ESCUELA POLITÉCNICA NACIONAL

FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA Y AGROINDUSTRIA

ANÁLISIS DE LA RECUPERACIÓN DE COMPUESTOS BIOACTIVOS A PARTIR DE SUBPRODUCTOS DE FRUTILLA (*Fragaria vesca*)

TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR PRESENTADO COMO REQUISITO PARA LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE INGENIERA AGROINDUSTRIAL

GABRIELA ALEJANDRA MOREIRA TOSCANO

gabriela.moreira@epn.edu.ec

DIRECTOR: JENNY ÁVILA

jenny.avila@epn.edu.ec

DMQ, febrero 2022

CERTIFICACIONES

Yo, Gabriela Moreira declaro que el trabajo de integración curricular aquí descrito es de mi autoría; que no ha sido previamente presentado para ningún grado o calificación profesional; y, que he consultado las referencias bibliográficas que se incluyen en este documento.

Gabriela Moreira

GABRIELA MOREIRA

Certifico que el presente trabajo de integración curricular fue desarrollado por Gabriela Moreira, bajo mi supervisión.

ING. JENNY ÁVILA V. M.Sc.
DIRECTOR

DECLARACIÓN DE AUTORÍA

A través de la presente declaración, afirmamos que el trabajo de integración curricular aquí descrito, así como el producto resultante del mismo, son públicos y estarán a disposición de la comunidad a través del repositorio institucional de la Escuela Politécnica Nacional; sin embargo, la titularidad de los derechos patrimoniales nos corresponde a los autores que hemos contribuido en el desarrollo del presente trabajo; observando para el efecto las disposiciones establecidas por el órgano competente en propiedad intelectual, la normativa interna y demás normas.

GABRIELA MOREIRA

ING. JENNY ÁVILA V. M.Sc.

DEDICATORIA

Dedico este trabajo a mi ángel en el cielo, mi madre, quien a pesar de no estar físicamente conmigo me ha acompañado en cada paso de mi vida.

A mi mami aquí en la tierra, quien siempre confío en mí y me sostuvo en mis peores momentos.

A mi padre, quien siempre creyó en mi capacidad de lograr cualquier cosa.

A mis hermanos, quienes me apoyaron durante todo este camino.

A mis amigos y futuros colegas, quienes fueron una parte importante de esta etapa de mi vida, sin ellos la vida universitaria no hubiera sido la misma.

Y a mis profesores, por todos los conocimientos impartidos a lo largo de la carrera.

AGRADECIMIENTO

Primero quiero dar gracias a Dios por permitirme cumplir una de mis grandes metas, convertirme en ingeniera. Gracias a mis padres por tenerme tanta paciencia y comprensión durante toda esta etapa de mi vida, a mis hermanos, mi familia y un profundo agradecimiento a mi tía Vero quien fue parte importante para que pueda lograrlo. Gracias a mis amigos de la universidad por los momentos compartidos dentro y fuera de las aulas; y a mi mejor amiga por siempre creer en que puedo lograr lo que me proponga. Gracias a Daniel por sostenerme y darme ánimos durante la elaboración de este trabajo.

Gracias Inge Jenny por la paciencia y su buena predisposición para que este proyecto salga de la mejor manera.

Gracias a todos.

AUSPICIO

El siguiente trabajo de integración curricular contó con el auspicio del Proyecto PIS 19-09: “Evaluación de métodos de extracción no convencionales para la obtención de compuestos bioactivos a partir de subproductos de piña (*Ananas comosus*), taxo (*Passiflora tripartita*), mora (*Rubus glaucus*) y frutilla (*Fragaria vesca*)”, de la Escuela Politécnica Nacional (EPN).

ÍNDICE DE CONTENIDO

1. INTRODUCCIÓN 1
2. METODOLOGÍA 2
2.1 Análisis proximal 3
2.2 Determinación del contenido fenólico total 3
2.3 Determinación del contenido de antocianinas 3
2.4 Determinación de elagitaninos 3
2.5 Métodos de extracción de antocianinas 3
2.5.1 Extracción soxhlet 3
2.5.2 Extracción por maceración 3
2.5.3 Método de extracción por fluidos supercríticos (SFE) 4
2.5.4 Extracción por ultrasonido (EUA) 4
2.6 Extracción de elagitaninos 4
2.6.1 Hidrólisis química 4
2.6.2 Extracción asistida por ultrasonido (EUA) 4
2.6.3 Extracción por maceración enzimática 4
2.7 Análisis estadístico 5
2.8 Posibles aplicaciones 5
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN 5
3.1 Análisis proximal 5
3.2 Contenido de polifenoles en pulpa y semilla de fresa 5
3.3 Métodos de extracción 8
3.3.1 Extracción de antocianinas 8
3.3.2 Extracción de elagitaninos 9
3.4 Posibles aplicaciones 10
3.4.1 Antocianinas 10
3.4.2 Elagitaninos 11
4. CONCLUSIONES 12
REFERENCIAS 12
ANEXOS 17

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Composición proximal de frutilla 5

Tabla 2. Contenido de vitaminas y minerales de frutilla 5

Tabla 3. Contenido de compuestos fenólicos de pulpa de frutilla 6

Tabla 4. Contenido de flavonoides, antocianinas y capacidad antioxidante en pulpa de frutilla.....6

Tabla 5. Contenido de compuestos fenólicos de aquenios de frutilla 6

Tabla 6. Contenido de flavonoides, antocianinas y capacidad antioxidante en aquenios de frutilla 7

Tabla 7. Contenido de elagitaninos en pulpa y aquenios de frutilla 7

Tabla 8. Contenido total de antocianinas de diferentes métodos de extracción 8

Tabla 9. Contenido total de elagitaninos por diferentes métodos de extracción 9

Análisis de la Recuperación de Compuestos de Interés a Partir de Subproductos de Frutilla (*Fragaria vesca)*

Moreira Toscano Gabriela[1];

[1]*Escuela Politécnica Nacional, Facultad de Ingeniería Química y Agroindustria, Quito, Ecuador*

Resumen: En el procesamiento de la frutilla (*Fragaria vesca*) se generan subproductos agrícolas compuestos principalmente por aquenios que contienen ácidos orgánicos, azúcares, proteínas, y polifenoles; por lo que se ha generado gran interés para revalorizar estos subproductos. El presente trabajo tuvo como objetivo analizar los compuestos bioactivos mediante la revisión de datos bibliográficos de la caracterización fisicoquímica de subproductos de frutilla. Además, analizar los métodos de extracción convencionales y alternativos de los compuestos de interés y sus posibles aplicaciones. La frutilla es una fruta rica vitamina C (58 mg/100 g pf) y potasio (190 mg/100 g pf). Se determinó que los aquenios contienen de 2 a 5 veces más polifenoles que lo que contiene la pulpa, dentro de los cuales sobresalen las antocianinas y los elagitaninos. Luego de analizar los resultados del rendimiento de estos compuestos fenólicos mediante métodos de extracción convencionales y emergentes, se determinó que se puede obtener 203 mg/l de antocianinas cuando se realiza EUA, 60 % más de lo obtenido por el método tradicional de maceración. Por otro lado, los mayores rendimientos de elagitaninos se obtienen mediante maceración enzimática (183 mg AE/100 g pf), 54 % más de lo que se obtiene mediante EUA con acetona. Los compuestos de interés tienen propiedades antioxidantes por lo que pueden ser utilizados para alargar la vida de los alimentos y disminuir la proliferación de microorganismos patógenos, los elagitaninos pueden ser utilizados en la industria cosmética debido a sus propiedades despigmentantes.

Palabras clave: frutilla, elagitaninos, antocianinas, métodos emergentes, métodos alternativos de extracción

Analysis of the Recovery of Bioactive Compounds from Strawberry By-Products (*Fragaria vesca)*

Abstract: Strawberry (*Fragaria vesca*) processing generates agricultural by-products composed mainly of achenes that contain sugars, organic acids, proteins, and phenolic compounds; therefore, there has been great interest in revalorizing these by-products. The objective of this work was to analyze the bioactive compounds by reviewing bibliographic data on the physicochemical characterization of strawberry by-products. In addition, to analyze the conventional and alternative methods of extraction of the compounds of interest and their possible applications. Strawberry is a fruit rich in vitamin C (58 mg/100 g pf) and potassium (190 mg/100 g pf). The achenes were found to contain 2 to 5 time more polyphenols than the pulp, among which anthocyanins and ellagitannins stand out. After analyzing the results of the yield of these phenolic compounds by conventional and emerging extraction methods, it was determined that 203 mg/l of anthocyanins can be obtained when EUA is performed, 60 % more than that obtained by the traditional maceration method. On the other hand, the highest yields of ellagitannins are obtained by enzymatic maceration (183 mg AE/100 g pf), 54 % more than that obtained by EUA with acetone. The compounds of interest have antioxidant properties so they can used to extend the life of food and decrease the proliferation of pathogenic can be used in the cosmetic industry due to their depigmenting properties.

Keywords: strawberry, ellagitannins, anthocyanins, emerging extraction methods, alternative extraction methods

1. INTRODUCCIÓN

La frutilla silvestre (*Fragaria vesca*) es una fruta no climatérica que pertenece a la familia de las Rosáceas (Caruso et al., 2011). Es apreciada por su calidad nutricional por la presencia de azúcares solubles, ácidos orgánicos, aminoácidos, vitaminas y metabolitos secundarios como los polifenoles (Zhang et al., 2011).

En la industria alimenticia la frutilla es consumida como fruta fresca y utilizada para la elaboración de jugos, mermeladas, frutas en almíbar, entre otros, además a lo largo de los años en la medicina tradicional se ha utilizado debido a sus propiedades diuréticas y antidiarreicas en el tratamiento de enfermedades intestinales (Días et al., 2016).

Es una fruta conocida por su buen sabor y contenido de nutrientes que presentan grandes beneficios a la salud por sus propiedades antioxidantes, antimutagénicas y anticancerígenas (Meyers et al., 2003). La frutilla es un alimento importante a nivel mundial con una producción de 8 000 000 TM/año donde destacan países de Sudamérica como Brasil, Argentina y Chile (Villamil, 2021). En Ecuador se produce principalmente en la región sierra abarcando el 75 %

gabriela.moreira@epn.edu.ec

de la producción nacional con 400 ha sembradas (Fabara, 2011). En el año 2007 alcanzó una producción de 360 000 TM y para el año 2010 la superficie plantada incrementó entre 20 y 30 %, de ésta producción el 60 % se destinó para consumo nacional y el 40 % para exportación como fruta fresca (Tustón, 2012).

Esta fruta contiene componentes importantes de la dieta que incluyen vitaminas, minerales, folato, fibra y β-caroteno, además es una fuente rica en compuestos fitoquímicos, como los polifenoles entre los que destacan ácidos fenólicos, taninos, antocianinas, flavonoides y elagitaninos (Najda et al., 2014).

Cuando la frutilla es procesada para elaboración de jugos o purés, se generan grandes cantidades de subproductos que se han utilizado a lo largo de los años como alimento para el ganado o se han desechado al relleno sanitario. Estos residuos, al contener en mayor proporción aquenios, pueden ser una fuente importante de compuestos nutracéuticos (Canales et al., 2006). Según Aaby et al. (2005) la composición fenólica de la pulpa de frutilla difiere de la que se presenta en los aquenios, donde estos contienen hasta 10 veces más actividad antioxidante y cantidad de compuestos fenólicos, predominando derivados del ácido elágico.

Los compuestos fenólicos son antioxidantes que ayudan a reducir el estrés oxidativo al neutralizar la producción excesiva de especies reactivas de oxígeno (ROS), las cuales se relacionan con la presencia de ciertas enfermedades neurodegenerativas, cáncer y diabetes tipo 2 (Ariza et al., 2016). Estos compuestos se clasifican en flavonoides (antocianinas, flavonoles, flavanoles), taninos hidrolizables (elagitaninos) y ácidos fenólicos (Giampieri et al., 2012).

Las antocianinas pertenecen al grupo de los flavonoides (Wong, 2022), que presentan dos anillos aromáticos unidos por una cadena de 3 carbonos y las variaciones estructurales de uno de los anillos da como resultado 6 antocianinas conocidas como: pelargonidina (naranja), cianidina (naranja-rojo), delfinidina (azul-rojo), peonidina (naranja-rojo), petunidina (azul-rojo) y malvidina (azul-rojo) (Garzón, 2008). Estos compuestos se encuentran en las plantas, principalmente en flores, frutos y tubérculos y presentan grandes beneficios a la salud por sus efectos antioxidantes (Wong, 2022).

Los elagitaninos representan aproximadamente la mitad de todos los compuestos fenólicos presentes en las frutillas, son taninos hidrolizables que se encuentran en estas frutas de forma libre, glicosilada o formando complejos generalmente con azúcares como la glucosa (Clifford y Scalbert, 2000). Son polifenoles constituidos por una o varias unidades de ácido hexahidroxidifénico (HHDP), estos compuestos se hidrolizan mediante adición de ácidos o enzimas, donde liberan unidades de HHDP y glucosa (Olivas et al., 2014) y posteriormente mediante lactonización se forman moléculas de ácido elágico (Clifford y Scalbert, 2000).

Dada la importancia de estos compuestos debido a sus propiedades antioxidantes se han buscado alternativas para aislarlos, tanto de la fruta como de los subproductos (Shahbaz et al., 2016). Los métodos convencionales de extracción de polifenoles como son soxhlet y maceración se han utilizado ampliamente debido a su facilidad, eficiencia y aplicabilidad, están basados en la utilización de solventes convencionales como alcoholes, mezclados a menudo con agua en diferentes proporciones, y el uso de calor o agitación (Ameer et al., 2017).

