

ESCUELA POLITÉCNICA NACIONAL

**FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA Y
AGROINDUSTRIA**

**ANÁLISIS DE LA RECUPERACIÓN DE COMPUESTOS
BIOACTIVOS A PARTIR DE SUBPRODUCTOS DE MORA
(*Rubus glaucus*)**

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

SHIRLEY FERNANDA GREFA ZURITA

shirley.grefa@epn.edu.ec

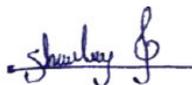
DIRECTOR: ING. JENNY ÁVILA V. M. Sc.

jenny.avila@epn.edu.ec

DMQ, febrero 2022

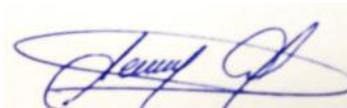
CERTIFICACIONES

Yo, Shirley Fernanda Grefa Zurita 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.



SHIRLEY GREFA

Certifico que el presente trabajo de integración curricular fue desarrollado por Shirley Fernanda Grefa Zurita, 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 (los) producto(s) resultante(s) 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.

SHIRLEY FERNANDA GREFA ZURITA

ING. JENNY ÁVILA M. Sc.

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 Composición de mora y sus subproductos	3
2.1.1 Análisis bromatológico	3
2.1.2 Preparación y extracción de la muestra fresca	3
2.1.3 Determinación de polifenoles totales	3
2.1.4 Determinación de actividad antioxidante (Método DPPH)	3
2.1.5 Cuantificación de antocianinas	4
2.1.6 Cuantificación de elagitaninos	4
2.2 Métodos de extracción de compuestos de interés de subproductos de mora4	
2.2.1 Métodos de extracción de antocianinas.....	4
2.2.1.1 Extracción por maceración en frío	4
2.2.1.2 Extracción por método Soxhlet.....	4
2.2.1.3 Extracción asistida por ultrasonido (UAE)	4
2.2.1.4 Extracción con líquido presurizado (PLE).....	4
2.2.1.5 Extracción con fluido supercrítico	5
2.2.2 Extracción de elagitaninos	5
2.2.2.1 Extracción por hidrólisis enzimática y maceración	5
2.2.2.2 Extracción por hidrólisis química y maceración caliente.....	5
2.2.2.3 Extracción mediante UAE.....	5
2.2.3. Análisis estadístico	6
2.3 Análisis de las aplicaciones de antocianinas y elagitaninos.....	6
3. DISCUSIÓN DE RESULTADOS	6
3.1 Composición de mora y subproductos	6
3.1.1 Composición bromatológica.....	6
3.1.2 Composición fenólica de mora y sus subproductos	7
3.2 Métodos de extracción y cuantificación de compuestos de interés en subproductos de mora	8
3.2.1 Extracción de antocianinas	8
3.2.2 Extracción de elagitaninos	10
3.3 Aplicaciones de compuestos de interés en subproductos de mora	11
3.3.1 Aplicaciones de antocianinas.....	11
3.3.2 Aplicaciones de elagitaninos.....	12

4. CONCLUSIONES.....	13
REFERENCIAS.....	13
ANEXOS	18

ÍNDICE DE CONTENIDO

Tabla 1. Composición de la mora	2
Tabla 2. Composición bromatológica de <i>Rubus glaucus</i>	6
Tabla 3. Composición del subproducto de <i>Rubus spp.</i>	6
Tabla 4. Composición de los subproductos de <i>Rubus glaucus</i>	6
Tabla 5. Composición de <i>Rubus glaucus</i>	7
Tabla 6. Composición de antocianinas de la mora de castilla.....	8
Tabla 7. Composición del suproducto de <i>Rubus spp.</i>	8
Tabla 8. Concentración de antocianinas en extractos obtenidos	9
Tabla 9. Rendimiento de extracción de antocianinas.....	9
Tabla 10. Rendimiento de elagitaninos en extractos obtenidos por diferentes métodos	10
Tabla 11. Concentración de elagitaninos en extractos obtenidos por diferentes métodos	11

Análisis de la Recuperación de Compuestos Bioactivos a Partir de Subproductos de Mora (*Rubus glaucus*)

Grefa, Shirley¹

¹Escuela Politécnica Nacional, Facultad de Ingeniería Química y Agroindustrial, Quito, Ecuador

Resumen: La mora es una fruta altamente consumida en Ecuador, sin embargo, su industrialización genera residuos orgánicos que podrían representar una fuente para la recuperación de compuestos bioactivos. El objetivo del presente trabajo fue analizar, a través de la revisión bibliográfica, la composición de subproductos de mora con el fin de determinar los compuestos aprovechables, además realizar una comparación cualitativa y cuantitativa de los métodos de extracción de los compuestos de interés identificados y un análisis de sus posibles usos. Con base en la información recopilada se determinó que los subproductos de mora representan una fuente para la extracción de antocianinas y elagitaninos. Se cotejaron distintos métodos de extracción para los compuestos de interés; para antocianinas se compararon métodos como maceración, soxhlet, extracción asistida por ultrasonido y extracción con líquido presurizado, mientras que para elagitaninos se analizó la importancia de realizar una hidrólisis, pudiendo ser esta química o enzimática. Se determinaron que los métodos de extracción más eficientes en cuanto a rendimiento y tiempos de extracción fueron la extracción con líquido presurizado para antocianinas y la hidrólisis enzimática para elagitaninos. Finalmente, se analizó que las posibles aplicaciones para antocianinas son las industrias alimenticia, farmacéutica y cosmética debido a sus propiedades antioxidantes, antidiabéticas, antibacteriales y sus potenciales usos como colorantes en productos con pH menores a 3, mientras que los elagitaninos se pueden emplear en las industrias farmacéutica y alimenticia por su capacidad antibacteriana y antiinflamatoria en cuadros de colitis ulcerosa, enfermedad de chron y cáncer.

Palabras clave: antocianinas, elagitaninos, métodos de extracción tradicionales, métodos de extracción emergentes

Analysis of the Recovery of Bioactive Compounds from Blackberry (*Rubus glaucus*) By-Products

Abstract: The blackberry is a highly consumed fruit in Ecuador; however, its industrialization generates organic waste that could represent a source for the recovery of bioactive compounds. The goal of this work is to analyze, through the bibliographic revision, the composition of blackberry by-products in order to determine the usable compounds, as well as to carry out a qualitative and quantitative comparison of the methods of extraction of the compounds of interest identified as well as an analysis of its possible uses. Based on the information collected, it was determined that blackberry by-products represent a source for the extraction of anthocyanins and ellagitannins. Different extraction methods were compared for the compounds of interest; for anthocyanins, methods such as maceration, soxhlet, ultrasound-assisted extraction and extraction with pressurized liquid were compared, while for ellagitannins was analyzed the importance of hydrolysis, which could be chemical or enzymatic. It was determined that the most efficient extraction methods in terms of yield and extraction times were pressurized liquid extraction for anthocyanins and enzymatic hydrolysis for ellagitannins. Finally, it was analyzed that the possible applications for anthocyanins are food, pharmaceutical and cosmetic industries due to their antioxidant, antidiabetic, antibacterial properties and their potential use as colorants in products with a pH lower than 3, while ellagitannins can be used in pharmaceutical and food industries for its antibacterial and anti-inflammatory capacity in ulcerative colitis, chron's disease and cancer.

Keywords: anthocyanins, ellagitannins, traditional extraction methods, emerging extraction methods

1. INTRODUCCIÓN

La mora (*Rubus glaucus*) es una fruta no climatérica originaria de los Andes que se desarrolla en climas fríos y templados. Esta fruta es altamente valorada debido a sus características nutricionales y compuestos bioactivos, que presentan efectos benéficos en la salud debido a su poder antioxidante y a sus propiedades antiinflamatorias (Horvitz, Chanaguano & Arozarena, 2017).

En la población ecuatoriana existe una alta aceptación de esta fruta, alcanzando una producción de 6 338 Tm/año que se destina al consumo tanto de forma fresca como procesada en la elaboración de yogurt, helados, pulpas y jugos (Calero, 2010). La industrialización de la mora es la responsable de la generación de grandes cantidades de residuos orgánicos. De acuerdo con una investigación realizada por Veloz, durante el año 2019 se produjeron alrededor de 377,4 kg de residuos de

mora en la provincia de Pichincha, los cuales no fueron aprovechados.

La cantidad de subproductos de mora generada se debe a su composición que se muestra en la Tabla 1.

Tabla 1. Composición de la mora

Componente	% (p/p)
Mesocarpio	79,5
Semilla	7,97
Receptáculo	12,53

(Ayala, et al., 2013)

De acuerdo con Ayala, Valenzuela & Bohórquez (2013), la fracción aprovechable de la pulpa varía entre el 62 y 74 %, esto sumado a los porcentajes correspondientes a semillas y receptáculo de la Tabla 1, dan como resultado que la cantidad de residuos producida por unidad se encuentra alrededor del 40 % de la fruta, por lo que es necesario la búsqueda de alternativas que permitan la revalorización de estos subproductos.

Actualmente, la investigación respecto a la composición de la mora y de sus subproductos ha incrementado debido a los conocidos beneficios que el consumo de esta fruta puede traer en la salud, los mismos que se dan debido a la presencia de polifenoles. Los polifenoles o compuestos fenólicos son compuestos que pertenecen al grupo de metabolitos secundarios de las plantas que se caracterizan por su actividad antioxidante (debido a sus propiedades redox), anti-inflamatoria y antibacteriana (Van de Velde, Grace, Esposito, Pirovani & Lila, 2016).

Las antocianinas son compuestos fenólicos que pertenece al grupo de los flavonoides y se encuentran principalmente en las flores y los frutos de las plantas, ya que son pigmentos vegetales. El color que presentan las antocianinas depende del pH del medio en el que se encuentran, a pH 3 las antocianinas presentan una coloración rojiza, mientras que a pH básicos se tornan azules (Abadiano, 2015). Estos compuestos se caracterizan por sus propiedades antioxidantes, debido a que actúan como fuentes de hidrógeno, protegiendo contra radicales como el peróxido de hidrógeno, superóxido, hidroxilo y oxígeno (Garzón, 2008).

Otro tipo de compuestos fenólicos son los taninos, entre estos se destacan los elagitaninos, que son compuestos formados por unidades de ácido hexahidroxidifénico esterificado con unidades de glucosa. La actividad biológica de estos compuestos se basa en la hidrólisis de los elagitaninos en ácido elágico que presenta propiedades antioxidantes, antibacterianas y antitumorales (Márquez, Chávez & Hernández, 2019).

Los procesos de extracción de compuestos bioactivos empleados tradicionalmente se basan en el uso de solventes y de altas temperaturas, que en algunos casos pueden degradar los compuestos de interés; en especial cuando se tratan de compuestos químicamente inestables o termosensibles. Por esta razón, actualmente se emplean métodos conocidos como emergentes, que al comparar con los métodos tradicionales presentan beneficios como mayores rendimientos debido a un

incremento en la transferencia de masa, menor consumo de energía, disminución en los tiempos de extracción, reducción en el uso de solventes y en la generación de desechos (Ameer, Muhammad & Kwon, 2017).

Entre las metodologías emergentes se encuentran: pulsos eléctricos, ultrasonido, extracción asistida por microondas, extracción acelerada por solventes y extracción mediante fluidos supercríticos, entre otros (Barba, Zhu, Koubaa, Sant'Ana, & Orlie, 2016).

La extracción asistida por ultrasonido (UAE) es una técnica que aprovecha el efecto de cavitación, que se da debido a la alternancia entre alta y baja presión ocasionada por las ondas, generando altas fuerzas de cizallamiento. Las burbujas que se forman en el medio implosionan en la superficie de los sólidos, creando macro turbulencias que rompen las paredes celulares, lo que facilita la transferencia de masa y por ende la extracción de los compuestos de interés (Barba et al., 2016).

La extracción acelerada por solventes o extracción con líquido presurizado (PLE) se fundamenta en el uso de altas presiones y temperaturas que permiten que el solvente permanezca en estado líquido, este método de extracción se diferencia de los que emplean fluidos supercríticos, debido al estado en que se encuentra el solvente, ya que, en este último, el solvente tiene la densidad de un líquido, pero se comporta como gas. (Reyes, 2018). Entre las ventajas del uso de PLE se encuentran: el incremento de la solubilidad del soluto en el solvente, disminución de la viscosidad del solvente y la rotura de las fuerzas intermoleculares, lo que permite la liberación de los compuestos fenólicos y el aumento de la tasa de difusión. (Machado, Pasquel, Barbero & Martínez, 2015).

Los solventes empleados para la extracción de compuestos fenólicos son agua, etanol y lactato de etilo, ya que son compuestos identificados como GRAS (Generalmente reconocido como seguro) (Quirós, Acosta, Thompson & Soto, 2019), sin embargo, la elección del solvente depende del compuesto a extraerse; para compuestos fenólicos como las antocianinas el solvente más empleado es el etanol, mientras que para elagitaninos, el solvente mayormente empleado es acetona con ácido fórmico, ya que la extracción de estos compuestos requiere de una hidrólisis que se logra con alta eficiencia al emplear este solvente (Milczarek, Sójka & Klewicki, 2021).

