

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL
DE HUAMANGA**

FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA Y METALURGIA

**ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA EN INDUSTRIAS
ALIMENTARIAS**



TESIS:

**Identificación de las antocianinas monoméricas, compuestos
fenólicos, actividad antioxidante y antimicrobiana en los
frutos de macha macha (*Pernettya prostrata* (Cav.) DC)**

Para optar el título profesional de:
INGENIERA EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS

PRESENTADO POR:
Bach. Sarela Edith ESPINOZA GARCIA
Bach. Fiorela PACHECO ESPINOZA

ASESOR:
Ing. Jesús Javier PANIAGUA SEGOVIA

AYACUCHO - PERÚ

2025

DEDICATORIA

A mis queridos padres, William y Justina, que son mi más grande motivación, me acompañan en cada paso que doy. A Nayeli, la luz de mis ojos, mi apoyo inquebrantable. A mis queridos maestros, por su dedicación, paciencia y la educación impartida en las aulas.

FIGURELA

A mi familia, a mis padres Maura y Cancio quienes fueron mi mayor motivación hacia el logro de ser una profesional destacada, a mis queridas hermanas Mónica y Ana por ser mis acompañantes perfectas durante este camino largo recorrido.

A mis educadores presentes en mi formación profesional, motivándonos a seguir avanzando.

SARELA

AGRADECIMIENTO

A Dios, que siempre nos cuida e ilumina en cada paso que damos.

Con profunda estima y reconocimiento a nuestros queridos padres, por su comprensión, guía, paciencia para encaminarnos y llegar a cumplir otro reto en nuestra vida profesional.

Al ing. Jesús Javier PANIAGUA SEGOVIA, por el tiempo compartido como nuestro asesor, por su paciencia, dedicación, sabiduría y conocimiento durante todo el desarrollo del proyecto de Tesis.

A nuestra alma máter, Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga.

Nuestra gratitud a la Escuela Profesional de Ingeniería en Industrias Alimentarias y a todos los docentes que lo conforman por la enseñanza compartida durante mi formación profesional.

Finalmente, nuestro agradecimiento infinito a todas las personas que se vieron involucradas durante esta etapa de nuestras vidas.

RESUMEN

Esta investigación tuvo como objetivo identificar las antocianinas monoméricas, compuestos fenólicos, actividad antioxidante y antimicrobiana en los frutos de Macha Macha (*Pernettya prostrata* (Cav.) DC). Fueron recolectados en el anexo Nueva Esperanza, distrito de Quinua (Ayacucho), la identificación taxonómica se realizó en el Herbario San Marcos. Los ensayos experimentales se desarrollaron en los laboratorios de la Facultad de Ingeniería Química y Metalurgia y de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica. Los frutos fueron sometidos a liofilización para optimizar la extracción de antocianinas monoméricas y fenoles totales mediante un diseño de Superficie de Respuesta con dos variables (concentración de etanol y relación solvente/muestra). Se obtuvieron 39,047 mg/g de antocianinas y 43,7532 mg GAE/g de fenoles totales, siendo óptimas las condiciones de 70% de etanol y relación 3:1. Bajo estos parámetros se realizó la extracción etanólica, seguidamente secado por atomización, evaluándose en un diseño factorial 3×2 con temperaturas de 100°C, 150°C y 200°C, y maltodextrina al 5% y 10%. Los frutos liofilizados mostraron baja toxicidad ($CL_{50} = 1,089 \mu\text{g/mL}$), mientras que el extracto micro encapsulado atomizado presentó $CL_{50} = 1,515 \mu\text{g/mL}$. El contenido de antocianinas fue de 39,047 mg/g y 27,380 mg/g respectivamente. En capacidad antioxidante, el extracto micro encapsulado alcanzó 61,17% y $CL_{50} = 662,68 \mu\text{g/mL}$. Asimismo, se evidenció actividad antimicrobiana significativa frente a *S. aureus*. En conclusión, Macha macha constituye una fuente destacada de compuestos bioactivos con potencial alimentario y farmacéutico.

Palabras clave: Macha Macha, antocianinas, fenoles, antioxidante, actividad antimicrobiana, toxicidad.

ABSTRACT

This study aimed to identify monomeric anthocyanins, phenolic compounds, and to evaluate the antioxidant and antimicrobial activity of Macha Macha fruits (*Pernettya prostrata* (Cav.) DC). The samples were collected from the Nueva Esperanza annex, Quinoa district (Ayacucho), and taxonomic identification was carried out at the San Marcos Herbarium. Experimental assays were conducted in the laboratories of the Faculty of Chemical and Metallurgical Engineering and the Professional School of Pharmacy and Biochemistry. The fruits were subjected to lyophilization to optimize the extraction of monomeric anthocyanins and total phenols using a Response Surface Design with two variables (ethanol concentration and solvent/sample ratio). A yield of 39.047 mg/g of anthocyanins and 43.7532 mg GAE/g of total phenols was obtained, with optimal conditions at 70% ethanol and a 3:1 solvent-to-sample ratio. Under these conditions, ethanolic extraction was performed, followed by spray drying microencapsulation, evaluated through a 3×2 factorial design with temperatures of 100°C, 150°C, and 200°C, and maltodextrin concentrations of 5% and 10%. Lyophilized fruits showed low toxicity ($LC_{50} = 1.089 \mu\text{g/mL}$), while the spray-dried microencapsulated extract presented an LC_{50} of 1.515 $\mu\text{g/mL}$. The anthocyanin content was 39.047 mg/g and 27.380 mg/g, respectively. Regarding antioxidant capacity, the microencapsulated extract reached 61.17% with an LC_{50} of 662.68 $\mu\text{g/mL}$. Additionally, significant antimicrobial activity was observed against *S. aureus*. In conclusion, Macha macha represents an important source of bioactive compounds with potential applications in the food and pharmaceutical industries.

Keywords: Macha Macha, anthocyanins, phenols, antioxidant, antimicrobial activity, toxicity.

ÍNDICE

	Pág.
INTRODUCCIÓN	16
Objetivos	17
Objetivo General	17
Objetivos Específicos	17
CAPÍTULO I	18
MARCO TEÓRICO	18
1.1. Antecedentes	18
1.1.1. A nivel internacional.....	18
1.1.2. Nivel nacional	20
1.2. Macha Macha (Pernettya Prostrata (Cav.) Dc).....	22
1.2.1. Descripción Taxonómica	23
1.2.2. Aspectos Generales	23
1.2.3. Antocianinas monoméricas en los frutos de Macha Macha.....	24
1.2.4. Fenoles totales en los frutos de Macha Macha	25
1.2.5. Capacidad antioxidante en los frutos de Macha Macha	26
1.2.6. Actividad Antimicrobiana en los frutos de Macha Macha.....	26
1.2.7. Toxicidad en los frutos de Macha Macha	27
1.3. Antocianina.....	28
1.3.1. Estabilidad de las Antocianinas	29
1.3.2. Extracción de las Antocianinas.....	30
1.3.3. Extracción sólida – líquido	31
1.3.4. Antocianinas en frutos liofilizados.....	31
1.3.5. Antocianinas en frutos atomizados	31
1.4. Compuestos fenólicos	32
1.5. Antioxidante	32

1.5.1.	Mecanismos de Acción de los Antioxidantes	33
1.5.2.	Capacidad Antioxidante	33
1.6.	Actividad antimicrobiana	33
1.7.	Toxicidad	33
1.8.	Metodología de superficie respuesta	34
1.9.	Diseño factorial 3x2	34
1.10.	Design-expert	34
1.11.	Minitab	35
CAPÍTULO II		36
MATERIALES Y MÉTODOS		36
2.1.	Lugar de ejecución	36
2.2.	Tipo y nivel de investigación	36
2.3.	Población y muestra	36
2.3.1.	Población	36
2.3.2.	Muestra	36
2.4.	Materiales, equipos y reactivos	36
2.4.1.	Materiales	36
2.4.2.	Equipos	37
2.4.3.	Reactivos	37
2.4.4.	Software	38
2.5.	Metodología experimental	38
2.5.1.	Proceso de liofilización de los frutos de macha macha	38
2.5.2.	Modelo estadístico	40
2.5.2.1.	Metodología de superficie de respuesta (MSR) - Diseño Compuesto Central Rotable (DCCR)	40
2.5.3.	Proceso de secado del extracto concentrado	42
2.5.4.	Modelo Estadístico	46

2.5.4.1. Diseño Factorial 3x2	46
2.6. Métodos de análisis	46
2.6.1. Determinación de la Humedad	46
2.6.2. Determinación de las Antocianinas Monoméricas	47
2.6.2.1. Extracción de las antocianinas	47
2.6.2.2. Concentración de las antocianinas	48
2.6.2.3. Secado por atomización de las antocianinas.....	48
2.6.2.4. Preparación de reactivos	48
2.6.2.5. Cuantificación de las antocianinas monoméricas	49
2.6.3. Identificación de las Antocianinas Monoméricas	51
2.6.3.1. Preparación de la muestra.....	51
2.6.3.2. Parámetros de corrida	51
2.6.4. Determinación de la Fenoles Totales	52
2.6.4.1. Preparación de Carbonato de Sodio (Na_2CO_3) 1,2 N	52
2.6.4.2. Preparación del Reactivo Folin Cicoateau 1 N	52
2.6.4.3. Preparación de las Soluciones Estándares	52
2.6.4.4. Curva de calibración	52
2.6.4.5. Preparación de las Muestras para la lectura de las absorbancias.....	53
2.6.5. Determinación de la Capacidad antioxidante	55
2.6.5.1. Determinación por DPPH-método de recolección de residuos.....	55
2.6.6. Determinación de la Actividad antimicrobiana	56
2.6.6.1. Método Modificado de difusión en pozo en agar	56
2.6.6.2. Método de Micro dilución con Resazurina	58
2.6.7. Determinación de la Toxicidad con Artemia Salina.....	58
2.6.7.1. Eclosión de huevos de Artemia Salina	58
2.6.7.2. Preparación del Blanco o control	59
2.6.7.3. Exposición de los Nauplios	59

2.6.7.4. Corrección de mortalidad.....	60
CAPÍTULO III.....	61
RESULTADOS Y DISCUSIONES.....	61
3.1. Caracterización físico química de la macha macha (Pernettya prostrata (Cav.) DC) madura	61
3.1.1. Evaluaciones morfométricas de los frutos maduros de Macha Macha	62
3.1.2. pH, grados Brix y acidez de los frutos maduros de Macha Macha	64
3.1.3. Determinación de la humedad.....	65
3.1.4. Análisis con otras muestras.....	66
3.2. optimización de antocianinas monoméricas y fenoles en los frutos liofilizados de macha macha (pernettya prostrata (cav.) dc).....	66
3.2.1. Optimización de la Antocianinas Monoméricas en los frutos liofilizados de macha macha liofilizada Pernettya prostrata (Cav.) DC	67
3.2.1.1. Análisis de Varianza de las antocianinas monoméricas en los frutos liofilizados de macha macha Pernettya prostrata (Cav.) DC.	71
3.2.1.2. Análisis de Superficie de Respuesta (RSM) antocianinas monoméricas en los frutos liofilizados de macha macha Pernettya prostrata (Cav.) DC.	72
3.2.2. Optimización de Fenoles Totales en los frutos liofilizados de macha macha Pernettya prostrata (Cav.) DC.....	76
3.2.2.1. Análisis de varianza del contenido de fenoles totales en los frutos liofilizados de macha macha Pernettya prostrata (Cav.) DC.	80
3.2.3. Efecto de los parámetros.....	84
3.2.4. Análisis de los gráficos de Superficie de Respuesta	84
3.2.5. Validación del modelo predictivo	84
3.2.6. Optimización de los parámetros de extracción de antocianinas monoméricas y fenoles totales en frutos liofilizados de macha macha Pernettya prostrata (Cav.) DC.	85
3.2.6.1. Optimización de las antocianinas monoméricas.....	85

3.2.6.2. Optimización de los fenoles totales	87
3.3. Evaluación del secado por atomización del extracto etanólico concentrado de macha macha (pernettya prostrata (cav.) DC)	89
3.4. Identificación de las antocianinas monoméricas.....	91
3.5. Determinación de las antocianinas monoméricas en el extracto microencapsulado por atomización macha macha (Pernettya Prostrata (Cav.) DC)	96
3.5.1. Análisis de varianza del contenido de antocianinas monoméricas en el extracto microencapsulado por atomización de macha macha (Pernettya prostrata (Cav.) DC)	97
3.6. Determinación de fenoles totales en el extracto micro encapsulado por atomización macha macha (Pernettya prostrata (Cav.) DC)	101
3.6.1. Análisis de varianza del contenido de Fenoles Totales en el extracto microencapsulado por atomización macha macha (Pernettya Prostrata (cav.) DC)	103
3.7. Determinación de la capacidad antioxidante en el extracto microencapsulado por atomización macha macha (Pernettya prostrata (Cav.) DC)	106
3.9. Determinación de la toxicidad en el extracto microencapsulado atomizado y frutos liofilizados de macha macha (Pernettya Prostrata (cav.) Dc)	117
CONCLUSIONES	120
RECOMENDACIONES	121
REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	122
ANEXOS	134

LISTA DE FIGURA

Figura 1	Planta de Macha Macha (<i>Pernettya prostrata</i> (Cav.) DC)	23
Figura 2	Frutos de la Macha Macha <i>Pernettya prostrata</i> (Cav.) DC liofilizado	39
Figura 3	Diagrama de bloques del proceso de liofilización de los frutos de la Macha Macha (<i>Pernettya prostrata</i> (Cav.) DC).	39
Figura 4	Diagrama de bloques del proceso del secado del extracto concentrado de los frutos de la Macha Macha (<i>Pernettya prostrata</i> (Cav.) DC)	42
Figura 5	Concentración de la muestra extraída con etanol al 70% en el equipo rotavapor	43
Figura 6	Proceso de secado del extracto concentrado de Macha Macha (<i>Pernettya prostrata</i> (Cav.) DC)	44
Figura 7	Macha macha (<i>Pernettya prostrata</i> (Cav.) DC) después del secado	45
Figura 8	Muestras de Macha macha (<i>Pernettya prostrata</i> (Cav.) DC) después del secado en estufa	47
Figura 9	Procedimiento de lecturas de las absorbancias en el espectrofotómetro ..	50
Figura 10	Muestras sometidas a centrifugación	53
Figura 11	Diagrama de proceso para la lectura de las absorbancias	54
Figura 12	Diagrama del procedimiento para realizar el método modificado de difusión en pozo en agar	57
Figura 13	Diagrama de proceso para la preparación de las muestras	59
Figura 14	Planta de la macha macha (<i>Pernettya prostrata</i> (Cav.) DC) tomada en el anexo Nueva Esperanza	61
Figura 15	Frutos de macha macha de la especie <i>Pernettya prostrata</i> (Cav.) DC tomada en el anexo Nueva Esperanza y en el laboratorio	62
Figura 16	Resultados obtenidos del contenido de antocianinas monoméricas	68
Figura 17	Diagrama superficie 3D de los efectos interactivos de la concentración de etanol (%) con la relación (solvente/muestras para antocianinas monoméricas)	73

Figura 18	Diagrama de contorno 2D de los efectos interactivos de la concentración de etanol (%) con la relación (mL solvente/g muestra) para antocianinas monoméricas.....	74
Figura 19	Resultados obtenidos del contenido de fenoles totales.....	77
Figura 20	Diagrama superficie 3D de los efectos interactivos de la concentración de etanol (%) con la relación (mL solvente/g muestra) para fenoles totales...	82
Figura 21	Diagrama de contorno 2D de los efectos interactivos de la concentración de etanol (%) con la relación (mL solvente/g muestra) para fenoles totales...	83
Figura 22	Predicción de la extracción óptima de antocianinas monoméricas (Minitab versión 22.4. (demo)).....	85
Figura 23	Predicción de la extracción óptima de antocianinas monoméricas (Desing-Expert versión 8.0.7.1.(demo)).....	86
Figura 24	Predicción de la extracción óptima de fenoles totales (Minitab versión 22.4)	87
Figura 25	Predicción de la extracción óptima de fenoles totales monoméricas (Desing-Expert versión 8.0.7.1.).....	88
Figura 26	Resultados obtenidos de la identificación de las antocianinas monoméricas	92
Figura 27	Integración de los resultados obtenidos mediante el equipo UHPLC-DAD, donde se tiene los compuestos identificados	93
Figura 28	Diagrama de Pareto de efectos estandarizados en las antocianinas monoméricas.....	98
Figura 29	Gráfico de interacción de la temperatura y % maltodextrina frente a las antocianinas monoméricas	99
Figura 30	Gráfico de Barras, del contenido de antocianinas monoméricas.....	100
Figura 31	Curva patrón de mg GAE/mL VS. absorbancia (curva de ácido gálico) ..	102
Figura 32	Diagrama de Pareto de efectos estandarizados en los fenoles totales ...	103
Figura 33	Gráfico de interacción de la temperatura y % maltodextrina frente a los fenoles totales	104

Figura 34	Gráfico de Barras del contenido de fenoles totales	105
Figura 35	Gráfico de Barras de la capacidad antioxidante por el método DPPH de las muestras atomizadas y liofilizadas.....	107
Figura 36	Halos de inhibición de las 6 cepas en función de las concentraciones de la muestra atomizada	109
Figura 37	Halos de inhibición de las 6 cepas en función de las concentraciones de la muestra liofilizada.....	110
Figura 38	Concentración mínima inhibitoria para <i>Staphylococcus aureus</i> y <i>Salmonella spp</i> en muestra atomizada.....	111
Figura 39	Comparación de los halos de inhibición promedio en muestras de macha atomizada y liofilizada.....	114
Figura 40	Diagrama de dosis-respuesta del extracto microencapsulado por atomización y frutos liofilizados de macha macha (<i>Pernettya prostrata</i> (Cav.) DC.....	118

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1	Cantidad de etanol y muestra liofilizada utilizada.....	40
Tabla 2	Variables independientes y dependientes.....	41
Tabla 3	Descripción de las condiciones para el atomizado.....	45
Tabla 4	Modelo diseño factorial 3x 2.....	46
Tabla 5	Tabla de distribución de las repeticiones que se hizo en cada concentración.....	60
Tabla 6	Resultados de las evaluaciones morfométricas de los frutos maduros Macha Macha <i>Pernettya prostrata</i> (Cav.) DC.....	63
Tabla 7	pH, grados Brix y acidez del fruto de Macha Macha <i>Pernettya prostrata</i> (Cav.) DC.....	64
Tabla 8	Determinación del contenido de humedad de la fruta fresca y liofilizada de macha macha.....	65
Tabla 9	Contenido de antocianinas y fenoles en el ayrampo atomizado y liofilizado.....	66
Tabla 10	Resultado del contenido de antocianinas en la muestra liofilizadas en mg/g.....	67
Tabla 11	Resultados del mínimo y máximo contenido de antocianinas en las 13 muestras.....	70
Tabla 12	Análisis varianza del contenido de antocianinas monoméricas.....	71
Tabla 13	Resultados obtenidos del contenido de fenoles totales.....	76
Tabla 14	Resultados del mínimo y máximo contenido de fenoles.....	79
Tabla 15	Tabla de análisis varianza del contenido de fenoles totales.....	80
Tabla 16	Predicción de las extracciones óptimas de antocianinas monoméricas y fenoles totales.....	89
Tabla 17	Determinación del contenido de sólidos presentes en el extracto etanólico de frutos de macha macha <i>Pernettya prostrata</i> (Cav.) DC.....	89
Tabla 18	Rendimiento del secado del extracto etanólico de frutos de macha macha <i>Pernettya prostrata</i> (Cav.) DC.....	90

Tabla 19	Resultados de las antocianinas monoméricas que se encuentran en mayor cantidad en los frutos liofilizados de macha macha	94
Tabla 20	Resultados obtenidos del contenido promedio de antocianinas en las muestras atomizadas en mg/g	96
Tabla 21	Análisis de varianza de antocianinas monoméricas	97
Tabla 22	Datos obtenidos del contenido de antocianinas mayor y menor.....	101
Tabla 23	Datos obtenidos de las absorbancias y mg GAE/mL para la curva patrón..	101
Tabla 24	Resultados obtenidos del contenido promedio de fenoles totales	102
Tabla 25	Análisis de varianza de fenoles totales.	103
Tabla 26	Datos obtenidos del contenido de fenoles totales mayor y menor.....	106
Tabla 27	Resultados de la capacidad antioxidante por el método DPPH en el extracto microencapsulado por atomización de macha macha (<i>Pernettya prostrata</i> (Cav.) DC.....	107
Tabla 28	Resultados de la concentración mínima inhibitoria para <i>Staphylococcus aureus</i> y <i>Salmonella spp</i> en el extracto micro encapsulado atomizado de macha macha.	112
Tabla 29	Resultados de los halos promedio de la muestra liofilizada y en el extracto microencapsulado por atomización de macha macha (<i>Pernettya prostrata</i> (Cav.) DC en las 6 cepas	113
Tabla 30	Resultados del % de Mortalidad de los nauplios en el extracto microencapsulado por atomización macha macha (<i>Pernettya prostrata</i> (Cav.)	117
Tabla 31	Resultados del % de Mortalidad de los nauplios en frutos liofilizados de <i>Pernettya prostrata</i> (Cav.) DC	117
Tabla 32	Resultados del % de Mortalidad de los nauplios en el extracto microencapsulado por atomización Y frutos liofilizados de macha macha (<i>Pernettya prostrata</i> (Cav.) DC	118

INTRODUCCIÓN

El Perú es uno de los países con mayor biodiversidad vegetal en el mundo, con aproximadamente 25 000 especies de plantas, lo que representa cerca del 10% de la flora mundial. Una proporción importante de estas especies son endémicas, es decir, únicas del territorio peruano Brako & Zarucchi (1993); León (2020). Esta enorme diversidad botánica ofrece un potencial significativo para la investigación alimentaria y farmacéutica, orientada hacia la búsqueda de nuevos ingredientes funcionales naturales y el desarrollo de tecnologías sostenibles.

En el ámbito alimentario, diversas plantas silvestres peruanas poseen compuestos bioactivos con potenciales beneficios para la salud; sin embargo, muchas de ellas aún no han sido ampliamente estudiadas Mostacero et al. (2021). Entre estas especies destaca la Macha Macha (*Pernettya prostrata* (Cav.) DC), un arbusto perteneciente a la familia Ericaceae, con notable valor etnobotánico y alto contenido de pigmentos naturales, especialmente antocianinas y otros compuestos fenólicos Valenzuela et al. (2020). El fruto presenta un característico color morado oscuro, lo que sugiere la presencia de dichos metabolitos secundarios, asociados a propiedades antioxidantes, antimicrobianas y potenciales aplicaciones funcionales en la industria alimentaria y farmacéutica.

La *Pernettya prostrata* es un arbusto pequeño, de hasta 50 cm de altura, distribuido en las vertientes del Pacífico y del Caribe, entre los 1000 y 3820 m s. n. m., en zonas altoandinas del Perú y otros países de Sudamérica Valenzuela et al. (2020). En la región de Ayacucho, esta especie se encuentra de forma silvestre, aunque los estudios se han centrado principalmente en sus hojas (investigadas en 2018), existiendo poca información sobre el fruto y su composición química. Por ello, resulta necesario profundizar en la identificación y caracterización de las antocianinas monoméricas presentes en el fruto, las cuales están directamente relacionadas con su capacidad antioxidante y la intensidad de su coloración, como lo menciona Castañeda et al. (2009).

Las antocianinas son pigmentos hidrosolubles pertenecientes al grupo de los flavonoides, responsables de las tonalidades rojas, azules y moradas en frutas y hortalizas Reyna et al. (2022). Además de su valor como colorante natural (E-163), presentan reconocidas propiedades antioxidantes y beneficiosas para la salud humana (Khoo et al., 2017). Sin embargo, su inestabilidad frente a factores externos como la temperatura, la humedad, la luz o el oxígeno, así como la variabilidad genética entre

especies, pueden dificultar su identificación y cuantificación precisa (Giusti & Wrolstad, 2001).

La falta de identificación adecuada de las antocianinas monoméricas puede conducir a errores en la caracterización del fruto, limitaciones en la comparación con otras especies y dificultades para evaluar sus beneficios nutracéuticos. Por ello, la identificación de las antocianinas presentes en el fruto de *Pernettya prostrata* permitirá establecer condiciones óptimas de almacenamiento, evitar la degradación de los pigmentos, y favorecer su aprovechamiento como aditivo natural en la industria alimentaria y farmacéutica.

Objetivos

Objetivo General

- Identificar las antocianinas monoméricas, compuestos fenólicos, actividad antioxidante y antimicrobiana en los frutos de Macha Macha (*Pernettya prostrata* (Cav.) DC).

Objetivos Específicos

- Evaluar el proceso de extracción de antocianinas de los frutos de Macha Macha (*Pernettya prostrata* (Cav.) DC).
- Cuantificar las antocianinas monoméricas en los frutos de Macha Macha (*Pernettya prostrata* (Cav.) DC).
- Cuantificar los compuestos fenólicos en los frutos de la Macha Macha (*Pernettya prostrata* (Cav.) DC).
- Establecer el potencial antioxidante in vitro en los frutos de la Macha Macha (*Pernettya prostrata* (Cav.) DC).
- Evaluar actividad antimicrobiana del fruto de la Macha Macha (*Pernettya prostrata* (Cav.) DC).
- Establecer la presencia de toxicidad en los frutos de la Macha Macha (*Pernettya prostrata* (Cav.) DC).

CAPÍTULO I

MARCO TEÓRICO

1.1. Antecedentes

1.1.1. A nivel internacional

Romero & Cueva (2020), en la investigación, “Tamaño de semillas y germinación de *Pernettya prostrata* (Ericaceae): una especie del páramo andino”, donde menciona que los páramos andinos son ecosistemas con alto grado de endemismo, pero fuertemente amenazados por cambios ambientales y factores antrópicos. Estudios realizados en los páramos ecuatorianos se han enfocado en conocer patrones de diversidad florística, dejando a un lado estudios sobre ecología y biología de semillas. El presente trabajo es una de las primeras experiencias que evalúa el tamaño de semillas y el comportamiento germinativo entre individuos de *Pernettya prostrata* en un páramo al sur del Ecuador. Se identificó que las semillas presentan entre 0,6 y 0,8 mm de longitud por 0,5 y 0,7 mm de ancho, con una tasa de germinación menor al 50 %. Identificar aspectos en la morfofisiología de semillas contribuye a mejorar el conocimiento sobre la ecofisiología de la vegetación de los páramos andinos.

Caranqui et al. (2022), en la investigación, “Composición química y compuestos polifenólicos de *Vaccinium floribundum* Kunth (Ericaceae) del Páramo del Volcán Chimborazo (Ecuador)”, menciona que el mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth) es considerado una “superfruta” debido a su capacidad antioxidante y posibles beneficios para la salud. Por lo tanto, el objetivo de esta investigación fue evaluar por primera vez si la etapa de maduración y el ambiente de origen afectan la calidad fisicoquímica. Los compuestos polifenólicos se identificaron mediante HPLC-ESI-MS (cromatografía líquida de alta resolución acoplada a espectrometría de masas electrospray) y se cuantificaron mediante HPLC-DAD (cromatografía líquida de alta resolución con un detector de arreglo de diodos); así como se determinaron la capacidad antioxidante ABTS y DPPH. Los principales ácidos orgánicos predominantes fueron el ácido cítrico y

quínico, mientras que los azúcares principales fueron la glucosa, la fructosa, la sacarosa, la manosa y el sorbitol; los compuestos fenólicos relevantes: ácidos hidroxycinámicos y flavonoles; se identificaron siete antocianinas. La investigación confirma que las bayas de mortiño del páramo ecuatoriano son una valiosa fuente natural de polifenoles.

Llvisaca et al. (2018), en la investigación, “Chemical antimicrobial, and molecular characterization of mortiño (*Pernettya prostrata* (Cav.) DC) fruits and leaves”, menciona que los frutos y hojas de *Pernettya* son conocidos por su alto contenido de compuestos bioactivos, pero las características químicas y biológicas del mortiño (*Pernettya prostrata* (Cav.) DC) no han sido completamente descritas. En este estudio se determinaron los niveles de polifenoles, capacidad antioxidante, antocianinas, actividad antimicrobiana y variabilidad genética en plantas de mortiño. Se utilizaron los métodos de Folin–Ciocalteu, eliminación de radicales ABTS, diferencial de pH y difusión en pozo para evaluar los niveles de polifenoles, capacidad antioxidante, antocianinas y actividad antimicrobiana, respectivamente. La variabilidad genética se evaluó mediante la secuenciación de las regiones de ADN matK y rbcL. El contenido de polifenoles fue de hasta 229,81 mg equivalentes de ácido gálico/100 g, la capacidad antioxidante promedio fue de 11.01 mmol equivalentes de Trolox/100 g, y el contenido de antocianinas alcanzó hasta 1 095,39 mg/100 g. Los extractos de mortiño inhibieron significativamente el crecimiento de bacterias Gram negativas como *Burkholderia gladioli*, *Burkholderia cepacia*, *Salmonella Typhimurium*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio harveyi*, *Vibrio vulnificus*, *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*, así como de bacterias Gram positivas como *Probionibacterium propionicum*, *Staphylococcus aureus* y *Enterococcus faecalis*, mostrando halos de inhibición mayores que los producidos por el antibiótico ampicilina. Se encontró un nucleótido polimórfico en la posición 739 de la región matK. Este estudio muestra el potencial del mortiño para las industrias alimentaria y farmacéutica.

Cerrato et al. (2022), en la “Investigación detallada de la composición y transformaciones de los compuestos fenólicos en extractos de bayas frescas y fermentadas de *Vaccinium floribundum* mediante espectrometría de masas de alta resolución y bioinformática”, menciona que los frutos son conocidos por su alto contenido de compuestos fenólicos biológicamente activos; sin embargo, a diferencia de las especies norteamericanas y europeas de arándanos, los arándanos neotropicales no han sido estudiados extensamente hasta ahora. En este trabajo se investigó la composición fenólica de *Vaccinium floribundum* Kunth, una especie endémica de las

regiones andinas que crece entre 1,600 y 4,500 metros sobre el nivel del mar. Se utilizó cromatografía líquida de ultra alta resolución acoplada a espectrometría de masas de alta resolución (UHPLC-HRMS). Se compararon bayas nativas y fermentadas en términos de composición fenólica, así como de actividad antioxidante, contenido fenólico total y contenido total de antocianinas. Las bayas nativas y fermentadas de *V. floribundum* fueron extraídas y analizadas mediante UHPLC-HRMS. Los conjuntos de datos obtenidos fueron procesados con Compound Discoverer 3.1 utilizando un flujo de trabajo de análisis de datos dedicado, diseñado específicamente para la identificación de compuestos fenólicos. En total, se identificaron tentativamente 309 compuestos, incluidos antocianinas, flavonoides, ácidos fenólicos y proantocianidinas. Las transformaciones moleculares de los compuestos fenólicos durante la fermentación se estudiaron de manera integral por primera vez, y mediante un proceso de análisis de datos personalizado se identificaron tentativamente 13 quinonas y métodos de quinonas en muestras fermentadas. En comparación con otras especies del género *Vaccinium*, se observó un perfil fenólico particular, con baja abundancia de compuestos altamente metilados. Las bayas andinas son una fuente rica de una amplia variedad de compuestos fenólicos. Los análisis no dirigidos por MS, junto con un flujo de trabajo dedicado al procesamiento de datos, permitieron ampliar el conocimiento actual sobre estas bayas y mejorar nuestra comprensión del destino de los compuestos fenólicos después de la fermentación.

1.1.2. Nivel nacional

Quinto (2021), en la investigación, “Formulación de una bebida funcional a base de macha macha (*Vaccinium floribundum* Kunth) y Evaluación de la Capacidad Antioxidante”, tiene como objetivo evaluar la aceptabilidad de una bebida funcional hecha a base de macha macha. Además, se buscó conocer su composición química, su capacidad antioxidante y cuánto contenido de polifenoles tenía. Para preparar el zumo se usaron frutos maduros de macha macha, que primero se lavaron con agua potable y luego se licuaron. A partir de eso, se hicieron tres versiones diferentes: T1 (40% jugo y 60% agua), T2 (50% y 50%) y T3 (60% jugo y 40% agua). Todas las mezclas se pasteurizaron a 80 °C durante cinco minutos, se envasaron en botellas de vidrio de 250 ml, se dejaron enfriar y se guardaron a temperatura ambiente. Para saber cuál gustó más, se hizo una prueba sensorial con escala hedónica, y se aplicó un análisis estadístico (Chi cuadrado) para ver si había diferencias significativas. A la muestra que tuvo mejor aceptación se le analizaron los componentes químicos y la actividad antioxidante. Resultados: La composición químico proximal de la bebida funcional es:

Humedad: 82,79%; Ceniza: 0,62%; Grasa: 0,76%; Proteína: 0,50% y Carbohidratos. 15,33%; los valores de los polifenoles totales fueron: 27.56 g AGE/100 g de muestra y una capacidad antioxidante: 43,28 $\mu\text{mol TE/ml}$ de muestra. El análisis estadístico χ^2 y χ^2 que se realizó a los atributos de color, olor, y sabor, si existe diferencia significativa; por lo tanto, las muestras T1, T2 y T3 fueron diferentes en la aceptabilidad. Conclusiones: Se logró la formulación de una bebida funcional, se determinó la composición químico proximal, se alcanzó evaluar su calidad sensorial, capacidad antioxidante y polifenoles totales de la bebida funcional a base de macha macha.

Surco (2018), en la investigación "Actividad antioxidante y contenido de compuestos fenólicos y flavonoides de *Pernettya prostrata* (Cav.) DC "macha macha", Ayacucho 2018", tiene como objetivo la cuantificación de fenoles totales, flavonoides totales y determinar la actividad antioxidante en las hojas de (*pernettya prostrata* (Cav.) DC) "macha macha", es de tipo básica experimental, se realizó en el laboratorio de Centro de Desarrollo, Análisis y Control de Calidad de Medicamentos y Fitomedicamentos de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, durante los meses de abril a agosto 2018. La muestra vegetal fue recolectada en el Centro Poblado Bosque de piedra, anexo de Anchahuasi provincia de Vinchos del departamento de Ayacucho a 3500 msnm. La identificación fitoquímica se realizó según lo descrito por Miranda y cuellar, la determinación de fenoles totales se realizó según el método colorímetro Folin-Ciocalteu, determinación de los flavonoides totales se realizó por el método de Peixoto y para la determinación de la actividad antioxidante se utilizó el método del consumo de radical DPPH por las muestras, mediante la disminución de la absorbancia de las soluciones a diferentes concentraciones. Se dividieron ocho grupos con tres repeticiones cada una. Grupo I: blanco: 0,3 ml muestra + 2,7 mL Etanol 50°, Grupo II: reacción: 0,3 mL muestra + 2,7 mL DPPH, Grupo III, IV, V: extracto hidroalcohólico de 25, 50 y 100 $\mu\text{g/mL}$ respectivamente, Grupo VI, VII y VIII: trolox: 25, 50 y 100 $\mu\text{g/mL}$ respectivamente y de la misma manera se determinó por el método de ABTS con una mínima variación de toma del reactivo (980 μL de la solución del ABTS) y de concentraciones 150, 200, y 250 $\mu\text{g/mL}$ respectivamente. Los metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico fueron taninos, flavonoides, saponinas, glicósidos cardiotónicos, antocianinas, quinonas, esteroides. El contenido de fenoles totales y flavonoides fue: 255,1 mg Eq AG/g y 22,1 mg Eq a rutina/g del extracto respectivamente. La actividad antioxidante DPPH del extracto hidroalcohólico a la concentración de 100 $\mu\text{g/mL}$ (36.78%) presenta mayor actividad antioxidante respecto

a las demás concentraciones, pero esta es estadísticamente diferente ($p=0,008$) al Trolox 100 $\mu\text{g/mL}$ (94.79%). Se concluye que el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Pernettya prostrata* (Cav.) DC. “macha macha” presenta actividad antioxidante.

Curinambe et al., (2024), en la investigación Actividad Antioxidante, Contenido De Antocianinas Y Efecto Antiinflamatorio In Vitro Del Fruto De *Vaccinium Floribundum* Kunth “Pushgay”, tiene como objetivo principal determinar la actividad antioxidante, el contenido de antocianinas y el efecto antiinflamatorio in vitro del fruto *Vaccinium floribundum kunth*, originario del distrito de Querocoto, provincia de Chota, región de Cajamarca. La actividad antioxidante se evaluó utilizando el método del radical libre 1,1-difenil-2-picrilhidrazilo (DPPH), mientras que el contenido de antocianinas se determinó mediante el método de pH diferencial. Para evaluar la actividad antiinflamatoria, se utilizó el método de estabilización de la membrana del eritrocito. Se encontró que el extracto hidroalcohólico de Pushgay tiene una actividad antioxidante expresado en IC50 = 397,7 $\mu\text{g/ml}$ equivalente a 0,14 mM/L de vitamina C. En cuanto al contenido de antocianinas se encontró 419,38 \pm 9,10 mg/100g del fruto. En relación con el efecto antiinflamatorio, del extracto del fruto de *Vaccinium floribundum kunth* a una concentración de 50 $\mu\text{g/ml}$, demostró tener un porcentaje de estabilización de la membrana similar al de indometacina.

1.2. Macha Macha (*Pernettya Prostrata* (Cav.) Dc)

Este es un arbusto que generalmente se encuentra postrado, estolónífero, erecto o ascendente, tiene el tallo de cilíndrico a subcilíndrico, a veces angular, glabro o ligeramente puberulento, generalmente estrigoso o hirsuto, elevado en la base, con hojas alternas, simplemente pecioladas, generalmente tubulares, de 1–4 mm de largo, glabras a puberulentas, hojas de lanceoladas a ampliamente elípticas, oblongas u ovadas, de 4–8 x 2–5 mm, coriáceas a coriáceas, márgenes ligeramente curvados; dientes cortos puntiagudos o crenulados, generalmente de 6 a 12 dientes con cerdas o glandulares, glabros o ligeramente pubescentes en la parte superior, muy raramente estrigosos en la parte inferior. Inflorescencia solitaria, axilar, brácteas bisexuales presentes en la base, espigas ovadas, pelos glandulares cortos estrigosos o largos ligeramente rosáceos, válvulas subagudas, glabras o pilosas, lóbulos reflejos de 8 a 10 estambres; Las bayas son casi esféricas, de color púrpura, a veces casi negras, de lisas a densamente pubescentes (Mezey, 1943).

Figura 1

Planta de Macha Macha (*Pernettya prostrata* (Cav.) DC)



1.2.1. Descripción Taxonómica

Orden	: Ericales Bercht. & J. Presl
Familia	: Ericaceae Juss.
Género	: <i>Pernettya</i> Gaudich
Especie	: <i>Pernettya prostrata</i> (Cav.) DC
Nombre vulgar	: “macha macha”

1.2.2. Aspectos Generales

Popularmente conocido como reventadera, borrachero y mortiño; es un pequeño arbusto que tiene frutos de color rojo o morado, son no climatéricos, careciendo la capacidad de continuar su maduración después de cosecharlos, es una especie silvestre que se encuentra por lo general en los Altos Andes, con altitudes entre los 1600 a 4000 msnm Luteyn (2002); esta especie es bastante resistente a las sequías y heladas, crece con éxito en temperaturas de 8 a 17 °C. Desempeña una importante función ecológica, la elevada capacidad regenerativa de esta especie es vital para la preservación de la vegetación en los páramos frente a un incendio destructivo que puede ser provocados por el hombre.

En Ecuador, las comunidades locales consumen las bayas de mortiño en diversas bebidas ceremoniales y preparaciones culinarias, también las utilizan para tratar dolencias. Diversos estudios demuestran que son ricas en antioxidantes, antocianinas y otros compuestos fenólicos. Esto demuestra que los frutos de macha macha se pueden aprovechar en el mercado alimentario como fuente importante de antocianinas y antioxidantes (Coba et al., 2012).

El análisis de características fisicoquímicas del fruto de macha macha en estado maduro presento: pH 4,67, humedad 84,760%, acidez (expresado como ácido cítrico) 0,028, grasa 0,536%, proteína 0,897%, cenizas 0,478%, carbohidratos totales 13,329% (Llimpe, 2017).

1.2.3. Antocianinas monoméricas en los frutos de Macha Macha

Las antocianinas monoméricas son los compuestos fenólicos pertenecientes al grupo de los flavonoides responsables de la coloración púrpura, roja y azul de muchos frutos. Químicamente corresponden a antocianidinas unidas a azúcares, principalmente glucosa, galactosa o rutinosa. Entre las antocianidinas más frecuentes se encuentran delphinidina, cianidina, petunidina, peonidina y malvidina, las cuales forman diferentes glucósidos presentes en frutas pigmentadas (Khoo et al., 2017).

La especie *Pernettya prostrata*, perteneciente también a la familia *Ericaceae*, produce frutos de color rojo o púrpura oscuro, lo que sugiere la presencia de antocianinas como principales pigmentos. Aunque existen pocos estudios fitoquímicos específicos para esta especie, se ha reportado que los frutos de plantas de esta familia presentan perfiles de antocianinas dominados por derivados de cianidina y delphinidina. Por esta razón, cuando se analizan frutos de *Pernettya prostrata*, es común comparar sus resultados con especies relacionadas del género *Vaccinium*, las cuales presentan perfiles de antocianinas bien caracterizados (Prior et al., 2005).

Llimpe (2017), evaluó el contenido de antocianinas y la capacidad antioxidante del fruto de Macha macha (*Vaccinium floribundum Kunth*) en tres estados de maduración, una especie silvestre del Perú, cuyas potencialidades hasta ahora se desconocían. Analizaron el contenido de antocianinas totales por el método pH diferencial, y se halló: 0,519, 4,242 y 10,532 mg de Cianidina/g de muestra en estado verde, pintón y maduro, respectivamente. En estado maduro presentó mayor contenido. Cerrato et al., (2022) realizó una comparación entre bayas nativas y fermentadas en términos de fenoles, composición, así como la actividad antioxidante, contenido fenólico total y contenido de antocianinas. Obtuvieron como resultado en el contenido de

antocianinas en el fruto fresco $38,0 \pm 3,0$ mg equivalentes de cianidina-3-glucósido/g PS, en el fruto fermentado $1,0 \pm 0,5$ mg C3G/g PS.

Limaymanta & Ramos (2016), extrajeron y cuantificaron antocianinas monoméricas totales de Macha Macha sp en dos estadios de maduración, evaluaron la extracción de antocianinas a distintas soluciones de extracción; agua, etanol (96 %), etanol: agua (50:50), etanol: agua (70:30) y etanol/HCl (85:15), donde obtuvieron el mayor rendimiento de extracción de antocianinas monoméricas totales con el solvente etanol/HCl (85/15) un total de 279,0433 mg/100 g de antocianinas monoméricas totales. Por otro lado, Carrasco (2022), evaluó los frutos maduros de Macha macha en la variedad (*pernettya prostrata*) en diferentes estados de conservación (fresco, seco y congelado), las muestras presentaron las siguientes Medias, las muestras secas presentaron un 13.48 de CAT (mg/100g), muestra fresca 17.89 CAT (mg/100g), muestra congelada 20.95 CAT (mg/100g) donde se observa que existe diferencia significativa en muestras secas pudiendo ser afectados por altas temperaturas de secado y pH.

1.2.4. Fenoles totales en los frutos de Macha Macha

Al fruto *Pernettya prostrata* (Cav.) DC, se evaluó los niveles de polifenoles con método Folin-Ciocalteu, en plantas de mortiño, dando resultados de contenido de polifenoles de hasta 229,81 mg equivalentes de ácido gálico/100 g. El estudio demuestra el potencial del mortiño para las industrias alimentaria y farmacéutica, debido a su alto contenido de compuestos bioactivos y su capacidad antimicrobiana (Llvisaca et al., 2018).

Al analizar la composición fenólica de *Vaccinium floribundum* Kunt, pertenece a la familia Ericaceae, mediante cromatografía líquida de ultra alto rendimiento acoplada a espectrometría de masas de alta resolución (UHPLC-HRMS), comparando las bayas nativas y fermentadas en cuanto a su composición fenólica, actividad antioxidante, contenido total de fenoles y contenido total de antocianinas. Fueron procesadas con el software Compound Discoverer 3.1. Donde identificaron tentativamente 309 compuestos, entre ellos antocianinas, flavonoides, ácidos fenólicos y proantocianidinas. Con estos resultados se llega a la conclusión que las estas bayas andinas representan una rica fuente de diversos compuestos fenólicos (Cerrato et al., 2022).

El mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth) es considerado una “superfruta” debido a su capacidad antioxidante y posibles beneficios para la salud. Los compuestos polifenólicos se identificaron mediante HPLC-ESI-MS (cromatografía líquida de alta resolución acoplada a espectrometría de masas electrospray) y se cuantificaron mediante HPLC-DAD (cromatografía líquida de alta resolución con un detector de

arreglo de diodos); así como se determinaron la capacidad antioxidante ABTS y DPPH. Los principales ácidos orgánicos predominantes fueron el ácido cítrico y químicico, mientras que los azúcares principales fueron la glucosa, la fructosa, la sacarosa, la manosa y el sorbitol; los compuestos fenólicos relevantes: ácidos hidroxicinámicos y flavonoles; se identificaron siete antocianinas. La investigación confirma que las bayas de mortiño del páramo ecuatoriano son una valiosa fuente natural de polifenoles (Caranqui et al., 2022).