El método soxhlet es la referencia para analizar el desempeño de las extracciones sólido – líquido, sin embargo, el problema que presenta este tipo de metodología al igual que la maceración, es el elevado tiempo de residencia y las altas cantidades de solventes que se necesita (Cavalcanti y Meireles, 2012); además, la posible presencia de residuos tóxicos (solventes) en el producto final, que requiere un proceso de purificación adicional, lo que lo hace un proceso más largo y con costos adicionales (Stalikas, 2007)

Con las desventajas que presentan los métodos tradicionales se han generado investigaciones donde se evalúan técnicas económicas y ecológicamente más rentables extraer estos compuestos. Las técnicas alternativas de extracción para la recuperación de compuestos de interés son: extracción con fluidos supercríticos (SFE), extracción asistida por ultrasonido (EUA), extracción asistida por microondas (MAE), extracción de líquido presurizado (PLE), extracción con agua caliente a presión (PHWE) y maceración enzimática, específicamente para recuperación de elagitaninos (Ameer et al., 2017).

Las antocianinas son compuestos importantes para mejorar las propiedades sensoriales de los alimentos y por los beneficios que ofrecen a la salud humana (De Pascual y Sánchez, 2008). Se utilizan en la industria de colorantes alimenticios y en alimentos de acidez media que garantiza la presencia del catión flavilio, además, los extractos ricos en antocianinas pueden mejorar la capacidad visual, poseen actividad antioxidante y actúan como agentes quimio protectores (Abdel y Hucl, 2003).

Los elagitatinos se caracterizan por sus efectos antiinflamatorios, inhibición de cepas de microorganismos, reducción de úlceras gástricas (Sangiovanni et al., 2013) y sobre todo por sus fuertes propiedades antioxidantes, lo que se atribuye a la gran cantidad de grupos hidroxilo presentes en su estructura (Kahkonen et al., 2012).

El presente trabajo tuvo como objetivo analizar los compuestos de interés mediante la revisión de la caracterización fisicoquímica de los subproductos agroindustriales de la frutilla (*Fragaria vesca*). Además, analizar los métodos convencionales y alternativos de extracción de los compuestos de interés y sus posibles aplicaciones.

2. METODOLOGÍA

Para el análisis y comparación de la composición de la frutilla y sus subproductos se investigaron datos sobre el análisis proximal, contenido de compuestos fenólicos y actividad antioxidante, para definir los compuestos de interés.

2.1 Análisis proximal

Se analizaron los datos de determinación de humedad, proteína, grasa, cenizas, carbohidratos y fibra encontrados en referencias bibliográficas, los cuales se realizan empleando los métodos de la AOAC (AOAC, 1984 y 2005). En los ensayos realizados por Días et al. (2016), Guevara et al. (1998), Latimer (2012) y Cazar (2016) utilizan muestran liofilizadas de pulpa y semillas de frutilla de acuerdo con las siguientes metodologías:

- Contenido de humedad: método AOAC 984.25.
- Contenido de proteína cruda (N x 6.25): método Kjeldahl mediante AOAC 991.02
- Contenido de grasa: método AOAC 989.05.
- Contenido de cenizas: método AOAC 935.42.
- Contenido de carbohidratos: método AOAC 935.42
- Contenido de fibra dietética: métodos AOAC 993.19 y 991.42.

Con los valores reportados en bibliografía sobre el análisis proximal se determinó si los subproductos de frutilla son una fuente significativa de compuestos como: proteína, fibra, vitaminas y minerales.

2.2 Determinación del contenido fenólico total

Se analizaron los datos reportados por Dewanto et al. (2002) para la determinación del contenido fenólico total con el método colorimétrico de Folin-Ciocalteu, basado en la reacción que se produce entre los compuestos fenólicos de frutas y vegetales con este reactivo a pH básico, que da como resultado una coloración azul que se determina por medio de espectrofotometría a 765 nm. Se analizó este método colorimétrico y las cantidades de extracto y reactivo empleados, según los criterios de los ensayos de cada autor. Los datos se reportan en mg equivalentes de ácido gálico (GAE)/100 g de peso fresco (pf) (Aaby et al., 2005; Cheel et al., 2007; Grzelak et al., 2017; Rios et al., 2014; Meyers et al., 2003).

Con los datos de los valores de compuestos fenólicos reportados por estos autores, se analizaron a los subproductos de frutilla como fuente de estos compuestos, además se compararon entre sí los valores obtenidos y las posibles diferencias ocurridas debido a variaciones en la metodología empleada por cada autor. Se realizó una comparación entre la capacidad antioxidante de los subproductos de frutilla y otras fuentes, para determinar si tiene importancia como una fuente antioxidante.

2.3 Determinación del contenido de antocianinas

Se analizaron los datos de la determinación del contenido de antocianinas, propuesta por Aaby et al. (2005) y Meyers et al. (2003) mediante el método diferencial de pH propuesta por Aaby et al. (2005) y Meyers et al. (2003). La metodología para el análisis consiste en que los extractos se diluyen en dos soluciones tampón: la primera de KCl a una concentración 0,025 M y pH 1, y la segunda de $C_2H_3NaO_2$ a una concentración de 0,4 M y pH 4,5 (Aaby et al., 2005). La absorbancia varía de acuerdo con la información recopilada entre 476 – 700 nm. El contenido de antocianinas se calcula utilizando la absortividad molar y el peso molecular para pelargonidin-3-glucósido o cianidina-3-glucósido y los resultados se reportan como mg/100 g peso fresco (pf) de aquenios o pulpa (Aaby et al., 2005; Meyers et al., 2003; Cheel et al., 2007).

Los valores de la determinación de antocianinas en los subproductos de frutilla fueron comparados con la pulpa de esta fruta y con otros del género *Fragaria* y se analizaron los diferentes datos para identificar sí estos subproductos son fuente de antocianinas

2.4 Determinación de elagitaninos

Se analizó la determinación del contenido de elagitaninos propuesta por Vrhovsek et al. (2012) que se realiza mediante cromatografía líquida (Análisis HPLC). Para el análisis de esta metodología se realiza una purificación del extracto para eliminar antocianinas y luego un aislamiento cromatográfico de agrimoniin y se lee la absorbancia a 260 nm.

En los valores reportados de la determinación de elagitaninos en subproductos de frutilla se analizaron las variaciones para determinar si son fuente de interés de estos compuestos.

2.5 Métodos de extracción de antocianinas

2.5.1 Extracción soxhlet

Para la determinación de extracción de antocianinas se analizó la extracción soxhlet, que es un método continuo que se basa en utilizar muestras trituradas y/o liofilizadas en un cartucho de papel filtro y el solvente se adiciona a un balón. El solvente se lleva a ebullición con la finalidad de que entre en contacto con la muestra y se produzca el sifoneo, el cual se repite varias veces hasta que la muestra queda agotada y el extracto se concentra en el balón, indicado por Núñez (2008). Se analizaron los datos de contenido de antocianinas con la metodología desarrollado por Gutiérrez (2019), quien realiza la determinación del contenido de estos compuestos utilizando extracción soxhlet con 5 sifoneos por cada muestra, 60 ml de etanol o metanol y 10 g de muestra. La identificación de antocianinas se realiza mediante ensayo ácido – base y la cuantificación a través de espectrofotometría UV con una absorbancia de 254 y 365 nm.

2.5.2 Extracción por maceración

Se analizó el proceso de maceración propuesto por Brglez et al. (2016), el cual extrae los compuestos de interés al sumergir la muestra en un solvente líquido durante un determinado tiempo. También se analizó la determinación del contenido de antocianinas mediante extracción por maceración propuesta por Ávila et al. (2010), donde utilizan muestras liofilizadas de pulpa de frutilla incluyendo semillas. En un matraz Erlenmeyer de 250 ml se colocan 10 g de muestra, 60 ml de metanol (adicionando ácido clorhídrico al 0,1 % v/v). En este ensayo la muestra se deja a 5 °C durante 24 h, luego se filtra con un embudo Buchner. El filtrado entra a un proceso de secado a 65 °C en un evaporador rotatorio hasta obtener un peso constante.

2.5.3 Método de extracción por fluidos supercríticos (SFE)

Se analizó la SFE, que utiliza como solventes fluidos supercríticos (SC), los cuales tienen características tanto de líquidos como de gases por encima de sus presiones y temperaturas críticas, lo que beneficia la transferencia de masa de solutos durante la extracción (Ameer, 2017). Se analizó la determinación de antocianinas mediante SFE propuesta por Ávila et al. (2010), la cual utiliza dióxido de carbono (CO_2) como fluido supercrítico y las condiciones de trabajo son: presión de 100 y 200 bares, y temperaturas de 40, 50 y 60 °C.

En esta metodología se colocan 50 g de la muestra seca en una celda de extracción en una cámara de acondicionamiento la cual está conectada a una tubería. El CO_2 se comprime por medio de una bomba de alta presión y pasa a la celda hasta alcanzar la presión deseada. La temperatura se alcanza mediante 2 fuentes de calor propios de la celda. Al mantener temperatura y presión constantes, el CO_2 entra en contacto con la muestra por un tiempo de 24 h, transcurrido este tiempo, el extracto de frutilla es arrastrado por medio del CO_2 y recolectado en una celda de recuperación mientras que el CO_2 se libera por medio de una válvula micrométrica (Ávila et al., 2010).

Tanto en extracción por maceración como por SFE, la cantidad de antocianinas totales se determina mediante el método diferencial de pH y la absorbancia se mide en un espectrofotómetro a 496 y 700 nm. Para el cálculo del contenido total de antocianinas se toma en cuenta el valor de absortividad molar y peso molecular para la pelargonidin-3-glucósido de 15 600 L/cm*mol y 433 g/mol respectivamente (Ávila et al., 2010).

2.5.4 Extracción asistida por ultrasonido (EUA)

Se analizó la metodología que realiza la extracción en un baño termostático, donde se sumerge el matraz que contiene la solución (muestra y solvente). Se analizó la determinación del contenido de antocianinas por EUA propuesta por Kajdzanoska et al. (2011), donde se reporta datos para frutilla con pulpa con aquenios (peso fresco). La metodología para el análisis consiste en utilizar mezclas de solventes con metanol o acetona en combinación con ácido acético o fórmico. Se usan 5 g de muestra con 10 ml de solvente, la solución se sonica durante 15 min y se centrifuga. Los sobrenadantes se concentran en un rotavapor a temperatura de 37 °C. La identificación de antocianinas se realiza mediante HPLC a una absorbancia de 520 nm y la cuantificación de esta mediante espectrofotómetro de masas.

Con los datos recopilados sobre el rendimiento de los diferentes métodos de extracción de antocianinas se elaboró una tabla para comparar los datos cuantitativa y cualitativamente; se analizaron el efecto de los solventes utilizados y los parámetros de operación de cada método de extracción que pudieron tener efecto sobre el rendimiento de antocianinas.

2.6 Extracción de elagitaninos

2.6.1 Hidrólisis química

Se analizó la determinación del contenido de elagitaninos mediante hidrólisis química, propuesta por Márquez et al. (2020), que se realiza mediante el uso de ácido sulfúrico (H_2SO_4, 2N) como solvente. La metodología para el análisis consiste en mezclar 10 mg de muestra con 1 ml de solución de H_2SO_4, se calienta a 70 °C durante 30 h para que se produzca la hidrólisis de los taninos hidrolizables. Transcurrido este tiempo, las muestras se filtran y a cada una de ellas se les adiciona 9 ml de piridina para lograr una dilución de 1:10. De cada muestra se toma una alícuota de 1 ml y se mezcla con 1,1 ml de piridina, la mezcla se coloca en un tubo de ensayo en baño de hielo por 5 min adicionando 0,1 ml de HCl, transcurrido este tipo los tubos se incuban en baño María por 5 min a temperatura de 30 °C y después se le agrega 0,1 ml de nitrato de sodio 1 % (p/v) y se registra la lectura de absorbancia a 538 nm en un espectrofotómetro.

2.6.2 Extracción asistida por ultrasonido (EUA)

Para el análisis de la determinación de elagitaninos por EUA se tomaron los datos reportados por Milczarek et al. (2020) quienes realizan la extracción en pulpa de frutilla con semillas. La extracción se realiza variando los siguientes parámetros: concentración de acetona (40, 60 y 80 %), variación de temperatura (20, 35 y 50 °C) y tiempo en el ultrasonido (5, 10 y 15 min) manteniendo constante la potencia de 125 W con la finalidad de determinar las mejores condiciones de extracción. Se usa 2 g de muestra y el análisis cuantitativo de elagitaninos se realiza mediante HPLC.

2.6.3 Extracción por maceración enzimática

La maceración enzimática es una metodología que se utiliza para lograr una desorganización de tejidos vegetales y conseguir células independientes de forma intacta. El proceso se divide en dos partes, primero el uso de enzimas para degradar la lámina media de tejidos, y segundo la agitación, que por medio de las fuerzas de corte o cizalla puede separar el material cementante de las células (Sainz, 2008).

Se analizó la determinación de elagitaninos propuesta por Milczarek et al. (2021), que se realiza mediante maceración enzimática. La metodología para el análisis consiste en incubar la pulpa con aquenios durante 1 h a temperatura de 45 °C con enzima pectinolítica a una dosis de 0,2 ml/Kg (actividad enzimática de la enzima de 1 906 U/ml). Durante el proceso de maceración se agita constantemente la muestra cada 10 min. La extracción se lleva a cabo usando como solvente acetona al 60 % con ácido fórmico al 0,1 % en proporción 1:5 y se agita a 150 rpm durante 6 h a temperatura ambiente (25 °C).

La identificación de los elagitaninos se realiza mediante cromatografía líquida usando como fases móviles: ácido fórmico 1 % y acetonitrilo en agua 80:20. Y la cuantificación se realiza mediante cromatografía de alta eficacia, donde tiene acoplado un espectrofotómetro que mide la absorbancia a 250 nm (Milczarek et al., 2021).

Con los datos recopilados sobre el rendimiento de los diferentes métodos de extracción de elagitaninos se elaboró una tabla para comparar los datos cuantitativa y cualitativamente; se analizaron el efecto de los solventes utilizados y los parámetros de operación de cada método de extracción que pudieron tener efecto sobre el rendimiento de elagitaninos.

