

**Universidad Católica de Santa María**  
**Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas y**  
**Biotechnológicas**  
**Escuela Profesional de Ingeniería Biotechnológica**



**ANÁLISIS DE LA VARIABILIDAD DE LAS CARACTERÍSTICAS  
BIOACTIVAS DURANTE EL PROCESO FERMENTATIVO DE LA  
CHICHA DE GUIÑAPO, BEBIDA TRADICIONAL DE LA CIUDAD DE  
AREQUIPA OBTENIDA EN CONDICIONES CONTROLADAS.**

Tesis presentada por el Bachiller:

**Pezo Torres, María Nelly**

Para optar el Título Profesional de

Ingeniero Biotecnóloga

Asesor (a):

**Mgter. López Álvarez, Natalia**

**Arequipa- Perú**

**2023**

UCSM-ERP

**UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA**  
**INGENIERIA BIOTECNOLOGICA**  
**TITULACIÓN CON TESIS**  
**DICTAMEN APROBACIÓN DE BORRADOR**

Arequipa, 23 de Marzo del 2023

**Dictamen: 006320-C-EPIB-2023**

Visto el borrador del expediente 006320, presentado por:

**2014245912 - PEZO TORRES MARIA NELLY**

Titulado:

**ANÁLISIS DE LA VARIABILIDAD DE CARACTERÍSTICAS BIOACTIVAS DURANTE EL PROCESO  
FERMENTATIVO DE LA CHICHA DE GUIÑAPO, BEBIDA TRADICIONAL DE LA CIUDAD DE  
AREQUIPA, OBTENIDA EN CONDICIONES CONTROLADAS.**

Nuestro dictamen es:

**APROBADO**

**29389056 - PAZ ALIAGA CARLOS EITEL IVAN  
DICTAMINADOR**



**29294320 - ROQUE RODRIGUEZ FRANCISCO JAVIER  
DICTAMINADOR**



**41404327 - BARREDA DEL CARPIO JAIME ERNESTO  
DICTAMINADOR**



## DEDICATORIA

*A mis padres por su amor, apoyo y exigencia incondicional durante todo mi crecimiento profesional y personal.*

*A Dios por darme la vida y la posibilidad de estudiar y ser quien soy.*

*A mis hermanas por no dejar que me rindiera, ser mi apoyo emocional y ser mis amigas.*

*A Sebastián por ser mi soporte.*

*A mi abuelita y hermano que me cuidan desde el cielo.*

## AGRADECIMIENTO

A mi abuelita Tarcila, gracias por darme esta oportunidad, la oportunidad de estudiar y lograr mis objetivos sueños y todo lo que vendrá en mi camino, gracias por enseñarme a luchar.

A mis hermanas, Rocío, Leila y Silda, por ser fieles y pacientes, gracias a ellas por hacer que mi infancia sea la mejor.

A mi hermano Nicolás, siempre me cuidará en donde este.

A mis padres, Nicolás y Nelly, gracias a ellos soy quien soy, gracias por cuidarme alentarme y ser mi sostén.

A mis amigas, Vanessa y Geral, gracias a ellas por su compañía y aliento

A Sergio gracias por alentarme siempre, creer en mí, por no dejar que me rinda y acompañarme en este camino.

A la Mg. Natalia López Álvarez por apoyarme y guiarme en este camino. Por su paciencia y enseñanza.

A Diego y Brigitte por acompañarme guiarme, comprenderme y apoyarme durante toda la ejecución de mi tesis.

A la Dra Lena Galvez, por su enseñanza y por compartir sus conocimientos.

A Dios por darme tantas oportunidades.

A mí por ser quien soy.

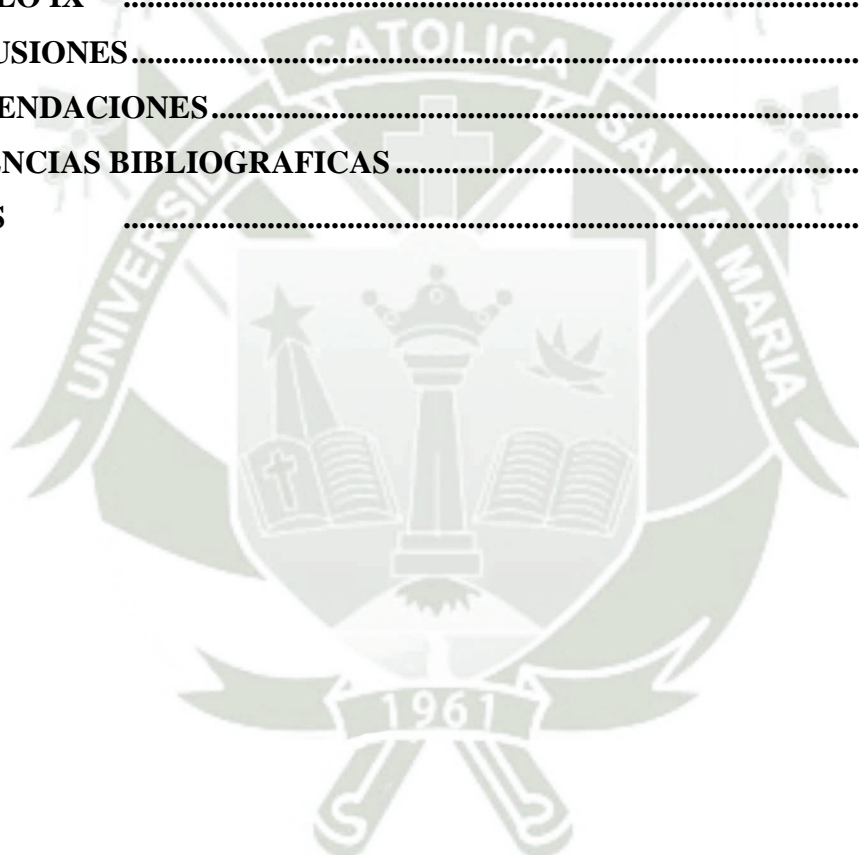
Asimismo, agradezco a mi alma mater la Universidad Católica de Santa María (UCSM) la cual financió el desarrollo del proyecto **“Estudio de la variabilidad del microbioma, la composición fenólica antioxidante y los parámetros fermentativos de la bebida “chicha de jora” de maíz morado (*zea mays l.*) de Arequipa obtenida en condiciones controladas para su valorización como alimento funcional”**, con el financiamiento del Vicerrectorado de Investigación de la Universidad Católica de Santa María mediante el formato fondos internos concursables. Proyecto fondo para la Investigación Resolución N° **25789-R-2018**.

## INDICE GENERAL

<b>DEDICATORIA</b> .....	<b>I</b>
<b>AGRADECIMIENTO</b> .....	<b>II</b>
<b>INDICE GENERAL</b> .....	<b>III</b>
<b>INDICE DE TABLAS</b> .....	<b>VI</b>
<b>INDICE DE FIGURAS</b> .....	<b>VIII</b>
<b>RESUMEN</b> .....	<b>1</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>2</b>
<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>3</b>
<b>HIPOTESIS</b> .....	<b>5</b>
<b>OBJETIVOS</b> .....	<b>6</b>
<b>TABLA DE VARIABLES E INDICADORES</b> .....	<b>7</b>
<b>GLOSARIO</b> .....	<b>8</b>
<b>CAPITULO I</b> .....	<b>9</b>
<b>1. Marco Teórico</b> .....	<b>9</b>
<b>1.1. Maíz morado</b> .....	<b>9</b>
<b>1.1.1. Clasificación taxonómica</b> .....	<b>10</b>
<b>1.1.2. Variedades o razas de Maíz morado:</b> .....	<b>10</b>
<b>1.1.3. Composición química</b> .....	<b>11</b>
<b>1.1.4. Productos a base del maíz morado</b> .....	<b>12</b>
<b>1.1.4.1. Chicha:</b> .....	<b>13</b>
<b>1.2. Chicha de Guiñapo</b> .....	<b>14</b>
<b>1.2.1. Preparación de la Chicha de Guiñapo:</b> .....	<b>14</b>
<b>1.2.1.1. Germinación</b> .....	<b>16</b>
<b>1.2.1.2. Secado y molienda</b> .....	<b>16</b>
<b>1.2.1.3. Cocción y filtrado</b> .....	<b>17</b>
<b>1.2.1.4. Fermentación</b> .....	<b>17</b>
<b>1.3. Compuestos Fenólicos</b> .....	<b>18</b>
<b>1.4. Antocianinas</b> .....	<b>20</b>
<b>1.5. Actividad antioxidante</b> .....	<b>21</b>
<b>1.5.1. Métodos para analizar la capacidad antioxidante</b> .....	<b>21</b>
<b>1.6. Actividad Antihiperlipidémica</b> .....	<b>22</b>
<b>1.7. Análisis metagenómico realizado en bebidas fermentadas</b> .....	<b>22</b>
<b>1.7.1. Metagenómica</b> .....	<b>22</b>

1.7.2.	Análisis metagenómicos realizados en bebidas fermentadas .....	24
<b>CAPÍTULO II</b> .....		<b>26</b>
<b>2. MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....		<b>26</b>
2.1.	Lugar de investigación.....	26
2.2.	Materiales .....	26
2.2.1.	Materia prima .....	26
2.2.2.	Equipos y materiales.....	26
2.3.	Metodos .....	28
2.3.1.	Determinación de los parámetros fermentativos de la Chicha de Guiñapo bajo condiciones controladas.....	28
2.3.2.	Elaboración de Chicha de Guiñapo.....	32
2.3.3.	Análisis fisicoquímicos .....	33
2.3.4.	Análisis proximal .....	33
2.3.5.	Análisis de la concentración de antocianinas y compuestos polifenólicos, capacidad antioxidante en diferentes etapas del proceso fermentativo de la Chicha de Guiñapo, por métodos in vitro y UHPLC-DAD. ....	34
2.3.5.1.	Contenido fenólico total (TPC) .....	34
2.3.5.2.	Análisis de capacidad antioxidante.....	35
2.3.5.3.	Contenido de antocianinas monoméricas totales.....	37
2.3.5.4.	Contenido de polifenoles.....	38
2.3.6.	Análisis del potencial de inhibición de las enzimas $\alpha$ -amilasa y $\alpha$ -glucosidasa de la chicha de Guiñapo en diferentes etapas del proceso fermentativo por métodos in vitro. ....	39
2.3.6.1.	Inhibición in vitro de la enzima $\alpha$ -amilasa .....	39
2.3.6.2.	Inhibición in vitro de la enzima $\alpha$ -glucosidasa .....	40
2.3.7.	Evaluación de la variación del microbioma durante el proceso fermentativo, utilizando el sistema ILLUMINA en un análisis Metagenómico de las regiones 16S e ITS. ....	41
2.3.7.1.	Análisis del microbioma .....	41
2.3.8.	Análisis estadístico .....	41
<b>CAPÍTULO III</b> 42		
<b>3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b> .....		<b>42</b>
3.1.	Determinación de los parámetros fermentativos de la Chicha de Guiñapo bajo condiciones controladas. ....	42

<b>3.2. Análisis fisicoquímicos</b> .....	<b>44</b>
<b>3.3. Analisis proximales</b> .....	<b>45</b>
<b>3.4. Contenido fenólico total (TPC)</b> .....	<b>47</b>
<b>3.5. Capacidad antioxidante</b> .....	<b>51</b>
<b>3.6. Contenido total de antocianinas</b> .....	<b>58</b>
<b>3.7. Inhibición de las enzimas digestivas <math>\alpha</math>-amilasa</b> .....	<b>63</b>
<b>3.8. La inhibición in vitro de la enzima <math>\alpha</math>-glucosidasa</b> .....	<b>65</b>
<b>3.9. Evaluación de la variación del microbioma durante el proceso fermentativo, utilizando el sistema ILLUMINA en un análisis Metagenómico de las regiones 16S e ITS.</b> .....	<b>67</b>
<b>CAPITULO IX</b> .....	<b>73</b>
<b>CONCLUSIONES</b> .....	<b>73</b>
<b>RECOMENDACIONES</b> .....	<b>75</b>
<b>REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS</b> .....	<b>76</b>
<b>ANEXOS</b> .....	<b>84</b>



## INDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Tabla de variables significativas e unidades indicadoras.....	7
<b>Tabla 2.</b> Composición química del maíz morado INIA-615 Negro Canaán .....	12
<b>Tabla 3.</b> Estructura y clase de compuestos Fenólicos .....	19
<b>Tabla 4.</b> Datos para la curva de Calibración de contenido total de polifenoles .....	35
<b>Tabla 5.</b> Datos para la curva de Calibración para ABTS. ....	36
<b>Tabla 6.</b> Datos para la curva de Calibración para DPPH. ....	37
<b>Tabla 7.</b> Gradiente utilizada en la corrida de HPLC .....	39
<b>Tabla 8.</b> Resultados de analisis para la elección de Inóculo .....	42
<b>Tabla 9.</b> Resultados de analisis para la concentración de Guiñapo e Inóculo.....	43
<b>Tabla 10.</b> Resultados obtenidos para la determinación de tiempo de fermentación .	43
<b>Tabla 11.</b> Volumen final de inoculo.....	44
<b>Tabla 12.</b> Resultados de análisis fisicoquímicos .....	45
<b>Tabla 13.</b> Análisis proximal de muestras de chicha. ....	46
<b>Tabla 14.</b> Análisis de varianza del análisis proximal. ....	46
<b>Tabla 15.</b> Datos de Gráfico de Calibración de Ácido Gálico (TPC).....	48
<b>Tabla 16.</b> Resultados de Contenido de Polifenoles Totales (TPC) .....	49
<b>Tabla 17.</b> Resumen de resultados de TPC EN mg GAE/100 ml.....	49
<b>Tabla 18.</b> Tabla ANOVA de TPC .....	49
<b>Tabla 19.</b> Datos para curva de TROLOX (DPPH).....	52
<b>Tabla 20.</b> Resultados de capacidad antioxidante determinada por el método de inhibición del radical DPPH.....	53
<b>Tabla 21.</b> Resumen de resultados por tiempos de fermentación de la capacidad antioxidante por el método de inhibición del radical libre DPPH ( $\mu\text{mol TE}/100\text{ml}$ )	53
<b>Tabla 22.</b> Tabla ANOVA de inhibición del radical libre DPPH.....	54
<b>Tabla 23.</b> Curva de calibración para el radical ABTS.....	55
<b>Tabla 24.</b> Resultados de capacidad antioxidante determinada por el método de inhibición del radical ABTS.....	56
<b>Tabla 25.</b> Resumen de resultados capacidad antioxidante ABTS ( $\mu\text{mol TE}/100\text{ml}$ )	56
<b>Tabla 26.</b> Tabla ANOVA de análisis ABTS .....	56
<b>Tabla 27.</b> Resultados de antocianinas monoméricas totales.....	58
<b>Tabla 28.</b> Resumen de resultados contenido total de antocianinas monomericas (mg/L C <sub>3</sub> G ) (MAP) .....	59
<b>Tabla 29.</b> Tabla ANOVA de análisis contenido total de antocianinas monomericas (mgC <sub>3</sub> G/L ) (TAM) .....	59
<b>Tabla 30.</b> Resultado de TAC medidos por UHPLC en muestras de chicha de Guiñapo .....	60
<b>Tabla 31.</b> Resumen de resultados de Tac durante 0,13 y 26 horas de fermentación.	61
<b>Tabla 32.</b> Anova Contenido total de antocianina (TAC).....	61
<b>Tabla 33.</b> Resultados de % de inhibición de $\alpha$ -amilasa.....	63
<b>Tabla 34.</b> Resumen de resultados de inhibición de $\alpha$ -amilasa para tiempos de fermentación con una concentracion 0 igual a 0.01 mg GAE/mL.....	64
<b>Tabla 35.</b> ANOVA de inhibición de $\alpha$ -amilasa para tiempos de fermentación.....	64
<b>Tabla 36.</b> Resumen de resultados de inhibición de $\alpha$ -glucosidasa para tiempos de fermentación.....	65

**Tabla 37.** Especies de microorganismos representativos en la región 16S ..... 68

**Tabla 38.** Especies de microorganismos representativos en la región ITS ..... 70



## INDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Detalle del mural de Teodoro Núñez Ureta: La ciudad de Arequipa. Hotel Libertador de Arequipa, 1948. ....	15
<b>Figura 2.</b> Vasos Tradicionales para beber Chicha de Guiñapo: bebe, cogollo y caporal. ....	16
<b>Figura 3.</b> Ruta metabólica de producción de etanol. ....	18
<b>Figura 4.-</b> Estructura y sustituyentes de las antocianinas ....	20
<b>Figura 5.-</b> Flujo de trabajo del analisis metagenomico 16S-ITS ....	23
<b>Figura 6.-</b> Flujograma del proceso de elaboración de chicha.....	29
<b>Figura 7.</b> Flujograma de elección de inóculo .....	30
<b>Figura 8.-</b> Flujograma de ensayos para elección de concentración de Guiñapo y de inóculo.....	31
<b>Figura 9.</b> Ensayo de determinación de tiempo de fermentación .....	32
<b>Figura 10.</b> Proceso de elaboración de chicha de Guiñapo en condiciones controladas. A. Inoculo o concho. B.Cocción. C. Instalación del equipo Fermentador LAMBDA MINIFOR. D. Chicha final .....	33
<b>Figura 11.</b> Reacción de oxidación de azúcares reductores, método DNS .....	40
<b>Figura 12.</b> Grafico de calibración de ácido gálico. ....	48
<b>Figura 13.</b> Contenido fenólico frente al tiempo de fermentación. ....	50
<b>Figura 14.</b> Curva de calibración para Trolox .....	52
<b>Figura 15.</b> Capacidad antioxidante del radical DPPH mostrada durante el proceso fermentativo. ....	54
<b>Figura 16.</b> Curva de calibración de Trolox para el método ABTS .....	55
<b>Figura 17.</b> Capacidad antioxidante del radical ABTS durante el proceso fermentativo. ....	57
<b>Figura 19.</b> Concentración de antocianinas monoméricas frente al tiempo de fermentación.....	60
<b>Figura 19.</b> Inhibición de $\alpha$ -amilasa vs tiempos de fermentación .....	65
<b>Figura 20.</b> Inhibición de $\alpha$ -glucosidasa en los distintos tiempos de fermentación ..	66
<b>Figura 21.</b> Microbioma de la región 16S durante el proceso fermentativo.....	69
<b>Figura 22.</b> Microbioma de la región ITS durante el proceso fermentativo .....	71

## RESUMEN

La Chicha de Guiñapo es una bebida fermentada tradicional de la ciudad de Arequipa, esta bebida es elaborada mediante un proceso fermentativo que consta de diferentes etapas, las cuales son, la cocción, filtración, inoculación y fermentación, la materia prima utilizada es el guiñapo. Actualmente, la preparación de esta bebida es artesanal, cada picantería o productor de chicha tiene una receta propia. Se ha observado en distintas investigaciones que las bebidas fermentadas tienen un alto potencial bioactivo, convirtiéndolos en bebidas funcionales, por tal motivo el objetivo de esta investigación fue analizar la variabilidad de distintas características bioactivas durante todo el proceso fermentativo de la chicha de Guiñapo producida en condiciones controladas. Para ello se realizaron análisis preliminares para determinar el inóculo adecuado para el proceso fermentativo, la concentración de guiñapo y el tiempo de fermentación. Se utilizó un inóculo sin azúcar de la picantería Charito del distrito de Characato, con un tiempo de fermentación de 26 horas y la concentración de 1:10 tanto para guiñapo como para inóculo.

Además, se analizaron distintas características bioactivas de la chichas producidas en condiciones controladas como la concentración de antocianinas, la concentración de polifenoles, la actividad antioxidante, el potencial de inhibición de las enzimas  $\alpha$ -amilasa y  $\alpha$ -glucosidasa, la composición del microbioma y los parámetros fermentativos como pH, °Brix y acidez titulable de la Chicha de Guiñapo, evaluando a las 0 horas, 13 horas y 26 horas dentro del proceso fermentativo. Se comprobó que las características bioactivas presentan poca variabilidad durante el proceso fermentativo, convirtiendo a la chicha de guiñapo en una bebida de gran importancia por su valor nutricional, además de que los resultados obtenidos son la base para futuras investigaciones, como el análisis de metabolitos derivados de microbios y el establecimiento de cultivos iniciadores en el beneficio de bebidas o alimentos que necesiten inoculantes, garantizando bebidas de alta calidad, la estandarización de procesos y la reducción de pérdidas económicas.

**Palabras claves:** *Antocianinas, polifenoles, actividad antioxidante, Chicha de Guiñapo, microbioma.*

## ABSTRACT

The Chicha de Guiñapo is a traditional fermented drink from the city of Arequipa, this drink is made through a fermentation process that consists of different stages, which are, cooking, filtration, inoculation and fermentation, the raw material used is the guiñapo. Currently, the preparation of this beverage is handmade; each picantería or chicha producer has its own recipe. It has been observed in different investigations that fermented beverages have a high bioactive potential, making them functional beverages, for this reason the objective of this research was to analyze the variability of different bioactive characteristics during the whole fermentation process of chicha de Guiñapo produced under controlled conditions. Preliminary analyses were carried out to determine the appropriate inoculum for the fermentation process, the concentration of guiñapo and the fermentation time. A sugar-free inoculum from the Charito picanteria in the district of Characato was used, with a fermentation time of 26 hours and a concentration of 1:10 for both middlings and inoculum.

In addition, different bioactive characteristics of the chicha produced under controlled conditions were analyzed such as anthocyanin concentration, polyphenol concentration, antioxidant activity, inhibition potential of  $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ -glucosidase enzymes, microbiome composition and fermentative parameters such as pH, °Brix and titratable acidity of Chicha de Guiñapo, evaluating at 0 hours, 13 hours and 26 hours within the fermentative process. It was found that the bioactive characteristics show little variability during the fermentation process, making chicha de guiñapo a beverage of great importance for its nutritional value, in addition to the fact that the results obtained are the basis for future research, such as the analysis of metabolites derived from microbes and the establishment of starter cultures in the processing of beverages or foods that need inoculants, guaranteeing high quality beverages, the standardization of processes and the reduction of economic losses.

**KEY WORDS:** *Anthocyanins, polyphenols, antioxidant activity, Chicha de Guiñapo, microbiome..*

## INTRODUCCIÓN

Dentro de la cultura peruana el maíz morado (*Zea Mays L.*) cumple un rol importante tanto tradicionalmente como económicamente, este es un cereal, fuente de colorantes alimenticios, contiene pigmentos antocianídnicos, compuestos polifenólicos, almidón, además de ser considerado promotor de la salud por sus propiedades potenciales, actualmente, existen muchos productos tradicionales o industriales obtenidos a partir de maíz (1). La Chicha es un producto tradicional derivado del maíz, frutas u otros cereales, su receta varía en cada chichero (persona que tiene experiencia preparando chicha), dicha receta pasa de generación en generación, manteniéndose como una tradición (2). Dentro de la ciudad de Arequipa se prepara la Chicha de Guiñapo, la cual tiene como materia prima granos de maíz negro germinado, que popularmente se le conoce como guiñapo.

Actualmente, existen cerca de 100 picanterías que se encargan de preparar y repartir esta bebida, cantidad que ha ido disminuyendo notoriamente con el pasar de los años. Esta situación es preocupante ya que a medida que pasan los años la cultura y tradición gastronómica está en peligro de desaparecer (4).

La chicha de guiñapo es elaborada a diferencia de otras chichas con granos de maíz a medio germinar, muchas de las recetas también difieren en el tiempo de fermentación o en los aditivos colocados (5). Los diferentes procesos influyen en el producto final obtenido, dando características organolépticas únicas en cada elaboración.

Existen distintas investigaciones en las que se han caracterizado distintas bebidas fermentadas, dándole énfasis a su valor histórico y nutricional, algunos tipos de chicha de otros países o productos similares derivados de la fermentación del maíz se han caracterizado principalmente en el microbioma (6). Sin embargo, aún no se han investigado las diferencias durante el proceso fermentativo y su asociación con la bioactividad potencialmente relevante para la salud.

En este contexto, es importante realizar investigaciones en relación a la bioactividad y el potencial nutritivo de la chicha de guiñapo, ya que no existe evidencia científica que valore el efecto de la fermentación al producto final. Para ello es importante comprender el proceso de elaboración, tiempo de fermentación, inóculo a utilizar, entre otros. La obtención de esta información serviría para optimizar dicho proceso, además de integrar un producto inocuo y de calidad y con potencial nutritivo al mercado peruano.