1.2.5. Capacidad antioxidante en los frutos de Macha Macha

Llimpe (2017), evaluó la actividad antioxidante del fruto de la macha macha (*Vaccinium floribundum Kunth*) por el método radical DPPH, y se obtuvo valores de 569,3637, 550,1427 y 323,9630 $\mu\text{mol TE/g}$ muestra en estado verde, pintón y maduro, respectivamente. El verde presentó una mayor capacidad antioxidante. Al igual Cerrato et al. (2022) obtuvieron como resultado la capacidad antioxidante determinado a través del método ABTS en el fruto fresco $276 \pm 2 \mu\text{mol equivalentes de Trolox/g PS}$, en el fruto fermentado $288 \pm 2 \mu\text{mol TE/g PS}$.

Los frutos maduros de Macha macha en la variedad (*pernettya prostrata*) Carrasco (2022), evaluó en diferentes estados de conservación (fresco, seco y congelado) la capacidad de inhibición de radicales libres donde las muestras no presentan diferencia significativa mostrando 33.50 TEAC-DPPH ($\mu\text{mol/g}$), congelado 37.15 TEAC-DPPH ($\mu\text{mol/g}$), seca 38.35 TEACDPPH ($\mu\text{mol/g}$) fresco. Cahuana (2025), por el método DPPH encontró un IC_{50} de 4,10 mg del extracto, que equivaldría a 0,706 mM de Trolox (Trolox es un estándar de referencia para comparaciones de poder antioxidante).

1.2.6. Actividad Antimicrobiana en los frutos de Macha Macha

La actividad antimicrobiana en frutos vegetales se relaciona principalmente por la presencia de antocianinas, compuestos fenólicos y flavonoides, los cuales actúan como metabolitos secundarios de defensa natural frente a patógenos. Dichos compuestos poseen la capacidad de inhibir el crecimiento de bacterias, hongos y levaduras por diversos mecanismos bioquímicos (Cushnie & Lamb, 2011 ; Gyawali & Ibrahim, 2014). Se han encontrado en frutos de la familia Ericaceae, que destacan por su alto contenido de antocianinas, ácidos fenólicos y taninos condensados. Diversos estudios han demostrado que *Pernettya prostrata* (Cav.) DC, un fruto silvestre andino de amplia distribución en Ecuador y Perú, posee un notable potencial antimicrobiano asociado principalmente a su alto contenido de antocianinas y compuestos fenólicos. Guamán (2022), evaluó la actividad antibacteriana de los extractos de hoja y fruto del

mortiño, encontrando inhibición significativa frente a *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*, lo que sugiere que sus metabolitos secundarios actúan sobre la permeabilidad de la membrana bacteriana y la desnaturalización de proteínas.

Llivosaca et al., (2019), reportaron que las bayas fermentadas del *Pernettya prostrata* (Cav.) DC mostraron actividad antimicrobiana frente a *S. aureus*, atribuyendo esta respuesta a la sinergia entre antocianinas y otros compuestos fenólicos. De manera similar, (Guevara et al., 2022), reportaron que el extracto etanólico de *Pernettya prostrata* (Cav.) DC que fue recolectado a mayores altitudes presentó una concentración mínima inhibitoria (MIC) de 1.3 mg/mL frente a los *S. aureus*, dando respuesta a que la altitud y la madurez influyen en la capacidad de acumular compuestos bioactivos con efecto antimicrobiano.

1.2.7. Toxicidad en los frutos de Macha Macha

Los frutos andinos silvestres del género *Pernettya* y *Vaccinium* están siendo reconocidos por su alto contenido de compuestos bioactivos, sobre todo en antocianinas, flavonoides y otros polifenoles, esto atribuye a que posean propiedades antioxidantes, antimicrobianas y antiinflamatorias (Acosta et al., 2016; Vasco et al., 2009). Sin embargo, como cualquier otro vegetal silvestre, es importante evaluar la posible toxicidad, ya que la presencia de metabolitos secundarios en concentraciones elevadas puede generar efectos adversos en los animales y el ser humano.

En el caso de *Pernettya prostrata* (Cav.) DC, han reportado que contiene compuestos terpenoides, saponinas y glucósidos fenólicos, y que, al consumir en dosis elevadas, puede provocar efectos tóxicos moderados, sobre todo en el sistema gastrointestinal y el nervioso (Ríos & Recio, 2005). Estas sustancias pueden actuar como mecanismos de defensa en la planta frente a depredadores o patógeno, al consumir en exceso este fruto puede inducir estrés oxidativo en tejidos o alterar la permeabilidad de membranas celulares Barros et al. (2013). Estudios realizados sugieren que la toxicidad en frutos silvestres podría estar relacionada con la presencia de compuestos como la andrometoxina o las grayanotoxinas, sustancias que también se encuentran en otras especies venenosas de la misma familia botánica (Rincón et al., 2014).

La grayanotoxinas son neurotoxinas que obstaculizan la transferencia de potencial de acción mediante el bloqueo de los canales de sodio y potasio en la membrana celular, provocando síntomas de intoxicación, tales como vómito, diarrea, molestia estomacal y cólicos (Valenzuela & Sanchez, 2021).

La andrometoxina es otro nombre usado para referirse a una grayanotoxina, especialmente a la grayanotoxina I (GTX-I) o compuestos muy cercanos dentro del mismo grupo. Es un diterpeno presente en plantas de la familia *Ericaceae*. Se conocen más de 25 tipos de grayanotoxinas Cho (2012).

1.3. Antocianina

Las antocianinas son compuestos fenólicos pertenecientes a la familia de los flavonoides y se caracterizan por poseer un esqueleto básico de tipo flavilio conformado por un sistema C6–C3–C6, que incluye dos anillos bencénicos (A y B) unidos por un anillo heterocíclico (C) Brouillard (1982), además son pigmentos rojos hidrosolubles que se encuentran en muchas plantas. Desde el punto de vista químico, las antocianinas son derivados de las antocianidinas, es decir, están formadas por una molécula de antocianidina (aglicona) unida a un azúcar mediante un enlace β -glucosídico. El ión flavilio, conocido también como 2-fenilbenzopirilio, constituye la estructura química básica de estas agliconas, formada por un grupo aromático benzopirilio (A) y un anillo fenólico (B); generalmente actúa como un catión. Las agliconas libres son escasas en los alimentos, salvo tal vez como trazas en procesos de degradación. Entre las aproximadamente 20 antocianidinas conocidas actualmente, las más relevantes son la pelargonidina, delfinidina, cianidina, petunidina, peonidina y malvidina, nombradas en base a su origen vegetal. La combinación de estas con diversos azúcares produce alrededor de 150 antocianinas (Ortíz et al., 2011).

Las antocianinas monoméricas son pigmentos naturales de la familia de los flavonoides, caracterizados por poseer una antocianidina (aglicón) unida a uno o varios azúcares y, en algunos casos, a grupos acilo, lo que les confiere una alta solubilidad en agua y una marcada capacidad antioxidante. El término monomérica se refiere que estas moléculas se encuentran en su forma individual, no condensada ni polimerizada, es decir, no están asociadas a otros compuestos fenólicos mediante enlaces de condensación. En esta forma libre, las antocianinas exhiben una estructura de catión flavilio en medio ácido, responsable de los tonos rojos, violetas o azulados presentes en frutas, flores y vegetales frescos (Giusti & Wrolstad, 2001; Castañeda et al., 2009).

Desde un punto de vista analítico, las antocianinas monoméricas constituyen la fracción más estable y cuantificable mediante métodos espectrofotométricos como el método del pH diferencial, el cual se basa en la reversibilidad del color entre pH 1.0 y 4.5, propiedad que se pierde en las formas poliméricas o degradadas Lee et al. (2005). Estas moléculas son, además, las principales responsables del color y la actividad bioactiva de matrices frutales y sus derivados, siendo consideradas indicadores de

frescura, calidad y estabilidad del pigmento. En contraste, durante el almacenamiento o procesamiento térmico, las antocianinas monoméricas pueden oxidarse o condensarse, formando pigmentos poliméricos con menor intensidad colorante y menor actividad antioxidante Wrolstad & Culver (2012).

Las antocianinas presentes en los frutos de *Pernettya prostrata* (macha-macha) son compuestos fenólicos pertenecientes a la clase de los flavonoides, caracterizados por ser pigmentos hidrosolubles responsables de tonalidades rojas, púrpuras y azuladas en diversos frutos. Estas moléculas corresponden a glucósidos de antocianidinas y se localizan principalmente en la epidermis y capas externas del fruto, donde cumplen funciones de fotoprotección, defensa antioxidante y atracción de dispersores He & Giusti (2010; Khoo et al. (2017). En el caso de la macha-macha, su elevado contenido de antocianinas se asocia con una notable capacidad antioxidante, contribuyendo a la neutralización de especies reactivas de oxígeno y a la reducción del estrés oxidativo tanto en la planta como potencialmente en sistemas biológicos al ser consumidas Cahuana (2025); Wallace & Giusti (2015). Debido a ello, las antocianinas de *Pernettya prostrata* poseen interés nutracéutico y son consideradas biomoléculas relevantes para la salud humana.

1.3.1. Estabilidad de las Antocianinas

Las antocianinas son compuestos lábiles, su estabilidad es bastante variable en función de su estructura que se ve afectada por el pH, temperaturas de almacenamiento, oxígeno, luz, enzimas, estructura, concentración de antocianinas y compuestos como flavonoides, minerales y proteínas Daniel (2009).

La estabilidad de las antocianinas en bayas se define como la capacidad de estas moléculas flavonoides de mantener su estructura química, su intensidad de color y su actividad antioxidante frente a condiciones que promueven su degradación. Su estabilidad está influida por variables como el pH, la temperatura, la exposición a la luz, la presencia de oxígeno, la actividad enzimática y la composición de la matriz del fruto Giusti & Wrolstad (2003); Castañeda et al. (2009). En medios ácidos, las antocianinas conservan predominantemente su forma de sal de flavilio, altamente coloreada; sin embargo, a pH más elevados pueden transformarse en estructuras incoloras o menos estables, acelerando su degradación Rein (2005). En bayas, la presencia de co-pigmentos, metales, proteínas y polisacáridos puede generar interacciones de co-pigmentación y complejos moleculares que aumentan la protección frente a la oxidación y la pérdida de color, prolongando su estabilidad Wallace & Giusti (2015). En conjunto,

la estabilidad de las antocianinas determina la intensidad cromática, la vida útil, la calidad sensorial y el valor nutracéutico de las bayas.

1.3.2. Extracción de las Antocianinas

Las antocianinas pueden ser obtenidas de diversos tejidos de las plantas. La técnica habitual es la extracción en forma sólida y líquida. No obstante, es importante resaltar la presencia de otros procedimientos. Hoy en día, se suele emplear los extractos antociánicos sin la necesidad de separar los diferentes componentes, ya que todos, no solo los colorantes, ya poseen características antioxidantes.

En cuanto a la extracción, las características polares de las moléculas de antocianina las convierten en solubles en varias soluciones. Solventes como el alcohol, la acetona y el agua, su estabilidad se altera al efectuar alteraciones estructurales con grupos hidroxilo y metoxilo, glucósidos, particularmente en los grupos acilo, además de elementos como la temperatura y la luz Zapata (2014).

La extracción de antocianinas en bayas consiste en la separación de estos pigmentos fenólicos de la matriz vegetal mediante el uso de solventes polares acidificados que favorecen su solubilización y estabilización. Este proceso se basa en la naturaleza hidrosoluble de las antocianinas y en la necesidad de mantener un medio ácido que preserve la forma de sal de flavilio, químicamente estable y altamente coloreada. Para ello, se emplean usualmente mezclas de etanol o metanol con agua acidificada (con HCl, ácido cítrico o fórmico), acompañadas de técnicas que incrementan la eficiencia del proceso, como la maceración, la extracción asistida por ultrasonido (UAE) o la extracción asistida por microondas (MAE) Giusti & Wrolstad (2003); Castañeda et al. (2009).

Durante la extracción, los solventes polares penetran los tejidos de la baya, rompen parcialmente las paredes celulares y liberan las antocianinas, las cuales se transfieren al medio líquido. Métodos avanzados como UAE y MAE generan cavitación o calentamiento dieléctrico, lo que mejora la ruptura celular y acelera la liberación de compuestos, incrementando el rendimiento sin elevar excesivamente la temperatura, lo que evitaría la degradación de los pigmentos Rein (2005); Tena et al. (2020). Tras la extracción, el extracto suele filtrarse, concentrarse y, cuando se requiere análisis de alta precisión, purificarse mediante extracción en fase sólida (SPE).

En términos generales, la extracción de antocianinas en bayas es un proceso que depende de factores como el pH, el tipo de solvente, la temperatura y el tiempo de

exposición, los cuales influyen directamente en la eficiencia y estabilidad de los pigmentos recuperados Castañeda et al. (2009).

1.3.3. Extracción sólida – líquido

La separación sólido-líquido es un procedimiento fundamental cuyo objetivo es la separación de uno o varios elementos presentes en una fase sólida, a través del uso de una fase líquida o disolvente. El elemento o elementos que pasan de la fase sólida a la líquida se conoce como soluto, en cambio, el sólido insoluble se conoce como inerte Zapata (2014).

En bayas, la extracción sólido-líquido se realiza comúnmente utilizando solventes polares como etanol, metanol o agua, frecuentemente acidificados para favorecer la estabilidad y solubilidad de pigmentos como las antocianinas. Factores como la relación sólido-solvente, el tamaño de partícula, el tiempo, la temperatura y la agitación influyen significativamente en el rendimiento del proceso Cacace & Mazza (2003); Azwanida (2015). Esta modalidad de extracción es ampliamente utilizada debido a su simplicidad, eficiencia y aplicabilidad en matrices ricas en compuestos fenólicos, como las bayas.

1.3.4. Antocianinas en frutos liofilizados

La liofilización es uno de los métodos más efectivos para la conservación de compuestos bioactivos en frutos, especialmente las antocianinas, debido a que opera a bajas temperaturas y minimiza reacciones de oxidación e hidrólisis. Este proceso permite mantener entre el 80 % y el 95 % del contenido antociánico original, preservando tanto la intensidad del color como la estructura del catión flavilio responsable de su estabilidad Tonon et al. (2010). En frutos liofilizados, las antocianinas predominantes suelen corresponder a glucósidos de cianidina, delphinidina, pelargonidina, peonidina y malvidina, siendo particularmente frecuente el cianidin-3-glucósido en bayas como arándanos, moras y mortiños Skrede et al. (2000). Además, la eliminación del agua genera una aparente concentración de estos pigmentos por unidad de masa seca, lo que potencia la actividad antioxidante respecto a los frutos frescos Sun et al. (2021). En conjunto, la liofilización no solo conserva el perfil antociánico, sino que mejora la estabilidad y funcionalidad de las antocianinas en matrices frutales deshidratadas.

1.3.5. Antocianinas en frutos atomizados

El secado por atomización es una técnica ampliamente utilizada para obtener polvos a partir de jugos o extractos de frutos, permitiendo conservar compuestos bioactivos como las antocianinas mediante su microencapsulación en matrices

protectoras. Durante este proceso, antocianinas predominantes como cianidin-3-glucósido, delphinidin-3-glucósido y pelargonidin-3-glucósido pueden retenerse en valores que oscilan entre el 50 % y el 85 %, dependiendo de la temperatura de entrada y del tipo de agente encapsulante utilizado Tonon et al. (2010). La incorporación de portadores como maltodextrina o goma arábica mejora la estabilidad térmica y oxidativa de las antocianinas al formar microcápsulas que limitan la exposición al oxígeno y la luz Caliskan & Dirim (2016). Asimismo, se ha demostrado que el secado por atomización preserva de manera eficaz el perfil antociánico de diversas bayas y frutos rojos, aunque algunas pérdidas son inevitables debido a la sensibilidad térmica intrínseca de estos pigmentos Rodríguez et al. (2005). En conjunto, la atomización constituye un método eficiente para estabilizar y concentrar antocianinas en matrices en polvo, favoreciendo su aplicación en alimentos funcionales.

1.4. Compuestos fenólicos

Incluye todas aquellas sustancias con múltiples funciones fenólicas, nombre popular del hidroxibenceno, asociadas a estructuras aromáticas o alifáticas. Solo unos pocos compuestos fenólicos de la familia de los ácidos fenólicos no son polifenoles sino monofenoles. Los compuestos fenólicos se originan en el mundo vegetal. Son uno de los metabolitos secundarios más importantes de las plantas y su presencia en el reino animal se debe a su consumo. Las plantas sintetizan fenoles y están reguladas genéticamente tanto cualitativa como cuantitativamente, aunque también existen factores ambientales a este nivel. Además, actúan como fitoalexinas (las plantas dañadas segregan fenoles para protegerse de posibles ataques de hongos o bacterias) y contribuyen a la pigmentación de muchas partes de las plantas (por ejemplo, las antocianinas provocan los colores rojo, naranja, azul, morado o morado que encontramos en la piel de frutas y verduras). Por otro lado, los fenoles se oxidan para producir quinonas, que dan un color marrón que a menudo es indeseable Muñoz et al., (2009).

1.5. Antioxidante

Los antioxidantes son moléculas que retrasan o previenen la oxidación de otras moléculas. La oxidación es una reacción química en la que se transfieren electrones de una sustancia a un oxidante. La oxidación produce radicales libres que inician una reacción en cadena que daña las células. Los antioxidantes se oxidan a sí mismos mediante la eliminación de radicales libres intermedios para terminar estas reacciones e inhibir otras reacciones de oxidación. Por tanto, los antioxidantes suelen ser agentes reductores como los tioles o los polifenoles Pokorny et al. (2005).

1.5.1. Mecanismos de Acción de los Antioxidantes

Los antioxidantes impiden la unión de otras moléculas con el oxígeno, respondiendo e interactuando con mayor rapidez con los radicales libres de oxígeno y las especies reactivas del oxígeno que con el resto de moléculas existentes en un microambiente específico, membrana plasmática, citosol, núcleo o líquido extracelular. Hurtado & Pérez (2014).

1.5.2. Capacidad Antioxidante

La capacidad antioxidante de los productos alimenticios se basa en la interacción entre distintos compuestos con distintos mecanismos de acción. Así pues, frecuentemente se establece la capacidad antioxidante de los extractos complejos mediante diversos métodos de suplementación para valorar distintos mecanismos de acción. Debido a su facilidad y repetibilidad, algunos de los procedimientos más empleados son FRAP (capacidad reductora de hierro antioxidante) Inocente (2015).

Diversas investigaciones han demostrado que las bayas presentan una de las actividades antioxidantes más elevadas dentro de los frutos debido a su perfil fenólico complejo y sinérgico. La capacidad antioxidante se evalúa comúnmente mediante ensayos in vitro como DPPH, ABTS, FRAP y ORAC, los cuales permiten cuantificar la eficiencia de los compuestos bioactivos presentes en las bayas para inhibir o reducir procesos oxidativos (Prior et al. 2005; Giusti & Wrolstad, 2003). En conjunto, este atributo no solo influye en la estabilidad y coloración del fruto, sino también en su valor nutracéutico y su contribución potencial a la salud humana.

1.6. Actividad antimicrobiana

Las antocianinas demuestran su acción antimicrobiana mediante diversos mecanismos, tales como el daño celular provocado al eliminar la pared celular, la membrana y la matriz intercelular. Las bacterias Gram negativas son inhibidas por los extractos ricos en antocianinas de fresa y zarzamora, pero no las Gram positivas. Esta diferencia podría ser resultado de las distintas estructuras de la pared celular entre bacterias Grampositivas y Gramnegativas, donde la membrana externa de las bacterias Gramnegativas funciona como un obstáculo preventivo contra sustancias hidrófobas, pero no contra sustancias hidrofílicas De la Rosa et al. (2022).

1.7. Toxicidad

Se sabe que las plantas medicinales llegan a producir gran cantidad de compuestos bioactivos que a lo largo de los años fueron utilizados para combatir

distintos tipos enfermedades, desde un simple resfriado hasta el cáncer, donde la industria farmacéutica realizó su búsqueda en compuestos sintetizados químicamente, pero también dichos compuestos han presentado efectos secundarios considerables que pueden hacer más daño que la enfermedad que combaten, produciendo perjuicio en órganos como hígado, riñones y páncreas, entre otros. De tal manera es relevante conocer si estos compuestos bioactivos que se extraen de las plantas son tóxicos; actualmente se sabe que el 80% de la población utiliza las plantas para su atención primaria, en general la gente que utiliza las plantas creen que por ser de origen natural y no un compuesto sintetizado en un laboratorio son amigables con el organismo, sin embargo algunos de estos compuestos son altamente tóxicos, por lo antes mencionado es de vital importancia determinar la toxicidad de los extractos de plantas para validar su uso seguro. No se puede diferenciar con precisión en lo que se refiere a toxicidad, ya que está íntimamente relacionada con la dosis administrada Leos Rivas et al. (2016).

1.8. Metodología de superficie respuesta

Se trata de un conjunto de métodos matemáticos y estadísticos útiles para modelar y analizar problemas donde una respuesta de interés se ve afectada por varias variables y el propósito es optimizar dicha respuesta. Por lo tanto, el propósito final de MSR es establecer las condiciones ideales del sistema o establecer una zona del espacio de los factores donde se cumplan los requisitos operativos Villanueva (2023).

1.9. Diseño factorial 3x2

Es un tipo de diseño experimental, donde se estudia los efectos que pueden producir dos factores sobre una variable respuesta; aquí se relacionan todos los factores con todos los niveles para poder generar 6 tratamientos y así poder evaluar los efectos principales Montgomery (2017).

- El Factor A tiene 3 niveles
- El Factor B tiene 2 niveles

Esto genera un total de:

$$3 \times 2 = 6 \text{ tratamientos (combinaciones posibles)}$$

1.10. Design-expert

Es un software estadístico comercial que está especializado en diseños de experimentos (DOE), donde nos permite armar planes experimentales como: fraccionarios, factoriales, superficie de respuesta, mezclas y diseños combinados; para

luego analizar los datos mediante ANOVA, gráficos de superficie, contornos análisis de datos, optimización numérica y visualización tridimensional de la respuesta, que todo esto fortalece la interpretación de los resultados experimentales Alben (2002).

1.11. Minitab

Es un software indispensable para poder analizar datos estadísticos, que fue desarrollado en 1972, es un programa interactivo, en el cual el usuario puede ejecutar diversas aplicaciones, gráficas que van a permitir resumir la información numérica; permite de una manera más ágil y eficiente el procesamiento de datos Cintas et al. (2012); Alin (2010).

CAPÍTULO II

MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Lugar de ejecución

La investigación se llevó a cabo en el laboratorio de investigación de la Facultad de Ingeniería Química y Metalurgia, así como en los laboratorios de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Facultad de Ciencias de la Salud.

2.2. Tipo y nivel de investigación

De acuerdo con la naturaleza de la investigación, pertenece al de tipo experimental aplicativo y nivel de investigación explicativo, predictivo y aplicativo.

2.3. Población y muestra

2.3.1. Población

Se necesitó 5 kg de Macha Macha (*Pernettya prostrata* (Cav). DC, adquirida del distrito de Quinua, Anexo Nueva Esperanza, del distrito Quinua, provincia de Huamanga, Región Ayacucho.

2.3.2. Muestra

Fue 5 kg de Macha Macha (*Pernettya prostrata* (Cav). DC, para obtener 270 g de frutos liofilizado y 58 g de fruto atomizada.

2.4. Materiales, equipos y reactivos

2.4.1. Materiales

- Cubeta para espectrofotómetro 1.5mL por 100 unid.
- Embudo de vidrio de 75 mm
- Espátula
- Fiolas de 10 mL, 25 mL, 100 mL y 250 mL
- Frasco ámbar de 30 mL, 100 mL y 250 mL

- Papel tissue
- Probeta de 10 mL, 250 mL y 100 mL
- Pipeta de 10 mL
- Placa de Petri
- Pliego de papel filtro (lento) 48*48 cm
- Puntera universal de 100-1000 µL x 500 unidades azul
- Vaso de precipitado de 50 mL y 100 mL
- Tubo de ensayo 16 x 150 mm sin tapa
- Espátula de acero
- Frascos de vidrio de 1L
- Frascos de vidrio de 50 mL

2.4.2. Equipos

- Agitador con magneto, Marca: IKAMAG RTC, Modelo: Z675059-1EA
- Atomizador, marca: BUCHI Mini Spray Dryer, Modelo: B-290
- Balanza Analítica, Marca: ACCULAB SARTORIUS GROUP ALC-210.4
- Centrifugadora, Marca: SELECTA, Modelo: S-240
- Liofilizador, Marca: LABCONCO, Modelo: 7750040
- Rotavapor, Marca: BUCHI, Modelo: CH-9230
- Estufa, marca: ECOCELL, Modelo: MC000690
- Espectrofotómetro, Marca: THERMO FISHER SCIENTIFIC, Modelo: GENESYS 6
- Termómetro digital, marca: ISOLAB
- pHchímetro, Marca: MILWAUKEE, Modelo: MW102
- Ultrasonido, Marca: BAKU, Modelo: BK,3550

2.4.3. Reactivos

- Agua ozonizada
- Ácido Clorhídrico 0.1N (HCL)
- Ácido Gálico (C₇H₆O₅)
- Alcohol etílico 96° x 1 L (C₂H₆O)
- Folin-Ciocalteu 1 N
- Maltodextrina por 200 g (maltodextrin DE 10-12)
- Metanol (CH₃OH)
- Acetato de Sodio (CH₃COONa)
- Carbonato de Sodio (Na₂CO₃)
- Agar Mueller–Hinton

- Agar Trypticase Soy
- Alcohol etílico 70° x 1 L (C₂H₆O)
- Persulfato de potasio (K₂S₂O₈)
- DPPH,2,2-difenil-1-picrilhidrazil (C₁₈H₁₂N₅O₆)

2.4.4. Software

- Design-Expert versión 8.7.0.1 (demo)
- Minitab versión 22.4 (demo)

2.5. Metodología experimental

La metodología para seguir es la que se muestra en la figura 3 para el proceso de liofilizado de los frutos de macha macha *Pernettya prostrata* (Cav.) DC y en la figura 4 para el secado del extracto concentrado de los frutos de la Macha Macha (*Pernettya prostrata* (Cav.) DC).

2.5.1. Proceso de liofilización de los frutos de macha macha

La Figura 3 nos detalla el procedimiento que se llevó a cabo para la obtención de la muestra liofilizada.

Materia prima: Se empleó frutos de Macha Macha (*Pernettya prostrata* (Cav.) DC) del distrito de Quinua, anexo Nueva Esperanza.

Recepción: Se recolectó 2,50 kg de frutos de Macha Macha (*Pernettya prostrata* (Cav.) DC). en estado de madurez.

Selección y clasificación: Se seleccionaron y clasificaron los frutos de la Macha Macha (*Pernettya prostrata* (Cav.) DC), en su estado de madurez según el color característico, separando las frutas picadas, golpeadas y de tamaño homogéneo.

Lavado: Se procedió a partir por la mitad cada fruto, se retiraron las partículas y pedúnculos de los frutos, sumergiéndolas en agua clorada al 0,1%.

Pesado: Se pesó 2,21 kg de macha macha.

Liofilizado: Se pesaron 350 g de macha macha y se colocaron 70 g de muestra en los 5 frascos de vidrios del liofilizador Marca: LABCONCO, Modelo: 7750040, se encendió el equipo con una temperatura inicial -48 °C y presión de 1.008 mbar, por un periodo de 36 horas, en la cual la temperatura se mantuvo constante y la presión descendió a 0.250 mbar, obteniendo como producto final la muestra de macha macha seca.

Almacenamiento: Se obtuvo 270 g de macha macha liofilizada y se almacenó en recipientes de vidrio debidamente cerrados, en un lugar fuera del alcance de la luz.

El fruto de macha macha obtenido después de la liofilización, tal como se muestra en la figura 2.

Figura 2

Frutos de la Macha Macha Pernettya prostrata (Cav.) DC liofilizado

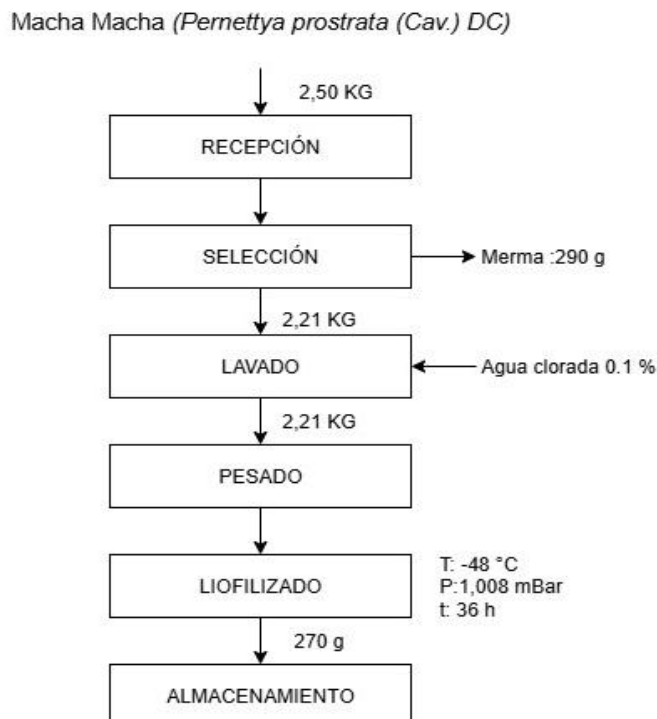


Después de almacenar la macha macha liofilizada como se observa en la Figura 2, se procedió a pesar la cantidad de gramos que se necesita para cada tratamiento, añadiendo etanol y dejarlo reposar por 24 horas.

En la figura 3 se observa el diagrama de bloques para el proceso de liofilización.

Figura 3

Diagrama de bloques del proceso de liofilización de los frutos de la Macha Macha (Pernettya prostrata (Cav.) DC).



En la tabla 1, se muestra la cantidad de etanol y muestra que se utilizó en los 13 tratamientos para poder optimizar la extracción de antocianinas monoméricas y fenoles totales.

Tabla 1

Cantidad de etanol y muestra liofilizada utilizada

TRATAMIENTO	VARIABLES INDEPENDIENTES		CANTIDAD DE ETANOL Y MUESTRA	
	Z1	Z2	Etanol mL	muestra liofilizada g
	Concentración de etanol %	Relación mL etanol/g muestra		
1	70,00	3,00	45,00	15,00
2	70,00	4,41	48,91	11,096
3	84,14	3,00	45,00	15,00
4	70,00	3,00	45,00	15,00
5	55,86	3,00	45,00	15,00
6	70,00	3,00	45,00	15,00
7	60,00	2,00	40,00	20,00
8	70,00	3,00	45,00	15,00
9	70,00	3,00	45,00	15,00
10	70,00	1,59	36,84	23,17
11	80,00	2,00	40,00	20,00
12	80,00	4,00	48,00	12,00
13	60,00	4,00	48,00	12,00

2.5.2. Modelo estadístico

2.5.2.1. Metodología de superficie de respuesta (MSR) - Diseño Compuesto Central Rotable (DCCR)

Para poder procesar y analizar los datos se utilizó el diseño compuesto central rotatable (DCCR), para ello las variables independientes fueron: A: Concentración de alcohol (%) en proporciones de min. 60% y máx. 80% y B: Relación (mL OH/g muestra) en proporciones de min. 2 y máx. 4, llevando estos datos al programa estadístico DESIGN EXPERT versión 8.0.7.1. El diseño más adecuado para este estudio es el Diseño Compuesto Central Rotable (DCCR) ya que nos permite estudiar simultáneamente el efecto y la interacción de las dos variables que tenemos.

$$N.T = 2^P + 2P + C$$

Donde:

N.T : Número de tratamientos

P : Número de factores (4)

C : Número de tratamientos centrales (5)

En la tabla 2, se tiene las variables independientes y dependientes.

Tabla 2

Variables independientes y dependientes.

TRATAMIENTO	VARIABLES INDEPENDIENTES		VARIABLES DEPENDIENTES	
	Z1 Concentración de etanol %	Z2 Relación mL OH/g muestra	R1 Contenido de antocianinas monoméricas mg/g	R2 Contenido de Fenoles Totales mg GAE/g
1	70,00	3,00		
2	70,00	4,41		
3	84,14	3,00		
4	70,00	3,00		
5	55,86	3,00		
6	70,00	3,00		
7	60,00	2,00		
8	70,00	3,00		
9	70,00	3,00		
10	70,00	1,59		
11	80,00	2,00		
12	80,00	4,00		
13	60,00	4,00		

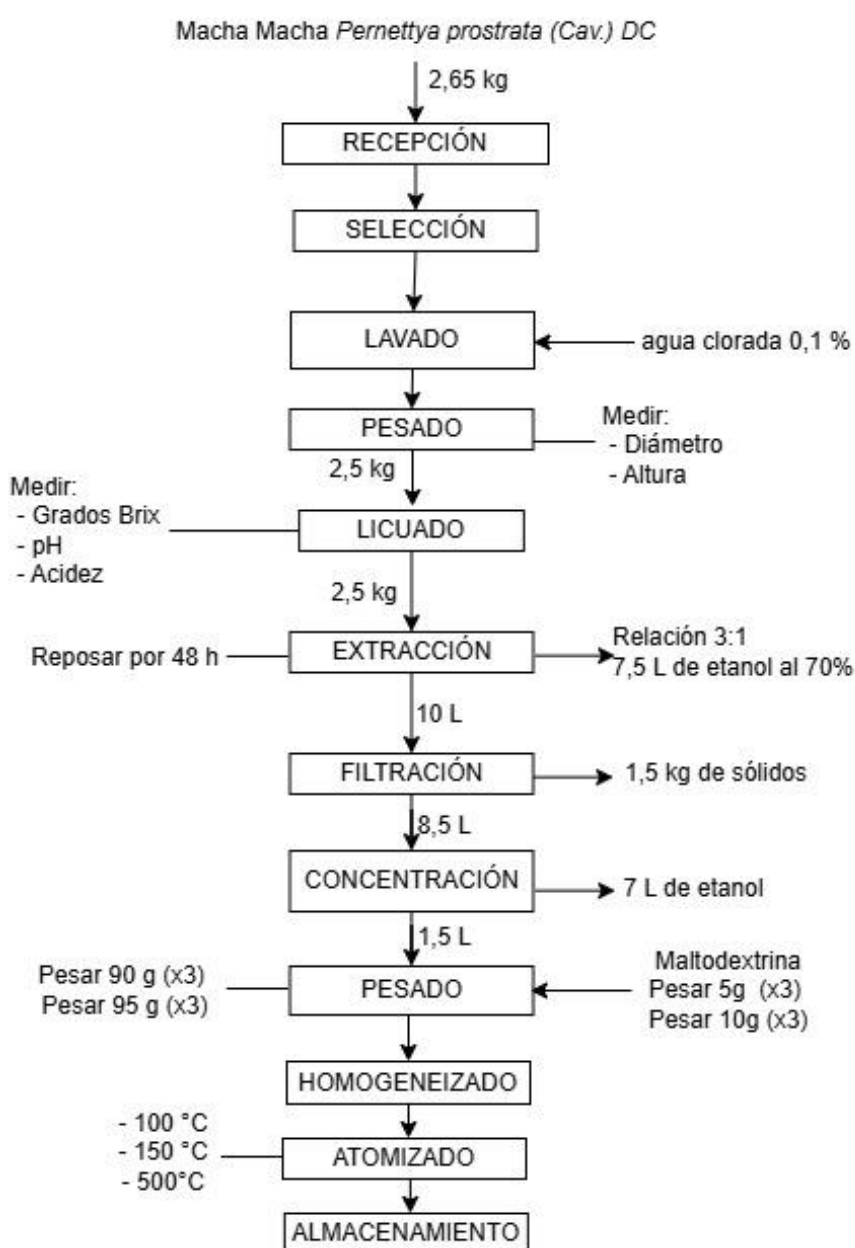
En la tabla 2 se tiene los 13 tratamientos y sus respectivos porcentajes obtenidos mediante el uso del software estadístico (DESIGN EXPERT versión 8.0.7.1.), de acuerdo con el diseño aplicado (DCCR) se tiene 5 puntos centrales los cuales comparten las mismas concentraciones de alcohol y dilución del alcohol, siendo los tratamientos: T₁, T₄, T₆, T₈, y T₉.

2.5.3. Proceso de secado del extracto concentrado

En la Figura 4 se plasma el procedimiento para la obtención del atomizado de los frutos de macha macha.

Figura 4

Diagrama de bloques del proceso del secado del extracto concentrado de los frutos de la Macha Macha (*Pernettya prostrata* (Cav.) DC).



Materia prima: Se empleó frutos de Macha Macha (*Pernettya prostrata* (Cav.) DC) del distrito de Quinoa, anexo Nueva Esperanza.

Recepción: Se recolectó frutos de Macha Macha (*Pernettya prostrata* (Cav.) DC). en estado de madurez.

Selección y clasificación: Se seleccionaron y clasificaron los frutos de la Macha Macha (*Pernettya prostrata* (Cav.) DC), en su estado de madurez según el color característico, separando las frutas picadas, golpeadas y de tamaño homogéneo.

Lavado: En este procedimiento, se retiraron las partículas y pedúnculos de los frutos, sumergiéndolas en agua clorada al 0,1%.

Pesado: Se pesó 2,5 kg de macha macha

Licuada: Se procedió a licuar los frutos de Macha Macha por 30 segundos, en una licuadora de marca Oster.

Extracción: En un recipiente se puso 2.5 kg de frutos de macha macha licuada con 7.5 litros de alcohol con 70% de grados alcohólicos para dejarlo reposar por 48 horas en sombra a temperatura ambiente de 20°C.

Filtración: Se procedió a filtrar para obtener sólo parte líquida separada de los sólidos, obteniendo un total de 8,5 L.

Concentración: en la Figura 5 la muestra líquida se procedió a concentrar en el equipo del Rotavapor de marca: BUCHI, modelo: CH-9230, colocando 500 mL de muestra en el frasco de rotación, a una temperatura constante de 50°C, por 40 minutos promedio, con una presión promedio de 350 mBar, realizando un total de 17 repeticiones hasta terminar los 8,5 L, obteniendo como extracto concentrado 1,5 L.

En la figura 5 se observa el proceso de concentración de la muestra etanólica.

Figura 5

Concentración de la muestra extraída con etanol al 70% en el equipo rotavapor



Pesado: La muestra ya concentrada se procedió a pesar 90 g y 95g, así como la maltodextrina 5g y 10g todo por triplicado.

Homogeneizado: Se realizó el homogeneizado de la muestra concentrada con la maltodextrina en base a 100 g.

Atomizado: la muestra preparada con maltodextrina se colocó en un agitador de magneto de marca: IKAMAG RTC, modelo: Z675059-1EA, para alimentar al equipo atomizador, marca: BUCHI Mini Spray Dryer, modelo: B-290, en diferentes temperaturas de entrada de aire caliente (100, 150 y 200 °C) con el fin de dispersar y evaporar el agua del extracto y obteniendo el producto atomizado. y flujo de absorción. Se detalla en la tabla 3 las condiciones y concentraciones con las que se realizó cada atomizado.

En la figura 6 se muestra el equipo atomizador, marca: BUCHI Mini Spray Dryer, Modelo: B-290 utilizado para el secado de la macha macha (*Pernettya prostrata* (Cav.) DC.

Figura 6

Proceso de secado del extracto concentrado de Macha Macha (Pernettya prostrata (Cav.) DC.



En la tabla 3, se tiene las condiciones a las que fueron atomizadas las muestras.

Tabla 3

Descripción de las condiciones para el atomizado.

N°	Muestra concentrada	Maltodextrina	Muestra concentrada + Maltodextrina	Temperatura	Tiempo
01	90 g	10 g	100 g	200°C	40 min
02	95 g	5 %	100 g	200°C	40 min
03	90 g	10%	100 g	150°C	40 min
04	95 g	5 %	100 g	150°C	40 min
05	90 g	10%	100 g	100°C	40 min
06	95 g	5 %	100 g	100°C	40 min

Almacenamiento: Las muestras atomizadas se colocaron en empaques herméticos (Figura 7) para evitar el ingreso de humedad y luego colocarlas en frascos grandes de vidrio para guardarlos en sombra.

En la figura 7 se observa la muestra atomizada.

Figura 7

Macha macha (Pernettya prostrata (Cav.) DC) después del secado



2.5.4. Modelo Estadístico

2.5.4.1. Diseño Factorial 3x2

Para poder realizar el secado del extracto concentrado de los frutos de macha macha (*Pernettya prostrata* (Cav.) DC), se utilizó el diseño factorial 3x2, de dos variables independientes que es la A=Temperatura con 3 niveles (200 °C, 150°C y 100 °C) y la variable B=% de encapsulante (maltodextrina) con dos niveles de 5% y 10%, para ello se preparó en base a 100g (maltodextrina + muestra concentrada), tal como se tiene en la tabla 4.

Tabla 4

Modelo de diseño Factorial 3x2.

Tratamiento	Corrida	Factor A Temperatura °C		Factor B Maltodextrina %		Maltodextrina + muestra concentrada
01	A ₁ B ₁	A1	200	B1	10	10 g Maltodextrina + 90 g de muestra concentrada
02	A ₁ B ₂	A1	200	B2	5	5 g Maltodextrina + 95 g de muestra concentrada
03	A ₂ B ₁	A2	150	B1	10	10 g Maltodextrina + 90 g de muestra concentrada
04	A ₂ B ₂	A2	150	B2	5	5 g Maltodextrina + 95 g de muestra concentrada
05	A ₃ B ₁	A3	100	B1	10	10 g Maltodextrina + 90 g de muestra concentrada
06	A ₃ B ₂	A3	100	B2	5	5 g Maltodextrina + 95 g de muestra concentrada

Base de muestra = 100 g

2.6. Métodos de análisis

2.6.1. Determinación de la Humedad

Para determinar el contenido de humedad se utilizó el protocolo número 964.22 de la Asociación Oficial de Químicos Analíticos (AOAC, 1990).

Se pesó 5g de muestra fresca de fruto de macha macha en la balanza analítica por Placas de Petri en una estufa de aire forzado a 110°C por un periodo de 6 horas hasta alcanzar un peso constante; esto se realizó por triplicado. Lo mismo se realizó en la macha macha liofilizada y atomizada. Se utilizó la siguiente fórmula para hallar los datos:

$$\% \text{ humedad} = \frac{P_i - P_f}{P_i} \times 100\%$$

Donde:

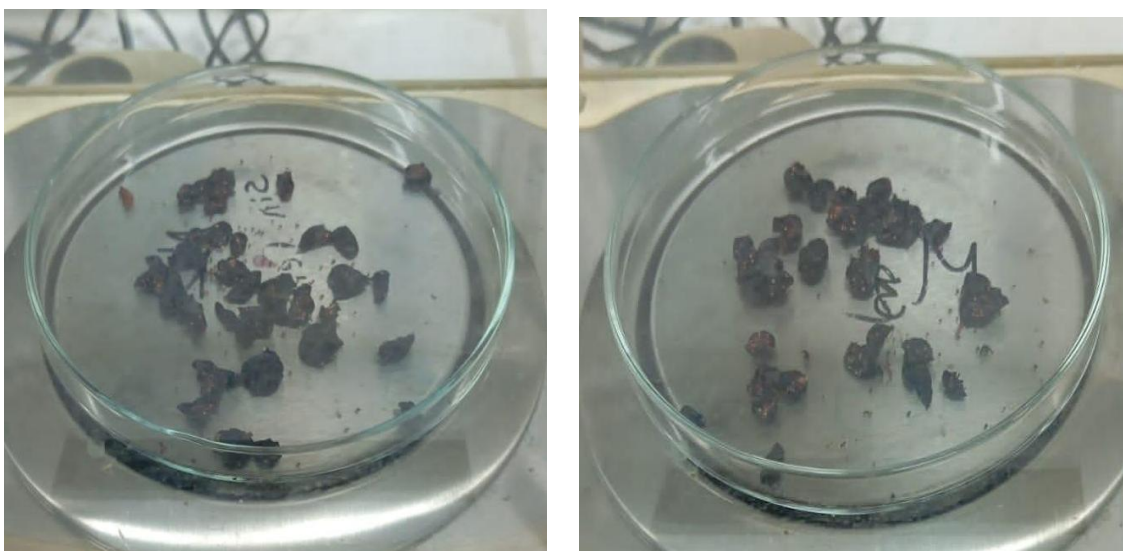
P_i = *Peso inicial*

P_f = *Peso final*

En la figura 8, se muestra a los frutos de macha macha después de haber sido secados en la estufa, marca: ECOCELL, Modelo: MC000690.

Figura 8

Muestras de Macha macha (Pernettya prostrata (Cav.) DC) después del secado en estufa



2.6.2. **Determinación de las Antocianinas Monoméricas**

Para la determinación del contenido de antocianinas monoméricas se utilizó el Método Oficial AOAC 2005.02 (AOAC INTERNATIONAL, 2006).

2.6.2.1. **Extracción de las antocianinas**

Paso 1 Se pesó 250 g de muestra de Macha Macha y se midió 750 mL de alcohol etílico 70°, para luego homogeneizar, dicho proceso se realizó 10 repeticiones para finalmente trasvasar en un envase limpio, se obtuvo 10 L y se dejó reposar durante 48 h en un ambiente fuera del alcance de la luz.

2.6.2.2. Concentración de las antocianinas

Paso 2 Cumplidas las 48 h se filtró y se obtuvo 8,5 L de extracto, se trasvasó en un recipiente, obteniendo así un extracto libre de sólidos.

Paso 3 Se instala el equipo del rotavapor, regulando la temperatura del calentamiento del agua a 50 °C y la presión a 350 mBar. Se extrae 500 mL de extracto y se coloca en el balón para iniciar con el proceso de concentración aproximadamente durante un tiempo de 40 min, tomando como referencia el flujo del alcohol recuperado. Este proceso se realizó 17 veces, hasta culminar los 8,5 L de extracto obtenido.

