malaysia *Agricultural Sciences* Vol.4, No.58, 46-51.
4. Philip Molyneux 2004, The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity *Songklanakarin J. Sci. Technol.*, 26(2) : 211-219.
5. Pugliese A.G, Francioso A, Tomas-Barberan, Pilar Truchado, Maria I. Genovese, Flavonoids, Proanthocyanidins, Vitamin C, and Antioxidant Activity of *Theobroma grandiflorum* (Cupuaçu) Pulp and Seeds *J Agric Food Chem.* 2013 Mar 20;61(11):2720-8. doi: 10.1021/jf304349u.
6. Zhang, X., Yu, Y., Cen, Y., Yang, D., Qi, Z., Hou, Z., Han, S., Cai, Z., & Liu, K. (2018). Bivariate Correlation Analysis of the Chemometric Profiles of Chinese Wild *Salvia miltiorrhiza* Based on UPLC-Qq-MS and Antioxidant Activities. *Molecules*, 23(3), 538. <https://doi.org/10.3390/molecules23030538>



Quirico Jorge Chiquenalla Pari
Analista del Laboratorio de Cromatografía y
Espectrometría - (LABAE)
EQP - 814



UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO
FACULTAD DE CIENCIAS
LABORATORIO DE CROMATOGRAFIA Y ESPECTROMETRIA - Pabellón de Control de Calidad
AV. De la Cultura 733 CUSCO-PERO Contacto: 073082888

RESULTADOS

Determinación de Compuestos Fenólicos Totales

Condiciones de Análisis por Espectrofotómetro
Equipo : Espectrofotómetro Genesis 20 Thermo Electron
Longitud de Onda : 765 nm
Celda de Lectura : Cubetas de Vidrio de 1cm
Ecuación de la curva patrón : $y = 0.0469x + 0.0159$, $R^2 = 0.9950$

| Extracto Etanólico de Ajoillo temperatura Ambiente | Repeticiones | | | Promedio |
|--|--------------|---------|---------|---|
| | 1 | 2 | 3 | Equivalentes Acido Galico mg/ml de Extracto |
| Etolol 25% | 9.3589 | 8.9134 | 8.9051 | 9.1 |
| Etolol 65% | 10.4531 | 9.9000 | 10.1822 | 10.2 |
| Etolol 96% | 10.9981 | 11.1600 | 11.1600 | 11.1 |

Determinación de Compuestos Fenólicos Totales de Extracto obtenido Mediante Ultrasonido

| Extracto Etanólico de Ajoillo temperatura Ambiente | Repeticiones | | | Promedio |
|--|--------------|---------|---------|---|
| | 1 | 2 | 3 | Equivalentes Acido Galico mg/ml de Extracto |
| Etolol 25% | 16.3689 | 15.9904 | 16.4567 | 16.3 |
| Etolol 65% | 18.4561 | 17.9874 | 17.9080 | 18.1 |
| Etolol 96% | 21.5458 | 21.2260 | 21.7591 | 21.5 |

Nota: La cuantificación se basó utilizando un estándar, expresa los miligramos en equivalentes de Acido Galico que están presente en un mililitro de muestra.



Quilico Jorge Chiquenra Pari
Analista del Laboratorio de Cromatografía y
Espectrometría - UNBAAC,
CIP - 914



RESULTADOS Compuestos Fenólicos

Replica Extracto Etanólico de Ajoillo

| Extracto Etanólico de Ajoillo | Repeticiones | | | Promedio Equivalentes Ácido Gálico mg/ml de Extracto |
|-------------------------------------|--------------|---------|---------|---|
| | 1 | 2 | 3 | |
| Mtra 1 | 52.2495 | 52.0362 | 51.9296 | 52.1 |
| Mtra 2 | 35.2985 | 35.5117 | 35.4051 | 35.4 |
| Mtra 3 | 35.4051 | 35.0853 | 35.6183 | 35.4 |
| Mtra 4 | 35.2985 | 35.1919 | 35.6183 | 35.4 |
| Mtra 5 | 33.1663 | 33.8060 | 33.3795 | 33.5 |
| Mtra 6 | 50.9701 | 51.3966 | 50.7569 | 51.0 |
| Mtra 7 | 51.6098 | 51.0768 | 51.2900 | 51.3 |
| Mtra 8 | 30.3945 | 30.9275 | 30.1812 | 30.5 |
| Mtra 9 | 59.7122 | 59.6055 | 59.9254 | 59.7 |
| Mtra 10 | 52.4627 | 52.3561 | 52.1429 | 52.3 |
| Mtra 11 | 50.2239 | 50.5437 | 51.4925 | 50.8 |
| Mtra 12 | 53.6354 | 53.4222 | 53.2090 | 53.4 |
| Mtra 13 | 31.3539 | 31.6738 | 31.2473 | 31.4 |
| Mtra 14 | 33.3795 | 33.2729 | 33.0597 | 33.2 |
| Mtra 15 | 26.1301 | 25.8102 | 25.9168 | 26.0 |

Nota: La cuantificación se basó utilizando un estándar, expresa los miligramos en equivalentes de Ácido Gálico que están presente en un mililitro de muestra.