Es por ello que esta investigación tiene como objetivo analizar la variabilidad de distintas características bioactivas existentes durante tres tiempos del proceso fermentativo (0,13, 26 horas) de la chicha de guiñapo, para ello se evaluarán los parámetros (tiempo, peso de guiñapo, volumen de agua, volumen de inóculo) que serán utilizados para la elaboración de la bebida. Se analizará la concentración de antocianinas, polifenoles, y la capacidad antioxidante, potencial de inhibición de las enzimas  $\alpha$ -amilasa y  $\alpha$ -glucosidasa, y la variación del microbioma durante las tres etapas mencionadas. Finalmente, se obtendrán los resultados para calificar a la chicha de guiñapo como una bebida funcional.



## HIPOTESIS

{

La Chicha de Guiñapo, presenta una variabilidad no significativa para sus principales características bioactivas durante el proceso fermentativo, lo que indica que el proceso fermentativo no afecta su potencial bioactivo.



## OBJETIVOS

### 1. Objetivo General

Analizar la variabilidad de las características bioactivas de la chicha de Guiñapo durante el proceso fermentativo, obtenida en condiciones controladas.

### 2. Objetivos específicos

1. Evaluar los parámetros fermentativos (tiempo de fermentación, concentración de guiñapo, concentración de inóculo) de la Chicha de Guiñapo bajo condiciones controladas, utilizando el fermentador LAMBDA MINIFOR, durante el proceso fermentativo.
2. Analizar la concentración de antocianinas, polifenoles totales, y capacidad antioxidante en diferentes etapas del proceso fermentativo de la Chicha de Guiñapo, por métodos *in vitro* y UHPLC-DAD.
3. Analizar el potencial de inhibición de las enzimas  $\alpha$ -amilasa y  $\alpha$ -glucosidasa de la chicha de Guiñapo en diferentes etapas del proceso fermentativo por métodos *in vitro*.
4. Evaluar la variación del microbioma durante el proceso fermentativo, utilizando el sistema ILLUMINA en un análisis Metagenómico de las regiones 16S e ITS.

## TABLA DE VARIABLES E INDICADORES

*Tabla 1. Tabla de variables significativas e unidades indicadoras*

<b>Variable dependiente</b>	<b>Valores de medición</b>	<b>Variable independiente</b>	<b>Valores de medición</b>
Concentración de antocianinas	(mgC3G/L)	Tiempos de evaluación	0 horas
Concentraciones de polifenoles	mgGAE/100ml		13horas
Capacidad antioxidante	UmolTE/ 100ml		26 horas
Inhibición de enzimas	%	Repeticiones de chicha	C1-C2-C3
Microbioma	unidades		

## GLOSARIO

**Guiño:** Maíz morado a medio germinar o con germinación interrumpida, seco y molido.

**Jora:** Maíz blanco o Amarillo, germinado, seco y molido.

**Concho:** Residuo de una chicha anterior. Contiene gran cantidad de sólidos, parecido al sedimento de la chicha.

**Inóculo:** Conjunto de organismos, pueden ser especies puras o consorcios, se utiliza para desarrollar un proceso, como la fermentación.

**Kculli:** Raza primitiva del maíz morado. Originaria del Perú.

**Chichero:** Persona que prepara chicha tradicionalmente.

**C<sub>3</sub>G:** Cianidin-3-glucosido.

**GAE:** Equivalentes a ácido gálico.

**SET:** Transferencia de un solo electrón.

**HAT:** Transferencia de átomos de hidrógeno.

**ITS:** Es la región espaciadora interna transcrita, específica de hongos.

**16S:** Región espaciadora de bacteria o arqueas.

**TPC:** Contenido de polifenoles totales.

**TAM:** Contenido total de antocianinas monoméricas.

**TAC:** Contenido total de antocianinas.

**UHPLC:** Cromatografía líquida de alta eficacia.

## CAPITULO I

### 1. Marco Teórico

#### 1.1. Maíz morado

El maíz (*Zea Mays*) es un cereal de gran importancia para la cultura peruana, el origen desconocido de este ha sido base de distintas investigaciones, las cuales toman a México como un posible punto de origen; sin embargo, gracias a la variedad de ecosistemas del Perú, se determinó que la mayor diversidad de maíz se ubica en este país (1) . Según Gobman (1961), la diversidad de variedades de maíz en el Perú tiene su inicio y auge en la época incaica con la selección intrapoblacional de individuos según el fenotipo (5). Es por ello que tenemos variedades como el “Kculli”, caracterizado por el color rojo oscuro/ morado de sus granos y coronta, mostrando gran cantidad de pigmentos antocianídnicos, Manrique en 1999 afirmó que las variedades de maíz morado provienen de dicha raza (5) (6). El maíz morado (*Zea mays L.*), nativo de los andes peruanos, es cultivado y consumido en gran parte de América del Sur, principalmente en Ecuador, Bolivia, Argentina y Perú; además de ser el ingrediente principal de alimentos tradicionales peruanos como las bebidas chicha morada, chicha de Jora, chicha de Guiñaño, el postre “mazamorra morada”, etc (7).

Gracias a la presencia de pigmentos antocianídnicos, el maíz morado ha sido tomado como una rica fuente de colorantes alimentarios a nivel mundial, habiéndose registrado que entre 1998 y 2002 la exportación de este maíz alcanzó el 467%, duplicando el precio por kilogramo. En el año 2002 se registró un total de 98,000 dólares en exportación de colorante derivado del maíz morado, mientras que en el año 2010 alcanzó un total de 187, 745,641 dólares. Según el Ministerio de agricultura, la producción nacional de maíz morado en el año 2015 fue de 21,089.12 toneladas. Desde 1993 el Perú exporta maíz morado a EE.UU. y Japón para fines de industria, y en menor escala a Francia, Inglaterra, España, Bélgica, y Venezuela, lo que posiciona a Arequipa como una de las ciudades productoras de maíz morado más importantes del Perú, siguiendo a Cajamarca y Lima (8).

### 1.1.1. Clasificación taxonómica

La clasificación taxonómica del maíz morado según el Sistema Integrado de Información Taxonómica es (9):

**Reino:** Plantae

**Subreino:** Viridiplantae

**Infrareino:** Streptophyta

**Superdivisión:** Embryophyta

**División:** Traqueofitas

**Subdivisión:** Espermatofitina

**Clase:** Magnoliopsida

**Superorden:** Liliana

**Pedido:** Poales

**Familia:** Poaceae

**Género:** *Zea*

**Especie:** *Mays*

**Nombre científico:** *Zea mays L.*

**Nombre común:** Maíz morado

### 1.1.2. Variedades o razas de Maíz morado:

La variedad o raza dentro de una especie es definida como una población con morfología y fisiología común, así como similitud en los genes que dan las características ya mencionadas (10). Dentro del Perú se tiene un aproximado de 55 grupos raciales de maíz, los cuales han sido clasificados según datos biométricos de la planta, mazorca y grano (11). En nuestro país, las razas de maíz han sido agrupadas en seis grupos de acuerdo a su proceso evolutivo: razas primitivas, consideradas como las más antiguas por tener relación o haber sido encontradas en estratos arqueológicos y de estar ligadas a la raza silvestre de maíz; razas derivadas de las primitivas; ya que derivan de estas ya

sea por hibridación, selección o aislamiento; razas de reciente derivación, todas aquellas que deriven de las primitivas y derivadas de primitivas; razas introducidas, aquellas que fueron importadas al Perú; razas incipientes, aquellas que son especiales y restringidas para algunos valles; razas no definidas; son aquellas que tienen su dispersión geográfica limitada (11) (12). Todas las variedades de maíz morado derivan de la raza primitiva denominada “Kculli”, la que tiene una antigüedad de 2500 años aproximadamente, encontrándose restos arqueológicos en zonas como Paracas, Ica, y Nazca (2). El ministerio de Agricultura y Riego registra como variedades derivadas de nativas al maíz a las conocidas como Morado Canteño, Morado Caráz, Morado Arequipeño, Morado Cusco y Negro Junín, las razas de reciente derivación que han sido mejoradas y obtenidas por el Instituto Nacional de Innovación Agraria son el maíz INIA 601, para la sierra norte (Cajamarca) y el maíz INIA 615 “Negro Canaán”, para la sierra centro y sur (Ayacucho, Junín, Apurímac, Cusco). Por otro lado, en la costa sur (Arequipa), las razas de mejoradas por la Universidad Nacional Agraria de la Molina son el maíz PMV-581 para la siembra en sierra media y el maíz PMV-582 para costa central (8).

### 1.1.3. Composición química

El *Zea mays L.* variedad morada consta de grano y coronta (85% y 15% respectivamente). El principal pigmento que presenta el maíz es la antocianina, que se ve en mayor concentración en la coronta (13). La composición química del maíz varía según la raza, los principales componentes químicos en el maíz morado son: ácido salicílico, lípidos, resinas, saponinas, sales de potasio y sodio, azufre, fósforo, y diversos compuestos fenólicos (14). Según diferentes autores se determina un aproximado en la composición química del maíz morado como se muestra en la Tabla 2.

**Tabla 2.** Composición química del maíz morado INIA-615 Negro Canaán (15).

Componente	Grano (100g)	Coronta( 100 g)
<b>Humedad (%)</b>	1.67	2.33
<b>Proteína (g)</b>	9.26	4.38
<b>Extracto Etéreo (%)</b>	22.18	30.55
<b>Energía (Kcal/100g)</b>	496.7	694.53
<b>Cenizas (g)</b>	1.89	0.35
<b>Carbohidratos (g)</b>	65.01	62.4

#### 1.1.4. Productos a base del maíz morado

El Instituto Nacional de Innovación agraria (INIA), realizó una investigación entre los años 2001 y 2005 en el que se estudió la conservación de los cultivos nativos y sus parientes silvestres, gracias a este proyecto pudo obtenerse información sobre el uso tradicional que se le da a las variedades nativas. También se obtuvo información de distintos usos que se le da al maíz, los cuales según los registros han sido clasificados en 5 categorías: uso alimenticio, uso de forraje, uso medicinal, uso para combustible, y uso para rituales tradicionales. Las partes más utilizadas son el grano, mazorca, panca, coronta, hojas, pistilos. El uso de maíz se ha tipificado en diferentes variedades con respecto a su procesamiento; por ejemplo, obtención de la chochoca a base de maíz, la harina de maíz que sirve para hacer principalmente bollos y panecillos; también mazamoras, tamales, tortillas y torrijas; la jora que es el grano germinado, secado y molido obtenido se consume en chicha, fresca o fermentada, mientras que el fermento restante se utiliza para sazonar comidas como el adobo; la machca (grano seco, tostado entero y molido con otros granos como cebada), el pelado (los granos se hierven en una solución alcalina con cal o ceniza, luego se pelan a mano y se secan al sol). Las formas de utilizar el maíz pueden ser, si se utiliza en grano verde y fresco, como choclo, en ensaladas, pastel de choclo; si se utiliza el maíz como grano en su estado maduro y seco puede obtenerse cancha, el cual es el maíz seco y tostado, chicha ya sea la morada que es hervir la mazorca y coronta en agua abundante o la fermentación de la jora, u otras

variedades de chicha que existen en todo el mundo. Así como estos, existen muchos productos tradicionales o industriales obtenidos a partir de maíz. La chicha morada es uno de los productos más conocidos nacional e internacionalmente, además, de ser uno de los más sencillos de preparar. La chicha de jora es preparada únicamente de manera tradicional, existiendo distintas formas de prepararla a nivel nacional ya sea por ciudad y regiones, y uso del tipo de maíz (3).

#### **1.1.4.1. Chicha:**

La Chicha es un producto tradicional derivado del maíz, frutas u otros cereales que tiene diferentes tipos de preparación en todo el Perú y en Latinoamérica. Según distintos autores la chicha es una bebida fermentada que tiene como materia prima distintos productos como el mosto de uva, la jora (malta de maíz), frutas u otros vegetales con características propias según su origen, diferenciándose en su preparación (16).

Actualmente, la elaboración de la Chicha es artesanal; cambia en cada chichero, persona que tiene experiencia preparando chicha, la cual tiene un método de preparación único con las recetas de cada uno de ellos habiendo pasado de generación en generación y persistiendo hasta la actualidad, tomándolo como herencia de sus antepasados. La chicha más representativa del Perú es la Chicha de Jora, derivada la Jora que es maíz completamente germinado, y que en lugares como Chiclayo, Huánuco y Trujillo se utiliza el maíz blanco, mientras que en lugares como Cajamarca, Cuzco, se utiliza maíz negro o morado (17).

Existen crónicas que son respaldadas por el médico y escritor peruano Hermilio Valdizan en la que se menciona la historia de la Chicha en el Perú. Se indica que en el mandato del inca Tupac Yupanqui la chicha fue descubierta por accidente, ya que debido a las abundantes lluvias el maíz almacenado comenzaba a germinarse, el cual para evitar la pérdida u contaminación con hongos, se consignó como alimento para los animales. Sin embargo, algunas personas logaron consumir el germinado fermentado, teniendo como consecuencia un estado de ebriedad (18). Haciendo llegar a oídos del inca la característica alcohólica de dicha bebida, se le decidió utilizar en celebraciones religiosas importantes como la celebración del Inti Raymi, fiesta en la que según la historia y su representación anual en Cusco el inca bebe chicha de Jora después haber dado su reverencia al dios Inti (dios Sol) (19). Desde entonces, la chicha de Jora ha tomado importancia en la historia, y su consumo se extendió por todo el Perú y partes

de Latinoamérica, ya que en su momento el imperio Inca estaba formado por Ecuador, Chile, Argentina y Perú. No es de extrañar que existan diferencias regionales por el tipo de maíz o grano utilizado, así como las costumbres propias de cada pueblo dentro del imperio incaico. Fue recién en la época de la conquista que los españoles empezaron a usar el término Chicha, de origen panameño y que significa maíz. Desde entonces la cultura de la chicha se posicionó como parte fundamental de la historia peruana, popularizándose como bebida tradicional en varias ciudades (20).

## 1.2. Chicha de Guiñapo

La Chicha de guiñapo es una bebida fermentada a base de maíz morado a medio germinar molido. Caracterizado por su color guinda. Está bebida es preparada en la ciudad de Arequipa. A diferencia de otras chichas en el Perú, en Arequipa la chicha se prepara con granos de maíz negro germinado, que popularmente se le conoce como Guiñapo.

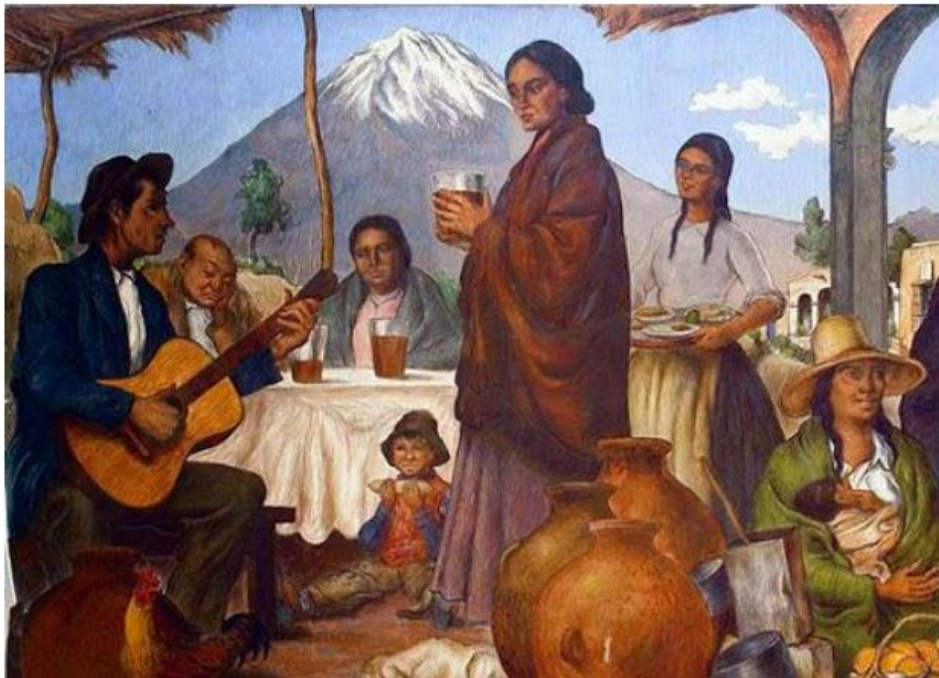
La ciudad de Arequipa está ubicada a 1,009 km de la ciudad de Lima y cuenta con 8 provincias: Arequipa, Camaná, Caravelí, Castilla, Caylloma, Condesuyos, Islay y la Unión. Cuenta con 1, 306,000 habitantes y es conocida como la ciudad Blanca, además de contar con una amplia diversidad gastronómica, y como se mencionó anteriormente, es uno de los principales productores de maíz morado y es productor de una de sus variedades como el Kculli. (8) (21).

### 1.2.1. Preparación de la Chicha de Guiñapo:

La elaboración de la Chicha de Guiñapo, así como la de otras chichas en el Perú, es artesanal. Cada chichero tiene su propia receta; sin embargo, la elaboración base de la bebida se mantiene constante entre recetas y su preparación consta de varios pasos, los cuales consisten en la germinación del maíz, secado del germinado, molienda, ebullición, filtrado, inoculación y fermentación. En Arequipa la chicha se prepara con granos de maíz negro germinado, que popularmente se le conoce como Guiñapo.

Existen referencias de la preparación de chicha en Arequipa desde el año 1575 en el mandato del virrey Toledo, el cual indicaba a dar ordenanza como sigue: “**Título XVIII: Que no haya tabernas de chicha en las rancherías sino en otras partes**”, a la vez después el mismo virrey fue quien declaró que era necesario la preparación de estas

chichas colocando en otra ordenanza lo siguiente:” *Parece que con esto se remedian los daños que suceden de la chicha, aunque hagan de sobra porque estando reposada no daña tanto y el principal daño es beberla en ayunas y sin medida.*”. (22)



**Figura 1.** Detalle del mural de Teodoro Núñez Ureta: La ciudad de Arequipa, representación de una picantería en la que se servía la chicha de guiñapo. Hotel Libertador de Arequipa, 1948. (23).

Según el historiador arequipeño Ventura Travada y Córdova, en el año 1752 existían un total de 3000 chicherías abiertas y para el año 1835 había un aproximado de 3 mil 200 chicherías concentradas en el Cercado, Yanahuara y Cayma, que se convirtieron en picanterías por ofrecer *picantes* además de la chicha de Guiñapo (4). La mujer tuvo un importante rol en la preservación de estas tradicionales picanterías, registrándose en el año de 1940 a 663 mujeres y 67 hombres trabajando en picanterías. La forma tradicional en cómo se ha manejado el consumo de chicha y picantes ha ido mejorando, pero manteniéndose con el paso de los años. Un rito importante en las picanterías era el uso de un brindis particular que tenía 3 pasos: tomar un vaso pequeño de chicha, conocido como *bebe*, luego de ellos se tomaba ya sea el *cogollo* o el *caporal* (Fig. 2), y finalizando con un *prende y apaga* que es la toma de *anís najar*. Actualmente, son las picanterías las que se encargan de repartir esta bebida, sin embargo, la cantidad de estas ha disminuido notoriamente con alrededor de 100 establecimientos actualmente. Esta situación es preocupante para la sociedad picantera de Arequipa pues a medida que pasan los años la cultura gastronómica está en peligro de desaparecer. (4)



**Figura 2.** Vasos Tradicionales para beber Chicha de Guinapo: bebe, cogollo y caporal. (24).

#### 1.2.1.1. Germinación:

Para la fermentación es importante la germinación para la transformación del almidón en azúcares fermentables. La germinación es un proceso que implica mecanismos metabólicos y morfogénéticos, los cuales tienen como único objetivo que el embrión se transforme en una plántula. La imbibición es considerada la primera etapa de la germinación, la cual consiste en la hidratación o la entrada de agua a la semilla. La segunda etapa está referida a un “sensu stricto” que implica la activación del metabolismo de la semilla. Esta etapa es esencial para poder llegar finalmente a la etapa de crecimiento o elongación, en la que se produce la exposición y crecimiento de la radícula (25).

El almidón es uno de los glúcidos de mayor concentración en los granos de cereal como el maíz, cuya hidrólisis sucede con la hidratación; de esta manera se obtiene la energía necesaria para poder activar el metabolismo de la semilla y convertir tanto el almidón como otros compuestos de reserva como las proteínas en azúcares simples y aminoácidos respectivamente. Estos recursos liberados por las enzimas producidas por la liberación de giberelinas son útiles para la etapa de elongación o exposición de radícula (26).

#### 1.2.1.2. Secado y molienda

Durante el secado ocurren transformaciones químicas que dependen de la temperatura. Si es baja (entre los 20 y 30°C) se observa aún el crecimiento lento del embrión, mientras

que en caso de una temperatura alta cercana o mayor a los 45°C se produce una reversión dentro del proceso de transformación de azúcares fermentables a polisacáridos no fermentables (27).

Una vez seco el maíz germinado se lleva a un molino para obtener partículas menores a 300 µm. Esta molienda se realiza para lograr una mejor cocción y obtener mayores concentraciones de material fermentable (27).

### **1.2.1.3. Cocción y filtrado:**

La cocción es necesaria para inmovilizar el almidón presente en el Guiñapo obtenido y lograr que el agua hidrolice este y otros compuestos como proteínas y azúcares logrando así su solubilización, además de garantizar la ausencia de microorganismos patógenos o agentes tóxicos (28). El filtrado es necesario para evitar el paso de sólidos de gran tamaño, que sean insolubles o difíciles de consumir.

### **1.2.1.4. Fermentación**

La fermentación es un proceso metabólico biológico generado por microorganismos y la mayoría de veces ocasionado por levaduras salvajes presentes en la materia prima. Se consideran 5 tipos de fermentaciones: la fermentación láctica, acética, butírica, de la glicerina y alcohólica; teniendo como principal sustrato a los hidratos de carbono (29). La chicha de Guiñapo se obtiene mediante una fermentación alcohólica, en la cual los azúcares obtenidos durante la germinación se oxidan mediante el ciclo de Krebs hasta ser convertidos en piruvato en la glucólisis. Posteriormente, el piruvato se descarboxila y se convierte en acetaldehído que finalmente se reduce a etanol, liberando dióxido de carbono. De la misma forma, las levaduras transforman otra parte del azúcar mediante la vía gliceropiruvica en ácido acético, ácido láctico, entre otros (30) (31).

Los microorganismos son los encargados de dar las características al producto final de la fermentación. En el caso de las propiedades organolépticas, la ruta metabólica nitrogenada forma productos como los alcoholes amílicos, isobutanol, 2 isobutanol entre otros, el azúcar se transforma en piruvato mediante la glicolisis, reduciéndose a acetolactato y llegando a transformarse en compuestos aromáticos activos, compuestos con olor sulfuroso entre otros (32).

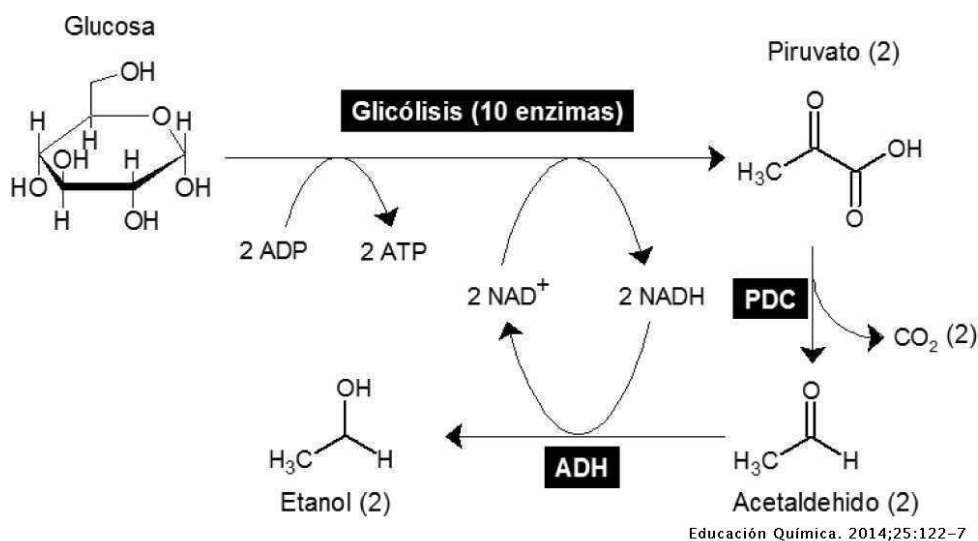


Figura 3. Ruta metabólica de producción de etanol. (33).