Paso 4 El extracto concentrado que se obtuvo fue de 1,2 L, este extracto concentrado se trasvasó en frascos color ámbar y fueron almacenadas en el refrigerador.

2.6.2.3. Secado por atomización de las antocianinas

Paso 5 Se pesó 5 g y 10 g de maltodextrina (encapsulante), 90 g y 95 g de extracto concentrado, se homogeneizó y se trasvasó la muestra en un vaso de precipitado.

Paso 6 Se encendió el equipo graduando la temperatura a las cuales se trabajó (100 °C, 150 °C y 200 °C), y se realizó este proceso para las 6 muestras a diferentes concentraciones de maltodextrina y extracto concentrado (5% - 95%, 10%-90%).

Paso 7 Se trasvasó la muestra atomizada en recipientes herméticos, se pesaron y se sellaron de manera que no puedan ganar humedad, y finalmente se almacena en un frasco de vidrio fuera del alcance de la luz.

2.6.2.4. Preparación de reactivos

Paso 8 Se preparó tampón de pH 1.0 (Cloruro de potasio 0.025M), para ello se pesó 0.465 g de KCL en una luna de reloj y se agregó 245 mL de agua destilada y se homogeneizó.

Paso 9 Se encendió el pH-metro para poder realizar la medición y se ajustó con 1,575 mL de HCL para poder llegar a una lectura de pH=1.

Paso 10 Dicha solución se trasvasó en una fiola de 250 mL y se almacenó en un lugar fresco.

- Paso 11** Se preparó tampón de pH 4,5 (acetato de sodio, 0,4 M), para ello se pesó 10,8870 g de $\text{CH}_3\text{CO}_2\text{Na}_3\text{H}_2\text{O}$ y se agregó agua destilada 245 ml y se homogeneizó.
- Paso 12** Se encendió el pH-metro para poder realizar la medición y se ajustó con 3 mL de HCL para poder llegar a una lectura de pH=4.5.
- Paso 13** Dicha solución se trasvasó en una fiola de 250 mL y se almacenó en un lugar fresco.

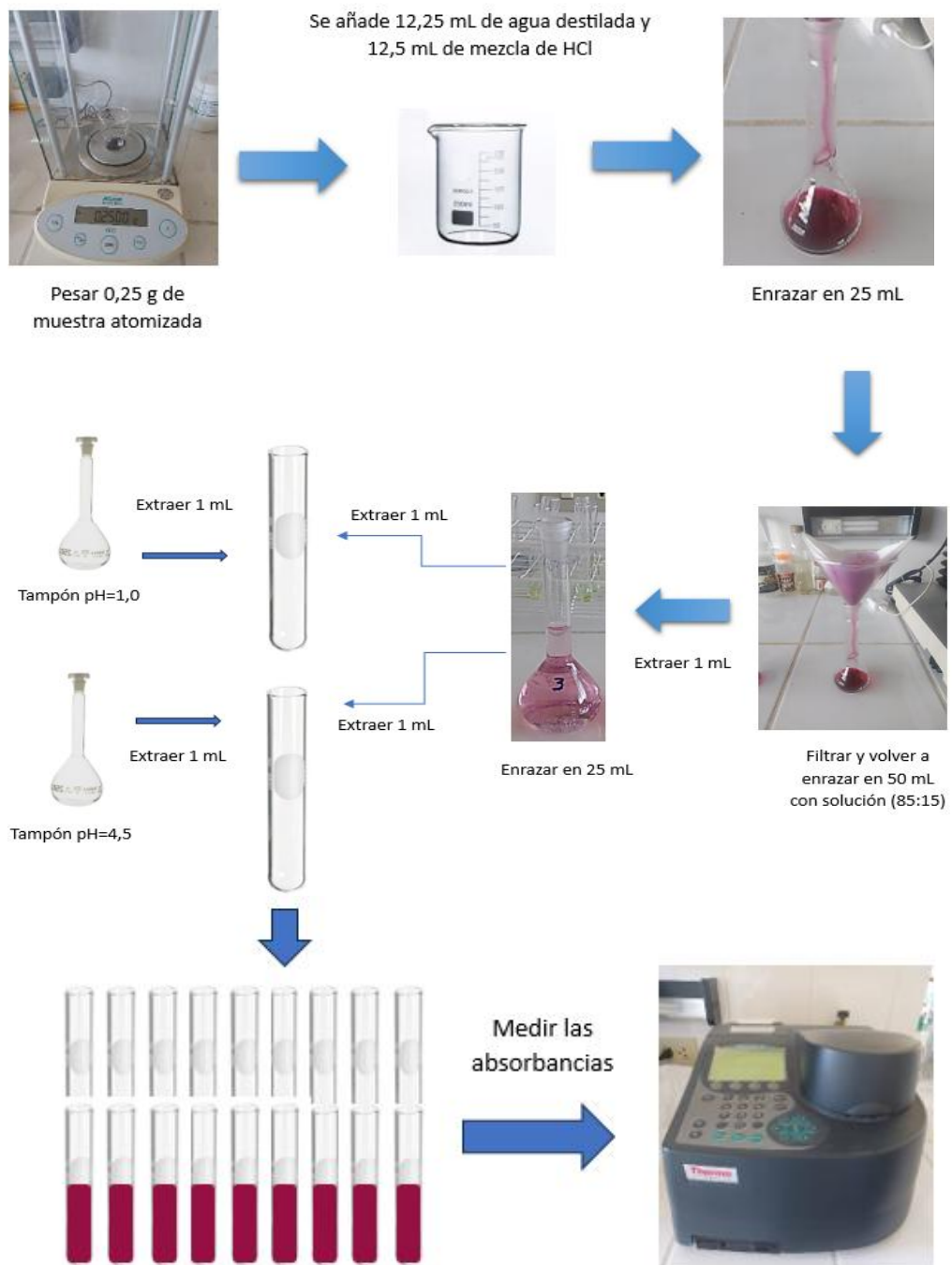
2.6.2.5. Cuantificación de las antocianinas monoméricas

- Paso 14** Se pesó 0,25 g de la muestra atomizada en la balanza analítica, se midió 12,25 mL de agua destilada y 12,5 mL de mezcla de HCl una vez homogeneizadas se enrazó en una fiola 25 mL.
- Paso 15** Se preparó una solución de 85 % y 15 % de HCL, la cual consistió en medir 850 mL de alcohol etílico de 70° en una probeta y 150 mL de HCL, se homogeneizó y se trasvasa en un recipiente rotulado.
- Paso 16** Se filtró dichas muestras con la ayuda de un embudo y papel filtro lento lavando los residuos con la solución de 85 % y 15 % de HCL, posterior a ello se enrazó en una fiola de 50 mL.
- Paso 17** Se extrajo 1 mL y se vuelve a enrasar en 25 mL con la solución de 85 % y 15 % de HCL.
- Paso 18** Se extrajo 1 mL de dicha solución enrazada anteriormente y se trasvasa en 2 tubos de ensayo para luego añadir 4 mL de tampón con un pH de 1 y 4,5 respectivamente, se agitan y se dejó reposar durante 20 min.
- Paso 18** Se enciende el equipo del espectrofotómetro para hacer las lecturas correspondientes a una longitud de onda de 520 nm y 700 nm respectivamente, las muestras obtenidas se trasvasan en cubetas y se colocan en las celdas del espectrofotómetro de Marca: THERMO FISHER SCIENTIFIC, Modelo: GENESYS 6, obteniendo de esta manera la lectura de las absorbancias respectivamente.
- Paso 19** Dicho procedimiento se siguió para las 7 muestras obtenidas, siendo cada una repetidas por triplicado.

En la figura 9 se observa los pasos a realizar para poder realizar la lectura de las absorbancias en el espectrofotómetro de Marca: THERMO FISHER SCIENTIFIC, Modelo: GENESYS 6, para con ello determinar las antocianinas monoméricas.

Figura 9

Procedimiento de las lecturas de las absorbancias en el espectrofotómetro



Paso 20 Obtenidas las absorbancias, a través de la siguiente fórmula se cuantificará las antocianinas:

$$\text{Pigmento de antocianina (equivalentes de cianidina - 3 - glucósido, } \left(\frac{\text{mg}}{\text{L}}\right) = \frac{A * PM * DF * 10^3}{E * l}$$

Donde:

A = $(A_{520\text{nm}} - A_{700\text{nm}})_{\text{pH } 1,0} - (A_{520\text{nm}} - A_{700\text{nm}})_{\text{pH } 4,5}$.

PM = *Peso molecular* = 449,2 g mol para cianidina - 3 - glucósido.

DF = Actor de dilución establecido.

103 = Factor de conversión de g a mg.

E = 26900 coeficiente de extinción molar, en L mol * cm, para cianidina - 3 - glucósido.

1 = Longitud de trayecto en cm.

2.6.3. Identificación de las Antocianinas Monoméricas

Para la identificación de las antocianinas monoméricas se realizó por cromatografía mediante UHPLC-DAD por el método de corrida.

2.6.3.1. Preparación de la muestra

Paso 1 Se disolvió 0.6 g de la muestra de frutos de macha macha liofilizada en 5 mL de etanol al 70% acidificado con HCl (0.01%). Posteriormente, la solución se sónico durante 10 minutos, se dejó en reposo por 24 horas y, finalmente, se filtró mediante un filtro de jeringa de nylon de 0.22 µm.

2.6.3.2. Parámetros de corrida

Equipo: UHPLC-DAD-CAD. Ultimate 3000 Thermo Scientific. (con detector de Arreglo de Diodos (DAD) y detector cargado de aerosol (CAD)).

Paso 2 La separación se realizó mediante elución por gradiente empleando una Columna: Phenomenex C18 (150 * 4.60mm * 5µm), con las siguientes fases móviles

A: Acido fórmico 3%

B: Acetonitrilo 100%

Paso 3 El volumen de inyección fue de 10 μL de muestra y se trabajó con flujo de inyección de 1 ml/min por un tiempo de 45 minutos. La temperatura de la columna se mantuvo constante a 30 $^{\circ}\text{C}$.

Paso 4 Se empleó detector de arreglo de diodos (DAD) y la identificación de antocianinas monoméricas fue realizada a 520 nm de longitud de onda.

2.6.4. Determinación de la Fenoles Totales

Para poder determinar lo fenoles totales, se utilizó el método de Folin-Ciocalteu de (García et al., 2015), para ello, se debe preparar los reactivos que son carbonato de sodio 1,2 N y Folin Cicoateau 1N, determinar la curva patrón de ácido gálico y hallar la ecuación de la línea recta.

2.6.4.1. Preparación de Carbonato de Sodio (Na_2CO_3) 1,2 N

En una balanza analítica para ello se pesó 4,75 g de Na_2CO_3 , para luego disolver con un poco de agua destilada y enrasar con agua destilada en una fiola de 100 mL, almacenar.

2.6.4.2. Preparación del Reactivo Folin Cicoateau 1 N

Del reactivo inicial Folin 2N, se preparó a 1N, relación 1:1 (10 mL de reactivo Folin 2N + 10 mL de agua destilada)

2.6.4.3. Preparación de las Soluciones Estándares

Paso 1 Para ello se pesó 12 mg de ácido gálico ($\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_5$) en una fiola para luego enrasar con agua destilada en 100 mL.

Paso 2 De la solución ya preparada, se procedió a extraer con ayuda de una micropipeta graduada alícuotas de 0, 20, 40, 60, 80, 100, 120, 140 y 160 μL (total 9) para añadir cada uno en diferentes tubos de ensayo y completar con agua destilada a un volumen de 500 μL .

2.6.4.4. Curva de calibración

Paso 3 A cada tubo de ensayo que contiene los 500 μL en diferentes proporciones del estándar, se le añadió 0,25 mL del reactivo Folin 1N + 1,25 mL de Na_2CO_3 1.2N, para seguidamente homogeneizar y dejar reposar en sombra por un periodo de 30 min en la oscuridad. Finalmente leer la absorbancia a una longitud de onda de 755 nm.

2.6.4.5. Preparación de las Muestras para la lectura de las absorbancias

- Paso 4** De las muestras atomizadas (6) se pesaron 0,25 g para luego se agregó 10mL de metanol y se guardó durante 24 horas bajo refrigeración en tubos de ensayo bien tapados. Pasado el tiempo, los 6 tubos se colocaron en la centrifugadora de marca: SELECTA, modelo: S-240, por 5 min a 1000 rpm.
- Paso 5** De cada tubo con la muestra ya sedimentada se extrajo la parte líquida 1 mL para realizar diluciones en fiolas de 25 ml con agua destilada, para luego extraer 0,5 mL y colocarlas en tubos de ensayo; se trabajó por triplicado por lo que se necesitó 18 tubos de ensayo.
- Paso 6** A cada tubo de ensayo se le añadió 0,25 mL del reactivo Folin 1N + 1,25 mL de Na_2CO_3 1,2 N.
- Paso 7** Se preparó otro tubo de ensayo para el blanco con 0,5 mL de agua destilada más 0,25 mL del reactivo Folin 1N y 1,25 mL de Na_2CO_3 1,2N.
- Paso 8** Las muestras se dejaron reposar por 40 minutos en la estufa a 20°C para luego colocar en cubetas y realizar las lecturas en el espectrofotómetro de marca: THERMO FISHER SCIENTIFIC, modelo: GENESYS 6, con longitud de onda 755 nm.

En la figura 10 se observa las muestras de frutos de macha macha atomizados después de haber sometidos a centrifugación.

Figura 10

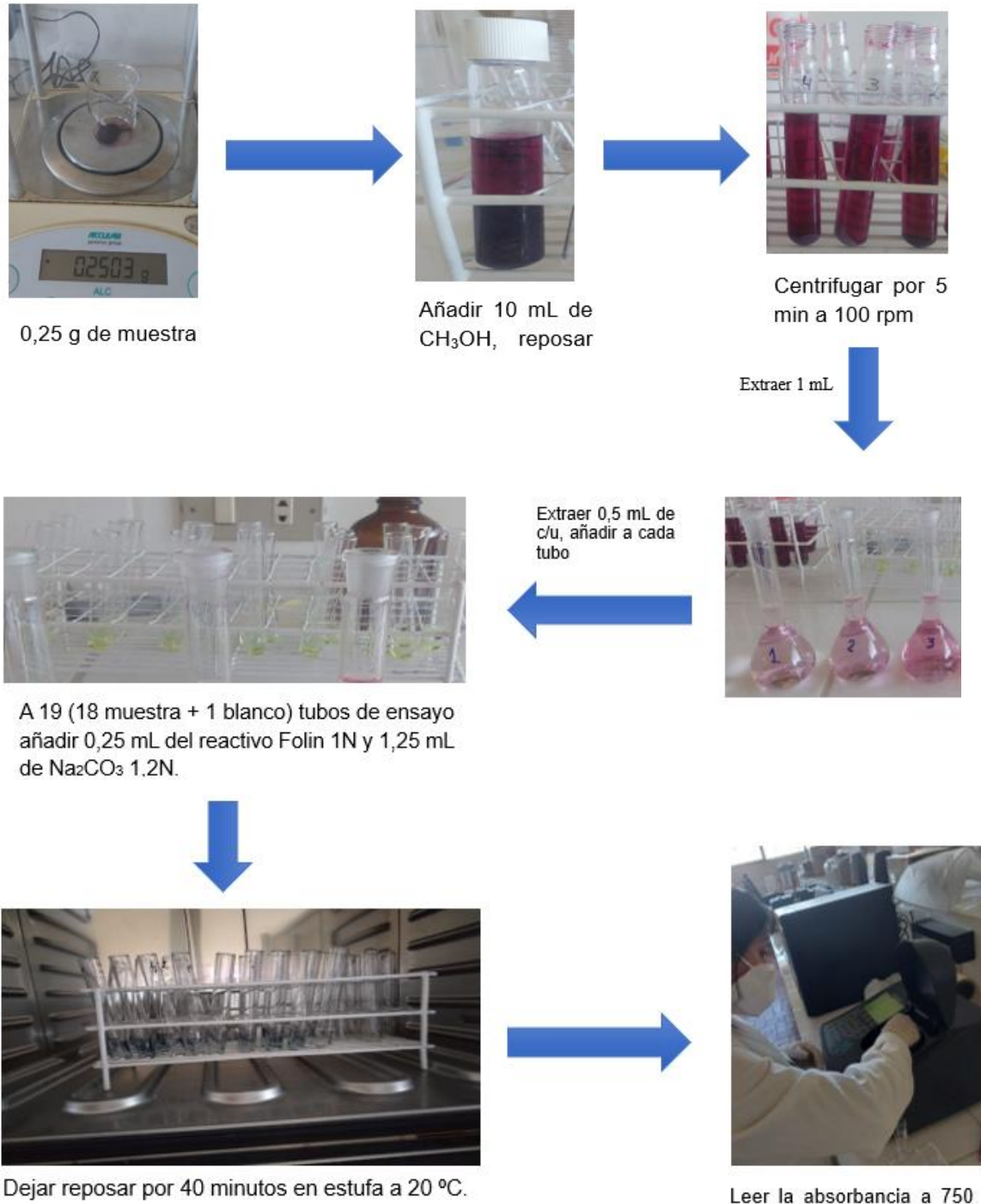
Muestras sometidas a centrifugación



En la figura 11 se muestra los pasos a seguir para poder hacer las lecturas de las absorbancias para determinar fenoles totales de las muestras atomizadas y liofilizadas.

Figura 11

Diagrama de proceso para la lectura de las absorbancias



Después de leer las absorbancias, se procedió a determinar la cantidad de fenoles totales, más conocido como TPC.

Se determinó la curva patrón con los datos obtenidos

Se determinó la concentración (mg GAE/ml) según la curva de calibración.

$$y = 28,557x + 0,0113$$

$$\text{Conc.} \left(\frac{\text{mg GAE}}{\text{mL}} \right) = \frac{(\text{abs} - 0,0113)}{28,557}$$

Se determina la concentración (mg GAE/ml) aplicando el factor de dilución correspondiente que es de 1/25 en las 18 muestras.

$$\text{Conc. de la dilucion} \left(\frac{\text{mg GAE}}{\text{mL}} \right) = \text{Conc.} \left(\frac{\text{mg GAE}}{\text{mL}} \right) \times 25$$

Se divide los mg GAE entre los gramos de macha macha utilizada en cada determinación.

$$\frac{\text{mg GAE}}{\text{g de macha m. atom.}} = \frac{\text{Conc. de la dilucion} \left(\frac{\text{mg GAE}}{\text{mL}} \right)}{\text{g de macha m. atom. usada en la extracción}}$$

2.6.5. Determinación de la Capacidad antioxidante

2.6.5.1. Determinación por DPPH-método de recolección de residuos

Para la determinación de la capacidad antioxidante por DPPH se utilizó el método descrito por Sousa et al. (2007).

Preparación de la curva de calibración de DPPH

Paso 1 Se pesó 4 mg en la balanza analítica A & D BM-525 del reactivo de DPPH, para luego enrasar con etanol de 96° en una fiola de 100 mL.

Paso 2 Se extraen 8,75 μL , 7,50 μL , 6,25 μL , 5,00 μL , 3,75 μL , 2,50 μL , 1,25 μL , 0,25 μL de la muestra antes preparada, obteniendo 8 diluciones de las cuales son enrasadas en fiolas de 10 mL con etanol al 96 °.

Paso 3 Se calibró el espectrofotómetro con el blanco (etanol 96°), se dejó reposar por 30 min. y se lee la absorbancia a 515 nm.

Determinación de la actividad antioxidante

- Paso 1** Se pesó 100 mg en la balanza analítica A & D BM-525 de muestra de macha macha atomizada y se mezcló con 10 mL de etanol (70 °).
- Paso 2** Se agitó la mezcla en el sonificador marca BAKU, modelo: BK 3550, a 50 W, durante 20 min.
- Paso 3** La mezcla se enrazó en una fiola de 25 mL con etanol de 70 ° y se llevó a centrifugar a 200 RPM x 10 min.
- Paso 4** Se prepararon 5 diluciones, las cuales son 0,125 mL, 0,250 mL, 0,625 mL, 1,25 ml y 2,5 mL de solución madre que se utilizaron y fueron enrasadas con 10 mL de etanol de 70 °.
- Paso 5** Se prepararon la muestra control (2,7 mL de la solución de DPPH con 0,3 mL de etanol al 70 °) y el blanco (0,3 mL de etanol al 70 ° con 2,7 mL de etanol al 96°).
- Paso 6** En 5 tubos de ensayo se extrajo 0,3 mL de las diluciones antes preparadas y se le añadió 2,7 mL de la solución de DPPH, se dejó reposar por 30 min. fuera del alcance de la luz y se llevó a espectrofotómetro (UV-Visible Thermo Scientific-GENESYS-150), para hacer la lectura de las absorbancias a 515 nm.
- Paso 7** Este mismo procedimiento se siguió para las 6 muestras atomizadas a diferentes T (100°C, 150°C y 200°C) a diferentes concentraciones de encapsulante (5% y 10%); así como también para la muestra liofilizada, utilizando metanol como disolvente.

2.6.6. Determinación de la Actividad antimicrobiana

2.6.6.1. Método Modificado de difusión en pozo en agar

Para determinar la actividad antimicrobiana, se utilizó el método modificado de Difusión en pozo en agar, usado por Prat (2002).

- Paso 1** Se reactivó el agar Mueller-Hinton a 40°C, se dejó verter 25 mL en cada placa de Petri y se dejó solidificar.
- Paso 2** Se tomó cada colonia y se suspendió en 10 mL de salina estéril hasta alcanzar la turbidez de 0,5 en la escala de McFarland, para luego inocular 100 µL de la suspensión 0,5 McFarland sobre cada placa mediante siembra por inundación o espalme uniforme. Se dejó absorber el exceso, secando la superficie durante 3 a 5 min en una cabina.

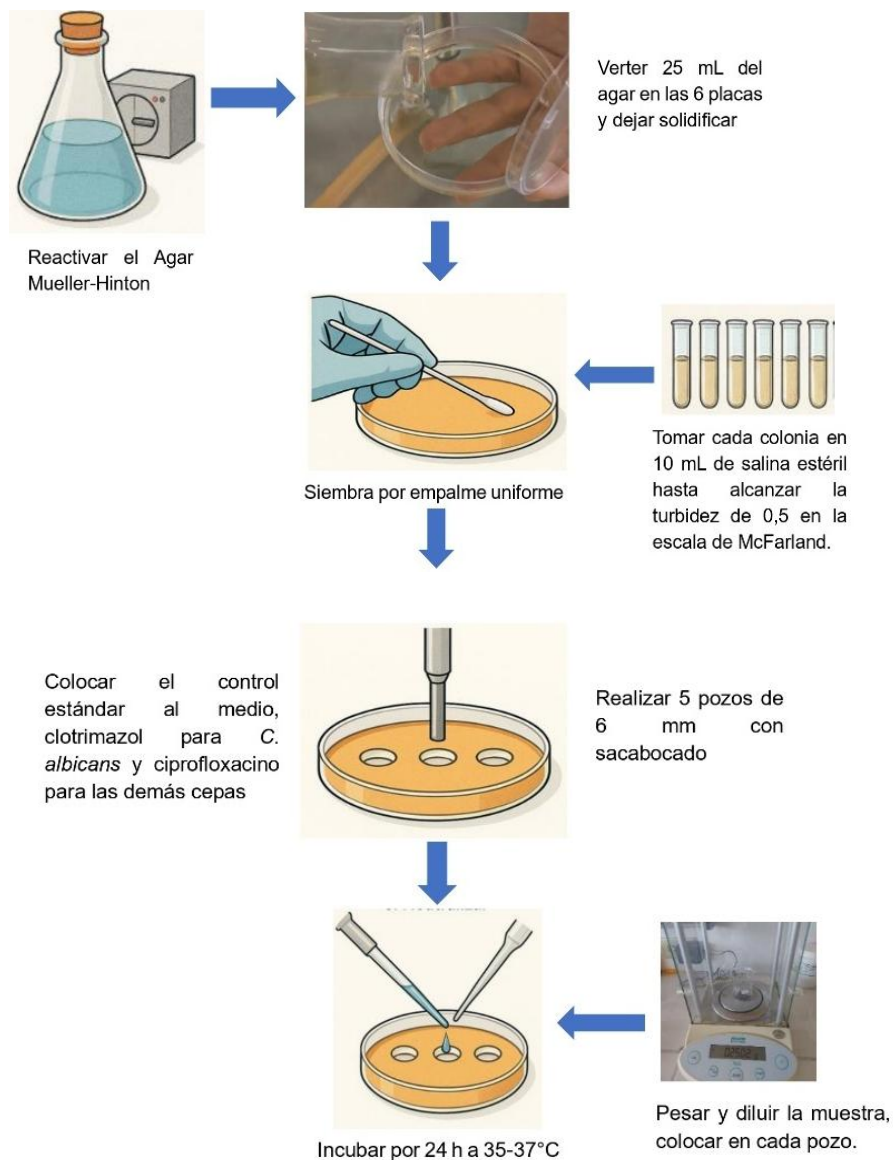
Paso 3 Se pesó y disolvió la macha macha atomizada (400,5 mg con 2 mL de metanol + 2 mL de H₂O) y liofilizada (200,3 mg con 1 mL de metanol + 1 mL de H₂O).

Paso 4 Se realizaron pozos de 6 mm de diámetro con ayuda de un sacabocado estéril, donde se inocularon 100 µL de la macha macha atomizada, para seguidamente incubar las placas de Petri de forma invertida por un periodo de 24 horas a una temperatura de 35-37°C. Pasado el tiempo se midió las inhibiciones.

En la figura 12 se muestra el procedimiento a realizar en el método de difusión.

Figura 12

Diagrama del procedimiento para realizar el método modificado de difusión en pozo en agar



2.6.6.2. Método de Micro dilución con Resazurina

- Paso 1** Se reactivaron las cepas en Agar Trypticase Soy (TSA), incubadas por 18 a 24 horas a una temperatura entre 35 a 37°C. Se tomó cada colonia y se suspendió en 10 mL de salina estéril hasta alcanzar la turbidez de 0,5 en la escala de McFarland.
- Paso 2** Se preparó una suspensión bacteriana en salina estéril y se ajustaron hasta alcanzar la turbidez de 0,5 en la escala de McFarland (5×10^5 UFC mL⁻¹), conteniendo 1×10^8 UFC mL⁻¹.
- Paso 3** Se diluyó la suspensión en Caldo Mueller–Hinton. Para poder obtener 5×10^5 UFC mL⁻¹ en cada pozo, se mezcló 100 µL de inóculo + 100 µL de extracto/medio en el pozo (volumen final 200 µL).
- Paso 4** Por cada 20 mL del inóculo preparado en Caldo Mueller–Hinton, se añadió 100 µL de resazurina 20 mg/mL, quedando 0,1 mg/mL de resazurina en el inóculo.
- Paso 5** En una microplaca con un total de 96 pozos, se inocularon 100 µL de la macha macha liofilizada con 100 µL del inóculo bacteriano en cada uno de los pozos, para dejarlo reposar por un periodo de 15 min y luego se incubó a una temperatura de 34 a 37°C por un periodo de 24 horas.

2.6.7. Determinación de la Toxicidad con Artemia Salina

Para determinar la toxicidad, se utilizó el método de Artemia Salina, usado por González et al. (2003).

2.6.7.1. Eclosión de huevos de Artemia Salina

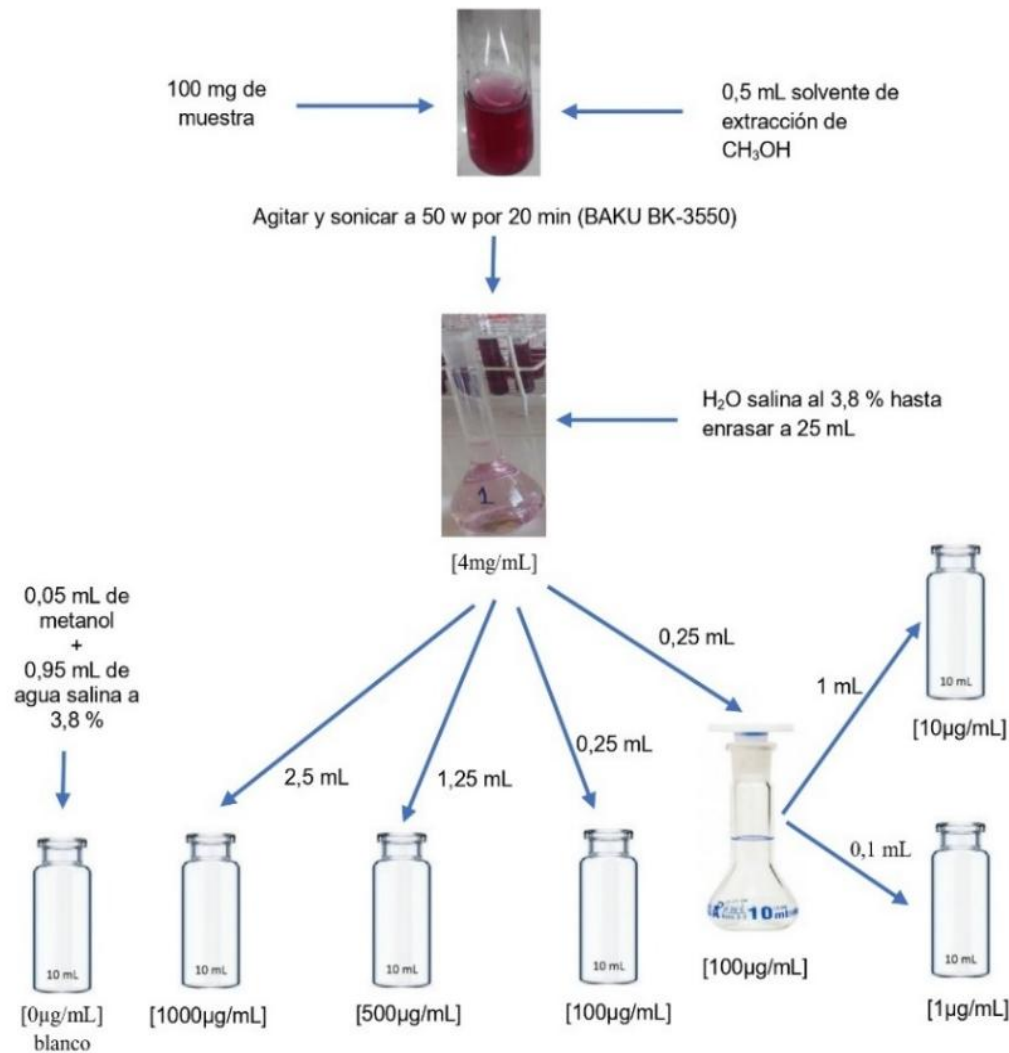
- Paso 1** Se preparó agua salina al 3.8 %, para hidratar los huevos y luego hacerlo eclosionar durante 48 horas a temperatura de (28 °C), en un ambiente iluminado.
- Paso 2** Se pesó 100 mg de muestra, se añadió 0,5 mL de solvente (Metanol (CH₃OH)) para luego agitar y pasar por el equipo de ultrasonido, marca BAKU, modelo: BK-3550 por un tiempo de 20 minutos.
- Paso 3** A la muestra preparada se añadió H₂O salina al 3,8% hasta enrasar en una fiola de 25 mL. De esta primera dilución se extrajeron 2,5mL, 1,25 mL y 0,25 mL para colocarlos en viales de 10 mL cada uno y enrasarlos con H₂O salina al 3,8%; esto se realizó por triplicado.

Paso 4 De cada una de las diluciones se extrajeron 1 mL y 0.1 mL para colocar en viales de 10 mL y enrasarlos con H₂O salina al 3,8%.

En la figura 13 se visualiza el proceso para preparar la muestra y evaluar la toxicidad con artemia salina.

Figura 13

Diagrama de proceso para la preparación de las muestras



2.6.7.2. Preparación del Blanco o control

Paso 5 El blanco debe tener el mismo porcentaje del solvente que las muestras, (0,5 mL CH₃OH).

2.6.7.3. Exposición de los Nauplios

Paso 6 Se transfirió 10 nauplios en cada vial con 10 mL de solución de extracto y acondicionado a 28°C por un periodo de 24 horas.

Paso 7 Pasado las 24 horas, se evaluó la mortalidad, donde se procedió a contar los nauplios vivos y muertos. Se colocó 10 nauplios en cada vial, realizando por triplicado.

Tabla 5

Tabla de distribución de las repeticiones que se hizo en cada concentración.

Concentración ($\mu\text{L/mL}$)	Repetición 1		Repetición 2		Repetición 3	
	Muertos	Vivos	Muertos	Vivos	Muertos	Vivos
0	0	10	0	10	0	10
1	0	10	0	10	1	9
10	1	10	0	10	0	10
100	1	9	2	8	2	8
500	3	7	2	8	2	8
1000	3	7	4	6	5	5

Paso 8 Una vez obtenido los resultados, se calculó el porcentaje de mortalidad.

$$\%M = \frac{\text{muertos}}{30} \times 100$$

2.6.7.4. Corrección de mortalidad

Paso 9 En la muestra control, si la mortalidad no es 0%, se ajusta con la fórmula de Abbott a todos los resultados.

$$\text{Mortalidad corregida} = \frac{M_t - M_c}{100 - M_c} \times 100$$

M_t = mortalidad observada en la muestra

M_c = mortalidad de control

Paso 10 Se buscó la concentración que presenta 50% de mortalidad, interpolando entre dos dosis en la escala \log_{10} , con la siguiente fórmula para poder calcular LC_{50} (concentración letal al 50%):

Se elige las dos dosis consecutivas L y H tales que:

$$\%M_L < 50 < \%M_H$$

Se calcula:

$$\log_{10}(LC_{50}) = \log_{10}(L) + \frac{50 - \%M_L}{\%M_H - \%M_L} [\log_{10}(H) - \log_{10}(L)]$$

$$LC_{50} = 10^{\log_{10}(LC_{50})}$$

CAPÍTULO III

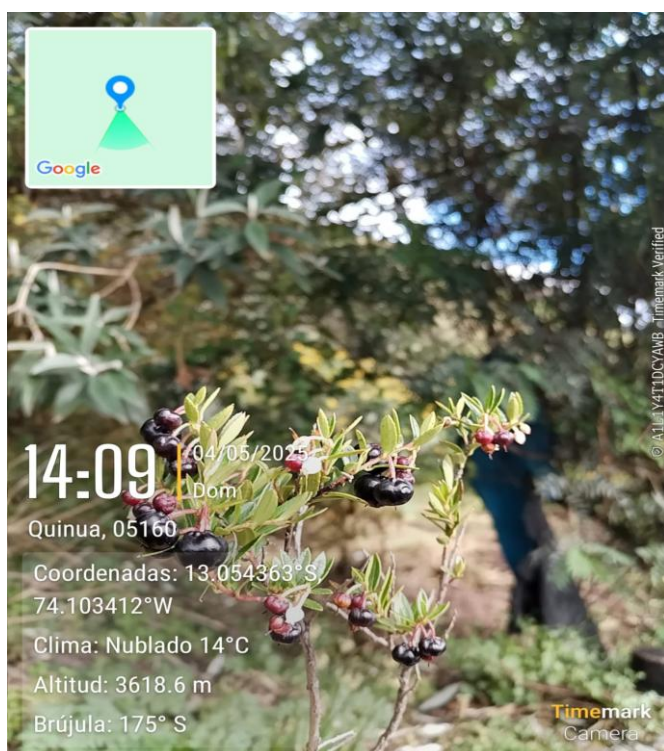
RESULTADOS Y DISCUSIONES

3.1. Caracterización físico química de la macha macha (*Pernettya prostrata* (Cav.) DC) madura

La figura 14 muestra a la macha macha (*Pernettya prostrata* (Cav.) DC) tomada en el lugar donde crece, a 3618 m.s.n.m., el anexo de Nueva Esperanza, Región Ayacucho, detallando las coordenadas exactas de su ubicación, a una temperatura de 14°C.

Figura 14

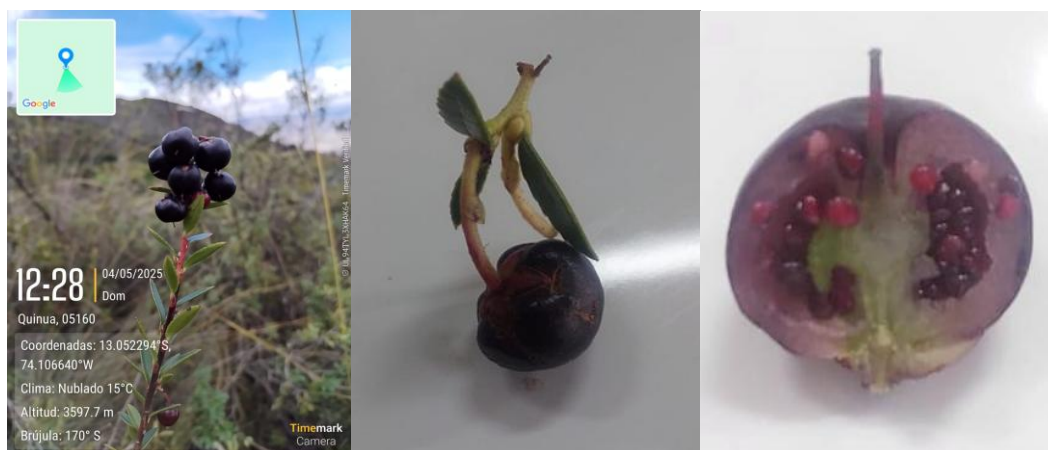
Planta de la macha macha (Pernettya prostrata (Cav.) DC) tomada en el anexo Nueva Esperanza



En la Figura 14 se muestra la planta de macha macha *Pernettya prostrata* (Cav.) DC, estudiada en este trabajo de investigación, fue recolectada en el anexo de Nueva Esperanza, del distrito de Quinua, provincia Huamanga, Región Ayacucho, creciendo este fruto en zonas bastante altas, con difícil acceso, estando disperso y escondido con otros arbustos de más altura, ya que es de porte bajo, semi erguido, con una altura de 0,2 a 0,8 m promedio, presenta tallos ramificados bastante delgados con hojas pequeñas en forma elíptica. Según Luteyn (2002), este arbusto crece de forma silvestre en ecosistemas altoandinos que corresponden a las condiciones encontradas de estos frutos.

Figura 15

Frutos de macha macha de la especie *Pernettya prostrata* (Cav.) DC tomada en el anexo Nueva Esperanza y en el laboratorio



En la figura 15 se muestra los frutos recolectados son bayas globosas de forma esférica, con un color morado oscuro bien característico en estado de maduración, una pulpa transparente muy jugosa, con semillas numerosas de color morado claro, muy minúsculas, lo cual coincide con lo reportado en Romero & Cueva (2020), quienes describen al fruto como una baya con una tonalidad violácea oscura intensa, esto es atribuido a su contenido de antocianinas. De igual manera Ramírez et al. (2020). señala que el fruto posee una cáscara muy delgada, de una textura bastante firme y con un sabor ligeramente ácido-astringente; estas características también fueron observadas en los frutos analizados.

3.1.1. Evaluaciones morfométricas de los frutos maduros de Macha Macha

Después de la selección de los frutos de macha macha (*Pernettya prostrata* (Cav.) DC), se procedió a realizar las evaluaciones físicas a los frutos, tomando 20 frutos

como muestra para pesar, medir el diámetro y la altura con se detalla en la siguiente tabla 6:

Tabla 6

Resultados de las evaluaciones morfométricas de los frutos maduros Macha Macha Pernettya prostrata (Cav.) DC

N° de fruto	Peso (g)	Diámetro (mm)	Altura (mm)
1	0,629	9,225	7,254
2	0,530	7,899	8,125
3	0,599	8,917	5,856
4	0,461	6,992	6,453
5	0,870	10,157	6,871
6	0,563	9,257	7,015
7	0,653	8,885	6,812
8	0,431	7,945	7,125
9	0,828	9,058	8,157
10	0,646	9,789	8,548
11	0,598	9,045	8,892
12	0,650	9,843	6,985
13	0,619	10,114	7,941
14	0,542	8,413	7,896
15	0,470	9,236	6,853
16	0,491	9,941	6,842
17	0,678	9,279	5,876
18	0,783	8,875	6,876
19	0,634	9,451	8,923
20	0,693	8,004	6,905
PROMEDIO	0,618 ± 0,12 g	9,016 ± 0,82 mm	7,310 ± 0,89 mm

En la tabla 6, se tiene la evaluación morfométrica de los frutos de macha macha recolectados en el anexo Nueva Esperanza, del distrito de Quinua, ubicado a 3,597 m.s.n.m. Para muestreo y evaluación se tomaron 20 bayas. Según Baldeón et al. (2020), en la caracterización morfológica y fisicoquímica de la variedad *Vaccinium floribundum Kunth*, utilizaron 30 frutos representativos por muestra, esto permitió obtener una distribución normal de datos y error aceptable en el tamaño y peso. De manera similar Cabrera et al. (2019); Vasco et al. (2009) mencionan que en frutos pequeños como los del género *Vaccinium*, el número de unidades experimentales debe oscilar entre 20 y 50 frutos, esto va depender de la homogeneidad de la muestra.

Al calcular, tenemos el promedio del peso $0,618 \pm 0,12$ g, del diámetro $9,016 \pm 0,82$ mm y de altura $7,310 \pm 0,89$ mm. Romero & Cueva (2020), en su investigación mencionan que el peso del *Pernettya prostrata (Cav.) DC* (recolectado en páramos

ecuatorianos entre 2,800 a 4,000 m.s.n.m.) está en el rango de 0,30 a 0,50 g; habiendo una poca diferencia de $0,118 \pm 0,12$ g, tomando el valor más alto encontrado en dicho artículo comparando con el peso promedio nuestro, donde coincide que las bayas son de bajo peso y de alta humedad, rasgos comunes en especies silvestres de la familia Ericaceae.

Así mismo, Rodríguez et al. (2021) han reportado en frutos procedentes de zonas altoandinas del Perú, el diámetro promedio es de $7,6 \pm 1,2$ mm y alturas de $7,2 \pm 0,8$ mm, resultados bastante cercanos a los obtenidos en esta investigación (9,016 mm de diámetro y 7,310 mm de altura). Estas similitudes en los resultados confirman que la zona donde crece la *Pernettya prostrata* es a una determinada altitud, clima, suelo Luteyn (2002).

3.1.2. pH, grados Brix y acidez de los frutos maduros de Macha Macha

Para tener más información de este fruto en estado de madurez, se midió el pH con ayuda de un pH-metro, Marca: MILWAUKEE, Modelo: MW102, se midió los grados Brix y determinó la acidez, como se detalla en la tabla 7.

Tabla 7

pH, grados Brix y acidez del fruto de Macha Macha

Vol. Gasto (ml)	% Acidez	°Brix	pH
1,4	0,90	9,2	4,41
1,6	1,02	9,0	4,40
1,5	0,96	9,1	4,40
PROMEDIO	$0,96 \pm 0,06$	$9,1 \pm 0,10$	$4,40 \pm 0,01$

Los resultados de caracterización fisicoquímica del fruto de la muestra fresca madura de macha macha *Pernettya prostrata* (Cav.) DC, presentan valores de °Brix = $9,1 \pm 0,10$, pH = $4,40 \pm 0,01$ y % acidez $0,96 \pm 0,06$. (Espinoza & Villalva, 2024) reportan valores de 11,5 °Brix de sólidos solubles, pH=4,180, y acidez titulable de 0,63 g/L, (Llimpe, 2017), obtuvo 8,9 °Brix y 0,028 % de acidez en frutos maduros liofilizados, se muestra cierta diferencia en el contenido de acidez y °Brix debido al grado de madurez, condiciones climáticas y estado de conservación. (Taiz & Zeiger, 2006) nos indica que el aumento de los sólidos solubles se vincula con la síntesis de azúcares y metabolitos secundarios en la maduración, influyendo en el sabor y la calidad sensorial del fruto.

Baenas et al. (2020), nos indica que los frutos andinos *Vaccinium floribundum* presenta un perfil sensorial agridulce característico, debido a un equilibrio entre

azúcares naturales y ácidos orgánicos, también debido a un alto contenido de compuestos fenólicos y antocianinas confiriéndoles un elevado potencial funcional y antioxidante es así que podemos concluir que el fruto de la macha macha *Pernettya prostrata* es un fruto agridulce y con alto potencial funcional debido a los resultados obtenidos.

3.1.3. Determinación de la humedad

Se determinó la humedad inicial del fruto fresco maduro y la humedad después del liofilizado, secando las muestras en la estufa de marca: ECOCELL, Modelo: MC000690, para saber cuánto de agua se pierde después de realizar este proceso.

Tabla 8

Determinación del contenido de humedad de la fruta fresca y liofilizada de macha macha

Peso del fruto de la Macha Macha fresca (g)	% Humedad (%)	Peso del fruto liofilizado de la Macha Macha (g)	% Humedad (%)
5,0576	84,87 %	5,0351 g	10,92 %
5,1160	84,39 %	5,0289 g	10,11 %
5,0205	84,46 %	5,0305 g	9,97 %
Promedio	84,57 % ± 0,26	Promedio	10,33% ± 0,51

En la tabla 8, se tiene el promedio de contenido de humedad de la macha macha fresca que es de 84,57 % ± 0,26, que es similar a lo reportado por Arias (2013), donde menciona que los frutos de macha macha presentan una humedad de 81,0 % ± 2,0; así como Romero & Cueva (2020) reporta que las bayas *Pernettya prostrata* (Cav.) DC son de alta humedad; debido a las características de este fruto, para conservar sus propiedades se llevó al proceso de liofilización, con el fin de eliminar el contenido de agua y obtener el fruto seco en óptimas condiciones y realizar los diferentes análisis. Se obtuvo un total de 270 g de macha macha liofilizada, con una humedad de 10,33% ± 0,51, lo cual garantiza la estabilidad, conservación y calidad del producto, por estar dentro del rango óptimo de 3 a 10% Ratti (2001); Calín et al. (2020).