2.7 Análisis estadístico

Con la información recolectada y aquellos datos que presentaban desviación estándar se procesaron estadísticamente mediante ANOVA con 95 % de confianza, mediante el Software Statatgraphics Centurion XVI.

2.8 Posibles aplicaciones

A través de la identificación de los compuestos de interés determinados en los objetivos anteriores, las antocianinas y elagitaninos presentes en subproductos de frutilla, se realizó una revisión bibliográfica para analizar las posibles aplicaciones de estos compuestos de interés en las diversas industrias con base en sus propiedades.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Análisis proximal

En la Tabla 1 se muestran los valores de la composición proximal de la frutilla, considerando pulpa y semillas, reportada por diferentes autores. Los valores están reportados para cada 100 g en fruta fresca (ff).

Tabla 1. Composición proximal de frutilla

Humedad (%)	Proteína (%)	Grasa (%)	Carbohidratos (%)	Fibra (%)	Cenizas (%)	Referencia
88	0,7	0,5	7	2,2	-	Cazar, 2016
91,59	1,02	0,23	5,72			Guevara et al., 1998
81,72 ± 0,01	0,51 ± 0,01	0,61 ± 0,01	10,42 ± 0,23	5,78 ± 0,21	0,04 ± 0,01	Dias et al., 2016

No se han encontrado datos completos de la composición proximal solo para la semilla. Aguirre et al. (2019) determinó que los subproductos de esta fruta como sépalo, aquenios y partes del pedúnculo tienen un contenido de humedad aproximado de 88 % y Grzelak et al. (2017) indicó que presentan un contenido de sólidos solubles de 10 - 12 °Brix.

Como se muestra en el Tabla 1, este fruto es una fuente importante de agua y carbohidratos. Los carbohidratos de esta fruta son principalmente azúcares como sacarosa, fructosa y glucosa, y en menor proporción xilosa, arabinosa y manosa (Vázquez et al., 2020). El valor reportado por Guevara et al. (1998) de carbohidratos de 5,75 % es la mitad del reportado por Días et al. (2016) de 10,42 % el cual es más parecido al contenido de carbohidratos que se han reportado para otras bayas como arándanos, frambuesas y moras, que presentan 14,49 %, 11,94 % y 9,61 %, respectivamente (Bustamante, 2021).

El contenido de humedad varía de 81 – 92 %, Guevara et al. (1996) reporta el valor más alto de humedad de 91,59 % el cual es 10 % más alto del que reporta Dias et al. (2016) de 81,72 %. El contenido de agua permite que reacciones químicas y enzimáticas se lleven a cabo e interviene en la frescura para dar la calidad final del producto (Castro, 2011).

Con respecto al contenido proteico, para diferentes autores (Cazar et al., 2016; Días et al., 2016 y Guevara et al., 1998) este varía de 0,51 – 1,02 %, el valor más alto de 1,02 % (Guevara et al., 1998) es el doble del que se reporta en los ensayos de Días et al. (2016) de 0,51 %, la mayor parte de proteínas está representada por enzimas que intervienen en el proceso de maduración (Gil, 2010).

A continuación, en la Tabla 2 se presenta el contenido de vitaminas y minerales presentes en la frutilla.

Tabla 2. Contenido de vitaminas y minerales de frutilla

Vitaminas		Minerales		Referencia
A	3 ug	Ca	25 mg	Ulloa et al., 2007
	8 mg			Días et al., 2016
Carotenos totales	20 ug	Fe	0,8 mg	Ulloa et al., 2007
E	0.2 mg	P	26 mg	Ulloa et al., 2007
B1	0,02 mg	Mg	12 mg	Ulloa et al., 2007
	0,02 mg			Días et al., 2016
B2	0,04 mg	Zn	0,26 mg	Ulloa et al., 2007
	0,06 mg			Días et al., 2016
Niacina	0,6 mg	Na	2 mg	Ulloa et al., 2007
C	60 mg	K	190 mg	Ulloa et al., 2007
	58.8 mg			Días et al., 2016

Las principales vitaminas que aporta esta fruta son: A, E, B1, B2 y C. La vitamina C (ácido ascórbico) es esencial para el desarrollo del organismo y mejora la absorción de minerales como el hierro en los alimentos. La frutilla aporta con un contenido de vitamina C de 58,8 - 60 mg/100 g de porción comestible reportado por Ulloa et al. (2007) y Días et al. (2016), contenido muy parecido o incluso mayor en algunos casos al que aportan los cítricos como la naranja con 75 mg/100 g pf (Hill, 2018).

Según Aguirre et al. (2019) la frutilla aporta con un total de 207,55 mg/100 g pf de minerales y como se indica en la Tabla 2, la frutilla es una importante fuente de potasio (190 mg/100 g ff), que mejora la contracción de los músculos y del corazón (Días et al., 2016).

3.2 Contenido de polifenoles en pulpa y semilla de frutilla

En la Tabla 3 se indican los valores de polifenoles totales expresados en miligramos equivalentes de ácido gálico (GAE)/100 g ff para la pulpa de frutilla con la información recabada.

Tabla 3. Contenido de compuestos fenólicos de pulpa de frutilla

Polifenoles (mg GAE/100 g ff)	Referencia
341 ± 5[a]	Aaby et al., 2005
268,1	Cheel et al., 2007
257,1 ± 2,4[b]	Klopotek et al., 2005
273	Meyers et al., 2003

* Letras minúsculas pequeñas indican diferencia estadística entre columnas.

La pulpa de frutilla es una fuente importante de polifenoles con actividades antioxidantes y anti proliferativas (Halvorsen et al., 2002). Se analizó la relación estadística que guardan estos datos mediante un análisis ANOVA y se determinó que existe diferencia significativa entre los datos de contenido de polifenoles reportados por Aaby et al. (2005) y Klopotek et al. (2005) (Anexos: Ficha técnica I).

La diferencia radica principalmente en el método de obtención del compuesto de interés. Aaby et al. (2005) utilizan extracción asistida por ultrasonido (10 min, 70 % acetona), la cual es una metodología más rápida que los métodos tradicionales debido a que la superficie de contacto entre la fase sólida y líquida aumenta, además, la cavitación acústica permite que se produzca la ruptura de las paredes celulares, aumentando la transferencia de masa para que el solvente penetre en el tejido vegetal (Da Porto et al., 2013). Por el contrario, Klopotek et al. (2005) reportan datos del contenido de polifenoles utilizando maceración, el cual es un proceso más largo, que utiliza mayor cantidad de solventes y obtiene rendimientos de extracción menores a los obtenidos con métodos alternativos como EUA (González et al., 2014).

Cheel et al. (2007), aseguran que *Fragaria vesca* contiene los valores más altos de polifenoles (268,1 mg GAE/100 g pf) en comparación con otras variedades de frutilla como *Fragaria chiloensis* y *Fragaria ananassa*, en las cuales se reporta un valor de 106,3 mg GAE/100 g ff con casi la mitad del contenido de compuestos fenólicos reportado para *F. vesca*. Para Grzelak et al. (2017) los elagitaninos y flavonoides representan el 52 y 35 % respectivamente, del contenido de polifenoles en esta fruta.

En la Tabla 4, se presentan los valores para antocianinas, flavonoides y actividad antioxidante de la pulpa de frutilla.

Tabla 5. Contenido de flavonoides, antocianinas y capacidad antioxidante en pulpa de frutilla

Flavonoides	Antocianinas	Actividad Antioxidante	Referencia
-	60,1 mg pelargonidina-3-glucósido/100 g ff	24,8 µmol ET/100 g pf	Aaby et al., 2005
189 mg equivalentes quercetina/100 g pf	15,7 mg cianidina-3-glucósido/100 g ff	-	Cheel et al., 2007
70,5 mg equivalentes catequina/100 g pf	41,4 mg cianidina-3-glucósido/100 g ff	36,7 µmol ET/100 pf	Meyers et al., 2003

Las antocianinas han sido ampliamente estudiadas e identificadas como glucósidos de pelargonidina y cianindina, determinando a pelargonidina-3-glucósido como el compuesto dominante (Aaby et al., 2005). Sin embargo, autores como Cheel et al. (2007) y Meyers et al. (2003) reportan los datos de sus análisis como equivalentes de cianidina-3-glucósido, al ser un componente importante de las antocianinas presentes en la frutilla. La diferencia entre estos datos puede deberse a que en los estudios realizados por Meyers et al. (2003) se analiza pulpa de frutilla con aquenios, por lo que la cantidad de antocianinas recuperadas aumenta en más del doble de la reportada por Cheel et al. (2007).

Cheel et al. (2007) realizaron una comparación del contenido de compuestos fenólicos, antocianinas y actividad antioxidante en diferentes variedades de frutilla: *Fragaria vesca, Fragaria ananassa* y *Fragaria chiloensis ssp. chiloensis*, y determinaron que *F. annanassa* posee el mayor contenido de antocianinas (30,6 mg cianidina-3-glucósido/100 g ff), seguida de *F. vesca* (15,7 mg cianidina-3-glucósido/100 g ff) con casi la mitad del contenido de compuestos fenólicos y por último la *F. chiloensisi ssp. chiloensis* (2,3 mg cianidina-3-glucósido/100 g pf) con un valor 7 veces menor al que posee la frutilla silvestre (*F. vesca*). Sin embargo, Dzhanfezova et al. (2020) comparó a *F. vesca* con 18 cultivares de *F. annanassa* y determinó que la frutilla silvestre posee mayor contenido de cianidina-3-glucósido en comparación con 17 de los cultivares analizados, esto posiblemente debido a los antecedentes genéticos y condiciones de crecimiento de estos cultivares.

Del procesamiento de la frutilla se eliminan los subproductos, constituidos principalmente por aquenios, que no son aprovechados, pero pueden contener compuestos de interés (Ayala et al., 2011 y Aaby et al., 2005).

En la Tabla 5 se indican los valores de polifenoles totales expresados en mg ácido gálico equivalente (GAE) para semillas o aquenios de frutilla en peso fresco.

Tabla 5. Contenido de compuestos fenólicos de aquenios de frutilla

Polifenoles (mg GAE/100 g pf)	Referencia
3 907 ± 544	Aaby et al., 2005
1 950	Cheel et al., 2007
1 747	Grzelak et al., 2017

Como se puede observar, el contenido de polifenoles reportado para aquenios de frutilla alcanza hasta 5 veces más que solo la pulpa. Las semillas representan el 1 % del peso de la fruta, pero contienen hasta 11 % de los compuestos fenólicos totales (Grzelak et al., 2017). La semilla alberga una importante cantidad de compuestos bioactivos que no son aprovechados en el procesamiento de la fruta, sino que se convierten en un residuo con un alto potencial nutracéutico (Aaby et al., 2005).

Con los datos del ensayo realizado por Aaby et al. (2005) donde determinaron el contenido de compuestos fenólicos en aquenios liofilizados (3907 ± 18 GAE/100 g ff) y en aquenios aislados de puré de frutillas (1 429 ± 46 GAE/100 g ff) se realizó el análisis ANOVA, y se determinó que existe diferencia estadísticamente significativa entre el contenido de polifenoles de las muestras analizadas; presentan una diferencia de 2 478 mg GAE/100 g ff (Anexos: Ficha técnica II). La cantidad reducida del compuesto de interés en aquenios aislados de puré puede deberse a la lixiviación de compuestos fenólicos solubles en agua durante el enjuague para poder

aislarlos del puré (Aaby et al., 2005), los polifenoles solubles son libres, glicosilados y esterificados, y se encuentran en la superficie de las frutas y vegetales, perdiéndose con facilidad en el proceso (Cabrera et al., 2009).

En la Tabla 6, se presentan los valores para antocianinas, flavonoides y actividad antioxidante de los aquenios de frutilla.

Tabla 6. Contenido de flavonoides, antocianinas y actividad antioxidante en aquenios de frutilla

Flavonoides	Antocianinas	Actividad Antioxidante	Referencia
-	67,5 ± 9,7 mg pelargonidin-3-glucósido/100 g pf	474 ± 66 µmol ET/100 g pf	Aaby et al., 2015
564,2 mg equivalentes quercitina/100 g pf	98 mg cianidina-3-glucósido/100 g pf	-	Cheel et al., 2007
588 mg equivalentes quercitina/100 g pf	15,2 mg cianidina-3-glucósido/100 g pf	-	Grzelak et al., 2017

El valor más alto de antocianinas es el reportado por Cheel et al. (2007) quienes indican que los aquenios contienen 98 mg cianidina-3-glucósido/100 g pf y el valor más bajo es reportado por Grzelak et al. (2017) de 15,2 mg cianidina-3-glucósido/100 g pf. El valor reportado por Cheel et al. (2007) puede deberse a la utilización de metanol para la recuperación del compuesto de interés. Kajdznoska et al. (2011) determinó que la extracción de antocianinas se ve beneficiada al utilizar metanol como solvente en comparación con la acetona, solvente usado en los estudios realizados por Grzelak et al. (2017). Otra diferencia entre estos resultados podría deberse a la presencia de tálamo en la muestra analizada. El tálamo es un subproducto del procesamiento de frutilla con un alto contenido de compuestos bioactivos, presenta 15 mg equivalentes cianidina-3-glucósido por cada 100 g de pf (Cheel et al., 2007).

Los principales flavonoides presentes en la frutilla son glucósidos de quercitina, kaempferol y catequina (Wang et al., 2002). Los aquenios contienen hasta 5 veces más contenido de flavonoides (Cheel et al., 2007) en comparación con los valores reportados para pulpa de 70,5 mg equivalentes catequina/100 g pf (Meyers et al., 2003) y 189 mg equivalentes quercitina/100 g pf (Cheel et al., 2007). La catequina y la quercitina son pigmentos que se encuentran principalmente en la zona aérea de la planta, son indispensables para el desarrollo fisiológico de las frutas y vegetales; además participan en la vía de expresión de fenilalanina amonio liasa y chalcona sintasa, enzimas que participan en el proceso de pigmentación de vegetales (Quiñones et al., 2012).