### 1.3. Compuestos Fenólicos

Los compuestos fenólicos son el grupo más extenso de metabolitos secundarios; son sustancias no energéticas las cuales desempeñan funciones importantes dentro de las plantas donde se les ve presentes. Las funciones que realizan los polifenoles son: intervención dentro el crecimiento y reproducción de las plantas, además de protegerlas frente a organismos patógenos, predadores e incluso radiación ultravioleta. Las características organolépticas están ligadas a la concentración de estos compuestos. La actividad antioxidante, es otra función importante de los compuestos fenólicos y su capacidad depende de su estructura, posición y el número de los grupos hidroxilo y la naturaleza de las sustancias en los anillos aromáticos. La obtención de los compuestos polifenólicos se da por dos rutas metabólicas las cuales son la ruta del ácido shikímico y la ruta de los poliacetatos (34) (35) (36).

Los compuestos fenólicos se caracterizan por presentar un anillo de benceno aromático con uno o varios grupos hidroxilo; por ejemplo, los fenoles simples tienen 2 o 3 grupos hidroxilos en el anillo aromático y la mayoría de los cereales presentan derivados del resorcinol. La presencia de compuestos fenólicos en los alimentos es un área de investigación continua. Los derivados de ácidos hidroxicinámicos e hidroxibenzoicos presentan grupos carboxilos; dentro de ellos son considerados los ácidos fenólicos. Los ácidos hidroxibenzoicos se diferencian por la presencia del grupo carboxilo, debido a la unión de este grupo a un radical metil ( $\text{CH} = \text{CH-COOH}$ ), se observa una mayor

capacidad antioxidante por una mayor separación del grupo carbonilo al anillo, en la Tabla 3 se puede observar la clase y estructuras de compuestos fenólicos (37).

**Tabla 3.** Estructura y clase de compuestos Fenólicos (36).

ESTRUCTURA	CLASE
C6	Fenoles simples, benzoquinonas.
C6-C1	Ácidos hidroxibenzoicos.
C6-C2	Acetofenona, ácido fenilacético.
C6-C3	Ácido hidroxicinámico, fenilpropanoides.
C6-C4	Naftoquinonas
C6-C1-C6	Xantonas
C6-C2-C6	Estilbenos, antraquinonas.
C6-C3-C6	Flavonoides, isoflavonoides.
(C6-C3) <sub>2</sub>	Biflavonoides
(C6-C3) <sub>n</sub>	Ligninas
(C6-C3-C6) <sub>n</sub>	Taninos condensados (proantocianidinas).

Otros compuestos fenólicos son las cumarinas presentes en frutas y hortalizas. Las xantonas, estilbenos y benzofenonas tienen en común la presencia de dos anillos aromáticos, mientras que las quinonas y betacianinas presentes en la remolacha son causantes de su color rojo. Por último, los lignanos y las ligninas son algunos de los polímeros más representativos dentro del reino vegetal (35) (37).

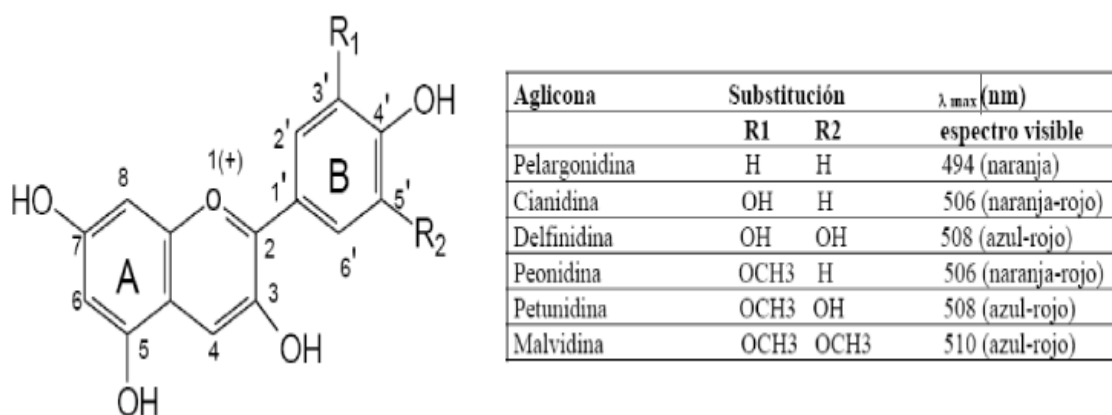
La chicha de Guiñapo tiene como materia prima al maíz morado germinado, cuya alta concentración de compuestos fenólicos es notoria por el color morado o negro presente. También se puede encontrar los flavonoides (antocianinas), ácidos fenólicos, amidas fenólicas y ácido ferúlico (38).

No existen antecedentes de un perfil polifenólico de la chicha de Guiñapo, pero sí del maíz morado, constituyendo de esta forma un antecedente de investigación con respecto a la fermentación del maíz, ya que dentro del proceso fermentativo existen biotransformaciones de compuestos iniciales. Los compuestos fenólicos encontrados en el maíz morado fueron los siguientes: ácido *p*-cumárico, ácido cafeico, ácido ferúlico, derivados de ácido ferúlico, flavonoides, derivados del ácido *p*-cumárico, Quercetina (39).

#### 1.4. Antocianinas:

Las antocianinas son pigmentos hidrosolubles, con la característica de estar presentes en plantas florecientes, flores, frutos, hojas y órganos con una variedad de colores de escarlata a azul. Químicamente, las antocianinas se presentan en unidades de glucósidos de las antocianidinas; formándose en agliconas, a la que se le une un azúcar por medio de un enlace  $\beta$ -glucosídico. Se conocen un aproximado de 20 agliconas, siendo las más importantes la pelargonidina, delphinidina, cianidina, petunidina, peonidina y malvidina; cuyos nombres que derivan de la fuente vegetal de donde se aislaron por primera vez (40).

La unión de las agliconas y los distintos tipos de azúcares o hidratos de carbono forman más de 150 tipos de antocianinas. El color de las antocianinas se define por los sustituyentes químicos que contenga y la posición de los mismos en el grupo flavilio (Figura 4). Es por ello que el color azul se da en presencia de varios anillos fenólicos el grupo hidroxilo, y si agregó metoxilos intensifica el color rojo (41).



**Figura 4.-** Estructura y sustituyentes de las antocianinas (42).

Investigadores del Departamento de Horticultura de Texas A & M Universidad de College Station, Texas cuantificaron la media de antocianina contenida en maíz morado fresco entero y lo compararon con arándanos (una de las fuentes más ricas de este compuesto). Los contenidos de antocianina para maíz morado entero fueron 1642 mg por 100 g de muestra, mientras que el contenido de antocianina de los arándanos osciló entre 138-385 mg por 100 g. Cuando la actividad antioxidante del maíz morado se comparó con la del arándano usando el método del radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH), el maíz

morado tenía, significativamente, 3.8 veces el total de capacidad antioxidante del arándano (43).

## 1.5. Actividad antioxidante

La actividad antioxidante de un compuesto depende de la posición del grupo hidroxilo. Dentro de los compuestos fenólicos, los flavonoides (antocianinas) predominan como los polifenoles más típicos para el consumo humano debido a su presencia en los alimentos de origen vegetal, razón por la cual el consumo de estos compuestos son diarios. El rango de consumo es de 25 mg a 1g por día, dependiendo del tipo de dieta (frutas, vegetales, granos, té, especias) expresados como ácido gálico (44).

El interés en el conocimiento de los flavonoides ha aumentado ya que presenta una actividad farmacológica. Estos tienen afinidad a los polímeros biológicos (enzimas, transportadores de hormonas y DNA); por lo que se pueden unir a estos, además pueden quelar iones metálicos transitorios, tales como  $Fe^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$ , inhibir los radicales libres. Es por ello que se les da la funcionalidad de inhibir o reducir casos de enfermedades crónicas no transmisibles como diabetes mellitus, cáncer, cardiopatías, etc (45).

Las antocianinas son pigmentos fenólicos que tienen una estructura química adecuada para actuar como antioxidantes, pudiendo donar hidrógenos o electrones a los radicales libres o bien atraparlos y desplazados en su estructura aromática. Se les conoce como antioxidantes ya que el grupo aromático posee la capacidad de soportar el des apareamiento de electrones por desplazamiento del sistema de electrones- $\pi$ , (46).

La alta capacidad antioxidante presente en distintos alimentos es necesaria para combatir los radicales libres generados por el organismo. Los radicales libres son moléculas que tienen un electrón desapareado, lo que puede provocar enfermedades y llevar al organismo en un estrés oxidativo (47).

### 1.5.1. Métodos para analizar la capacidad antioxidante

Para determinar la capacidad antioxidante es necesario aplicar procesos en los que se utilicen compuestos antioxidantes en un proceso de oxidación controlada. Se pueden observar una clasificación de los modelos de ensayo in vitro según su modo de reacción SET (Transferencia de un solo electrón) o HAT (Transferencia de átomos de hidrogeno). Dentro del modo de reacción SET, se puede observar los ensayos, Ácido 2,2'-azino-bis-3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico (ABTS); 2,2-difenil-1-picril-hidrazilo (DPPH), el poder de

reducción antioxidante del hierro (FRAP), N,N- dimetil-p-fenilendiamina (DMPD), N,N-dimetil-p-fenilendiamina (DMPD) y la Capacidad de reducción antioxidante del cobre (CUPRAC); y dentro de la categoría HAT tenemos al ensayo de la Capacidad de absorción del radical oxígeno (ORAC), Parámetro antioxidante de captura de radicales (TRAP), Inhibición de la oxidación del ácido linoleico e Inhibición de la oxidación de los lípido de baja densidad (LDL) (48).

## **1.6. Actividad Antihiper glucémica**

La diabetes es una enfermedad que puede causar complicaciones graves si los niveles de glucosa en sangre no se controlan adecuadamente. En el Perú se observa un 7% de adultos con diabetes mellitus (tipo 1 y 2), siendo la tipo 2 la más recurrente alcanzando el 97%. La diabetes tipo 2 ocupa el 8vo lugar de muertes, el 6to por causar ceguera y el principal por causar la enfermedad crónica renal (ECR). También el 31.5% de infartos cardiacos y el 25% de accidentes cerebro vasculares (ACV) ocurren en pacientes diabéticos (49). Arequipa presenta un índice del 7% en diabetes tipo 2, y ocupa el 2do puesto de casos de diabetes a nivel nacional, después de Lima. (50).

En los Estados Unidos hay un número creciente de adolescentes y adultos que tienen prediabetes, mientras que 25,6 millones de personas tiene diabetes, convirtiendo a esta enfermedad en una silenciosa causa mortal de mucho cuidado. Es por ello que se busca evaluar la inhibición de las enzimas como las amilasas y las glucosidasas, encargadas de metabolizar los hidratos de carbono (51), la acarbosa inhibe las enzimas mencionadas, es recetada como agente terapéutico para el control de la hiperglicemia, su acción consta de unirse a los sitios de unión de las enzimas, impidiendo así la unión y posterior hidrólisis enzimática de carbohidratos por parte de las amilasas y glucosidasas (52) .

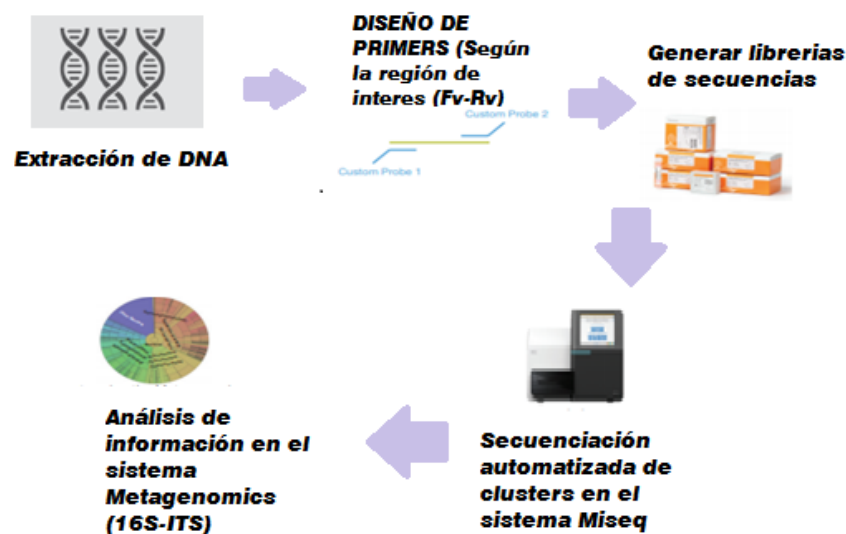
## **1.7. Análisis metagenómico realizado en bebidas fermentadas**

### **1.7.1. Metagenómica**

El análisis del microbioma presente en una muestra, comúnmente era realizado con técnicas moleculares como la PCR cuantitativa o el método de Sanger, utilizando a su vez la electroforesis en gel o la hibridación fluorescente in situ, la región a analizar dependía del tipo de muestra. Actualmente, la Metagenómica es una técnica que se utiliza para

poder estudiar la composición microbiana de una muestra, evitando la clonación y cultivo, disminuyendo el tiempo y coste económico del mismo análisis y aumentando la eficiencia de los resultados (53). A menudo se realizan estudios metagenómicos de poblaciones microbianas, utilizando el gen procariota 16S ribosomal RNA que contiene regiones conservadas y variables que facilitan la secuenciación y clasificación filogenética. Se necesita aislar el DNA presente de la muestra a analizar, se prepara una biblioteca, seguida de la secuenciación, y un análisis completo de la data obtenida. Se realiza un análisis de extremo a extremo para la región 16S. Al combinar el protocolo de preparación de bibliotecas, el sistema MiSeq y un software de análisis simple, se pueden analizar muestras microbianas complejas de forma rápida y sencilla (54) (Fig. 5).

En el caso de los hongos se analiza la región ITS, un marcador de DNA común para una identificación de hongos a nivel de especie es la región del espaciador interno transcrito (ITS) del cistron de rRNA. Utilizar esta región para poder conocer los microorganismos que interactúan en procesos biológicos importantes como la simbiosis, la descomposición y la progresión de la enfermedad, incluida la micosis cutánea (55) (Fig. 5).



**Figura 5.-** Flujo de trabajo del análisis metagenómico 16S-ITS (54).

Los alimentos fermentados han sido investigados ampliamente, gracias a las propiedades que el mismo proceso de fermentación otorga. La concentración de microorganismos presentes dentro de cada proceso fermentativo se han tornado de gran importancia,

logrando evaluar la participación de cada microorganismo presente y darle un enfoque de análisis total llegando a un enfoque multiómico involucrando información de biotransformación por medio de cada sistema metabólico de cada microorganismo y otros estudios relacionados. La importancia del estudio metagenómico de alimentos fermentados tradicionales, se centra en poder identificar grupos de microorganismo que pasan desapercibidos en otros análisis por estar en bajas concentraciones, y también poder ligarlo con un estudio metabolómico, que se encargara en sí en identificar y cuantificar todos los metabolitos presentes en un ecosistema y de esta manera poder mejorar la calidad de estos alimentos para un mejor aprovechamiento de sus propiedades bioactivas (56).

### 1.7.2. Análisis metagenómicos realizados en bebidas fermentadas

Existen muchos alimentos que pasan un proceso fermentativo para poder llegar a su presentación final antes de su consumo, la mayoría son preparados artesanalmente por ende no hay conocimiento del contenido microbiano existente en estos alimentos, sin embargo, hoy en día sigue aumentando las investigaciones en donde se analizan e interpretan el contenido y la función de la microbiota presente en bebidas tradicionales fermentadas. Por ejemplo: En China existe una bebida fermentada conocida como *da-jiang*, esta bebida elaborada a base de soja, la cual ha sido ampliamente investigada en cuanto a su inoculación ya que al ser una bebida tradicional es de suma importancia dentro de la cultura de la misma, se menciona que esta bebida de más de dos mil años de historia paso de una inoculación natural a una sintética, ya que de esta manera se consume una bebida inocua y altamente productiva. Entonces analizar la función microbiana en la fermentación de *da-jiang* y controlar los puntos críticos de fermentación es importante para lograr una alta producción y un consumo seguro (57). Se realizó un análisis metagenómico del *da-jiang* donde se determinó la participación de 248 géneros, incluidas 841 especies, donde se destacan la *Pseudomona Chlororaphis* y *Pseudomonas fluorescens*, además de su participación en aspectos como el color de la bebida y la producción de compuestos bioactivos como tiramina e histamina (57).

Así también como la Tarhana, bebida tradicional de Turquía de la misma manera investigar la participación de toda la microbiota presente es de suma importancia para mantener un consumo seguro de esta bebida, además de que se conoce la abundancia de los géneros *Bacillus* y *Clostridium*, los cuales son los principales organismos que actúan dentro de la

fermentación, se reconocieron otros géneros y especies importantes para futuras investigación alrededor de esta bebida gracias al análisis metagenómico realizado (58).

Entonces el análisis metagenómico en la chicha de guñapo es importante, ya que hasta el momento no existe una base de datos que mencione con exactitud la participación de microorganismos dentro de esta fermentación, además de que esta bebida es de suma importancia para la cultura Arequipeña.



## CAPÍTULO II

### 2. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 2.1. Lugar de investigación

El presente trabajo de investigación se realizó en el Laboratorio de Ciencia de Alimentos de la Vicerrectoría de Investigación (Pabellón F-404) de la Universidad Católica De Santa María.

#### 2.2. Materiales

##### 2.2.1. Materia prima

- Guiñapo: Maíz germinado y molido en condiciones controladas. El maíz fue obtenido en la localidad de Corire de la ciudad de Arequipa, Perú. El maíz utilizado es una semilla autorizada por SENASA denominada INIA 615 Negro Canaan, el certificado se puede observar en el Anexo 1.
- Inóculo: El inóculo o concho utilizado fue de la picantería la Charito del distrito de Characato.

##### 2.2.2. Equipos y materiales

- Agitador magnético (ASHA serie, A & amp, China).
- Kit Fermentador LAMBDA MINIFOR.
- Agitador orbital (SK-O330-Pro, SCIOLOGEX, EEUU).
- Balanza analítica (Explorer® Analítica, OHAUS, EEUU).
- Bomba al vacío (2546, Welch, Alemania)
- Campana extractora (FHI800(P), BIOBASE, EEUU).
- Centrífuga (Hettich, Rotofix 32A).
- Cocina eléctrica (Dinamic Inox Duo - MGF: 8022, Magefesa, EEUU).
- Espectrofotómetro (Evolution 201, Thermo Scientific, EEUU).
- Estufa de secado ( MEMMERT, UN750)
- Lector de microplacas (Sinergy, HTX)

- Potenciómetro (HI 3220, HANNA Instruments, Italia).
- Rotavapor con baño maría y bomba de vacío (Rotavapor® R-100, Buchi, Alemania).
- Sistema de producción de agua ultrapura (Simplicity®, MERK, EEUU).
- Vortex (WIZARD IR Infrared Vortex Mixer, Velp Scientifica, Italia).

### Reactivos

- Metanol p.a. (Merck).
- ABTs (2,2-azinobis-(3 etilbenzotiazolin-6-sulfónico)) 98% (Sigma-Aldrich).
- Trolox (6 – hidroxil - 2, 5, 7, 8 –tetrametilcroman–2- ácido carboxílico) 97% (Sigma-Aldrich).
- Ácido Clorhídrico p.a. (Merck).
- DPPH (2,2-Difenil-1-picrilhidrasil) 98% (Sigma-Aldrich).
- Fosfato Dipotásico p.a. (Merck).
- Fosfato Mono potásico p.a. (Merck).
- 4-nitrofenil- $\alpha$ -D-glucopiranososa (N1377-5G) (Merck).
- Acarbosa 95% (Merck).
- $\alpha$ -amilasa pancreática (Type VI-B,  $\geq 10$  unid/mg; Sigma, A3176-10 MU) Número EC 232-565-6.
- $\alpha$ -glucosidasa de levadura (Sigma, G5003-100UN) Número EC 232-604-7.
- Difosfato de Sodio ACS (Merck).
- Fosfato Disódico p.a. (Merck).
- Almidón p.a. (Merck).
- DNS (ácido dinitrosalicílico) 98% (Sigma-Aldrich).
- Ácido Gálico p.a. (Merck).
- Reactivo de Folin Ciocalteau (Merck)
- Carbonato de sodio p.a. (Merck)
- Cloruro de potasio p.a. (Merck)
- Acetato de sodio p.a. (Merck)
- Acetonitrilo p.a. (Merck)
- Ácido Fórmico p.a. (Merck)

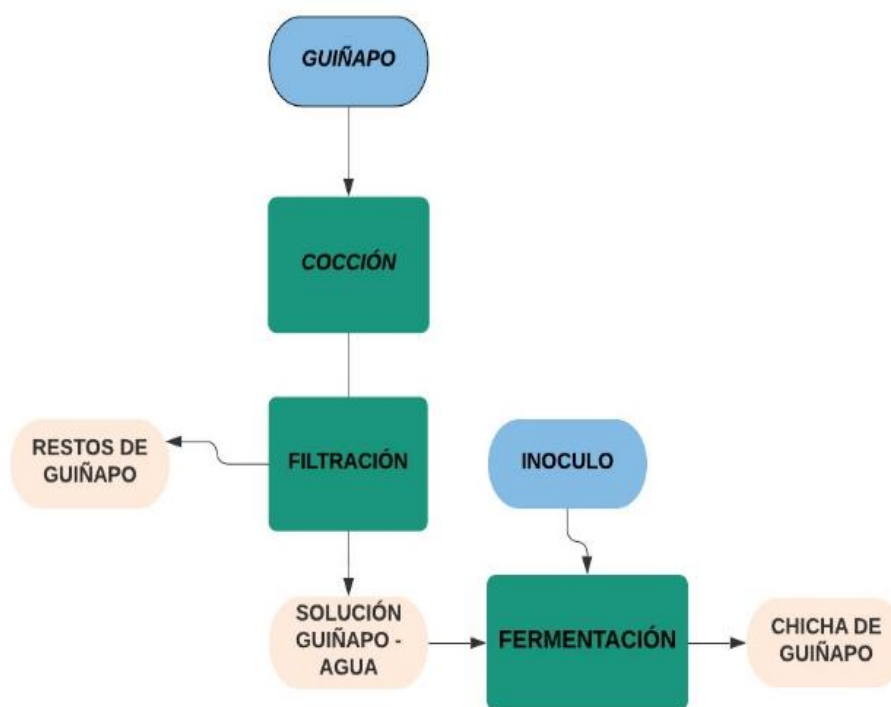
### **Materiales de vidrio y otros**

- Pipetas de vidrio de 1, 5 y 10 ml.
- Probetas de 10, 50, 100 y 500 ml.
- Tubos de centrifuga 15 y 50 ml.
- Tubos de ensayo de 25 ml.
- Tubos de microcentrifuga 2 ml.
- Vasos de precipitado 50 y 250 ml.
- Columnas SPE 6 ml Thermo Scientific™ HyperSep™ Verify-CX
- Frascos ámbar 1 L.
- Matraz aforado de 5, 10 y 500 ml.
- Micropipetas de 0.2-20  $\mu$ l, 20-100  $\mu$ l, 100-1000  $\mu$ l y 500-5000  $\mu$ l.
- Microplacas (transparente) 96 pocillos de 400 $\mu$ l c/u.

## **2.3. Metodos**

### **2.3.1. Determinación de los parámetros fermentativos de la Chicha de Guiñapo bajo condiciones controladas.**

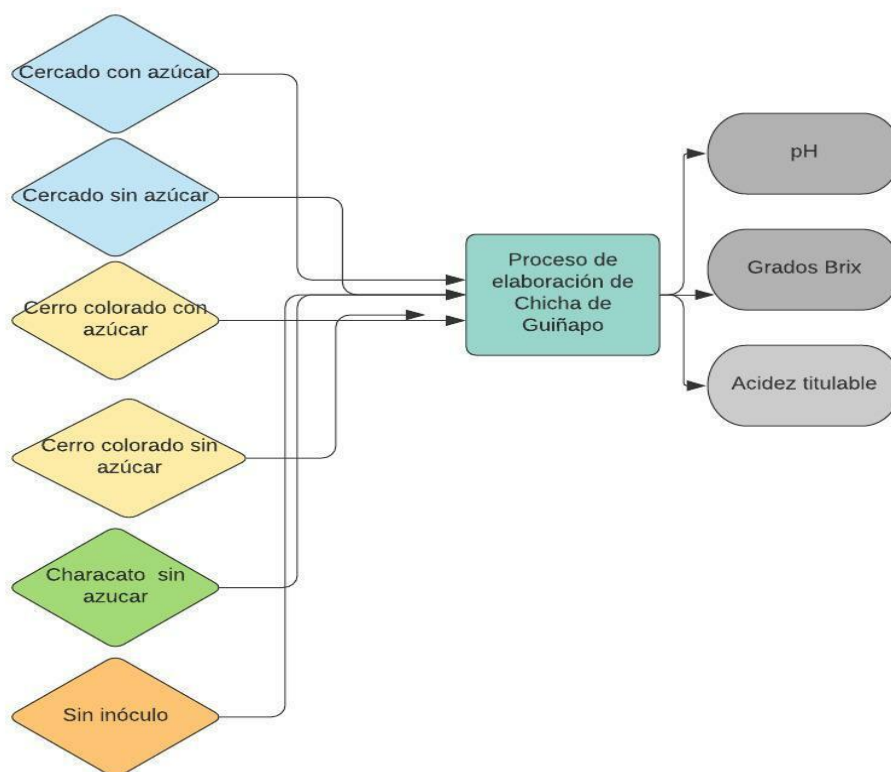
Para la determinación de los parámetros fermentativos para la elaboración de la chicha, se siguió el procedimiento mostrado en la figura 7. Para poder obtener un proceso óptimo de elaboración de Chicha de Guiñapo fue necesario determinar: La cantidad de inóculo, la concentración del guiñapo y el tiempo de fermentación.