En especies de género *Vaccinium*, se han reportado valores bastante similares al obtenido en esta investigación, por ejemplo, Silva et al. (2018), liofilizó *Vaccinium myrtillus* (arándano europeo), con humedad final de 9,40 ± 0,22 %. Coba y Vásquez

(2019) mencionan que la humedad final no debe superar el 12%, debido al incremento de la actividad del agua.

3.1.4. Análisis con otras muestras

Se realizaron unas pruebas preliminares de antocianinas y fenoles totales, tomando como muestra al ayrampo (*Berberis commutata*), como se muestra en la tabla 9.

Tabla 9

Contenido de antocianinas y fenoles en el ayrampo atomizado y liofilizado

Muestra	g de muestra	mL de la extracción	Absorbancia	Antocianinas mg/g	Fenoles mg GAE/g
Ayrampo <i>Berberis commutata</i> liofilizado	0,5035	50	0.3720-antocianina 0,5660-fenoles	70,3716 ± 0,71	62,272± 2,907
Ayrampo <i>Berberis commutata</i> atomizado	0,5036	50	0.4243-antocianina 0,7332-fenoles	61,6776 ± 0,75	47,821 ± 0,841

La tabla 9 contiene los resultados de la determinación de antocianinas monoméricas y fenoles totales utilizando muestras de ayrampo liofilizado y atomizado de la especie *Berberis commutata*; esto se realizó con el fin de hacer una comparación de los resultados con los encontrados en bibliografía y determinar que los métodos, reactivos y equipos que se usarán, sean los correctos para las evaluaciones del fruto de macha macha *Pernettya prostrata* (Cav.) DC.

Se encontraron 70,3716 ± 0,71 mg/g de antocianinas monoméricas y 62,272± 2,907 mg/g mg GAE/g para fenoles en el ayrampo liofilizado y 61,6776 ± 0,75 mg/g de antocianinas con 47,821 ± 0,841 mg GAE/g para fenoles en el ayrampo atomizado, similares a los reportados por Mitma (2024), donde utilizó la misma metodología de pH diferencial para determinar antocianinas monoméricas y Folin-Ciocalteu para determinar fenoles totales.

3.2. optimización de antocianinas monoméricas y fenoles en los frutos liofilizados de macha macha (*pernettya prostrata* (cav.) dc)

Las muestras de macha macha liofilizada se sometieron a ensayos para optimizar la extracción de antocianinas monoméricas y fenoles totales.

3.2.1. Optimización de la Antocianinas Monoméricas en los frutos liofilizados de macha macha liofilizada *Pernettya prostrata* (Cav.) DC

De acuerdo al método superficie de Respuesta se trabajó con 13 corridas, a las condiciones establecidas en la siguiente tabla, se procedió a determinar el contenido de antocianinas monoméricas expresado en mg/g de muestra, teniendo como base las absorbancias leídas en cada corrida con el equipo Espectrofotómetro, Marca: THERMO FISHER SCIENTIFIC, Modelo: GENESYS 6; se detalla a continuación en la tabla 10.

Tabla 10

Resultado del contenido de antocianinas en la muestra liofilizadas en mg/g.

Código	Corrida	Concentración de alcohol %	Relación (solvente/muestra)	Contenido de Antocianinas monoméricas mg/g
A1	1	70,00	3,00	35,143
B1	2	70,00	4,41	36,283
C1	3	84,14	3,00	18,988
A2	4	70,00	3,00	34,311
D1	5	55,86	3,00	38,255
A3	6	70,00	3,00	36,254
E1	7	60,00	2,00	32,064
A4	8	70,00	3,00	38,891
A5	9	70,00	3,00	36,306
F1	10	70,00	1,59	21,851
G1	11	80,00	2,00	8,018
H1	12	80,00	4,00	29,899
I1	13	60,00	4,00	33,743

La tabla 10 presenta los resultados de antocianinas monoméricas (mg/g) en las muestras liofilizadas de macha macha (*Pernettya prostrata*), obtenidos mediante el método del pH diferencial (AOAC 2005.02) a diferentes concentraciones de etanol y relación (solvente: muestra).

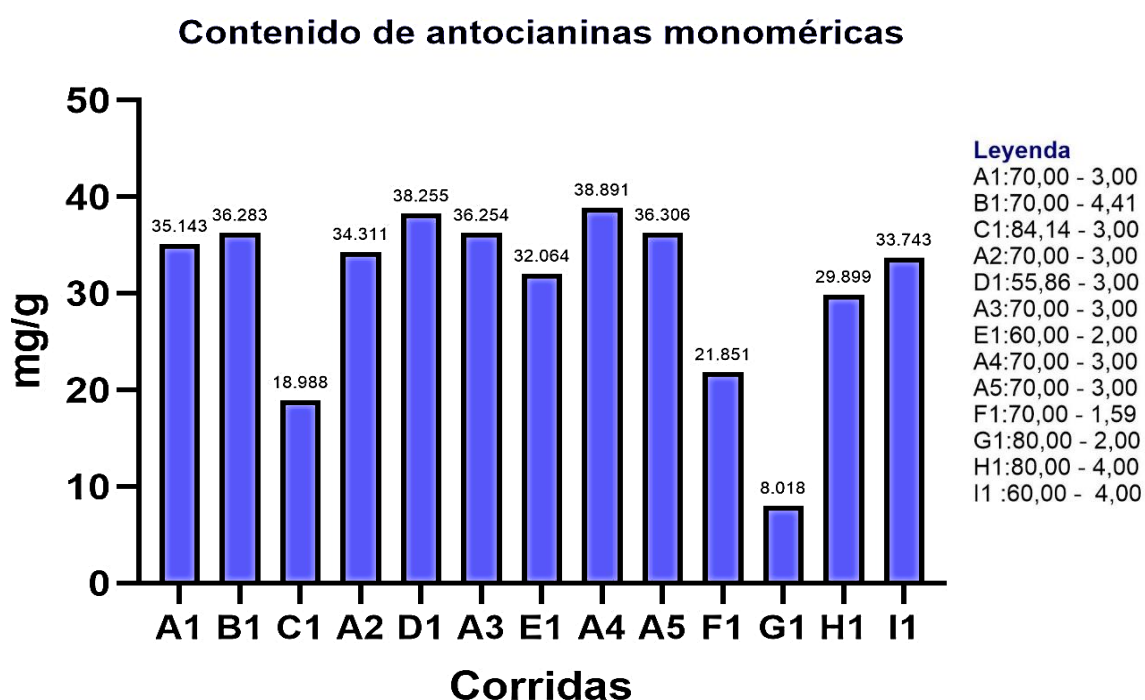
Los valores varían entre 8,018 y 38,891 mg/g, donde el máximo contenido se alcanzó con 70 % de etanol a una relación de 3 ml/g (corridas A4 y A5) valores que oscilan 38,89 y 36,30 mg/mientras que el mínimo contenido se obtuvo con 80 % de etanol y 2,0 mL/g (corrida G1) un valor de 8,018 mg/g.

Obtenido los resultados de antocianinas monoméricas mg/g en las 13 muestras evaluadas, se llevó a un gráfico de barras, como se muestra a continuación:

En la figura 16, se muestra los resultados del contenido de antocianinas en las 13 muestras evaluadas a distintas concentraciones y diluciones de etanol.

Figura 16

Resultados obtenidos del contenido de antocianinas monoméricas



Para una mejor evaluación se ha dividido en los siguientes grupos de acuerdo a los factores que posee cada extracción.

Grupo A tenemos 5 corridas que fueron extraídas a un 70% de etanol y a una dilución de 3:

A1 = concentración al 70 % alcohol, dilución 3 del contenido de muestra/ contenido de antocianinas monoméricas: 35,143 mg/g.

A2 = concentración al 70 % alcohol, dilución 3 del contenido de muestra/ contenido de antocianinas monoméricas: 34,311 mg/g.

A3 = concentración al 70 % alcohol, dilución 3 del contenido de muestra/ contenido de antocianinas monoméricas: 36,254 mg/g.

A4 = concentración al 70 % alcohol, dilución 3 del contenido de muestra/ contenido de antocianinas monoméricas: 38,891 mg/g.

A5 = concentración al 70 % alcohol, dilución 3 del contenido de muestra/ contenido de antocianinas monoméricas: 36,306 mg/g.

La muestra A1, A2, A3, A4, A5 tienen mayor cantidad de contenido de antocianinas esto debido a que las antocianinas se extraen mejor con **etanol acuoso al 60–70% v/v** (no alcohol absoluto) **acidificado**.

Grupo B tenemos 1 corrida que fueron extraídas a un 70% de etanol y a una dilución de 4,1:

B1 = concentración al 70 % alcohol, dilución 4,1 del contenido de muestra/ contenido de antocianinas monoméricas: 36,283 mg/g.

La muestra B1 tiene un valor que se asemeja a los valores del grupo A esto se debe al porcentaje de alcohol con el que se extrajo el cual es el óptimo.

Grupo C tenemos 1 corrida que fueron extraídas a un 84,14 % de etanol y a una dilución de 3:

C1 = concentración al 84,14 % alcohol, dilución 3 del contenido de muestra/ contenido de antocianinas monoméricas: 18,988 mg/g.

El valor del grupo C es tiene un bajo contenido de antocianina esto debido al % de alcohol que se utilizó ya que con >80–100% etanol baja la extracción porque las antocianinas son más solubles en medios intermedios de polaridad (agua+alcohol).

Grupo D tenemos 1 corrida que fueron extraídas a un 55,86 % de etanol y a una dilución de 3:

D1 = concentración al 55,86 % alcohol, dilución 3 del contenido de muestra/ contenido de antocianinas monoméricas: 38,255 mg/g.

En este grupo obtuvimos un valor intermedio ya que el porcentaje de alcohol utilizado se acerca al óptimo que va desde los 60-70.

Grupo E tenemos 1 corrida que fueron extraídas a un 60 % de etanol y a una dilución de 2:

E1 = concentración al 60 % alcohol, dilución 2 del contenido de muestra/ contenido de antocianinas monoméricas: 32,064 mg/g.

En este grupo obtuvimos un valor alto ya que el porcentaje de alcohol utilizado es el óptimo.

Grupo F tenemos 1 corrida que fueron extraídas a un 70 % de etanol y a una dilución de 1,59:

F1 = concentración al 70 % alcohol, dilución 1,59 del contenido de muestra/ contenido de antocianinas monoméricas: 21,851 mg/g.

En este grupo obtuvimos un valor alto ya que el porcentaje de alcohol utilizado es el óptimo

Grupo G tenemos 1 corrida que fueron extraídas a un 80 % de etanol y a una dilución de 2:

F1 = concentración al 80 % alcohol, dilución 2 del contenido de muestra/ contenido de antocianinas monoméricas: 8,018 mg/g.

Al igual que el valor del grupo C se obtuvo un valor menor de contenido de antocianina esto debido al % de alcohol el cual no es el óptimo.

Grupo H tenemos 1 corrida que fueron extraídas a un 80 % de etanol y a una dilución de 4:

H1 = concentración al 80 % alcohol, dilución 4 del contenido de muestra/ contenido de antocianinas monoméricas: 29,899 mg/g.

Al igual que el valor del grupo C se obtuvo un valor menor de contenido de antocianina esto debido al % de alcohol el cual no es el óptimo.

Grupo I tenemos 1 corrida que fueron extraídas a un 60 % de etanol y a una dilución de 4:

H1 = concentración al 60 % alcohol, dilución 4 del contenido de muestra/ contenido de antocianinas monoméricas: 33,743 mg/g.

En este grupo obtuvimos un valor alto ya que el porcentaje de alcohol utilizado es el óptimo.

Tabla 11

Resultados del mínimo y máximo contenido de antocianinas en las 13 muestras.

Factor	Mínimo	Máximo
Concentración de etanol (%)	80%	70%
Relación (mL OH/g muestra)	2	3
Contenido de antocianinas (mg/g)	8,018	38,891

En la tabla 11 se observa que el contenido máximo de antocianinas es para la corrida A4 con 38,891 mg/g con las condiciones de concentración de etanol al 70% y una relación (solvente/muestra) de 3. El menor fue para la corrida G1 a condiciones de concentración de etanol al 80 % y una relación (solvente/muestra) de 2. Si hacemos una comparación entre ambos resultados, se observa que la relación (solvente/muestra) tiene inferencia en la cantidad de antocianinas obtenidas esto debido a que una insuficiente cantidad de etanol presente en la dilución no permite una buena extracción de antocianinas ya que según Cacace & Mazza (2003), a mayor solvente utilizado en relación con la masa sólida se incrementa el gradiente de concentración y la difusión de

compuestos fenólicos y antocianinas hacia la fase líquida, alcanzando el punto de saturación, al igual Lapornik et al. (2005), evidenciaron que la eficiencia de extracción se incrementa con relación solvente: muestra.

Con respecto a la concentración de etanol también varía, por lo que a mayor % de etanol disminuye el contenido de antocianinas, diversos autores Rodríguez et al. (2001); Castañeda et al. (2009); Pervaiz et al. (2017) mencionan que el porcentaje de etanol óptimo varía de 60-70 %, mientras en concentraciones mayores reducen la eficiencia de extracción, es por ello que se muestra mayor cantidad de antocianinas en estos rangos de concentraciones.

3.2.1.1. Análisis de Varianza de las antocianinas monoméricas en los frutos liofilizados de macha macha *Pernettya prostrata* (Cav.) DC.

Los resultados de las antocianinas monoméricas mg/g, se procesó en el software estadístico Design-Expert versión 8.7.0.1. (demo), con el método superficie de respuesta para obtener el cuadro de análisis varianza como se tiene a continuación en la tabla 12:

Tabla 12

Tabla de análisis varianza del contenido de Antocianinas monoméricas.

Fuente	Suma de cuadrados	df	Cuadrado medio	Valor F	Valor P	
Modelo	961,84	5	192,37	44,58	< 0,0001	Significativo
A-Concentración de etanol	380,02	1	380,02	88,07	< 0,0001	Significativo
B-Relación (solvente/muestra)	241,67	1	241,67	56,01	0,0001	Significativo
Residual	30,21	7	4,32			
Falta de ajuste	18,27	3	6,09	2,04	0,2509	No significativo
Error puro	11,94	4	2,98			
Cor Total	992,04	12				

Según la tabla 12 de análisis varianza presentada se puede observar que es estadísticamente significativa ($p < 0,0001$), tanto la concentración de etanol como la relación solvente/muestra influyen significativamente en la extracción de antocianinas, además de ello existe una interacción sinérgica entre ambos factores. Por otro lado, la no significancia del Lack of Fit ($p = 0.2509$), nos indica un adecuado ajuste del modelo,

por lo que se puede emplearse para la determinación de condiciones óptimas de extracción mediante este modelo superficie de respuesta.

El factor con mayor influencia lo tiene la concentración de etanol ($F=88,07$, $p<0,0001$), la diferencia en el % de etanol tiene un efecto directa y muestra alta significancia respecto al contenido de antocianinas, por otro lado, el factor de la relación solvente: muestra ($F = 56.01$, $p < 0.0001$) también tiene significancia en la extracción, ya que a medida que aumenta el volumen de solvente por unidad de muestra, se incrementa la solubilización de antocianinas hasta llegar a un punto óptimo.

Según el análisis de varianza obtenida tanto la concentración de etanol ($p < 0.0001$) como la relación solvente/muestra ($p = 0.0001$) influyeron significativamente en la concentración de antocianinas del fruto liofilizado de macha macha *Pernettya prostrata* (Cav.) DC. El modelo global fue altamente significativo ($p < 0.0001$), mientras que la falta de ajuste no fue significativa ($p = 0.2509$), lo que demuestra un adecuado ajuste del modelo predictivo. Los resultados obtenidos son consistentes con los reportados por Rincón et al. (2014) para *Pernettya prostrata* y por Buitrago et al. (2020), Vasco et al. (2009) y Rodríguez et al. (2015) en especies del género *Vaccinium*, donde los valores de $p < 0.05$ confirman que la polaridad del solvente y la relación sólido/líquido son factores determinantes para maximizar la extracción de antocianinas. En todos los casos, las mezclas hidroalcohólicas intermedias (60–70 %) se destacaron por favorecer la solubilización y estabilidad de los pigmentos antociánicos.

3.2.1.2. Análisis de Superficie de Respuesta (RSM) antocianinas monoméricas en los frutos liofilizados de macha macha *Pernettya prostrata* (Cav.) DC.

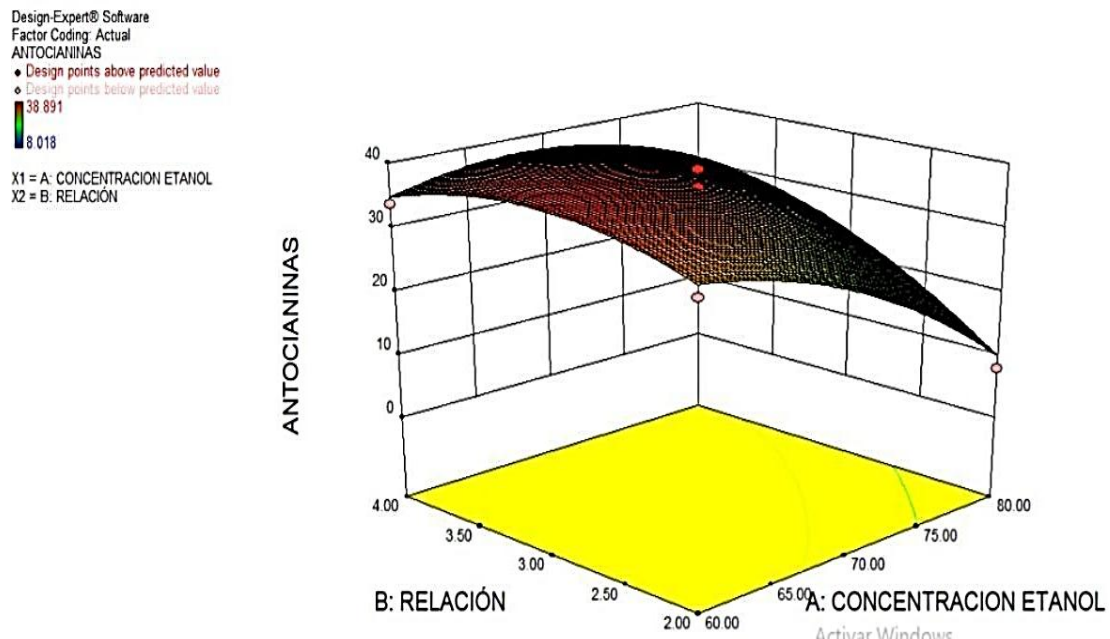
Después de aplicar el software estadístico Design-Expert versión 8.7.0.1 y Minitab versión 22.4, construimos la superficie de respuesta 3D y los gráficos de contorno 2D sobre este modelo para explicar la relación entre las variables independientes, la concentración de etanol (%) con la relación (solvente/muestra), cómo influyen en el rendimiento de la determinación de antocianinas.

Como se muestra en las figuras 17 y 18, se obtuvo la interacción que influye en el rendimiento de las antocianinas entre la concentración del etanol (%) y la relación (mL solvente/g muestra).

En la figura 17 se muestra el diagrama de superficie 3D para antocianinas monoméricas.

Figura 17

Diagrama superficie 3D de los efectos interactivos de la concentración de etanol (%) con la relación (mL solvente/g muestra) para antocianinas monoméricas



Se observa una superficie curvada en forma de una campana, lo cual es indicativo de que existe un punto óptimo dentro del rango que se estudió, el color (rojo-negro) hacen alusión a los valores más altos de antocianinas ($\approx 38,9$ mg/g), mientras que, el color amarillo indica valores bajos ($\approx 8,0$ mg/g).

Respecto al efecto del porcentaje de etanol (A) en la figura 17 se muestra que al incrementar la concentración de etanol desde 60% - 68%, el contenido de antocianinas se incrementa notablemente, pero al superar 70-75 % la superficie desciende, lo que es indicativo de una disminución en la extracción, a altas concentraciones de etanol reduce la polaridad, esto afecta la solubilidad de las antocianinas (compuestos polares). El % de etanol óptimo es al 68 %, donde la solubilidad y estabilidad de los pigmentos son máximos.

En el efecto de la relación (solvente: muestra) B cuando es de 2-3 mL/g se puede observar que hay un incremento progresivo en las concentraciones de antocianinas extraídas, por encima de 3,5-4 mL/g, la superficie se estabiliza o desciende ligeramente, indicándonos un punto de saturación, en la que el solvente no mejora la extracción. El rango óptimo se sitúa entre 3-3,5 mL/g.

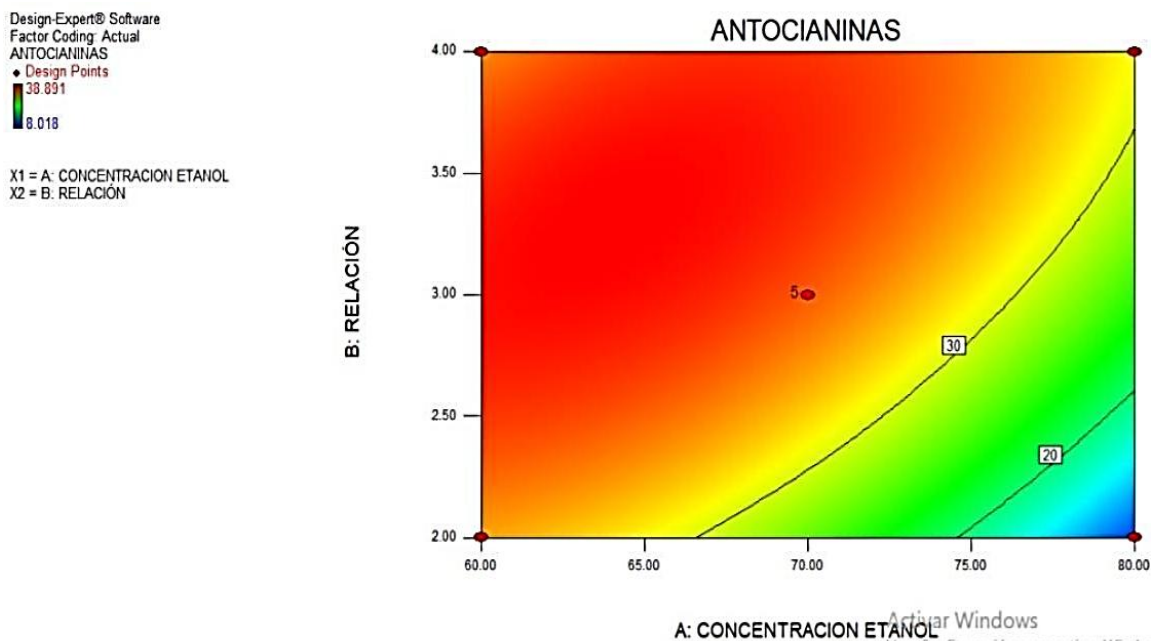
La interacción de ambos factores se muestra en la zona más alta (color rojo oscuro) donde se ubica A=68% de etanol y B= 3,2 mL/g, indicándonos que el efecto del etanol dependerá de la cantidad de solvente usada, ya que a una relación baja la eficiencia del etanol también disminuye y viceversa.

El diagrama de superficie 3D evidencia que la extracción de antocianinas en el fruto liofilizado de macha macha *Pernettya prostrata* (Cav.) DC. depende significativamente de la concentración de etanol y de la relación solvente/muestra. El modelo muestra un comportamiento cuadrático con una zona óptima entre 65–70 % de etanol y 3 mL/g, donde se alcanza el mayor contenido de antocianinas. Dicho comportamiento coincide con lo reportado por Rincón et al. (2014) para *Pernettya prostrata* y por Buitrago et al. (2020); Rodríguez et al. (2015) en especies del género *Vaccinium*, quienes describen curvas tridimensionales de superficie con máximos en concentraciones intermedias de etanol. Estos resultados confirman que la polaridad media del solvente es determinante para la solubilización de antocianinas monoméricas, coherente con lo planteado por Fang & Bhandari (2010) respecto a la eficiencia de los sistemas hidroalcohólicos en la recuperación de compuestos fenólicos y pigmentos naturales.

En la figura 18 se describe en el eje X se muestra la concentración de etanol (60-80 %) y en el eje Y la relación solvente: muestra (2-4 mL/g).

Figura 18

Diagrama de contorno 2D de los efectos interactivos de la concentración de etanol (%) con la relación (mL solvente/g muestra) para antocianinas monoméricas



La escala de colores presentes (azul-verde-amarillo y rojo) representa la cantidad de antocianinas extraídas, desde valores más bajos (color azul \approx 8 mg/g) hasta los más altos (color rojo \approx 38.9 mg/g), las líneas de contorno hacen la unión de puntos con igual contenido de antocianinas denominadas (isocuantas).

El valor más alto se obtiene con 68 % de etanol y una relación de 3.2 mL/g, ciertas condiciones equilibran la polaridad del solvente y la capacidad de disolución. Respecto al efecto de la concentración de etanol (A) observamos en la figura 18 que el color rojo intenso se concentra entre 65-70 % de etanol, donde se alcanzan valores altos de antocianinas, por otro lado observamos que a medida que el etanol aumenta por encima de 70-75 % hay un cambio de color de verde-azul, indicativo que hay disminución de contenido de antocianinas, esto se debe a que una excesiva concentración de etanol reduce la polaridad del solvente, y por ende disminuye la solubilidad de los pigmentos. Por lo tanto, el rendimiento máximo se alcanza con 65-70 % de etanol.

El efecto de la relación solvente: muestra (B) al incrementar la relación 2-3 mL/g, la coloración pasa de amarillo a rojo, evidenciando mayor cantidad de antocianinas, por encima de 3.5-4 mL/g, la cantidad es mínima o se mantiene constante (coloración roja), indicativo de un punto de saturación del solvente. Por lo que el rango óptimo está en 3-3.5 mL/g.

El diagrama de contorno 2D evidencia que el mayor contenido de antocianinas en los frutos liofilizados de la macha macha *Pernettya prostrata* (Cav.) DC. se obtiene en un rango intermedio de 65–70 % de etanol y una relación de 3 mL/g, zona representada por el color rojo intenso. Este comportamiento confirma que el equilibrio de polaridad del solvente es fundamental para optimizar la solubilidad de los pigmentos antocianínicos, patrón también descrito en especies del género *Vaccinium* como *V. floribundum* y *V. meridionale* Buitrago et al. (2020); Rodríguez et al. (2015). Asimismo, Rincón et al. (2014) reportaron resultados semejantes para *Pernettya prostrata*, destacando que las mezclas hidroalcohólicas intermedias favorecen la extracción de antocianinas monoméricas. Por lo tanto, el modelo obtenido demuestra un comportamiento coherente con ciertos autores antes mencionados y evidencia la eficacia del sistema hidroalcohólico en la recuperación de pigmentos fenólicos en berries andinos.

3.2.2. Optimización de Fenoles Totales en los frutos liofilizados de macha macha *Pernettya prostrata* (Cav.) DC.

De acuerdo con el método superficie de Respuesta se trabajó con 13 corridas, a las condiciones establecidas en la siguiente tabla, se procedió a determinar el contenido de fenoles totales expresado en mg GAE/g de muestra, teniendo como base las absorbancias leídas en cada corrida con el equipo Espectrofotómetro, Marca: THERMO FISHER SCIENTIFIC, Modelo: GENESYS 6, tal como se muestra en la tabla 13.

Tabla 13

Resultados obtenidos del contenido de fenoles totales

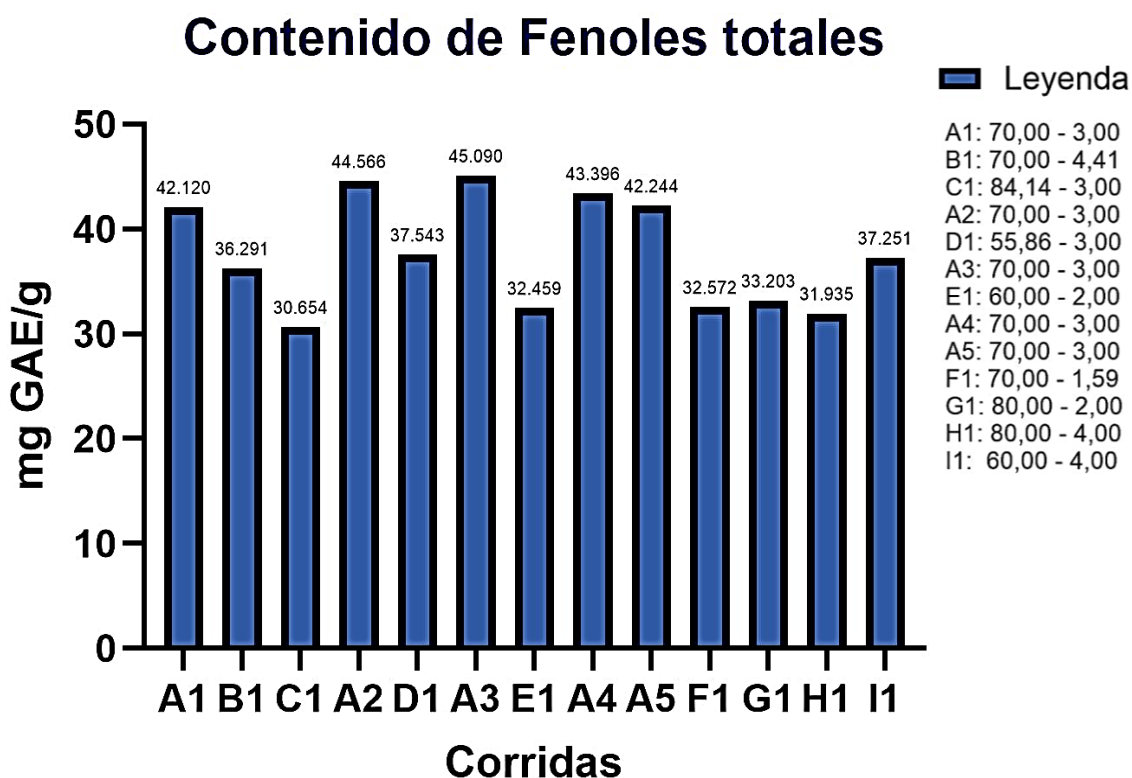
Código	Corrida	Concentración de etanol %	Relación mL etanol/g muestra	Contenido de Fenoles Totales mg GAE/g
A1	1	70,00	3,00	42,120
B1	2	70,00	4,41	36,291
C1	3	84,14	3,00	30,654
A2	4	70,00	3,00	44,566
D1	5	55,86	3,00	37,543
A3	6	70,00	3,00	45,090
E1	7	60,00	2,00	32,459
A4	8	70,00	3,00	43,396
A5	9	70,00	3,00	42,244
F1	10	70,00	1,59	32,572
G1	11	80,00	2,00	33,203
H1	12	80,00	4,00	31,935
I1	13	60,00	4,00	37,251

Obtenido los resultados de fenoles totales en las 13 muestras evaluadas a distintas concentraciones de etanol y la relación (solvente/muestra), se llevó a un gráfico de barras, como se muestra a continuación:

En la figura 19 se observa los resultados de los fenoles totales en las 13 muestras.

Figura 19

Resultados obtenidos del contenido de fenoles totales



Para una mejor evaluación se ha dividido en los siguientes grupos de acuerdo a los factores que posee cada extracción.

Grupo A tenemos 5 corridas que fueron extraídas a un 70% de etanol y a una relación (solvente/muestra) de 3:

A1 = Concentración al 70 % etanol y relación (solvente/muestra) de 3 -> contenido de fenoles totales: 42,557 mg GAE/g.

A2 = Concentración al 70 % alcohol y relación (solvente/muestra) de 3 -> contenido de fenoles totales: 44,566 mg GAE/g.

A3 = Concentración al 70 % alcohol y relación (solvente/muestra) de 3 -> contenido de fenoles totales: 45,090 mg GAE/g.

A4 = Concentración al 70 % alcohol, y relación (solvente/muestra) de 3 -> contenido de fenoles totales: 43,396 mg GAE/g.

A5 = Concentración al 70 % alcohol, y relación (solvente/muestra) de 3 -> contenido de fenoles totales: 42,244 mg GAE/g.

Las muestras A1, A2, A3, A4, A5 tienen mayor cantidad de contenido de fenoles totales que van en un rango de 42,120 a 45,090 mg GAE/g, presentando altos valores en las

lecturas de absorbancia siendo estos cercanos uno de otros por lo que decimos que los resultados tienen una alta precisión y que el procedimiento a seguir para su determinación fueron correctos. Este alto contenido es debido a la concentración de etanol que es al 70%, que equilibra la polaridad del solvente, permitiendo solubilizar tanto compuestos polares como semipolares como son los fenoles. Siendo óptimo la determinación de fenoles totales con concentración de etanol al 70% y relación 3 (3 mL de etanol/1 g de muestra)

Grupo B tenemos 1 corrida extraída a un 70% de etanol y a una relación (solvente/muestra) de 4,41:

B1 = Concentración al 70 % alcohol y relación (solvente/muestra) de 4,41 -> contenido de fenoles totales: 36,291 mg GAE/g.

Grupo C tenemos 1 corrida que fueron extraídas a un 84,14 % de etanol y a una relación (solvente/muestra) de 3:

C1 = Concentración al 84,14 % alcohol y una relación (solvente/muestra) de 3 -> contenido de fenoles totales: 30,654 mg GAE/g.

Grupo D tenemos 1 corrida que fueron extraídas a un 55,86 % de etanol y a una dilución de 3:

D1 = Concentración al 55,86 % alcohol y una relación (solvente/muestra) de 3 -> contenido de fenoles totales: 37,543 mg GAE/g.

En esta corrida se puede observar que se acerca más al grupo A, debido a que la relación de solvente/muestra es la óptima y el porcentaje de etanol es cercano al rango de 60-70%, donde por teoría se sabe que en este rango se obtiene el mayor contenido de antocianinas (todas las antocianinas son fenoles).

Grupo E tenemos 1 corrida que fueron extraídas a un 60 % de etanol y una relación (solvente/muestra) de 2:

E1 = Concentración al 60 % alcohol y relación (solvente/muestra) de 2 -> contenido de fenoles totales: 32,459 mg GAE/g.

Grupo F tenemos 1 corrida que fueron extraídas a un 70 % de etanol y a una relación (solvente/muestra) de 1,59:

F1 = Concentración al 70 % alcohol y relación (solvente/muestra) de 1,59 -> contenido de fenoles totales: 32,572 mg GAE/g.

Grupo G tenemos 1 corrida que fueron extraídas a un 80 % de etanol y a una relación (solvente/muestra) de 2:

F1 = Concentración al 80 % alcohol y relación (solvente/muestra) de 2 -> contenido de fenoles totales: 33,203 mg GAE/g.

Grupo H tenemos 1 corrida que fueron extraídas a un 80 % de etanol y a una relación (solvente/muestra) de 4:

H1 = concentración al 80 % alcohol y relación (solvente/muestra) de 4 -> contenido de fenoles totales: 31,935 mg GAE/g.

Grupo I tenemos 1 corrida que fueron extraídas a un 60 % de etanol y a una relación (solvente/muestra) de 4:

I1 = Concentración al 60 % alcohol y relación (solvente/muestra) de 4 -> contenido de fenoles totales: 37,251 mg GAE/g.

En esta corrida se puede observar que se acerca más al grupo A, debido a que la relación de solvente/muestra es la óptima y el porcentaje de etanol es cercano al rango de 60-70%, donde por teoría se sabe que en este rango se obtiene el mayor contenido de antocianinas (todas las antocianinas son fenoles).

Tabla 14

Resultados del mínimo y máximo contenido de fenoles en las 13 muestras.

Factor	Mínimo	Máximo
Concentración de etanol (%)	84,14 %	70%
Relación (mL OH/g muestra)	3	3
Contenido de Fenoles Totales mg GAE/g	30,654 mg GAE/g	45,090 mg GAE/g

En la tabla 14 se observa que el contenido máximo de fenoles es para la corrida A3 con 45,090 mg GAE/g con las condiciones de concentración de etanol al 70% y una relación (solvente/muestra) de 3. El menor fue para la corrida C1 a condiciones de concentración de etanol al 84,14% y una relación (solvente/muestra) de 3. Si hacemos una comparación entre ambos resultados, se observa que la relación (solvente/muestra) es de 3 para ambas, pero la concentración de etanol varía, por lo que a mayor % de etanol disminuye el contenido de fenoles totales.

Para obtener la extracción óptima de fenoles totales según los datos obtenidos, se tiene que realizar con porcentaje de etanol a 70% y una dilución (solvente/muestra) de 3, esta información confirma lo mencionado por (Rostagno et al., 2003 ; Dai & Mumper, 2010), que el etanol acuoso es uno de los mejores solventes para la recuperación de fenoles, y la concentración óptima de etanol debe ser alrededor de 70%, ya que permite una buena solubilización de los compuestos, y esto favorece la ruptura de enlaces hidrógenos entre fenoles y la matriz vegetales; pero esto no sucede a concentraciones altas de etanol (mayores a 80%) debido a que disminuye la fracción

acuosa, reduciendo la capacidad del solvente para poder penetrar en las células (Alara et al., 2021).

Así mismo, en estudios realizados con frutos andinos, han podido describir el mismo comportamiento, donde se destaca la concentración de etanol al 70%. El resultado mayor obtenido del contenido de fenoles totales es de 45,090 mg GAE/g, esto demuestra una elevada concentración de compuestos fenólicos y esto coincide con lo reportado en frutos de género *Vaccinium floribundum*, donde Ruilova et al., (2022), menciona en su estudio, que la muestra fue liofilizada al 100% de su madurez, donde se obtuvo 4,733.50 mg ácido gálico/100 g, equivalente a 47.335 mg GAE/g; siendo este muy cercano a nuestro valor obtenido, debido a la misma técnica de liofilización y buen manejo de la muestra.

Por lo tanto, los resultados experimentales que obtuvimos en este estudio concuerdan con la bibliografía científica, para la óptima extracción de fenoles totales en matrices vegetales.

3.2.2.1. Análisis de varianza del contenido de fenoles totales en los frutos liofilizados de macha macha *Pernettya prostrata* (Cav.) DC.

Los resultados de los fenoles totales, se procesó en el software estadístico Design-Expert versión 8.7.0.1, para obtener el cuadro de análisis varianza como se tiene a continuación en la tabla 15:

Tabla 15

Tabla de análisis varianza del contenido de fenoles totales.

Fuente	Suma de cuadrados	df	Cuadrado medio	Valor F	Valor P	
Modelo	321,93	5	64,39	39,24	<0,0001	Significativo
A- Concentración de etanol	25,61	1	25,61	15,61	0,0055	Significativo
B-Relación	9,64	1	9,64	5,88	0,0458	Significativo
Residual	11,49	7	1,64			
Falta de ajuste	4,33	3	1,44	0,81	0,5522	No significativo
Error puro	7,16	4	1,79			
Cor Total	333,42	12				

En la tabla 15 se tiene el análisis de varianza del contenido de fenoles totales, presentando un modelo significativo, donde p (probabilidad) <0,0001, indicando un ajuste adecuado, respecto a la variable concentración de etanol es significativa (es

menor al $\alpha = 0,05$) por lo tanto influye en la extracción de fenoles totales, así como la variable relación (solvente/muestra) que también es significativa, llegando a afectar en los resultados, aunque en menor medida.

Con este modelo se confirma que la metodología de superficie de respuesta, ha permitido modelar de manera muy eficiente que ambas variables influyen en gran medida a la hora de extraer fenoles totales.

Rincón et al. (2014), evaluó extractos metanólicos de *Pernettya prostrata*, donde observó diferencias significativas ($p < 0,05$) en el contenido de fenoles, demostrando que el solvente tiene un efecto estadísticamente importante en la recuperación de compuestos fenólicos. (Buitrago et al., 2020) trabajó con el fruto *Vaccinium floribundum Kunth* (mortiño ecuatoriano), con un diseño similar de superficie de respuesta, obteniendo valor de $p < 0,05$ para la variable concentración de etanol, indicando efecto significativo en fenoles totales (42,8 mg GAE/g promedio). Estos resultados apoyan los valores obtenidos en este estudio, siendo coherentes los patrones de extracción y determinantes en la eficiencia del proceso.

3.2.2.2. Análisis de Superficie de Respuesta (RSM) en fenoles totales

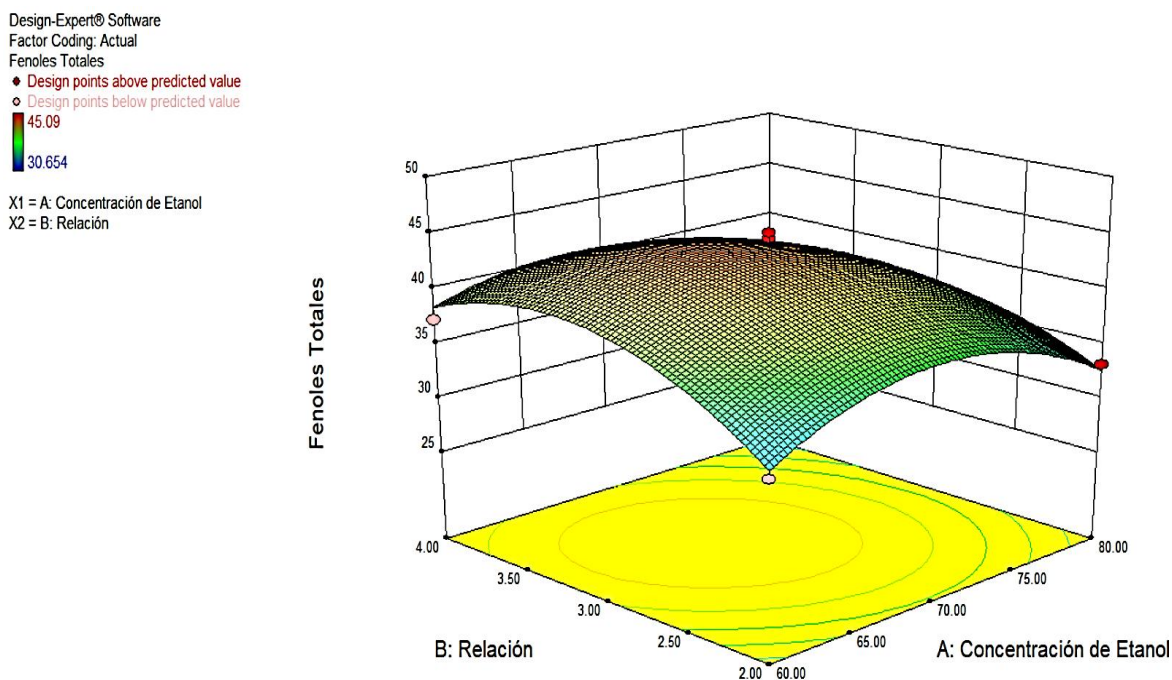
Para realizar los gráficos se usó el software estadístico Design-Expert versión 8.7.0.1 y Minitab versión 22.4, usando diagrama de superficie 3D y diagrama de contorno 2D para explicar la relación entre las variables independientes, para evaluar cómo la concentración de etanol (%) con la relación (solvente/muestra), cómo influyen en el rendimiento de la determinación de antocianinas y fenoles totales.

Como se muestra en las figuras 20 y 21, se obtuvo la interacción que influye en el rendimiento de la extracción de fenoles totales entre la concentración del etanol (%) y la relación (mL solvente/g muestra).

En la figura 20 muestra un diagrama de superficie en 3D, interactuando las variables de la concentración de etanol (%) con la relación (mL solvente/g muestra).

Figura 20

Diagrama superficie 3D de los efectos interactivos de la concentración de etanol (%) con la relación (mL solvente/g muestra) para fenoles totales



La superficie tiene una forma cóncava o parabólica invertida, por lo que indica que hay un punto máximo que es el óptimo de extracción de fenoles totales en una región intermedia entre ambas variables.

A medida que la concentración de etanol aumenta entre 60 % a 70 %, la cantidad de fenoles totales aumenta; pero al superar la cantidad de porcentaje de etanol de 75 a más porcentaje, el contenido de fenoles disminuye. Esto se debe a que concentraciones muy altas de etanol reducen la polaridad del solvente, y por ende esto dificulta la solubilización de compuestos fenólicos (que son parcialmente polares).