El objetivo del presente trabajo fue analizar, a través de la revisión bibliográfica la composición de subproductos de mora con el fin de determinar los compuestos aprovechables, además realizar una comparación cualitativa y cuantitativa de los métodos de extracción de los compuestos de interés identificados y un análisis de sus posibles usos.

2. METODOLOGÍA

Las especies del género *Rubus* se destacan por su contenido de polifenoles, en especial de flavonoides como antocianinas y flavonoles, y taninos hidrolizables como galo y elagitaninos. Además, los frutos pertenecientes a este género se caracterizan

por un alto contenido de ácidos orgánicos (Van de Velde, et al., 2016).

2.1 Composición de mora y sus subproductos

Para el análisis y comparación de la composición de la mora y sus subproductos se investigó sobre sus características bromatológicas, contenido de polifenoles totales y actividad antioxidante, con el fin de determinar los compuestos de interés.

2.1.1 Análisis bromatológico

Se analizaron los datos sobre la determinación de humedad, sólidos solubles, pH, acidez titulable, contenido de proteína y de fibra que se realizan empleando los métodos de la AOAC, estos son: método gravimétrico 930.15 (determinación de humedad), método Kjeldahl 920.152 (determinación de proteína), método potenciométrico 943.02 (determinación de pH), refractometría 932.12 (determinación de sólidos solubles), método 942.15 (determinación de acidez titulable), método 940.26 (determinación de cenizas), método enzimático-gravimétrico 993.19 (determinación de fibra), método de espectrometría de masas de plasma acoplada inductivamente 2015.06 (determinación de minerales).

Los valores reportados en bibliografía sobre el análisis bromatológico permitieron determinar si los subproductos de mora son una fuente significativa de compuestos como: proteína, fibra y minerales. Se empleó el valor de humedad para realizar la conversión de unidades de los datos analizados, con el fin de poder comparar parámetros como la composición de compuestos fenólicos, elagitaninos, antocianinas y actividad antioxidante reportados por diferentes autores y realizar una comparación con otras frutas.

2.1.2 Preparación y extracción de la muestra fresca

Se analizó lo descrito por Vasco, Ruales & Kamal-Eldin (2008) y Aguirre, Cubillos, Tarazona-Díaz & Rodríguez (2019), para la preparación de las muestras tanto de las frutas como de los subproductos, los cuales pasan por un proceso de trituración, liofilización y molienda. Luego, el polvo obtenido pasa a extracción con solventes, con lo que se determina la composición de polifenoles totales, antocianinas y elagitaninos

2.1.3 Determinación de polifenoles totales

Se analizó la determinación de polifenoles totales propuesta por García, Fernández & Fuentes (n.d.), que se realiza mediante el método de Folin-Ciocalteu; este método se basa en el cambio de color, de amarillo a azul, ocasionado por la reacción entre los compuestos fenólicos y el reactivo del mismo nombre del ensayo. La metodología para el análisis consiste en mezclar el extracto obtenido previamente con el reactivo de Folin-Ciocalteu (mezcla entre molibdato sódico y wolframato sódico en ácido fosfórico) y dejarlo en agitación durante un tiempo. A continuación, se añade el carbonato de sodio, se lo deja a reposar y se mide la absorbancia a 750 nm.

Se analizaron las metodologías empleadas por Vasco et al. (2008) y Mertz, Cheynier, Günata & Brat (2007), las cuales se basan en el método convencional antes descrito, la diferencia entre estos dos autores es la proporción usada entre extracto, reactivo y solución de carbonato de sodio, que correspondió a 0,5:0,5:10 para la primera referencia y a 2,5:3:2 para la segunda. Otra diferencia importante entre estos dos autores es la temperatura de la mezcla previo a la medición de la absorbancia, ya que Vasco et al. (2008) colocó las muestras a temperatura ambiente, mientras que Mertz et al. (2007), las sumergió en un baño de hielo.

Además, se analizó la metodología empleada por Horvitz, et al. (2017), quienes realizaron una variación del método base descrito anteriormente, ya que la mezcla entre el extracto, la muestra y el reactivo se realizan en microplacas, por lo que las cantidades utilizadas corresponden al orden de microlitros, cantidades menores a las reportadas por las referencias antes mencionadas.

Con los datos recopilados de los valores de compuestos fenólicos reportados por estos autores, se tomaron los datos de la composición de humedad, para poder establecer comparación en las mismas unidades (base húmeda), se analizaron si los subproductos de mora son fuente significativa de compuestos fenólicos, además se compararon entre sí los valores obtenidos y las posibles diferencias ocurridas debido a variaciones en las metodologías.

2.1.4 Determinación de actividad antioxidante (Método DPPH)

La metodología analizada para la determinación de la actividad antioxidante fue la propuesta por Guija (2015), que se basa en la reacción de óxido-reducción entre el radical libre DPPH y el agente antioxidante. Como resultado de esta reacción, existe un cambio de color del radical, de azul-violeta a amarillo, lo que se refleja en la variación de la absorbancia. Para este ensayo se mezcla la muestra a analizar con el reactivo DPPH diluido en alcohol y se incuba a 37°C en ausencia de luz. Finalmente se mide la absorbancia de la reacción a 515 nm y se obtienen los resultados con base en una curva patrón previamente elaborada con Trolox, un antioxidante sintético de referencia

Se analizaron las diferencias en las proporciones entre muestra y DPPH empleadas por Vasco et al. (2008) quienes toman 0,1 mL de muestra y lo diluyen en 3,9 mL de DPPH en metanol, Aguirre et al. (2019) que mezclan 50 µL de la muestra con 200 µL de DPPH diluido en 800 µL de alcohol al 80 % y Horvitz, et al. (2017), quienes emplean microplacas donde mezclan la muestra con el DPPH diluido alcohol, en una proporción de 20:180.

Con los valores reportados por estos autores para la actividad antioxidante se realizó una comparación entre la capacidad antioxidante de los subproductos de mora y la de otras fuentes vegetales, para determinar si la actividad antioxidante de los subproductos de mora es un factor de interés.

2.1.5 Cuantificación de antocianinas

Los valores de cuantificación de antocianinas analizados fueron los reportados por Horvitz et al. (2017) y Mertz et al. (2007) que utilizan la técnica de cromatografía líquida HPLC. Horvitz et al. (2017) emplean 20 µL de la muestra, y como fases móviles utilizan una solución de ácido fórmico al 5 % y metanol. Según esta metodología, el análisis se realiza empleando el siguiente gradiente de metanol: 5-10 % en 5 minutos (min), 10 % durante 10 min, 10-42 % en 20 min y finalmente de regreso a las condiciones iniciales en 5 min. La detección se realiza a 250 y 550 nm y la cuantificación se basa en una curva estándar.

Por otra parte, Mertz et al. (2007) emplean HPLC usando como solventes solución de ácido fórmico al 2 % y una solución de acetonitrilo, agua y ácido fórmico en una proporción de 80:18:2 v/v/v, luego la muestra pasa por un detector de matriz de diodos y se dirige a un espectrómetro de masas que permite la identificación de antocianinas con base en su masa molecular.

Los datos reportados de la caracterización y la cuantificación de antocianinas en los subproductos de mora fueron comparados con otros frutos del género *Rubus*, además se analizaron las variaciones entre los valores de antocianinas obtenidos en bibliografía para determinar si los subproductos de mora son fuente de antocianinas para su estudio.

2.1.6 Cuantificación de elagitaninos

Se analizó la metodología empleada por Mertz, et al. (2007) que se basa en la reacción de oxidación de los elagitaninos por acción de ácido nitroso, que se refleja en un cambio de color que se mide a través de la absorbancia. Para la cuantificación de elagitaninos, Mertz, et al. (2007) emplean 1 mL de muestra a la que añaden 160 µL de una solución de ácido acético (6 %) y 1 mL de metanol. Luego estos autores burbujan nitrógeno en la mezcla y añaden 160 µL de una solución de nitrito de sodio al 6 % en un tubo herméticamente sellado. Finalmente miden la absorbancia a 600 nm.

Con los valores de la composición de elagitaninos y al realizar una comparación con el contenido de estos compuestos en otras frutas, se pudo determinar si los subproductos de mora representan una fuente para la extracción de elagitaninos.

2.2 Métodos de extracción de compuestos de interés de subproductos de mora

2.2.1 Métodos de extracción de antocianinas

2.2.1.1 Extracción por maceración en frío

Para este tipo de extracción se analizó la metodología propuesta por Machado et al., (2015) quienes sumergen la muestra en un recipiente que contiene el disolvente previamente acidificado con HCl 0,01 % v/v, ya que, a pH bajos las antocianinas presentan mayor estabilidad, este proceso dura aproximadamente 24 h. Finalmente se filtra el

extracto obtenido y pasa por un proceso de evaporación a vacío a 40 °C para lograr la eliminación del solvente.

2.2.1.2 Extracción por método Soxhlet

Se analizaron las metodologías propuestas por Machado et al. (2016) y Becerra, Muñoz & Lucero (2019) que consistieron en colocar los subproductos de mora previamente liofilizados y triturados, en un cartucho de papel filtro del extractor y llenar el balón con el solvente. Según Machado et al. (2016), la relación en masa que se debe mantener entre el solvente y el residuo fresco es de 40:1. Finalmente, se somete al balón a calentamiento progresivo hasta llevarlo a ebullición. Esta extracción se lleva a cabo durante 4 h (Becerra et al., 2019) a 5 h (Machado et al., 2015).

2.2.1.3 Extracción asistida por ultrasonido (UAE)

Para el método UAE se analizaron las metodologías propuestas por Becerra et al (2019) y Quirós (2016) que se basan en el uso de un baño ultrasónico que se llena con agua. En su interior se sumerge un matraz que contiene la solución extractora, es decir el solvente y la muestra, que corresponden a los subproductos en un medio ácido, estos ensayos usan como solvente etanol, probado a diferentes concentraciones con el fin de optimizar la concentración de antocianinas obtenidas.

El procedimiento de extracción de Becerra, et al., (2019) se lleva a cabo durante 90 min a una frecuencia de 40 KHz y a una intensidad de 112,5 W, manteniendo la temperatura en 40 °C, mientras que el procedimiento realizado por Quirós et al (2016) se realiza a una intensidad de 130 W, temperatura de 60 °C durante 90 min. Finalmente, el extracto pasa por un proceso de centrifugación a 6000 rpm y 10 °C durante 30 min, con el fin de eliminar los residuos sólidos del extracto (Becerra, et al., 2019).

Además, se analizaron los procesos de identificación de antocianinas en los extractos obtenidos. Becerra, et al. (2019) utilizan el método ácido-base, que es un ensayo cualitativo que permite determinar si el extracto obtenido tiene o no antocianinas. Este método consiste en separar la muestra en dos tubos de ensayos distintos, en el primero, se coloca ácido acético y en el segundo tubo de ensayo se añade hidróxido de sodio, en caso de contener antocianinas se espera que la mezcla del primer tubo de ensayo tome una coloración rojiza, mientras que la segunda, se debe tornar incolora. Por otra parte, Quirós (2016) realiza la identificación de antocianinas por HPLC.

Se compararon los datos reportados de la cuantificación de antocianinas determinados por espectrofotometría a absorbancias entre 500 y 700 nm, donde se calcula la diferencia para su reporte y se expresan en función de mg de cianidín-3-O-glucósido (Cy3G) (Becerra, et al., 2019).

2.2.1.4 Extracción con líquido presurizado (PLE)

Para la extracción PLE o extracción acelerada con solventes se analizó el estudio de Machado et al. (2015) quienes indican que el equipo empleado en este método es una celda de

extracción que consiste en un recipiente vertical de acero inoxidable equipado con una chaqueta de calentamiento; el interior del recipiente contiene dos capas de esferas de vidrio y en la salida consta de un filtro y una capa de lana de vidrio que tiene la finalidad de evitar la salida de sólidos en suspensión. Este equipo debe soportar presiones de hasta 25 MPa y temperaturas de hasta 250 °C. Además del equipo principal, el circuito de extracción consiste en un recipiente en el que se almacena el solvente, este se une mediante una tubería a una bomba de altas presiones, seguido de una válvula de bloqueo que regula el ingreso del solvente en el recipiente. A la salida del recipiente se encuentran dos válvulas que regulan la salida del extracto, el mismo que se recolecta en un recipiente que se encuentra a bajas temperaturas.

Para el proceso de extracción se coloca la muestra entre las dos esferas de vidrio y se bombea el solvente. Los ensayos realizados por Machado et al. (2015) emplearon etanol puro, una mezcla entre etanol y agua y agua acidificada como solventes, a diferentes temperaturas (60, 80 y 100 °C) y a presión constante de 7,5 MPa, con el fin de optimizar el contenido de antocianinas en los extractos.

La identificación de antocianinas se realiza mediante cromatografía líquida de ultra rendimiento (UHPLC) empleando como fases móviles una solución de ácido fórmico y metanol. El UHPLC se encuentra acoplado con un espectrofotómetro que mide la absorbancia a una longitud de onda de 520 nm, con la cual se obtiene la curva de calibración para cloruro de cianidina que permite cuantificar las antocianinas presentes en los residuos de mora (Machado et al., 2015).