**Figura 6.-** Flujograma del proceso de elaboración de chicha

### 2.3.1.1. Determinación de inóculo

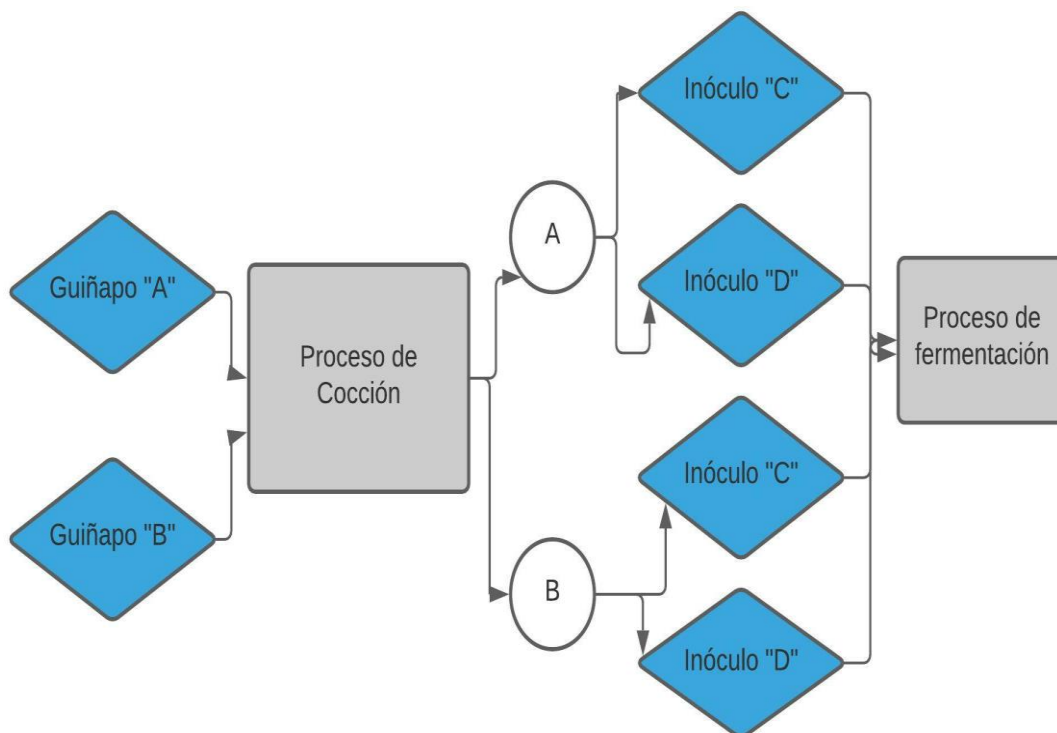
Los inóculos elegidos fueron recolectados en los mercados principales según su popularidad de los distritos de Cercado (inóculo con azúcar y sin azúcar), Cerro Colorado (inóculo con azúcar y sin azúcar), y de una picantería en el distrito de Characato, ya que según Vargas-Yana et al. (2020) este chicha mostró excelentes resultados en los análisis realizados en su investigación (59). Para realizar el experimento se tomó como referencia el uso de 100 g de Guiñapo para 2 L de agua, este se llevó a cocción durante 1 hora a partir de la ebullición, obteniendo un volumen final de 1 L. La solución se repartió en volúmenes de 100 ml en botellas de pirex estériles, a las que se les agregó 8.33 ml de inóculo o concho (se utilizaron los conchos recolectados). El tiempo de fermentación fue de 24 horas. Finalmente, se tomaron muestras de las unidades experimentales (UE), los cuales fueron 6, y se almacenaron para los respectivos análisis.



**Figura 7.** Flujograma de elección de inóculo

### 2.3.1.2. Determinación de concentración de Guiñapo e inóculo

En esta prueba preliminar se utilizaron 4 unidades experimentales. Para esto se tomó como referencia un tiempo de fermentación final de 24 horas y tiempo de cocción por 1 hora a partir de la ebullición (60). Estos análisis preliminares buscaron determinar la concentración de Guiñapo con agua para la etapa de cocción, y la concentración inóculo con la solución de cocción para la etapa de fermentación. Se tiene como concentración de **Guiñapo "A"** a una concentración de 1:10 ( en este caso 200 gramos de Guiñapo en 2 litros de agua), los que tienen la concentración de **Guiñapo "B"** se refiere a una concentración de 1:20 (en este caso tiene 100 g Guiñapo en 2 litros de agua), en el caso de la concentración del **Inóculo "C"** tienen una concentración de 1:10 ( en este caso 40 ml de concho en un volumen final de 400 ml) y el **Inóculo "D"** una concentración de 1:5 (teniendo 80 ml de inóculo en un volumen final de 400 ml). Se realizaron dos tomas de muestra de 15 ml cada una, después se llevó a centrifugación de 3500 RPM durante 5 minutos. Finalmente se almacenaron a 4°C para los análisis necesarios.



**Figura 8.-** Flujograma de ensayos para elección de concentración de Guiñapo y de inóculo

### 2.3.1.3. Determinación de tiempo de fermentación

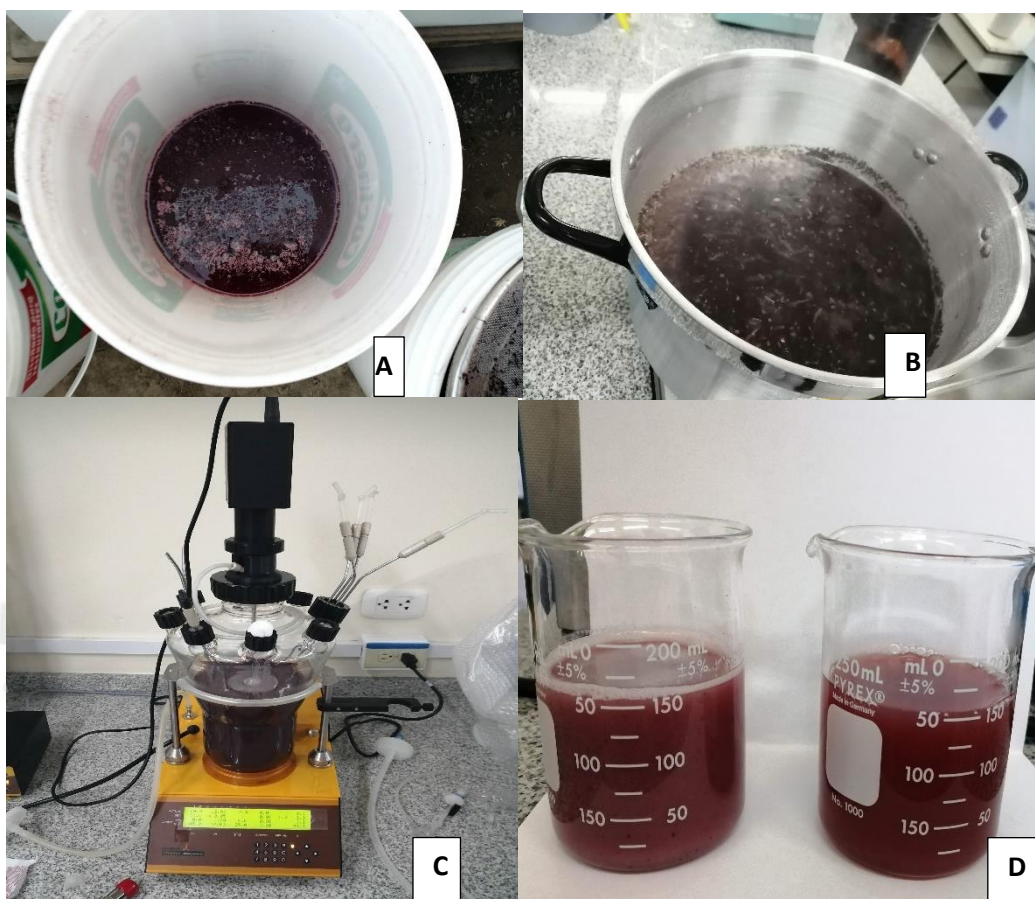
Para determinar el tiempo de fermentación se siguió el proceso de elaboración de Chicha de Guiñapo, siendo en la etapa de fermentación la que se llevó a evaluación tomando en cuenta una fermentación continua hasta 48 horas, tomando muestra a las 0 horas, 19 horas, 24 horas, 26 horas, 28 horas, 42 horas y 48 horas, para después realizar los análisis pertinentes, este ensayo se realizó en el fermentador LAMBDA MINIFOR.



**Figura 9.** Ensayo de determinación de tiempo de fermentación

### 2.3.2. Elaboración de Chicha de Guiñapo

Se llevaron a cabo 3 procesos fermentativos en el Kit Fermentador LAMBDA MINIFOR, las cuales serán denominadas como chicha 1 (C1), chicha 2 (C2), y chicha 3 (C3). Las 3 siguieron el mismo patrón en su elaboración según la figura 10, con la única diferencia el volumen de inóculo colocado, siguiendo el patrón de concentración 1:10 v/v. El tiempo de fermentación fue de 26 horas. Se tomaron muestras de las chichas elaboradas a las 0 horas, 13 horas y 26 horas del proceso de fermentación, tomando 6 alícuotas de 50 ml de muestra en tubos falcon, 2 tubos se almacenaron en refrigeración para el análisis proximal, otros 3 tubos se sometieron a centrifugación refrigerada de 15 min a 3500 RPM, interesándonos el sobrenadante para otros análisis que se realizaron; y el último tubo se mantuvo en almacenamiento a -20 °C para análisis Metagenómico.



**Figura 10.** Proceso de elaboración de chicha de Guíñapo. A. Inoculo. B. Cocción. C. Instalación del equipo Fermentador LAMBDA MINIFOR. D. Chicha final

### 2.3.3. Análisis fisicoquímicos

Se realizaron los ensayos de grados Brix, acidez titulable y pH, para cada muestra de chicha obtenida a las 0 horas, 13 horas y 26 horas de fermentación. Para el ensayo de grados Brix, las muestras estuvieron a 20°C y se utilizó un refractómetro, para pH se utilizó un medidor de pH, la acidez titulable se determinó por el método de AOAC 942.15 (61).

### 2.3.4. Análisis proximal

El análisis proximal de las muestras de chicha se realizó en el laboratorio de control de calidad de la Universidad Católica de Santa María, en el que obtuvieron resultados para:

- Determinación de proteínas –método Kjeldahl AOAC (62).

- Determinación de humedad AOAC (61).
- Determinación de fibra cruda, NTP (63).
- Determinación de grasa, NTP (64).
- Determinación de ceniza, NTP (64).
- Determinación de hidratos de carbono, método utilizado por cálculo.
- Determinación de contenido calórico, método utilizado por cálculo.
- Determinación de azúcares reductores directos y totales en alimentos (65).

### **2.3.5. Análisis de la concentración de antocianinas y compuestos polifenólicos, capacidad antioxidante en diferentes etapas del proceso fermentativo de la Chicha de Guíñapo, por métodos in vitro y UHPLC-DAD.**

#### **2.3.5.1. Contenido fenólico total (TPC)**

El contenido fenólico total se determinó mediante el método de Folin-Ciocalteu (66). Para ello se pesaron 3 gramos de ácido gálico, se llevaron a una fiola y se enrazó a un volumen de 25 ml teniendo una concentración de 120 mg/ml. Luego de ello se realizó una curva de calibración con distintas concentraciones de ácido gálico (Tabla 4) para un volumen de 500  $\mu$ l. A cada cubeta se le agregaron 250  $\mu$ l de reactivo de Folin Ciocalteu 1N y 1250  $\mu$ l de Carbonato de Sodio al 25%, para luego ser leídos en un espectrofotómetro de UV visible a 755 nm. Para la evaluación de las muestras se diluyeron 1:20 con agua ultra pura en un volumen final de 1000  $\mu$ l, tomando 500  $\mu$ l y agregándole 250  $\mu$ l de reactivo de Folin y 1250 de carbonato de Sodio. Por cada muestra se hizo un triplicado de ensayos y lecturas. El resultado final, se determinó en unidades de miligramos de equivalentes de ácido gálico (GAE) por 100 ml de Chicha.

**Tabla 4.** Datos para la curva de Calibración de contenido total de polifenoles

Solución Madre	Agua mili-Q	mg de ácido gálico/ml	Reactivo de Folin	Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>
20µl	480µl	0.0048	250 µl	1250 µl
40µl	460µl	0.0096	250 µl	1250 µl
60µl	440µl	0.0144	250 µl	1250 µl
80µl	420µl	0.0192	250 µl	1250 µl
100µl	400µl	0.0240	250 µl	1250 µl
120µl	380µl	0.0288	250 µl	1250 µl
140µl	360µl	0.0336	250 µl	1250 µl
160µl	340µl	0.0384	250 µl	1250 µl
Blanco	500 µl	-	250 µl	1250 µl

### 2.3.5.2. Análisis de capacidad antioxidante

El análisis de actividad antioxidante se analizó según los métodos de Pérez Jiménez (67), el método 2,2'-azino-bis (ácido 3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico) (ABTS) y el método de 2,2-difenil-1-pirilhidrazilo (DPPH). En ambos métodos se calcularon los porcentajes de actividad inhibitoria obtenidos de los ensayos de captación de radicales DPPH y ABTS y los resultados se expresaron como µmol de equivalentes de Trolox (TE) por 100 mL de Chicha utilizando una curva de patrón Trolox (100 a 900 µM) para ambos métodos.

#### 2.3.5.2.1. Capacidad Antioxidante por ABTS:

Se preparó la solución madre pesando 0,0168 g de Peroxidodisulfato de Potasio (K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub>) junto a 0,0960 g de Sal diamonio 2,2-Azino-bis (3-ethylbenzotiazoline-6-sulfonicacid) (ABTS\*) en 25 mL de agua destilada. Se dejó en agitación por 16h a T° ambiente en oscuridad, y se dejó en refrigeración. La solución de trabajo ABTS, se obtuvo al diluir con metanol la solución madre ajustando su Abs a 0.700±0.002. La solución stock (Trolox) se preparó a una concentración 2,5 mg/10 mL de solvente (metanol). Se

construyó una curva de calibración de acuerdo a la tabla 5, a la que se le agregaron 3.9 ml de ABTS solución de trabajo, se dejó incubar en oscuridad por 6 minutos y se llevó a lectura a 734 nm. También se tuvieron controles a los que se les agregaron 100 µl de metanol y 3,9 ml de ABTS, con las lecturas de absorbancia mostradas se analizaron el % de inhibición utilizando la siguiente formula:

$$\%Inhibición = \frac{(abs\ control - abs\ muestra) * 100}{abs\ control}$$

Ya teniendo el porcentaje inhibición del Trolox, se armó una curva en la que se obtuvo una ecuación de la recta, con ella se interpolaron las absorbancias obtenidas de las muestras de chicha, para ello se tomaron 100 µl de muestra y se le agrego 3.9 ml, se dejó incubar en oscuridad por 6 minutos y se leyó a 734 nm.

**Tabla 5.** Datos para la curva de Calibración para ABTS.

N°	µM TE	SOL. STOCK (µl)	VOL. AFORO (µl de metanol)
1	100	100	1000
2	200	200	1000
3	300	300	1000
4	500	500	1000
5	700	700	1000
6	800	800	1000
7	900	900	1000

#### 2.3.5.2.2. Capacidad Antioxidante por DPPH:

Se preparó una solución madre de 2,2-Difenil-1-picrilhidrasil (DPPH), con concentración 12.5 mg /100 mL metanol. A partir de esta se preparó una solución de trabajo en la que se colocaron 25 ml de DPPH solución madre y 975ml de metanol para obtener una concentración de 2.5 mg/100 ml. La solución stock (Trolox) tuvo una concentración de 2,5 mg/10 mL metanol y con esta se construyó una curva de calibración como se muestra en la tabla 6. Se le agregaron 3.9 ml de DPPH, se dejó incubar por 25 minutos en oscuridad y se llevó a lectura a 515 nm. Se tuvieron controles a los que se les agregaron 100 µl de metanol y 3,9 ml de DPPH, con las lecturas de absorbancia mostradas se analizaron el % de inhibición utilizando la siguiente formula:

$$\%Inhibición = \frac{(abs\ control - abs\ muestra) * 100}{abs\ control}$$

**Tabla 6.** Datos para la curva de Calibración para DPPH.

N°	uM TE	SOL. STOCK (µl)	VOL. AFORO (µl de metanol)
1	100	100	1000
2	400	200	1000
3	300	300	1000
4	500	500	1000
5	800	800	1000
6	900	900	1000

Ya teniendo el porcentaje inhibición del Trolox, se armó una curva en la que se obtuvo una ecuación de la recta, con ella se interpolan las absorbancias obtenidas de las muestras de chicha que de la misma manera se tomaron 100 µl de muestra y se le agregó 3.9 ml con incubación de 25 minutos y una lectura a 515 nm.

### 2.3.5.3. Contenido de antocianinas monoméricas totales

El contenido total de antocianinas monoméricas se determinó mediante el método de pH diferencial (68). Para este análisis se prepararon 2 buffers, el primero fue el buffer de cloruro de potasio. Para ello se mezclaron 1.86g de KCl en 980ml de agua destilada, se midió el pH y se ajustó a 1.0 con HCl concentrado, y se llevó el volumen a 1 litro. De la misma manera se preparó el Buffer acetato de sodio, en el que se mezclaron 54.43g de acetato de sodio en 980ml de agua destilada, se midió el pH y se ajustó a 4.5 con HCl concentrado, y también se llevó el volumen a 1 litro.

Para determinar la longitud de onda en la que se analizarían las muestras, se siguieron los siguientes pasos:

- Se diluyó la muestra con un factor de dilución 5, en un volumen de 3ml. Se diluyó con KCl.

b) Se realizó un barrido para determinar el pico más alto y elegir la longitud de onda para la lectura.

Se leyeron todas las muestras por triplicado con un factor de dilución 5 volumen final de 3 ml, a 513 nm y 700 nm.

Se obtuvo la concentración de antocianinas monoméricas con la siguiente ecuación.

$$MAP = \frac{Abs * MW * DF * 1000}{\epsilon}$$

DONDE:

MW: PESO MOLAR DE CIANIDIN 3 GLUCÓSIDO 449.2 g/mol

DF: factor de dilución

$\epsilon$  coeficiente de extinción molar: 26.900

Los resultados se expresaron como miligramos de equivalentes de cianidin-3-glucósido (C3G) por litro de Chicha.

#### 2.3.5.4. Contenido de polifenoles

La purificación de polifenoles se realizó a través del método de Rodríguez-Saona et al. (69). Se acondicionó la columna SPE C18 con 12 ml de metanol 0.01 % HCl, luego se adicionaron 18 ml de H<sub>2</sub>O 0.01 % HCl. Se colocaron 500  $\mu$ l de muestra. La muestra se lavó con 12 ml de H<sub>2</sub>O 0.01% HCl y finalmente se eluyó la muestra con 12 ml de metanol p.a... La porción eluída se llevó a rota evaporación a 40°C hasta sequedad. Se resuspendió en 1 ml de agua ultra pura y se filtró con un filtro de difluoruro de polivinildieno (PVDF, 0,22  $\mu$ m).

Para inyectar las muestras obtenidas se preparó el sistema UHPLC ultimate 3000 RS (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, EE. UU.). La fase estacionaria fue la columna OOD-4475-AN, modelo Kinetex (Kin-c18), y la fase móvil fue una combinación de dos soluciones, ácido fórmico (A) al 0.1% y acetonitrilo (B) al 100%, estas soluciones fueron filtradas antes colocarlas en el HPLC.

Cada muestra tuvo una corrida de 20 minutos teniendo un flujo de salida de 0.2 ml/min.

Las lecturas se realizaron en 280 nm, 320 nm, 360 nm y 525 nm.

La gradiente de trabajo se puede observar en la tabla 7.

**Tabla 7.** Gradiente utilizada en la corrida de HPLC

Tiempo (min)	Flujo (ml)	A (%)	B (%)
0	0.2	2	98
2	0.2	2	98
3	0.2	15	85
9	0.2	45	55
10	0.2	98	2
13	0.2	98	2
14	0.2	2	98
17	0.2	2	98

Se evaluó la concentración total de antocianinas a 525 nm de longitud de onda.

### 2.3.6. Análisis del potencial de inhibición de las enzimas $\alpha$ -amilasa y $\alpha$ -glucosidasa de la chicha de Guiñapo en diferentes etapas del proceso fermentativo por métodos *in vitro*.

#### 2.3.6.1. Inhibición *in vitro* de la enzima $\alpha$ -amilasa

La metodología utilizada fue la indicado por Worthington V. et al. (70) y modificado por Gonzales A. et al. (71).

Se prepararon los reactivos necesarios para la reacción enzimática, el buffer  $\text{NaPO}_4$  0.02M (pH 6.9 con NaCl 0.006 M), el sustrato (en este caso almidón al 1%), la enzima  $\alpha$ -amilasa (0.5 mg/ml) contenida en buffer fosfato de sodio 0.02 M (pH 6.9 con NaCl 0.006 M), el reactivo ácido 3.5 dinitrosalicílico (DNS), el control positivo fue la acarbosa a 1000 ppm.

Se tomaron 500  $\mu\text{l}$  de cada muestra a analizar además del control positivo, y el blanco, se colocaron en tubos de ensayo de 20 ml. A las muestras, al control positivo y al control negativo se le agregaron 500  $\mu\text{l}$  de enzima, y al blanco de muestra y el blanco se le agregaron 500  $\mu\text{l}$  de buffer. Se dejó reposar por 10 minutos a temperatura ambiente.

Pasados los 10 minutos a todas las muestras se les agregaron 500  $\mu\text{l}$  de almidón, y 1 ml de DNS. Se colocaron todos los tubos preparados a 100°C durante 10 minutos.

Pasados los 10 minutos se le augeo 15 ml de agua destilada. Se agitó y se colocó en cubetas de lectura y se midió la absorbancia a 540 nm.

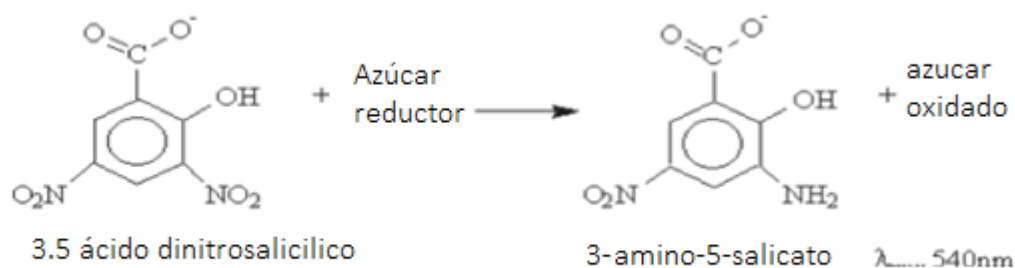
El resultado se determinó según la siguiente ecuación:

$$\%Inhibición = \frac{(Abs_{control} - Abs_{muestra})}{Abs_{control}} * 100$$

La absorbancia de la muestra se determinó con la diferencia de la absorbancia del extracto menos la absorbancia del blanco de la muestra.

Los resultados se expresaron como % de inhibición por mg de muestra y se evaluaron a 3 diferentes concentraciones de muestra y cada uno por triplicado.

La reacción ocurrida es la del ácido 3.5 dinitrosalicílico (DNS) el actúa como compuesto reactante produciendo una reacción Redox, oxidando los azúcares reductores. El DNS al reaccionar emite un color rojizo, cuya intensidad dependerá de la cantidad de azúcares reductores presentes. La presencia de inhibidores de alfa amilasa provoca la poca presencia de azúcares reductores (72).