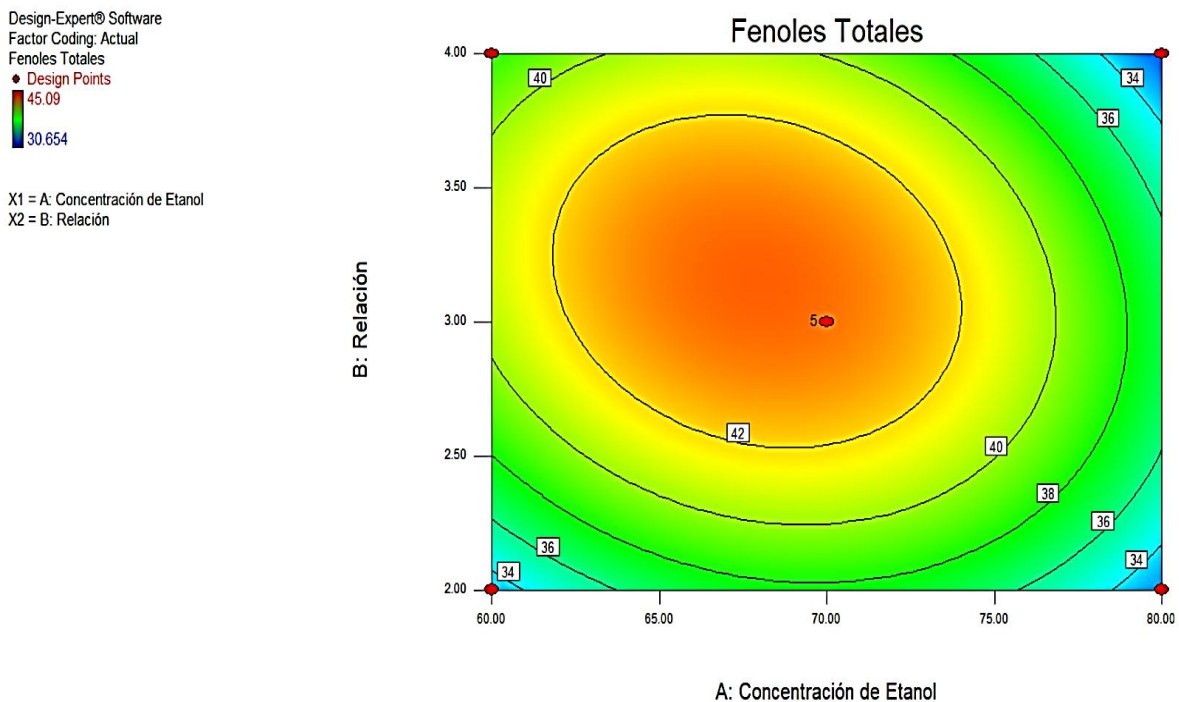
A medida que la relación (solvente/muestra) baja a 2, se observa que el rendimiento de fenoles totales disminuye ya que no hay suficiente solvente para extraer los compuestos, pero si la relación (solvente/muestra) es 3, se llega al óptimo rendimiento de fenoles totales; en cambio si la relación es mayor a 3, el rendimiento vuelve a descender, probablemente por dilución del extracto y menor gradiente de concentración.

Buitrago et al. (2020), encontró un efecto curvilíneo similar en su superficie 3D, siendo la máxima extracción de fenoles (43,82 mg GAE/g), con una concentración de etanol al 67% y una relación de 3,3 (solvente/muestra), donde el autor explica que este punto intermedio de polaridad permite disolver ácidos fenólicos como flavonoides. Así mismo (Rodríguez et al. 2015) evidenciaron un comportamiento parabólico, con un máximo de 70% de etanol, respaldando que el comportamiento observado en la macha macha liofilizada sigue las mismas tendencias reportadas.

En la figura 21 se muestra el gráfico de contorno 2D de los efectos interactivos de la concentración de etanol (%) con la relación (mL solvente/g muestra) respecto a los fenoles totales.

Figura 21

Diagrama de contorno 2D de los efectos interactivos de la concentración de etanol (%) con la relación (mL solvente/g muestra) para fenoles totales



Al observar la forma del gráfico, muestra líneas concéntricas cerradas que van de color azul a rojo, con un centro de color rojo y naranja. Esta forma elíptica indica una relación cuadrática significativa entre los factores, es decir, la respuesta no varía de forma lineal, sino que tiene un punto máximo (óptimo).

El color rojo/naranja nos identifica la zona donde se presentan mayor concentración de fenoles totales, donde el más alto es 45,090 mg GAE/g, mientras que los colores verde y azul nos indica los valores más bajos.

Este comportamiento coincide con lo reportado por (Buitrago et al., 2020) que observaron zonas óptimas equivalentes en frutos *Vaccinium* y *Pernettya*, donde la mezcla hidroalcohólica intermedia mejora la solubilidad de los compuestos fenólicos al equilibrar la polaridad entre el etanol y el agua. Así como (Rincón et al., 2014) evaluó extractos con diferentes proporciones de solventes, donde evidenció un pico máximo proximal, muy parecido a este estudio.

3.2.3. Efecto de los parámetros

Con los resultados experimentales que obtuvimos, tanto en la concentración de etanol (%) y la relación (solvente/muestra), se demostró que son bastante significativos por lo que influyeron en la extracción de antocianinas y fenoles en un rango de parámetros.

Para ambos resultados de antocianinas y fenoles totales, se puede observar que las mejores condiciones de concentración de etanol son en rango de 60 a 70%, mientras que la relación(solvente/muestra) es de 3 a 3,5.

3.2.4. Análisis de los gráficos de Superficie de Respuesta

En la figura 17 y 20 que son de superficie 3D indica que si hay interacciones significativas entre la concentración de etanol (%); los valores más altos de fenoles y antocianinas se ubican en la región intermedia de las variables; esta tendencia revela que concentraciones moderadas de etanol favorecen la solubilización de antocianinas y compuestos fenólicos por equilibrio entre polaridad y capacidad extractiva del solvente.

Por otro lado, en la figura 18 y 21, son gráficos de contorno 2D donde confirma esta tendencia, mostrando líneas concéntricas elípticas que delimitan la zona óptima (color rojo/naranja), mientras que los valores más bajos (zonas verde-azul) se asocian a condiciones extremas de los factores. Esta distribución evidencia la interacción cuadrática significativa y permite identificar visualmente la región de máxima extracción.

3.2.5. Validación del modelo predictivo

Se evaluó la optimización de la extracción de antocianinas y fenoles totales mediante metodología Superficie de Respuesta, considerando la significancia estadística global del modelo, donde el valor de $p < 0,0001$ en el ANOVA, demuestra que el modelo es altamente significativo, lo que indica que las variables independientes influyen de manera directa en la variabilidad de los resultados de antocianinas y fenoles

totales; por lo que el modelo es estadísticamente confiable para poder predecir respuestas dentro del rango experimental.

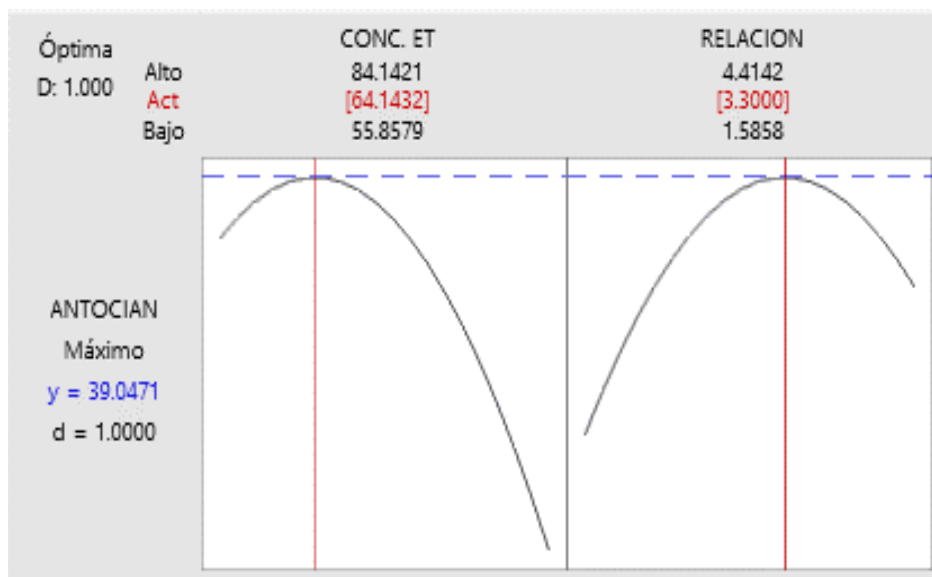
3.2.6. Optimización de los parámetros de extracción de antocianinas monoméricas y fenoles totales en frutos liofilizados de macha macha *Pernettya prostrata* (Cav.) DC.

3.2.6.1. Optimización de las antocianinas monoméricas

Se utilizó el software estadístico Minitab versión 22,4 y Desig-Expert versión 8.0.7.1.(demo) para determinar el valor óptimo en las 13 corridas experimentales en la extracción de antocianinas monoméricas, tal como se muestra en la figura 22.

Figura 22

Predicción de la extracción óptima de antocianinas monoméricas (Minitab versión 22.4 (demo))

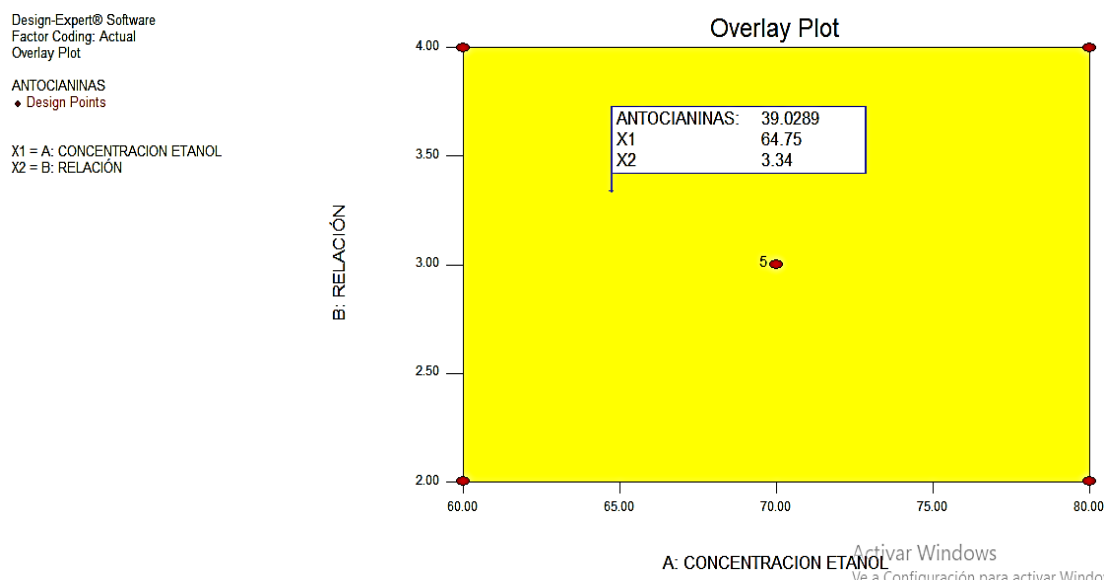


En la figura 22, se muestra la optimización diseñada en el programa Minitab versión 22,4 (demo) muestran curvas de respuesta individuales para cada factor, a la izquierda (concentración de etanol) y a la derecha (relación solvente/muestra), el punto rojo vertical nos indica el valor óptimo para cada variable, concentración de etanol óptima = 64,14 % y relación solvente/muestra óptima =3,30 mL/g, por otro lado, la línea azul discontinua nos indica el máximo valor de antocianinas = 39,0471 mg/g.

A continuación, se muestra la optimización obtenida a través del programa Desig-Expert (demo) en la figura 23.

Figura 23

Predicción de la extracción óptima de antocianinas monoméricas (Desig-Expert versión 8.0.7.1.)



En la figura 23, se realizó la optimización con el programa Design-Expert versión 8.0.7.1. (demo) la cual nos muestra un área amarilla indicándonos las combinaciones válidas para la extracción de antocianinas, en el recuadro observamos valores óptimos, una concentración de etanol=64,75%, relación solvente/muestra = 3,34 mL/g obtendremos un contenido máximo de antocianinas =39,0289 mg/g.

Ambos gráficos coinciden en los factores en las que se obtiene la extracción óptima de antocianinas con un rendimiento máximo de 39 mg/g del fruto de macha macha *Pernettia prostrata* madura, a una concentración de etanol al 65 % y una relación solvente/muestra de 3.3 mL/g

Este comportamiento observado concuerda con lo reportado por Tonon et al. (2008); Fang & Bhandari (2010), quienes señalan que concentraciones intermedias de etanol (60–70 %) maximizan la extracción de antocianinas y compuestos fenólicos debido al equilibrio entre la polaridad del disolvente y la matriz vegetal. A concentraciones menores, la fracción acuosa no es suficiente para disolver los compuestos semipolares, mientras a concentraciones mayores, la reducción del componente polar disminuye la eficiencia extractiva.

Asimismo, Rincón et al. (2014) han reportado que una relación solvente/muestra cercana a 3:1 favorece la difusión de compuestos antociánicos en frutos andinos como *Vaccinium floribundum Kunth*, ya que valores demasiado altos pueden diluir el extracto

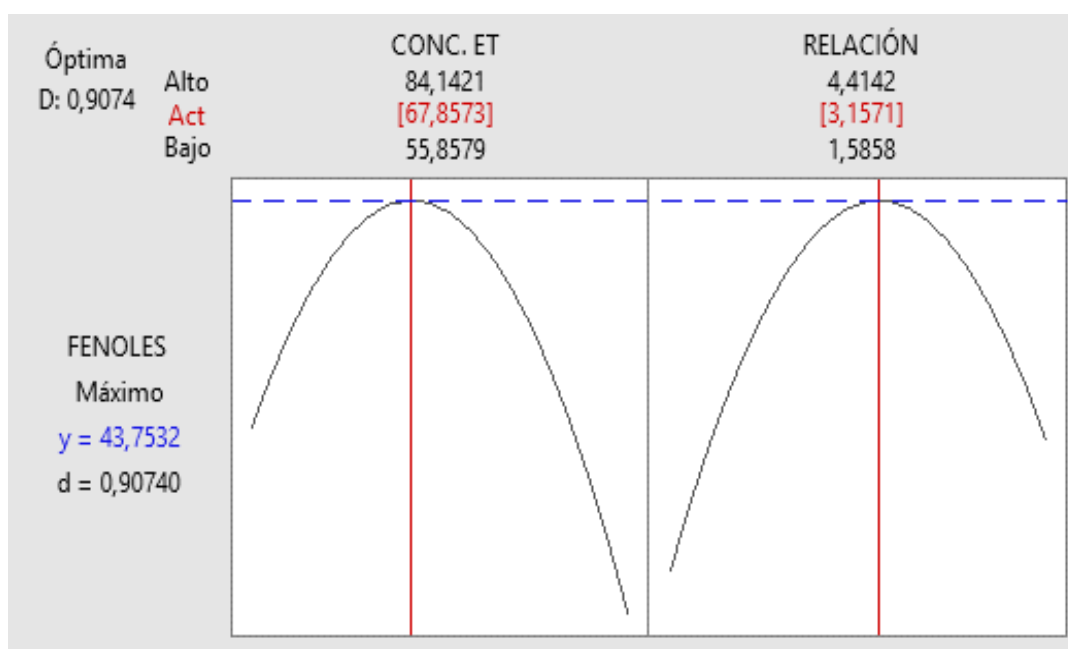
y reducir la concentración de pigmentos. Estos resultados concuerdan con lo obtenido en el presente estudio con *Pernettya prostrata* (Cav.) DC, donde la condición óptima (64,14 % etanol y 3,30 mL/g) produciendo la mayor concentración de antocianinas.

3.2.6.2. Optimización de los fenoles totales

Se utilizó el software estadístico Minitab versión 22,4 y Desig-Expert versión 8.0.7.1. (demo) para determinar el valor óptimo en las 13 corridas experimentales en la extracción de antocianinas monoméricas; se muestra en la figura 24.

Figura 24

Predicción de la extracción óptima de fenoles totales (Minitab versión 22.4. (demo))

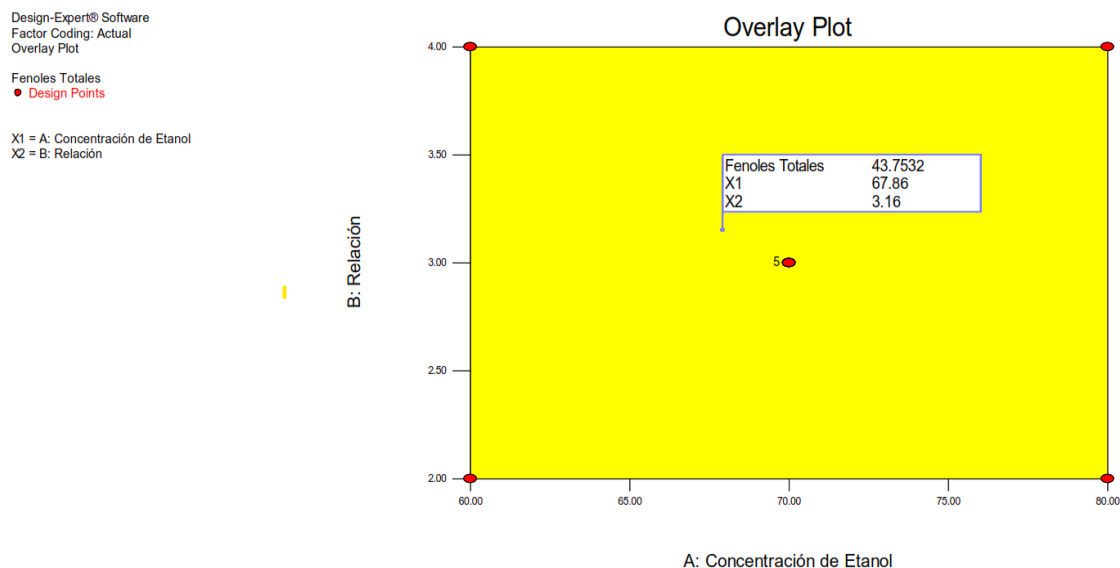


En las figuras 24 se observan los resultados de la predicción óptima de fenoles totales en el programa estadístico Minitab versión 22,4, mostrando curvas de respuesta para cada factor, a la izquierda (concentración de etanol) y a la derecha (relación solvente/muestra), el punto rojo vertical nos indica el valor óptimo para cada variable, concentración de etanol óptima = 67,857 % y relación solvente/muestra óptima = 3,157 mL/g, por otro lado, la línea azul discontinua nos indica el máximo valor de fenoles totales = 43,753 mg/g.

A continuación, se muestra la optimización obtenida a través del programa Desig-Expert (Demo) en la figura 25.

Figura 25

Predicción de la extracción óptima de fenoles totales (Desig-Expert versión 8.0.7.1.)



En la figura 25, se realizó la optimización con el programa Design-Expert versión 8.0.7.1., dando como valor predictivo óptimo de fenoles totales 43,753 mg GAE/g con una concentración de etanol (%) es 67,857 y relación (solvente/muestra) 3,157. Ambos programas dan los mismos resultados, coincidiendo con lo obtenido en esta investigación.

En conjunto, los resultados de este estudio confirman que el punto óptimo (67,85 % etanol; 3,16 mL/g) corresponde a un equilibrio entre la solubilidad, la difusión y la estabilidad de los compuestos fenólicos presentes en *Pernettya prostrata* (Cav.) DC., alcanzando una máxima eficiencia de extracción de 43,75 mg GAE/g.

Estos resultados concuerdan con lo reportado por (Rodríguez et al. (2021) y Daza et al. 2022), donde identificaron las condiciones óptimas en torno al 65–70 % de etanol y relaciones de 3 a 3,5 mL/g para la extracción de fenoles en frutos andinos como *Vaccinium floribundum* Kunth y *Myrciaria dubia*, donde se destaca un equilibrio entre la polaridad y volumen de solvente que son esenciales para maximizar la recuperación de polifenoles. Por otra parte, (Rincón et al. 2014; Fang & Bhandari 2010) resaltan que la eficiencia extractiva depende no solo del tipo y proporción de solvente, sino también de la relación sólido-líquido, ya que una cantidad insuficiente de solvente limita la transferencia de masa, mientras que un exceso disminuye la concentración del extracto y complica su recuperación.

En la tabla 16 se resume los resultados óptimos de antocianinas y fenoles totales.

Tabla 16

Predicción de las extracciones óptimas de antocianinas monoméricas y fenoles totales

Parámetros	Antocianinas mg/g	Fenoles totales Mg GAE/g
Concentración de etanol (%)	64,1432	67,8573
Relación	3,3000	3,1571
Resultados	39,047	43,753

Hay similitud respecto a las variables de concentración de etanol (%) que va de 64,1432 a 67,857 %, mientras que en la relación (solvente/muestra) va desde 3,3000 a 3,157; por lo que fue conveniente hacer un redondeo de la concentración de etanol óptima es a 70% y la relación de solvente/muestra es 3. Con estos resultados obtenidos respecto a las variables se tomó en cuenta para poder extraer las antocianinas de los frutos de macha macha que luego se concentraron para llevarlos a secado para su posterior evaluación en los diferentes ensayos.

3.3. Evaluación del secado por atomización del extracto etanólico concentrado de macha macha (*pernettya prostrata* (cav.) DC)

Se evaluó el porcentaje de sólidos presentes en el extracto etanólico, para poder realizar el secado de la muestra por atomización.

Tabla 17

*Determinación del contenido de sólidos presentes en el extracto etanólico de frutos de macha macha *Pernettya prostrata* (Cav.) DC*







Peso del extracto de frutos de macha macha (g)	Sólidos (%)
5,0497	18,42 %
5,0204	17,99 %
5,0043	18,55 %
Promedio	18,32 % ± 0,003

Para realizar el secado del extracto concentrado, se determinó el porcentaje de sólidos presentes, resultando el promedio 18,32%, estando dentro del rango óptimo de sólidos totales de 15% a 25%, para poder asegurar una buena atomización como lo mencionan (Tonon et al., 2008; Fang & Bhandari, 2010) ya que este rango evita pérdidas de compuestos bioactivos y mejora la fluidez del polvo final.

Después de haber determinado el porcentaje óptimo de sólidos en el extracto etanólico, se procedió a realizar el secado por atomización con tres condiciones de temperatura (200, 150 y 100°C) con porcentajes (5 y 10%) del encapsulante (maltodextrina).

Tabla 18

*Rendimiento del secado del extracto etanólico de frutos de macha macha *Pernettya prostrata* (Cav.) DC*

N°	Código	Muestra concentrada + Maltodextrina (g)	Producto Atomizado (g)	Rendimiento de la antocianina (%)	Imagen
01	MM-200 (10%)	100 (90g M. Conc. + 10g maltodex.)	4,54	4,09	
02	MM-200 (5%)	100 g (95g M. Conc. + 5g maltodex.)	2,13	2,59	
03	MM-150 (10%)	100 g (90g M. Conc. + 10g maltodex.)	15,64	14,08	
04	MM-150 (5%)	100 g (95g M. Conc. + 5g maltodex.)	13,72	13,03	
05	MM-100 (10%)	100 g (90g M. Conc. + 10g maltodex.)	10,78	9,70	
06	MM-100 (5%)	100 g (95g M. Conc. + 5g maltodex.)	8,24	7,83	

A 150°C, se obtuvo los mayores pesos del polvo, estando entre 17,72 % a 15,64%, con un rendimiento de antocianinas de 13,03% a 14,08%, por lo que hay un equilibrio óptimo entre, la velocidad de secado, preservación de compuestos bioactivos, coincidiendo con lo reportado por (Tonon et al., 2008), quienes determinaron que en extractos frutales ricos en compuestos fenólicos y antocianinas, la temperatura promedio de atomización es de 140 a 160°C, formando una matriz vítrea que va proteger los compuestos del secado.

Cai & Corke, (2000), mencionan que, a temperaturas mayores a los 180°C, provocan pérdida de color, degradación de pigmentos, debido a las rupturas de los enlaces glicosídicos de las antocianinas; lo que podemos confirmar con los resultados obtenidos a 200°C, donde el % de antocianinas fueron los valores más bajos.

En las muestras atomizadas a 100°C, presentaron valores menores a los de 150°C, con un secado incompleto, con polvos pegajosos, formando grumos; este fenómeno también lo describe (Kha et al, 2010), que observaron que a temperaturas bajas el aire caliente no tiene la energía suficiente para que pueda eliminar la humedad interna, lo que generó aglomeración.

Por otro lado, el porcentaje de maltodextrina influyó bastante en la retención de antocianinas, según (Fang & Bhandari, 2010), este actúa como agente encapsulante eficaz con una concentración de 10 a 12%, mejorando la estabilidad de las antocianinas durante el proceso de atomización.

3.4. Identificación de las antocianinas monoméricas

De acuerdo con el método de corrida se realizó los ensayos para identificar las antocianinas monoméricas presentes en los frutos liofilizados de macha macha (*Pernettya prostrata* (Cav.) DC).

La identificación de antocianinas monoméricas en matrices vegetales se realiza comúnmente mediante técnicas cromatográficas de alta resolución, como la cromatografía líquida de ultra alta eficiencia acoplada a detector de arreglo de diodos (UHPLC-DAD), que permite la separación, detección y caracterización de estos compuestos en función de su tiempo de retención y espectro de absorción, generalmente a una longitud de onda cercana a 520 nm.

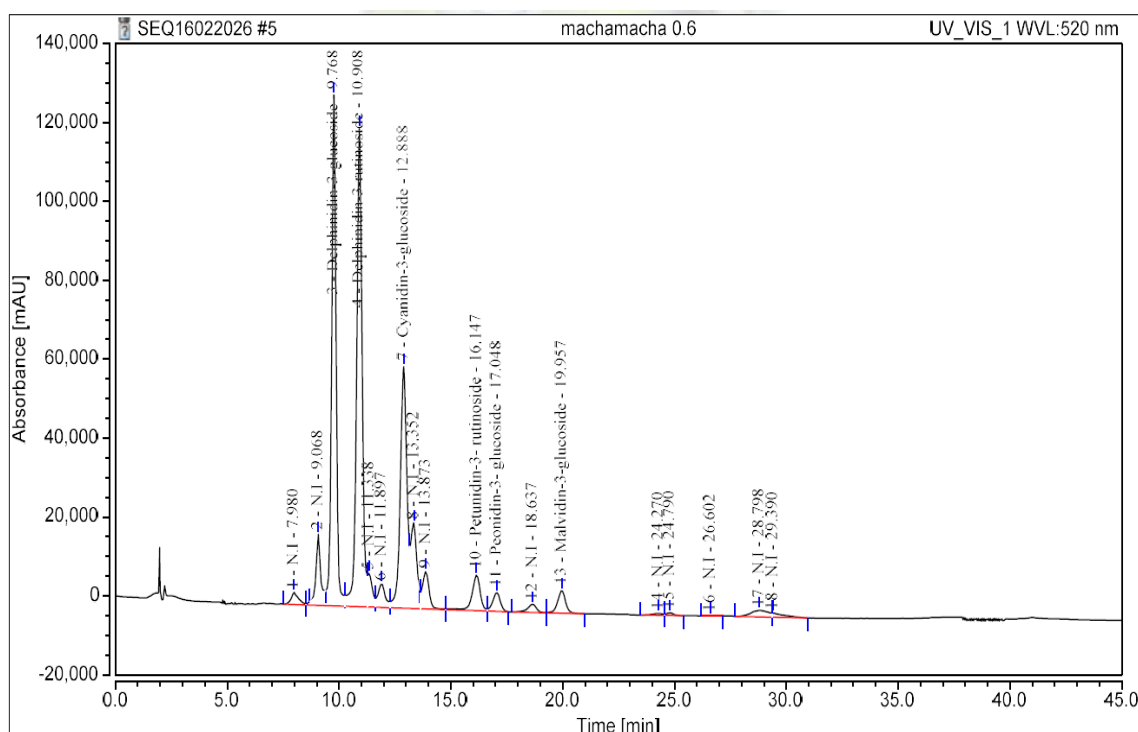
La presencia de diversas antocianinas glicosiladas y picos no identificados sugiere una elevada complejidad metabólica del fruto, lo que resalta su potencial como fuente natural de compuestos antioxidantes con posibles aplicaciones en la industria alimentaria, nutracéutica y farmacéutica.

En la figura 26 se observa los resultados obtenidos al realizar la corrida.

Figura 26

Resultados obtenidos de la identificación de las antocianinas monoméricas

Chromatogram and Results		
Injection Details		
Injection Name:	machamacha 0.6	Run Time (min): 45.00
Vial Number:	RA3	Injection Volume: 10.00
Injection Type:	Unknown	Channel: UV_VIS_1
Calibration Level:		Wavelength: 520
Instrument Method:	New Instrument Method	Bandwidth: 2
Processing Method:	3D Quantitative	Dilution Factor: 1.0000
Injection Date/Time:	17/Feb./26 12:05	Sample Weight: 1.0000



Se observa los resultados obtenidos de las antocianinas monoméricas presentes en los frutos liofilizados de macha macha (*Permettya prostrata* (Cav.) DC) leídas mediante el equipo UHPLC-DAD (Cromatografía líquida de ultra alto rendimiento con detector de disposición de diodos), a una longitud de onda de 520 nm.

Las antocianinas presentes en frutos tipo berries representan una fracción significativa de los compuestos fenólicos totales y están directamente relacionadas con su capacidad antioxidante.

En la figura 27 se tiene los resultados obtenidos, detallado cada una de las antocianinas monoméricas encontradas.

Figura 27

Integración de los resultados obtenidos mediante el equipo UHPLC-DAD, donde se tiene los compuestos identificados.

Integration Results							
No.	Peak Name	Retention Time min	Area mAU*min	Height mAU	Relative Area %	Relative Height %	Amount
1	N.I	7.980	1168.364	3111.809	1.00	0.80	n.a.
2	N.I	9.068	2958.590	15628.983	2.52	4.00	n.a.
3	Delphinidin-3-glucoside	9.768	31574.512	129401.326	26.93	33.12	n.a.
4	Delphinidin-3-rutinoside	10.908	34489.346	121186.221	29.42	31.02	n.a.
5	N.I	11.338	2164.787	8482.025	1.85	2.17	n.a.
6	N.I	11.897	2209.060	6039.526	1.88	1.55	n.a.
7	Cyanidin-3-glucoside	12.888	25284.917	61197.441	21.57	15.66	n.a.
8	N.I	13.352	2328.092	10714.360	1.99	2.74	n.a.
9	N.I	13.873	3319.830	9449.090	2.83	2.42	n.a.
10	Petunidin-3- rutinoside	16.147	3898.042	9052.091	3.32	2.32	n.a.
11	Peonidin-3- glucoside	17.048	1885.113	4744.157	1.61	1.21	n.a.
12	N.I	18.637	949.001	2065.907	0.81	0.53	n.a.
13	Malvidin-3-glucoside	19.957	2352.844	5689.541	2.01	1.46	n.a.
14	N.I	24.270	244.921	499.550	0.21	0.13	n.a.
15	N.I	24.790	244.165	651.127	0.21	0.17	n.a.
16	N.I	26.602	41.538	91.539	0.04	0.02	n.a.
17	N.I	28.798	1459.228	1680.588	1.24	0.43	n.a.
18	N.I	29.390	674.845	1036.620	0.58	0.27	n.a.
Total:			117247.196	390721.898	100.00	100.00	

Los picos cromatográficos leídos son:

- Tiempo de retención: Tiempo en que sale el compuesto
- Área: Cantidad relativa del compuesto
- Altura: Intensidad del pico
- Área total: Proporción respecto al total

El análisis cromatográfico permitió identificar un total de 18 compuestos, de los cuales seis correspondieron a antocianinas monoméricas específicas, se identificaron otras en menores proporciones.

Por otro lado, la presencia de compuestos no identificados (N.I) indica la posible existencia de derivados complejos de antocianinas, cuya caracterización requeriría técnicas analíticas complementarias.

En la tabla 19 se tiene los resultados de las antocianinas monoméricas que se encuentran en mayor cantidad en los frutos liofilizados de macha macha.

Tabla 19

Resultados de las Antocianinas monoméricas predominantes en los frutos atomizados en los frutos de macha macha (Pernettya prostrata (Cav.) DC)

Antocianina Monomérica	Tiempo (min)	Área relativa (%)
Delfinidina-3-rutinósido	10,908	29,42 %
Delfinidina-3-glucósido	9,768	26,93 %
Cianidina-3-glucósido	12,888	21,57 %
Petunidina-3-rutinósido	16,147	3,32 %
Malvidina-3-glucósido	19,957	2,01 %
Peonidina-3-glucósido	17,048	1,61 %

El valor más alto es la Delfinidina-3-rutinósido con 29,42%, seguidamente la Delfinidina-3-glucósido con 26.93% y Cianidina-3-glucósido con 21,57 %; donde estos tres son los predominantes que en conjunto representan 77,9% del área cromatográfica total, lo que indica que estos compuestos constituyen la mayor parte del perfil antociánico del fruto.

Asimismo, se identificaron antocianinas minoritarias como Petunidina-3-rutinósido (3.32 %), Malvidina-3-glucósido (1.61 %) y Peonidina-3-glucósido (2.01 %). Aunque presentes en menor proporción, estos compuestos contribuyen al perfil fitoquímico total del fruto y pueden participar en la estabilidad del color y en la actividad antioxidante global. Según (Rice et al., 1996), la diversidad estructural de flavonoides, incluyendo diferentes antocianidinas glicosiladas, influye significativamente en la capacidad antioxidante de los alimentos vegetales.

Por otra parte, la presencia de varios picos no identificados sugiere la posible existencia de otros compuestos fenólicos o derivados de antocianinas que no pudieron ser identificados debido a la ausencia de estándares de referencia o a la complejidad de la matriz vegetal. Este fenómeno es frecuente en estudios fitoquímicos de frutos silvestres, ya que estos suelen contener una amplia diversidad de metabolitos secundarios.

Diversos estudios han permitido identificar de manera específica las antocianinas monoméricas presentes en sus frutos mediante técnicas cromatográficas acopladas a espectrometría de masas (HPLC-MS y HR-MS).

Los resultados obtenidos coinciden con lo reportado por (Cerrato et al. 2022), donde realizaron una caracterización detallada del perfil fenólico de *Vaccinium floribundum Kunth* perteneciente a la familia Ericaceae, identificando como principales antocianinas monoméricas a los glicósidos derivados de cianidina y delphinidina. Entre los compuestos más representativos se encuentran la cianidina-3-O-glucósido, cianidina-3-O-galactósido, delphinidina-3-O-glucósido y delphinidina-3-O-galactósido, los cuales son característicos del género *Vaccinium*. Asimismo, Esquivel et al. (2020) confirmaron que los glicósidos de cianidina y delphinidina constituyen las antocianinas predominantes en especies andinas de este género, destacando su contribución significativa a la capacidad antioxidante de los frutos.

De manera similar, estudios realizados por (Cao, 1997) en frutos de *Pernettya prostrata (Cav.) DC* y *Vaccinium* han reportado que los glucósidos de delphinidina y cianidina constituyen una proporción significativa del perfil de antocianinas monoméricas. Investigaciones de (Lila, 2004) indican que estos son los responsables de la intensa coloración azul-violácea de muchos berries y están asociados con una elevada actividad antioxidante y potenciales efectos beneficiosos para la salud humana. Sin embargo, en *Pernettya prostrata (Cav.) DC*, la información disponible en la literatura científica es aún limitada en cuanto a la identificación estructural de antocianinas monoméricas. Los estudios existentes se han centrado principalmente en la determinación del contenido total de antocianinas y compuestos fenólicos, así como en la evaluación de la actividad antioxidante, sin lograr una caracterización individual de dichos compuestos mediante técnicas avanzadas como HPLC-MS. No obstante, considerando su pertenencia a la familia Ericaceae, es probable que presente un perfil de antocianinas similar al de otras especies afines, predominando derivados de cianidina y delphinidina, aunque esta hipótesis requiere ser confirmada experimentalmente.

En conjunto, los resultados obtenidos evidencian que los frutos de macha macha constituyen una fuente relevante de antocianinas, especialmente derivados de delphinidina y cianidina, compuestos ampliamente reconocidos por su actividad antioxidante y su potencial aplicación en alimentos funcionales, nutraceuticos y productos farmacéuticos.

3.5. Determinación de las antocianinas monoméricas en el extracto microencapsulado por atomización macha macha (*Pernettya Prostrata* (Cav.) DC)

La muestra atomizada se determinó las antocianinas monoméricas por el método de pH diferencial, haciendo la lectura de las absorbancias en cada corrida del método factorial (18 corridas) con el equipo Espectrofotómetro, Marca: THERMO FISHER SCIENTIFIC, Modelo: GENESYS 6.

En la tabla 20 se muestra el contenido de antocianinas presentes en las muestras atomizadas a diferentes T° y % de encapsulante utilizado.

Tabla 20

Resultados obtenidos del contenido promedio de antocianinas monoméricas en las muestras atomizadas en mg/g.

Código	Corrida	Temp. °C	Encapsulante %	Contenido de Antocianinas mg/g
MM-200 (10%)	A ₁ B ₁	200	10%	18,790 ± 0,72
MM-200 (5%)	A ₁ B ₂	200	5%	21,540 ± 1,14
MM-150 (10%)	A ₂ B ₁	150	10%	25,410 ± 0,52
MM-150 (5%)	A ₂ B ₂	150	5%	27,380 ± 0,90
MM-100 (10%)	A ₃ B ₁	100	10%	22,900 ± 1,05
MM-100 (5%)	A ₃ B ₂	100	5%	23,630 ± 2,18

Nos da un mejor resultado en cantidades de antocianinas obtenidas a T =150 °C con 5 % de encapsulante esto debido a que según Ersus y Yurdagel, (2007) para las maltodextrinas con mayor DE, la atomización producida a 160 °C se obtienen una mayor retención de pigmentos a diferencia de los producidos a altas temperaturas, es por ello que se evidencia una mayor cantidad de antocianinas obtenidas a esta temperatura.

El menor valor obtenido fue a 200 °C debido al incremento de la temperatura existe pérdida de antocianinas, por la alta sensibilidad de las antocianinas según Quek et al. (2007).

3.5.1. Análisis de varianza del contenido de antocianinas monoméricas en el extracto microencapsulado por atomización de macha macha (*Pernettya prostrata* (Cav.) DC)

Se llevó los datos al software estadístico Design-Expert 8.0.7.1. para realizar el análisis de varianza (ANOVA) para antocianinas monoméricas mediante el diseño estadístico Factorial 3x2.

En la tabla 21 se tiene el análisis de varianza para las antocianinas monoméricas.

Tabla 21

Análisis de varianza de antocianinas monoméricas

Fuente	Suma de cuadrados	df	Cuadrado medio	Valor F	Valor P	
Modelo	131,44	3	43,81	29,65	<0,0001	Significativo
A-Temperatura (°C)	116,63	2	58,31	39,46	<0,0001	Significativo
B-Maltodextrina (%)	14,81	1	14,81	10,03	0.0069	Significativo
Residual	20,69	14	1,48			
Falta de ajuste	3,11	2	1,56	1,06	0,3757	No significativo
Error puro	17,57	12	1,46			
Cor Total	152,13	17				

El análisis de varianza presentada en la tabla 21, se muestra que la temperatura de secado, así como el porcentaje de maltodextrina tienen influencia significativa respecto al contenido de antocianinas. El factor más determinante es la temperatura debido a la degradación de antocianinas durante el proceso de secado por atomización, como menciona Tonon et al. (2008); Fang & Bhandari (2010) ya que temperaturas intermedias favorecen una formación acelerada de partículas sin la exposición prolongada al calor, reduciendo la degradación térmica de compuestos fenólicos y antocianinas.

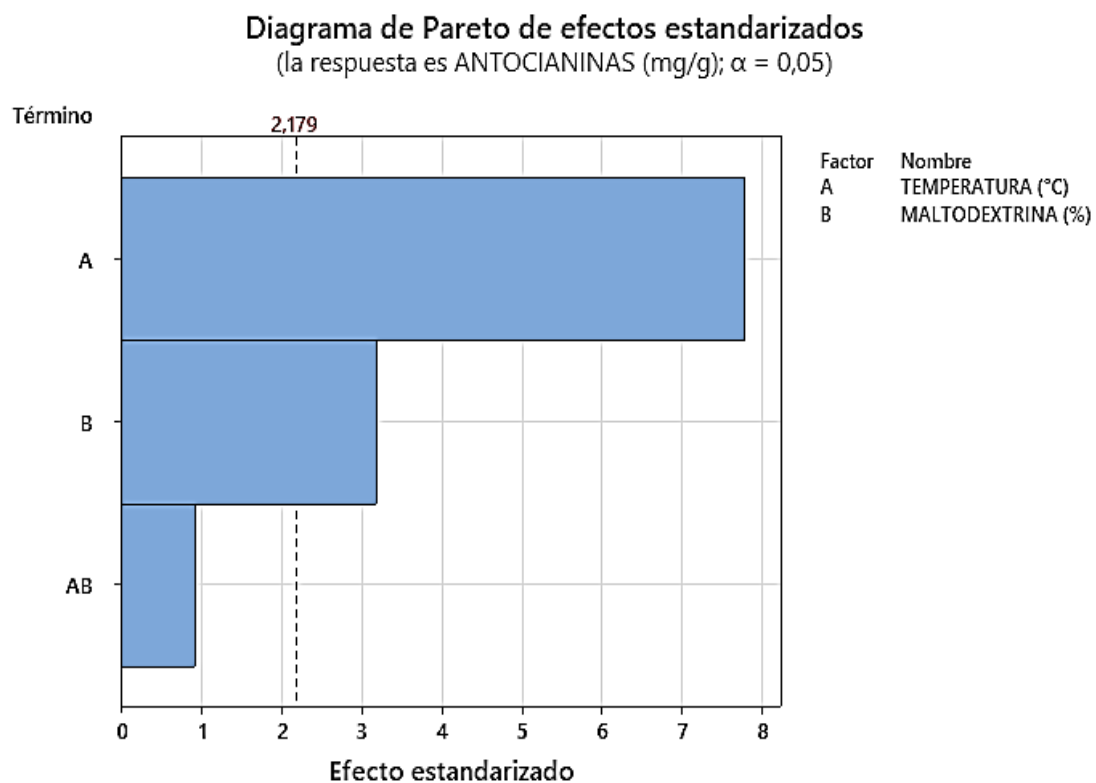
Tonon et al, (2008); Fang & Bhandari (2010), observaron que niveles intermedios de encapsulante (maltodextrina) 8-12%, mejoran la retención de antocianinas en el proceso de secado por atomización, pero, por otro lado, nos menciona que a mayores proporciones de maltodextrina se forman matrices vítreas más compactas y menos permeables, lo que protege los compuestos fenólicos frente a la oxidación, pero dificulta su solubilización y extracción posterior durante el análisis químico. Esto significa que

parte de las antocianinas quedan encapsuladas dentro de la matriz, y no están disponibles en su totalidad para que sean cuantificadas por el método de pH diferencial, por esta razón las muestras con 5 % de maltodextrina al poseer una matriz menos densa, liberan más pigmento en la extracción, obteniendo valores elevados de antocianinas monoméricas a pesar de contener menor retención global.

La figura 28 se muestra el diagrama de Pareto evidenciando que la temperatura de secado (Factor A) es determinante en la retención de antocianinas en el proceso de la atomización de la macha macha *Pernettya prostrata* (Cav.) DC madura, seguido por el porcentaje de maltodextrina (Factor B).

Figura 28

Diagrama de Pareto de efectos estandarizados en las antocianinas monoméricas



Los factores superan el umbral de significancia ($\alpha = 0.05$), por otro lado, la interacción de ambos no es significativa, indicándonos que el efecto de la maltodextrina es constante a determinadas temperaturas evaluadas.

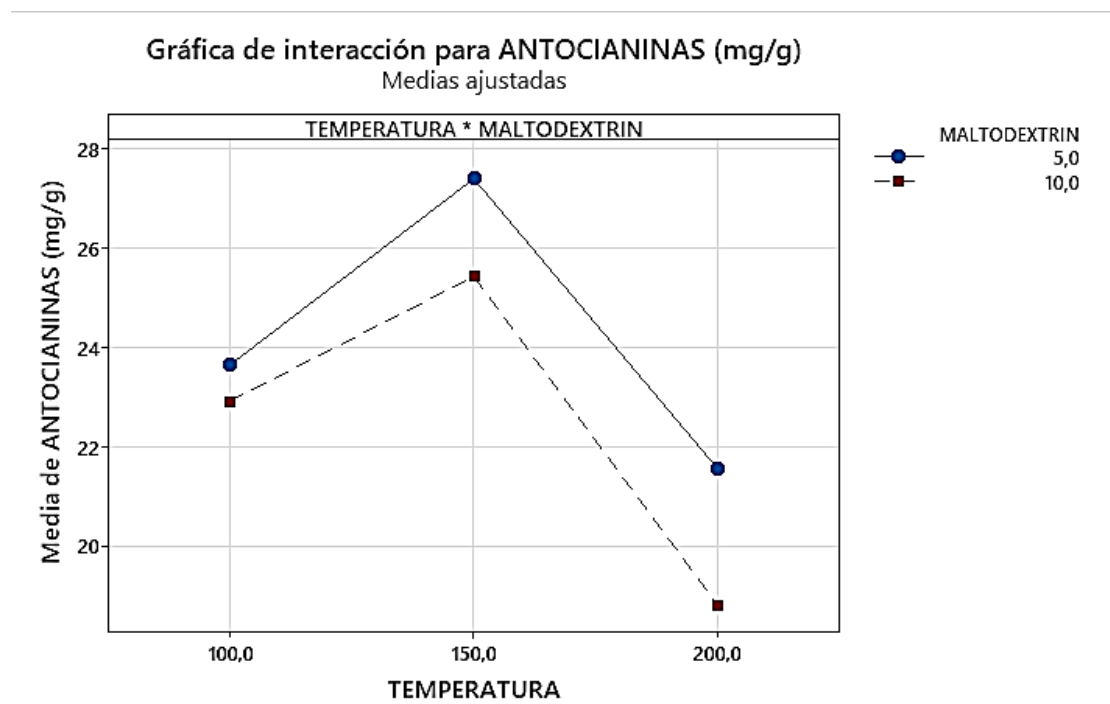
En los resultados experimentales se observa que el menor porcentaje de maltodextrina (5%) se observan concentraciones más altas de antocianinas a diferencia

que el 10 %. Este comportamiento puede atribuirse al efecto de dilución y aumento de la viscosidad del extracto, reduciendo la presencia y cuantificación de las antocianinas tal como lo reportan Tonon et al. (2008) y Fang y Bhandari (2010).