2.2.1.5 Extracción con fluido supercrítico

Se analizó la metodología propuesta por Pasquel, Fonseca, Barbero & Rezende (2014) quienes emplean una celda de acero inoxidable, donde se lleva a cabo la extracción, esta celda se encuentra conectada mediante válvulas y bombas al cilindro de CO₂ y al recipiente que recoge el extracto. La extracción se lleva a cabo durante 1 h, a 60 °C y presión de 15 MPa.

Con los datos recopilados sobre la concentración y el rendimiento de extracción de antocianinas obtenidos del reporte de diferentes autores, se elaboró una tabla comparativa y se cotejaron de forma cualitativa y cuantitativa los métodos de extracción; se analizaron el efecto de los solventes empleados y los parámetros de operación de cada método que pudieron tener efecto sobre la cantidad de antocianinas extraídas.

2.2.2 Extracción de elagitaninos

La extracción y cuantificación de elagitaninos requiere de un proceso de hidrólisis que permita la liberación de ácido elágico, esta hidrólisis puede ser ácida o enzimática (Márquez, et al., 2019).

2.2.1.1 Extracción por hidrólisis enzimática y maceración

Se analizó la metodología propuesta por Milczarek, et al. (2021) quienes previo al proceso de extracción congelan y trituran el subproducto mediante un molino criogénico. Estos autores realizan un proceso de hidrólisis enzimática mediante la incubación de enzimas pectinolíticas y posteriormente sumergen la muestra en el solvente que consiste en una solución de acetona al 60 % con ácido fórmico al 0,1 % en una proporción de 1:5, para realizar el proceso de maceración. La extracción se realiza a temperatura ambiente durante 6 h empleando agitación. Finalmente, se filtra la muestra y se obtiene el extracto.

La identificación de elagitaninos, se realiza mediante cromatografía líquida con una solución de ácido fórmico 1 % y una solución de acetonitrilo en agua 80:20 como fases móviles, mientras que la cuantificación se realiza mediante espectrofotometría a 250 nm. La determinación de la concentración de elagitaninos se realiza mediante una curva estándar de ácido elágico (Milczarek, et al., 2021).

2.2.2.2 Extracción por hidrólisis química y maceración caliente

Para este tipo de extracción se analizó la metodología empleada por Quirós, et al. (2019) que emplean un baño de agua, en el que se sumerge un matraz con la muestra y el solvente. Para la obtención de un extracto elágico emplearon distintas variables de entrada, estas fueron la temperatura del baño de agua, que tomó valores entre 45, 51,1, 60, 68,9, 75 °C, la relación solvente/muestra entre 1, 1,6, 2,5, 3,3 y 4 g/g y la concentración del solvente que en este caso es etanol de 50, 57,1, 67,5, 77,9 y 85 %, con el fin de optimizar el rendimiento de extracción.

2.2.2.3 Extracción mediante UAE

De igual forma que para las antocianinas, se analizó la metodología propuesta por Quirós (2016), quien emplea un baño ultrasónico, en el que sumerge el matraz con la muestra y etanol a diferentes concentraciones. La identificación de los elagitaninos se realiza mediante cromatografía líquida empleando como fases móviles una solución acuosa de ácido fosfórico y una solución de aceto nitrilo 83 % acidificado con ácido fórmico al 2 %. La cuantificación de la concentración de elagitaninos se realiza mediante la curva de calibración del ácido elágico, lambertianina C y sanguin H-6 (Milczarek et al., 2020).

Con los datos que reportan los diferentes autores se analizaron los distintos métodos de extracción y se realizó una comparación de forma cuantitativa y cualitativa entre ellos, para ello se elaboraron tablas de rendimiento y de concentración de estos compuestos. Se analizaron el efecto de los solventes empleados y los parámetros de operación de cada método que pudieron tener efecto sobre la cantidad de elagitaninos extraídos.

2.2.3. Análisis estadístico

Los datos recopilados para composición la bromatológica, polifenólica y los métodos de extracción que consten de media y varianza serán sujetos a un análisis estadístico ANOVA con el 95 % de confianza mediante el software Statgraphics Centurion XVII.

2.3 Análisis de las aplicaciones de antocianinas y elagitaninos

Para la determinación de las posibles aplicaciones de antocianinas y elagitaninos se realizará una investigación bibliográfica con base a las propiedades de estos compuestos y con ello se determinarán los usos que podrían darse en las diferentes industrias.

3. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

3.1 Composición de mora y subproductos

3.1.1 Composición bromatológica

En la Tabla 2, se presentan los datos de la composición bromatológica de la mora (pulpa y semilla) según la bibliografía encontrada.

Tabla 2. Composición bromatológica de *Rubus glaucus*

Parámetro	Valor (base húmeda)	Referencia
Humedad (%)	86,42 ± 1,27	(Ayala, et al., 2013)
Sólidos solubles	7,93 ± 0,12	(Ayala, et al., 2013)
pH	2,65 ± 0,01	(Ayala, et al., 2013)
Acidez titulable (g ácido cítrico/100)	2,78 ± 0,21	(Horvitz, et al. (2017)
Proteína (% p/p)	1,2	(Ayala, et al., 2013)
Minerales (% p/p)	0,42 ± 0,06	(Ayala, et al., 2013)

*Valores reportados con base a FF (fruta fresca)

La acidez de la mora se ve representada por los parámetros de pH y de acidez titulable. La mora es catalogada como una fruta ácida, ya que presenta un valor de pH bajo y una acidez titulable alta de acuerdo con lo mencionado por Lee (2017), quien reporta que los valores de acidez titulable para los frutos de género *Rubus* varían entre 0,08 y 2,8 g ácido cítrico/100g FF.

La acidez de esta fruta se debe a la presencia de ácidos orgánicos, entre los que se destacan el ácido cítrico, que representa cerca del 90 % de los ácidos totales, seguido de ácido málico y ácido ascórbico, este último es un compuesto que además de aportar el sabor característico a la mora, contribuye con su actividad antioxidante gracias a la capacidad que tiene para captar radicales libres (Horvitz, et al., 2017).

De acuerdo con lo mencionado por Veloz (2019), el contenido proteico de la mora (Tabla 2) es bajo, ya que para ser considerado como alto debe ser superior al 15 %. Al comparar el contenido proteico de la mora con el de otras frutas de la misma familia taxonómica como la fresa se tiene que la mora tiene 71 % más de proteína que la fresa y 66,66 % más que la cereza (Moreiras, Carbajal, Cabrera & Cuadrado, 2013).

Del procesamiento industrial de mora se obtiene como subproducto la torta, comprendida por la pulpa, el receptáculo y las semillas, el análisis bromatológico de estos subproductos, se presenta en la Tabla 3

Tabla 3. Composición del subproducto de *Rubus spp.*

Parámetro	Valor
Humedad (%)	46,1
Proteína g/100g	4,22
Cenizas g/100g	0,84
Fibra g/100g	38,52

(Quirós, 2016)

Como se observa en la Tabla 3 el contenido proteico de los subproductos de mora es mayor que el contenido en la pulpa (Ayala, et al., 2013), esto puede deberse a la diferencia en el contenido de humedad entre las dos muestras, ya que la mora al pasar por el proceso de despulpado pierde cerca del 50 % de humedad, razón por la que existiría una concentración de la proteína (Aguirre et al., 2019)

Los subproductos de mora son una fuente importante de fibra como se observa en la Tabla 3, esto concuerda con lo reportado por Veloz (2019), quien realizó un estudio comparando los subproductos de diversas frutas: maracuyá, piña, limón, guanábana, fresa, entre otros; donde se concluyó que la torta de mora es una fuente importante de fibra, solo superado por el contenido de los subproductos de maracuyá. Esto concuerda con lo reportado por Yepes, Montoya & Orozco (2008), quienes realizó la caracterización de cáscaras guayaba, naranja y mango y obtuvo que la cáscara de mango presenta el mayor contenido de fibra (9, 49 %) entre las analizadas, este valor resulta menor al reportando en la Tabla 3 para el subproducto de mora (Quirós, 2016).

En un estudio realizado por Aguirre, et al. (2019) separan la semilla de la torta para ser analizados como subproductos de la mora, los datos de este estudio se presentan en la Tabla 4.

Tabla 4. Composición de los subproductos de *Rubus glaucus*

Parámetro	Semillas	Torta
Humedad (%)	72	81
Sólidos solubles	0,3	3,6
pH	4,3	3,4
Minerales		
Nitrógeno g/100g	2,31	1,54
Fósforo g/100	0,178	0,082
Potasio g/100g	0,816	0,61
Calcio g/100g	0,55	0,175
Sodio g/100g	0,0063	0,0063
Magnesio g/100g	0,159	0,06
Azufre g/100g	0,152	0,091
Hierro mg/Kg	173,67	116
Manganeso mg/Kg	86,3	43,9
Zinc mg/Kg	35,7	19,8
Cobre mg/Kg	9,62	5,63
Boro mg/Kg	55,68	28,09
Vitamina C mg/L	0,007	0,005

(Aguirre, et al., 2019)

Al comparar el valor de minerales presentados en las Tablas 2 y 4 se observa que la pulpa de mora no es una fuente significativa de estos compuestos, pero los subproductos si lo son, esto se justifica, por la pérdida de agua ocurrida durante

el procesamiento de la mora, que origina la concentración de estos compuestos, como se mencionó anteriormente (Aguirre, et al., 2019). En el estudio llevado a cabo por Vargas, Figueroa, Tamayo, Toledo & Moo (2018) donde se analizaron los residuos agroindustriales de lima, berenjena, zanahoria y papaya se obtuvo que todos los residuos presentaron valores superiores a los reportados para los subproductos de mora, de estos la cáscara de lima es la que tiene el menor contenido de minerales entre los analizados, sin embargo, contiene 5,84 %, valor ~ 2 veces superior al reportado para las semillas de mora y ~ 4,5 veces superior a la torta.

Como se observa en la Tabla 4, entre los minerales que se encuentran presentes en los subproductos de la mora, el que tiene el valor más alto es el potasio, esto se evidencia tanto en las semillas como en la pulpa. Según el estudio realizado por Aguirre, et al. (2019) donde caracterizaron subproductos de mora y fresa, se obtuvo que la fresa presenta un contenido de potasio más alto en relación con la mora, sin embargo, en este mismo estudio se resalta el potencial de estos dos subproductos como fuente de potasio. El hierro es otro de los minerales que se encuentra en altas cantidades, por lo que los subproductos de mora, en especial las semillas, pueden ser considerados para el enriquecimiento de otros alimentos pobres en potasio y hierro (Veloz, 2019).

De acuerdo con lo indicado por Aguirre et al., (2019), el contenido de vitamina C en la pulpa y la semilla de mora es bajo comparado con frutas como guayaba y naranja, que puede deberse a que durante el procesamiento de la mora se llegan a temperaturas elevadas (~ 78 °C) que degradarían la vitamina C (Zapata et al., 2016).

3.1.2 Composición fenólica de mora y sus subproductos

Los datos recopilados para la composición de polifenoles de la mora se muestran en la Tabla 5.

Tabla 5. Composición de *Rubus glaucus*

Parámetro	Valor (base húmeda)	Referencia
Polifenoles totales mgAG*/100g	2 167 ± 835 ^a 1 039,5 ± 57,75 ^b 446 ± 27 ^b	(Vasco et al., 2008) (Mertz et al., 2007) (Horvitz et al., 2017)
Antocianinas mg/100g	175 ± 36,9 ^a 166,65 ± 6,6 ^a	(Horvitz et al., 2017) (Mertz et al., 2007)
Elagitaninos mg/100g	490,05 ± 21,45	(Mertz et al., 2007)
Actividad antioxidante μmolTrolox/100g	5 264 ± 318 ^a 4 100 ± 1600 ^a	(Horvitz et al., 2017) (Vasco et al., 2008)

Letras minúsculas similares significa que no existe diferencia significativa entre valores de los mismos parámetros

Valores reportados en base húmeda

*AG=ácido gálico

El contenido de compuestos fenólicos en la mora (pulpa y semilla) es alto, ya que según el estudio realizado por Vasco et al. (2008), donde se analizó la composición de 19 frutas cultivadas en Ecuador, se determinó que la fruta que contenía el valor de polifenoles más alto fue la mora de castilla con un valor de 2 167 mgAG/100g FF. En este estudio también se analizó a la fresa, fruta que al igual que la mora, se caracteriza por su alto contenido de polifenoles, sin embargo, el contenido de estos compuestos en la mora fue ~8 veces superior al de la fresa (238 mg AG/100g FF).