Referencia

- Vernon L. Singleton, Rudolf Orthofer, Rosa M. Lamuela-Raventós 1999 Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent Methods in Enzymology Volume 299, 1999, Pages 152-178
- Pugliese A.G, Francisco A. Tomas-Barberan, Pilar Truchado, Maria I. Genovese, Flavonoids, Proanthocyanidins, Vitamin C, and Antioxidant Activity of Theobroma grandiflorum (Cupuassu) Pulp and Seeds J Agric Food Chem. 2013 Mar 20;61(11):2720-8. doi: 10.1021/jf304349u.
- Huang, R. T., Lu, Y. F., Inbaraj, B. S., & Chen, B. H. (2015). Determination of phenolic acids and flavonoids in *Rhinacanthus nasutus* (L.) kurz by high-performance-liquid-chromatography with photodiode-array detection and tandem mass spectrometry. Journal of Functional Foods, 12, 498-508. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2014.12.002>
- *Raphanus raphanistrum* L. Sulu Ekstresinin Antoksidan Aktivitesi ve Total Fenolik İçeriği. (s. f.). Recuperado 17 de enero de 2019, de <http://www.turkijs.org/archives/archive-detail/article-preview/antioxidant-actvty-and-total-phenolo-content-of-aqua/12445>



Cuzco, Jorge Chequidana Pari
Analista del Laboratorio de Cromatografía y
Espectrometría – UNSAAC
GGP - 914



RESULTADOS

Cuantificación de Antocianinas Totales

Condiciones de Análisis por Espectrofotómetro
 Equipo : Espectrofotómetro Génesis 20 Thermo Electrón
 Longitud de Onda : 520 y 700 nm
 Celda de Lectura : Cubetas de Vidrio de 1cm.
 pH-Metro : HANNA EDGE® HI2020

Replica Extracto Etanólico de Ajoitillo

| Extracto Etanólico de Ajoitillo | EQ-Cya-3G mg/L | Extracto Etanólico de Ajoitillo | EQ-Cya-3G mg/L |
|---------------------------------|----------------|---------------------------------|----------------|
| Mtra 1 | -0.06 | Mtra 1 | -0.03 |
| Mtra 2 | -0.02 | Mtra 2 | -0.05 |
| Mtra 3 | -0.03 | Mtra 3 | -0.02 |
| Mtra 4 | -0.02 | Mtra 4 | -0.01 |
| Mtra 5 | -0.14 | Mtra 5 | -0.03 |
| Mtra 6 | -0.05 | Mtra 6 | -0.04 |
| Mtra 7 | -0.03 | Mtra 7 | -0.03 |
| Mtra 8 | 0.00 | Mtra 8 | 0.00 |
| Mtra 9 | -0.03 | Mtra 9 | -0.04 |
| Mtra 10 | -0.04 | Mtra 10 | -0.01 |
| Mtra 11 | -0.04 | Mtra 11 | -0.03 |
| Mtra 12 | 0.00 | Mtra 12 | 0.00 |
| Mtra 13 | -0.03 | Mtra 13 | -0.03 |
| Mtra 14 | -0.07 | Mtra 14 | -0.05 |
| Mtra 15 | -0.08 | Mtra 15 | -0.06 |

Conclusión: No se ha detectado la presencia de antocianinas en las muestras

Nota: La Cuantificación de Antocianinas Totales se basa en la transformación estructural de las antocianinas que ocurre con un cambio en el pH a 1.0 y 4.5, a 520 y 700 nm, expresa la cantidad de antocianinas en miligramos como equivalentes de cianidina-3-glucósido presentes en 1 litro de muestra.

Referencia.

- Association of Analytical Communities INTERNATIONAL. Total Monomeric Anthocyanin Pigment Content of Fruit Juices, Beverages, Natural Colorants, and Wines. pH Differential Method AOAC Official Method 2005.02




 Guisaco, Jorge Choquehuira Pari
 Analista del Laboratorio de Cromatografía y
 Espectrometría - UNSAAC,
 QOP. 914



CONSTANCIA

EL QUE SUSCRIBE DIRECTOR DEL CENTRO INVESTIGACION Y PRODUCCION - LA RAYA DE LA FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO – PUNO.