La actividad antioxidante que presentan las frutillas se debe principalmente en su contenido de elagitaninos, se reportan valores de 474 ± 66 µmol ET/100 g pf para los aquenios y 21,3 µmol ET/100 pf para la pulpa (Tabla 4) (Aaby et al., 2005 y Meyers et al., 2003). Los elagitaninos se encuentran principalmente en los subproductos de la frutilla como aquenios y tálamo, y en menor proporción en la pulpa (Clifford y Scalbert, 2000). Los aquenios contribuyen alrededor del 14 % de actividad antioxidante en esta fruta (Aaby et al., 2005) Además, se han encontrado valores de capacidad antioxidante de pulpa de frutilla de la variedad Earliglow de 134,1 µmol ET/100 g pf al analizar pulpa con presencia de aquenios en los estudios realizados por Meyers et al. (2003), lo que podría contribuir a que la actividad antioxidante aumente hasta 5 veces en comparación a 24,8 µmol ET/100 pf reportado por Aaby et al. (2005).

En los estudios realizados por Vasco et al. (2009) sobre la composición de los compuestos fenólicos en diferentes frutas de la familia de las rosáceas, determinaron que la frutilla tenía la menor actividad antioxidante en comparación con mora andina, cereza capulí y ciruela, debido a las diferencias en su composición fenólica. La familia de las rosáceas está formada por especies que muestran niveles altos e intermedios de actividad antioxidante donde la mora andina presentó la mayor actividad con 41 ± 6 µmol Trolox/100 g pf, mientras que la frutilla se encuentra dentro del grupo de actividad antioxidante intermedia con valores de 11 ± 3 µmol Trolox/100 pf (Vasco et al., 2008).

En la Tabla 7 se presentan los valores de elagitaninos de la pulpa y semillas de frutilla.

Tabla 7. Contenido de elagitaninos en pulpa y aquenios de frutilla

Pulpa + aquenios	Semilla	Referencia
148,01 ± 25,19 mg/100 g pf	-	Márquez et al., 2020
-	942 mg/100 g pf	Grzelak et al., 2017
-	833 ± 162,9 mg/100 g pf	Aaby et al., 2005

Los elagitaninos son taninos hidrolizables presentes en frutas y verduras que poseen 52 % del contenido fenólico de la frutilla, los valores reportados de estos compuestos varían dependiendo del método de extracción, del origen del desecho y de las condiciones climáticas de la zona (Grzelak et al., 2017). Según Kahkonen et al. (2001) y Vasco et al. (2009) el grupo más grande de compuestos fenólicos en los géneros *Fragaria* (frutilla) y *Rubus* (mora y zarzamora) son los elagitaninos seguidos de antocianinas.

En esta fruta los elagitaninos se encuentran principalmente en forma de agrimoniin (Vrhovsek et al., 2012), así también lo reportaron Aaby et al. (2005) al analizar los tipos de elagitaninos presentes en diferentes cultivares de frutilla, donde determinaron por medio de sus espectros UV que en la mayoría de los cultivares se presentaron 6 tipos de elagitaninos, el digaloil-tetraHHDP-diglucosa (agrimoniin) como más abundante, seguido de galoil-diHHDP-glucosa.

En la Tabla 7, se muestran los valores reportados para los aquenios, los cuales son hasta 5 veces mayores (Grzelak et al., 2017 y Aaby et. al, 2005) a los que se reportan para pulpa con aquenios de 148,01 ± 25,19 mg/100 g pf (Márquez et al., 2020). En estudios realizados por Milczarec et al. (2020) se analizó el contenido de ácido elágico libre en jugos y purés de frutilla, donde determinaron que el contenido en puré llegaba a ser hasta tres veces mayor que el analizado en jugos. Oszmianski y Wojdylo (2009) también observaron una concentración casi 5 veces mayor de ácido elágico en puré en comparación con jugo sin clarificar, esto pudo ser el resultado

de la desintegración mecánica de los aquenios durante el proceso de molienda, que liberó mayor contenido de ácido elágico (Aaby et al., 2012). Zafrilla et al. (2001) reportaron un aumento de más del doble en la concentración de ácido elágico libre de 10 a 25 mg/kg pf, después de transformar las frambuesas en mermelada y se observó el mismo comportamiento en los estudios realizados por Milczarec et al. (2020) donde el contenido de ácido elágico libre aumentó en un 350 % cuando se analizó mermelada de fresa (pulpa y aquenios) en comparación con la fruta fresca.

Márquez et al. (2020) analizaron el contenido de elagitaninos en diferentes estados de madurez de frutillas, y obtuvieron un mayor contenido de ET en fruta inmadura (226 mg/100 g pf) en comparación con el estado maduro (128,8 mg/100 g pf), esto posiblemente se debe a que algunas plantas acumulan taninos (elagitaninos) para proteger las partes vulnerables contra el ataque de microorganismos, así también Márquez et al. (2019) mencionó que cuando los frutos se encuentran en los primeros estados de madurez poseen un mayor contenido de taninos, los cuales se reducen durante el proceso de maduración.

3.3 Métodos de extracción

3.3.1 Extracción de antocianinas

En la Tabla 8 se muestran los resultados del contenido de antocianinas de diferentes métodos de extracción. El mayor contenido de antocianinas se obtiene cuando se realiza EUA seguida de extracción soxhlet y por último SFE, mientras que, el método que obtiene menores rendimientos del compuesto de interés es la maceración. Estos tres últimos métodos de extracción, en general reportan datos menores al valor más bajo reportado por el método de extracción alternativo EUA (124,3 ± 4,1[e] mg/l). Se presentan como excepción los resultados alcanzados por Gutiérrez (2019) que emplea el método soxhlet con metanol (65 °C, 5 h) y por Ávila (2010) con el método de extracción por fluido super crítico (200 bar, 60 °C) donde ambos reportan 125,74 mg/l, que podrían encontrarse en el mismo grupo estadístico del menor valor reportado por EUA.

El método que obtiene mayores resultados del contenido de antocianinas es EUA al trabajar con metanol puro como solvente de extracción, permitiendo extraer 12 % más del compuesto de interés en comparación a lo que se obtiene cuando se utiliza acetona como solvente (Kajdznoska et al., 2011). En este estudio se analizó el rendimiento del proceso de extracción al utilizar 4 mezclas de solventes: metanol – ácido acético, metanol – ácido fórmico, acetona – ácido acético y acetona – ácido fórmico, y se determinó que la adición de ácido acético en la extracción permite obtener 20 % más del contenido de antocianinas al utilizarlo con metanol, en el caso de la acetona se obtiene 12 % más cuando se trabaja con ácido fórmico.

Según Nielsen et al. (2003) en el proceso de extracción se necesitan medios ácidos para mantener las antocianinas en su forma de catión flavilio estable (color rojo). El uso de solventes ácidos más suaves como el ácido fórmico o ácido acético, se ha vuelto popular en la extracción de estos compuestos reemplazando al ácido clorhídrico que puede llegar a alterar la forma nativa de las antocianinas al causar hidrólisis y descomposición de éstas cuando los extractos son concentrados por evaporación rotatoria (Jackman y smith, 1996).

Tabla 8. Contenido total de antocianinas de diferentes métodos de extracción

Método de extracción	Parámetros de extracción	Contenido de antocianinas (mg/l)	Referencia
Maceración	Metanol, 25 °C, 24 h	75,78	Ávila, 2010
Soxhlet	Etanol, 72 °C, 4 h	118,66	Gutiérrez, 2019
	Metanol, 65 °C, 5 h	125,74	
Extracción con fluido supercrítico	150 bar, 40 °C	108,02	Ávila, 2010
	150 bar, 50 °C	110,21	
	150 bar, 60 °C	117,74	
	200 bar, 40 °C	108,37	
	200 bar, 50 °C	114,78	
	200 bar, 60 °C	125,74	
Extracción asistida por ultrasonido	Acetona, 15 min y 37 °C	177,6 ± 1,1[b]	Kajdznoska et al., 2011
	Acetona – ácido acético (99:1 v/v), 15 min y 37 °C	171,4 ± 3,0[c]	
	Acetona – ácido fórmico (99:1 v/v), 15 min y 37 °C	151,9 ± 3,9[d]	
	Metanol, 15 min y 37 °C	200,3 ± 1,5[a]	
	Metanol – ácido acético (99:1 v/v), 15 min y 37 °C	156,2 ± 3,5[d]	
	Metanol – ácido fórmico (95:5 v/v), 15 min y 37 °C	124,3 ± 4,1[e]	

* Letras minúsculas pequeñas indican diferencia estadística entre columnas.

Dentro del análisis de las variables de entrada del método EUA para antocianinas, reportados por Kajdznoska et al. (2011) se determinó que el método que emplea únicamente metanol como solvente, es significativamente mayor que los que tienen mezclas con este solvente o solo acetona (Anexos: Ficha técnica III). Si bien Naczk y Shahidi (2004) recomiendan la mezcla de metanol con ácidos para la extracción de antocianinas, los mayores rendimientos se obtienen al utilizar metanol puro como se demostró en los ensayos realizados por Kajdznoska et al. (2011).

De acuerdo con el estudio de Gutiérrez (2019) para la extracción soxhlet se obtiene el mayor rendimiento del proceso cuando se trabaja con metanol debido a su polaridad en comparación con la del etanol, ya que, según Martínez et al. (2020) la polaridad del solvente interviene en el incremento de la solubilidad de los polifenoles, permitiendo la migración de estos compuestos desde la matriz al solvente, lo que permite mejorar el rendimiento del proceso de extracción. Además, en

estudios realizados por Castañeda et al. (2009) en extracciones de polifenoles en pulpa de uva se comprobó que la extracción con metanol resultó ser 20 % más eficiente que con etanol, y 73 % más eficiente que con agua.

La EUA presenta mayores rendimientos y rápida tasa de extracción de componentes termolábiles al trabajar en rangos de temperaturas de 35 – 40 °C durante el procesamiento (Vilkhu et al., 2008), lo que no ocurre en el proceso soxhlet ya que al momento de eliminar el solvente las temperaturas aumentan hasta 80 °C y se produce la degradación de antocianinas (Ameer et al., 2017).

Con la metodología soxhlet propuesta por Gutiérrez (2019) se obtuvo 37 % menos contenido del compuesto de interés en comparación a lo que se obtiene por EUA, principalmente debido al proceso de eliminación del solvente, donde puede existir degradación de antocianinas, ya que, Capuzzo et al. (2013) ha demostrado que estos compuestos sufren degradación a temperaturas sobre los 60 °C.

La extracción con fluidos supercríticos reporta un contenido de antocianinas 27 % menos de lo que se obtiene al EUA. En los ensayos realizados por Ávila et al. (2010) se obtiene el mayor contenido de antocianinas (114,78 mg/l) al trabajar a presión de 200 bar y 60 °C de temperatura. Esto puede ser debido a que la temperatura es inversamente proporcional a la densidad del solvente; al incrementar la temperatura, la densidad disminuye y a su vez el vapor aumenta la presión del soluto. Mientras que, al aumentar la presión, la distancia entre las moléculas se acorta y permite una mejor interacción entre las moléculas del soluto y del solvente, beneficiando el proceso de extracción (Marszalek et al., 2017).

SFE con dióxido de carbono reporta bajos rendimientos debido a la baja polaridad que presenta este compuesto al ser un solvente de naturaleza no polar (Herrero et al., 2010). Para superar estas limitaciones se suelen realizar modificaciones al agregar otros compuestos junto con el CO_2 como acetona, metanol, etanol para así mejorar la solubilidad y las tasas de recuperación de los compuestos fenólicos (Pereira y Meireles, 2009). Además, se debe tomar en cuenta que es un proceso costoso al necesitar una infraestructura compuesta por bombas de CO_2 y recipientes a presión (Ameer et al., 2017).

La maceración es un proceso largo que tarda 20 h más que la extracción soxhlet y 24 horas más que el EUA, además de ser un proceso largo requiere de una etapa adicional a la extracción para eliminar el solvente mediante evaporación donde las antocianinas pueden llegar a degradarse (Ameer et al., 2017). En el ensayo realizado por Ávila (2010) la eliminación del solvente se realizó a 65 °C y como ya se mencionó anteriormente en los ensayos realizados por Capuzzo et al. (2013) las antocianinas sufren degradación a temperaturas elevadas. En el método por maceración se obtiene 75,78 mg/l de antocianinas, es decir, 60 % menos del obtenido por EUA, según Brglez et al. (2016), los métodos convencionales como maceración son conocidos por su baja eficiencia y potencial peligro ambiental debido a la gran cantidad de solventes orgánicos usados.

El método alternativo como la EUA permite recuperar hasta 60 % más del contenido de antocianinas (Kajdznoska et al., 2011), en comparación con un método tradicional como la maceración. Además, es un proceso corto con una duración de varios minutos (5 – 15 min), mientras que, la maceración tarda 24 h para obtener el compuesto de interés, lo que ocasiona que se vuelva un proceso ineficiente (Ávila, 2010).

3.3.2 Extracción de elagitaninos

En la Tabla 9, se muestra el contenido de elagitaninos reportados de los diferentes métodos de extracción, los valores están expresados como mg ácido elágico (AE)/100 g pf.