**Figura 11.** Reacción de oxidación de azúcares reductores, método DNS (72).

### 2.3.6.2. Inhibición in vitro de la enzima $\alpha$ -glucosidasa

El procedimiento se realizó según lo indicado por Worthington V. et al. (73) y modificado por Gonzales A. et al. (71).

Se preparó el buffer  $KPO_4$  0.1M, combinando dos reactivos  $K_2HPO_4$  y  $KH_2PO_4$  hasta alcanzar un pH de 6.9. El sustrato utilizado fue el p-nitrofenil  $\alpha$ -D-glucopiranasasa 5mM. La enzima es  $\alpha$ -glucosidasa (10U/ml), el control positivo fue la acarbosa 5mg/ml.

En una microplaca se organizaron las muestras agregando 50 µl de muestra, acarbosa y buffer, a todos los pozos se le agregaron 50 µl de buffer. Inmediatamente se agregaron 100 µl de enzima dejando en reposo durante 10 minutos a temperatura ambiente. Después de ello se agregaron 50 µl de sustrato llevando a una primera lectura de tiempo 0 las muestras, y luego de 5 minutos se realizó una segunda lectura.

El porcentaje de inhibición se determinó con la siguiente ecuación:

$$\%Inhibición = \frac{(Abs_{control} - Abs_{muestra})}{Abs_{control}} * 100$$

Para los cálculos, las absorbancias del tiempo 0 se restaron a las del tiempo 5 min. Los resultados se expresaron como % de inhibición por mg de muestra y se evaluaron 3 concentraciones diferentes.

### **2.3.7. Evaluación de la variación del microbioma durante el proceso fermentativo, utilizando el sistema ILLUMINA en un análisis Metagenómico de las regiones 16S e ITS.**

#### **2.3.7.1. Análisis del microbioma**

El análisis metagenómico se llevó a cabo en el laboratorio de molecular de la Universidad Nacional de San Agustín. Se utilizó el equipo ILLUMINA para la corrida de muestras y se utilizó la base de datos de ILLUMINA, los datos obtenidos se transfirieron, analizaron y almacenaron en Base Space Sequence Hub, que es el entorno informático genómico de Illumina. Se llevó a cabo la identificación de hongos, levaduras y bacterias, analizando las regiones 16S e ITS. Los resultados se dieron en porcentajes con respecto al total de microorganismos encontrados (54) (55).

#### **2.3.8. Analisis estadístico**

Se realizó el análisis estadístico de los resultados en el programa Statgraphics XVII-X64 aplicando un análisis de varianza (ANOVA).

## CAPÍTULO III

### 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 3.1. Determinación de los parámetros fermentativos de la Chicha de Guiñapo bajo condiciones controladas.

##### Elección de inóculo

Para la elección del inóculo se llevaron a cabo los siguientes análisis °BRIX, pH y acidez titulable sobre el producto de los procesos fermentativos, se usaron inóculos de distintos lugares de la ciudad de Arequipa. En la tabla 8 se puede observar los resultados obtenidos de los análisis de las diferentes chichas obtenidas de los procesos fermentativos evaluados junto al inóculo utilizado.

**Tabla 8.** Resultados de analisis para la elección de Inóculo

Muestra	°BRIX	Ph	Acidez titulable (g Ácido Láctico/100ml)
Laboratorio	5.4	3.65	0.324
Cerro colorado s/a	4.3	3.66	0.306
Cerro colorado c/a	4	3.77	0.342
San Camilo s/a	4.2	3.78	0.234
San Camilo c/a	4	3.66	0.369
Characato	3.1	3.59	0.309

Vargas (59), evaluo una muestra de chicha procedente de la picantería Charito del distrito de Characato, obtuvo resultados similares a los obtenidos con el inóculo del mismo lugar, presento un pH de 3.43 siendo 3.59 el obtenido en esta investigación, el pH es un indicador importante durante la fermentación de la chicha de Guiñapo, también presentó una acidez titulable de 0.31g/ml, siendo en este caso 0.309 g/ml la acidez presentada para la chicha elaborada con el inóculo de Characato, acercándose de la misma manera, es por ello que finalmente se decidió elegir ese inóculo como referente para las próximos ensayos.

##### Determinación de concentración de Guiñapo y concentración de Inóculo

En la tabla 9 se puede observar los resultados obtenidos para los ensayos de determinación de concentración de guiñapo y concentración de inóculo se probaron distintas concentraciones para ambos parámetros.

**Tabla 9.** Resultados de análisis para la concentración de Guiñapo e Inóculo

Muestra	°BRIX	pH	Acidez titulable (ácido Láctico/100ml)
A-C	5.3	3.747	0.630
A-D	5.1	3.742	0.594
B-C	2.8	3.937	0.207
B-D	2.7	3.758	0.423

Donde

A: 200 gr de guiñapo en 2 L de agua. (1:10)

B: 100 gr de guiñapo en 2 L de agua.(1:20)

C: 40 ml de concho en 400 ml de solución.(1:10)

D: 80 ml de concho en 400 ml de solución (1:5)

En esta caso se observa la diferencia entre los resultados obtenidos al utilizar diferentes concentraciones de guiñapo en cada análisis, la concentración 1:10 se diferencia en casi un 50% a la concentración 1:20 en cuanto a grados Brix, en este caso es por la diferencia en cantidad de materia agregada. En caso del inóculo se observa diferencia en los resultados de acidez titulable ya que en pH no se ve diferencia significativa. Finalmente se eligió la concentración 1:10 para Guiñapo y 1:10 para inóculo. Ya que se observó mayor actividad microbiana con respecto al sustrato presente.

### Determinación de tiempo de fermentación

Ya con la determinación del inóculo a utilizar y concentración de Guiñapo y concentración de Inóculo, se determinó finalmente el tiempo de fermentación para ello se observa en la tabla 10 los resultados obtenidos a los distintos tiempos de fermentación realizado en el fermentador MINIFOR LAMBDA.

**Tabla 10.** Resultados obtenidos para la determinación de tiempo de fermentación

Muestra	°BRIX	pH	Acidez titulable (g Ácido Láctico/100ml)
0h	5	5.15	0.171
19h	4	3.96	0.297
24h	4	3.83	0.333
26h	4	3.77	0.342
28h	4	3.75	0.360
42h	4	3.7	0.387
48h	4	3.66	0.387

Se determinó que a las 26 horas sería el tiempo óptimo de fermentación, ya que entre las 24 horas y 28 horas no se observa una diferencia notoria en cuanto a los resultados y de la misma forma en aspecto y sabor (estos parámetros no pudieron ser cuantificados), entonces se decidió un tiempo medio. Además de que pasada las 28 horas de fermentación el aspecto de la chicha de Guiñapo elaborada en condiciones controladas no era estética para su consumo.

### Elaboración de chichas para obtener resultados finales

En la preparación de cada chicha, el volumen agregado del inóculo fue del 10%, del volumen obtenido después de la cocción y filtración, en la tabla 11 se observa la cantidad de volumen de inóculo colocado en cada chicha.

**Tabla 11.** Volumen final de inóculo

C1		
Vf	VF	VI
2156 ml	1960 ml	196 ml
C2		
Vf	VF	VI
2007.5 ml	1825 ml	182.5 ml
C3		
Vf	VF	VI
2018.5 ml	1835 ml	183.5 ml

Siendo:

Vf: Volumen final

VI: Volumen de inóculo

VF: Volumen de fermentación

### 3.2. Análisis fisicoquímicos

Se realizaron análisis fisicoquímicos de determinación de pH, gados Brix y acidez titulable. La tabla 12 muestra los resultados obtenidos para cada análisis durante las 0, 13 y 26 horas de fermentación. El valor de pH varió iniciando con  $5.078 \pm 0.323$  y finalizando con  $3.754 \pm 0.122$  pasadas las 26 horas de fermentación. Los sólidos solubles muestran poca variación durante el proceso fermentativo, iniciando con  $5.6 \pm 1.35$  y llegando a

4.466±0.651 °Brix; mientras que la acidez titulable determinada en g de ácido láctico/100 ml varió de 0.24g aumentando a 0.513g. La correlación es negativa en el caso de pH y gados Brix; en acidez titulable se observa una correlación positiva con respecto al tiempo de fermentación.

**Tabla 12.** Resultados de análisis fisicoquímicos

TIEMPOS	pH	°BRIX	ACIDEZ
0	5.08± 0.32	5.6±1.35	0.24±0.07
13	4.12±0.09	4.93±0.91	0.42±0.16
26	3.75±0.12	4.46±0.65	0.51±0.14
<b>Coefficiente de correlación</b>	-0.806	-0.887	0.829

Cada resultado se obtuvo por triplicado.

Durante el proceso fermentativo, en promedio aumentó la acidez titulable a las 0 horas presento 0.24, a las 13 horas presento 0.42, a las 26 horas 0.513 g Ácido Láctico/100ml, y por el mismo motivo el pH disminuyó, habiendo iniciado con 5.078 a las 0 horas, 4.129 a las 13 horas, y finalizando con 3.754 a las 26 horas. Se determina una correlación negativa con el tiempo de fermentación para el pH y positiva para la acidez titulable presente.

Valencia (74) estudió el comportamiento del pH, ° Brix, etanol y acidez titulable en dos tratamientos para la producción de chicha de maíz morado y de quinua. En ambos casos se obtuvo el mismo comportamiento que se presentó en esta investigación, mostrando una disminución en sólidos solubles, aumento de acidez titulable, así como la disminución del pH. Según Silva (75), la concentración de azúcares contribuye a la concentración del microbioma, las bacterias lácticas y levaduras presentes metabolizan los carbohidratos presentes, produciendo metabolitos entre ellos ácidos orgánicos, es por estos ácidos que el valor de pH disminuye durante la fermentación y la acidez titulable aumenta, además de que pueden tomarse como indicadores indirectos de crecimiento microbiano.

### 3.3. Analisis proximales

En la tabla 13 se puede apreciar los resultados de análisis proximal, realizado por el laboratorio de Control de calidad de la Universidad Católica de Santa María, de cada muestra

obtenida en los tres diferentes procesos fermentativos de chicha (Anexo 2). En la tabla 14 se puede observar el análisis ANOVA realizado a los resultados.

**Tabla 13.** Análisis proximal de muestras de chicha.

Análisis	Unidades	C1T0	C1T13	C1T26	C2T0	C2T13	C2T26	C3T0	C3T13	C3T26
Proteínas	%	0.34	0.34	0.25	0.53	0.45	0.5	0.43	0.52	0.51
Humedad	%	93.77	93.67	93.92	91.48	92.71	93.12	92.21	92.35	93.37
Fibra Cruda	%	0.16	0.17	0.17	0.11	0.17	0.18	0.15	0.26	0.12
Grasa	%	0.5	0.2	0.21	0.15	0.11	0.23	0.1	0.14	0.13
Ceniza	%	0.1	0.12	0.36	0.01	0.33	0.08	0.45	0.02	0.13
Hidratos De Carbono	%	5.13	5.5	5.1	7.73	6.23	5.89	6.66	6.71	5.75
Contenido Calórico	Kcal %	26.39	25.17	23.24	34.33	27.72	27.64	29.27	30.19	26.15
Azúcares Reductores Directos Y Totales En Alimentos	g/Kg	0.75	0.33	0.46	0.87	0.39	0.34	0.78	0.73	0.41

**Tabla 14.** Análisis de varianza del análisis proximal.

Análisis	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Proteínas	3	1.29	0.43	0.00
Humedad	3	278.86	92.95	0.24
Fibra Cruda	3	0.49	0.16	0.01
Grasa	3	0.59	0.19	0.003
Ceniza	3	0.53	0.17	0.00
Hidratos De Carbono	3	18.23	6.07	0.22
Contenido Calórico	3	83.36	27.78	4.67
Azúcares reductores directos y totales en alimentos	3	1.68	0.56	0.04

Se realizó un análisis de varianza de los resultados por tiempos de fermentación en este caso 0 horas, 13 horas y 26 horas (Tabla 14). Se observa que el porcentaje de proteínas, humedad, fibra cruda, grasa, hidratos de carbono, azúcares reductores directos y ceniza tienen poca variabilidad o dispersión dentro del proceso, sin embargo, el contenido calórico presenta una

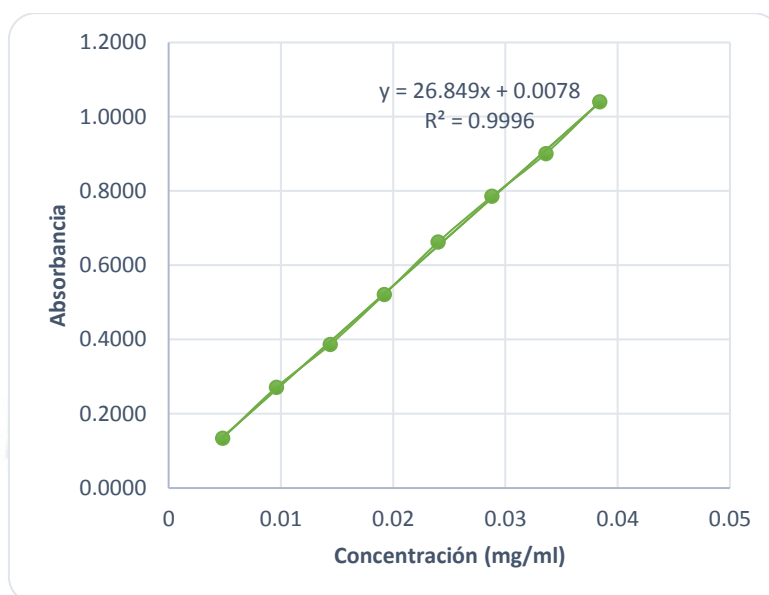
disminución en relación al tiempo de fermentación. La correlación existente entre cada punto analizado y el tiempo de fermentación en su mayoría es inversa, observándose que a medida que aumenta el tiempo de fermentación el resultado disminuye.

Otros autores han reportado resultados fisicoquímicos similares para otras bebidas fermentadas a base de maíz, Valencia (74), obtuvo resultados de hidratos de carbono de 3.11%, contenido calórico de 12.2 Kcal%, y 0.7g/Kg en azúcares reductores, estos resultados se dieron a las 24 horas de fermentación de maíz morado, es posible que la diferencia en cuanto a los resultados obtenidos en esta investigación sea por la materia prima utilizada, ya que el tiempo de cocción, proceso que hidroliza los hidratos de carbono, es similar al que se aplicó en esta investigación, y de la misma manera sucede para los resultados para fermentación de quinua que fueron los siguientes, hidratos de carbono de 3.93%, contenido calórico de 16.17 Kcal%, y 2.5 g/Kg en azúcares reductores, estos resultados se dieron a las 20 horas de fermentación de quinua.

**Análisis de la concentración de antocianinas y polifenólica, capacidad antioxidante en diferentes etapas del proceso fermentativo de la Chicha de Guiñapo, por métodos in vitro y UHPLC-DAD.**

#### **3.4. Contenido fenólico total (TPC)**

Se elaboró una curva de calibración para obtener datos y someterlos a un análisis de regresión lineal. La ecuación de la recta obtenida vincula la variable “y”, que es la absorbancia, con la variable “x”, que es la concentración de ácido gálico mg/ml. Se obtuvo el  $R^2$ , que determina la variabilidad de “y” sobre “x”. La curva de calibración se elaboró con distintas concentraciones de ácido gálico (figura 14). En la tabla 15 se muestran los datos de gráfico de Calibración de Ácido Gálico.



**Figura 12.** Gráfico de calibración de ácido gálico.

**Tabla 15.** Datos de Gráfico de Calibración de Ácido Gálico (TPC).

DATOS DE CURVA DE CALIBRACIÓN	
Concentración (mgGAE/ml)	Promedio de absorbancias
0.0048	0.1340
0.0096	0.2713
0.0144	0.3867
0.0192	0.5213
0.0240	0.6623
0.0288	0.7853
0.0336	0.9007
0.0384	1.0400

La ecuación obtenida en el gráfico de la curva de calibración indica la ecuación de la recta y el valor de  $R^2 = 0.9996$ , la cual es la siguiente:

$$y = 26.849x + 0.0078$$

$$R^2 = 0.9996$$

Se indica que el valor de  $R^2$ , está cercano a la unidad indicando que sí hay relación entre las absorbancias y las concentraciones establecidas. El valor de la pendiente es de 26.849 y el intercepto es 0.0078.

Con los datos de la curva de calibración, se puede observar la tabla 16 donde se presentan las concentraciones obtenidas a 755 nm de cada muestra según el tiempo de fermentación para cada chicha procesada. Estas fueron realizadas por triplicado, mostrándose como R1, R2, R3.

**Tabla 16.** Resultados de Contenido de Polifenoles Totales (TPC)

CHICHA	Tiempo (h.)	Concentración (mg/ml)			Promedio (mg/ml)
		R1	R2	R3	
C1	0	0.4851	0.4992	0.5156	0.5257
	13	0.4531	0.4709	0.4672	0.4875
	26	0.4575	0.4709	0.4642	0.4881
C2	0	0.6207	0.6333	0.6110	0.6575
	13	0.5812	0.5722	0.5596	0.6099
	26	0.5827	0.5991	0.5819	0.6217
C3	0	0.6005	0.5879	0.5946	0.6335
	13	0.5752	0.5797	0.5618	0.6100
	26	0.5328	0.5782	0.6296	0.5921
I	C1	0.2363	0.2355	0.2579	0.2432
	C2	0.2638	0.2624	0.2646	0.2636
	C3	0.2028	0.1923	0.2124	0.2025

Finalmente, se muestra la tabla 17 en la que encuentran los promedios de concentración de ácido gálico en mg GAE/100 ml de chicha de Guiñapo en los tiempos de fermentación de 0 horas, 13 horas y 26 horas. Además se observa el factor de correlación de los datos, dando este negativo y cerca de -1, lo que significa que a medida que el tiempo de fermentación aumenta la concentración de contenido fenólicos disminuye.

**Tabla 17.** Resumen de resultados de TPC EN mg GAE/100 ml

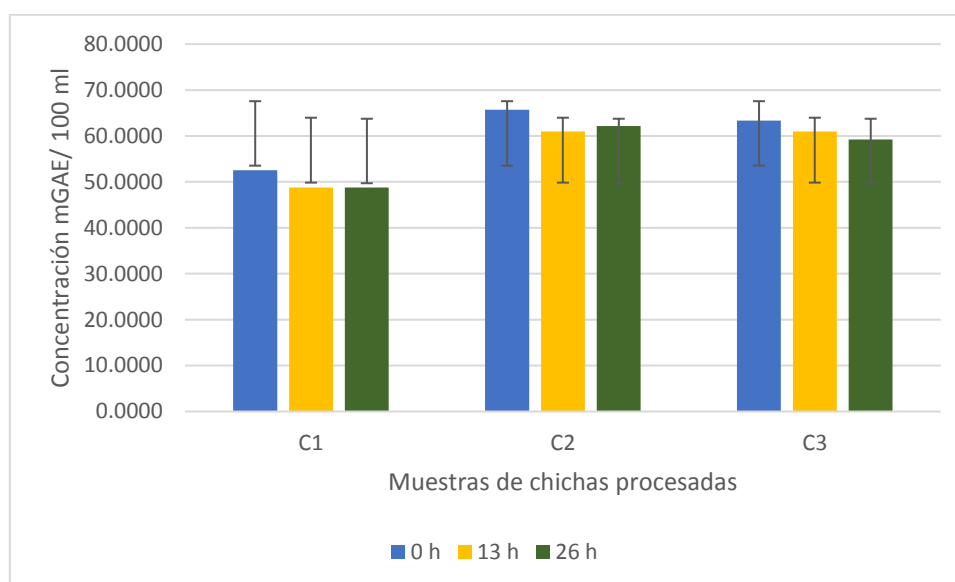
TIEMPO (horas)	C1	C2	C3	PROMEDIO	DS	Coefficiente de correlación
0	52.566 ± 0.015	65.746 ± 0.011	63.352 ± 0.006	60.554 <sup>a</sup>	7.02	-0.886
13	48.754 ± 0.009	60.992 ± 0.011 <sup>b</sup>	60.996 ± 0.009 <sup>b</sup>	56.914 <sup>a</sup>	7.07	
26	48.806 ± 0.007	62.174 ± 0.011	59.210 ± 0.048	56.730 <sup>a</sup>	7.02	

Letras iguales indican que no existe una diferencia estadísticamente significativa entre las medias de los tres tiempos del proceso fermentativo con un 95% de confianza ( $p > 0.05$ ). Se aplicó el análisis estadístico ANOVA para determinar que no existe una diferencia estadística entre los resultados obtenidos en relación a los tiempos de fermentación.

**Tabla 18.** Tabla ANOVA de TPC

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	27.9278	2	13.9639	0.28	0.7637
Intra grupos	297.074	6	49.5123		
Total (Corr.)	325.002	8			

La tabla ANOVA descompone la varianza de valores del análisis TPC, en dos componentes: un componente entre-grupos y un componente dentro-de-grupos. La razón-F, que en este caso es igual a 0.282029, es el cociente entre el estimado entre-grupos y el estimado dentro-de-grupos. Puesto que el valor-P de la razón-F es mayor o igual que 0.05, no existe una diferencia estadísticamente significativa entre la media de TPC entre un nivel de tiempo y otro, con un nivel del 95.0% de confianza



**Figura 13.** Contenido fenólico frente al tiempo de fermentación.

Se observó una concentración promedio de 60.55, 56.91, 56.73 mg GAE/100 ml de chicha de Guiñapo en los tiempos de fermentación de 0 horas, 13 horas y 26 horas, respectivamente. Para poder comparar los resultados con otras investigaciones se tomó en cuenta el resultado promedio final obtenido a las 26 horas que es 56.73 mg GAE/100 ml de chicha de Guiñapo.

Shewakena et al. (76), realizaron un estudio con las diferentes bebidas tradicionales de Etiopía que son korefe, tej y tella, teniendo los siguientes resultados: la bebida korefe presentó 32,6 mgGAE/100 ml, la bebida tej 39 mgGAE/100 ml y la bebida tella 45,9 mgGAE/100 ml. Esto se debe posiblemente a la materia prima utilizada para cada bebida, siendo así que el korefe y la tella son de harina tostada de color marrón oscuro y con 10 a 12 días de fermentación, mientras que el korefe se produce a base de miel con una fermentación final de 15 a 20 días, siendo de esta manera que estas bebidas tradicionales de Etiopía tienen mayor tiempo de fermentación que la chicha de Guiñapo, se puede concluir que el tiempo de fermentación influye en la concentración de polifenoles .

Ochoa et al. (77) realizaron un estudio del contenido fenólico presente en jugo de pitahaya donde se evidenció una mayor cantidad de los mismos en el jugo de pitahaya roja, seguido de la variedad rosa y la variedad blanca con valores promedios de 45.3, 32.1 y 24.6 mg GAE/100 mL de jugo, respectivamente. La chicha de Guiñapo muestra mayor cantidad de polifenoles totales, lo que puede deberse a los mismos factores ya mencionados en el párrafo anterior siendo la materia prima diferente, así como diferencias en el proceso fermentativo.

Vargas et al. (59) obtuvieron resultados entre 30,63 a 41.79 mg GAE/100 mL, al analizar muestras de chicha de Guiñapo procesadas de manera tradicional, se observa de la misma manera que en las muestras obtenidas de esta investigación se obtuvieron mayores resultados en cuanto al contenido fenólico total, posiblemente por diferencias mínimas durante el proceso de elaboración, además de que el proceso de elaboración utilizado en esta investigación fue controlado para lograr la optimización de los parámetros en base a bibliografía y pruebas preliminares, y también por el inóculo utilizado, la posibilidad de que el microbioma sea diferente para cada proceso de producción tradicional es amplia, y es mediante estos microorganismos que se da procesos de biotransformación.

### **3.5. Capacidad antioxidante**

Los análisis de capacidad antioxidante se realizaron mediante los métodos de inhibición del radical DPPH Y ABTS. Cada uno se muestra por separado al igual que un resumen de resultados para cada tiempo de fermentación.