En la figura 29 se muestra el gráfico de interacción para las antocianinas monoméricas.

Figura 29

Gráfico de interacción de la temperatura y % maltodextrina frente a las antocianinas monoméricas

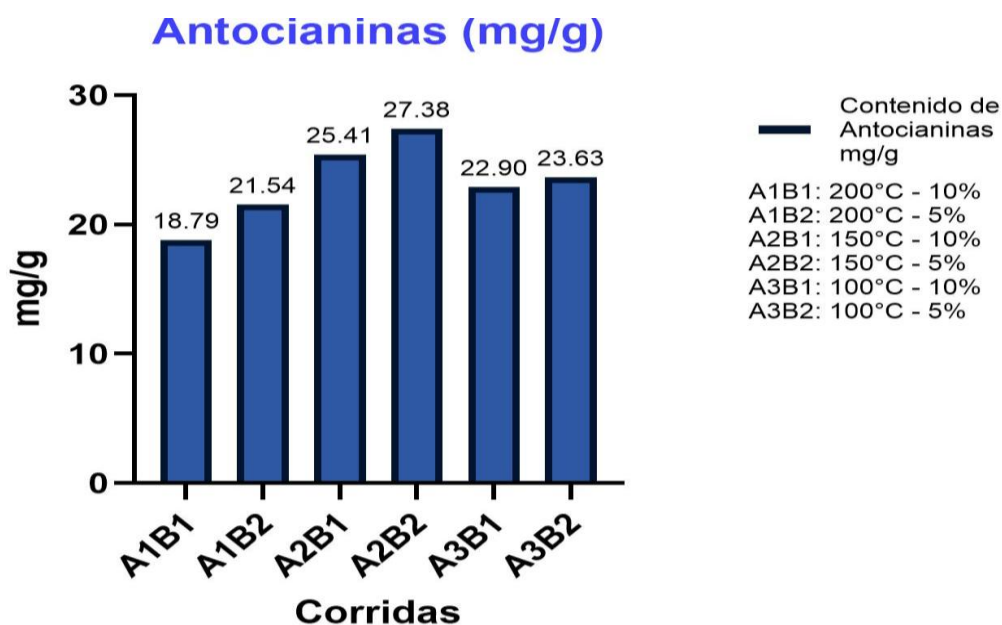


La gráfica de interacción presentada en la figura 26, muestra el valor máximo (150°C) para la obtención de antocianinas, así mismo podemos observar que el menor porcentaje de maltodextrina (5 %) favorece en la concentración de antocianinas a diferencia del 10 %, esto debido a un efecto de dilución del encapsulante. Tonon et al. (2008); Fang & Bhandari (2010), mencionan que a temperaturas moderadas y niveles controladas de maltodextrina se optimiza la conservación de antocianinas en el proceso de secado por atomización.

A continuación, se muestra la figura 30, las cuales son los contenidos de antocianinas monoméricas a diferentes temperaturas y porcentaje de encapsulante.

Figura 30

Gráfico de Barras, del contenido de antocianinas monoméricas



En el figura 30, observamos que el valor más alto es (27.38 mg/g) respecto al contenido de antocianinas que se obtuvieron a 150 °C con 5 % de maltodextrina, por otro lado a 200°C se evidenció una cantidad menor (18,790 mg/g), dichos resultados se respaldan según lo reportado por Tonon et al. (2008); Fang & Bhandari (2010); Ersus & Yurdagel (2007), dichos autores destacan la importancia de controlar la temperatura (140-160°C) donde el secado por atomización de frutos ricos en pigmentos fenólicos nos permiten obtener una alta retención de antocianinas ya que el tiempo de exposición al calor es corto formando rápidamente una película protectora sobre las partículas atomizadas y el nivel de encapsulante de manera que se pueda maximizar la retención de antocianinas en procesos de secado por atomización, ya que a concentraciones altas de encapsulante producen matrices más densas que protegen, pero a la vez diluyen los compuestos activos, reduciendo su concentración por unidad de masa seca.

En la tabla 22 se muestra los resultados de mayor y menor contenido de antocianinas monoméricas.

Tabla 22

Datos obtenidos del contenido de antocianinas monoméricas mayor y menor

Factor	Mínimo	Máximo
Temperatura °C	200 °C	150°
Maltodextrina %	10 %	5%
Antocianinas mg/g	18,790 ± 0,72	27,380 ± 0,90

En la tabla 21, se muestra los valores del contenido de antocianinas monoméricas; siendo el mínimo valor (18,790 ± 0,72 mg/g) con 10% de maltodextrina a una temperatura de 200°C, mientras que a una temperatura de 150°C y con 5% de maltodextrina se obtuvo el valor más alto (27,380 ± 0,90 mg/g).

3.6. Determinación de fenoles totales en el extracto micro encapsulado por atomización macha macha (*Pernettya prostrata* (Cav.) DC)

En la tabla 23 se observa los datos respecto a la concentración del ácido gálico con los cuales se podrá realizar la curva de calibración, donde se realizó por triplicado la lectura de las absorbancias a una longitud de onda de 755 nm, esto con el fin de obtener los datos con más precisión y confiabilidad.

Tabla 23

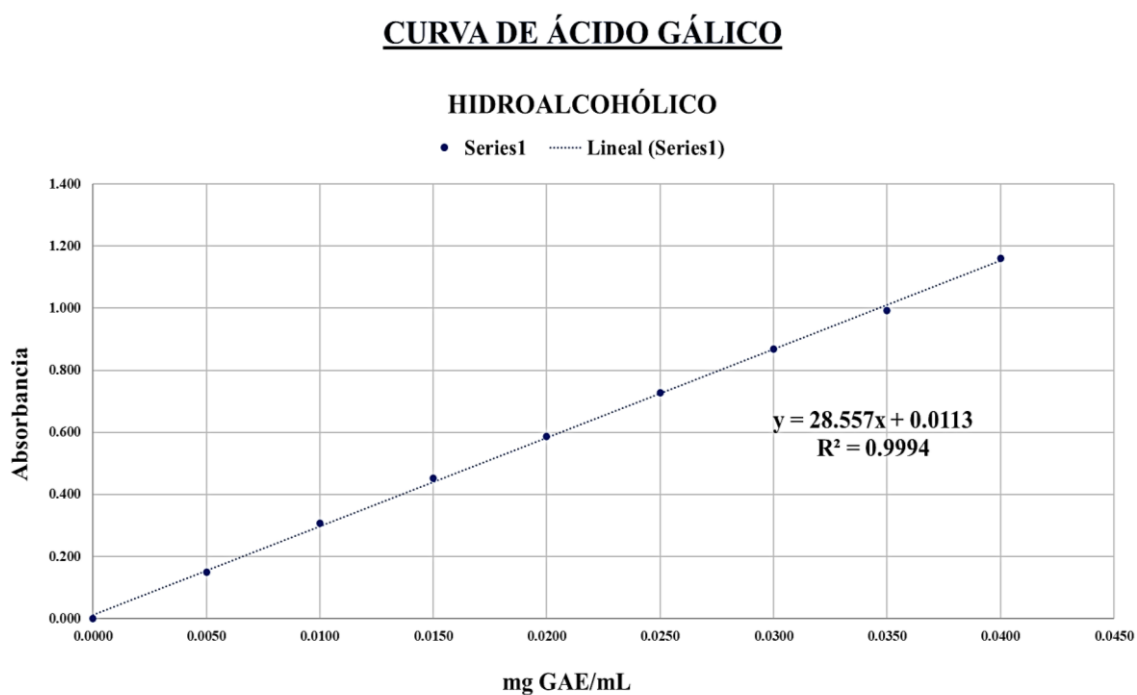
Datos obtenidos de las absorbancias y mg GAE/mL para la curva patrón

Concentración (mg GAE/ml)	Absorbancia			Promedio
	1	2	3	
0,0000	0,000	0,000	0,000	0,000 ± 0,000
0,0050	0,124	0,172	0,154	0,150 ± 0,024
0,0100	0,265	0,319	0,338	0,307 ± 0,050
0,0150	0,392	0,473	0,489	0,451 ± 0,052
0,0200	0,494	0,628	0,635	0,586 ± 0,079
0,0250	0,621	0,771	0,790	0,727 ± 0,093
0,0300	0,713	0,928	0,963	0,868 ± 0,135
0,0350	0,877	1,016	1,086	0,993 ± 0,106
0,0400	1,019	1,215	1,245	1,160 ± 0,123

Se tiene las absorbancias leídas en relación a los mg GAE/mL; realizando por triplicado cada uno para tener un promedio de las lecturas.

Figura 31

Curva patrón de mg GAE/mL VS. absorbancia (curva de ácido gálico)



En la figura 31 se observa el gráfico de la curva de ácido gálico ajustado linealmente para obtener la ecuación y con ello determinar el contenido de fenoles totales.

Tabla 24

Resultados obtenidos del contenido promedio de fenoles totales

Código	Corrida	Temp. °C	Encapsulante %	Contenido de fenoles totales mg GAE/g
MM-200 (10%)	A ₁ B ₁	200	10%	18,540 ± 0,75
MM-200 (5%)	A ₁ B ₂	200	5%	23,088 ± 1,04
MM-150 (10%)	A ₂ B ₁	150	10%	26,561 ± 0,30
MM-150 (5%)	A ₂ B ₂	150	5%	31,651 ± 0,21
MM-100 (10%)	A ₃ B ₁	100	10%	24,716 ± 0,33
MM-100 (5%)	A ₃ B ₂	100	5%	29,722 ± 0,28

En la tabla 24, se muestra el promedio de los resultados del contenido de fenoles totales, cada corrida se trabajó por triplicado.

3.6.1. Análisis de varianza del contenido de Fenoles Totales en el extracto microencapsulado por atomización macha macha (*Pernettya Prostrata* (cav.) DC)

Se llevó los datos al software estadístico Design-Expert 8.0.7.1. para realizar el análisis de varianza (ANOVA) de fenoles totales mediante el diseño estadístico Factorial 3x2 con 18 corridas.

Tabla 25

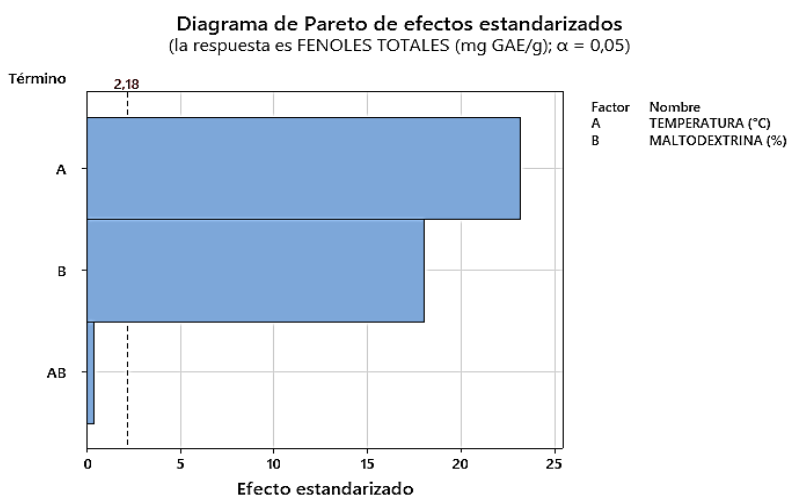
Análisis de varianza de fenoles totales

Fuente	Suma de cuadrados	df	Cuadrado medio	Valor F	Valor P	
Modelo	333,90	3	111,30	370,38	<0,0001	Significativo
A-Temperatura (°C)	25,61	2	113,34	377,15	<0,0001	Significativo
B-Maltodextrina (%)	9,64	1	107,23	356,82	<0,0001	Significativo
Residual	11,49	14	0,30			
Falta de ajuste	4,33	2	0,13	0,39	0,6872	No significativo
Error puro	7,16	12	0,33			
Cor Total	333,42	17				

En la tabla 25, se demuestra mediante el análisis de varianza que la temperatura es altamente significativa, influyendo de manera directa en el contenido de fenoles totales, así como el % de maltodextrina, por su efecto encapsulante frente a la degradación térmica. Siendo ambos parámetros muy determinantes en la conservación de compuestos fenólicos.

Figura 32

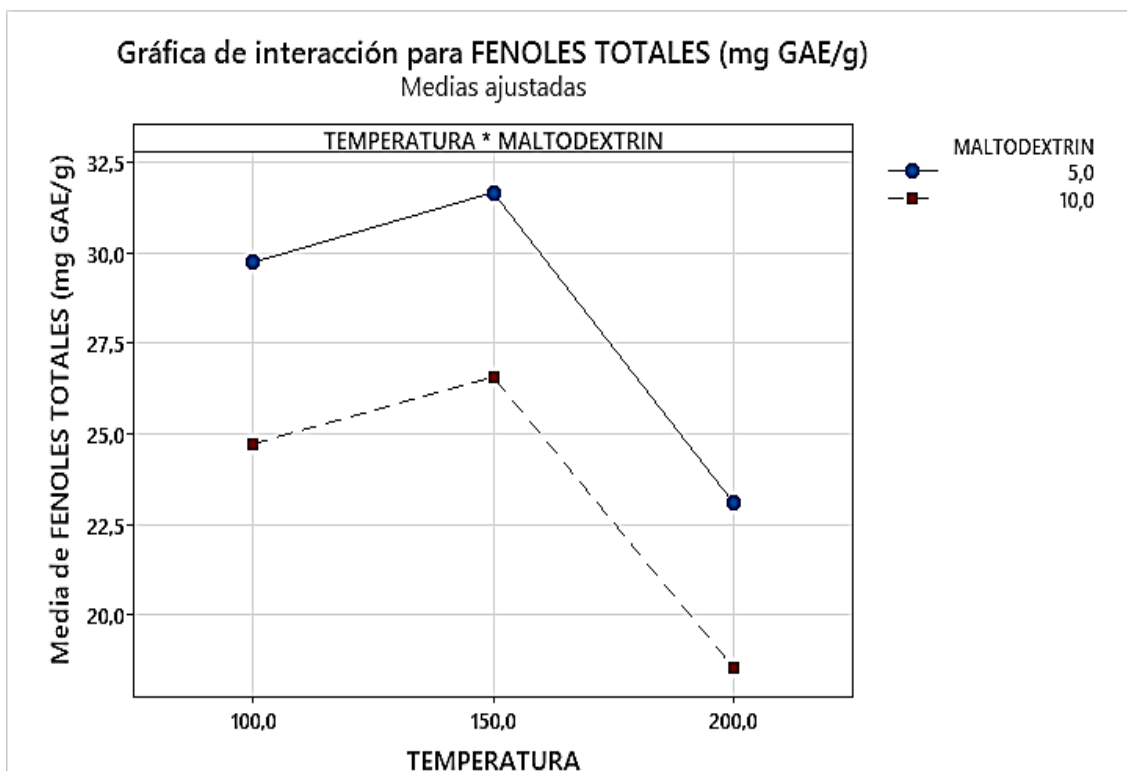
Diagrama de Pareto de efectos estandarizados en los fenoles totales



En la figura 32, se tiene el diagrama de Pareto, donde los factores A (Temperatura °C) y B (maltodextrina %) superaron el límite crítico de significancia ($t=2,18$), pero la interacción entre ambos no fue significativa. Esto quiere decir, si se cambia solo la temperatura, los fenoles suben o bajan; lo mismo va ocurrir si solo se cambia la temperatura; pero si ambos factores se cambian al mismo tiempo, no va ocurrir un resultado diferente al esperado. Este comportamiento coincide con lo que menciona (Tonon et al. 2008), quién demostró que la temperatura del secado por aspersión y la concentración de la maltodextrina son factores críticos en matrices frutales, actuando de forma individual.

Figura 33

Gráfico de interacción de la temperatura y % maltodextrina frente a los fenoles totales

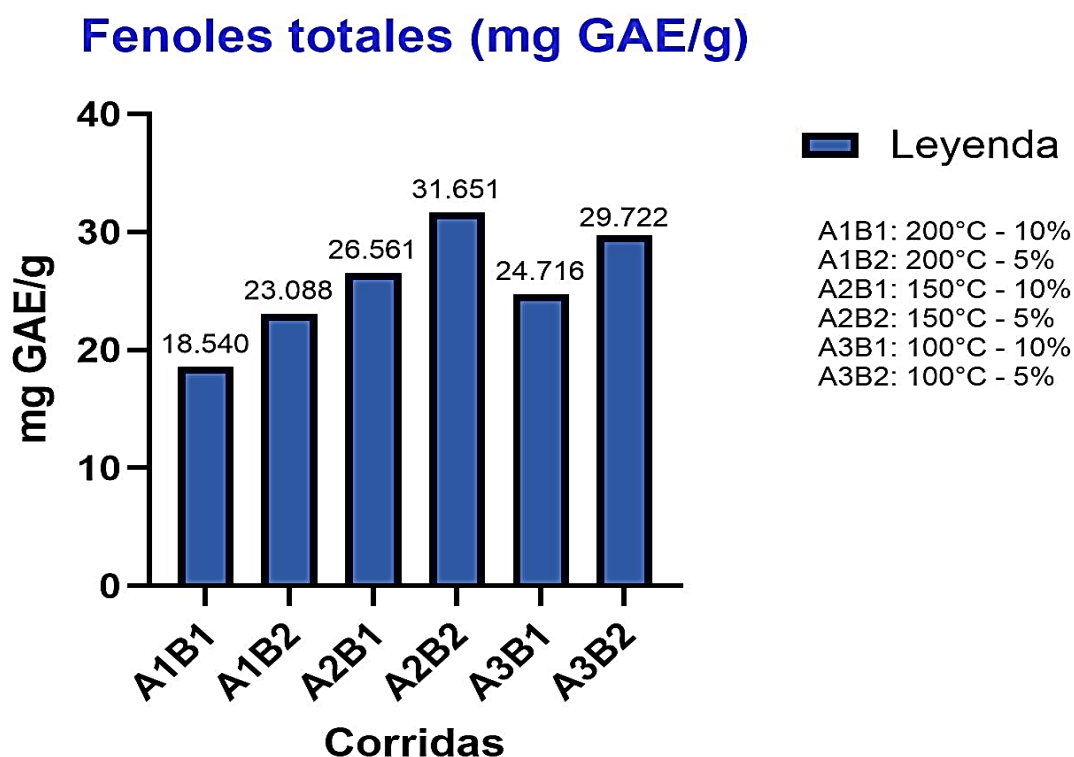


En la figura 33, se muestra cómo interactúan ambos factores; la línea roja representa las muestras atomizadas con 10% de maltodextrina, siendo menores los valores a diferencia de las que fueron extraídas con 5% (línea azul).

Al pasar de 100°C a 150°C, el contenido de fenoles totales va en aumento, sin embargo, a 200°C, estos disminuyen drásticamente por la degradación térmica (Tonon et al., 2008).

Figura 34

Gráfico de Barras, del contenido de fenoles totales



En la figura 34, se tiene el gráfico de barras para el contenido de fenoles, donde el extracto microencapsulado por atomización macha macha (*Pernettya prostrata* (Cav.) con 5% de maltodextrina presenta valores más altos a diferencia de las que fueron extraídas con 10% de maltodextrina; siendo este un indicativo muy importante a la hora de obtener el mayor contenido de fenoles totales. La temperatura de entrada al secador, así como el porcentaje de maltodextrina son indicadores muy importantes a la hora de secar el extracto etanólico de macha macha *Pernettya prostrata* (Cav.) DC, ya que influyen de forma significativa en la retención de compuestos fenólicos durante el proceso de atomización. Se observa que, a temperaturas elevadas mayores a 200°C, la degradación de los polifenoles se da más, y esto afecta en la concentración final del polvo, Según (Quek et al., 2007; Tonon et al., 2008) menciona que los compuestos fenólicos son muy sensibles a la temperatura y la pérdida se asocia a la oxidación, isomerización y la ruptura de enlaces glicosídicos.

A temperaturas moderadas de 150°C se favorece a la mejor conservación de los fenoles, debido a una menor experiencia térmica y la rápida formación de microcápsulas que estos van a limitar el contacto del extracto con el oxígeno (Tonon et al., 2010).

Asimismo, a bajas temperaturas de entrada del secador menos a 120°C, la formación de microencapsulación es mucho más lenta, y esto permite una mayor interacción de los compuestos fenólicos con el oxígeno y también con la humedad residual, por lo que genera polvo, pero con mayor humedad y pegajosidad en las paredes del equipo generando pérdidas de la muestra (Tonon et al., (2008).

Tabla 26

Datos obtenidos del contenido de fenoles totales mayor y menor

Factor	Mínimo	Máximo
Temperatura °C	200 °C	150°
Maltodextrina %	10 %	5%
Fenoles totales mg GAE/g	18,540 ± 0,75	31,651 ± 0,21

En la tabla 26, se muestra los valores del contenido de fenoles totales; siendo el mínimo valor (18,540 ± 0,75 mg GAE/g) con 10% de maltodextrina a una temperatura de 200°C, mientras que a una temperatura de 150°C y con 5% de maltodextrina se obtuvo el valor más alto (31,651 ± 0,21 mg GAE/g).

3.7. Determinación de la capacidad antioxidante en el extracto microencapsulado por atomización macha macha (*Pernettya prostrata* (Cav.) DC)

En la tabla 26 se observa los datos respecto a la capacidad antioxidante por el método DPPH, donde se realizó por triplicado la lectura de las absorbancias a una longitud de onda de 515 nm, esto con el fin de obtener los datos con más precisión y confiabilidad.

A continuación, se muestra los resultados obtenidos respecto al % de capacidad antioxidante.

Tabla 27

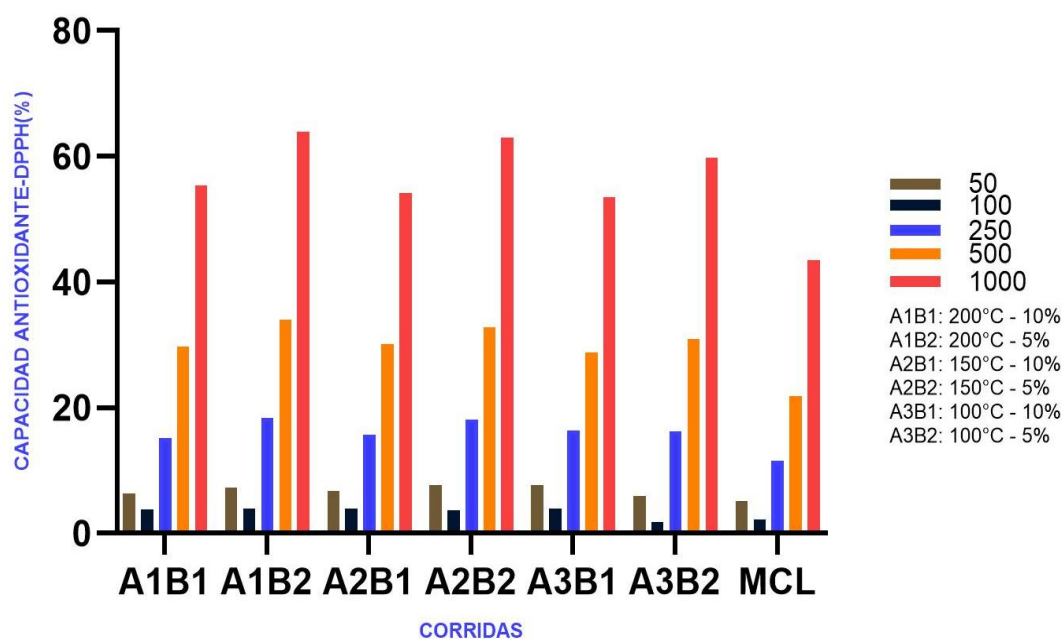
Resultados de la capacidad antioxidante por el método DPPH en el extracto microencapsulado por atomización macha macha (Pernettya prostrata (Cav.) DC

MUESTRAS	Actividad antioxidante (%)				
	50	100	250	500	1000
MM-200 (10%)	3,72±0,12	6,32±0,46	15,13±0,16	29,69±0,31	55,45±0,12
MM-200 (5%)	3,94±0,17	7,21±0,21	18,42±0,41	34,04±0,27	63,94±0,10
MM-150 (10%)	3,99±0,21	6,77±0,15	15,64±0,35	30,12±0,12	54,24±0,15
MM-150 (5%)	3,67±0,35	7,67±0,21	18,18±0,06	32,83±0,66	63,03±0,38
MM-100 (10%)	3,89±0,31	7,60±0,15	16,35±0,06	28,84±0,52	53,40±0,29
MM-100 (5%)	1,85±0,06	5,89±0,06	16,25±0,10	30,88±0,30	59,84±0,46
MCL	2,19±0,25	5,08±0,15	11,50±0,20	21,90±0,10	43,42±0,15

En la tabla 27, se muestra la actividad antioxidante a diferentes diluciones de las muestras atomizadas a diferentes temperaturas (200,150,100 °C) y encapsulante (5,10 %), cada corrida se trabajó por triplicado. Así mismo se muestra los valores a diferentes diluciones obtenidos para la muestra liofilizada.

Figura 35

Gráfico de Barras, de la capacidad antioxidante por el método DPPH de las muestras atomizadas y liofilizada.



En la figura 35 se muestra los resultados de la actividad antioxidante obtenidas a diferentes temperaturas y % de micro encapsulante (maltodextrina), se evidenció un comportamiento dependiente de la concentración del extracto en todas las corridas evaluadas (A1B1–A3B2). En términos generales, se observó un incremento progresivo del porcentaje de inhibición del radical DPPH conforme aumentó la concentración del extracto de 50 a 1000, lo que indica una relación dosis–respuesta positiva, característica de matrices ricas en compuestos fenólicos.

Los valores más elevados de actividad antioxidante se registraron a la concentración de 1000, destacando los tratamientos A1B2, A2B2 y A3B2, los cuales alcanzaron porcentajes de actividad antioxidante cercanos al 60–65 %, este comportamiento sugiere que las condiciones de procesamiento empleadas en estos tratamientos favorecieron la conservación y/o liberación de compuestos bioactivos, principalmente antocianinas y otros polifenoles responsables de la capacidad captadora de radicales libres. Por el contrario, la muestra control (MCL) presentó valores inferiores de %AA en todas las concentraciones evaluadas, con un máximo aproximado de 45 % a la concentración más alta, lo que evidencia una menor eficiencia antioxidante en comparación con las corridas experimentales.

Llimpe, (2017), determinó una actividad antioxidante de 323.96 (equivale aproximadamente a 81 µg TE/mL en estado maduro), presentando valores próximos al obtenido ya que se tiene que tomar en cuenta la variedad con la que se trabajó, además de ser una muestra atomizada, la cual fue expuesta a ciertas temperaturas, por lo tanto según los datos obtenidos nos indican que a temperaturas superiores a 150 °C disminuyen el %AA, lo cual es asociada a la degradación de antocianinas, tal como señala Tonon et al. (2008) y Cai & Corke (2000), quienes mencionan la inestabilidad térmica de los pigmentos fenólicos durante el proceso de atomización, por lo que a temperaturas moderadas y niveles bajos de encapsulante nos permite mayor retención de compuestos activos.

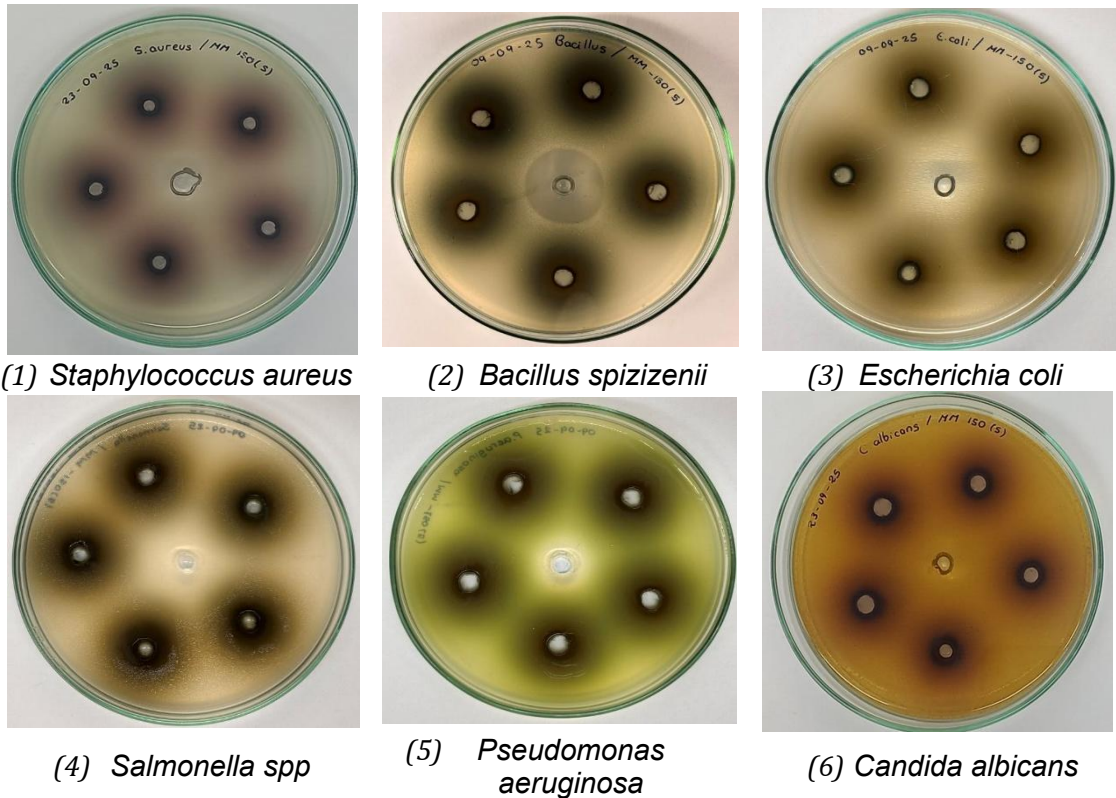
3.8. Determinación de la actividad antimicrobiana en el extracto microencapsulado atomizado y frutos liofilizados de macha macha (*Pernettya Prostrata (cav.) Dc*)

Teniendo los resultados óptimos de antocianinas monoméricas, fenoles totales y capacidad antioxidante en la muestra atomizada a condiciones de 150°C con 5% de maltodextrina (encapsulante), se tomó dicha muestra para analizar la actividad antimicrobiana por el método modificado de difusión en pozo en agar con 6 cepas, haciendo una comparación con la muestra liofilizada a óptimas condiciones.

En la figura 36 se muestra el crecimiento de los halos en las diferentes cepas en función de las concentraciones de la muestra atomizada.

Figura 36

Halos de inhibición de las 6 cepas en función de las concentraciones de la muestra atomizada

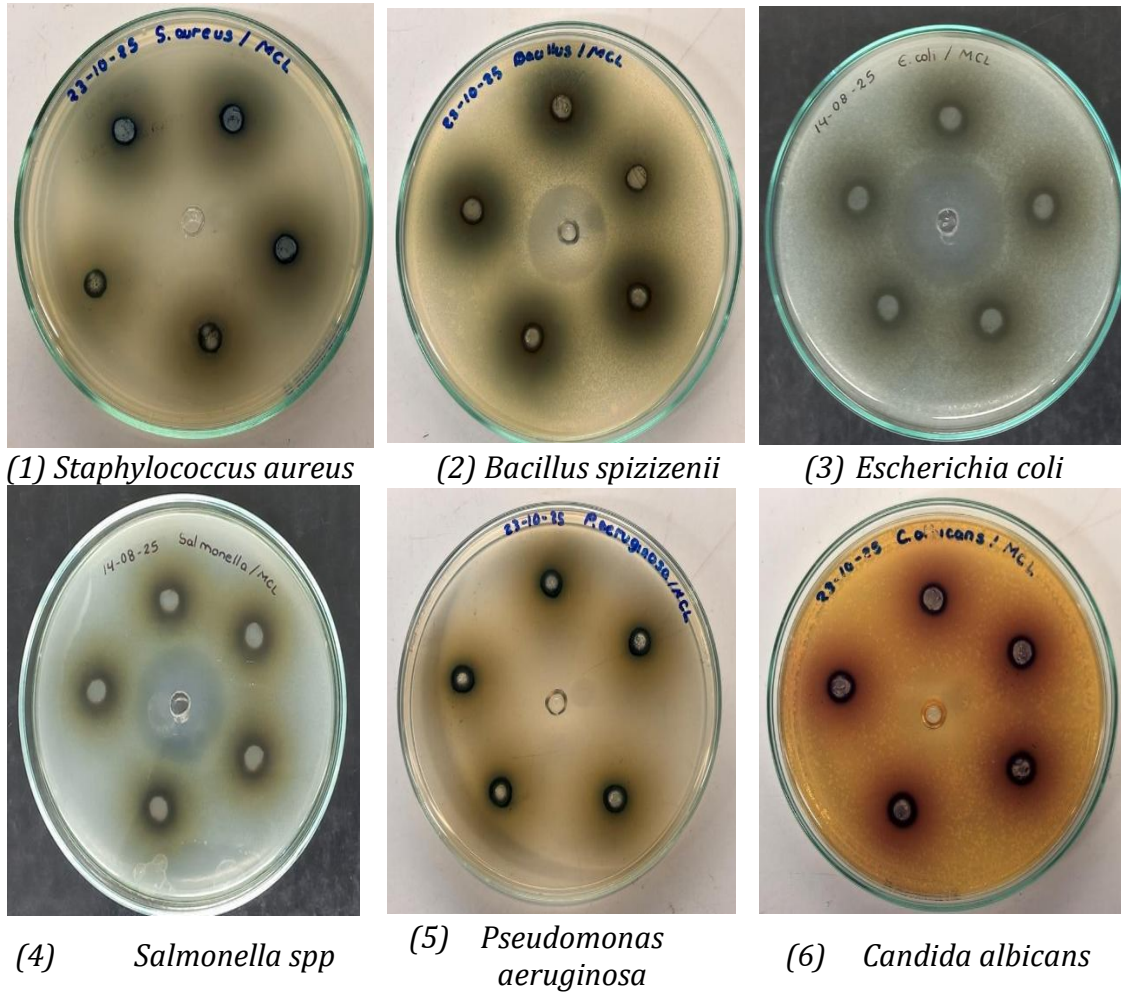


Se observa los halos de inhibición para *Staphylococcus aureus*, *Bacillus spizizenii*, *Escherichia coli*, *Salmonella spp*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Candida albicans* en muestras de macha macha *Pernettya prostrata* (Cav.) DC atomizado.

A continuación, mostramos los halos de inhibición de 6 cepas diferentes.

Figura 37

Halos de inhibición de las 6 cepas en función de las concentraciones de la muestra liofilizada

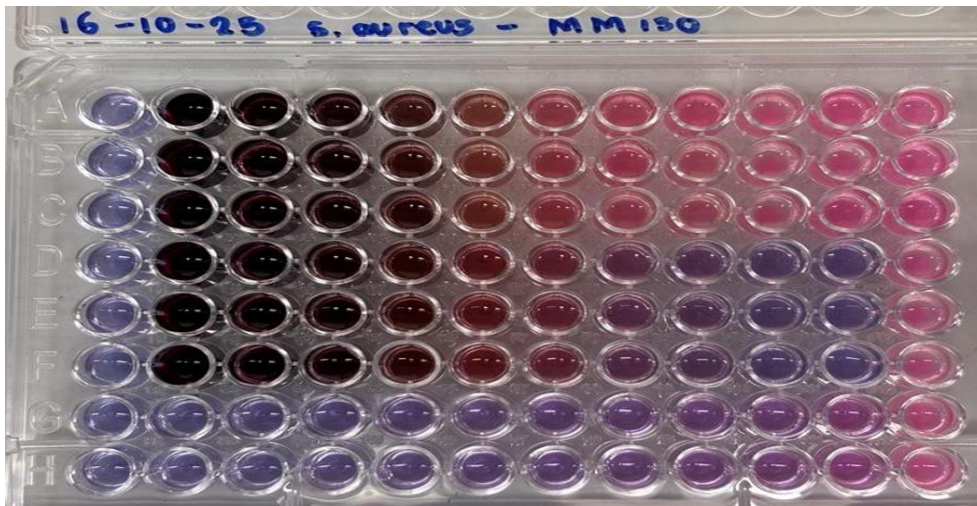


En las figuras 37 se observa los halos de inhibición para *Staphylococcus aureus*, *Bacillus spizizenii*, *Escherichia coli*, *Salmonella spp*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Candida albicans* en muestras de macha macha *Pernettya prostrata* (Cav.) DC liofilizado.

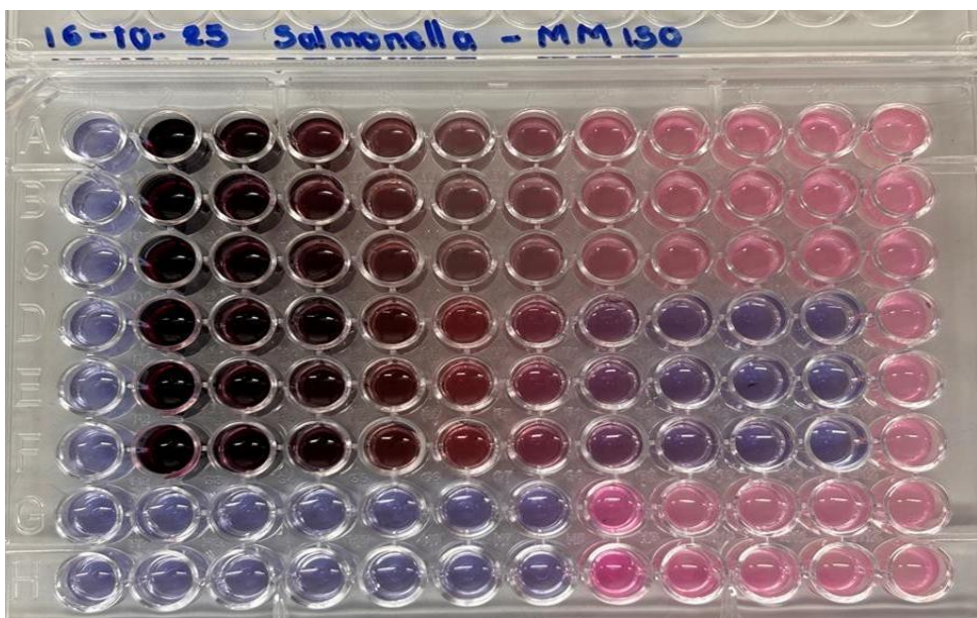
A continuación, se muestra las concentraciones para *Staphylococcus aureus* y *Salmonella spp.*

Figura 38

Concentración mínima inhibitoria para *Staphylococcus aureus* y *Salmonella spp* en muestra atomizada



(a) *Staphylococcus aureus*



(b) *Salmonella spp.*

En la figura 38 se observa los resultados de la concentración mínima inhibitoria para *Staphylococcus aureus* y *Salmonella spp.* usando como muestra el extracto microencapsulado atomizado de macha macha *Pernettya prostrata* (Cav.) DC a 150°C

con 5% de maltodextrina, donde identificó la concentración más baja que inhibe totalmente el crecimiento microbiano, se mide con microdiluciones en caldo con resazurina.

Para *Staphylococcus aureus*, desde el pozo 4, el color vira a violeta pálido o azul, se detuvo el crecimiento, es aquí donde comienza la inhibición completa, indicando una buena actividad contra esta bacteria. La CMI de ciprofloxacino se da en el pozo 7, siendo más diluido.

En *Salmonella spp*, desde el pozo 3 el color violeta pálido se mantiene, indicando inhibición, lo que puede afirmar, que esta muestra presenta compuestos con buena penetración a través de la membrana externa o con mecanismos de acción. Estos evaden la barrera de la membrana externa lipopolisacárido que están presentes en la bacteria *Salmonella* que actúa como barrera de permeabilidad (Nazzaro et al., 2013).

Tabla 28

Resultados de la concentración mínima inhibitoria para Staphylococcus aureus y Salmonella spp en el extracto microencapsulado atomizado de macha macha.

Microorganismo	CMI (N° pozo)	CMI (mg/mL)	Tipo de bacteria
Staphylococcus aureus	4	12,5	Gram positiva
Salmonella spp.	3	25,0	Gram negativa

En la tabla 28, se observa los resultados de CMI del extracto microencapsulado atomizado de macha macha muestran una concentración mínima inhibitoria (CMI) de 12,5 mg/mL frente a *Staphylococcus aureus* y de 25,0 mg/mL frente a *Salmonella spp*. Estos resultados reflejan una mayor sensibilidad de la cepa Gram positiva (*S. aureus*), lo cual concuerda con diversos estudios que señalan que las bacterias Gram positivas suelen ser más susceptibles a los metabolitos fenólicos y antocianinas presentes en extractos de berries o especies del género *Vaccinium* (Cissé et al., 2011; Puupponen et al., 2001). Estudios reportaron en especies del género *Vaccinium* valores de CMI similares o inferiores frente a *S. aureus*, se atribuyen a la alta concentración de antocianinas monoméricas, flavonoides y ácidos fenólicos, compuestos responsables de alterar la integridad de la membrana celular bacteriana y generar fuga de componentes intracelulares (Puupponen et al., 2001; Lacombe et al., 2010).

En la siguiente tabla se presenta los resultados de los halos respecto a las muestra atomizada y liofilizada.

Tabla 29

Resultados de los halos promedio de la muestra liofilizada y en el extracto micro encapsulado por atomización de macha macha (*Pernettya prostrata* (Cav.) DC en las 6 cepas

Clasificación	cepas	<i>Pernettya prostrata</i> (Cav.) DC atomizado		<i>Pernettya prostrata</i> (Cav.) DC liofilizado	
		Control estándar (ciprofloxacino)	Halos Prom. (mm)	Control estándar (ciprofloxacino)	Halos Prom. (mm)
Gram positiva	<i>Staphylococcus aureus</i>	11,66	12,04 ± 0,26	11,46	12,84 ± 0,15
	<i>Bacillus spizizenii</i>	20,74	8,17 ± 0,36	20,90	7,33 ± 0,41
Gram negativa	<i>Escherichia coli</i>	24,23	10,03 ± 0,26	21,55	8,89 ± 0,26
	<i>Salmonella spp.</i>	23,48	9,56 ± 0,41	22,03	8,41 ± 0,19
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	15,37	9,33 ± 0,28	-	8,61 ± 0,23
		Control estándar (clotrimazol)	Halos Prom. (mm)	Control estándar (clotrimazol)	Halos Prom. (mm)
Levadura (Eucariota)	<i>Candida albicans</i>	12,72	0,0	11,94	0,00

La tabla 29, muestra los halos promedio expresado en mm; en el caso de las Gram positivas, *Staphylococcus aureus* fue la cepa más sensible en ambos tratamientos, con halos de inhibición de 12,04 ± 0,26 mm para el extracto microencapsulado atomizado y 12,84 ± 0,15 mm en la muestra liofilizada; este último resultado superó al halo control que fue de 11,46 mm, indicando un efecto antimicrobiano muy notable. A diferencia de *Bacillus spizizenii*, que dió como resultado halos más reducidos de 8,17 ± 0,36 mm para atomizado y 7,33 ± 0,41 mm en liofilizado, estando muy por debajo del control (20.74–20.90 mm). Esto podría atribuirse a su capacidad de formar esporas o a una menor susceptibilidad intrínseca.

En las Gram Negativas, *Escherichia coli* presentó halos de 10.03 ± 0.26 mm para el extracto microencapsulado atomizado y 8.89 ± 0.26 mm en atomizados, siendo ambos resultados menores a los controles estándar de ciprofloxacino. Así mismo *Salmonella spp.*, presentó valores de halos (9,56 ± 0,41 mm en liofilizado y 8,41 ± 0,19 en

atomizado) muy por debajo del control (22,03 - 23,48). En el caso de *Pseudomonas aeruginosa*, que es conocida por su alta resistencia, presentó halos de 9.33 ± 0.28 mm (atomizado) y 8.61 ± 0.23 mm (liofilizado) con control estándar de ciprofloxacino de 15,37 mm en el extracto microencapsulado atomizado y en el liofilizado no se reportó halo de control, evidenciando actividad inhibitoria resistente.

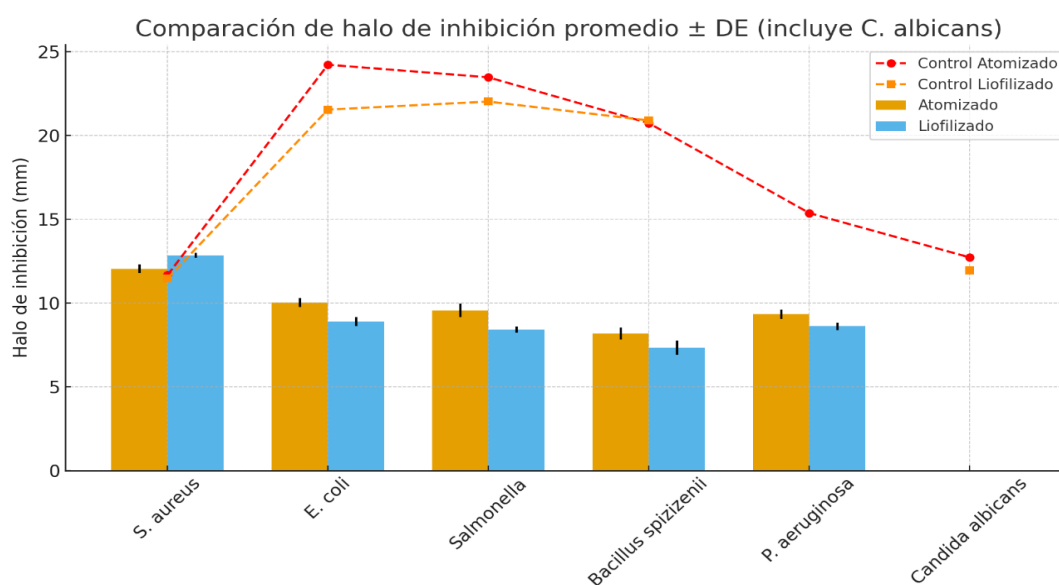
Las Gram negativas han mostrado mayores halos con la muestra de macha macha *Pernettya prostrata* (Cav.) DC atomizado, En general, las bacterias Gram negativas mostraron mayores halos con el extracto atomizado, lo que sugiere que el calor del proceso pudo favorecer la solubilización o activación de compuestos activos con afinidad por estas estructuras bacterianas más complejas.