Tabla 9. Contenido total de elagitaninos por diferentes métodos de extracción

Método de extracción	Parámetros de extracción	ET (mg AE/100 g peso fresco)	Referencia
Extracción por hidrólisis química	H_2SO_4, 2N, 70 °C, 30 h	148,01 ± 24,68[b]	Márquez et al., 2020
Extracción por maceración enzimática	Acetona 60 % + Ácido fórmico 0,1 % (1:5), enzima pectinolítica, 6 h, 25 °C, 150 rpm	183 ± 1,7[a]	Milczarek et al., 2021
Extracción asistida por ultrasonido	Acetona 40 %, 15 min, 35 °C, 125 W	90,1 ± 2,0[e]	Milczarek et al., 2020
	Acetona 80 %, 10 min, 20 °C, 125 W	122,9 ± 4,6[c]	
	Acetona 60 %, 15 min, 20 °C, 125 W	109,6 ± 5,7[d]	
	Acetona 60 %, 10 min, 35 °C, 125 W	85,7 ± 6,2[f]	

* Letras minúsculas pequeñas indican diferencia estadística entre columnas.

El mayor rendimiento de elagitaninos se obtiene por el método de extracción por maceración enzimática. Esta metodología se basa en el uso de enzimas pectinolíticas y una solución acetona (60 %): ácido fórmico (1 %) (Milczarek et al., 2021), por lo que los mayores resultados de este proceso pueden estar relacionados a la actividad de la enzima y al solvente. Salminen (2003) y Klimczak et al. (2010) determinaron que el solvente más efectivo para la extracción de elagitaninos es la acetona, y la concentración de este solvente entre 60 – 80 % permite obtener rendimientos mucho mayores de elagitaninos (Milczarek et al., 2020). Además, la adición de ácido fórmico al solvente de extracción mejora el proceso, ya que, Sójka et al. (2018) demostró que estos compuestos son mucho más estables a valores de pH ácido entre 2 y 4.

Márquez et al. (2019) propusieron la recuperación de elagitaninos de frutillas mediante hidrólisis enzimática utilizando 3 tipos de enzimas: tanasa, β-glucosidasa y elagitanasa, enzimas provenientes de microorganismos del género *Aspergillus*. Mingshu et al. (2006) determinó que la tanasa es la enzima que permite obtener una mayor recuperación de elagitaninos para la familia de las Rosáceas.

En un estudio realizado por Galarza (2017) se analizó la influencia del uso de diferentes enzimas (tanasa y proteasa) en la extracción de ácido elágico en frambuesa, guayaba y mora, y se determinó que la mora presenta una mejor interacción con

la tanasa, logrando que aumente el contenido del compuesto de interés recuperado. La tanasa es una enzima hidrolítica de enlaces ésteres que tiene la capacidad de actuar sobre diferentes taninos como galotaninos, elagitaninos y taninos complejos, su actividad óptima se encuentra entre 20 y 40 °C (Battestin y Macedo, 2007), lo que evitaría la degradación de estos compuestos de interés al trabajar a temperaturas menores de 60 – 80 °C, ya que como indica Sójka, et al. (2018) los elagitaninos se degradan con mucha facilidad a estas temperaturas.

La extracción por hidrólisis química es el método convencional para la determinación del contenido de elagitaninos en material vegetal. En los ensayos realizados por Márquez et al. (2020) se obtiene 148,01 ± 24,68 mg AE/100 pf de elagitaninos al trabajar con ácido sulfúrico durante 30 h a 70 °C. Con esta metodología se obtiene 20 % menos de elagitaninos en comparación al obtenido mediante maceración enzimática; además, el tiempo empleado para el proceso de hidrólisis química es 5 veces mayor que el utilizado en la maceración enzimática.

En un estudio realizado por Ascacio et al. (2013) determinaron el rendimiento de elagitaninos en plantas del semidesierto mexicano por hidrólisis química utilizando ácido sulfúrico 2 N y ácido clorhídrico metanólico, se observó que cuando se trabajaba con ácido clorhídrico metanólico se obtenían rendimientos mayores debido a que este agente hidrolizante es más fuerte que el H_2SO_4, lo que permite una liberación mayor de ácido elágico.

El proceso de extracción que obtiene menores resultados de elagitaninos fue la EUA cuando se usa acetona (60 %) como solvente y temperatura de 35 °C. Se obtiene 54 % menos contenido de elagitaninos que con el método de extracción por maceración enzimática. Esto puede deberse a que un aumento de temperatura sobre los 25 °C favorece la degradación de fracciones fenólicas y grupos hidroxilo en ciertos grupos polifenólicos (Akowuah et al., 2009); mientras que, cuando se utiliza EUA con 60 y 80 % de acetona a temperatura de 20 °C los resultados aumentan significativamente a valores de 109,6 ± 5,7 y 122,9 ± 4,6 mg/100 g de pf, respectivamente.

Según Chirinos et al. (2007) al utilizar concentraciones de acetona, por debajo de 60 % se adiciona mayor cantidad de agua, lo que afecta la capacidad de extracción de polifenoles y disminuye la eficiencia del proceso; una mayor proporción de agua beneficia la extracción de compuestos como azúcares o proteínas y no de compuestos fenólicos. Da Silva et al. (2008) en sus ensayos utilizaron 2 solventes a diferentes concentraciones con la finalidad de determinar el mejor solvente para la extracción de ácido elágico en frutilla. Utilizaron acetona al 80 % y 3 concentraciones de metanol (70, 80 y 100 %) y demostraron que al utilizar acetona a esta concentración la extracción se ve beneficiada obteniendo el valor más alto de ácido elágico (48,3 mg/100 g de pf), mientras que, al usar metanol puro la eficiencia de la extracción disminuye (19,3 mg/100 g de pf).

En el ensayo realizado por Da Silva et al. (2008) se demostró que aumentar el tiempo de extracción no contribuye a un aislamiento más eficiente de los polifenoles, según Mane et al. (2007) reducir el tiempo de sonicación reduce el riesgo de degradación de taninos. El proceso EUA contribuye a aumentar el área de contacto del tejido vegetal con el solvente extractor, debido a la formación de burbujas dentro de las células vegetales, la cavitación generada produce un aumento tanto de la temperatura como de la presión (Japon et al., 2006).

Tanto la hidrólisis química como la maceración enzimática permiten obtener altos resultados del contenido de elagitaninos, sin embargo, la principal diferencia radica en el tiempo de extracción de cada método. La hidrólisis química propuesto por Márquez et al. (2020), requiere de 30 horas de extracción, que es un tiempo 5 veces mayor al empleado por Milczarek et al. (2021) al realizar la maceración enzimática. Además, por el método convencional (hidrólisis química) se pueden degradar los elagitaninos por las temperaturas empleadas (Sójka, et al., 2018), mientras que el método alternativo emplea temperatura ambiental (25 °C).

3.4 Posibles aplicaciones

3.4.1 Antocianinas

Las antocianinas son un grupo de pigmentos naturales hidrosolubles, que abarca colores desde el rojo hasta el azul, de una gran variedad de vegetales, cereales y frutas (Garzón, 2008). El interés por los pigmentos de antocianinas ha aumentado en los últimos años debido a su color intenso, pero también a su posibilidad de reducir enfermedades coronarias, cáncer de colon, células cancerígenas gástricas, y diabetes; también debido a sus efectos antiinflamatorios principalmente de prostaglandina EG_2, mejoramiento de la agudeza visual y del comportamiento cognitivo mejorando las funciones neuronales (Cevallos y Cisneros, 2004).

El color que presenten estos compuestos depende tanto del número como de la orientación de los grupos hidroxilo y metoxilo de la molécula, cuando existe una mayor cantidad de hidroxilación se presentan tonalidades azules y cuando los incrementos son metoxilaciones las tonalidades que se presentan son de color rojo (Garzón, 2008). El pH interviene en la estructura y estabilidad de las antocianinas, cuando el pH es menor a 2, estos compuestos se encuentran en su forma más estable como ión oxonio o catión flavilio (AH^+) con su color rojo intenso debido a que la acidez tiene efecto protector sobre la molécula, también pueden ser incoloras e inestables al incrementar el valor de pH presentando su forma chalcona o hemicetal, y son de color violeta cuando el pH es ≥ 7 en sus formas quinoidales que se degradan fácilmente por la oxidación con el aire (Garzón, 2008 y Hutchings, 1999).

De acuerdo con Ochoa y Ayala (2004) estos compuestos son utilizados en la industria alimenticia como colorantes de jugos de frutas, vinos y otras bebidas con la finalidad de mejorar la apariencia y también por los beneficios para la salud humana.

En el año 2018 las antocianinas fueron responsables del 9,5 % de los ingresos en la industria alimenticia y se espera que sigan siendo componentes claves en la fabricación de colorantes alimenticios naturales (Iorizzo et al., 2020). Estos pigmentos biodegradables, libres de toxinas y de carcinógenos, han demostrado tener propiedades antitrombóticas, antioxidantes y la capacidad de disminuir el colesterol (Garzón, 2008). Brown (2007) demostró que las antocianinas en la forma de cianidin-

3-glucósido tienen efecto antioxidante sobre la oxidación del colesterol bueno (LDL) inducida por el Cu II.

En una encuesta realizada a consumidores de jugos de frutas, se determinó que 8 de cada 10 personas prefieren ver en la etiqueta del producto "extracto de frutas", en lugar de colorante sintético (Iorizzo et al., 2020). Sin embargo, es importante tomar en cuenta que estos compuestos son inestables a cambios de pH, altas temperaturas y luz, pero su rendimiento puede mejorar mediante una copigmentación, la cual consiste en la adición de antoxantinas, glucósidos de flavonoides, que son compuestos más estables (Ochoa y Ayala, 2004).

En la industria alimenticia es cada vez más común la adición de antioxidantes para prolongar el tiempo de vida de los alimentos (Ochoa y Ayala, 2004). En estudios realizados por Muraleedharan y Nair (2002) demostraron que el uso de antocianinas logró una inhibición del 93,5 al 100 % en comparación con antioxidantes sintéticos como BHT (94,3 %), TBC (90 %) y BHA (87,1 %), Además, estos autores realizaron estudios en carne molida para con tejidos de cereza y en los resultados se logró una disminución de la peroxidación lipídica, inhibición de la formación de aminas aromáticas heterocíclicas y la oxidación del colesterol durante la fritura (Muraleedharan y Nair, 2002).

En estudios realizados en ratas de laboratorio por Shukitt et al. (2005) demostraron que el comportamiento cognitivo y las funciones neuronales mejoraron mediante suplemento nutricional con extractos de arándanos y frutillas. Además, Ohgami et al. (2005) determinaron que la inflamación disminuye y la agudeza visual se beneficia cuando se administra extractos de frutas con alto contenido de antocianinas por vía oral a ratas con deficiencia ocular.

De acuerdo con los estudios realizados por Kajdazanoska et al. (2011) se determinó que la extracción asistida por ultrasonido utilizando metanol como solvente permite obtener los mejores resultados en la obtención de antocianinas, sin embargo, para utilizarse en la industria alimenticia deben concentrarse en un rotavapor. Así pueden ser utilizados como colorantes naturales o por su efecto antioxidante para alargar el tiempo de vida de los alimentos (Ochoa y Ayala, 2004).

3.4.2 Elagitaninos

Los elagitaninos son compuestos de gran importancia, y en la actualidad se ha ampliado su estudio debido a sus propiedades como anti mutagénico, antiviral, acción contra el cáncer, antitumoral, antioxidante, antiinflamatorio, antibacteriano, antiaterosclerosis, antihiperglucémico, antihipertensivo, efectos antifibrosis y cardioprotectores (Santos et al, 2013 y Stoner y Gupta, 2001). El ácido elágico posee actividad nociva contra los radicales libres, responsables de la oxidación que promueve el envejecimiento de las células del organismo y representan un riesgo en la formación de diferentes formas de cáncer (Martens-Talcott et al., 2003).

El ácido elágico debido a sus propiedades es utilizado para la elaboración de suplementos alimenticios y bebidas nutracéuticas (Márquez et al., 2019). Además, es de gran importancia en la conservación de diferentes alimentos perecederos, ya que, tiene la capacidad de inhibir el crecimiento de microorganismos patógenos (Saucedo et al., 2009). Este compuesto se ha utilizado para la elaboración de películas comestibles para aguacate, manzanas y bananas con la finalidad de mantener su calidad fisicoquímica y microbiológica (Saucedo, 2007), protege contra la luz ultravioleta, ataques de insectos y microorganismos patógenos (Vasconcellos, 1994).
Las películas comestibles usando un potente agente nutracéutico como el ácido elágico como aditivo antipardeamiento en frutas, mostró mejores resultados en el aspecto interno y externo, así como también en la reducción de la pérdida de peso y la firmeza de aguacates, en comparación con otros frutos con recubrimientos sin el principio activo y más aun de frutos sin la aplicación del film (Saucedo et al., 2009). Saucedo et al. (2007) demostró que recubrimientos comestibles elaborados con cera de candelilla y ácido elágico mejoraron el color y la textura de rodajas frescas de manzana, banana y aguacates. Así también, Ruíz (2002) demostró las ventajas de la adición de antioxidantes sobre la inhibición del dorado de rodajas de piña fresca y determinó que utilizar antioxidantes combinados con diferentes tecnologías como atmósferas modificadas y controladas, películas comestibles, radiaciones gamma y pulsos eléctricos, permite inhibir el pardeamiento de este fruto.

El ácido elágico es capaz de actuar contra patógenos como *Staphylococcus aureus* y 18 cepas patógenas de este microorganismo a concentraciones mínimas inhibitorias de 61,5 µg/ml (Akiyama et al., 2001 y Machado et al., 2002). Además, este compuesto es capaz de inhibir el desarrollo de microrganismos indeseables como *Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis y Geotrichum candidum* (Klewicka et al., 2016), ha reducido en un 84 % el crecimiento de estos agentes patógenos en los frutos con las películas estudiadas (Saucedo et al., 2009).

El ácido elágico también es utilizado en la industria farmacéutica (Santos et al, 2013 y Stoner y Gupta, 2001). Este componente reacciona con el carcinogénico benzo[a]pireno-7,8-diol-9,10-epoxido (BPDE), donde se comporta como un quimioprotector contra diferentes tipos de cáncer causados por compuestos aromáticos policíclicos (PAHs) mediante la inhibición de mutación de células sanas (Huetz et al., 2005). Además, se ha probado como agente farmacéutico mediante administración vía oral para el tratamiento de tumores de vejiga en ratones (Kellof at al., 1994). El ácido elágico a concentraciones de 1 - 100 µg/l presenta fuerte actividad antiproliferativa ante células cancerígenas de próstata, pulmón y colon (Losso et al., 2004).