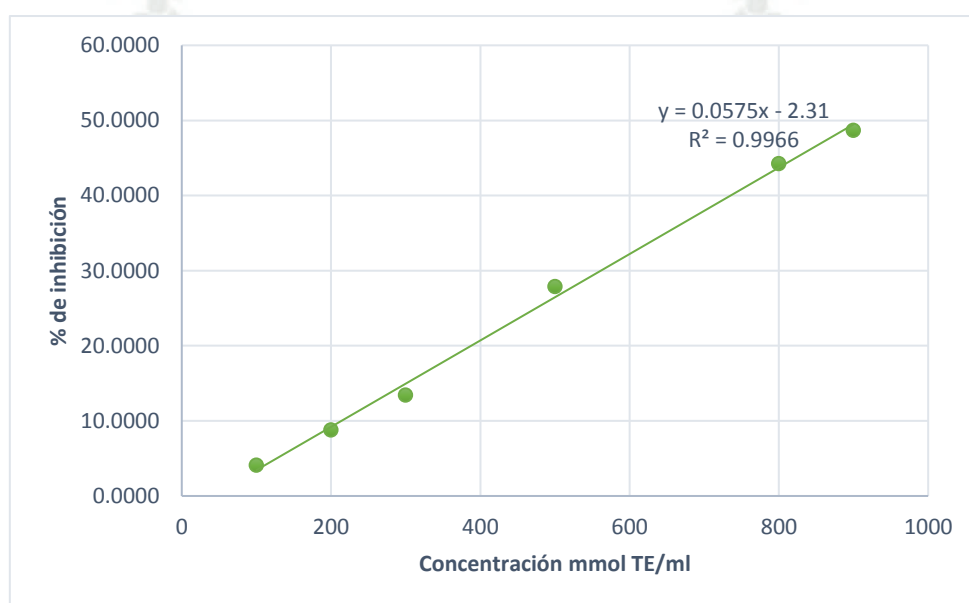
#### **3.5.1. Inhibición in vitro del radical libre DPPH**

Se realizó una curva de calibración para Trolox, donde se utilizaron diferentes concentraciones entre 100  $\mu\text{M}$  y 900  $\mu\text{M}$ , además de un control negativo. Con las absorbancias obtenidas se determinó el % de inhibición de las distintas concentraciones de trolox.

Se obtuvieron datos (tabla 19) con las que se hicieron la curva de calibración que se puede observar en la Figura 16.

**Tabla 19.** Datos para curva de TROLOX (DPPH)

Curva de Calibración			
Concentración ( $\mu\text{M TE}$ )	Absorbancia	% Inhibición	Absorbancia Control
100	0.927	4.14	0.97
200	0.882	8.79	
300	0.837	13.44	
500	0.697	27.92	
800	0.539	44.26	
900	0.496	48.71	



**Figura 14.** Curva de calibración para Trolox

Con la curva se obtuvo la siguiente ecuación:

$$y = 0.0575x - 2.31$$

$$R^2 = 0.9966$$

Donde,  $R^2$  es cercano a la unidad indicando una relación entre las absorbancias y las concentraciones. Esta ecuación fue necesaria para interpolar los porcentajes de inhibición obtenidos de las muestras de chicha procesadas, y de esta manera se obtuvieron los resultados en  $\mu\text{moles de TE}/100 \text{ ml}$  de chicha de Guiñapo.

Con los datos de la curva de calibración de Trolox, se puede observar la tabla 20 donde se presentan las concentraciones obtenidas de la curva de calibración de Trolox a 515 nm, el tiempo de fermentación para cada chicha procesada. Estas fueron realizadas por triplicado y se indican para los tiempos de 0 horas, 13 horas y 26 horas en las chichas C1, C2 Y C3, respectivamente.

**Tabla 20.** Resultados de capacidad antioxidante determinada por el método de inhibición del radical DPPH

CHICHA	Tiempo (h)	% Inhibición			Promedio (%de inhibición)	Concentración ( $\mu\text{molTE}/100\text{ml}$ )
		R1	R2	R3		
c1	0	33.608	32.577	32.990	33.73	208.921
	13	33.402	32.062	35.052	34.181	211.551
	26	31.031	31.134	30.309	31.446	195.768
c2	0	36.804	37.938	37.526	39.107	239.982
	13	37.732	31.959	31.340	35.192	217.389
	26	31.443	29.588	31.340	32.176	199.978
c3	0	38.660	35.052	35.773	37.371	229.966
	13	35.773	34.845	34.536	35.893	221.435
	26	34.330	36.186	35.052	36.034	222.247

Finalmente se muestra en la tabla 21 los promedios de concentración de  $\mu\text{mol TE}/100\text{ml}$ . de chicha de Guiñapo en los tiempos de fermentación de 0 horas, 13 horas y 26 horas. Además se observa el factor de correlación de los datos, dando este negativo y cerca de -1, lo que significa que a medida que el tiempo de fermentación aumenta la capacidad antioxidante disminuye esta tendencia se puede observar en las tres repeticiones (Figura 15).

**Tabla 21.** Resumen de resultados por tiempos de fermentación de la capacidad antioxidante por el método de inhibición del radical libre DPPH ( $\mu\text{mol TE}/100\text{ml}$ )

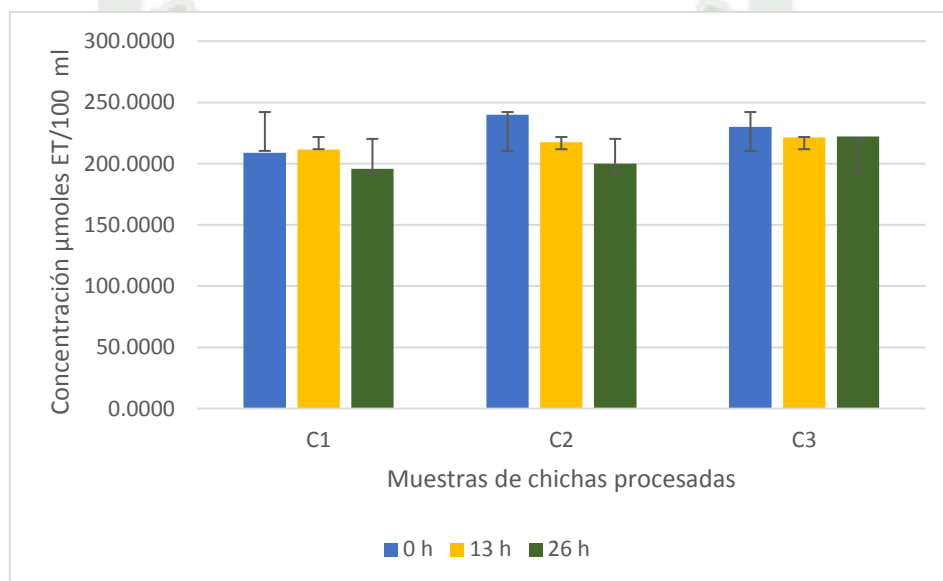
TIEMPO S (h)	C1 ( $\mu\text{mol}$ TE/100ml )	C2 ( $\mu\text{mol}$ TE/100ml )	C3 ( $\mu\text{mol}$ TE/100ml )	PROMEDI O	DS	Coefficiente de correlació n
0	208.921	239.982	229.966	226.289 <sup>a</sup>	15.85	-0.999
13	211.551	217.389	221.435	216.792 <sup>a</sup>	4.97	
26	195.768	199.978	222.247	205.998 <sup>a</sup>	14.23	

Letras iguales indican que no existe una diferencia estadísticamente significativa entre las medias de los tres tiempos del proceso fermentativo con un 95% de confianza ( $p > 0.05$ ).

La tabla ANOVA descompone la varianza de resultados del análisis DPPH en dos componentes: un componente entre-grupos y un componente dentro de grupos. El valor-P de la razón-F es mayor o igual que 0.05, no existe una diferencia estadísticamente significativa entre el nivel de tiempo y otro, con un nivel del 95.0% de confianza.

**Tabla 22.** Tabla ANOVA de inhibición del radical libre DPPH

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	618.358	2	309.179	1.94	0.2242
Intra grupos	956.978	6	159.496		
Total (Corr.)	1575.34	8			



**Figura 15.** Capacidad antioxidante del radical DPPH mostrada durante el proceso fermentativo.

### 3.5.2. Inhibición in vitro del radical libre ABTS

El análisis de capacidad antioxidante por el método de inhibición del radical libre ABTS se inició con la elaboración de la curva de calibración. En la tabla 23 se observan los datos utilizados para la elaboración de dicha curva, la cual fue utilizada finalmente para obtener los valores de  $\mu$ moles Equivalentes de Trolox.

**Tabla 23.** Curva de calibración para el radical ABTS

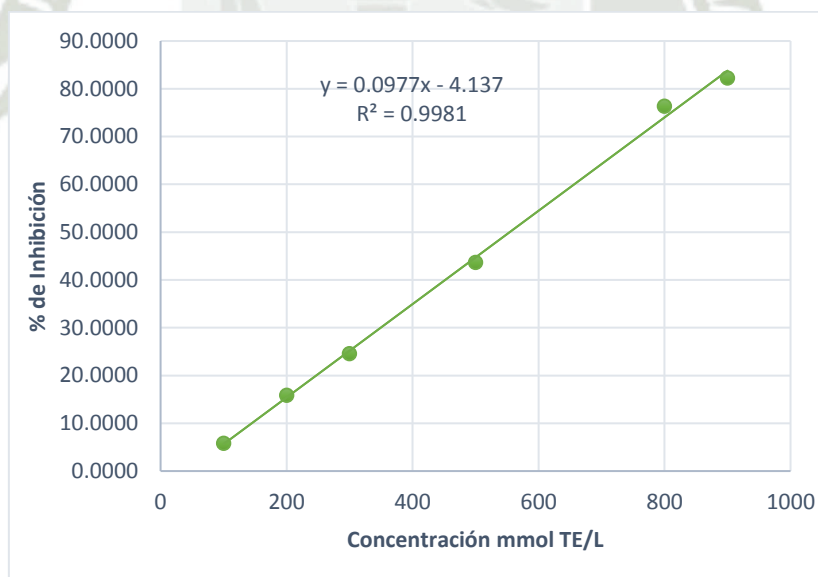
Curva de Calibración			
Concentración (µM TE)	Absorbancia	% Inhibición	Absorbancia del control
100	0.754	5.868	0.801
200	0.674	15.855	
300	0.604	24.594	
500	0.451	43.695	
800	0.189	76.405	
900	0.142	82.272	

En la figura 16 se observa la curva con la que se obtuvo la siguiente ecuación:

$$y = 0.0977x - 4.137$$

$$R^2 = 0.998$$

Esta ecuación fue utilizada para obtener los resultados finales en µmoles TE/100 ml de chicha de Guíñapo. El  $R^2$ , está cercano a la unidad lo que muestra una relación directa entre las absorbancias y las concentraciones.



**Figura 16.** Curva de calibración de Trolox para el método ABTS

Con la ecuación de la curva se realizó el ensayo para obtener la concentración en (µmol de TE/100ml) para cada muestra. En la Tabla 24 se observa los resultados obtenidos cada ensayo por muestra se realizó por triplicado.

**Tabla 24.** Resultados de capacidad antioxidante determinada por el método de inhibición del radical ABTS

MUESTRA	Tiempo (h)	% Inhibición			Promedio (%) inhibición)	Concentración (µmol/100ml)
		R1	R2	R3		
C1	0	36.454	43.446	46.067	44.757	207.410
	13	43.820	44.070	41.199	43.030	200.061
	26	42.072	41.448	40.325	41.282	192.622
C2	0	49.189	48.814	47.316	48.439	229.585
	13	44.444	47.191	45.194	45.610	217.162
	26	37.079	42.197	36.205	38.494	185.923
C3	0	48.065	51.186	51.436	50.229	232.635
	13	45.318	49.563	48.190	47.690	221.734
	26	44.819	42.322	45.069	44.070	206.186

Durante los tiempos de fermentación se observa una tendencia de disminución de la capacidad antioxidante, la misma que se ve en la correlación realizada e indica que durante el tiempo de fermentación la actividad antioxidante tiene tendencia a disminuir. Esta tendencia se puede observar en la figura 17.

**Tabla 25.** Resumen de resultados capacidad antioxidante ABTS (µmol TE/100ml)

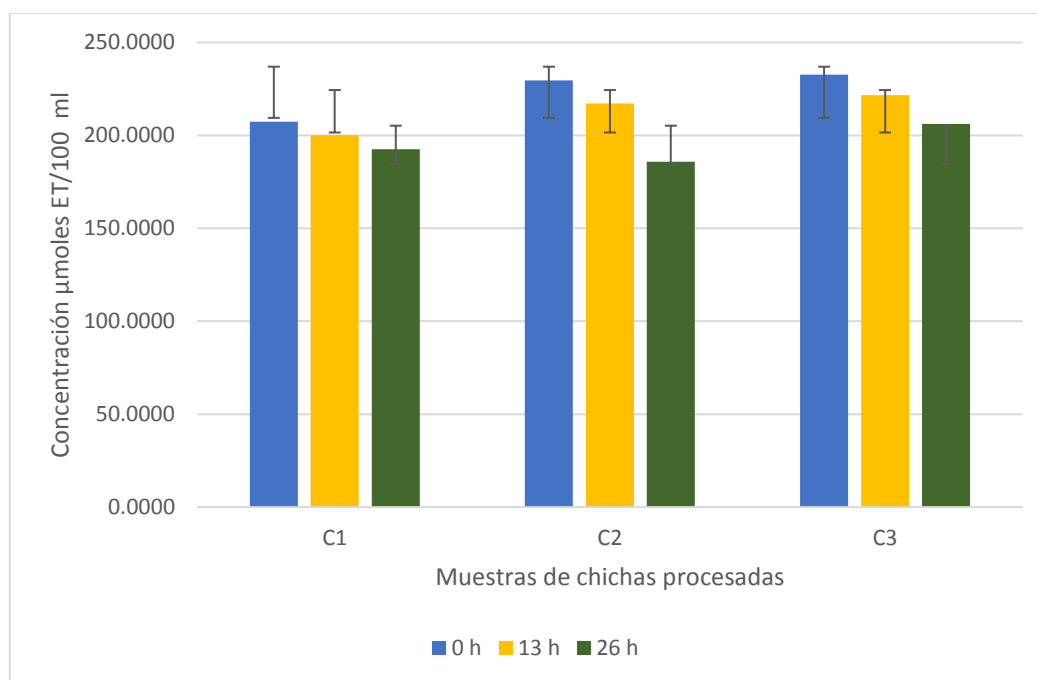
TIEMPOS	C1	C2	C3	PROMEDIO	DS	Coeficiente de correlación
0	207.411	229.585	232.635	223.211 <sup>a</sup>	13.77	
13	200.061	217.163	221.734	212.986 <sup>a</sup>	11.42	-0.987
26	192.623	185.923	206.187	194.911 <sup>a</sup>	10.32	

Letras diferentes dentro de la misma columna indican diferencia estadística significativa ( $p < 0.05$ ).

**Tabla 26.** Tabla ANOVA de análisis ABTS

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	1232.38	2	616.188	4.33	0.0685
Intra grupos	853.533	6	142.256		
Total (Corr.)	2085.91	8			

En la tabla 26 se puede observar la tabla de ANOVA, donde el valor-P de la razón-F es mayor o igual que 0.05, no existe una diferencia estadísticamente significativa entre la media de los resultados de ABTS entre un nivel de tiempo y otro, con un nivel del 95.0% de confianza.



**Figura 17.** Capacidad antioxidante del radical ABTS durante el proceso fermentativo.

Se observó una concentración promedio de 226.28, 216.79, 205.99  $\mu\text{mol TE}/100\text{ml}$  de chicha de Guiñapo en los tiempos de fermentación de 0 horas, 13 horas y 26 horas, respectivamente para resultados del método de inhibición del radical DPPH. Para el análisis de inhibición del radical ABTS se observó una concentración promedio de 223.21, 212.98, 194.91  $\mu\text{mol TE}/100\text{ml}$  de chicha de Guiñapo en los tiempos de fermentación de 0 horas, 13 horas y 26 horas, respectivamente.

La capacidad antioxidante mostrada por Monroy (76) hacia el maíz morado muestra una capacidad de 987.400  $\mu\text{moles TE}/100\text{ g}$  por el método del radical ABTS. El maíz morado es la materia prima para la elaboración de la chicha de Guiñapo, lo que muestra que hay una reducción del 80% de la capacidad antioxidante aproximadamente, posiblemente por el tratamiento térmico al que fue sometido el Guiñapo y que produce una reducción de compuestos fenólicos, en su mayoría antocianinas (80). Sin embargo, Vargas et. al (59) mostraron una capacidad antioxidante relativamente mayor en muestras de chicha de Guiñapo, presentándose entre 170.00 y 240.00  $\mu\text{mol TE}/100\text{ml}$  de chicha para ABTS y 106.00 a 132.00  $\mu\text{mol TE}/100\text{ml}$  de chicha para DPPH, posiblemente por el microbioma presente en las chichas analizadas, así como diferencias en el proceso de preparación, ya que como se mencionó el tratamiento térmico afecta la actividad antioxidante. Es posible que la muestra con mayor capacidad antioxidante

haya tenido menor tiempo de cocción, ya que como Vargas menciona su producción es en condiciones artesanales.

Zamora et. al (81) analizaron la capacidad antioxidante del vino de Jamaica, presentando 13.74  $\mu\text{mol TE}/ 100 \text{ ml}$  de muestra, teniendo menor capacidad antioxidante que la chicha de Guíñapo a las 26 horas de fermentación. Es posible que esto se deba a que fue sometido a un tratamiento térmico en frío a  $6^\circ\text{C}$  durante 6 días después del proceso de fermentación, ya que inicialmente presento 9.67  $\mu\text{mol TE} / 100 \text{ ml}$  de muestra.

Zapata et al. (82) realizaron una investigación en la que determinaron el efecto de la fermentación en distintas variedades de cacao. Se mostró un aumento en la capacidad antioxidante, yendo de 251,59  $\mu\text{mol}$  de equivalente de Trolox / gramo de muestra sin fermentar a 253,754,64  $\mu\text{mol}$  de equivalente de Trolox / gramo de muestra fermentada para la variedad CCN 51, después de 6 días de fermentación; este aumento debiéndose posiblemente a la acción de los microorganismos presentes durante el proceso fermentativo para mejorar la actividad antioxidante, mediante la biotransformación a los polifenoles presentes (83).

### 3.6. Contenido total de antocianinas

#### 3.6.1. Contenido total de antocianinas monoméricas (TAM)

El contenido total de antocianinas monoméricas se determinó mediante el método diferencial de pH. Se procesaron las muestras de chicha y se realizó un análisis para cada muestra por triplicado. En la tabla 27 se observan los resultados obtenidos en mg de Cianidin- 3 -glucósido por litro de chicha ( $\text{mgC3G/L}$ ),

**Tabla 27.** Resultados de antocianinas monoméricas totales.

Procedencia	Tiempo (h)	TAM(mg/L)			Promedio (mgC3G/L)
		R1	R2	R3	
<b>C1</b>	0	35.318	38.825	40.161	39.730
	13	32.980	35.318	33.064	36.211
	26	32.813	33.481	32.312	35.226
<b>C2</b>	0	35.318	34.984	32.062	36.523
	13	34.567	26.301	30.642	32.650
	26	29.724	31.059	27.136	31.369
<b>C3</b>	0	28.973	28.0541	28.889	30.391

13	26.885	24.714	21.959	27.379
26	23.712	23.295	26.968	26.168

En la siguiente tabla se observa el resumen de los resultados por tiempo de fermentación de 0 horas, 13 horas y 26 horas. Se observa una correlación negativa con el tiempo de fermentación, lo que indica que durante el proceso hay una disminución de antocianinas monoméricas. Dicha tendencia se observa en la figura 19.

**Tabla 28.** Resumen de resultados contenido total de antocianinas monoméricas (mg/L C<sub>3</sub>G ) (MAP)

TIEMPOS (h)	C1	C2	C3	PROMEDIO	DS	CC
0	39.7308	36.523	30.3920	35.549 <sup>a</sup>	4.75	-0.961
13	36.2111	32.650	27.3794	32.080 <sup>a</sup>	4.44	
26	35.2268	31.369	26.1684	30.921 <sup>a</sup>	4.55	

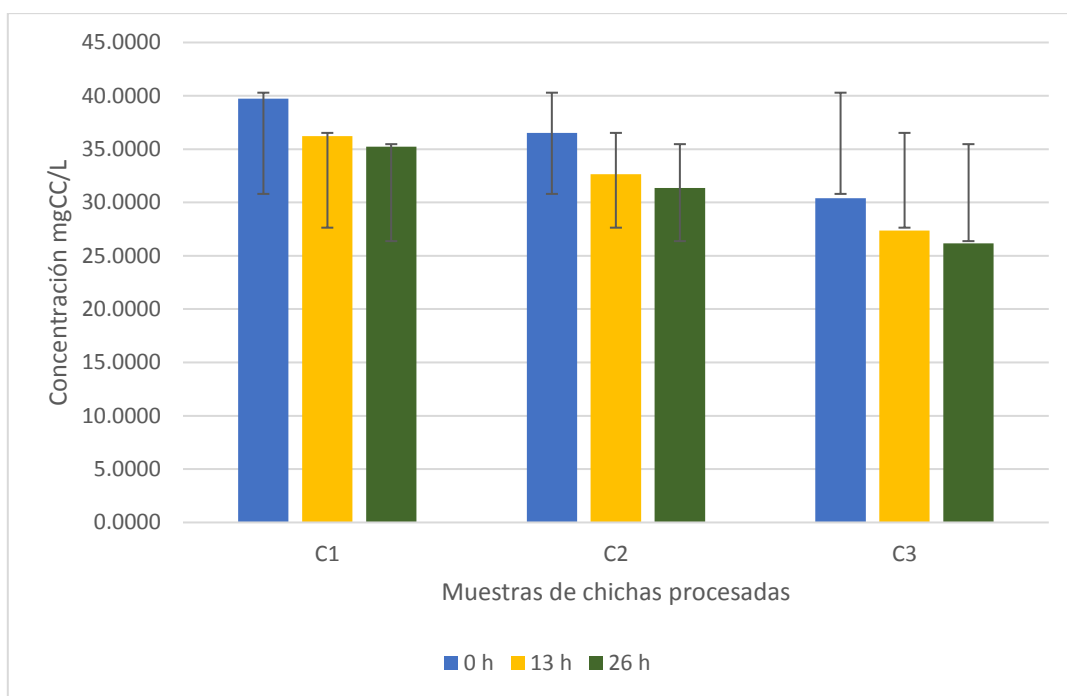
Letras diferentes dentro de la misma columna indican diferencia estadística significativa (p<0.05).

**Tabla 29.** Tabla ANOVA de análisis contenido total de antocianinas monoméricas (mgC<sub>3</sub>G/L ) (TAM)

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	34.7309	2	17.3654	0.83	0.4814
Intra grupos	125.852	6	20.9753		
Total (Corr.)	160.583	8			

El valor-P de la razón-F es mayor o igual que 0.05, no existe una diferencia estadísticamente significativa entre la media de TAM entre un nivel de tiempo y otro, con un nivel del 95.0% de confianza.

Se puede observar en la tabla 29 que no existe una diferencia significativa entre los resultados obtenidos en los tiempos de fermentación.



**Figura 18.** Concentración de antocianinas monoméricas frente al tiempo de fermentación

### 3.6.2. Contenido total de antocianina (TAC) medidos por UHPLC-DAD

El método de análisis de contenido total de antocianinas medidos por UHPLC-DAD determina una concentración medida en mg de aglicona cloruro de cianidina/L (mg C3G/L) de chicha de Guiñapo. En la tabla 30 se observan los resultados obtenidos, en cada muestra se utilizó un factor de dilución diferente, ya que pasó por un proceso de purificación de antocianinas.

**Tabla 30.** Resultado de TAC medidos por UHPLC en muestras de chicha de Guiñapo

CONCEPTO	TIEMPO (h)	mg/L	Factor de dilución	mg (C3G)/L
<b>C1</b>	0	63.882	2.0	127.764
	13	46.151	1.6	73.840
	26	44.811	1.6	71.697
<b>C2</b>	0	49.952	1.6	79.923
	13	44.748	1.6	71.596
	26	36.645	1.6	58.633
<b>C3</b>	0	43.686	1.6	69.898
	13	30.957	1.6	49.531

En la 

	26	34.477	1.6	55.163
--	----	--------	-----	--------

siguiente tabla se observa el resumen de resultados obtenidos por cada tiempo de fermentación, Durante las 0 horas, 13 horas y 26 horas se observa una tendencia a disminuir la concentración de antocianinas. Dando así una correlación negativa.

**Tabla 31.** Resumen de resultados de Tac durante 0,13 y 26 horas de fermentación

TIEMPO	C1	C2	C3	PROMEDIO	DS	Coefficiente de correlacion
0	127.76	79.92	69.90	92.529 <sup>a</sup>	30.92	-0.908988524
13	73.84	71.60	49.53	64.990 <sup>a</sup>	13.43	
26	71.70	58.63	55.16	61.832 <sup>a</sup>	8.72	

Letras diferentes dentro de la misma columna indican diferencia estadística significativa ( $p < 0.05$ ).