En la levadura *Candida albicans*, en ambos tratamientos no se ha producido halos de inhibición, mientras que el control estándar positivo (clotrimazol) sí generó halos de 12.72 mm (atomizado) y 11.94 mm (liofilizado). Confirmando que las muestras carecen de actividad antifúngica que pueda detectarse frente a *Candida albicans*, en las condiciones que se hizo los ensayos.

A continuación, se presenta una comparación respecto a los halos de inhibición obtenidos.

Figura 39

Comparación de los halos de inhibición promedio en muestras del extracto microencapsulado por atomización y liofilizada macha macha (Pernettya prostrata (Cav.))



En la figura 39 muestra el gráfico de comparación de halos de inhibición promedio más la desviación estándar en las diferentes cepas con muestra atomizada y el extracto microencapsulado por atomización de macha macha (*Pernettya prostrata* (Cav.), así como los controles positivos de ciprofloxacino para bacterias y clotrimazol en el caso de la cepa candida albicans.

Ambas muestras de macha macha *Pernettya prostrata* (Cav.) DC, presentaron actividad antimicrobiana significativa frente a la bacteria *Staphylococcus aureus*, ya que influenciaron en la conservación de compuestos bioactivos, donde la muestra liofilizada mostró un halo mayor, debido a que este proceso preserva mejor los compuestos fenólicos sensibles al calor (Wilkowska et al., 2010), tal como salieron en nuestros resultados, altos valores para antocianinas monoméricas, fenoles totales y actividad antioxidante a diferencia de la muestra atomizada.

Varios estudios respaldan los resultados obtenidos de la actividad antimicrobiana significativa contra *Staphylococcus aureus*, por ejemplo, (Bolaños & Gutiérrez, 1999) informaron que el extracto de *P. prostrata* produjeron un halo de 12 mm frente a *S. aureus*, mientras que *Escherichia coli* no mostró inhibición. Esta presencia de actividad antimicrobiana indica que *S. aureus* es la cepa más sensible, con mayor susceptibilidad atribuyendo en parte a la ausencia de una membrana externa, lo que facilita la acción de compuestos antibacterianos polifenólicos sobre la pared celular frente a esta bacteria, confirmando que esto atribuye en parte a la ausencia de una membrana externa, esto facilita la acción de compuestos antibacterianos polifenólicos sobre la pared celular (Guevara et al., 2022) menciona que en especies de la familia Ericaceae, como el mortiño (*Vaccinium floribundum*), han demostrado una diferencia actividad antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus*, con halos de hasta aproximado 16 mm en ensayos de difusión agar. Del mismo modo, investigaciones en especies afines como *Pernettya prostrata* (Cav.) DC (mortiño) han reportado una inhibición destacable de *S. aureus*. Llivisaca et al. (2019) describieron que extractos hidroalcohólicos del mortiño presentaron zonas de inhibición significativas frente a *S. aureus*, relacionando esta respuesta con un alto contenido de fenoles (229.81 mg GAE/100 g) y antocianinas (hasta 16.04 mg C3G/100 g). De igual forma, Guevara et al. (2022) demostraron que el extracto etanólico de *V. floribundum* recolectado a mayores altitudes y en etapas avanzadas de madurez presentó una MIC de 1.3 mg/mL frente a *S. aureus*, atribuyendo este efecto a una mayor acumulación de antocianinas del tipo cianidina-3-glucósido.

En especies de la familia Ericaceae Rincón-Aguilar et al. (2014) v *Staphylococcus aureus*, lo que mm evidencia la presencia de metabolitos secundarios con potencial bioactivo. Este resultado coincide con la tendencia observada en otras especies de la familia Ericaceae, caracterizadas por su alto contenido de compuestos fenólicos y antocianinas con capacidad inhibitoria frente a bacterias Gram-positivas.

Ordóñez et al. (2023) evaluaron extractos metanólicos de *P. prostrata* frente a fitopatógenos como *Ralstonia solanacearum* y *Phytophthora infestans*, observando una inhibición del 69.25 % a 45 mg/mL y una concentración mínima inhibitoria (MIC) de 22.5 mg/mL. Aunque su estudio no incluyó *S. aureus*, los autores atribuyeron la actividad antimicrobiana a la presencia de flavonoides, taninos y antocianinas, lo cual respalda el mecanismo de acción propuesto en este trabajo.

Estos hallazgos coinciden con la hipótesis de que la actividad antimicrobiana frente a *S. aureus* en frutos andinos está directamente asociada a la concentración de compuestos fenólicos y pigmentos antioxidantes, los cuales pueden alterar la permeabilidad de la membrana bacteriana o desnaturalizar proteínas de superficie (Cushnie & Lamb, 2011).

Por otra parte, Maldonado Rodríguez et al. (2023) reportaron una inhibición similar del crecimiento de *S. aureus* y *E. coli* mediante extractos de *V. floribundum* en infecciones urinarias, destacando un efecto mayor en las bacterias Gram-positivas. Este comportamiento concuerda con los resultados obtenidos en *P. prostrata*, donde la sensibilidad de *S. aureus* podría estar asociada a su pared celular rica en peptidoglicano, más susceptible a la acción de compuestos fenólicos que las bacterias Gram-negativas.

En conjunto, estos antecedentes permiten afirmar que la actividad antimicrobiana significativa observada en *P. prostrata* frente a *S. aureus* es consistente con el comportamiento de otras Ericáceas andinas como *V. floribundum*. Dado que no se han reportado estudios previos de *P. prostrata* frente a bacterias humanas, el presente resultado constituye un aporte original que amplía el conocimiento sobre el potencial antimicrobiano de esta especie nativa y sugiere la posibilidad de aprovechar sus compuestos bioactivos en formulaciones alimentarias o farmacéuticas naturales.

3.9. Determinación de la toxicidad en el extracto microencapsulado atomizado y frutos liofilizados de macha macha (*Pernettya Prostrata (cav.) Dc*)

Se determinó la toxicidad mediante el método artemia salina en la muestra atomizada a 150°C con 5% de maltodextrina y la muestra liofilizada.

Tabla 30

Resultados del % de Mortalidad de los nauplios en en el extracto microencapsulado por atomización macha macha (Pernettya prostrata (Cav.) DC

Concentración (µg/mL)	Total de nauplios trabajados en cada repetición	% Mortalidad
0	10	0,0 % ± 0,00
1	10	3,3 % ± 0,87
10	10	6,7 % ± 0,15
100	10	10,0 % ± 0,27
500	10	23,3 % ± 0,74
1000	10	46,7 % ± 0,49

En la tabla 30, se tiene el porcentaje de mortalidad promedio (03 repeticiones) de los nauplios a diferentes concentraciones de ug/mL, que fueron evaluadas con muestra atomizada de macha macha *Pernettya prostrata (Cav.) DC*, *secada a 150°C y 5% de maltodextrina*.

Tabla 31

Resultados del % de Mortalidad de los nauplios en frutos liofilizados de Pernettya prostrata (Cav.) DC

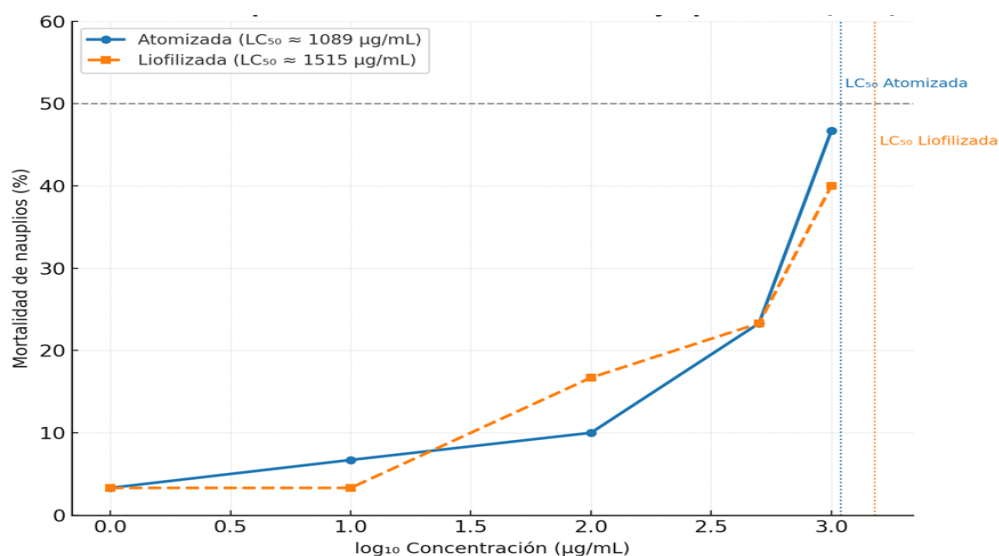
Concentración (µg/mL)	Total de nauplios trabajados en cada repetición	% Mortalidad
0	10	0,0 % ± 0,00
1	10	3,3 % ± 1,01
10	10	3,3 % ± 0,76
100	10	16,7 % ± 0,49
500	10	23,3 % ± 0,82
1000	10	40,0 % ± 1,84

En la tabla 31, se tiene el porcentaje de mortalidad de los nauplios a diferentes concentraciones de ug/mL, que fueron evaluadas con muestra liofilizada de macha macha *Pernettya prostrata (Cav.) DC*, trabajando por triplicado.

La figura 40 muestra como la concentración ($\mu\text{g/mL}$) a medida que va aumentando, también asciende la mortalidad de los nauplios en ambas muestras, lo que demuestra que hay presencia de actividad biológica.

Figura 40

*Diagrama de dosis-respuesta del extracto microencapsulado por atomización y frutos liofilizados de macha macha (*Pernettya prostrata* (Cav.) DC*



La línea azul representa a la muestra atomizada que va de 3.3% con $1 \mu\text{g/mL}$ a 46,7 % con $1000 \mu\text{g/mL}$, donde la concentración letal media (LC_{50}) fue de $1\,089 \mu\text{g/mL}$, quiere decir que a esa concentración el 50% de los organismos mueren. Presenta pendiente pronunciada hacia las concentraciones altas, demostrando que mayor actividad que daña a las células (actividad citotóxica).

La línea naranja representa a la muestra liofilizada que va de 3.3% con $1 \mu\text{g/mL}$ a 40 % con $1\,000 \mu\text{g/mL}$, donde la concentración letal media (LC_{50}) fue de $1\,515 \mu\text{g/mL}$, evidenciando que presenta menor toxicidad a diferencia del liofilizado.

Tabla 32

*Resultados del % de Mortalidad de los nauplios en el extracto microencapsulado por atomización Y frutos liofilizados de macha macha (*Pernettya prostrata* (Cav.) DC*

Muestra	Concentración ($\mu\text{g/mL}$)	Mortalidad %	LC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)	Clasificación
atomizada	>1000	50	1,089	Baja toxicidad
liofilizada	>1000	50	1,515	Baja toxicidad

En la tabla 32, se tiene los resultados de ambas muestras analizadas, con CL₅₀ = 1,089 ug/mL para el extracto microencapsulado por atomización y CL₅₀ = 1,515 ug/mL en el liofilizado, siendo clasificados ambos con baja toxicidad, sin embargo, el liofilizado presenta un valor más bajo, lo que respalda que este proceso permite una mayor conservación de los metabolitos termo-sensibles sin que se produzca una degradación o transformación (Ratti, 2001). Por el contrario, en el proceso de atomización, la temperatura de entrada que fue a 150°C, puede llegar a favorecer reacciones de oxidación o formación de productos intermedios térmicos, que pueden alterar la estructura de algunos compuestos fenólicos, que hace incrementar de manera leve la actividad biológica (Tonon et al., 2010). Resultados similares se reportaron por (Morales et al., 2019), en frutos andinos ricos en antocianinas, siendo LC₅₀ superior a 1000 µg/mL.

Sin embargo, el nivel de toxicidad en ambos es bajo, por lo que, ambos procesos de conservación de los frutos de macha macha *Pernettya prostrata* (Cav.) DC, son técnicas bastante viables para la conservación de las propiedades sin llegar a comprometer la inocuidad en el alimento.

Los efectos que aducen al consumir este fruto en exceso, son malestares muy parecidos a los ocasionados por ingerir cantidades altas de bebidas alcohólicas; se puede deber a una alteración temporal del metabolito hepático, neurológico o gastrointestinal debido a las concentraciones de antocianinas y taninos que presentan estos frutos, siendo los responsables de reducir la absorción de minerales (hierro, zinc), alterando la microbiota intestinal, provocando un estrés metabólico transitorio, muy similar al que ocurre después de ingerir alcohol (Wu et al., 2006).

CONCLUSIONES

- Los frutos liofilizados y el extracto microencapsulado por atomización de Macha Macha (*Pernettya prostrata* (Cav.) DC) en estado de madurez presentan un contenido elevado de antocianinas monoméricas y compuestos fenólicos, además de una actividad antioxidante moderada, una actividad antimicrobiana significativa frente a *Staphylococcus aureus* y baja toxicidad.
- Las condiciones óptimas para la extracción de antocianinas monoméricas y compuestos fenólicos de los frutos de Macha Macha se lograron utilizando etanol al 70% y una relación solvente/muestra de 3:1, condiciones que favorecieron la recuperación de compuestos bioactivos.
- Se identificaron un total de 6 antocianinas monoméricas: Delfinidina-3-rutinósido, Delfinidina-3-glucósido, Cianidina-3-glucósido, Petunidina-3-rutinósido, Malvidina-3-glucósido y Peonidina-3-glucósido. El contenido de antocianinas monoméricas en los frutos liofilizados y en el extracto microencapsulado por atomización fue de 39,047 mg/g y 27,380 mg/g, respectivamente, determinados mediante el método de pH diferencial.
- El contenido de fenoles totales en los frutos liofilizados y en el extracto microencapsulado fue de 43,753 mg GAE/g y 31,651 mg GAE/g, respectivamente, determinados por el método de Folin-Ciocalteu.
- El extracto microencapsulado por atomización de Macha Macha mostró un potencial antioxidante óptimo de 61,17% (a 1000 µg/mL), determinado mediante el método DPPH, lo que evidencia su capacidad para actuar como agente captador de radicales libres.
- Tanto el fruto liofilizado como el extracto microencapsulado presentaron actividad antimicrobiana, evaluada mediante el método modificado de difusión en pozo en agar, siendo más efectiva frente a *Staphylococcus aureus*, mientras que la inhibición frente a *Bacillus spizizenii*, *Escherichia coli*, *Salmonella spp.*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Candida albicans* fue menor.
- La evaluación de toxicidad por el método de Artemia salina mostró que los frutos liofilizados y el extracto microencapsulado por atomización presentan baja toxicidad, con valores de 1,089 µg/mL y 1,515 µg/mL, respectivamente, lo que sugiere su potencial seguridad para aplicaciones alimentarias y farmacéuticas.

RECOMENDACIONES

- Se recomienda profundizar en la caracterización química integral de los frutos de Macha Macha (*Pernettya prostrata* (Cav.) DC), incluyendo la identificación del perfil de antocianinas, taninos y ácidos fenólicos. Este análisis permitirá establecer relaciones más precisas entre la composición polifenólica del fruto y su actividad antimicrobiana, contribuyendo a comprender los mecanismos de acción de sus compuestos bioactivos.
- Considerando la baja toxicidad observada en los extractos y frutos de Macha Macha, se sugiere llevar a cabo estudios específicos sobre las semillas, ya que podrían ser las responsables de los malestares reportados por el consumo excesivo del fruto. Este análisis permitiría determinar su seguridad y establecer recomendaciones adecuadas para su uso en alimentos o productos nutracéuticos.
- Utilizar otras metodologías de investigación para poder determinar con exactitud que componente y/o componentes pueden ser tóxicos en los frutos de Macha Macha.

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

- Alara, O. R., Abdurahman, N. H., & Ukaegbu, C. I. (2021). Extraction of phenolic compounds: A review. *Current research in food science*, 4, 200-214.
- Alben, K. T. (2002). *Books and Software: Design, analyze, and optimize with Design-Expert*.
- Aronés Jara, M. R., Cárdenas Landeo, E., Godoy Bautista, K., Ortiz Pérez, E. A., Paniagua Segovia, J. C., Luna Molero, H. R., Barbarán Vilcatoma, S. M., Gómez Quispe, M., Conislla Cáceres, E. E., Paniagua Segovia, J. J., Rashid, A., & Aurora Prado, M. S. (2024). UHPLC-MS/MS chemical profiling, preliminary toxicity, in vitro antioxidant potential and antimicrobial activity of *Brachyotum naudinii* Triana flowers. *Journal of Taibah University for Science*, 18(1), 2398230. <https://doi.org/10.1080/16583655.2024.2398230>
- Azmir, J., Zaidul, I. S. M., Rahman, M. M., Sharif, K. M., Mohamed, A., Sahena, F., Jahurul, M. H. A., Ghafoor, K., Norulaini, N. A. N., & Omar, A. K. M. (2013). Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. *Journal of Food Engineering*, 117(4), 426–436. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2013.01.014>
- Azwanida, N. N. (2015). A review on the extraction methods used in medicinal plants, principle, strength and limitation. *Medicinal & Aromatic Plants*, 4(3), 196.
- Baenas, N., Ruales, J., Moreno, D. A., et al. (2020). *Characterization of Andean blueberry in bioactive compounds, evaluation of biological properties, and in vitro bioaccessibility*. *Foods*, 9(10), 1483. <https://doi.org/10.3390/foods9101483>
- Baldeón, S., Valarezo, E., & Rojas, S. (2020). *Morphological and physicochemical characterization of Vaccinium floribundum from the Ecuadorian highlands*. *Scientia Agropecuaria*, 11(4), 437–445.
- Barros, L., Dueñas, M., Carvalho, A. M., Ferreira, I. C. F. R., & Santos-Buelga, C. (2013). Characterization of phenolic compounds in *Gaultheria procumbens* L. (Ericaceae) by HPLC–DAD–ESI/MS. *Phytochemical Analysis*, 24(5), 481–490.
- Brako, L., & Zarucchi, J. L. (1993). *Catalogue of the Flowering Plants and Gymnosperms of Peru*. Missouri Botanical Garden.

- Buitrago, C., Quijano-Avilés, M., & Suárez, L. (2020). Effect of drying and maturity on the antioxidant properties of the blueberry *Vaccinium floribundum* Kunth from the Ecuadorian moorland. *Scientia Agropecuaria*, 11(3), 381–391. <https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2020.03.09>
- Brouillard, R. (1982). Chemical structure of anthocyanins. In P. Markakis (Ed.), *Anthocyanins as food colors* (pp. 1–40). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-472550-8.50006-9>
- Caliskan, G., & Dirim, S. N. (2016). The effect of different drying processes and the amounts of maltodextrin addition on the powder properties of sumac extract powders. *Powder Technology*, 287, 308–314. <https://doi.org/10.1016/j.powtec.2015.10.022>
- Cabrera, G., Vásquez, R., & Ruales, J. (2019). Characterization of wild Andean berries and their antioxidant potential. *Food Research International*, 121, 865–872.
- Cacace, J. E., & Mazza, G. (2003). *Mass transfer process during extraction of phenolic compounds from milled berries*. *Journal of Food Engineering*, 59(4), 379–389. [https://doi.org/10.1016/S0260-8774\(02\)00497-1](https://doi.org/10.1016/S0260-8774(02)00497-1)
- Cai, Y. z., & Corke, H. (2000). Production and Properties of Spray-dried Amaranthus Betacyanin Pigments. *Journal of Food Science*, 65(7), 1248-1252. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2000.tb10273>.
- Calín-Sánchez, Á., Lipan, L., Cano-Lamadrid, M., Kharaghani, A., Masztalerz, K., Carbonell-Barrachina, Á. A., & Figiel, A. (2020). Comparison of traditional and novel drying techniques and its effect on quality of fruits, vegetables and aromatic herbs. *Foods*, 9(9), 1261.
- Caranqui-Aldaz, J. M., Muelas-Domingo, R., Hernández, F., & Martínez, R. (2022). Chemical composition and polyphenol compounds of *Vaccinium floribundum* Kunth (Ericaceae) from the volcano Chimborazo Páramo (Ecuador). *Horticulturae*, 8(10), 956.
- Castañeda-Ovando, A., Pacheco-Hernández, M. de L., Páez-Hernández, M. E., Rodríguez, J. A., & Galán-Vidal, C. A. (2009). *Chemical studies of anthocyanins: A review*. *Food Chemistry*, 113(4), 859–871. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.09.001>

- H., & Ukaegbu, C. I. (2021). Extraction of phenolic compounds: A review. *Current research in food science*, 4, 200-214.
- Cerrato, A., Piovesana, S., Aita, S. E., Cavaliere, C., Felletti, S., Laganà, A., Montone, C. M., Vargas-de-la-Cruz, C., & Capriotti, A. L. (2022). Detailed investigation of the composition and transformations of phenolic compounds in fresh and fermented *Vaccinium floribundum* berry extracts by high-resolution mass spectrometry and bioinformatics. *Phytochemical Analysis*, 33(4), 507-516. <https://doi.org/10.1002/pca.3105>
- Cushnie, T. P. T., & Lamb, A. J. (2011). Recent advances in understanding the antibacterial properties of flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 38(2), 99-107. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2011.02.014>
- Cho, J. H., Kim, J. H., & Yoon, Y. H. (2012). *Grayanotoxin poisoning: "Mad honey disease" and beyond*. *Journal of Clinical Toxicology*, 2(6), 1–5.
- Cissé, M., Bohuon, P., Sambe, F., & Dornier, M. (2011). Thermal degradation kinetics of anthocyanins from *Hibiscus sabdariffa* extract. *Journal of Food Science*, 76(2), 103–108. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2010.02036.x>
- Ciurzyńska, A., & Lenart, A. (2011). *Influence of drying method on selected physical properties of dried apples*. *Drying Technology*, 29(4), 403–414.
- Coba, D., & Vásquez, J. (2012). *Physicochemical and antioxidant characterization of mortiño (Vaccinium floribundum Kunth) berries*. *Revista Científica Agroecosistemas*, 7(3), 45–52.
- Curinambe, L. F. M., Rodríguez, C. L. M., & Díaz-Ortega, J. L. (2024). ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE, CONTENIDO DE ANTOCIANINAS Y EFECTO ANTIINFLAMATORIO In Vitro DEL FRUTO DE *Vaccinium floribundum* KUNTH" PUSHGAY". *Interciencia*, 49(6), 371-376.
- Cushnie, T. P. T., & Lamb, A. J. (2011). Recent advances in understanding the antibacterial properties of flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 38(2), 99-107. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2011.02.014>
- Carrasco Sauñe, D. A. (2022). Determinación de antocianinas, polifenoles totales y capacidad antioxidante en frutos de *Pernettya prostrata* en diferentes estados

de conservación. Tesis de licenciatura, Universidad Nacional Micaela Bastidas de Apurímac. Repositorio Institucional UNAMBA.

Cahuana Quispe, C. (2025). Actividad antioxidante y polifenoles totales del extracto etanólico del fruto de *Pernettya prostrata* “macha-macha” (Tesis de licenciatura, Universidad Nacional San Luis Gonzaga de Ica). Repositorio Institucional UNICA. <https://hdl.handle.net/20.500.13028/6365>

Dai, J., & Mumper, R. J. (2010). Plant phenolics: Extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. *Molecules*, 15(10), 7313-7352.

Daniel, D. (2009). *Determinación de antocianinas, fenoles totales y actividad antioxidante en licores y fruto de mora*. Universidad tecnológica de la mixteca. http://jupiter.utm.mx/~tesis_dig/10876.pdf

Ersus, S., Yurdagel, U. (2007). Microencapsulación de pigmentos de antocianina de zanahoria negra (*Daucus carota* L.) mediante secado por aspersion. *Journal of Food Engineering* 80 (3), 805–812.

Esquivel, D., et al. (2020). Anthocyanin profile of Andean *Vaccinium* species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*.

Esteban Quinto, G. M. (2021). *Formulación De Una Bebida Funcional A Base De Macha Macha (Vaccinium Floribundum Kunth) Y Evaluación De La Capacidad Antioxidante*. <https://repositorio.unh.edu.pe/items/ebd56533-61c7-4c37-88aa-b6ea42ec3f5f>

Fang, Z., & Bhandari, B. (2010). Encapsulation of polyphenols – a review. *Trends in Food Science & Technology*, 21(10), 510-523. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2010.08.003>

F. de la Rosa Reyna, X., Garcia León, I., Hernández Mendoza, J., Morales Baquera, J., Quiroz Velásquez, J. D. C., F. de la Rosa Reyna, X., Garcia León, I., Hernández Mendoza, J., Morales Baquera, J., & Quiroz Velásquez, J. D. C. (2022). Antocianinas, propiedades funcionales y potenciales aplicaciones terapéuticas. *Revista Boliviana de Química*, 39(5), 1-9. <https://doi.org/10.34098/2078-3949.39.5.1>

García Martínez, E. M., Fernández Segovia, I., & Fuentes López, A. (2015). *Determinación de polifenoles totales por el método de Folin-Ciocalteu*.

- González, A. M., Presa, M. F., & Lurá, M. C. (2003). Ensayo de toxicidad a *Artemia salina*: Puesta a punto y aplicación a micotoxinas. *Revista Fabicib*, 7, 117-122.
- Guevara-Terán, M., Padilla-Arias, K., Beltrán-Novoa, A., González-Paramás, A. M., Giampieri, F., Battino, M., Vásquez-Castillo, W., Fernandez-Soto, P., Tejera, E., & Alvarez-Suarez, J. M. (2022b). Influence of Altitudes and Development Stages on the Chemical Composition, Antioxidant, and Antimicrobial Capacity of the Wild Andean Blueberry (*Vaccinium floribundum* Kunth). *Molecules*, 27(21), 7525. <https://doi.org/10.3390/molecules27217525>
- Giusti, M. M., & Wrolstad, R. E. (2001). *Anthocyanins. Characterization and measurement with UV-visible spectroscopy*. In R. E. Wrolstad (Ed.), *Current Protocols in Food Analytical Chemistry* (pp. F1.2.1–F1.2.13). John Wiley & Sons. <https://doi.org/10.1002/0471142913.faf0102s00>
- Guamán Poaquiza, E. J. (2022). *Evaluación de la actividad antioxidante y antimicrobiana de la hoja y fruto del mortiño (Vaccinium floribundum Kunth) frente a bacterias patógenas* (Tesis de Licenciatura). Universidad Técnica de Ambato. Repositorio UTA.
- Guzmán, S. P., & Castaño, J. J. (2002). *Secado por atomización del jugo de la caña de azúcar*.
- Gyawali, R., & Ibrahim, S. A. (2014). Natural products as antimicrobial agents. *Food Control*, 46, 412-429. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.05.047>
- He, J., & Giusti, M. M. (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>
- Hurtado, N. H., & Pérez, M. (2014). Identificación, estabilidad y actividad antioxidante de las antocianinas aisladas de la cáscara del fruto de capulí (*Prunus serotina* spp capuli (Cav) Mc. Vaug Cav). *Información tecnológica*, 25(4), 131-140.
- Inocente Pantoja, J. L. (2015). *Evaluación de la germinación de siete ecotipos de Capuli (prunus capulí) con dos fitohormonas en Huaraz-Ancash*.
- Kha, T. C., Nguyen, M. H., & Roach, P. D. (2010). *Effect of spray-drying conditions on the physicochemical and antioxidant properties of Gac (Momordica cochinchinensis) fruit powder*. *Journal of Food Engineering*, 98(3), 385–392.

- Khoo, H. E., Azlan, A., Tang, S. T., & Lim, S. M. (2017). Anthocyanidins and anthocyanins: colored pigments as food, pharmaceutical ingredients, and the potential health benefits. *Food & Nutrition Research*, 61(1), 1361779.
- Lacombe, A., Wu, V. C. H., Tyler, S., Edwards, K., & Glaze, S. (2010). Antimicrobial properties of blueberry and cranberry extracts toward foodborne pathogens and their application to control microbial growth on fresh produce. *Food Microbiology*, 27(6), 842–848. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2010.04.011>
- Lapornik, B., Prošek, M., & Wondra, A. G. (2005). *Comparison of extracts prepared from plant by-products using different solvents and extraction time*. *Journal of Food Engineering*, 71(2), 214–222. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2004.10.036>
- León, B. (2020). *Flora del Perú: biodiversidad y conservación*. Universidad Nacional Mayor de San Marcos
- Leos Rivas, C., Rivas-Morales, C., & Garcia-Hernandez, D. G. (2016). Actividad antioxidante y toxicidad. *OmniaScience monographs*.
- Lee, J., Durst, R. W., & Wrolstad, R. E. (2005). Determination of total monomeric anthocyanin pigment content of fruit juices, beverages, natural colorants, and wines by the pH differential method: Collaborative study (AOAC Official Method 2005.02). *Journal of AOAC International*, 88(5), 1269–1278. <https://doi.org/10.1093/jaoac/88.5.1269>
- Llimpe Perez, P. (2017). *Estudio del contenido de antocianinas y capacidad antioxidante del fruto de macha macha (Vaccinium floribundum kunth) durante la maduración*. <https://hdl.handle.net/20.500.14597/1694>
- Llvisaca, S., Manzano, P., Ruales, J., Flores, J., Mendoza, J., Peralta, E., & Cevallos-Cevallos, J. M. (2018). Chemical, antimicrobial, and molecular characterization of mortiño (*Vaccinium floribundum Kunth*) fruits and leaves. *Food Science & Nutrition*, 6(4), 934-942.
- Luteyn, J. L. (2002). Diversity, adaptation, and endemism in neotropical Ericaceae: Biogeographical patterns in the Vaccinieae. *The Botanical Review*, 68(1), 55-87. [https://doi.org/10.1663/00068101\(2002\)068%255B0055:DAAEIN%255D2.0.CO;2](https://doi.org/10.1663/00068101(2002)068%255B0055:DAAEIN%255D2.0.CO;2)

- Limaymanta, M., & Ramos, I. (2016). Extracción y cuantificación de antocianinas monoméricas totales del cultivo macha macha sp. Tesis para optar el título profesional de ingeniero, Universidad Nacional del Centro del Perú. Repositorio institucional. <http://hdl.handle.net/20.500.12894/4743>
- Martínez- Valverde, I., Periago, M. J., & Ros, G. (2000). Significado nutricional de los compuestos fenólicos de la dieta. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 50(1), 5-18.
- Masaquiza Jerez, I. M. (2018). *Evaluación de la actividad antimicrobiana y antioxidante de antocianinas microencapsuladas de maíz morado (Zea mays L.), papa morada (Solanum tuberosum L.) y mortiño (Vaccinium floribundum Kunth)* (Tesis de Pregrado). Universidad Técnica de Ambato. Repositorio UTA.
- Mezey, K. (1943). *Pernettya prostrata*: Var. *pentlandii*. *Revista de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia*, 12(83), 40-58.
- Montgomery, DC (2017) *Diseño y análisis de experimentos*, Arisona, Universidad Estatal. Novena edición, John Wiley & Sons, Nueva York, 640 págs. - Referencias—*Scientific Research Publishing*. (s. f.). Recuperado 16 de octubre de 2025, de https://www.scirp.org/reference/referencespapers?referenceid=2625248&utm_source=chatgpt.com
- Morales, J., Cuenca, M., & Ochoa, C. (2019). *Evaluation of cytotoxic and antioxidant activity of Andean berries*. *Journal of Applied Botany and Food Quality*, 92, 53–59.
- Mostacero, J., et al. (2021). *Plantas medicinales y comestibles del Perú andino-amazónico*. Universidad Nacional de Trujillo.
- Muñoz Jáuregui, A. M., Ramos-Escudero, F., Alvarado-Ortiz Ureta, C., Castañeda Castañeda, B., & Lizaraso Caparó, F. (2009). Evaluación de compuestos con actividad biológica en cáscara de camu camu (*Myrciaria dubia*), guinda (*Prunus serotina*), tomate de árbol (*Cyphomandra betacea*) y carambola (*Averrhoa carambola L.*) cultivadas en Perú. *Revista de la Sociedad Química del Perú*, 75(4), 431-438.

- Nazzaro, F., Fratianni, F., De Martino, L., Coppola, R., & De Feo, V. (2013). Effect of Essential Oils on Pathogenic Bacteria. *Pharmaceuticals*, 6(12), 1451-1474.
<https://doi.org/10.3390/ph6121451>
- Ortíz, M. A., Vargas, M. del C. R., Madinaveitia, R. G. C., & Velázquez, J. A. M. (2011). Propiedades funcionales de las antocianinas. *Biocencia*, 13(2), 16-22.
- Pervaiz, T., Songtao, J., Faghihi, F., Haider, M. S., & Fang, J. (2017). *Anthocyanins and their metabolites as therapeutic agents of cardiovascular disease: An update*. *Food & Function*, 8(12), 4528–4543.
<https://doi.org/10.1039/C7FO01231A>
- Pokorny, J., Yanishlieva, N., & Gordon, M. (2005). Antioxidantes de los alimentos. *Aplicaciones Prácticas*. (1ª. Ed.), España, Editorial Acribia.
- Prat, S. (2002). Prueba de susceptibilidad antimicrobiana por difusión en agar. *National Committee for Clinical Laboratory Standard (NCCLS)*, 1.
https://www.academia.edu/download/51297182/manual_susceptibilidad_ISP.pdf
- Puupponen-Pimiä, R., Nohynek, L., Meier, C., Kähkönen, M., Heinonen, M., Hopia, A., & Oksman-Caldentey, K.-M. (2001). Antimicrobial properties of phenolic compounds from berries. *Journal of Applied Microbiology*, 90(4), 494–507.
<https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.2001.01271.x>
- Prior, R. L., Wu, X., & Schaich, K. (2005). Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(10), 4290–4302.
<https://doi.org/10.1021/jf0502698>
- Quek, S. Y., Chok, N. K., & Swedlund, P. (2007). The physicochemical properties of spray-dried watermelon powders. *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*, 46(5), 386-392.
- Ramírez, L., Vera, L., & Torres, M. (2020). *Caracterización fisicoquímica y contenido fenólico de frutos silvestres andinos del género Pernettya*. *Revista de Ciencias Agropecuarias*, 37(2), 45–53.
- Ratti, C. (2001). Hot air and freeze-drying of high-value foods: A review. *Journal of food engineering*, 49(4), 311-319.

- Reyna, M., et al. (2022). Anthocyanins as natural colorants: stability, extraction, and applications in food systems. *Journal of Food Bioactives*, 17, 45–57.
- Rice-Evans, C. A., Miller, N. J., & Paganga, G. (1996). Structure–antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radical Biology and Medicine*, 20(7), 933–956.
- Ribeiro, F., & Stringheta, P. (2006). Microencapsulamento de antocianinas. *Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento*, 36, 18-24.
- Rincón Aguilar, M. A., Rojas González, I., & Salamanca Gutiérrez, J. C. (2014). *Actividad biológica y fitoquímica de extractos de Pernettya prostrata (Cav.) DC. Revista Colombiana de Química*, 43(1), 45–58.
- Rincón Aguilar, C. M., Patiño Ladino, O. J., Plazas González, E. A., Bulla Nieto, M. E., Rozo Torres, G., & Puyana Hegedus, M. (2014). Estudio químico preliminar y evaluación de la actividad antioxidante, antialimentaria y tóxica, de la especie *Pernettya prostrata* (Ericaceae). *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 19(2), 138-150.
- Rodríguez, C., Pacheco, F., & Quispe, D. (2021). *Evaluación de las propiedades fisicoquímicas y antioxidantes del fruto de macha macha (Pernettya prostrata (Cav.) DC.) en estado fresco y procesado. Revista Peruana de Biología Aplicada*, 28(1), 15–24.
- Rodríguez-Saona, L. E., & Wrolstad, R. E. (2001). *Extraction, isolation, and purification of anthocyanins*. In R. E. Wrolstad (Ed.), *Current Protocols in Food Analytical Chemistry* (pp. F1.1.1–F1.1.11). John Wiley & Sons.
<https://doi.org/10.1002/0471142913.faf0101s00>
- Rodríguez-Pérez, C., Gómez-Caravaca, A. M., Arráez-Román, D., & Segura-Carretero, A. (2015). Optimization of extraction of phenolic compounds from blueberry (*Vaccinium meridionale* Swartz) using response surface methodology. *Food Chemistry*, 177, 172–180. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.01.041>
- Rodríguez-Hernández, G., González-García, R., Grajales-Lagunes, A., & Ruiz-Cabrera, M. A. (2005). Spray drying of cactus pear juice (*Opuntia streptacantha*): Effect on the physicochemical properties of powder and reconstituted juice. *Drying Technology*, 23(4), 955–973.
<https://doi.org/10.1081/DRT-200054167>

- Romero-Saritama, J. M., & Cueva-Ojeda, D. N. (2020). Tamaño de semillas y germinación de *Pernettya prostrata* (Ericaceae): Una especie de páramo andino. *Caldasía*, 42(2), 326-329.
<https://doi.org/10.15446/caldasía.v42n2.77247>
- Rostagno, M. A., Palma, M., & Barroso, C. G. (2003). Ultrasound-assisted extraction of soy isoflavones. *Journal of Chromatography A*, 1012(2), 119-128.
- Ruilova, M. B., Niño Ruíz, Z., Arias Toro, D., & Sandoval Ruilova, P. (2022). *Effect of drying and maturity on the antioxidant properties of the Blueberry (Vaccinium floribundum Kurth) from the Ecuadorian Moorland and sensory evaluation of its infusion.*
- Rein, M. (2005). Copigmentation reactions and color stability of berry anthocyanins (Tesis de maestría). University of Helsinki.
- Silva, E., Rocha, A., & Pintado, M. (2018). *Freeze-drying of bilberry (Vaccinium myrtillus) and effect on anthocyanins and antioxidants.* *Drying Technology*, 36(12), 1519–1528.
- Surco Bellido, H. (2018). *Actividad antioxidante y contenido de compuestos fenólicos y flavonoides de Pernettya prostrata (Cav.) DC. "macha macha", Ayacucho 2018.*
<https://repositorio.unsch.edu.pe/items/05ee351b-8ca6-46c2-8419-4e8c51e288f6>
- Skrede, G., Wrolstad, R. E., & Lea, P. (2000). Color quality of bilberry juice and bilberry juice concentrates. *Journal of Food Science*, 65(3), 357–364.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2000.tb16013.x>
- Sun, Y., Liu, D., Chen, J., & Ye, X. (2021). Effects of drying methods on phytochemical compounds and antioxidant activity of blueberry. *LWT – Food Science and Technology*, 140, 110734. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110734>
- Taiz, L., & Zeiger, E. (2006). *Plant Physiology* (4th ed.). Sinauer Associates.
- Tena, N., Martín, J., Asuero, A. G., & Montoro, P. (2020). State of the art of anthocyanins: from extraction to analysis. *Molecules*, 25(24), 5531.
- Tonon, R. V., Brabet, C., & Hubinger, M. D. (2008). Influencia de las condiciones del proceso en las propiedades fisicoquímicas del polvo de açai (*Euterpe oleracea*

- Mart.) producido por secado por aspersión. *Journal of Food Engineering*, 88(3), 411-418. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2008.02.029>.
- Tonon, R. V., Brabet, C., & Hubinger, M. D. (2010). Influence of drying method on the physical and functional properties of açai (*Euterpe oleraceae* Mart.) powder. *Journal of Food Engineering*, 97(2), 127–134. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2009.09.019>
- Vasco, C., Riihinen, K., Ruales, J., & Kamal-Eldin, A. (2009). Chemical composition and phenolic compound profile of mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(18), 8274-8281.
- Valenzuela, J., Merino, S., & Bethy, L. (s. f.). *TRABAJO DE INVESTIGACIÓN PARA OPTAR EL GRADO DE BACHILLER EN FARMACIA Y BIOQUÍMICA*.
- Vasco, C., Ruales, J., & Kamal-Eldin, A. (2009). *Total phenolic compounds and antioxidant capacities of major fruits from Ecuador*. *Food Chemistry*, 115(3), 786–794.
- Vilcatoma Gavilán, E. P. (2025). Actividad antibacteriana del extracto optimizado de compuestos fenólicos de *Vaccinium floribundum* Kunth sobre bacterias causantes de enfermedades alimentarias (Tesis de Licenciatura). Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Repositorio UNSCH.
- Villalva, M., & Espinoza, R. (2024). *Evaluación de las propiedades fisicoquímicas del fruto de *Pernettya prostrata* (Cav.) DC*. Tesis de pregrado, Universidad Nacional de Huancavelica.
- Wallace, T. C., & Giusti, M. M. (2015). Anthocyanins. In J. W. Finley & R. J. Miller (Eds.), *Handbook of antioxidants for food preservation* (pp. 509–543). Woodhead Publishing.
- Wrolstad, R. E., & Culver, C. A. (2012). Alternatives to those artificial FD&C food colorants. *Annual Review of Food Science and Technology*, 3, 59–77. <https://doi.org/10.1146/annurev-food-022811-101118>
- Wilkowska, A., Ambroziak, W., Czyżowska, A., & Adamiec, J. (s. f.). *Effect of Microencapsulation by Spray Drying and Freeze Drying Technique on the Antioxidant Properties of Blueberry (*Vaccinium myrtillus*) Juice Polyphenolic Compounds*. <https://doi.org/10.1515/pjfn-2015-0015>

Wu, X., Beecher, G. R., Holden, J. M., Haytowitz, D. B., Gebhardt, S. E., & Prior, R. L. (2006). Concentrations of anthocyanins in common foods in the United States and estimation of normal consumption. *Journal of agricultural and food chemistry*, 54(11), 4069-4075.

Zapata, L. M. (2014). *Obtención de extracto de antocianinas a partir de arándanos para ser utilizado como antioxidante y colorante en la industria alimentaria (Doctoral dissertation, Universitat Politècnica de València)*.

ANEXOS

Anexo 1

Análisis botánico de la planta de macha macha (*Pernettya prostrata* (Cav.) DC)



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
(Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA)
MUSEO DE HISTORIA NATURAL



“Año de la Recuperación y Consolidación de la Economía Peruana”

CONSTANCIA N° 279-USM-MHN-2025

LA JEFA DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM) DEL MUSEO DE HISTORIA NATURAL, DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS, DEJA CONSTANCIA QUE:

La muestra vegetal (fértil) recibida de **Fiorela Pacheco Espinoza**, estudiante de pregrado de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga ha sido estudiada y clasificada como: *Pernettya prostrata* (Cav.) DC. y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación APG IV (2016).

ORDEN : Ericales Bercht. & J. Presl

FAMILIA : Ericaceae Juss.

GÉNERO : *Pernettya* Gaudich.

ESPECIE : *Pernettya prostrata* (Cav.) DC.

Nombre vulgar: “Macha macha”

Procedencia: Anexo Nueva Esperanza, Quinua, Huamanga, Ayacucho

Determinado por: Bach. Julio Torres.

Se extiende la presente constancia a solicitud de la parte interesada, para los fines que estime conveniente.

Lima, 25 de agosto de 2025

Dra. Joaquina Albán Castillo

JEFA DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)

Anexo 2

Ficha técnica de la maltodextrina utilizada

XIWANG INTERNATIONAL TRADE CO.,LTD.