En la Tabla 5 se observa que el valor de polifenoles más alto fue el reportado por Vasco et al. (2008), que tiene diferencia significativa frente a los demás; entre los valores de polifenoles determinados por Horvitz et al. (2017) y Mertz et al. (2007) no existió diferencia significativa. El valor reportado por Vasco et al. (2008) podría deberse a que en su estudio, los autores realizaron dos extracciones consecutivas, la primera con metanol:agua (50:50; v/v) y la segunda con acetona:agua (70:30; v/v) durante 30 min cada una, según Gironi et al. (2011) las mezclas alcohol y agua cercanas al 50 % v/v permiten una mayor eficiencia en la extracción de polifenoles en comparación con los solventes puros o con poca cantidad de agua, ya que a pesar de que los alcoholes permiten obtener una gran cantidad de extracto, tienen una baja selectividad de polifenoles (Soto et al, 2016). Además, al realizar una segunda extracción con acetona se mejora el rendimiento, ya que a la eficiencia de extracción que muestra la acetona para compuestos fenólicos es alta (Aspé & Fernández, 2011). Mertz et al. (2007) realizaron una doble extracción con una solución de acetona al 60 % y ácido fórmico al 2 % durante 15 min, obteniéndose un valor más bajo que el reportado por Vasco et al. (2008), al igual que Horvitz et al. (2017) quienes realizaron la extracción empleando etanol, ácido fórmico y agua destilada en una proporción de 50:48:2 v/v/v durante 30 min, que se atribuiría al uso de etanol con una baja proporción de agua (Soto et al, 2016).

Los compuestos fenólicos que están presentes en mayor cantidad en la mora son elagitaninos, seguido de antocianinas. En específico, la mora de castilla es uno de los frutos del género *Rubus spp.* que presentan mayor concentración de elagitaninos (490,05 mg/100g FF), pues contiene mayor cantidad de estos compuestos en comparación con *Rubus adenotrichus* (mora silvestre), que presentan valores de 167,97 ± 6,1 mg/100g FF (Mertz, et al., 2007) y de 300 ± 10 mg/100g FF (Acosta, Perez, Donier & Vaillant, 2019), valores con los que se tiene una diferencia significativa.

Las antocianinas se encuentran presentes en altas cantidades en la mora, ya que son pigmentos que van del rojo al azul y brindan el color característico de esta fruta (Aguilera et al., 2011). Los valores de antocianinas encontrados para la pulpa y semilla de mora (Tabla 5) no presentan diferencia entre sí a pesar de las distintas metodologías empleadas. Esto concuerda como lo mencionan Bobo-García et al. (2014) que al comparar el método tradicional y el de microplacas para la cuantificación de antocianinas, obtuvo que no existe diferencia significativa entre ellos.

Según las investigaciones realizadas por Mertz et al., (2007), donde caracterizaron dos variedades de moras, *Rubus glaucus* (mora de castilla) y *Rubus adenotrichus* (mora silvestre), se obtuvo que la mora de castilla presentó mayor cantidad de antocianinas totales que la mora silvestre (188,33 mg/100g FF). De igual manera, una investigación realizada por Zia-Ul-Haq et al. (2014) con *Rubus fruticosus* (zarzamora), obtuvo que de 10 cultivares analizados, 7 presentaron contenidos de antocianinas totales menores a 122 mg/100g FF, valores menores a los reportados para mora de castilla (Tabla 5).

En la Tabla 6 se muestra la composición de antocianinas encontradas en *Rubus glaucus* (mora de castilla).

Tabla 6. Composición de antocianinas de la mora de castilla

ANTOCIANINAS mg/100gmuestra	Valor	
	Cianidin-3-O-rutinósido	100 ± 18,5
Cianidin-3-O-glucósido y Cianidina-3-xilrutinosido	75	62,7 ± 3,3
Total antocianinas	175,7 ± 36,9	166,65
REFERENCIA	(Horvitz et al., 2017)	(Mertz et al., 2007)

Entre las antocianinas presentes en la mora de castilla se encuentran cianidin-3-O-rutinósido (Cy3R), que corresponde cerca del 62 al 65 % del contenido total, seguido de cianidin-3-O-glucósido y en menor cantidad cianidina-3-xilrutinosido, esta composición permite identificar a la mora de castilla y a sus subproductos del resto de especies del género *Rubus*, ya que el resto de frutos de este género presentan mayor cantidad de cianidin-3-O-glucósido (Horvitz, et al.).

Los valores de actividad antioxidante de la mora mostrados en la Tabla 5, no presentan diferencia significativa entre sí. Estos valores representan una actividad antioxidante alta según lo mencionado por Vasco et al., (2008), quienes analizaron la actividad antioxidante de 19 frutas y las dividieron en tres grupos, de alta, media y baja, determinando que la mora pertenece al grupo de alta actividad antioxidante, superado solo por la del capulí (7 600 µmolTrolox/100g FF) y la del taxo (7 000 µmolTrolox/100g FF). La actividad antioxidante de la mora puede deberse a la cantidad de polifenoles totales y de ácido ascórbico presentes en esta fruta (Horvitz et al, 2017 & Aguirre, et al., 2019).

En la Tabla 7 se indica la composición de subproductos de mora.

Tabla 7. Composición del suproducto de *Rubus spp*

Parámetro	Valor	Referencia
Polifenoles totales mgAG*/100g	1728,5	(Quirós, 2016)
Antocianinas mg/100g	152,4	(Quirós, 2016)
Elagitaninos mg/100g	417,7	(Quirós, 2016)
Actividad antioxidante µmolTrolox/100g	Semilla: 4794,44 Torta: 3795,6	(Aguirre et al., 2019)

Valores reportados en base húmeda

El valor de polifenoles totales para los subproductos de mora es similar al reportado por Vasco et al. (2008) para la pulpa de mora. A pesar de no poder determinar estadísticamente si existe o no diferencia significativa entre estos dos valores debido a la falta de datos con respecto a la variación, se puede analizar el intervalo de confianza del valor de polifenoles para la pulpa mostrado en la Tabla FTI.1 presentada en la Ficha técnica 1, donde se observa que el valor reportado para el contenido de polifenoles en el subproducto de mora se encuentra dentro de este intervalo. Esto podría significar que entre estos valores no existe una diferencia significativa, es decir, durante el procesamiento de la mora a pesar de existir una disminución en la cantidad de polifenoles totales debido a las operaciones unitarias involucradas en la industrialización de la mora (Gancel et al., 2011), esta no es significativa.

El contenido de antocianinas presentes en el subproducto de mora (Tabla 7) es similar al de la pulpa (Tabla 5), lo que refleja que la pérdida de este compuesto durante el procesamiento de la mora no es significativa. Esto puede deberse a que a pesar de que durante los procesos de escaldado y despulpado se llegan a altas temperaturas que pueden degradar las antocianinas debido a su termosensibilidad (Zapata et al., 2016), al mismo tiempo la disminución de la humedad conlleva a una mayor concentración de estos compuestos antioxidantes (Aguirre et al., 2019).

En cuanto al contenido de elagitaninos, el valor indicado para la mora es similar al de sus subproductos, esto se da debido a que los elagitaninos se encuentran principalmente en la semilla y unos pocos en el receptáculo, haciendo que estos se conserven en los subproductos de mora. En un estudio llevado a cabo por Hager, Howard, Liyanage, Lay, & Prior (2008), donde caracterizaron los elagitaninos presentes en la mora, se encontró que 12 de estos compuestos se encuentran en la semilla, 8 en el receptáculo y apenas 3 se encuentran en la pulpa, por lo que la semilla es una fuente rica en estos taninos (Quirós, et al., 2019).

La actividad antioxidante es una de las características más sobresalientes de la mora, sin embargo, al analizar las Tablas 5 y 7 se observa que durante el procesamiento industrial de esta fruta existe una disminución en este valor, que puede ocurrir por la degradación de la vitamina C y de los compuestos fenólicos (Athmaselvi et al., 2017). Aun así, la capacidad antioxidante de los subproductos de mora es alta, en especial la de la semilla, ya que supera al valor reportado por Aguirre et al. (2019) para subproductos de fresa (4 394,9 µmolTrolox/100g FF), y a los valores reportados por Fu et al. (2011) para arándanos (126 µmolTrolox/100g FF) y cereza (548 µmolTrolox/100g FF).

Los subproductos de mora representan una fuente para la extracción de antocianinas, compuestos altamente valorados por su pigmentación y por su poder antioxidante (Aguilera et al., 2011) y de elagitaninos, que además de presentar actividad antioxidante, son conocidos por su actividad antibacteriana (Olivas et al., 2015).

3.2 Métodos de extracción y cuantificación de compuestos de interés en subproductos de mora

3.2.1 Extracción de antocianinas

En la Tabla 8 se muestra la concentración de antocianinas en extractos obtenidos mediante diferentes métodos.

Al analizar la concentración de antocianinas obtenidas por los diferentes métodos de extracción (Tabla 8), se observa que el método soxhlet es el que menor concentración reporta, este método presenta diferencia estadísticamente significativa con el resto. Con el método UEA se logra extraer la mayor concentración de antocianinas obteniéndose una concentración aproximadamente 45 % mayor que con el método soxhlet. Esta diferencia significativa puede deberse a que durante la extracción soxhlet se llega a temperaturas cercanas a 78 °C, que corresponde al punto de ebullición del

etanol, lo que generaría la degradación de las antocianinas debido a su termosensibilidad (Quirós, et al., 2016). Zapata et al. (2016) realizaron un estudio en el que se analizó la estabilidad térmica de antocianinas presentes en jugo de arándanos, en este estudio se pasteurizó el jugo a una temperatura de 77 ± 1 °C durante 85 s, que resultó en una disminución del 28,5 % en la concentración de antocianinas.

Tabla 8. Concentración de antocianinas en extractos obtenidos

Método	Concentración de antocianinas mg/L	Condiciones de extracción	Referencia
Soxhlet	$34,44 \pm 0,154^a$	96 % (v/v) etanol t=4 h T=72 °C	(Becerra, et al., 2019)
Maceración	50 ± 4^{bc}	63,65 % (v/v) etanol T=60 °C	(Quirós, 2016)
UAE	$55,772 \pm 0,136^c$	96 % (v/v) etanol t=1,5 h T=40 °C Pt=112,5 W	(Becerra, et al., 2019)
	48 ± 5^b	63,65 % (v/v) etanol t=1,5 h T=60 °C Pt=130 W	(Quirós, 2016)

De acuerdo con los datos reportados por Quirós (2016) no existe diferencia significativa entre el método tradicional de maceración y el alternativo UAE cuando se utiliza la misma concentración del solvente, etanol (63,65 %). Tampoco existe diferencia significativa entre la concentración de antocianinas reportadas por Quirós (2016), con el método tradicional de maceración, y la concentración del método alternativo, UAE, reportada por Becerra, et al., (2019), quienes emplean 63,65 % y 96 % de etanol, respectivamente. Se observa diferencia significativa entre los valores reportados por estos dos autores al emplear el método UAE, esta diferencia puede deberse a la temperatura a la que se da la extracción y a la potencia de la sonicación, ya que esta última aumenta la transferencia de masa (Rodríguez, Robaina, Jáuregui & Blanco, 2013).

En la Tabla 9 se presenta el rendimiento de extracción de antocianinas en extractos obtenidos a partir de subproductos de *Rubus spp.*, en las referencias encontradas.

El método que menor rendimiento de antocianinas presentó fue el empleado por Pasquel, et al., (2014) que emplea CO₂ y agua, en una relación 95:5, como solventes. Este bajo rendimiento se puede deber a que el CO₂ supercrítico es un fluido que presenta una baja polaridad, por lo que se recomienda para la extracción de aceites y lípidos en general (Arciniegas, 2020) (Ameer et al., 2017).

La maceración es el método que presenta menor complejidad entre los indicados en la Tabla 9. Este método, tiene un rendimiento significativamente mayor en comparación con el que emplea CO₂ supercrítico, sin embargo, la maceración es un método que presenta ciertas desventajas, como el largo tiempo de extracción (~24 h) debido a que no emplea ninguna fuerza motriz para la extracción de los compuestos de interés (Mohammad et al., 2016) y por la necesidad de evaporación de grandes cantidades del solvente (Rodríguez & Wrolstad, 2001).

Tabla 9. Rendimiento de extracción de antocianinas

Método	Rendimiento de extracción de antocianinas mgCy3G/100MF	Condiciones de extracción	Referencia
Maceración			
Metanol	121 ± 2^c	t=24 h	(Machado, et al., 2015)
Soxhlet			
Etanol	168 ± 23^a	t=5 h T=80 °C	(Machado, et al., 2015)
Metanol	133 ± 1^{bc}	t=5 h T=80 °C	(Machado, et al., 2015)
Extracción asistida por ultrasonido			
Etanol	$136,8^{**}$	63,65 % (v/v) etanol t=1,5 h T=60 °C P=130 W	(Quirós, 2016)
Extracción acelerada por solventes (líquido presurizado)			
Etanol	140 ± 2^b	50 % (v/v) etanol t=0,5 h T=60 °C	(Machado, et al., 2015)
Extracción con fluido supercrítico + UAE			
CO ₂ + agua	$59,81 \pm 0,24^d$	t=1 h T=60 °C P=15 MPa	(Pasquel, et al., 2014)

*MF=muestra fresca

**Autor no indica la desviación estándar

Los métodos de extracción por soxhlet con metanol (133 ± 1) y extracción acelerada con etanol (140 ± 2), estadísticamente presentan el mismo rendimiento de antocianinas. El rendimiento reportado por Quirós (2016) de 136,8, al estar entre estos dos valores podría pertenecer al mismo grupo estadístico, lo que indicaría que tampoco existiría diferencia entre estas dos metodologías y UAE.