**Tabla 32.** Anova Contenido total de antocianina (TAC)

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	705.651	2	352.825	0.62	0.5705
Intra grupos	3430.34	6	571.724		
Total (Corr.)	4135.99	8			

Se determinó que no existe una diferencia significativa en relación a los datos obtenidos, el valor-P de la razón-F es mayor o igual que 0.05, no existe una diferencia estadísticamente significativa entre la media de antocianinas entre un nivel de tiempo y otro, con un nivel del 95.0% de confianza.

Las antocianinas monoméricas se cuantificaron por el método de pH diferencial. Se observó una concentración promedio de 35.55, 32.08, 30.92 mg C3G/L de chicha de Guiñapo en los tiempos de fermentación de 0 horas, 13 horas y 26 horas, respectivamente. El pH es uno de los factores que determina la estabilidad y la concentración de antocianinas, es por eso que se observa una variación entre las concentraciones de antocianinas del inicio y el final del proceso fermentativo, ya que el pH fue disminuyendo y de la misma forma volviendo más ácida a la chicha, por la presencia de ácidos lácticos y otros productos de la fermentación. En presencia de pH ácido las antocianinas disminuyen su concentración, ya que se degradan, haciendo de la misma forma un cambio de color durante el proceso, dando finalmente el color vino tinto característico de la chicha de Guiñapo de la ciudad de Arequipa, el cual es diferente al color morado del inicio de la fermentación (84).

Neves et al. (85), realizaron el análisis de antocianinas monoméricas para una bebida fermentada de Jabuticaba, obteniendo resultados de 18.277 mg C<sub>3</sub>G/L de muestra, observándose una mayor concentración en la muestra de chicha de Guiñapo a las 26 horas de fermentación, posiblemente por la materia prima utilizada, además de eso el pH final de la bebida fue de 3.128 después de 72 horas de fermentación siendo más ácido que el de la chicha, y como se mencionó el pH bajo reduce la concentración de antocianinas.

Vargas et al (59), determinaron la concentración de antocianinas monoméricas en muestras de chicha de Guiñapo, obteniendo resultados del producto final entre 16 y 31 mgC<sub>3</sub>G/L, posiblemente porque se evaluaron muestras del mismo tipo de bebida, además que obtuvo resultados de pH cercanos a 3.754, resultado obtenido a las 26 horas de fermentación de la muestra procesada en esta investigación.

El contenido total de antocianinas se determinó por UHPLC-DAD. Se observó una concentración promedio de 92.529, 64.99, 61.834 mg C<sub>3</sub>G/L de chicha de Guiñapo en los tiempos de fermentación de 0 horas, 13 horas y 26 horas, respectivamente. Como se mencionó anteriormente, las antocianinas son sensibles frente a varios factores, uno de ellos el pH, provocando el cambio de color mostrado al inicio y final de la fermentación, como por ejemplo, en la fabricación de vinos el catión flavilio es el que da el color al mismo, a pH ácido se transforma en pseudobase carbinol y a pH alcalino se transforma en una base quinoidal, este efecto es reversible, sin embargo, en la fermentación de la chicha de Guiñapo la fermentación es continua hasta su consumo, entonces de la misma forma que se observa en el cuadro tanto el pH como las antocianinas totales disminuyen junto con el tiempo de fermentación, provocando la disminución de la concentración de estos mismos (84).

Vargas-Yana et al. (59), también determinaron la concentración de antocianinas totales por el método de UHPLC DAD, analizando un total de 5 muestras de chicha de Guiñapo de distintos puntos dentro de la ciudad de Arequipa, teniendo como mínimo valor a 39.45 mg C<sub>3</sub>G/L y como el resultado más alto a 63.16 mg C<sub>3</sub>G/L. El resultado obtenido en esta investigación es un valor cercano al último mencionado, posiblemente como ya se mencionó, por ser el mismo tipo de bebida, sin embargo, también es posible que sea porque el proceso fue en condiciones controladas similares al proceso de elaboración tradicional de las bebidas analizadas por Vargas.

## **Análisis del potencial de inhibición de las enzimas $\alpha$ -amilasa y $\alpha$ -glucosidasa de la chicha de Guíñapo en diferentes etapas del proceso fermentativo por métodos *in vitro*.**

### **3.7. Inhibición de las enzimas digestivas $\alpha$ -amilasa**

Los resultados obtenidos durante el tiempo de fermentación se dieron en diferentes diluciones de las muestras obtenidas durante el proceso fermentativo: sin diluir, 1:2 y 1:3; sin embargo, los resultados de la dilución 1:3 no tuvieron significancia, ya que no se observó inhibición alguna. Los resultados se expresaron como miligramos de GAE / mL de Chicha de Guíñapo.

En la tabla 33 se observan los resultados obtenidos por tiempo de fermentación en las diferentes diluciones que se sometieron las muestras de chicha. En todos los casos se observa que en la dilución 1:1 hay mayor porcentaje de inhibición, pero aún se observa inhibición en una reducción del 50% de la muestra. Además, se muestra que el porcentaje aumenta según el tiempo de fermentación aumenta.

Tabla 33. Resultados de % de inhibición de  $\alpha$ -amilasa.

<b>CHICHA</b>	<b>TIEMPO (h)</b>	<b>DILUCIÓN</b>	<b>% de inhibición</b>
<b>C1</b>	0	1:1	0.00%
		1:2	0.00%
	13	1:1	27.96%
		1:2	0.00%
	26	1:1	75.65%
		1:2	26.95%
<b>C2</b>	0	1:1	4.59%
		1:2	2.90%
	13	1:1	34.59%
		1:2	0.00%
	26	1:1	51.83%
		1:2	0.00%
<b>C3</b>	0	1:1	47.49%
		1:2	9.69%
	13	1:1	67.46%
		1:2	20.81%
	26	1:1	100.00%
		1:2	55.72%

En la tabla 34 se observa el resumen de resultados obtenidos en la que se determina una correlación positiva indicada por el aumento de la inhibición de  $\alpha$ amilasa durante el proceso fermentativo.

**Tabla 34.** Resumen de resultados de inhibición de  $\alpha$ -amilasa para tiempos de fermentación con una concentración 0 igual a 0.01 mg GAE/mL

TIEMPOS	C1	C2	C3	PROMEDIO	DS	Coefficiente de correlación
0	0%	5%	47%	0.174 <sup>a</sup>	26%	0.998
13	28%	35%	67%	0.433 <sup>a</sup>	21%	
26	76%	52%	100%	0.758 <sup>a</sup>	24%	

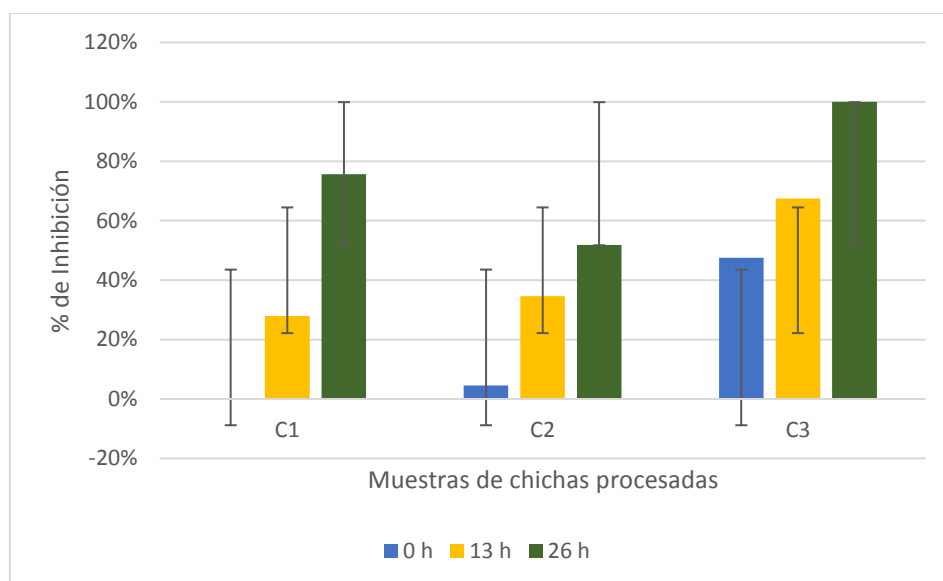
Letras diferentes dentro de la misma columna indican diferencia estadística significativa ( $p < 0.05$ ).

**Tabla 35.** ANOVA de inhibición de  $\alpha$ -amilasa para tiempos de fermentación

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	5184.89	2	2592.44	4.64	0.0604
Intra grupos	3349.33	6	558.222		
Total (Corr.)	8534.22	8			

De la misma manera se puede observar en la tabla de análisis de ANOVA que no existe diferencia significativa en los resultados obtenidos.

La misma tendencia se observa en la figura 20, mostrando la inhibición de la  $\alpha$ amilasa para los tiempos de 0 horas, 13 horas y 26 horas por cada chicha procesada.



**Figura 19.** Inhibición de  $\alpha$ -amilasa vs tiempos de fermentación

### 3.8. La inhibición in vitro de la enzima $\alpha$ -glucosidasa

Los resultados obtenidos durante el tiempo de fermentación se dieron en diferentes diluciones de las muestras obtenidas durante el proceso fermentativo, sin diluir ,1:5,1:20. Y los resultados se expresaron como miligramos de GAE / mL de Chicha de Guíñapo.

En la tabla 36 se observan los resultados obtenidos por tiempo de fermentación en las diferentes diluciones que se sometieron las muestras de chicha. En todos los casos se observa una correlación insignificativa, ya que el coeficiente de correlación no es cercano a la unidad. Esto indica que el tiempo de fermentación no afecta a gran escala la inhibición de la enzima  $\alpha$ -glucosidasa.

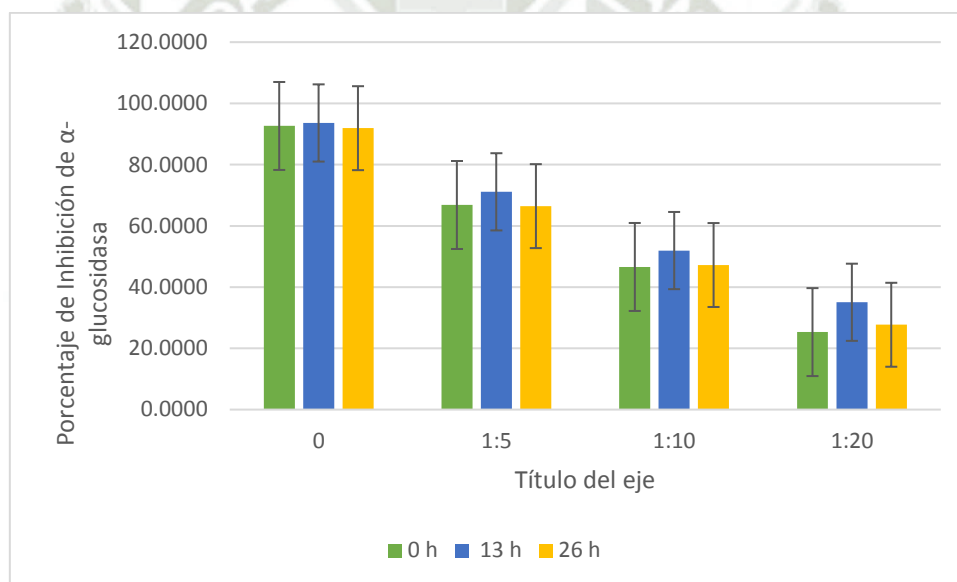
**Tabla 36.** Resumen de resultados de inhibición de  $\alpha$ -glucosidasa para tiempos de fermentación

DILUCIÓN 1:1						
TIEMPOS	C1	C2	C3	PROMEDIO	DS	Coefficiente de correlación
0	88.84	92.88	96.17	92.631	3.67	-0.423
13	90.12	94.09	96.62	93.610	3.28	
26	85.52	94.21	96.00	91.910	5.61	
DILUCIÓN 1:5						
TIEMPOS	C1	C2	C3	PROMEDIO	DS	Coefficiente de correlación
0	56.67	72.89	70.90	66.818 <sup>a</sup>	8.85	-0.072
13	57.89	74.14	81.34	71.123 <sup>a</sup>	12.01	
26	45.80	73.88	79.66	66.446 <sup>a</sup>	18.11	

DILUCIÓN 1:10						
TIEMPOS	C1	C2	C3	PROMEDIO	DS	Coefficiente de correlación
0	39.34	49.33	51.06	46.577 <sup>a</sup>	6.33	0.109
13	40.14	51.46	64.21	51.937 <sup>a</sup>	12.04	
26	21.95	53.26	66.43	47.213 <sup>a</sup>	22.85	
DILUCIÓN 1:20						
TIEMPOS	C1	C2	C3	PROMEDIO	DS	Coefficiente de correlación
0	24.63	33.96	17.32	25.303 <sup>a</sup>	8.34	0.236
13	22.74	36.01	46.39	35.047 <sup>a</sup>	11.85	
26	11.07	40.25	31.78	27.700 <sup>a</sup>	15.01	

No existe una diferencia estadística significativa ( $p < 0.05$ ).

En la figura 22 se observa que en cada proceso fermentativo en relación a los tiempos no presentan diferencia significativa para la inhibición de  $\alpha$ -glucosidasa.



**Figura 20.** Inhibición de  $\alpha$ -glucosidasa en los distintos tiempos de fermentación

La inhibición de la enzima  $\alpha$ -amilasa fue reportada en muestra sin diluir, ya que las muestras diluidas mostraron poca estabilidad en los resultados. Se observó una concentración promedio de 17%, 43% y 75 % de inhibición de la enzima alfa amilasa de chicha de Guiñapo en los tiempos de fermentación de 0 horas, 13 horas y 26 horas, respectivamente. Para la inhibición del  $\alpha$ -glucosidasa se observó una concentración promedio de 92.63%, 93.61% y 91.91 % de inhibición de chicha de Guiñapo en los tiempos de fermentación de 0 horas, 13 horas y 26 horas, respectivamente para una dilución de 1:1, para las diluciones 1:5 (66.81 – 0 horas, 71.12-13horas, 66.44 – 26 horas), 1:10 (46.57 -0 horas, 51.93 – 13 horas, 47.21 -26 horas) y 1:20

(25.30-0 horas, 35.05 – 13 horas, 27.70-26 horas). El comportamiento de inhibición para ambas enzimas se muestra de la misma forma en aumento con respecto al tiempo de fermentación, mostrando mayor inhibición a las 26 horas para ambos casos. La inhibición de la  $\alpha$ -amilasa y  $\alpha$ -glucosidasa se relaciona a la presencia de diferentes compuestos fenólicos; sin embargo, la concentración de polifenoles totales fue disminuyendo en cuanto al aumento de tiempo de fermentación, por lo que es posible que se deba a la biotransformación de los compuestos fenólicos presentes en la chicha de Guiñapo analizada. Los compuesto biotransformados por el microbioma presente a las 26 horas de fermentación, tienen mayor capacidad de inhibición que a las 13 y 0 horas de fermentación (86).

Jonhson et al, (87) obtuvieron entre 91.8% y 103.3% de inhibición para  $\alpha$ -amilasa y para  $\alpha$ -glucosidasa entre 103.2% y 190.8%, obteniendo mayor porcentaje de inhibición, posiblemente porque utilizaron arándanos como materia prima para su bebida fermentada, y tuvieron un inóculo diferente para esta misma, teniendo como producto final polifenoles más competentes, gracias a su alta capacidad de inhibición  $\alpha$ -glucosidasa y  $\alpha$ -amilasa.

Vargas et al (59) como ya se mencionó analizo distintas chichas de Guiñapo procedente de distintas picanterías y analizo de la misma manera la inhibición de  $\alpha$ -glucosidasa y  $\alpha$ -amilasa, obteniendo resultados altos como 75.73% la dilución 1:2 y 52.51% en la dilución 1:5, para  $\alpha$ -glucosidasa y 94.41% en muestra sin diluir para  $\alpha$ -amilasa, esto se debe como ya se mencionó a que las muestras analizadas por Vargas fueron realizadas de manera tradicional y las muestras en esta investigación se produjeron de manera controlada.

### **3.9. Evaluación de la variación del microbioma durante el proceso fermentativo, utilizando el sistema ILLUMINA en un análisis Metagenómico de las regiones 16S e ITS.**

El microbioma presente en las muestras del proceso fermentativo de la chicha de Guiñapo se determinó mediante un análisis metagenómico, llevado a cabo mediante la tecnología Illumina. Esta tecnología tiene la ventaja de brindar una amplia resolución del total de comunidades microbianas encontradas en la muestra (88).

Se realizaron lecturas en la región 16S y la región ITS, los resultados encontrados fueron satisfactorios, más del 90% de las secuencias fueron correctamente clasificadas a nivel de género, sin embargo, a nivel de especie solo se logró clasificar en caso de las 0 horas de fermentación el 18.84%, en caso de las 13 horas de fermentación el 9,00% y en caso de las 26

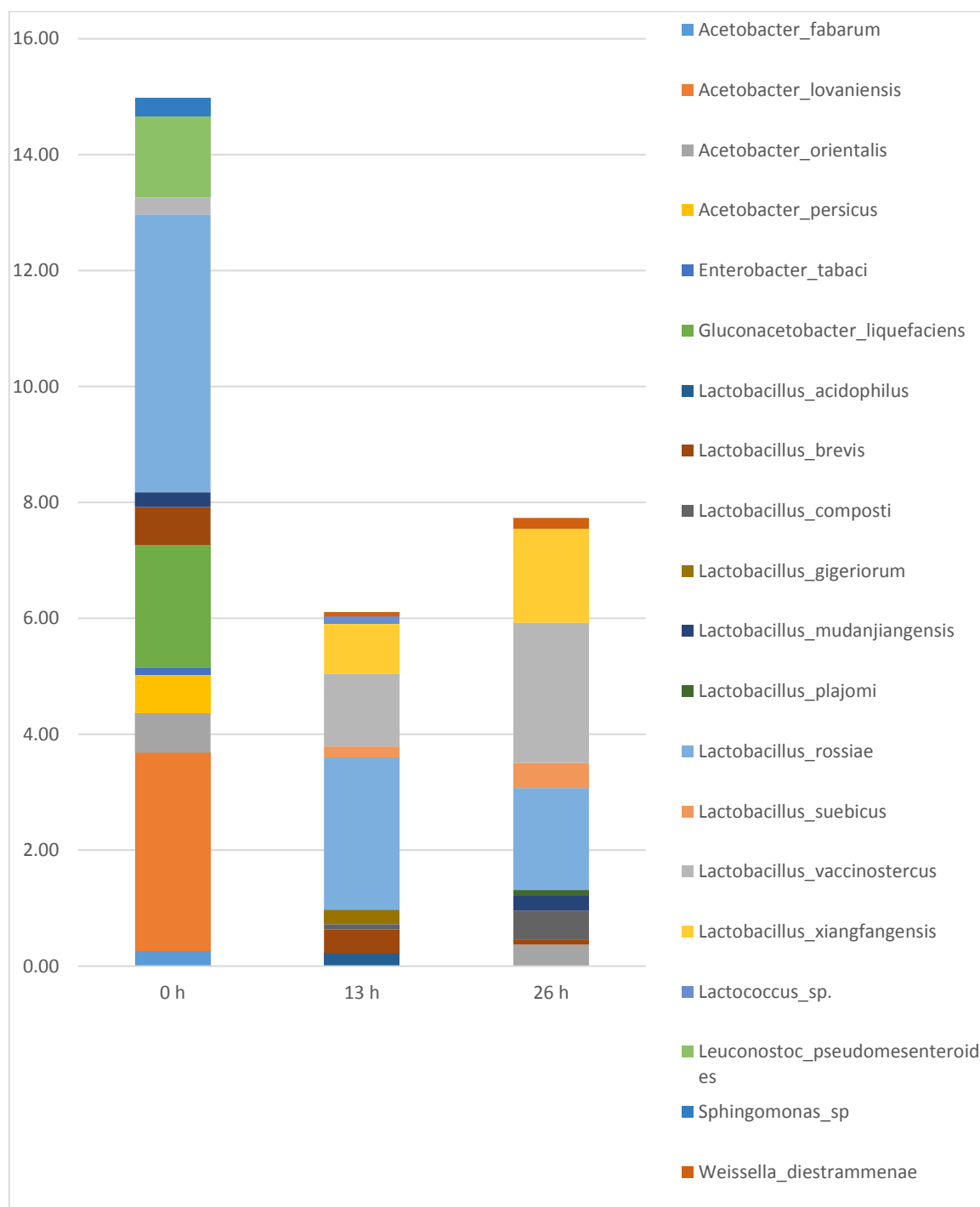
horas el 10,22%, esto a nivel de especie bacterias, en caso de hongos se observó a las 0 horas el 77,29%, a las 13 horas el 85,76% y a las 26 horas el 82,22%. Se mostró una amplia diversidad microbiana durante el proceso fermentativo de la chicha de Guiñapo, un resumen de los principales microorganismos encontrados con mayor presencia, entre ellos destaca el género *Acetobacter*, *Lactobacillus*, como se observa en la tabla 37.

El análisis metagenómico realizado da resultados en porcentajes con respecto al total de “reads”, unidades de lectura para el proceso metagenómico, mostrados por cada microorganismo.

**Tabla 37.** Especies de microorganismos representativos en la región 16S

MICROORGANISMO	0 h	13 h	26 h
<i>Acetobacter_fabarum</i>	0.26	0.00	0.00
<i>Acetobacter_lovaniensis</i>	3.42	0.00	0.00
<i>Acetobacter_orientalis</i>	0.69	0.00	0.37
<i>Acetobacter_persicus</i>	0.65	0.00	0.00
<i>Enterobacter_tabaci</i>	0.11	0.00	0.00
<i>Gluconacetobacter_liquefaciens</i>	2.13	0.00	0.00
<i>Lactobacillus_acidophilus</i>	0.00	0.22	0.00
<i>Lactobacillus_brevis</i>	0.65	0.42	0.09
<i>Lactobacillus_composti</i>	0.00	0.09	0.49
<i>Lactobacillus_gigeriorum</i>	0.00	0.24	0.00
<i>Lactobacillus_mudanjiangensis</i>	0.26	0.00	0.26
<i>Lactobacillus_plajomi</i>	0.00	0.00	0.09
<i>Lactobacillus_rossiae</i>	4.79	2.63	1.76
<i>Lactobacillus_suebicus</i>	0.00	0.19	0.43
<i>Lactobacillus_vaccinostercus</i>	0.30	1.26	2.42
<i>Lactobacillus_xiangfangensis</i>	0.00	0.86	1.62
<i>Lactococcus_sp.</i>	0.00	0.13	0.00
<i>Leuconostoc_pseudomesenteroides</i>	1.41	0.00	0.00
<i>Sphingomonas_sp</i>	0.32	0.00	0.00
<i>Weissella_diestrammenae</i>	0.00	0.08	0.19
OTROS	85.01	93.89	92.27

La chicha de Guiñapo presento una variación en cuanto a su microbioma para la región 16 S, se observó que los géneros *Acetobacter*, *Enterobacter*, *Gluconoacetobacter* y *Leuconostoc* se presentaron solo al inicio de la fermentación y fueron disminuyendo tras las 26 horas del proceso fermentativo, además el género *Lactobacillus* se presentó en mayor cantidad durante toda la fermentación siendo el *Lactobacillus vaccinostercus* y el *Lactobacillus rossiae*, los más representativos durante toda el proceso



**Figura 21.** Microbioma de la región 16S durante el proceso fermentativo

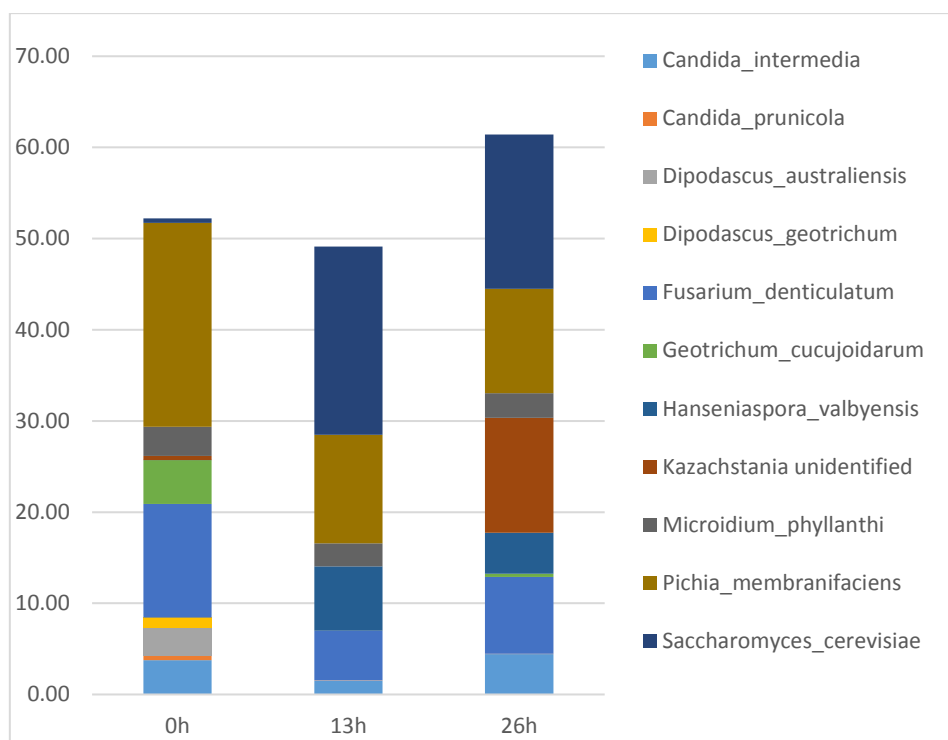
En la región ITS, se puede observar la presencia de especies de hongos y levaduras. Se observa que la especie *Saccharomyces cerevisiae*, tiene mayor presencia durante todo el proceso fermentativo. Los géneros *Dipodascus* y *Kazachstani* se presentaron solo al inicio de la

fermentación y los géneros *Candida*, *Fusarium*, *Hanseniaspora*, *Pichia* y *Saccharomyces* fueron los más relevantes en cuanto a presencia, a nivel de especie fueron *Fusarium denticulatum*, *Pichia membranifaciens* y *Saccharomyces cerevisiae* los más representativos.