Se ha comprobado la capacidad del ácido elágico en la inhibición de la replicación del VIH (Márquez et al., 2019). En estudios realizados por Ruibal et al. (2003) demostraron una reducción del 5 al 30 % de la replicación del VIH mediante la administración vía oral de elagitaninos extraídos de *Phyllanthus amarus* con concentraciones inhibitorias de 0,48 a 2,65 µg/ml.

El ácido elágico es ampliamente utilizado en la industria cosmética como agente despigmentante para la elaboración de diferentes productos como perfumes, maquillaje, cremas, corrector de ojeras, agua de tocador, entre otros al presentar un

efecto aclarador en la piel (Przewloka y Shearer, 2002), debido a la acción inhibidora de este compuesto en la enzima tirosina cinasa que es responsable de la formación de melanina, la cual cuando se produce de manera excesiva causa hiperpigmentación como melasmas, pecas, efélidos y léntigos solares (Ortiz et al., 2015).

Se determinó que los mejores rendimientos de elagitaninos se obtienen cuando se realiza extracción con maceración enzimática con acetona (Milczareck et al., 2021). Se analizó el efecto inhibitorio de este compuesto sobre las células de carcinoma hepatocelular HepG2 y también se determinó que los elagitaninos pueden ser utilizados como aditivos alimentarios para inhibir el crecimiento de microorganismos patógenos, o para fortificar alimentos en la producción de suplementos dietéticos (Márquez et al., 2019). Se probó un extracto de frutilla con acetona como solvente para estudiar la inhibición de *Staphylococcus aureus* y se determinó que la inhibición lograda fue mucho mayor que la que ofrecen ciertos antibióticos como penicilina, cefalotina, dicloxcina y ampicilina (Márquez et al., 2020).

4. CONCLUSIONES

Las semillas (aquenios) de frutilla son subproductos que tienen una fuente importante de polifenoles con valores por encima de 1 000 mg de GAE/100 g pf, siendo hasta 3 veces mayor en comparación con los valores que se han reportado para la pulpa de esta fruta.

Las antocianinas y los elagitaninos son los compuestos fenólicos más importantes que posee esta fruta con valores mucho más altos en semilla en comparación con los reportados para la pulpa.

La frutilla es una fruta rica de vitaminas y minerales, predominando vitamina C (58 mg/100 g pf) y potasio (190 mg/100 g pf).

El proceso de extracción por ultrasonido usando metanol como solvente permite obtener mejores rendimientos del contenido de antocianinas de 200 mg/l en comparación con métodos convencionales como maceración y extracción Soxhlet.

La extracción por maceración enzimática usando acetona como solvente y enzimas pectinolíticas es el método que permite obtener la concentración más alta de elagitaninos de 183 mg AE/100 g pf en comparación con otros métodos como ultrasonido e hidrólisis química.

Las antocianinas son utilizadas en la industria alimenticia principalmente como colorantes naturales al no ser nocivas para la salud y también como antioxidantes con la finalidad de prolongar la de vida de los alimentos.

Los elagitaninos tienen aplicaciones en la industria alimenticia debido a su capacidad antioxidante, en la industria farmacéutica por su acción contra el cáncer y antitumoral, y en la industria cosmética al permitir un efecto aclarador en la piel.

REFERENCIAS

Aaby, K., Mazur, S., Nes, A., y Skrede, G. (2012). Phenolic compounds in strawberry (Fragaria x ananassa Duch.) fruits: Composition in 27 cultivars and changes during ripening. *Food Chemistry 132*, 86-97.

Aaby, K., Skrede, G., y Wrolstad, R. (2005). Phenolic Composition and Antioxidant Activities in Flesh and Achenes of Strawberries (Fragaria ananassa). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 4032-4040.

Abdel, E., Abou, A., Gamel, T., Hucl, P., Young, J., y Rabalski, I. Fractionation of blue wheat anthocyanin compounds and their contribution to antioxidant properties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry 56*, 11171 – 11177.

Aguirre, L., Cubillos, L., Tarazona, M., y Rodríguez, L. (2019). Efecto del tratamiento y tiempo de almacenamiento sobre los Efecto del tratamiento y tiempo de almacenamiento sobre los . *U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica*, 1-11.

Akiyama, H., Fujii, K., Yamasaki, O., Oono, T., y Iwatsuki, K. (2001). Antibacterial action of several tannins against Staphylococcus aureus. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy 48*, 487-491.

Akowuah, G., Mariam, A., y Chin, J. (2009). The effect of extraction temperature on total phenols and antioxidant activity of *Gynura procumbens* leaf. *Leaf. Pharmacognosy Magazine*, 81-85.

Ameer, K., Muhammad, H., y Kwon, J. (2017). Green Extraction Methods for Polyphenols from Plant Matrices and Their Byproducts: A Review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 1-21.

AOAC. (1984). *Official Methods of Analysis. Association of Official Analytical Chemists.* Washington.

AOAC. (2005). *Official methods of analysis of AOAC international.* Gaithersburg: AOAC International.

Ariza, M., Reboredo, P., Mazzoni, L., Forbes, T., Giampieri, F., Afrín, S., Gasparrini, M., Soria, C., Martínez, E., Battino, M., y Mezzetti, B. (2016). Strawberry Achenes Are an Important Source of Bioactive Compounds for Human Health. *Molecular Siences*, 1103-1117.

Ascacio, J., Aguilera, A., Rodríguez, R., y Aguilar, C. (2013). Análisis de ácido elágico en algunas plantas del semidesierto Mexicano. *Revista Mexicana de Ciencia Farmacológica 44*, 36-40.

Ávila, A., Cruz, J., Pérez, C., J Orozco, C. B., y Chaparro, M. (2010). *Strawberry anthocyanin extraction (Fragaria ananassa) with supercritical CO2 assisted by pulsed electric fields.* México: Universidad Autónoma del Estado de México.

Ayala, J., Vega, V., Rosas, C., Palafox, H., Villa, J., Wasim, M., Dávila, J., y González, G. (2011). Agro-industrial potencial of exotic fruit byporducts as a source of food additives. *Food Research International 44,* 1866-1874.

Battestin, V., y Macedo, G. (2007). Effects of temperature, pH and additives on the activity of tannase produced by *Paecilomyces variotti. Electronic Journal of Biotechnology 10,* 191-199.

Brglez, E., Knez, M., Skerget, M., Knez, Z., y Bren, U. (2016). Polyphenols: Extraction Methods, Antioxidative

Action, Bioavailability and Anticarcinogenic Effects. *Molecules*, 901-939.

Brown, J. (2007). Inhibition of lipid peroxidation by anthocyanins, anthocyanidins and their phenolic degradation products. *European Journal of Lipid Science and Technology 109*, 66-71.

Bustamante, C. Estudio de inhibidores enzimáticos presentes en frutilla (*Fragaria ananassa*) aplicando análisis efecto dirigido sobre cromatografía planar. Obtenido de Universidad de Concepción: http://repositorio.udec.cl/bitstream/11594/6563/1/Tesis%20Estudio%20de%20inhibidores%20enzimaticos%20presentes%20en%20frutilla%20%28Fragaria%20ananassa%29.Image.Marked.pdf (2021).

Cabrera, M., Salinas, Y., Velázauez, G., y Espinosa, E. (2009). Contenido de fenoles solubles e insolubles en las estructuras del grano de maíz y su relación con propiedades físicas. *Agrociencia 43,* 827-839.

Canales, C., Arnaiz, A., Viniegra, V., y Ayuso, M. (2006). *Guía de mejores técnicas disponibles en España del sector de los transformados vegetales.* España: Deva S.L.

Capuzzo, A., Maffei, M., y Occhipinti, A. (2013). Supercritical Fluid Extraction of Plant Flavors and Fragrances. *Molecules 18*, 7194-7238.

Caruso, G., Villari, G., Melchionna, G., y Conti, S. (2011). Effects of cultural cycles and nutrient solutions on plant growth, yield and fruit quality of alpine strawberry (Fragaria vesca L.) grown in hydroponics. *Scientia Horticulturae*, 479-485.

Castañeda, A., Pacheco, M., Páez, M., Rodríguez, J., y Galán, C. (2009). Chemical studies of anthocyanins: A review. *Food Chemistry 113*, 859-871.

Castro, K. (2011). *Tecnología de alimentos.* Bogotá: 69-73.

Cavalcanti, R., y Meireles, M. (2012). Fundamentals of Supercritical Fluid Extraction. *Elservier*, 117-133.

Cazar, I. (2016). Análisis físico-químico para la determinación de la calidad de las frutas. Quito: Pontificia Universidad Católica del Ecuador.

Cevallos, B., y Cisneros, L. (2004). Stability of Anthocyanin based Aqueous Extract of Andean Purple Corn and Red Fleshed Sweet Potato Compared to Synthetic and Natural Colorants. . *Food Chemistry 86*, 69-77.

Cheel, J., Theoduloz, C., Rodríguez, J., Caligari, P., y Schmeda, G. (2007). Free radical scavenging activity and phenolic content in achenes and thalamus from *Fragaria chiloensis* ssp. *chiloensis*, *F. vesca* and *F.* x *ananassa* cv. Chandler. *Foof Chemistry 102,* 36-44.

Chirinos, R., Roger, H., Campos, D., Pedreschi, R., y Larondelle, Y. (2007). Optimization of extraction conditions of antioxidant phenolic compounds from mashua)*Tropaeolum tuberosum* Rúiz & Pavón) tubers. *Separation Purif ication Technology 55*, 217-225.

Clifford, M., y Scalbert, A. (2000). Ellagitannins – nature, occurrence and dietary burden. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 1118-1125.

Da Porto, C., Porretto, E., y Decorti, D. (2013). Comparison of ultrasound assited extraction with conventional extraction methods of oil and polyphenols from grape ((*Vitis vinifera* L.) seed. *Ultrasonics Sonochemistry 20,* 1076-1080.

Da Silva, M., Lajolo, F., y Genovese, M. (2008). Bioactive compounds and quantification of total ellagic acid in strawberries (*Fragaria x ananassa* Duch). *Food Chemistry 107, 1629-1635.*

De Pascual, T., y Sánchez, M. (2008). Anthocyanins: from plant to health. *Phytochemical Review 7,* 281 – 299.

Dewanto, V., Wu, X., Adom, K., y Hai, R. (2002). Thermal Processing Enhances the Nutritional Value of Tomatoes by Increasing Total Antioxidant Activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 3010-3014.

Días, M., Barros, L., Morales, P., Cámara, M., Alves, M., Oliveira, B., Santos, C., y Ferreira, I. (2016). Wild Fragaria vesca L. fruits: a rich source of bioactive phytochemicals. *The Royal Society of Chemistry*, 45234532.

Dzhanfezova, T., Barba, G., Müller, R., Joernsgaard, B., Nymark, J., Madsen, B., Larsen, D., Martínez, M., y Toldam, T. (2020). Anthocyanin profile, antioxidant activity and total phenolic content of a strawberry (*Fragaria x annanasa* Duch) genetic resource collection. *Food Bioscience 36,* 100620.

Fabara, A. (11 de septiembre de 2011). La frutilla es un cultivo rentable. El Comercio. https://www.elcomercio.com/actualidad/negocios/frutilla-cultivo-rentable.html

Galarza, G. (2017). *Efecto de la acción enzimática en la hidrolización de elagitaninos e incremento de ácido elágico en mora, frambuesa y guayaba.* Honduras: Escuela Agrícola Panamericana Zamorano .

Garzón, G. (2008). Las antocianinas como colorantes naturales y compuestos biactivos: Revisión. *Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal*, 27-36.

Giampieri, F., Tulipani, S., Alvarez, J., Quiles, J., Mezzetti, B., y Barrino, M. (2012). The strawberry: Composition nutritional quality, and impact on human health. *Nutrition 28*, 9-19.

Gil, A. (2010). Tratado de nutrición: Composición y calidad nutritiva de los alimentos. *Médica Panamericana*, 168-179.

González, G., Barreiro, L., Gil, G., Charamelo, D., Balado, J., Bochicchio, R., Gatto, G., y Tessore, A. (2014). Extracción de polifenoles durante la maceración, en la vinificación en tinto clásica. *Revista Enología 4*, 1-12.

Grzelak, K., Karlinska, E., Grzeda, K., Rój, E., y Kolodziejczyk, K. (2017). Defatted strawberry seeds as a source of phenolics, dietary fiber and minerals. *Food Science and Technology*, 18-22.

Guevara, A., Rojas, T., y Araujo, J. (1998). Obtención de fresa (Fragaria Chiloensis) deshidratada por atomización y liofilizaci´n. *Rev. Per. Quím, Ing. Química*, 217-230.

Gutiérrez, J. (2019). *Extracción de antocianinas de fresa deshidratada y liofilizada.* México: Universidad autónoma del estado de México.

Halvorsen, B., Holte, K., Myhrstad, M., Barikmo, I., Hvattum, E., Remberg, S.,Wold, A., Haffner, K., Baugerod, R, Frost, L., Moskaug, J., Jacobs, D., y Blomhoff, R. (2002). A systematic screening of total antioxidants in dietary plants. *American Society for Nutritional Sciences*, 461-471.

Herrero, M., Mendiola, J., Cifuentes, A., y Ibáñez, E. (2010). Supercritical fluid extraction: recent advances and applications. *Journal of Chromatography A 1217*, 2495-2511.

Hill, C. *20 Foods That Are High in Vitamin C.* Obtenido de https://www.healthline.com/nutrition/vitamin-c-foods (5 de june de 2018)

Hutchings, J. (1999). *Food Color and Appearance.* Gaithersburg: Aspen Publishers.