La variación en los rendimientos de extracción de antocianinas entre UAE y PLE, que son dos metodologías de extracción emergentes, se puede explicar por una posible degradación de las antocianinas ya que, al emplear sonicación, se producen radical hidroxilo que ocasionan la oxidación de estos compuestos (Ameer et al., 2017). Además, a pesar de que la sonicación mejora los rendimientos de extracción, al ser un procedimiento indirecto, va a existir una diferencia de potencia entre el emisor ultrasónico y lo que llegaría a la muestra (Rodríguez et al., 2013), según Mohammad et al. (2016) la presencia de una fase dispersa (muestra:solvente) contribuiría a la atenuación de la onda de ultrasonido.

El valor de rendimiento de antocianinas obtenido mediante UAE que se refleja en la Tabla 9 es el resultado de ensayos realizados por Quirós (2016) donde se buscó la optimización de este valor tomando como variables de entrada la temperatura y la concentración de etanol (56,79, 63,65, 73,37, 88,41 %; v/v), como resultado se obtuvo que los valores de mayor rendimiento de antocianinas fueron 63,65 % y 73,37 %, lo que muestra que a concentraciones de alcohol superiores a las mencionadas, la recuperación de estos compuestos no varía significativamente. Esto se corrobora con lo mencionado por Ordóñez, Esparza & Osorio (2019), que al emplear distintas concentraciones de etanol para la extracción de antocianinas en moras frescas mediante UAE, determinaron que no existe diferencia significativa en la cantidad de antocianinas recuperadas al emplear etanol al 70 y 90 %, mientras se

mantengan constante las condiciones como el tiempo de extracción y la relación entre el soluto y el solvente.

Con el método soxhlet (método convencional de extracción) se observa el mayor rendimiento de antocianinas extraídas, sin embargo, es necesario considerar las variables como el tiempo de extracción y la cantidad de solvente empleados, este método requiere de un tiempo 9 veces mayor que el empleado para la extracción PLE, mientras que el tiempo de extracción al emplear UAE corresponde al 30 % del necesario para llevar a cabo una extracción mediante el método soxhlet, por lo que la extracción mediante UAE también se presenta como una buena alternativa.

En cuanto a la relación entre masa de solvente y masa de muestra empleadas, esta es mayor en el método soxhlet, donde por cada gramo de muestra se emplean cerca de 40 g de disolvente, mientras que para PLE la relación es de 18 a 1, es decir, con el método de extracción acelerada se ahorra 55 % del solvente (Machado, et al., 2015).

Es importante resaltar que los ensayos que presentaron altos rendimientos en la extracción de antocianinas fueron aquellos que emplearon una solución de etanol como solvente, lo que puede deberse a su polaridad. Las antocianinas son compuestos medianamente polares, por lo que se disuelven en solventes semejantes. El agua es un solvente altamente polar, por lo que, al usarla de forma pura, la extracción no sería eficiente, sin embargo, al combinarla con otros solventes como el etanol, el rendimiento de la extracción aumenta (Pasquel, et al., 2014), ya que por una parte el etanol tiene una mayor afinidad a las antocianinas, mientras que el agua ayuda en la desorción del soluto de la matriz (Machado, et al., 2015).

3.2.2 Extracción de elagitaninos

En la Tabla 10 se muestran los rendimientos de extracción de elagitaninos con la información recopilada.

Tabla 10. Rendimiento de elagitaninos en extractos obtenidos por diferentes métodos

Método	Contenido de elagitaninos mg AE/100MF	Condiciones de extracción	Referencia
Maceración en frío	827,9 ± 8,9 ^a	60 % (v/v) acetona t=6 h	(Milczarek, et al., 2021).
		Residuo de jugo	
Maceración en caliente	310,3 ± 3,5 ^b	60 % (v/v) acetona t=6 h	(Milczarek, et al., 2021).
		Residuo de puré	
Extracción asistida por ultrasonido	268,37**	63,65 % (v/v) etanol t=2 h T=60 °C	(Quirós, et al., 2019)
		63,65 % (v/v) etanol T=1,5 h T=60 °C P=130 W	(Quirós, 2016)

*MF=muestra fresca

**Autor no indica la desviación estándar

Como se observa en la Tabla 10, los rendimientos de elagitaninos que presentan el valor más bajo son aquellos que emplean etanol como solvente. En los ensayos realizados por Quirós (2016) y Quirós, et al. (2019) se emplea etanol en condiciones ácidas, con pH ~ 3,2, esto debido a que los

elagitaninos forman enlaces con proteínas, pigmentos o iones, por lo que se requiere un proceso de hidrólisis para liberar los elagitaninos y el ácido elágico. En los ensayos mencionados emplean la hidrólisis ácida que se da a pH entre 2 y 4 (Sójka, Janowski & Grzelak-Błaszczak, 2019), sin embargo, según Milczarek, et al. (2020), el solvente que presenta una mayor eficiencia en la hidrólisis y extracción de elagitaninos es la acetona en condiciones ácidas, razón por la que, a pesar de emplear métodos de extracción diferentes, maceración y UAE, los rendimientos son parecidos, es decir la influencia de la sonicación no es significativa al usar etanol.

No se pudo determinar la existencia o no de una diferencia significativa entre el uso de acetona mediante maceración y el uso de etanol con este mismo método, debido a la falta de valores, sin embargo, en la Tabla 10 se evidencia que el uso de acetona como solvente mejora el rendimiento de extracción de elagitaninos en aproximadamente el 15 % (Milczarek, et al. 2020)

El rendimiento de extracción de elagitaninos más alto se obtiene mediante el empleo del método de maceración en frío con acetona en residuos de jugo, incluso se puede observar que este valor es mayor al contenido inicial de elagitanos mostrado en la Tabla 6. Esto se puede justificar debido a que el resultado de la caracterización inicial de estos compuestos en subproductos de mora se realizó con el método tradicional, mientras que en el ensayo realizado por Milczarek, et al. (2021) se empleó la extracción tradicional mediante acetona, seguido de una hidrólisis de los elagitaninos de la pulpa a 40 °C durante 1 h mediante el uso de enzimas pectinolíticas, lo que permitió la liberación del ácido elágico y con el uso de la acetona, la despolimerización de los elagitaninos. De acuerdo con ensayos realizados por Galarza (2017), el uso de enzimas permite la recuperación de un mayor porcentaje de elagitaninos, en este mismo estudio se comprobó que para optimizar la extracción de estos compuestos se debe usar pectinasa a una concentración de 0,07 ml/mL de puré de pulpa y 1 g/mL de puré de semillas trituradas.

Los extractos de elagitaninos obtenidos a partir de residuos de jugo y de puré de mora presentan una diferencia significativa, lo que se atribuye a los procedimientos empleados para la obtención de estos compuestos. Para la obtención de jugo de mora se prensó la pulpa a una presión de 100 bares durante 5 min, mientras que para la elaboración de puré se empleó un colador, (Milczarek, et al., 2021), por lo que en el residuo del jugo de mora se obtuvo mayor proporción de sólidos en comparación con el puré lo que pudo haber incrementado la concentración de elagitaninos (Hager et al.,2008).

Al comparar el rendimiento de elagitaninos extraídos de los subproductos de mora con otras frutas de la misma familia taxonómica, se observa que, al emplear la hidrólisis enzimática seguida de una extracción con acetona, los subproductos de fresa y la frutilla silvestre presentaron un contenido de elagitaninos 77,9 % y 86,11 % respectivamente menor para los residuos de jugo y 84,85 % y 76,96 % respectivamente menor para los residuos de puré que en comparación con los de mora (Milczarek, et al., 2021).

A continuación, se presenta la Tabla 11 en la que se muestra el rendimiento de elagitaninos en extractos concentrados con diversos métodos.

Tabla 11. Concentración de elagitaninos en extractos obtenidos por diferentes métodos

Procedimientos	Concentración de elagitaninos (mg/g BS*)	Concentración de elagitaninos (mg/g)
Concentración mediante vacío	54,21	108,4
Ultrafiltración (retenido)	78,27	101,75
Ultrafiltración (permeado)	22,7	11,35
Secado spray dryer	5,94	538,81
Vacío + Secado spray dryer	7,24	696,49
Ultrafiltración Secado	5,4	518,4

*BS=Base seca

(Quirós et al., 2019)

El método que permite una mayor concentración de elagitaninos en extractos líquidos es la concentración mediante vacío, que se lleva a cabo a una temperatura de 40 °C y presión de 70 mmHg, este método al usar temperaturas bajas permite una alta recuperación de estos compuestos (Milczarek, et al., 2020). Sin embargo, al compararlo con el extracto obtenido mediante ultrafiltración se observa que si bien, este tiene una menor concentración de elagitaninos, presenta una mayor pureza, es decir, tiene menor concentración de otros compuestos como azúcares y antocianinas (Milczarek, et al., 2021). Esto puede deberse a que, en el procedimiento de ultrafiltración, se empleó una membrana con corte de peso molecular de 2000 Da, mientras que el peso molecular de las antocianinas está entre 450 y 550 Da (Acosta et al., 2019), razón por la que el permeado presentó alta concentración de antocianinas, pero baja en elagitaninos, ya que estos compuestos tienen pesos moleculares entre 1 800 y 2 900 Da (Acosta et al., 2019).

En cuanto a la concentración de los extractos en polvo reportados en la Tabla 11, el que presenta el mayor contenido de elagitaninos es el que emplea el método de concentración al vacío seguido de secado mediante spray dryer, sin embargo, en los tres procedimientos que se usaron para obtener un extracto en polvo, la retención de elagitaninos fue baja, lo que podría deberse a que en el secado por spray dryer se empleó maltodextrina para microencapsular los compuestos y debido al gran peso molecular que tienen los elagitaninos, la microencapsulación no fue adecuada (Quirós, et al., 2019 & Kuck & Noreña, 2016).

3.3 Aplicaciones de compuestos de interés en subproductos de mora

3.3.1 Aplicaciones de antocianinas

Debido a las propiedades de las antocianinas, se las podría utilizar en las industrias alimenticia, cosmética, y farmacéutica (Abadiano, 2015). Las aplicaciones de estos compuestos dependen del solvente empleado, al usar etanol, que es un solvente tipo GRAS, los extractos se pueden usar para la

industria alimenticia, lo que no ocurre con el metanol, que resulta tóxico para la salud (Quirós et al., 2019).

En la industria alimenticia, las antocianinas pueden ser empleadas como colorantes, ya que presentan una toxicidad baja. Actualmente, se dispone del colorante E163, que consiste en antocianinas extraídas de piel la de uva negra, zanahoria negra y col morada y su consumo no presenta efectos adversos a la salud (Eng, Azlan, Teng & Meng, 2017). Por el contrario, los colorantes sintéticos han despertado preocupación por los efectos relacionados con alteración en el comportamiento de niños, como la hiperactividad (McCann, et al., 2007). Según Kobylewski & Jacobson (2012) los colorantes sintéticos como el azul N° 1, rojo N° 40 y amarillo N° 6 pueden producir reacciones alérgicas e incluso tener contaminantes carcinogénicos.

Las antocianinas pueden ser empleadas como colorantes en la industria cosmética, principalmente en productos que requieran coloraciones rojizas (Eng et al., 2017). Es por esto que, las antocianinas extraídas de subproductos de mora, sería una opción que permitiría revalorizar los desechos de esta fruta y por ende generar menor cantidad de residuos (Quirós et al., 2019).

Sin embargo, las antocianinas son compuestos inestables frente a factores químicos como el pH, temperatura y oxígeno. El pH es el factor que afecta la estabilidad y el color de estos compuestos, debido a su naturaleza iónica, es decir, dependiendo de la forma en la que se encuentren estos compuestos, presentan un color distinto. (He, 2010) Las estructuras en las que se presentan las antocianinas dependiendo del pH son: catión flavilo, que es la forma más estable, presenta un color rojo y tiene pka de 2,6 (Garzón, 2008), al incrementar el pH, ocurre una deprotonación y adición de agua formando chalcona y carbinol, que son incoloras e inestables. Al llegar a pH 7 en adelante se presentan formas quinoidales que tienen un color púrpura y son susceptibles a la oxidación.

Para usarse como colorantes, se prefieren las antocianinas del tipo aciladas, que son aquellas que presentan sustituciones glucosídicas y acilaciones con ácidos orgánicos alifáticos o aromáticos. Estos compuestos presentan un pK más alto en comparación con las antocianinas no aciladas, lo que las mantiene en forma de catión flavilo a pHs más altos y por lo tanto podrían usarse como colorantes en alimentos que presentan pH mayores a 3 (He, 2010). Como se mencionó anteriormente, la mayor proporción de antocianinas presentes en subproductos de *Rubus spp.*, son antocianinas del tipo Cy3R y Cy3G, que corresponden al grupo de antocianinas no aciladas, por lo que, podrían utilizarse como colorantes rojizos en alimentos con pH menores a 3, por esto se requiere de alternativas que permitan mejorar la estabilidad de este tipo de antocianinas a pHs mayores (Pasquel et al., 2014).