HANDIAN TOWN,ZOUPING COUNTY,SHANDONG,CHINA

CERTIFICATE OF ANALYSIS

Commodity: MALTODEXTRIN DE10-12

Batch No	XIWANG2024-02	Inspection Standard	GB/T20882. 6-2021	Quantity: 56mt
Manufacture Date	2024.07.31	Expiry date	2026.07.30	sample drawer
				Du Zhi Xue
Serial Number	Item	Standard		Inspection Result
1	Appearance	White powder of with little yellow shadow has no fixed shape		pass
2	Smell	It has special smell of Malt-dextrin and no exceptional smell		pass
3	Taste	Sweetness or little sweetness, no other taste		pass
4	Moisture%	≤6.0		5.7
5	PH(in 50% water solution)	4.0-7.0		5.0
6	Iodine reaction	No blue reaction		pass
7	De-equivalent,%	10-12		12.00
8	Sulphated Ash%	≤0.6		0.30
9	Total Solid (Solubility)%	≥98.0		99.60
10	pathogenic Bacterium	not exist		pass
11	E-Coliforms, unit/100g	30Max		<30
12	Salmonella	Not exist		pass
13	Yeast, unit/g	150Max		10
14	Mould, unit/g	150max		10
15	Arsenic,mg/kg	≤0.5		pass
16	Lead, mg/kg	≤0.5		pass
17	Total plate count,cfu/g	≤3000		20
18	Packing	in 25 kg Plastic woven paper bags		
19	Storage	Kept in dry, cool and ventilated place		
20	Shelf-life	24 Moths Min.		
Remarks	MADE IN CHINA			



Anexo 3

Caracterización física de los frutos de macha macha (Pernettya prostrata (Cav.) DC)



Anexo 4

Selección de frutos de macha macha (Pernettya prostrata (Cav.) DC)



Anexo 5

Pesado de frutos de macha macha (Pernettya prostrata (Cav.) DC) antes de poner al equipo liofilizador



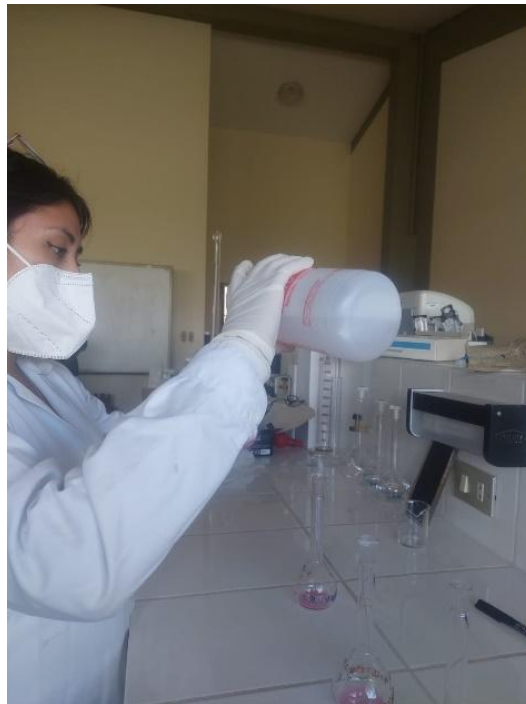
Anexo 6

Frutos de macha macha (Pernettya prostrata (Cav.) DC) en proceso de liofilización



Anexo 7

Extracción de antocianinas etanol al 70%



Anexo 8

Filtrado de muestras, para analizar el contenido de antocianinas monoméricas



Anexo 9

Extracción de muestra con la micropipeta para análisis



Anexo 10

Dilución de las muestras de macha macha



Anexo 11

Colocación de las cubetas en el espectrofotómetro para poder hacer las lecturas de absorbancias



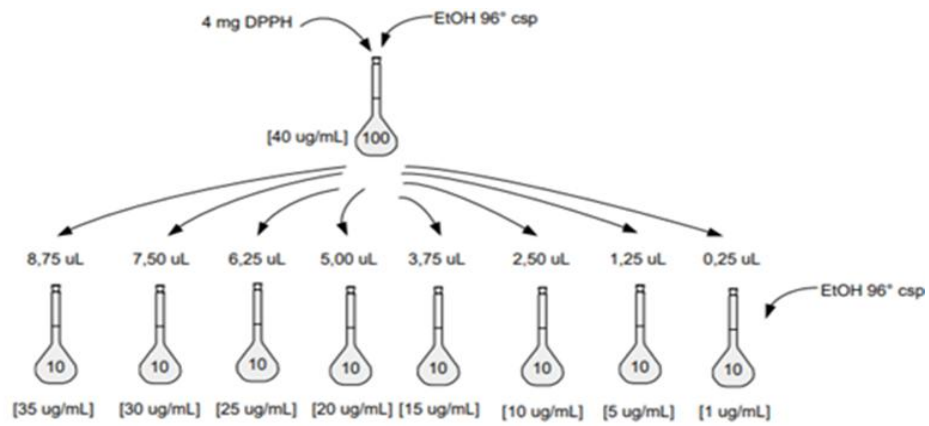
Anexo 12

Lectura de las absorbancias



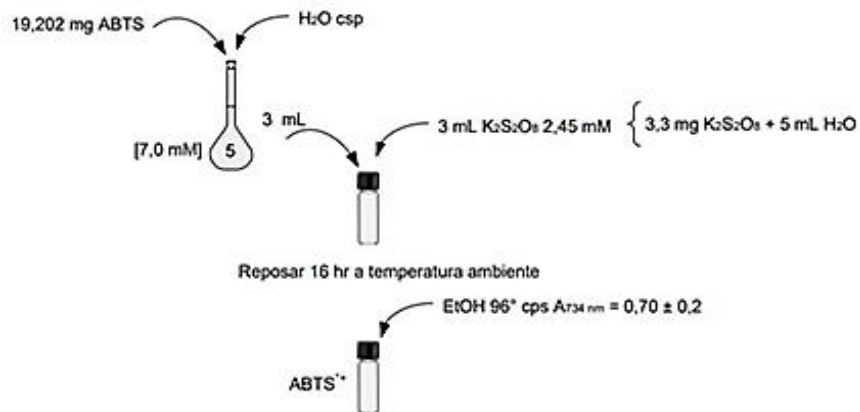
Anexo 13

Diagrama de la preparación de la curva de calibración de DPPH



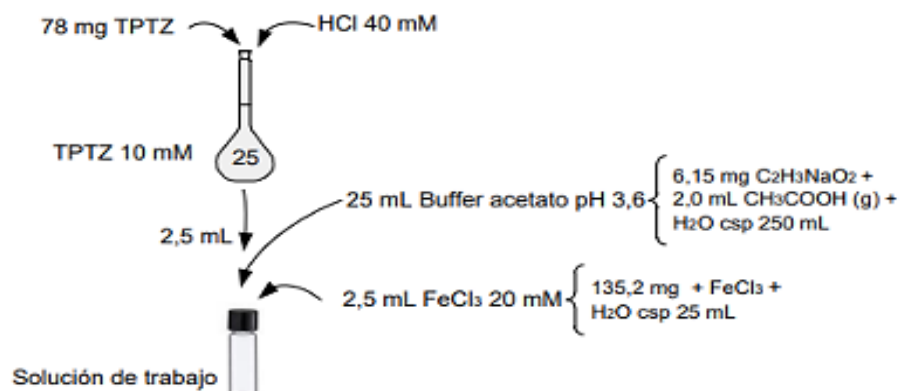
Anexo 14

Diagrama de la preparación del reactivo ABTS 7Mm



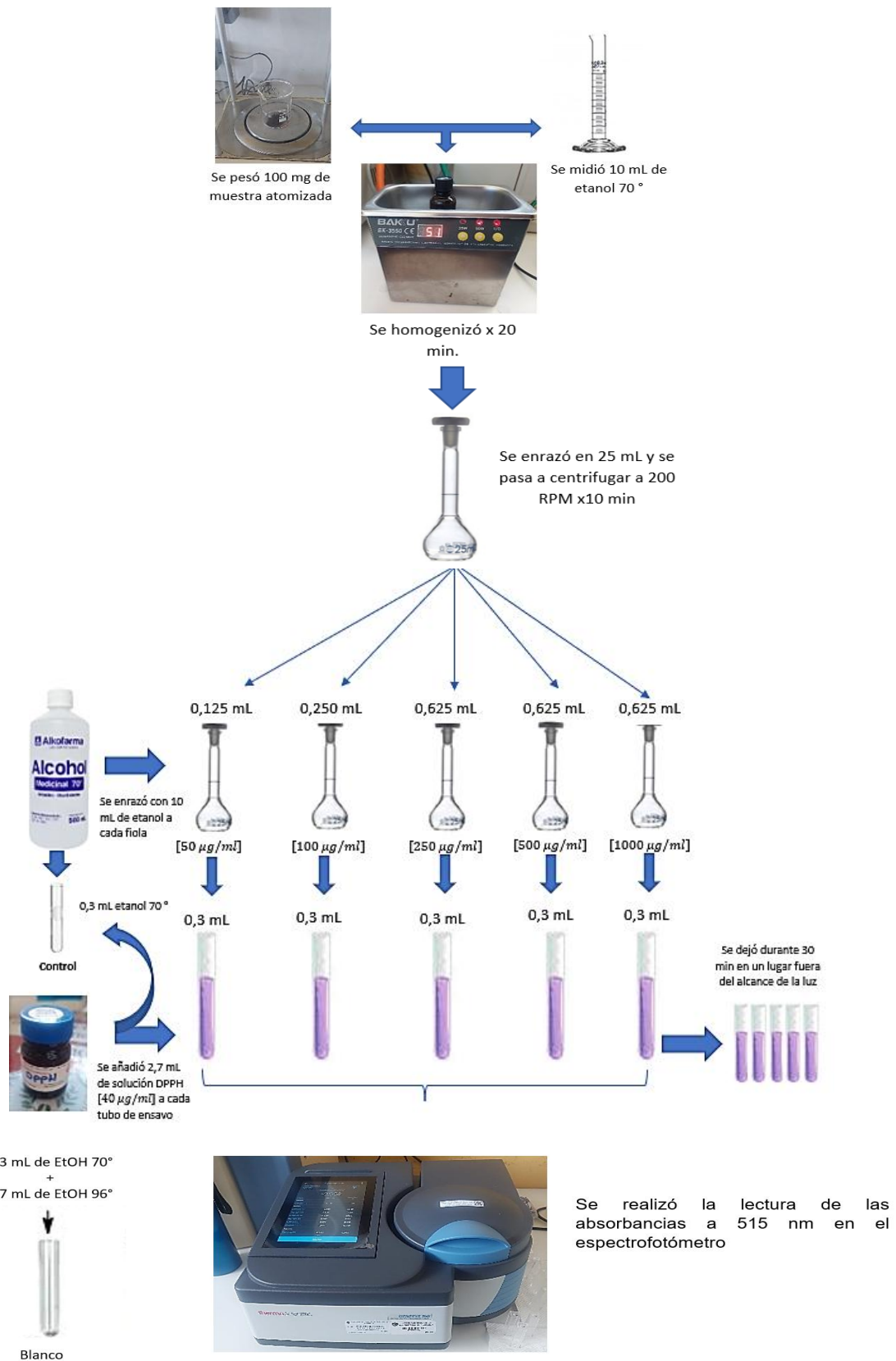
Anexo 15

Diagrama de la preparación del reactivo FRAP



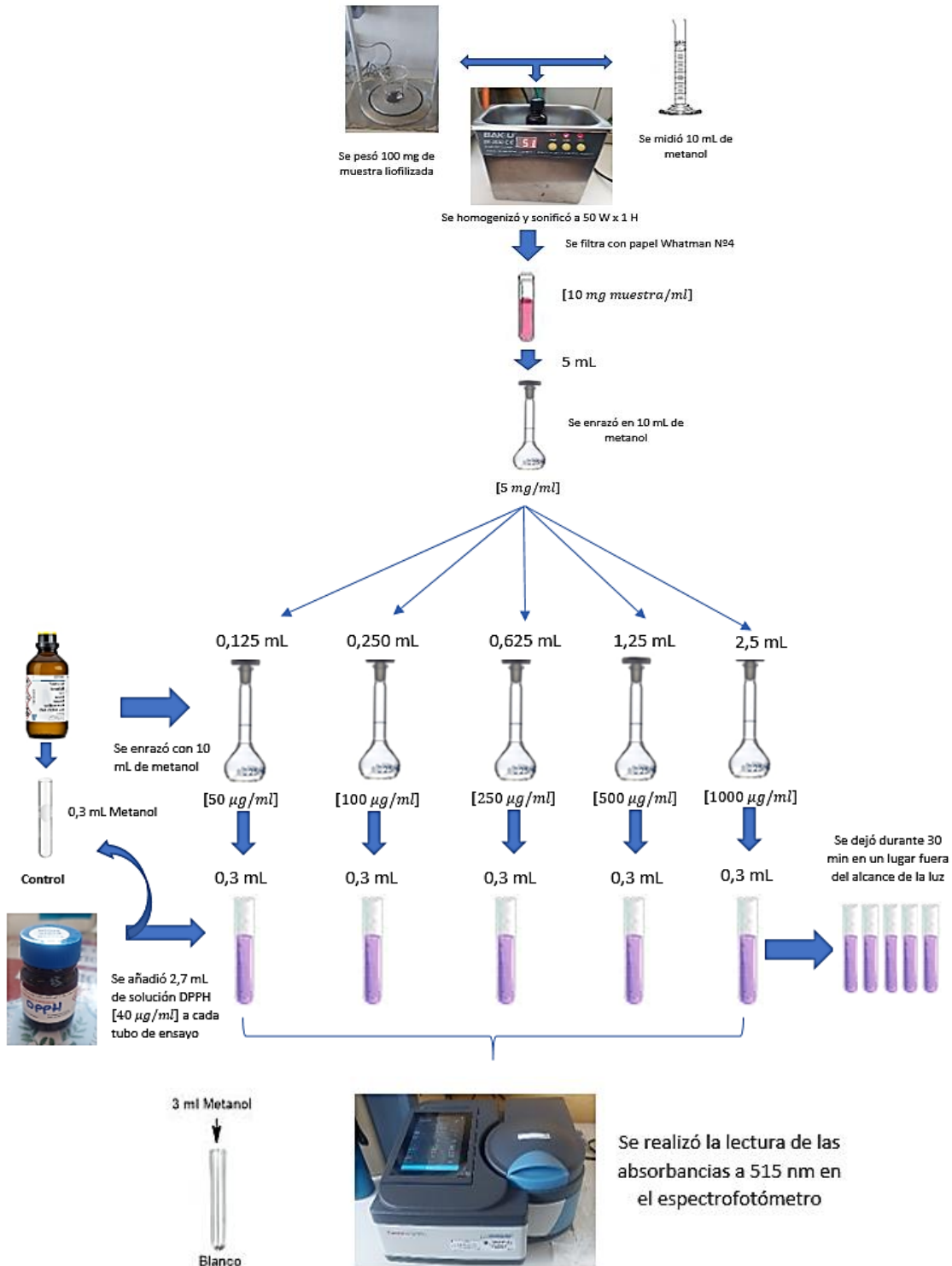
Anexo 16

Diagrama de proceso para la determinación de la capacidad antioxidante por el método DPPH, para las muestras atomizadas.



Anexo 17

Diagrama de proceso para la determinación de la capacidad antioxidante por el método DPPH, para la muestra liofilizada.



ANEXO 18

Desarrollo de los cálculos de las antocianinas en mg/g para muestra liofilizada

Extracto	Código	Los mL totales de extracto obtenido de cada extracción	g de macha macha atomizada usado en la extracción	Abs	MW	DF	10*3	E	I	Antocianinas mg/L	Antocianinas mg/g
1		25	0,2503	0,217	449,2	50	1000	26900	1	181,18	18,10
2	MM-200	25	0,2507	0,225	449,2	50	1000	26900	1	187,86	18,73
3	(10%)	25	0,2511	0,255	449,2	50	1000	26900	1	212,91	21,20
4		25	0,2508	0,244	449,2	50	1000	26900	1	203,73	20,31
5	MM-200	25	0,2505	0,241	449,2	50	1000	26900	1	201,22	20,08
6	(5%)	25	0,2508	0,271	449,2	50	1000	26900	1	226,27	22,55
7		25	0,2513	0,256	449,2	50	1000	26900	1	213,75	21,26
8	MM-150	25	0,2505	0,303	449,2	50	1000	26900	1	252,99	25,25
9	(10%)	25	0,2506	0,299	449,2	50	1000	26900	1	249,65	24,91
10		25	0,2511	0,328	449,2	50	1000	26900	1	273,86	27,27
11	MM-150	25	0,2516	0,320	449,2	50	1000	26900	1	267,18	26,55
12	(5%)	25	0,252	0,312	449,2	50	1000	26900	1	260,50	25,84
13		25	0,2507	0,261	449,2	50	1000	26900	1	217,92	21,73
14	MM-100	25	0,2509	0,279	449,2	50	1000	26900	1	232,95	23,21
15	(10%)	25	0,2503	0,285	449,2	50	1000	26900	1	237,96	23,77
16		25	0,2532	0,299	449,2	50	1000	26900	1	249,65	24,65
17	MM-100	25	0,2542	0,310	449,2	50	1000	26900	1	258,83	25,46
18	(5%)	25	0,2506	0,307	449,2	50	1000	26900	1	256,33	25,57

Procedimiento:

Pigmento de antocianina (equivalentes de cianidina – 3 – glucósido, $\left(\frac{mg}{L}\right)$)

$$= \frac{A * PM * DF * 10^3}{E * 1}$$

Donde: $A = (A_{520nm} - A_{700nm})_{pH\ 1,0} - (A_{520nm} - A_{700nm})_{pH\ 4,5}$.

$PM = \text{Peso molecular} = 449,2 \text{ g mol para cianidina – 3 – glucósido.}$

$DF = \text{Factor de dilución establecido.}$

$103 = \text{Factor de conversión de g a mg.}$

$E = 26900 \text{ coeficiente de extinción molar, en L mol} * \text{cm, para cianidina – 3 – glucósido.}$

$1 = \text{Longitud de trayecto en cm}$

a) Determinando la absorbancia.

$A_1 = (A_{520nm} - A_{700nm})_{pH\ 1,0} - (A_{520nm} - A_{700nm})_{pH\ 4,5}$.

$A_1 = (0,269 - 0,003)_{pH\ 1,0} - (0,053 - 0,004)_{pH\ 4,5}$.

$A_1 = 0,217$

$A_2 = 0,218$

$A_3 = 0,216$

promedio A: 0,217

b) Determinando el pigmento de antocianina (equivalentes de cianidina-3-glucósido).

$$ACN\left(\frac{mg}{L}\right) = \frac{A * PM * DF * 10^3}{E * 1}$$

$$ACN\left(\frac{mg}{L}\right) = \frac{0,217 * 449,2 * 50 * 10^3}{26900 * 1}$$

$$ACN\left(\frac{mg}{L}\right) = 181,18$$

c) Proceso de conversión hasta obtener las unidades

$$ACN = 629,55 = \frac{181,18 \text{ mg}}{1000 \text{ ml}} \times \frac{25 \text{ ml}}{0.2503 \text{ g}}$$

$$\text{ACN} = 18,10 \frac{\text{mg}}{\text{g}}$$

Se determinó por triplicado:

$$\text{ACN} = 18,10 \frac{\text{mg}}{\text{g}}$$

$$\text{ACN} = 18,18 \frac{\text{mg}}{\text{g}}$$

$$\text{ACN} = 18,01 \frac{\text{mg}}{\text{g}}$$

Determinando el promedio:

Pigmento de antocianina (equivalentes de cianidina-3-glucósido ($\frac{\text{mg}}{\text{g}}$)) = $18,10 \frac{\text{mg}}{\text{g}}$

Anexo 19

Desarrollo de los cálculos para determinar fenoles totales expresado en mg GAE/g en muestra de macha macha (Pernettya prostrata (Cav.) DC) liofilizado

Corrida	Abs.	Conc. (mg GAE/ml) según curva de calibración	Conc. (mg GAE/mL) x factor de dilución (25)	Los mL totales de extracto obtenido de cada extracción	mg GAE en los mL totales de extracto obtenido	g de macha macha atomizado o utilizados en la extracción	mg GAE/g de macha macha atomizado
A1	0,493	0,017	0,422	25	10,543	0,2503	42,120
B1	0,427	0,015	0,364	25	9,098	0,2507	36,291
C1	0,363	0,012	0,308	25	7,697	0,2511	30,654
A2	0,522	0,018	0,447	25	11,177	0,2508	44,566
D1	0,441	0,015	0,376	25	9,404	0,2505	37,543
A3	0,528	0,018	0,452	25	11,309	0,2508	45,090
E1	0,384	0,013	0,326	25	8,157	0,2513	32,459
A4	0,508	0,017	0,435	25	10,871	0,2505	43,396
A5	0,495	0,017	0,423	25	10,586	0,2506	42,244
F1	0,385	0,013	0,327	25	8,179	0,2511	32,572
G1	0,393	0,013	0,334	25	8,354	0,2516	33,203
H1	0,379	0,013	0,322	25	8,048	0,2520	31,935
I1	0,438	0,015	0,374	25	9,339	0,2507	37,251

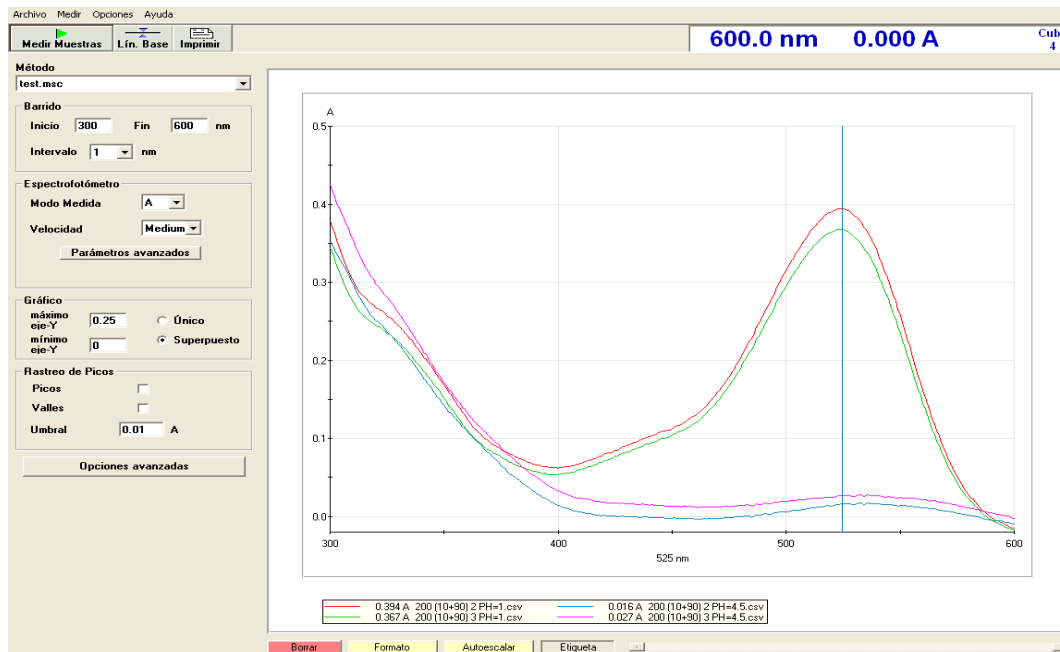
Anexo 20

Desarrollo de los cálculos para determinar fenoles totales expresado en mg GAE/g en muestra de macha macha (*Pernettya prostrata* (Cav.) DC) atomizado

Macha Macha atom.	Abs.	Conc. (mg GAE/ml) según curva de calibración	Conc. (mg GAE/mL) x factor de dilución (25)	Los mL totales de extracto obtenido de cada extracción	mg GAE en los mL totales de extracto obtenido	g de macha macha atomizado utilizados en la extracción	mg GAE/g de macha macha liofilizado	Promedio	Desvest.	Desvest. Relativa
MM-200 (10%)	0,215	0,007	0,178	25	4,458	0,2508	17,776	18,540	0,754	4,064
	0,232	0,008	0,193	25	4,830	0,2505	19,282			
	0,224	0,007	0,186	25	4,655	0,2508	18,561			
MM-200 (5%)	0,288	0,010	0,242	25	6,056	0,2511	24,117	23,088	1,042	4,513
	0,277	0,009	0,233	25	5,815	0,2516	23,113			
	0,265	0,009	0,222	25	5,552	0,2520	22,034			
MM-150 (10%)	0,316	0,011	0,267	25	6,669	0,2513	26,537	26,561	0,301	1,134
	0,312	0,011	0,263	25	6,581	0,2505	26,272			
	0,319	0,011	0,269	25	6,734	0,2506	26,873			
MM-150 (5%)	0,377	0,013	0,320	25	8,004	0,2513	31,849	31,651	0,212	0,561
	0,371	0,013	0,315	25	7,872	0,2505	31,427			
	0,374	0,013	0,318	25	7,938	0,2506	31,676			
MM-100 (10%)	0,291	0,010	0,245	25	6,122	0,2507	24,418	24,716	0,329	1,331
	0,294	0,010	0,247	25	6,187	0,2509	24,660			
	0,298	0,010	0,251	25	6,275	0,2503	25,069			
MM-100 (5%)	0,355	0,012	0,301	25	7,522	0,2507	30,005	29,340	0,282	0,949
	0,352	0,012	0,298	25	7,457	0,2509	29,719			
	0,348	0,012	0,295	25	7,369	0,2503	29,441			

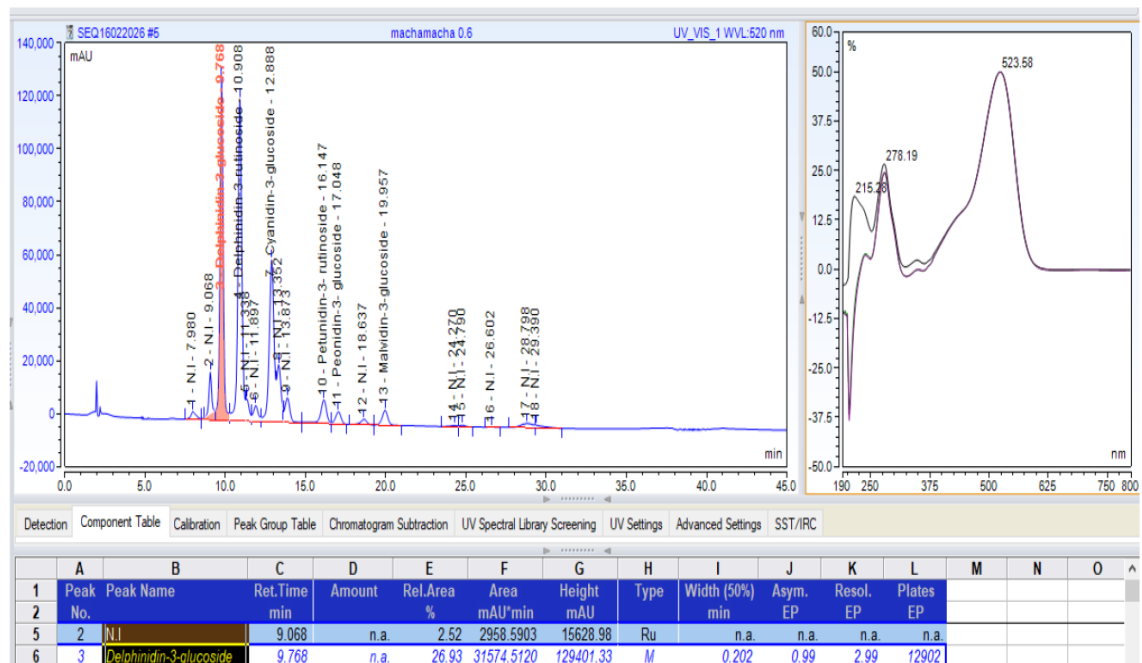
ANEXO 21

Barrido espectral entre 300 a 600 nm de las absorbancias en el equipo del espectrofotómetro, Marca: THERMO FISHER SCIENTIFIC, Modelo: GENESYS 6



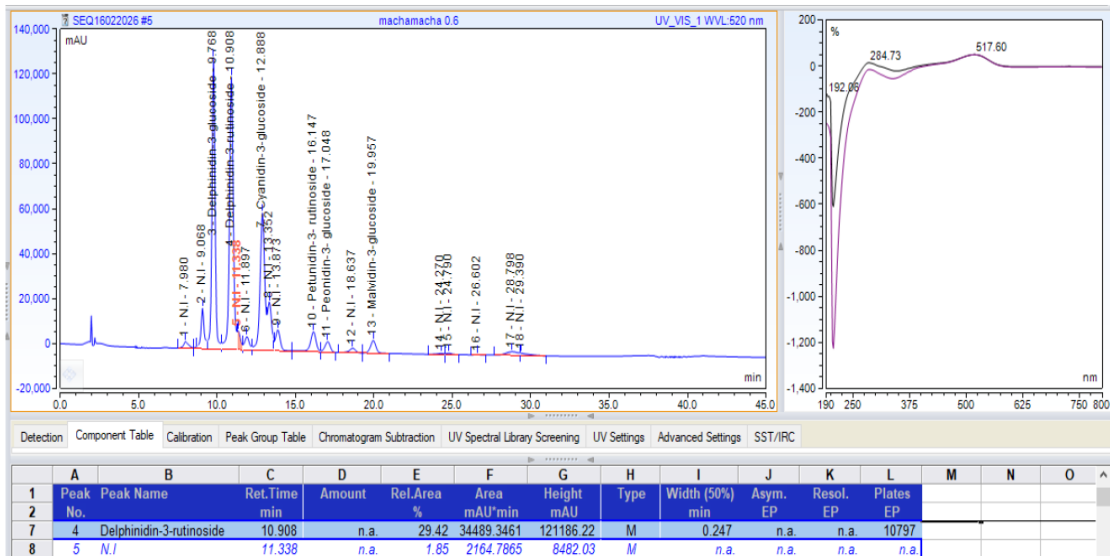
ANEXO 22

Antocianina monomérica (Delphinidina-3-glucósido) identificada mediante el método cromatográfico con el equipo UHPLC-DAD



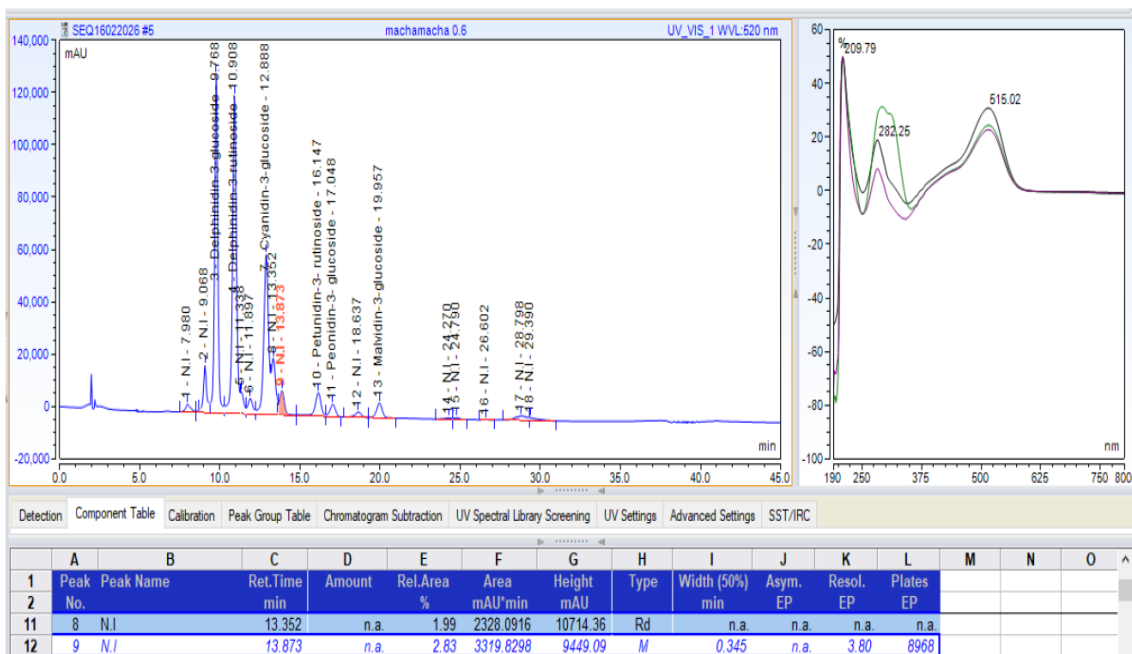
ANEXO 23

Antocianina monomérica (Delphinidina-3-rutinosido) identificada mediante el método cromatográfico con el equipo UHPLC-DAD



ANEXO 24

Antocianinas monoméricas N.I. mediante el método cromatográfico con el equipo UHPLC-DAD



**UNSCH**FACULTAD DE INGENIERÍA
**QUÍMICA Y
METALURGIA**

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE LA TESIS PRESENCIAL:

(Reglamento de grados y títulos, aprobado con RCU N° 3403-2024-UNSCH-CU)

Identificación de las antocianinas monoméricas, compuestos fenólicos, actividad antioxidante y antimicrobiana en los frutos de macha macha (Pernettya prostrata (Cav) DC)

Expositora: Sarela Edith Espinoza Garcia
Bachiller en Ingeniería en Industrias Alimentarias

Expediente N° 2575860

Resolución Decanal N° 207-2025-UNSCH-FIQM/D

Fecha: 24-12-2025

En la Sala de Conferencias “Pedro VILLENA HIDALGO” de la Facultad de Ingeniería Química y Metalurgia, ubicada en la Ciudad Universitaria de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga (H-121), siendo las diez de la mañana con cinco minutos del día lunes veintinueve de diciembre del año dos mil veinticinco, se reunieron la Bachiller en Ingeniería en Industrias Alimentarias **Sarela Edith Espinoza Garcia**, los Docentes Miembros del Jurado de Sustentación Ingenieros: Mg. Julio Fernando PEREZ SAEZ, Dr. Alberto Luis HUAMANI HUAMANI (Miembros) y Mg. Jesús Javier PANIAGUA SEGOVIA (Miembro-Asesor), bajo la Presidencia del Dr. Agustín Julián PORTUGUEZ MAURTUA (Decano de la FIQM), el Mg. Fredy Rober PARIONA ESCALANTE (Secretario-Docente) y el público asistente.

Acto seguido, el Presidente del Jurado de Sustentación dispuso que el Secretario Docente dé lectura a los antecedentes tramitados para el presente Acto Público de Sustentación de la Tesis: **Identificación de las antocianinas monoméricas, compuestos fenólicos, actividad antioxidante y antimicrobiana en los frutos de macha macha (Pernettya prostrata (Cav) DC)**, presentado por la Bachiller **Sarela Edith Espinoza Garcia**. A continuación, el Secretario-Docente procedió a dar lectura a la Resolución Decanal N° 207-2025-UNSCH-FIQM/D.

Luego, el Presidente del Jurado invitó a la Bachiller **Sarela Edith Espinoza Garcia**, a pasar al estrado y exponer su trabajo de Tesis en un tiempo máximo de cuarenta y cinco minutos.

Terminada la exposición del Bachiller, el Presidente invitó a los Señores Miembros del Jurado de Sustentación a que formulen sus preguntas y señalen sus observaciones, en el siguiente orden: Mg. Jesús Javier PANIAGUA SEGOVIA, Dr. Alberto Luis HUAMANI HUAMANI y Mg. Julio Fernando PEREZ SAEZ.

Concluyó con esta etapa el Dr. Agustín Julián PORTUGUEZ MAURTUA, en su condición de Presidente.



UNSCH

FACULTAD DE INGENIERÍA
QUÍMICA Y
METALURGIA

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE LA TESIS PRESENCIAL:

(Reglamento de grados y títulos, aprobado con RCU N° 3403-2024-UNSCH-CU)

Identificación de las antocianinas monoméricas, compuestos fenólicos, actividad antioxidante y antimicrobiana en los frutos de macha macha (*Pernettya prostrata* (Cav) DC)

**Expositora: Sarela Edith Espinoza Garcia
Bachiller en Ingeniería en Industrias Alimentarias**

Expediente N° 2575860

Resolución Decanal N° 207-2025-UNSCH-FIQM/D

Fecha: 24-12-2025

Culminada la etapa de preguntas, el Presidente del Jurado invitó a la Sustentante y al público para que se sirvan abandonar la Sala de Conferencias con la finalidad de permitir al Jurado de Sustentación deliberar sobre la evaluación a otorgar. Se alcanzó el siguiente resultado. **APROBADO POR UNANIMIDAD PROMEDIO DIECISEIS (16).**

Finalmente el Presidente del Jurado dispuso que se invite al Sustentante y al público asistente a que se sirvan ingresar a la Sala de Conferencias, y anunció que la Bachiller **Sarela Edith Espinoza Garcia**, ha resultado **APROBADA POR UNANIMIDAD**, y por lo tanto a partir de la fecha la Universidad y la Facultad cuenta con una flamante **INGENIERA EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS** y le augura éxitos en su desempeño profesional.

Siendo las doce del medio día con cinco minutos, se dio por concluido el acto académico de Sustentación de Tesis. En fe de lo cual firmamos:

.....
Dr. Agustín Julián PORTUGUEZ MAURTUA
Presidente

.....
Mg. Julio Fernando PEREZ SAEZ
Miembro

.....
Dr. Alberto Luis HUAMANI HUAMANI
Miembro

.....
Mg. Jesús Javier PANIAGUA SEGOVIA
Miembro-Asesor

.....
Mg. Fredy Rober PARIONA ESCALANTE
Secretario Docente

FACULTAD DE INGENIERÍA
QUÍMICA Y METALURGIA
Av. Independencia s/n
Ciudad Universitaria

**UNSCH**FACULTAD DE INGENIERÍA
**QUÍMICA Y
METALURGIA**

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE LA TESIS PRESENCIAL:

(Reglamento de grados y títulos, aprobado con RCU N° 3403-2024-UNSCH-CU)

Identificación de las antocianinas monoméricas, compuestos fenólicos, actividad antioxidante y antimicrobiana en los frutos de macha macha (Pernettya prostrata (Cav) DC)

**Expositora: Fiorela Pacheco Espinoza
Bachiller en Ingeniería en Industrias Alimentarias**

Expediente N° 2575860

Resolución Decanal N° 207-2025-UNSCH-FIQM/D

Fecha: 24-12-2025

En la Sala de Conferencias “Pedro VILLENA HIDALGO” de la Facultad de Ingeniería Química y Metalurgia, ubicada en la Ciudad Universitaria de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga (H-121), siendo las diez de la mañana con cinco minutos del día lunes veintinueve de diciembre del año dos mil veinticinco, se reunieron la Bachiller en Ingeniería en Industrias Alimentarias **Fiorela Pacheco Espinoza**, los Docentes Miembros del Jurado de Sustentación Ingenieros: Mg. Julio Fernando PEREZ SAEZ, Dr. Alberto Luis HUAMANI HUAMANI (Miembros) y Mg. Jesús Javier PANIAGUA SEGOVIA (Miembro-Asesor), bajo la Presidencia del Dr. Agustín Julián PORTUGUEZ MAURTUA (Decano de la FIQM), el Mg. Fredy Rober PARIONA ESCALANTE (Secretario-Docente) y el público asistente.

Acto seguido, el Presidente del Jurado de Sustentación dispuso que el Secretario Docente dé lectura a los antecedentes tramitados para el presente Acto Público de Sustentación de la Tesis: **Identificación de las antocianinas monoméricas, compuestos fenólicos, actividad antioxidante y antimicrobiana en los frutos de macha macha (Pernettya prostrata (Cav) DC)**, presentado por la Bachiller **Fiorela Pacheco Espinoza**. A continuación, el Secretario-Docente procedió a dar lectura a la Resolución Decanal N° 207-2025-UNSCH-FIQM/D.

Luego, el Presidente del Jurado invitó a la Bachiller **Fiorela Pacheco Espinoza**, a pasar al estrado y exponer su trabajo de Tesis en un tiempo máximo de cuarenta y cinco minutos.

Terminada la exposición del Bachiller, el Presidente invitó a los Señores Miembros del Jurado de Sustentación a que formulen sus preguntas y señalen sus observaciones, en el siguiente orden: Mg. Jesús Javier PANIAGUA SEGOVIA, Dr. Alberto Luis HUAMANI HUAMANI y Mg. Julio Fernando PEREZ SAEZ.

Concluyó con esta etapa el Dr. Agustín Julián PORTUGUEZ MAURTUA, en su condición de Presidente.



UNSCH

FACULTAD DE INGENIERÍA
QUÍMICA Y
METALURGIA

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE LA TESIS PRESENCIAL:

(Reglamento de grados y títulos, aprobado con RCU N° 3403-2024-UNSCH-CU)

Identificación de las antocianinas monoméricas, compuestos fenólicos, actividad antioxidante y antimicrobiana en los frutos de macha macha (*Pernettya prostrata* (Cav) DC)

**Expositora: Fiorela Pacheco Espinoza
Bachiller en Ingeniería en Industrias Alimentarias**

Expediente N° 2575860

Resolución Decanal N° 207-2025-UNSCH-FIQM/D

Fecha: 24-12-2025

Culminada la etapa de preguntas, el Presidente del Jurado invitó a la Sustentante y al público para que se sirvan abandonar la Sala de Conferencias con la finalidad de permitir al Jurado de Sustentación deliberar sobre la evaluación a otorgar. Se alcanzó el siguiente resultado. **APROBADO POR UNANIMIDAD PROMEDIO DIECISEIS (16).**

Finalmente el Presidente del Jurado dispuso que se invite al Sustentante y al público asistente a que se sirvan ingresar a la Sala de Conferencias, y anunció que la Bachiller **Fiorela Pacheco Espinoza**, ha resultado **APROBADA POR UNANIMIDAD**, y por lo tanto a partir de la fecha la Universidad y la Facultad cuenta con una flamante **INGENIERA EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS** y le augura éxitos en su desempeño profesional.

Siendo las doce del medio día con cinco minutos, se dio por concluido el acto académico de Sustentación de Tesis. En fe de lo cual firmamos:


.....
Dr. Agustín Julián PORTUGUEZ MAURTUA
Presidente


.....
Mg. Julio Fernando PEREZ SAEZ
Miembro


.....
Dr. Alberto Luis HUAMANI HUAMANI
Miembro


.....
Mg. Jesús Javier PANIAGUA SEGOVIA
Miembro-Asesor


.....
Mg. Fredy Rober PARIONA ESCALANTE
Secretario Docente

FACULTAD DE INGENIERÍA
QUÍMICA Y METALURGIA
Av. Independencia s/n
Ciudad Universitaria



CONSTANCIA DE ORIGINALIDAD

El Director de la Escuela Profesional de Ingeniería en Industrias Alimentarias de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, hace CONSTAR:

Que, las Srtas. Sarela Edith ESPINOZA GARCIA y Fiorela PACHECO ESPINOZA egresadas de la Escuela Profesional de Ingeniería en Industrias Alimentarias han remitido, con el aval y por intermedio de su asesor Ing. Jesús Javier Paniagua Segovia, la Tesis: Identificación de las antocianinas monoméricas, compuestos fenólicos, actividad antioxidante y antimicrobiana en los frutos de macha macha (*Pernettya prostrata* (Cav.) DC) y se precisa con el Informe de Originalidad de Turnitin, que el índice de similitud del trabajo es de 14% y que se ha generado el Recibo digital que confirma el Depósito que el trabajo ha sido recibido por Turnitin con fecha abril 27 de 2026 e Identificador de la Entrega N° 2945416913.

Se expide la presente, para los fines pertinentes.

Ayacucho, 28 de abril del 2026.

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTOBAL
DE HUAMANGA
F. P. DE INGENIERIA EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS

Ing. C.P. Antonio J. Matos Alejandro
DIRECTOR

c.c. Archivo.
Constancia N° 078

Identificación de las antocianinas monoméricas, compuestos fenólicos, actividad antioxidante y antimicrobiana en los frutos de macha macha (*Pernettya prostrata* (Cav.) DC)

por Sarela Edith Espinoza Garcia y Fiorela Pacheco Espinoza

Fecha de entrega: 27-abr-2026 07:58a. m. (UTC-0500)

Identificador de la entrega: 2945416913

Nombre del archivo: 8_TESIS_RECORTADA.pdf (6.1M)

Total de palabras: 28915

Total de caracteres: 150487

Identificación de las antocianinas monoméricas, compuestos fenólicos, actividad antioxidante y antimicrobiana en los frutos de macha macha (*Pernettya prostrata* (Cav.) DC)

INFORME DE ORIGINALIDAD

14%	13%	5%	6%
INDICE DE SIMILITUD	FUENTES DE INTERNET	PUBLICACIONES	TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1	Submitted to Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga	3%
	Trabajo del estudiante	
2	repositorio.unsch.edu.pe	2%
	Fuente de Internet	
3	hdl.handle.net	2%
	Fuente de Internet	
4	repositorio.unh.edu.pe	1%
	Fuente de Internet	
5	doczz.es	1%
	Fuente de Internet	
6	repositorio.unica.edu.pe	1%
	Fuente de Internet	
7	repositorio.uncp.edu.pe	1%
	Fuente de Internet	
8	www.scielo.org.co	<1%
	Fuente de Internet	
9	repositorio.unheval.edu.pe	<1%
	Fuente de Internet	
10	Submitted to Universidad ISA	<1%
	Trabajo del estudiante	

repositorio.uladech.edu.pe

11	Fuente de Internet	<1 %
12	repositorio.unamba.edu.pe Fuente de Internet	<1 %
13	documents.mx Fuente de Internet	<1 %
14	repositorioubasib.uba.ar Fuente de Internet	<1 %
15	fcai.uncuyo.edu.ar Fuente de Internet	<1 %
16	Submitted to Kovadata Ltda Trabajo del estudiante	<1 %
17	digibug.ugr.es Fuente de Internet	<1 %
18	www.mindomo.com Fuente de Internet	<1 %
19	Submitted to Universidad Nacional de Cajamarca Trabajo del estudiante	<1 %
20	patents.google.com Fuente de Internet	<1 %
21	www.grafiati.com Fuente de Internet	<1 %
22	Submitted to Universidad Nacional Autonoma Altoandina de Tarma Trabajo del estudiante	<1 %
23	doku.pub Fuente de Internet	<1 %
24	Gloria Holguín Martínez. "Memorias del XI Congreso Colombiano de Fitoquímica", Vitae,	<1 %

2011

Publicación

25 alicia.concytec.gob.pe <1 %
Fuente de Internet

26 Gonzales Uscamayta, Miki. "Determinacion de acidos grasos, compuestos fenolicos y efecto gastroprotector de semillas de uva (Vitis vinifera) variedad Malbec, subproducto de la industria vitivinicola, Ica-Peru.", Pontificia Universidad Catolica del Peru - CENTRUM Catolica (Peru), 2020 <1 %
Publicación

27 dspace.unitru.edu.pe <1 %
Fuente de Internet

28 repositorio.unapiquitos.edu.pe <1 %
Fuente de Internet

29 www.sor.ufscar.br <1 %
Fuente de Internet

30 riunet.upv.es <1 %
Fuente de Internet

31 Submitted to Universidad Nacional del Centro del Peru <1 %
Trabajo del estudiante

32 repositorio.usm.cl <1 %
Fuente de Internet

Excluir citas

Activo

Excluir coincidencias < 30 words

Excluir bibliografía

Activo