HACE CONSTAR:

Que, el Srta. ADELMA LUDEMI CONDORI CACERES, identificado con DNI N° 70651194, estudiante de la Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional del Altiplano; para indicar que realizó la recolección de las raíces de Ajotillo como indica en lo siguiente:

NOMBRE DE LA HIERBA : Ajotillo
NOMBRE CIENTIFICO : *Geranium Diffusum*
ESPECIE : *Geranium sessiflorum Cavanilles*
LUGAR DE RECOLECCION : Cabaña Jenqueñosa – CIP La Raya
ALTITUD : 5,482 msnm
CANTIDAD DE RECOLECCION: 5 Kg
FECHA DE MUESTREO : 15/04/22

Se expide la presente constancia a solicitud del interesado para los fines que viera por conveniente.

La Raya 22 de enero 2024




M.Sc. Oscar D. Orta Bueda
DIRECTOR C.E. LA RAYA
F.M.V.Z. UNIA - PUNO



DECLARACIÓN JURADA DE AUTENTICIDAD DE TESIS

Por el presente documento, Yo ADELMA LUDEMI CONDORI CACERES
identificado con DNI 70651194 en mi condición de egresado de:

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

informo que he elaborado el/la Tesis o Trabajo de Investigación denominada:
“ OPTIMIZACIÓN DE LAS CONDICIONES DE EXTRACCIÓN ASISTIDA POR
ULTRASONIDO DE ANTOCIANINAS, COMPUESTOS FENÓLICOS Y
ANTIOXIDANTES A PARTIR DE LA RAÍZ DE AJOTILLO (*Geranium sessiliflorum Cav.*) ”

Es un tema original.

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

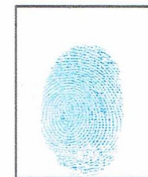
Dejo constancia que las citas de otros autores han sido debidamente identificadas en el trabajo de investigación, por lo que no asumiré como tuyas las opiniones vertidas por terceros, ya sea de fuentes encontradas en medios escritos, digitales o Internet.

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

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

Puno 19 de abril del 20 24

FIRMA (obligatoria)



Huella



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

Por el presente documento, Yo ADELMA LUDEMI CONDORI CACERES,
identificado con DNI 70651194 en mi condición de egresado de:

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

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

“ OPTIMIZACIÓN DE LAS CONDICIONES DE EXTRACCIÓN ASISTIDA POR ULTRASONIDO DE
ANTOCIANINAS, COMPUESTOS FENÓLICOS Y ANTIOXIDANTES A PARTIR DE LA RAÍZ DE
AJOTILLO (*Geranium sessiliflorum Cav.*) ”

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

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

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

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

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

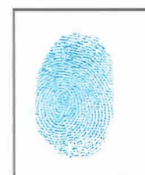
Autorizo que los Contenidos sean puestos a disposición del público a través de la siguiente licencia:

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

En señal de conformidad, suscribo el presente documento.

Puno 16 de abril del 2024

FIRMA (obligatoria)



Huella



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



FORMATO N° 01

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

En mérito a la evaluación y dictamen del borrador de tesis, **OPTIMIZACIÓN DE LAS CONDICIONES DE EXTRACCION ASISTIDA POR ULTRASONIDO DE ANTOCIANINAS, COMPUESTOS FENOLICOS Y ANTIOXIDANTES A PARTIR DE LA RAIZ DE AJOTILLO (*Geranium sessiliflorum Cav.*)**, con código PILAR N° 2021 – 625 presentado por el bachiller **ADELMA LUDEMI CONDORI CACERES**, el jurado revisor lo declara:


APTO (X)

Por tanto, esta expedito para la sustentación presencial y defensa de la tesis. Determinando que dicho acto académico se lleve a cabo el día **8 de mayo del 2024** a las **8:00 horas**. Por lo que solicitamos a usted, se efectuó los tramites y la publicación correspondiente para la realización de acuerdo a lo reglamentado.


En Puno (C.U.), a los 16 días del mes de abril del 2024


Ing. EDGAR GALLEGOS ROJAS
Presidente


M. Sc. CESAR PAUL LAQUI VILCA
Primer miembro


M.Sc. JUAN QUISPE CCAMA
Segundo miembro


Dr. ALEJANDRO COLOMA PAXI
Director o asesor de Tesis


ADELMA LUDEMI CONDORI CACERES
Tesisista

PROVEÍDO DE LA UNIDAD DE INVESTIGACIÓN

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

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

Puno C.U. 16 de abril del 2024


Dr. ULISES ALVARADO MAMANI
Sub-Director de la Unidad de Investigación-EPIAI