La microencapsulación es una operación unitaria que permite la protección de los compuestos bioactivos y retrasa su degradación, además de permitir su liberación controlada por rompimiento o solubilización del agente encapsulante. La eficiencia de la retención de antocianinas depende en gran

medida del material encapsulante, en estudios realizados por Abadiano (2015) donde se emplearon como agente encapsulante una mezcla entre goma arábica y maltodextrina en distintas proporciones, se obtuvo como resultado una retención del 75,31 % con una proporción goma arábica-maltodextrina de 1:9, que permitió la mayor retención de antocianinas. Al analizar el tiempo de vida de este microencapsulado, se determinó que, al almacenarlo en una funda de aluminio a temperatura ambiente, el tiempo de vida es de 317 días. En otros estudios realizados por Pieczykolan & Kurek (2019), en el que emplearon distintos agentes encapsulantes para la microencapsulación de antocianinas de *Photinia melanocarpa*, se obtuvo que la mejor combinación de agentes encapsulantes fue de maltodextrina con goma guar, ya que al realizar un análisis al día 0 y a los 7 días, el porcentaje de pérdida de antocianinas fue del 5,81 %, mientras que al usar una mezcla entre maltodextrina y goma arábica, la pérdida fue del 20,42 %.

Las antocianinas se pueden emplear en las industrias alimenticia y farmacéutica debido a los beneficios que estos compuestos presentan en la salud que se dan principalmente debido a su capacidad antioxidante, por la oxidación de los grupos hidróxilo fenólicos presentes en su estructura. (Mattioli, Francioso, Mosca & Silva, 2020). En específico Cy3G presenta actividad en el sistema liposomal ya que reduce la formación de malondialdehído, que es el producto de la peroxidación lipídica y se considera como un marcador de estrés oxidativo. Además, en un estudio realizado por Brown & Kelly (2007), se demostró que esta antocianina presenta un efecto antioxidante sobre la oxidación de LDL inducida por cobre II.

Las antocianinas son compuestos biodisponibles y aprovechables por el cuerpo humano. Czank, et al. (2013), determinaron que la biodisponibilidad de las antocianinas, en específico de Cy3G es de cerca de $12,38 \pm 1,38$ %, valores mayores a lo reportados anteriormente por la literatura (Kay, 2006 & García, Minihane, Rimbach, Rivas & de Pascual, 2009).

Las antocianinas tipo Cy3G son compuestos antidiabéticos, en un estudio *in vitro* realizado por Jayaprakasam, Vareed, Olson & Nair (2005) se reportó que el uso de 5 µg/mL de Cy3G a una concentración de glucosa de 4 mM, incrementó la secreción de insulina 0,4 veces comparado con la secreción de insulina de células sin tratamiento. En un estudio realizado por Li, Zhang, Liu, Sun & Xia (2015), donde participaron 87 pacientes diabéticos, de los cuales 58 consumieron 320 mg de antocianinas diarios durante 24 semanas, se determinó que los pacientes que recibieron el tratamiento, tuvieron un índice de resistencia a la insulina 13 % menor y una reducción de 8,5 % en glucosa en sangre en ayunas en comparación con los pacientes control.

Otra característica que presentan las antocianinas es su actividad antimicrobiana, que se da al alterar la pared celular y la membrana de las bacterias (Eng et al., 2017). En un estudio realizado por González et al. (2013), donde se empleó un extracto de mora con una concentración de 1 400 µg/mL, para establecer su efectividad contra bacterias orales que causan

enfermedades periodontales, se determinó que las antocianinas presentes en este extracto tuvieron un porcentaje de inhibición de la actividad metabólica de *Fusobacterium nucleatum* y *Porphyromonas gingivalis*, de 83,5 % y 40,9 %, respectivamente; mientras que al usar 0,1 % de clorhexidina, un bactericida comercial, la inhibición contra las mismas bacterias fue del 29,1 % y 57 %, respectivamente. Esto, sumado a las propiedades antiinflamatorias de las antocianinas hace que estos compuestos se consideren como una alternativa para la prevención y el tratamiento de infecciones periodontales

En otro estudio llevado a cabo por Krzepińko, Prażak & Święciło (2021), donde se obtuvo un extracto antociánico a partir de yemas de hojas de mora, se observó que al usar 10 µL del extracto en placas donde previamente fueron cultivadas bacterias, se presentaron zonas de inhibición de crecimiento para *Staphylococcus aureus* y *Enterococcus faecalis* y en menor cantidad contra *Enterobacter aerogenes*, lo que refleja la actividad antibacteriana de las antocianinas. Sin embargo, de acuerdo con lo mencionado por Eng et al. (2017), la actividad antimicrobiana de los extractos antociánicos no se debe solamente a la presencia de estos compuestos, sino a los efectos sinérgicos entre antocianinas, ácidos orgánicos y otros compuestos fenólicos.

3.3.2 Aplicaciones de elagitaninos

Los taninos han sido considerados tradicionalmente como compuestos antinutricionales, ya que interfieren en la digestibilidad de las proteínas y carbohidratos. Sin embargo, este concepto ha ido evolucionando con las investigaciones realizadas, es así que, los elagitaninos han atraído la atención debido a sus propiedades antiinflamatorias, antibacteriales y antioxidantes, lo que permite su aplicación principalmente en las industrias alimenticia y farmacéutica (Ortega, Barka, Pasos & Rodríguez, 2019).

Es importante indicar que para el uso de elagitaninos en la industria alimenticia, se debe considerar que los solventes empleados sean aptos para estar en contacto con alimentos de acuerdo con la FDA (2021). Según este organismo, la acetona es un solvente regulado, mientras que el etanol es considerado como GRASS, por lo que, al realizar una extracción con este solvente, el extracto obtenido podría ser apto para su uso en alimentos.

La aplicación de los elagitaninos en las industrias alimenticia y farmacéutica se basa en su capacidad antiinflamatoria, ya que se puede emplear para mejorar la salud gastrointestinal y para prevenir y tratar enfermedades en el tracto gastrointestinal (Márquez, et al. 2019). Marín, Giner, Ríos & Recio (2013) realizaron un estudio en el que se suplementó elagitaninos a ratones a los que se indujo colitis ulcerosa aguda y crónica. A los ratones con colitis ulcerosa aguda se les dio ácido elágico al 5 % durante 7 días, lo que resultó en una reducción de tres marcadores proinflamatorios en 35 %, 85 % y 55 %, respectivamente, en comparación con el grupo control. A los ratones inducidos con colitis ulcerosa crónica se les suplementó 25 mg de ácido elágico diarios, resultando en la reducción del índice de actividad de la enfermedad en 24 %,

además, se observó una reducción del radio peso/longitud (muestra de inflamación) del colon del 48 % en comparación con el grupo control. De igual manera, en un estudio *in vivo* en ratas, realizado por Rosillo, et al. (2012), se demostró que el consumo de ácido elágico a una dosis de 10 mg/Kg/día redujo la expresión de enzimas indicadoras de la inflamación en la enfermedad de Cronh.

En un estudio *in vivo* de cáncer de colon inducido en ratas, a las que se suplementó ácido elágico a una dosis diaria de 60 mg/Kg durante 15 días, se observó una disminución en un 18,7 % de dos marcadores tumorales que facilitan la proliferación de las células cancerígenas, además se mostró un aumento en 24 % en la cantidad de proteínas que inducen apoptosis en comparación con el tratamiento que no empleó ácido elágico (Umesalma & Sudhandiran, 2011). Este resultado se confirma con estudios *in vitro* realizados por Zhao et al. (2017), que emplearon 125 µM de ácido elágico como medio de cultivo de células cancerígenas de colon, donde su viabilidad disminuyó en 80 %. En los estudios realizados por Umesalma & Sudhandiran (2011) se observó además que el consumo de elagitaninos induce índice la apoptosis de las células de cáncer, sin comprometer a las células sanas.

Sangiovanni et al. (2013) demostraron que los elagitaninos de las especies del género *Rubus* son una alternativa de tratamiento para controlar y prevenir la irritación de la mucosa gástrica causada por *Helicobacter pylori*, ya que en un estudio *in vivo* en ratas que consumieron 20 mg/Kg/día de elagitaninos se observó una reducción de 88 % de las lesiones presentes en la mucosa y en un estudios *in vitro* con células epiteliales gástricas donde se emplearon elagitaninos en una concentración de 2 µg/mL como medio de cultivo, se observó la reducción del 67 % y 57 % de dos citoquinas proinflamatorias.

Polischuk, Komisarenko, Upyr, Kovaleva & Komisarenko (2019) resaltan los beneficios de los elagitaninos como antibacteriales, anticancerígenos y antiinflamatorios. La actividad antibacteriana de los elagitaninos se puede dar por la inhibición de las enzimas extracelulares de la bacteria, la interacción con la pared celular para hacerla más permeable, la alteración del metabolismo microbiano y la privación de iones metálicos. Según Huang, Liu, Zhao, Hu & Wang (2018) la actividad antimicrobiana de los elagitaninos contra bacterias gram positivas es mayor que para bacterias gram negativas, debido a la membrana externa que poseen este tipo de bacterias.

En un estudio realizado por Polischuk et al. (2019), donde analizaron la actividad antimicrobiana de elagitaninos de *Rubus idaeus*, fruta que presenta una composición de elagitaninos similar a la mora (ácido elágico, sanguini H-6 y lambertianin C), se determinó que estos compuestos presentaron actividad antibacteriana contra *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Bacillus subtilis*. Al emplear un extracto de esta fruta a una concentración de 22,6 mg ET/mL se observaron zonas de inhibición significativas para estas bacterias. A pesar de que los elagitaninos son catalogados como compuestos antibacteriales, no ejercen actividad antimicrobiana contra los probióticos. En los ensayos

realizados por Puljula, Walton, Woodward & Karonen (2020), donde se cultivaron distintas bacterias junto con extractos de ácido elágico al 0,5 mM se observó que estos compuestos ejercían una actividad inhibitoria frente a bacterias como *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*, pero no tuvieron efecto alguno sobre cepas de *Lactobacillus plantarum*. Sin embargo, la actividad antimicrobiana encontrada en los extractos puede deberse, además de a los elagitaninos, a la actividad sinérgica entre distintos compuestos propios de la fruta (Eng et al., 2017).

4. CONCLUSIONES

El 40 % de la mora corresponde a subproductos, que están constituidos por semillas y torta, lo que genera cantidades importantes de residuos que no son aprovechados y se destinan a rellenos sanitarios.

Los subproductos agroindustriales de mora constituyen una fuente para la recuperación de compuestos bioactivos, principalmente antocianinas y elagitaninos, lo que representa una alternativa para la revalorización de residuos.

Los métodos alternativos de extracción permiten recuperar mayor cantidad de compuestos de interés, emplean menos tiempo y temperatura de extracción y menor cantidad de solvente frente a los métodos tradicionales, por lo que representan una alternativa más amigable.

Para la extracción de antocianinas se recomienda el uso del método de extracción acelerada por solventes con etanol, mientras que para la extracción de elagitaninos se recomienda el empleo de una hidrólisis enzimática.

El empleo de etanol como solvente de extracción de antocianinas y elagitaninos permite el uso de estos compuestos en la industria alimenticia, lo que no ocurre con metanol y acetona

Los extractos antociánicos podrían emplearse como colorantes en productos con pH cercano a 3, además se podrían usar para la elaboración de alimentos funcionales por su capacidad antioxidante y como antibióticos contra periodontopatógenos y patógenos como *Staphylococcus aureus* y *Enterococcus faecalis*.

La aplicación de los elagitaninos podría darse en la industria alimenticia y farmacéutica, ya que presentan propiedades antioxidantes, antibacteriales y antiinflamatorias en casos de colitis ulcerosa, enfermedad de Crohn y cáncer de colon.