Huetz, P., Mavaddat, N., y Mavri, J. (2005). Reaction between ellagic acid and an ultimate carcinogen. *Journal of Chemical Information and Modeling 45*, 1564-1570.

Iorizzo, M., Curaba, J., Pottorff, M., Ferruzzi, M., Simon, P., y Cavagnaro, P. (2020). Carrot Anthocyanins Genetics and Genomics: Status and Perspectives to Improve Its Application for the Food Colorant Industry. *Genes*, 1-36.

Jackman, R., y Smith, J. (1996). Anthocyanins and betalains. *In Natural Food Colourants*, 249-309.

Japon, R., Luque, J., y Castro, M. L. (2006). Dynamic ultrasound-assisted extraction of oleuropein and related biophenols from olive leaves. *Journal of Chromatography A 1108*, 76-82.

Kahkonen, M., Hopia, A., y Heinonen, N. (2001). Berry phenolics and their antioxidant activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry, 49*, 4076-4082.

Kahkonen, M., Kylli, P., Ollilainen, V., Salminen, J., y Heinonen, M. (2012). Antioxidant activity of isolated ellagitannins from red raspberries and cloudberries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 116 – 1174.

Kajdzanoska, M., Petreska, J., y Stefova, M. (2011). Comparison of Different Extraction Solvent Mixtures for Characterization of Phenolic Compounds in Strawberries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 5772-5278.

Kellof, G., Boone, C., Crowell, J., Steele, V., Luber, R., y Sigman, C. (1994). *Chemopreventive drug development: perspectives and progress.* . 85-98: Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 3.

Klewicka, E., Sójka M., Klewicki, R., Kolodziejczyk, K., Lipinska, L., y Nowak, A. (2016). Ellagitannins from raspberry (*Rubus idaeus L.*) fruit as natural inhibitors of *Geotrichum candidum*. *Molecules 21*: 908, 1-14.

Klimczak, E., Rozpara, E., y Król, B. (2011). Distribution of ellagitannins in juice, fesh and achenes as additional criterion for optimal utilization of strawberries. *ŻYWNOŚĆ. Nauka. Technologia. Jakość 6*, 142-154.

Klopotek, Y., Otto, K., y Bohm, V. (2005). Processing Strawberries to Different Products Alters Contents of Vitamin C, Total Phenolics, Total Anthocyanins, and Antioxidant Capacity. *Journal of Agricultural and Food Chemitry*, 5640-5646.

Latimer, G. (2012). *Official methods of analysis of AOAC international.* Gaithersburng.

Losso, J., Bawadi, H., y Truax, R. (2004). In vitro anti-proliferative activities of ellagic acid. *Journal of Nutritional Biochemistry 15*, 667-672.

Machado, T., Leal, I., Amaral, A., Santos, K., da Silva, M., y Kuster, R. (2002). Antimicrobial ellagitannin of Punica granatum fruits. . *Journal Brazilian of Chemistry Society 13*, 606-610.

Mane, C., D Olle, C. V., Veran, F., Mazeromeln, G., Cheynier, V., y Fulcrand, H. (2007). Optimisation of simultaneous flavonol, phenolic acid and anthocyjanin extractions from grapes using and experimental design: application to the characterisation of champagne grape varietes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry 55*, 7224-7233.

Márquez, A., Ayala, F., Chávez, M., Valencia, C., y Maya, R. (2020). Extract of Ellagitanins starting with Strawberries (*Fragaria sp*) and Blackberrries (*Rubus sp*.). *Food Science and Technology 40*, 430-439

Márquez, A., Chávez, M., y Hernández, J. (2019). Aspectos generales sobre los elagitaninos y su conversión a ácido elágico. *Ciencia Nicolaita 77,* 36-58.

Martens-Talcott, S., Talcott, S., y Percival, S. (2003). Low Concentrations of quercitin and ellagic acid synergistically influence proliferation, cytotoxicity and apoptosis in MOLT-4 human Leukemia Cells1-3. *Journal of Nutrition 133, 2669-1674.*

Martínez, T., Benedito, J., Watson, N., Ruiz, I., Che, G., y Carona, E. (2020). Effect of solvent composition and its interaction with ultrasonic energy on the ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from Mango peels (Mangifera indica L). *Food and Bioproducts Processing*, 41-54.

Meyers, K., Watkins, C., Pritts, M., y Hai, R. (2003). Antioxidant and Antiproliferative Activities of Strawberries . *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 6887-6892.

Milczarek, A., Sójka, M., y Klewicki, R. (2020). Selection of Conditions of Ultrasound-Assisted, Three-Step Extraction of Ellagitannins from Selected Berry Fruit of the Rosaceae Family Using the Response Surface Methodology. *Food Analytical Methods*, 1650-1665.

Milczarek, A., Sójka, M., y Klewicki, R. (2021). The Kinetics of Two-Step Ellagitannin Extraction from the By-products of Selected Processed Fruits of the family Rosaceae. *Food Analytical Methods*, 1-14.

Mingshu, L., Kai, Y., Qiang, H., y Dongying, J. (2006). Biodegradación og gallotannins and ellagitannins. *Journal of Basic Microbiology 46,* 68-84.

Muraleedharan, G., y Nair, O. (2002). *Method and compositions producing cherry derived products.* United States: Michigan State University.

Naczk, M., y Shahidi, F. (2004). Extraction and analysis of phenolics in food. *Journal of Chromatography A 1054*, 95-111.

Najda, A., Dyduch-Sieminska, M., Dyduch, J., y Gantner, M. (2014). Comparative analysis of secondary metabolites contents in Fragaria vesca L. fruits. Annals of Agricultural and Environmental Medicine, 339-343.

Nielsen, I., Haren, G., Magnussen, E., Dragsted, L., y Rasmussen, S. (2003). Quantification of anthocyanins in commercial black currant juices by simple high-performance liquid chromatography. Investigation of their pH stability and antioxidative potency. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 5861-5866.

Núñez, C. (agosto de 2008). *Extracción Soxhlet.* Obtenido de http://www.cenunez.com.ar/archivos/39-ExtraccinconequipoSoxhlet.pdf

Ochoa, C., y Ayala, A. (2004). Los Flavonoides: Apuntes Generales y suAplicación en la Industria de Alimentos. *Ingeniería y Competitividad 6*, 93-104.

Ohgami, K., Ilieva, I., Shiratori, K., Koyama, Y., Jin, X., y Yoshida, K. (2005). Anti-inflamatory effects of aronia extract on rat endotoxin-induced uveitis. *Ophthalmology & Visual Science 46*, 275-281.

Olivas, F., Wall, A., González, G., López, J., Álvarez, E., de la Rosa L., y Ramos, A. (2014). Taninos hidrolizables; bioquímica, aspectos nutricionales y analíticos y efectos en la salud. *Nutrición hospitalaria 31*, 55-56.

Ortiz, C., Berna, J., Tudela, J., Varon, R., y García, F. (2016). Action of ellagic acid on the melanin biosynthesis pathway. *Journal of Dermatological Science* , 1-8.

Oszmianski, J., y Wojdylo, A. (2009). Comparative study of phenolic content and antioxidant activity of strawberry puree, clear, and cloudy juices. *European Food Research and Technology, 228*, 623-631.

Pereira C., y Meireles M. (2009). Supercritical fluid extraction of bioactive compounds: fundamentals, applications and economic perspectives. Food Bioprocess Technol 3 (3), 340-372

Przewloka, S., y Shearer, B. (2002). The further chemistry of ellagic acid and water soluble ellagitanins as metal precipitants. . *Holzforschung 56*, 13-19.

Quiñones, M., Miguel, M., y Aleixandre, A. (2012). Los polifenoles, compuestos de origen natural con efectos saludables sobre el sistema cardiovascular. *Nutrición Hospitalaria 27,* 76-89.

Ruibal, B., Debed, M., Martínez, F., Noa, R., Vargas, G., y Santana, R. (2003). Inhibición de la replicación del virus de inmunodeficiencia humana por extractos de taninos de Pinus caribaea moret. *Revista Cubana de Farmacia 37*, 1-8.

Ruíz, S. (2002). Uso de agentes antioxidantes y envasado en atmósferas modificadas para mantener la calidad e rodajas de piña fresca. CIAD, México.

Salminen, J. (2003). Efects of sample drying and storage, and choice of extraction solvent and analysis method on the yield of birch leaf hydrolysable tannins. *Journal of Chemical Ecology 29*, 1289-1305.

Sangiovanni, E., Vrhovsek, U., Colombo, E., Brunelli, C., Brembati, L., Trivulzio, S., Gasperotti. M., Mattivi, F., Bosisio, E., y DellAngil, M. Ellagitannins from rubus berries for for the control of gastric inflammation: in vitro and in vivo studies. *Plos One 8,* 1-12.

Santos, I., Ponte, B., Boonme, P., Silva, A., y Souto, E. (2013). Nanoencapsulation of polyphenols for protective effect against colon-rectal cancer. *Biotechnology Advances 31*, 514-523.

Saucedo, S. (2007). Development of edible films from candelilla wax and antioxidants. Universidad Autónoma de Coauheila. Saltillo, México.

Saucedo, S., Rojas, R., Aguilera, A., Saens, A., Garza, H., Jasso, D., y Aguilera, C. (2009). Edible film based on candelilla wax to improve the shelf life and quality of avocado. *Food Research International 42*, 511-515.

Shahbaz, H., Akram, K., Ahn, J., y Kwon, J. (2016). Worldwide status of fresh fruits irradiation and concerns about quality, safety and consumer acceptance. *Food Sci*, 1790-1860.

Shukitt, B., Galli, R., Meterki, V., Carey, A., Bielinski, D., y McGhie, T. (2005). Dietary supplementation with fruit polyphenolics ameliorates age-related deficits in behavior and neuronal markers of inflammation and stress. *Age the Journal of American Aging Association 27*, 49-57.

Sójka, M., Janowski, M., y Grzelak, K. (2018). Stability and transformations of raspberry (*Rubus idaeus* L.) ellagitannins in aqueous solutions. *European Food Research and Technology*, 1113-1122.

Stalikas, C. (2007). Extraction, separation, and detection methods for phenolic acids and flavonoids. *Journal of the Science of Food and Agricultura* 80, 1118-1125.

Stoner, G., y Gupta, A. (2001). Ethology and chemoprevention of esophageal squamous cell carcinoma. *Carcinogenesis 22*, 1737-1746.

Tustón, R. Sistematización de experiencias del cultivo de frutilla (*Fragaria dioica*), para la sierra norte de Pichincha. Obtenido de Universidad Politécnica Salesiana: https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/3759/6/UPS-YT00195.pdf (2012).

Ulloa, J., Ulloa, P., y Romero, J. (2007). *Frutas autoestabilizadas en el envase por la tecnología de obstáculos.* Nayarit, México: Acribia.

Vasconcellos, J. (1994). *Functional foods (in spanish). Conceptos y Beneficios Para la Salud.* . California: Departamento de Ciencias de Alimentos y Nutrición de la Universidad Chapman.

Vázquez, M., Fernández, A., Bermúdez, A., Rodríguez, E., Pérez, A., Fernández, J., y Rodríguez, G. (2020). Utilization of strawberry and raspberry waste for the extraction of bioactive compounds by deep eutectic solvents. *LWT - Food Science and Technology*.

Vasco, C., Riihinen, K,. Ruales, J., y Kamal, A. (2009). Phenolic compounds in Rosaceae Fruits from Ecuador. *Journal of Agricultural and Food Chemistry 57,* 1204-1212.

Vasco, C., Ruales, J., y Kamal, A. (2008). Total phenolic compounds and antioxidant capacities of major fruits from Ecuador. *Food Chemistry 111,* 816-823.

Villamil, J. (2021). *Extracción de compuestos fenólicos a partir del residuo agroindustrial de frutilla (Fragaria ananassa).* Ecuador: Escuela Politécnica del Litoral.

Vilkhu, K., Mawson, R., Simons, L., y Bates, D. (2008). Applications and opportunities for ultrasound-assisted extraction in the food industry — a review. *Innovative Food Science & Emerging Technologies 9*, 161-169.

Vrhosek, U., Guella, G., Gasperottti, M., Pojer, E., Zancato, M., y Mattivi, F. (2012). Clarifying the Identity of the Main Ellagitannin in the Fruit of the Strawberry, Fragaria vesca and Fragaria ananassa Duch. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2507-2516.

Wang, S., Zheng, W., y Galleta, G. (2002). Cultural system affects fruir quality and antioxidant capacity in strawberries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry 50,* 6534 – 6542.

Wong, C. ¿What are Anthocyanins?. Obtenido de https://www.verywellhealth.com/the-scoop-on-anthocyanins-89522 (30 de enero de 2022).

Zhang, J., Wang, X., Tang, J., Gu, X., Wan, X., y Fang, C. (2011). Metabolic profiling of strawberry (Fragaria3ananassa Duch.) during fruit development and maturation. *Experimental Botany*, 1103-1118.

ANEXOS

FICHA TÉCNICA I

ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LA CONCENTRACIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS EN PULPA DE FRUTILLA

Objetivo: Analizar estadísticamente las diferencias en el contenido de compuestos fenólicos en pulpa de frutilla.

Fundamento: Se empleó el análisis de varianza ANOVA con un nivel de confianza de 95 % en el software Statgraphics Centurion.

A continuación, se muestran las tablas de ANOVA donde se descompone la varianza de las variables de salida en dos: entre grupos e intra-grupos, además, la razón-F que representa el cociente entre los dos grupos ya mencionados anteriormente. Cuando el valor-P de la razón-F es mayor o igual a 0,05 % no existe una diferencia estadísticamente significativa entre los valores analizados con un nivel de confianza del 95 %. También se muestran las tablas de prueba de múltiples rangos y los gráficos de medias para cada diseño factorial. Para el análisis de las medias que son estadísticamente diferentes de otras se realiza el procedimiento de diferencia mínima significativa (LSD) de Fisher.