REFERENCIAS

- Abadiano, L. (2015). Desarrollo de un ingrediente funcional a partir de pulpa de mora (*Rubus gkaucus benth*) y pulpa de mortiño (*Vaccinium floribundum kunt*). Obtenido de: <https://bibdigital.epn.edu.ec/bitstream/15000/11951/1/CD-6599.pdf> (Enero, 2022).
- Acosta, O., Perez, A., Donier, M., & Vaillant, F. (2019). Method for obtaining an extract rich in ellagic acid tannins

- from fruits that contain these compounds, and resulting extract. United States Patent.
- Aguirre, A., Cubillos, L., Tarazona-Díaz, M., & Rodríguez, L. (2019). Efecto del tratamiento y tiempo de almacenamiento sobre los compuestos funcionales de subproductos de mora y fresa. *Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica*, 22(1). <https://doi.org/10.31910/rudca.v22.n1.2019.1169>
- Aguilera, M., Reza, M., Chew, R., & Meza, J. (2011). Propiedades funcionales de las antocianinas. *Revista de ciencias biológicas y de la salud*, 13(2), 16-22.
- Ameer, K., Muhammad, H., & Kwon, J. (2017). Green Extraction Methods for Polyphenols from Plant Matrices and Their Byproducts: A Review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 16, 295-315. doi: 10.1111/1541-4337.12253
- AOAC. (2012). Official Methods of Analysis. Obtenido de: <http://www.eoma.aoc.org/> (Febrero, 2022).
- Arciniegas, V. (2020). Recuperación de compuestos bioactivos de subproductos de la industria alimentaria mediante el empleo de mezclas etanol/agua presurizadas. Obtenido de: https://riubu.ubu.es/bitstream/handle/10259/5611/Arciniegas_Cabrera.pdf?sequence=1 (Enero, 2022).
- Aspé, E., & Fernández, K. (2011). Comparison of phenolic extracts obtained of *Pinus radiata* bark from pulp and paper industry and sawmill industry. *Maderas. Ciencia y Tecnología*, 13(3), 243-252. doi:10.4067/s0718-221x2011000300001
- Ayala, L., Valenzuela, C., & Bohórquez, Y. (2013). Caracterización fisicoquímica de mora de castilla (*Rubus glaucus* Benth) en seis estados de madurez. *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 11(2), 10-18.
- Barba, F., Zhu, Z., Koubaa, M., Sant'Ana, A., & Orlie, V. (2016). Green alternative methods for the extraction of antioxidant bioactive compounds from winery wastes and by-products: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 49, 96-109. doi:10.1016/j.tifs.2016.01.006
- Becerra, N., Muñoz, A., & Lucero, A. (2019). Obtención de un extracto antocianínico a partir del residuo de mora de castilla (*Rubus glaucus benth*). *Fundación universidad de América Revista de investigación*, 12(2), 99-112. <https://doi.org/10.29097/2011-639X.298>
- Bobo-García, G., Davidov-Pardo, G., Arroqui, C., Vírveda, P., Marín-Arroyo, M. & Navarro, M. (2014). Intra-laboratory validation of microplate methods for total phenolic content and antioxidant activity on polyphenolic extracts, and comparison with conventional spectrophotometric methods. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 95(1), 204-209. doi:10.1002/jsfa.6706
- Brown, J., & Kelly, M. (2007). Inhibition of lipid peroxidation by anthocyanins, anthocyanidins and their phenolic degradation products. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 109(1), 66-71. <https://doi.org/10.1002/ejlt.200600166>
- Calero, V. (2010). Estudio de prefactibilidad para la producción de mora (*Rubus lanciniatus*). Obtenido de: <https://repositorio.usfq.edu.ec/bitstream/23000/952/1/95097.pdf> (Noviembre, 2021).
- Czank, C., Cassidy, A., Zhang, Q., Morrison, D., Preston, T., Kroon, P., Botting, N., & Kay, D. (2013). Human metabolism and elimination of the anthocyanin, cyanidin-3-glucoside: a 13C-tracer study. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 97(5), 995-1003. doi: 10.3945/ajcn.112.049247.
- Eng H, Azlan, A., Teng S., & Meng, S. (2017). Anthocyanidins and anthocyanins: colored pigments as food, pharmaceutical ingredients, and the potential health benefits. *Food & nutrition research*, 61(1). doi:10.1080/16546628.2017.1361779
- Moreiras, O., Carbajal, A., Cabrera, L., & Cuadrado, C. (2013). Tablas de composición de alimentos. FEN. Obtenido de: <https://sennutricion.org/es/2013/05/14/tablas-de-composicin-de-alimentos-moreiras-et-al> (Febrero, 2022).
- Fu, L., Xu, B., Xu, X., Gan, R., Zhang, Y., Xia, E., & Li, H. (2011). Antioxidant capacities and total phenolic contents of 62 fruits. *Food Chemistry*, 129(2), 345-350. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.04.079>
- Galarza, G. (2017). Efecto de la acción enzimática en la hidrolización de elagitaninos e incremento de ácido elálgico en mora, frambuesa y guayaba. Obtenido de: <https://bdigital.zamorano.edu/bitstream/11036/5967/1/AGI-2017-024.pdf> (Enero, 2022).
- Gancel, A.-L., Feneuil, A., Acosta, O., Pérez, A. M., & Vaillant, F. (2011). Impact of industrial processing and storage on major polyphenols and the antioxidant capacity of tropical highland blackberry (*Rubus adenotrichus*). *Food Research International*, 44(7), 2243-2251. doi:10.1016/j.foodres.2010.06.013
- García, E., Fernández, I., & Fuentes, A. (n.d.), Determinación de polifenoles totales por el método de FolinCiocalteu. Obtenido de: <https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/52056/Garcia%20Mart%C3%ADnez%20et%20al.pdf?sequence=1> (Noviembre, 2021).
- García, M., Minihane, A., Rimbach, G., Rivas, J., & de Pascual, S. (2009). Red wine anthocyanins are rapidly absorbed in humans and affect monocyte chemoattractant protein 1 levels and antioxidant capacity of plasma. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 20(7), 521-529. doi:10.1016/j.jnutbio.2008.05.011

- Garzón, G. (2008). Las antocianinas como colorantes naturales y compuestos bioactivos: revisión. *Acta Biológica Colombiana*, 13(3), 27-36. Obtenido de: <https://www.redalyc.org/pdf/3190/319028004002.pdf>)Enero, 2012).
- Gironi, F., & Piemonte, V. (2011). Temperature and solvent effects on polyphenol extraction process from chestnut tree wood. *Chemical Engineering Research and Design*, 89(7), 857–862. doi:10.1016/j.cherd.2010.11.003
- González, A., Escamilla, C., Dai, J., Ebersole, J., Mumper, R., Miller, C. (2013). Antibacterial effects of blackberry extract target periodontopathogens. *Journal of Periodontal Research*, 48(1), 80-6. doi: 10.1111/j.1600-0765.2012.01506
- Guija, E., Inocente, M., Ponce, J., & Zarzosa, E. (2015). Evaluación de la técnica 2,2-Difenil-1-Picrilhidrazilo (DPPH) para determinar capacidad antioxidante. *Horiz Med*, 15(1), 57-60
- Gupta, S., Prasad, S., & Aggarwal, B. (2016). Anti-inflammatory Nutraceuticals and Chronic Diseases. *Advances in Experimental Medicine and Biology*. doi:10.1007/978-3-319-41334-1
- Hager, T., Howard, L., Liyanage, R., Lay, J. & Prior, R. (2008). Ellagitannin Composition of Blackberry As Determined by HPLC-ESI-MS and MALDI-TOF-MS. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(3), 661–669. doi:10.1021/jf071990b
- He, J. (2010). Anthocyanins: Natural Colorants with Health-Promoting Properties. *Annual Review of Food Science and Technology*, 1, 163-187. <https://doi.org/10.1146/annurev.food.080708.100754>
- Horvitz, S., Chanaguano, D., & Arozarena, I. (2017). Andean blackberries (*Rubus glaucus* Benth) quality as affected by harvest maturity and storage conditions. *Scientia Horticulturae*, 226, 293-301. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scienta.2017.09.002>
- Huang, Q., Liu, X., Zhao, G., Hu, T., & Wang, Y. (2018). Potential and challenges of tannins as an alternative to in-feed antibiotics for farm animal production. *Animal Nutrition*, 4(2), 137–150. doi:10.1016/j.aninu.2017.09.004
- Jayaprakasam, B., Vareed, S., Olson, L., & Nair, M. (2005). Insulin Secretion by Bioactive Anthocyanins and Anthocyanidins Present in Fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 53(1), 28–31. doi:10.1021/jf049018.
- Kay, C. (2006). Aspects of anthocyanin absorption, metabolism and pharmacokinetics in humans. *Nutrition Research Reviews*, 19(01), 137. doi:10.1079/nrr2005116
- Kobylewski, S., & Jacobson, F. (2012). Toxicology of food dyes. *International Journal of Occupational and Environmental Health*, 18(3), 220–246. doi: 10.1179/1077352512Z.00000000034
- Krzepińko, A., Prażak, R., & Świącilo, A. (2021). Chemical Composition, Antioxidant and Antimicrobial Activity of Raspberry, Blackberry and Raspberry-Blackberry Hybrid Leaf Buds. *Molecules*, 26(2), 327. <http://doi.org/10.3390/molecules26020327>
- Kuck, L., & Noreña, C. (2016). Microencapsulation of grape (*Vitis labrusca* var. Bordo) skin phenolic extract using gum arabic, polydextrose, and partially hydrolyzed guar gum as encapsulating agents. *Food Chemistry*, 194, 569–576. doi: 10.1016/j.foodchem.2015.08.066
- Lee, J. (2017). *Blackberries and Their Hybrids*. Ohio, USA: Harvey Hall.
- Li, D., Zhang, Y., Liu, Y., Sun, R., & Xia, M. (2015). Purified anthocyanin supplementation reduces dyslipidemia, enhances antioxidant capacity, and prevents insulin resistance in diabetic patients. *Journal of Nutrition*, 145(4), 742–748. doi: 10.3945/jn.114.205674
- Machado, A., Pasquel, J., Barbero, G., & Martínez, J. (2015). Pressurized liquid extraction of bioactive compounds from blackberry (*Rubus fruticosus* L.) residues: a comparison with conventional methods. *Food Research International*, 77, 675–683. doi:10.1016/j.foodres.2014.12.042
- Marín, M., Giner, R., Ríos, J., Recio, M. (2013) Intestinal anti-inflammatory activity of ellagic acid in the acute and chronic dextrane sulfate sodium models of mice colitis. *Journal of Ethnopharmacology*, 150(3):925–934. doi: 10.1016/j.jep.2013.09.030
- Márquez, A., Chávez, M., & Hernández, J. (2019). Aspectos generales sobre los elagitaninos y su conversión a ácido elágico. *Ciencia Nicolaita*, 77, 36-58. Obtenido de: <https://www.cic.cn.umich.mx/cn/article/view/458/374> (Febrero, 2021)
- Mattioli, R., Francioso, A., Mosca, L., & Silva, P. (2020). Anthocyanins: A Comprehensive Review of Their Chemical Properties and Health Effects on Cardiovascular and Neurodegenerative Diseases. *Molecules*, 25(17), 3809. doi:10.3390/molecules25173809
- McCann, D., Barrett, A., Cooper, A., Crumpler, D., Dalen, L., Grimshaw, K., Kitchin, E., Lok, K., Porteous, L., Prince, E., Sonuga, E., Warner, J., & Stevenson, J. (2007). Food additives and hyperactive behaviour in 3-year-old and 8/9-year-old children in the community: a randomised, double-blinded, placebo-controlled trial. *The Lancet*, 370(9598), 1560–1567. doi:10.1016/s0140-6736(07)61306-3
- Mertz, C., Cheyner, V., Günata, Z., & Brat, P. (2007). Analysis of phenolic compounds in two blackberry species (*Rubus glaucus* and *Rubus adenotrichus*) by High-Performance Liquid Chromatography with Diode Array Detection and Electrospray Ion Trap Mass Spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(21), 8616–8624. doi:10.1021/jf071475d

- Milczarek A, Sójka M, 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* 13(4) <https://doi.org/10.1007/s12161-020-01762-y>
- Milczarek, A., Sójka, M., & 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*. <https://doi.org/10.1007/s12161-021-02121-1>
- Mohammad, S., Abdul, Z., Wan, S., R., Chua, S., Mustafa, A., & Yunus, N. (2016). Herbal Processing and Extraction Technologies. *Separation & Purification Reviews*, 45(4), 305–320. doi:10.1080/15422119.2016.1145395
- UNITED STATES OF AMERICA. AOAC INTERNATIONAL. Official Methods of Analysis. 6 ed. Maryland (USA): AOAC International, 1997.
- Olivas, F., Wall, A., González, G., López, J., Álvarez, E., de la Rosa, L., & Ramos, A. (2015). Taninos hidrolizables; bioquímica, aspectos nutricionales y analíticos y efectos en la salud. *Nutrición hospitalaria*, 31(1), 55-56.
- Ordóñez, L., Esparza, J., & Osorio, O. (2019). Valorización de subproductos de mora (*Rubus glaucus*): extracción asistida por ultrasonido de antocianinas totales. *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias*, 51(2), 367-380. Obtenido de: <http://intranetsid.uncu.edu.ar/ojs3/index.php/RFCA/article/view/2708> (Febrero, 2021)
- Ortega, K., Barka, F., Pasos, C., Rodríguez, P. (2019). Food Ellagitannins: Structure, Metabolomic Fate, and Biological Properties. *Biological Properties and Current Knowledge*. doi:10.5772/intechopen.86420
- Pasquel, J., da Fonseca, A., Barbero, G., Rezende, C., & Martínez, J. (2014). Extraction of antioxidant compounds from blackberry (*Rubus sp.*) bagasse using supercritical CO₂ assisted by ultrasound. *The Journal of Supercritical Fluids*, 94, 223–233. doi:10.1016/j.supflu.2014.07.019
- Polischuk, I., Komisarenko, M., Upyr, T., Kovaleva, A., & Komisarenko, A. (2019). Study of Rubus Idaeus Juice Ellagitannins and Its Antimicrobial Activity. *International Journal of Pharmacy and Chemistry*. 5(6), 68-71. doi: 10.11648/j.ijpc.20190506.11
- Pieczykolan, E., & Kurek, M. (2019). Use of guar gum, gum arabic, pectin, beta-glucan and inulin for microencapsulation of anthocyanins from chokeberry. *International Journal of Biological Macromolecules*, 129, 665–671. doi:10.1016/j.ijbiomac.2019.02.07
- Puljula, E., Walton, G., Woodward, M., & Karonen, M. (2020). Actividades antimicrobianas de Elagitaninos contra Clostridiales perfringens, Escherichia coli, Lactobacillus plantarum y Staphylococcus aureus. *Molecules*. 25(16). doi: 10.3390/moléculas25163714
- Quirós, A. (2016). Obtención de un extracto etanólico rico en polifenoles a partir de un subproducto del procesamiento industrial de mora. Obtenido de: <http://repositorio.sibdi.ucr.ac.cr:8080/jspui/bitstream/123456789/3619/1/39733.pdf> (Febrero, 2022)
- Quirós, A., Acosta, O., Thompson, E., & Soto, M. (2019). Effect of ethanolic extraction, thermal vacuum concentration, ultrafiltration, and spray drying on polyphenolic compounds of tropical highland blackberry (*Rubus adenotrichos* Schldtl.) by-product. *Journal of Food Process Engineering*, 1-12. doi:10.1111/jfpe.13051
- Reyes, J. (2018). Extracción con Fluidos Supercríticos: Aplicaciones de Interés Farmacéutico. Obtenido de: <https://idus.us.es/bitstream/handle/11441/82249/JOS%C3%89%20REYES%20VARGAS.pdf?sequence=1>
- Rodríguez, L., & Wrolstad, R. (2001). Extraction, Isolation, and Purification of Anthocyanins. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*, 00 (1). doi:10.1002/0471142913.faf0101s00
- Rodríguez, Z., Robaina, M., Jáuregui, U., & Blanco, A. (2013). Empleo de la radiación ultrasónica para la extracción de compuestos bioactivos provenientes de fuentes naturales. Estado actual y perspectivas. *Revista CENIC Ciencias Químicas*. 45, 139-147. Obtenido de: https://www.researchgate.net/publication/270273043_Empleo_de_la_radiacion_ultrasonica_para_la_extraccion_de_compuestos_bioactivos_provenientes_de_fuentes_naturales_estado_actual_y_perspectivas (Febrero, 2022).
- Rosillo, M., Sánchez, M., Cárdeno, A., Aparicio, M., Sánchez, S., Villegas, I., & de la Lastra, C. (2012) Dietary supplementation of an ellagic acid-enriched pomegranate extract attenuates chronic colonic inflammation in rats. *Pharmacology Research*, 66 (3), 235–242. doi: 10.1016/j.phrs.2012.05.006.
- Sangiovanni, E., Vrhovsek, U., Rossoni, G., Colombo, E., Brunelli, C., Brembati, L., Trivulzio, S., Gasperotti, M., Mattivi, F., Bosisio, E., & Dell'Agli, M. (2013). Ellagitannins from Rubus Berries for the Control of Gastric Inflammation: In Vitro and In Vivo Studies. *Plos One*, 8(8). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0071762>
- Sójka., M, Janowski., M, & Grzelak-Błaszczczyk., K. (2019). Stability and transformations of raspberry (*Rubus idaeus* L.) ellagitannins in aqueous solutions. *European Food Research and Technology*. 245,1113–1122. <https://doi.org/10.1007/s00217-018-3212-3>
- Soto, M. & Rosales M. (2016). Sobre la extracción de compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante de extractos de corteza de *Pinus durangensis* y *Quercus sideroxyla*. *Maderas. Ciencia y Tecnología*. 18(4), 701-714. doi: 0.4067/S0718-221X2016005000061
- Umesalma, S., & Sudhandiran, G. (2011). Ellagic acid prevents rat colon carcinogenesis induced by 1, 2 dimethyl

hydrazine through inhibition of AKT-phosphoinositide-3 kinase pathway. *European Journal of Pharmacology*, 660(2-3), 249–258. doi:10.1016/j.ejphar.2011.03.036

Van de Velde, F., Grace, M., Esposito, D., Pirovani, M., & Lila, M. (2016). Quantitative comparison of phytochemical profile, antioxidant, and anti-inflammatory properties of blackberry fruits adapted to Argentina. *Journal of Food Composition and Analysis*, 47, 82–91. <http://dx.doi.org/doi:10.1016/j.jfca.2016.01.008>

Vargas, M., Figueroa, H., Tamayo, J., Toledo, V., Moo, V. (2018). Aprovechamiento de cáscaras de frutas: análisis nutricional y compuestos bioactivos. *Revista Científica Multidisciplinaria de Prospectiva*, 26(2), 1-16. doi:10.30878/ces.v26n2a6

Vasco, C., Ruales, J., & Kamal-Eldin A. (2008). Total phenolic compounds and antioxidant capacities of major fruits from Ecuador. *Food Chemistry*, 111(4), 816–823. doi:10.1016/j.foodchem.2008.04.054

Veloz, A. (2019). Cuantificación y análisis proximal de residuos agroindustriales generados en despulpadoras de fruta del distrito metropolitano de Quito. Obtenido de: <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/17731/1/T-UCE-0004-CAG-064.pdf> . (Noviembre, 2021)

Yepes, S., Montoya, L., Orozco, F. (2008). Valorización de residuos agroindustriales–frutas-en Medellín y el sur del valle del Aburrá, Colombia. *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín*, 61(1), 4422–4431. Obtenido de: <https://revistas.unal.edu.co/index.php/refame/article/view/24742>

Zapata, L., Castagnini, J., Quinteros, C., Carlier, E., Jimenez, M., Cabrera, C. (2016). Estabilidad de antocianinas durante el almacenamiento de jugos de arándanos. *Revista VITAE*, 23(3), 173-183. <http://dx.doi.org/10.17533/udea.vitae.v23n3a03>

Zhao, J., Li, G., Bo, W., Zhou, Y., Dang, S., Wei, J., Li, X., & Liu, M. (2017). Multiple effects of ellagic acid on human colorectal carcinoma cells identified by gene expression profile analysis. *International Journal of Oncology*, 50(2), 613–621. doi:10.3892/ijo.2017.3843

Zia-Ul-Haq, M., Riaz, M., De Feo, V., Jaafar, H., & Moga, M. (2014). *Rubus Fruticosus* L.: Constituents, Biological Activities and Health Related Uses. *Molecules*, 19(8), 10998–11029. doi:10.3390/molecules190810998

ANEXOS

FICHA TÉCNICA I

EJEMPLO DE CONVERSIÓN DE UNIDADES PARA EL ANÁLISIS BROMATOLÓGICO Y DE POLIFENOLES

Objetivo: Realizar conversión de unidades para poder establecer comparación con otros valores en las mismas unidades.

Fundamento: Se empleó el valor de contenido de humedad

Contenido de humedad= 83,5 %

Contenido de polifenoles totales reportados por Mertz et al. (2007) = $630 \frac{\text{mg}}{100\text{gBS}}$

$$6300 \frac{\text{mg}}{100\text{gBS}} * \frac{0,165\text{gBS}}{1\text{gFF}} = 1039,5 \frac{\text{mg}}{100\text{gFF}}$$

FICHA TÉCNICA II

ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LA COMPOSICIÓN FENÓLICA, DE ANTOCIANINAS Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE LA MORA DE CASTILLA (*Rubus glaucus*)

Objetivo: Analizar estadísticamente las diferencias entre los valores reportados por los distintos autores para la composición fenólica, contenido de antocianinas y actividad antioxidante.

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

Las siguientes tablas muestran la media de las variables la composición fenólica, de antocianinas y actividad antioxidante, los errores estándar de cada media, y los intervalos alrededor de cada media. Los intervalos mostrados actualmente están basados en el procedimiento de la diferencia mínima significativa (LSD) de Fisher.

Tabla FTII.1 Medias para Polifenoles totales con intervalos de confianza del 95,00 %

			<i>Error Est.</i>		
<i>Nivel</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>(s agrupada)</i>	<i>Límite Inferior</i>	<i>Límite Superior</i>
1	3	2167,0	279,143	1684,02	2649,98
2	3	1039,5	279,143	556,517	1522,48
3	3	446,0	279,143	-36,9829	928,983
Total	9	1217,5			

Tabla FTII.2 Medias para contenido de antocianinas con intervalos de confianza del 95,00 %

			<i>Error Est.</i>		
<i>Nivel</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>(s agrupada)</i>	<i>Límite Inferior</i>	<i>Límite Superior</i>
1	3	175,0	15,3034	144,956	205,044
2	3	166,65	15,3034	136,606	196,694
Total	6	170,825			

Tabla FTII.3 Medias para Actividad antioxidante con intervalos de confianza del 95,00 %

			<i>Error Est.</i>		
<i>Nivel</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>(s agrupada)</i>	<i>Límite Inferior</i>	<i>Límite Superior</i>
	3	5264,0	665,973	3956,53	6571,47
	3	4100,0	665,973	2792,53	5407,47
Total	6	4682,0			

Las tablas ANOVA presentadas a continuación, descomponen la varianza de las variables de salida en dos componentes: un componente entre-grupos y un componente dentro-de-grupos. En las tablas con el valor-P mayor o igual que 0.05, no existe una diferencia estadísticamente significativa entre los grupos.

Tabla FTII.4 ANOVA para Polifenoles totales

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	4,58534E6	2	2,29267E6	9,81	0,0129
Intra grupos	1,40258E6	6	233763,		
Total (Corr.)	5,98792E6	8			

Tabla FTII.5 ANOVA para Contenido de antocianinas

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	104,584	1	104,584	0,15	0,7193
Intra grupos	2810,34	4	702,585		
Total (Corr.)	2914,92	5			

Tabla FTII.6 ANOVA para Actividad antioxidante

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	2,03234E6	1	2,03234E6	1,53	0,2841
Intra grupos	5,32225E6	4	1,33056E6		
Total (Corr.)	7,35459E6	5			

FICHA TÉCNICA III

ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LA CONCENTRACIÓN DE EXTRACTOS Y RENDIMIENTOS DE EXTRACCIÓN DE COMPUESTOS DE INTERÉS DE *RUBUS GLAUCUS* MEDIANTE DISTINTOS MÉTODOS

Objetivo: Analizar las diferencias estadísticas entre los valores reportados para concentración de extractos y rendimientos de extracción de antocianinas y elagitaninos, entre los distintos métodos de extracción

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

Las siguientes tablas muestran la media de las variables la composición fenólica, de antocianinas y actividad antioxidante, los errores estándar de cada media, y los intervalos alrededor de cada media. Los intervalos mostrados actualmente están basados en el procedimiento de la diferencia mínima significativa (LSD) de Fisher.

Tabla FTIII.1 Medias para la concentración de extractos antocianicos con intervalos de confianza del 95,00 %

			<i>Error Est.</i>		
<i>Nivel</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>(s agrupada)</i>	<i>Límite Inferior</i>	<i>Límite Superior</i>
1	3	34,44	1,84937	31,4244	37,4556
2	3	50	1,84937	46,9844	53,0156
3	3	55,772	1,84937	52,7564	58,7876
4	3	48	1,84937	44,9844	51,0156
Total	12	1217,5			

Tabla FTIII.2 Medias para el rendimiento de antocianinas con intervalos de confianza del 95,00 %

			<i>Error Est.</i>		
<i>Nivel</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>(s agrupada)</i>	<i>Límite Inferior</i>	<i>Límite Superior</i>
1	3	121	5,9892	111,564	130,436
2	3	168	5,9892	158,564	177,436
3	3	133	5,9892	123,564	142,436
4	3	140	5,9892	130,564	149,436
5	3	59,81	5,9892	50,3738	69,2462
Total	15	1217,5			

Tabla FTIII.3 Medias para el rendimiento de elagitaninos con intervalos de confianza del 95,00 %

			<i>Error Est.</i>		
<i>Nivel</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>(s agrupada)</i>	<i>Límite Inferior</i>	<i>Límite Superior</i>
	3	827,9	3,90427	820,235	835,565
	3	310,3	3,90427	302,635	317,965
Total	15	569,1			

Las tablas ANOVA presentadas a continuación, descomponen la varianza de las variables de salida en dos componentes: un componente entre-grupos y un componente dentro-de-grupos. En las tablas con el valor-P mayor o igual que 0.05, no existe una diferencia estadísticamente significativa entre los grupos.

Tabla FTIII.4 ANOVA para concentración de antocianinas

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	734,071	3	244,69	23,85	0,0002
Intra grupos	82,0844	8	10,2606		
Total (Corr.)	816,155	11			

Tabla FTIII.5 ANOVA para rendimiento de antocianinas

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	19205,1	4	4801,28	44,62	0,0000
Intra grupos	1076,12	10	107,612		
Total (Corr.)	20281,2	14			

Tabla FTIII.6 ANOVA para rendimiento de elagitaninos

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	401865,	1	401865,	8787,77	0,0000
Intra grupos	182,92	4	45,73		
Total (Corr.)	402048,	5			

FICHA TÉCNICA IV

CONVERSIÓN DE UNIDADES PARA RENDIMIENTO DE EXTRACCIÓN DE ANTOCIANINAS MEDIANTE FLUIDOS SUPERCRÍTICOS

Objetivo: Realizar conversión de unidades para poder establecer comparación con otros valores de rendimiento de extracción de antocianinas

Fundamento: Se empleó el valor de concentración de antocianinas y rendimiento de extracción

Concentración de antocianinas reportada por Pasquel et al. (2014) = $17,54 \frac{\text{mgCy3G}}{\text{gextracto}}$

Rendimiento de extracción = 3,41 %

$$17,54 \frac{\text{mgCy3G}}{\text{gextracto}} * 0,0341 * 100 = 59,81 \frac{\text{mgCy3G}}{100\text{gMF}}$$