Tabla A1. Tabla ANOVA para polifenoles (mg GAE/100 g ff)

Fuente	Suma de cuadrados	GI	Cuadrado medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	10 308,6	1	10 308,6	1 099,99	0,0000
Intra grupos	37,52		9,38		
Total (Corr)	10 346,1	5			

Tabla A2. Prueba de múltiples rangos para polifenoles (mg GAE/100 g ff) por experimento

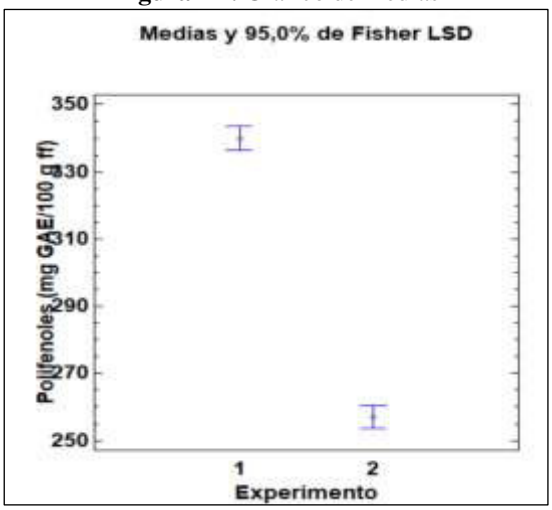
Experimento	Casos	Media	Grupos homogéneos	
1	3	340,0	X	
2	3	257,1		X

Tabla A3. Diferencia de polifenoles (mg GAE/100 g ff) entre niveles

Contraste	Significancia	Diferencia	+/- Límites
1 - 2	*	82,9	6,94298

* indica una diferencia significativa

Figura A1. Gráfico de medias



FICHA TÉCNICA II

ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LA CONCENTRACIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS EN PURÉ Y FRUTILLA LIOFILIZADA

Objetivo: Analizar estadísticamente las diferencias en el contenido de compuestos fenólicos en puré y frutilla liofilizada

Fundamento: Se empleó el análisis de varianza ANOVA con un nivel de confianza de 95 % en el software Statgraphics Centurion.

A continuación, se muestran las tablas de ANOVA donde se descompone la varianza de las variables de salida en dos: entre grupos e intra-grupos, además, la razón-F que representa el cociente entre los dos grupos ya mencionados anteriormente. Cuando el valor-P de la razón-F es mayor o igual a 0,05 % no existe una diferencia estadísticamente significativa entre los valores analizados con un nivel de confianza del 95 %. También se muestran las tablas de prueba de múltiples rangos y los gráficos de medias para cada diseño factorial. Para el análisis de las medias que son estadísticamente diferentes de otras se realiza el procedimiento de diferencia mínima significativa (LSD) de Fisher.

Tabla A4. Tabla ANOVA para polifenoles (mg GAE/100 g ff) en puré y frutillas liofilizadas

Fuente	Suma de cuadrados	GI	Cuadrado medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	$9{,}21 \times 10^6$	1	$9{,}21 \times 10^6$	61,81	0,0014
Intra grupos	596 104	4	596 104		
Total (Corr)	$9{,}806 \times 10^6$	5			

Tabla A5. Prueba de múltiples rangos para polifenoles (mg GAE/100 g ff) por experimento

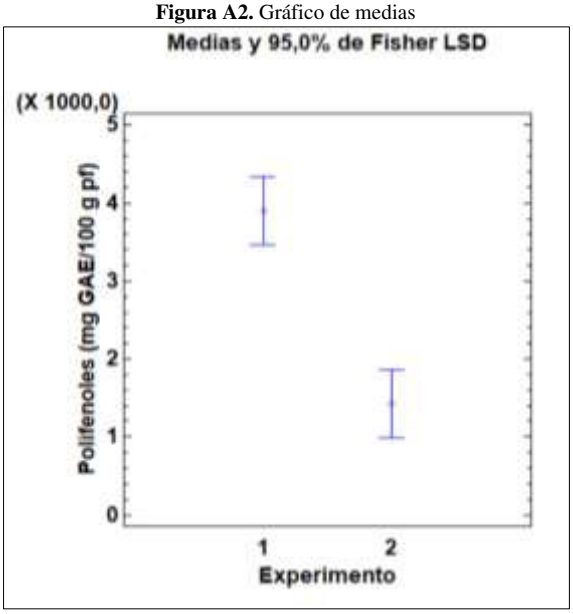
Experimento	Casos	Media	Grupos homogéneos	
1	3	3 907,0	X	
2	3	1 429,0		X

Tabla A6. Diferencia de polifenoles (mg GAE/100 g ff) entre niveles

Contraste	Significancia	Diferencia	+/- Límites
1 - 2	*	2 478,0	875,137

* indica una diferencia significativa

Figura A2. Gráfico de medias



FICHA TÉCNICA III

ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LA CONCENTRACIÓN DE ANTOCIANINAS EN PULPA CON AQUENIOS DE FRUTILLA MEDIANTE EUA

Objetivo: Analizar estadísticamente las diferencias en la concentración de antocianinas en pulpa con aquenios de frutilla mediante EUA

Fundamento: Se empleó el análisis de varianza ANOVA con un nivel de confianza de 95 % en el software Statgraphics Centurion.

A continuación, se muestran las tablas de ANOVA donde se descompone la varianza de las variables de salida en dos: entre grupos e intra-grupos, además, la razón-F que representa el cociente entre los dos grupos ya mencionados anteriormente. Cuando el valor-P de la razón-F es mayor o igual a 0,05 % no existe una diferencia estadísticamente significativa entre los valores analizados con un nivel de confianza del 95 %. También se muestran las tablas de prueba de múltiples rangos y los gráficos de medias para cada diseño factorial. Para el análisis de las medias que son estadísticamente diferentes de otras se realiza el procedimiento de diferencia mínima significativa (LSD) de Fisher.

Tabla A7. Tabla ANOVA para la concentración de antocianinas mediante EUA (mg/l)

Fuente	Suma de cuadrados	GI	Cuadrado medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	10 019,6	5	2 003,92	211,94	0,0000
Intra grupos	113,46	12	9,455		
Total (Corr)	10 133,1	17			

Tabla A8. Prueba de múltiples rangos para antocianinas (mg/l) por experimento

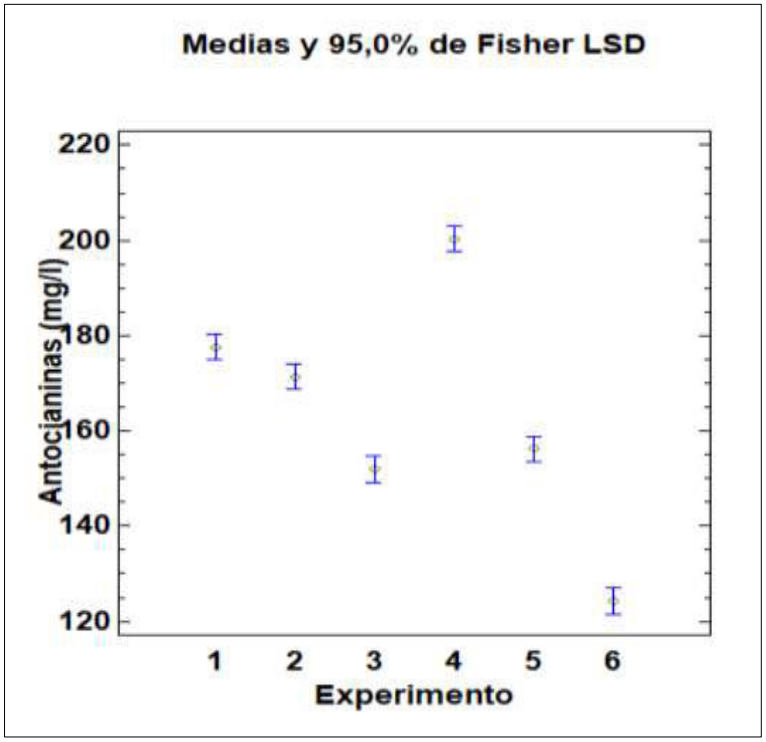
Experimento	Casos	Media	Grupos homogéneos				
4	3	200,3	X				
1	3	177,6		X			
2	3	171,4			X		
5	3	156,2				X	
3	3	151,9				X	
6	3	124,3					X

Tabla A9. Diferencia de polifenoles (mg GAE/100 g ff) entre niveles

Contraste	Significancia	Diferencia	+/- Límites
1 – 3	*	6,2	5,47024
1 – 3	*	25,7	5,47024
1 – 4	*	-22,7	5,47024
1 – 5	*	21,4	5,47024
1 – 6	*	53,3	5,47024
2 – 3	*	19,5	5,47024
2 – 4	*	-28,9	5,47024
2 – 5	*	15,2	5,47024
2 – 6	*	47,1	5,47024
3 – 4	*	-48,4	5,47024
3 – 5		-4,3	5,47024
3 – 6	*	27,6	5,47024
4 – 5	*	44,1	5,47024
4 – 6	*	76,0	5,47024
5 – 6	*	31,9	5,47024

* indica una diferencia significativa

Figura A3. Gráfico de medias



FICHA TÉCNICA IV

ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LA CONCENTRACIÓN DE ELAGITANINOS MEDIANTE DIFERENTES MÉTODOS DE EXTRACCIÓN

Objetivo: Analizar estadísticamente las diferencias en el contenido de elagitaninos mediante hidrólisis química, maceración enzimática y extracción por ultrasonido

Fundamento: Se empleó el análisis de varianza ANOVA con un nivel de confianza de 95 % en el software Statgraphics Centurion.

A continuación, se muestran las tablas de ANOVA donde se descompone la varianza de las variables de salida en dos: entre grupos e intra-grupos, además, la razón-F que representa el cociente entre los dos grupos ya mencionados anteriormente. Cuando el valor-P de la razón-F es mayor o igual a 0,05 % no existe una diferencia estadísticamente significativa entre los valores analizados con un nivel de confianza del 95 %. También se muestran las tablas de prueba de múltiples rangos y los gráficos de medias para cada diseño factorial. Para el análisis de las medias que son estadísticamente diferentes de otras se realiza el procedimiento de diferencia mínima significativa (LSD) de Fisher.

Tabla A10. Tabla ANOVA para elagitaninos (mg EA/100 g pf)

Fuente	Suma de cuadrados	GI	Cuadrado medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	20 569,5	5	4 113,9	34,84	0,0000
Intra grupos	1 416,83	12	118,069		
Total (Corr)	21 896,6	17			

Tabla A11. Prueba de múltiples rangos para para elagitaninos (mg EA/100 g pf) por experimento

Experimento	Casos	Media	Grupos homogéneos			
2	3	183,0	X			
1	3	148,01		X		
4	3	122,9			X	
5	3	109,6			X	X
3	3	90,43				X X
6	3	85,7				X

Tabla A12. Diferencia de polifenoles (mg GAE/100 g ff) entre niveles

Contraste	Significancia	Diferencia	+/- Límites
1 – 2	*	-34,99	19,3305
1 – 3	*	57,5767	19,3305
1 – 4	*	25,11	19,3305
1 – 5	*	38,41	19,3305
1 – 6	*	62,31	19,3305
2 – 3	*	92,5667	19,3305
2 – 4	*	60,1	19,3305
2 – 5	*	73,4	19,3305
2 – 6	*	97,3	19,3305
3 – 4	*	-32,4667	19,3305
3 – 5		-19,1667	19,3305
3 – 6		4,7333	19,3305
4 – 5		13,3	19,3305
4 – 6	*	76,0	19,3305
5 – 6	*	31,9	19,3305

* indica una diferencia significative

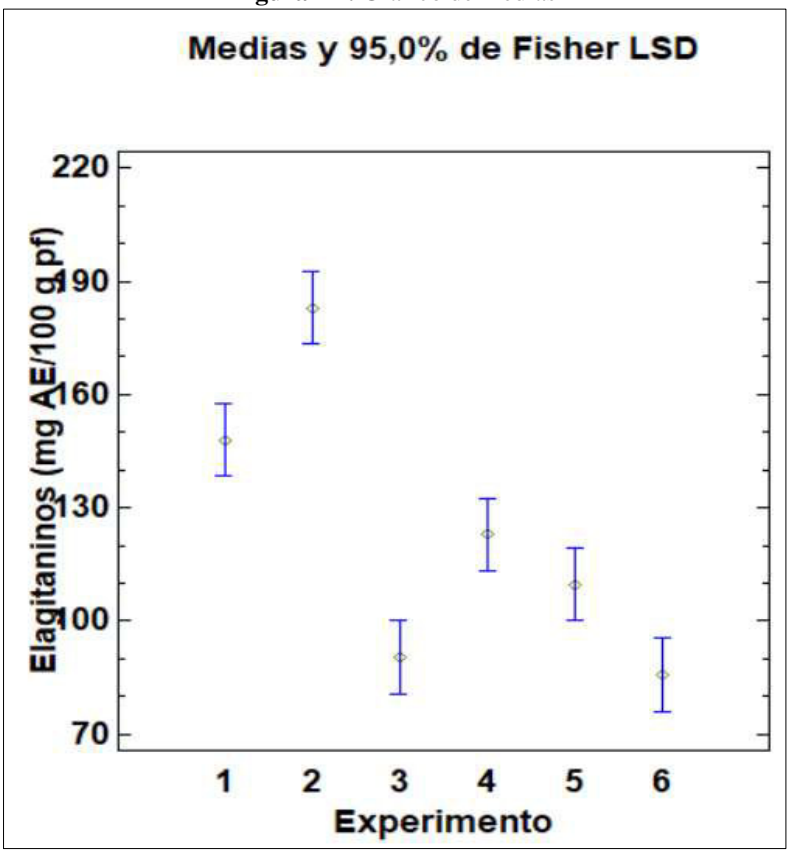



Figura A4. Gráfico de medias