**Tabla 38.** Especies de microorganismos representativos en la región ITS

MICROORGANISMO	0h	13h	26h
<i>Candida_intermedia</i>	3.76	1.51	4.43
<i>Candida_prunicola</i>	0.47	0.04	0.04
<i>Dipodascus_australiensis</i>	3.07	0.00	0.00
<i>Dipodascus_geotrichum</i>	1.14	0.00	0.00
<i>Fusarium_denticulatum</i>	12.45	5.44	8.44
<i>Geotrichum_cucujoidarum</i>	4.82	0.00	0.35
<i>Hanseniaspora_valbyensis</i>	0.01	7.07	4.50
<i>Kazachstania_unidentified</i>	0.46	0.00	12.60
<i>Microidium_phyllanthi</i>	3.20	2.52	2.67
<i>Pichia_membranifaciens</i>	22.35	11.91	11.48
<i>Saccharomyces_cerevisiae</i>	0.49	20.62	16.91
<b>OTROS</b>	47.78	50.88	38.58

En la figura 22 se observa la presencia de cada microorganismo secuenciado en la región ITS, en el proceso fermentativo de cada chicha procesada.



**Figura 22.** Microbioma de la región ITS durante el proceso fermentativo

Se observó mayor presencia de los géneros de bacteria como *Acetobacter*, *Gluconacetobacter*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc* a las 0 horas, siendo de esta forma que a las 0 y 26 horas el género *Lactobacillus* se mostró con mayor presencia. En cuanto a hongos y levaduras se observó en mayor abundancia a los géneros *Fusarium*, *Pichia*, *Geotrichum*, para las 0 horas de fermentación, *Saccharomyces*, *Pichia*, *Fusarium* para las 13 horas y *Kazachstania*, *Saccharomyces* y *Pichia* en las 26 horas de fermentación.

Se observa que la comunidad fúngica presenta mayor riqueza, sin embargo, la comunidad bacteriana presenta mayor diversidad, esto se observa también en el estudio realizado por Cruz O Byrne, et.al (89), donde, analiza la microbiota del proceso fermentativo del café en Colombia en un lapso de 36 horas de fermentación, donde de la misma forma se observa mayor riqueza fúngica y mayor diversidad bacteriana. Además de mostrar presencia del género.

La presencia de abundantes microorganismos del género *Lactobacillus*, así como *Enterococcus*, *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Weissella*, *Leuconostoc*, etc, fueron también descritas para otra bebida fermentada del norte de Argentina, también chicha de Jora, se realizó un análisis utilizando el marcado 16 S ribosomal (90). También en estudios reportados de Pérez, 2018, en bebidas fermentadas a base de maíz, como es el Atole y el pozol en México, se reportó la presencia de bacterias del género *Acetobacteraceae*, también encontradas en las muestras de chicha (91).

La información obtenida en este estudio sobre el microbioma de la chicha de jora de la región Arequipa, representa una base para futuras investigaciones, este estudio contribuye al conocimiento de las comunidades microbianas presentes, las cuales podrían estar involucradas en las características nutricionales y saludables que se conoce que presenta esta bebida ancestral.



## CAPITULO IX

### CONCLUSIONES

#### PRIMERA

Se determinaron parámetros como tiempo de fermentación, concentración de inóculo, concentración de guiñapo, para la elaboración de chicha de Guiñapo bajo condiciones controladas, basados en la materia prima que obtuvo para los ensayos, realizando ensayos de pH, acidez titulable y grados BRIX, el inóculo elegido fue el recolectado en el distrito de Characato de la ciudad de Arequipa, la concentración de Guiñapo determinada fue de 1:10 Guiñapo /Agua, la concentración de inóculo fue de 1.10 Inoculo/Agua, y el tiempo de fermentación que se determinó fue de 26 horas, este último ensayo se realizó en el fermentador LAMBDA MINIFOR.

#### SEGUNDA

Se observa una variabilidad no significativa en forma descendente en la concentración de compuestos fenólicos observándose una variación entre 60.554 a 56.730 mg GAE/100 ml, durante el proceso fermentativo, sin embargo, no es una variación significativa, observando poca degradación de estos compuestos. En cuanto a la actividad antioxidante por DPPH se observa una variación de 226.289 a 205.998  $\mu\text{mol TE}/100\text{ml}$ , durante el proceso fermentativo, la variación se observa por la misma disminución de compuestos fenolicos sin embargo, tampoco es significativa, para la actividad antioxidante mediante al analisis de radical ABTS, se observo una variación de 223.211 a 194.911  $\mu\text{mol TE}/100\text{ml}$ , y en cuanto a la concentración de antocianinas se observo una variación de 35.459 a 30.921 mg/L C<sub>3</sub>G en el analisis de antocianinas monomericas totales, sin embargo por el metodo de UHPLC-DAD se observo de 92.529 a 61.834 mg C<sub>3</sub>G/ L, observando casi el doble de concentración debido a que paso por un proceso de purificación. La chicha de guiñapo mostró valores que demuestra su potencial bioactivo.

#### TERCERA

La chicha de Guiñapo presento una inhibición de  $\alpha$ -amilasa con respecto al proceso fermentativo de forma ascendente yendo de 17% a 70% de inhibición para 0.01 mg GAE/mL,

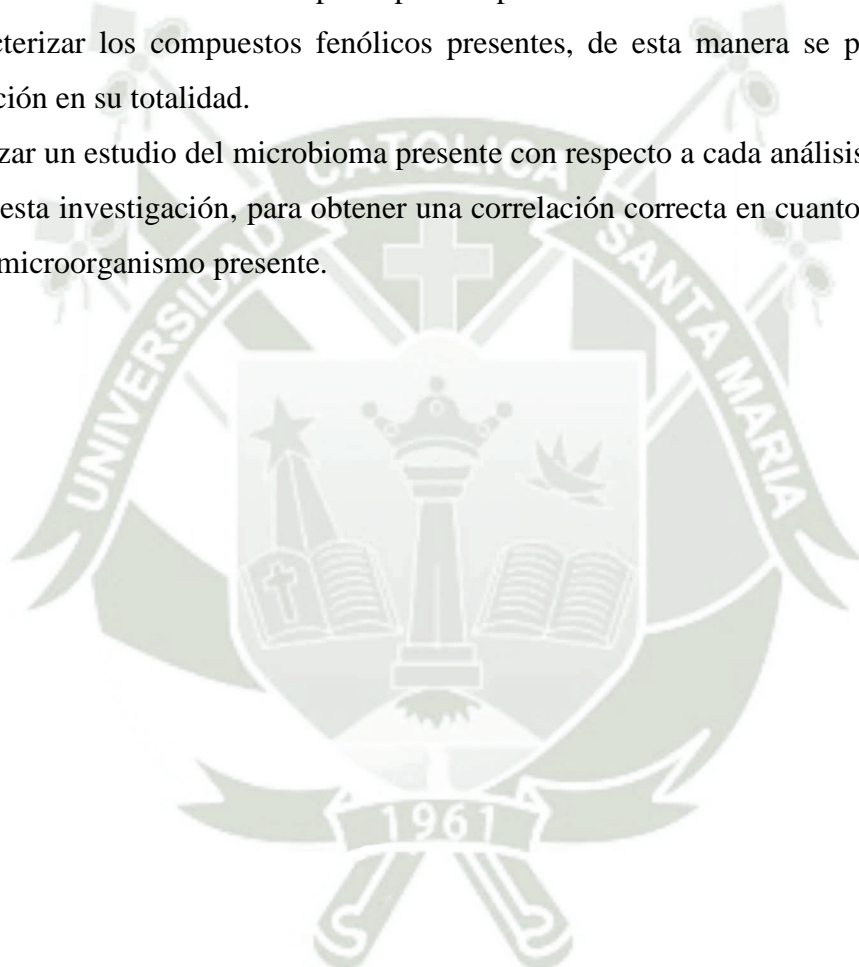
mostrando que el efecto de la fermentación es óptimo para la inhibición de esta enzima. En cuanto a la inhibición de  $\alpha$ -glucosidasa de la chicha de Guiñapo se observó una inhibición de 92.631% a 91.910% con 0.068 mg GAE/mL, con una variación no significativa. La chicha de guiñapo mostró valores que demuestran su potencial bioactivo.

#### CUARTA

La chicha de Guiñapo presentó una variación en cuanto a su microbioma para la región 16 S e ITS, para la región 16S se observó que los géneros *Acetobacter*, *Enterobacter*, *Gluconoacetobacter* y *Leuconostoc* se presentaron solo al inicio de la fermentación y fueron disminuyendo tras las 26 horas del proceso fermentativo, además el género *Lactobacillus* se presentó en mayor cantidad durante toda la fermentación siendo el *Lactobacillus vaccinoferus* y el *Lactobacillus rossiae*, los más representativos durante todo el proceso. En cuanto a la región ITS los géneros *Dipodascus* y *Kazachstani* se presentaron solo al inicio de la fermentación y los géneros *Candida*, *Fusarium*, *Hanseniaspora*, *Pichia* y *Saccharomyces* fueron los más relevantes en cuanto a presencia, a nivel de especie fueron *Fusarium denticulatum*, *Pichia membranifaciens* y *Saccharomyces cerevisiae* los más representativos. La chicha de guiñapo mostró valores que demuestran su potencial bioactivo.

## RECOMENDACIONES

1. Realizar para futuras investigaciones un test sensorial para determinar una mejor optimización del proceso fermentativo.
2. Determinar dentro de los parámetros fermentativos el tiempo de cocción para el proceso fermentativo, ya que el tiempo al que se somete la solución afecta de la misma manera el potencial bioactivo de la chicha.
3. Tomar en cuenta un muestreo por triplicado por Chicha así se observara un mejor análisis.
4. Caracterizar los compuestos fenólicos presentes, de esta manera se puede observar la variación en su totalidad.
5. Realizar un estudio del microbioma presente con respecto a cada análisis realizado dentro de la esta investigación, para obtener una correlación correcta en cuanto a la actividad de cada microorganismo presente.



## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Cincuenta años del programa cooperativo de investigaciones en maíz Lima: Universidad Agraria de la Molina (UNALM); 2004.
2. Sevilla R. , Valdez A. Estudio de factibilidad del cultivo de maíz. Lima, Perú: (FOPEX), Fondo de Promoción y Exportación ; 1985.
3. INIA. Utilización tradicional del maíz en las comunidades del Perú. Lima: Instituto Nacional De Innovación Agraria – INIA; 2008.
4. Fuentes MdC. La picantería arequipeña: patrimonio cultural de la nación. ; 2014.
5. Grobman, A., Salhuana, W., Sevilla, R., & Mangelsdorf, P. C.. Races of maize in Perú. Washington D.C: NRC Publication 915., National Academy of Sciences; 1961.
6. Manrique A. El maíz morado peruano (*Zea mays* L. *amilaceae* st.). INIA-folleto. 1999; N° 2-99(24).
7. Fei Lao, Gregory T. Sigurdson, and M. Mónica Giust. Health Benefits of Purple Corn (*Zea mays* L.) Phenolic Compounds. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 2017 January; 16(2).
8. Bustamante C. Purple corn fact sheet. resumen de comercio. Lima: Ministerio de agricultura y riego, Dirección Agrícola; 2017.
9. (ITIS) SIDIT. Sistema Integrado de Información Taxonómica. [Online].; 2021 [cited 2021 03 10. Available from: [https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search\\_topic=TSN&search\\_value=42269#null](https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=42269#null).
10. Mayr E. Systematics and the origin of species. New York.: Columbia University Press; 1942.
11. Manrique A. El maíz en el Perú. 2nd ed. Lima: Consejo nacional de ciencia y tecnología (CONCYTEC); 1997.
12. Salhuana W. Diversidad y descripción de las razas de maíz en el Perú. Congreso. Lima- Perú: UNALM, Cincuenta años del Programa Cooperativo de Investigaciones en Maíz ; 2004.
13. Guillén-Sánchez, Jhoseline; Mori-Arismendi, Sigry; Paucar-Menacho, Luz María. Características y propiedades funcionales del maíz morado (*Zea mays* L.) var. subnigrovioláceo. *Scientia Agropecuaria*. 2014; 5(4).
14. Arroyo, J.; Saez, E.; Rodríguez, M.; Chumpitaz, V.; Burga, J.; de la Cruz, W.; Valencia, J. Reducción del colesterol y aumento de la capacidad antioxidante por

- el consumo crónico de maíz morado (*Zea mays* L.) en ratas hipercolesterolémicas. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*. 2010; 24.
15. Fernández H. Aplicación de roca fosfórica y diatomita incubada en microorganismos en el cultivo de maíz morado (*Zea mays* L.) en la estación experimental del INIA Canaán Ayacucho. Tesis para optar el título de Ing. Agr. Ayacucho: UNSCH.; 2009.
  16. Guaman Lema A. Validación técnica del proceso de producción de las chichas (jora y morada), elaboradas por la fundación Andinamarca, Calpi-Riobamba. Tesis. Riobamba, Ecuador: Escuela Superior Politécnica De Chimborazo, Escuela De Bioquímica Y Farmacia; 2013.
  17. Viñas E. La composición Química de las Diferentes Chichas que se consumen en el País. Tesis. Lima: UNMSM, Lima; 1958.
  18. Valdizán H. La Medicina Popular Peruana. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos (UNMSM); 1927.
  19. Perú ILCB. ILCB Perú. [Online].; 2020 [cited 2020 octubre 10. Available from: <https://www.ilcb.edu.pe/blog-detalle/la-chicha-de-jora>.
  20. Álvarez Novoa I CMGRAEAV. Picanterías y chicherías del Perú Patrimonio Cultural de la Nación. 1st ed. Porres USMd, editor. Lima: Iglesias J.; 2017.
  21. Arequipa S. Datos generales del departamento de Arequipa. [Online].; 2020 [cited 2021 febrero. Available from: <https://www.saludarequipa.gob.pe/epidemiologia/ASIS/docs/regional/DATOS%20GENERALES%20DEL%20DEPARTAMENTO.htm>.
  22. Ruiz Rosas A. El recetario de Arequipa. 500 recetas de la gran cocina mestiza.: Arequipa: Cuzzi Editores, 2009.
  23. Yarabaya. Arequipa Tradicional. [Online].; 2020 [cited 2021 abril. Available from: <https://arequipatradicional2.blogspot.com/2021/04/teodoro-nunez-ureta-el-gran-muralista.html>.
  24. Travel A. anderratravel.com. [Online].; 2020 [cited 2021 enero. Available from: <https://www.anderratravel.com/blog/platos-tipicos-arequipa.php>.
  25. Pita Villamil J, Perez Garcia F. Germinación de semillas. Folleto. Madrid: E.U. Ingenieria Tecnica Agricola, Biología Vegetal; 1998. Report No.: 2090.
  26. Lincoln T, Zeiger E. Fisiología Vegetal; 2006.
  27. Apaza Machaca R, Atencio Rojas Y. Tecnología para la elaboración de una cerveza artesanal tipo ale, con sustitución parcial de malta (*Hordeum Vulgare*) por guñapo de maíz morado (*Zea mays*). Tesis. Arequipa: Universidad Nacional De San Agustín De Arequipa, Ingenieras en industrias alimentarias; 2017.

28. Morales Romero JF. Efecto de la temperatura y tiempo de pasteurización sobre la calidad de la chicha arequipeña clarificada a base de maíz morado germinado variedad kculli (*Zea mays*). Tesis para optar el Grado Académico de Magister en Ciencia y Tecnología de Alimentos. Arequipa: Universidad Nacional De San Agustín, Ciencia y Tecnología de Alimentos.; 2018.
29. Cheftel Jch. Introducción a la Bioquímica y Tecnología de los Alimentos. 2nd ed. Zaragoza, España: Acribia; 1980.
30. Owen. Fermentation Biotechnology España: Open University Press; 1989.
31. García, D. ; Mamani, G. Selección de levaduras nativas *Saccharomyces cerevisiae* aisladas de chicha de jora del Valle de Mantaro. Universidad Nacional del Centro del Perú.; 2008.
32. Henschke, P. A., Jiranek, V. Yeasts: Metabolism of nitrogen compounds. In G. H. Fleet (Ed.). Wine microbiology and biotechnology. 1993.
33. Teresa Zamora-Hernández, Adriana Prado-Fuentes, Jacqueline Capataz-Tafur, Blanca E. Barrera-Figueroa, Julián M. Peña-Castro. Demostraciones prácticas de los retos y oportunidades de la producción de bioetanol de primera y segunda generación a partir de cultivos tropicales. Educación Química. 2014 Abril; 25(2).
34. Bravo L. Polyphenols: Chemistry, Dietary Sources, Metabolism, and Nutritional Significance. Nutrition Reviews. 1998; 56: p. 317-333.
35. Balasundram N, Sundram KYSS. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: antioxidant activity, occurrence and potential uses. Food Chemistry. 2006; 99(1): p. 191-203.
36. al. Be. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products. Food Chemistry. 2006; 90(1).
37. Peñarrieta, J. Mauricio; Tejada, Leslie ; Mollinedo, Patricia , Vila, José L. ; Bravo, José A.. Phenolic Compounds In Food†. Bolivian Journal of Chemistry. 2014 December; 31(2).
38. Yu J., Vasanthan T. y Temelli F. Analysis of Phenolic Acids in Barley by High-Performance Liquid Chromatography. J. Agric. Food Chem. 2001; 49: p. 4352-4358.
39. Pedreschi Romina , Zevallos Luis Cisneros. Phenolic profiles of Andean purple corn (*Zea mays* L.). Food chemistry. 2007 November; 100(956-963).
40. Garzón G. Anthocyanins as Natural Colorants and Bioactive Compounds. Biol. Colombiana. 2008; 13: p. 27 – 36.
41. Badui S. Química de los Alimentos. Antocianinas. 4th ed.; 2006.

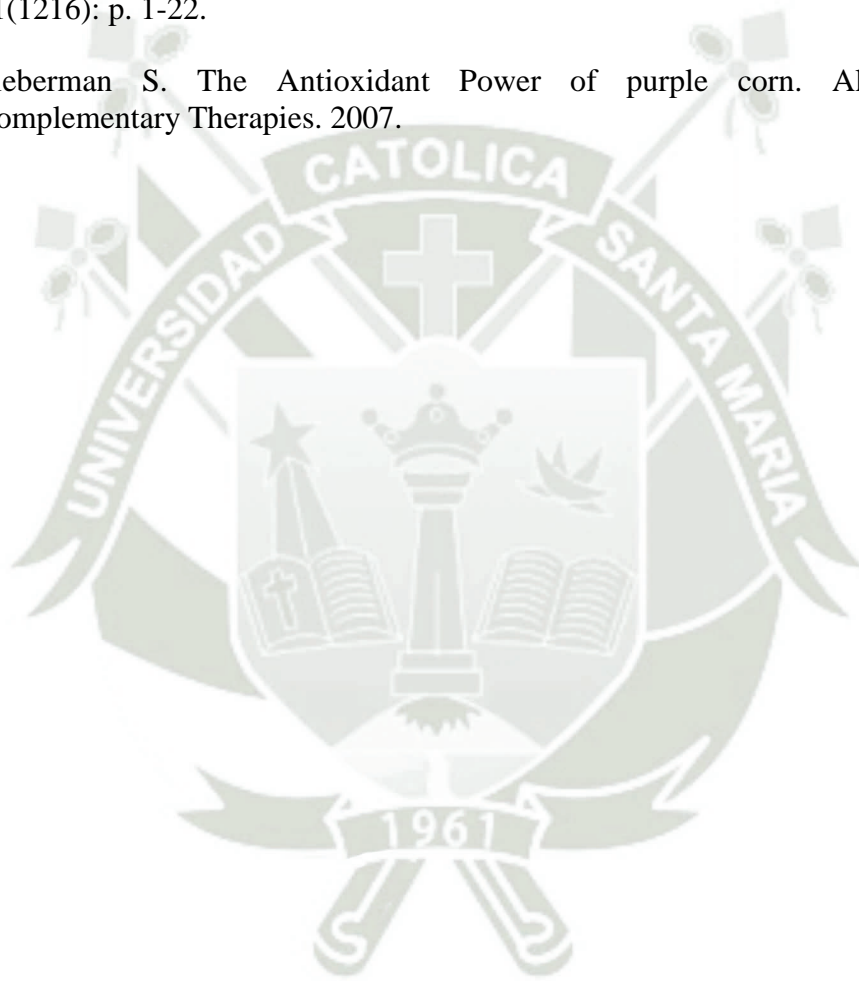
42. Durst R. WR. Separation and Characterization of Anthocyanins by HPLC. Handbook of Food Analytical Chemistry. 2001.
43. Cevallos-Casals BA, Cisneros-Zevallos L. Stoichiometric and kinetic studies of phenolic antioxidants from Andean purple corn and red red fleshed. J Agric Food Chem. 2003; 51.
44. R. R. Phenolic acids in foods: an overview of analytical methodology. J.Agric. Food Chem. 2003; 51.
45. S. Martínez-Flórez, J; González-Gallego; J. M. Culebras ; M.J. Tuñón. Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. Nutrición hospitalaria. 2002; 17(6).
46. Ramirez-Tortosa, C.; Andersen, O.M.; Gardner, P.T.; Morrice, P.C.; Wood, S.G.; Duthie, S.J.; Collins, A.R.; Duthie, G.G. Anthocyanin-rich extract decreases indices of lipid peroxidation and DNA damage in vitamin E depleted rats. Free Rad. Biol. 2001; 31(9).
47. L. G. Posible efecto protector de los vinos tintos frente al estrés oxidativo. Burgos, España.
48. Manrique De La Cuba MF. Evaluación de la capacidad antioxidante de los flavonoides presentes en las hojas de *Annona Muricata* (guanábana) mediante química computacional. Tesis. Arequipa: Universidad Católica de Santa María, Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas y Biotecnológicas; 2018.
49. Villena J. Epidemiología de la Diabetes Mellitus en el Perú. Diagnóstico. 2016; 55: p. 173-181.
50. Pino Chávez W. Obesidad, dieta y actividad física en escolares de 5 a 10 años en el distrito de Sachaca, Arequipa. UCSM. 2014;; p. 1-90.
51. Michelle H. Johnson, Anita Lucius, Tessa Meyer, Elvira Gonzalez de Mejia. Cultivar Evaluation and Effect of Fermentation on Antioxidant Capacity and in Vitro Inhibition of R-Amylase and R-Glucosidase by Highbush Blueberry (*Vaccinium corombosum*). Agricultural and food chemistry. 2011; 59.
52. Rey D. Evaluación in vitro del efecto de un extracto de frutos de *Physalis peruviana* sobre algunas carbohidrasas intestinales. Universidad Nacional de Colombia. 2013.
53. Zoetendal EG, Rajilic-Stojanovic M, de Vos WM. High-throughput diversity and functionality analysis of the gastrointestinal tract microbiota. Gut. 2008; 57(11).
54. ILLUMINA. 16S Metagenomics Studies with the MiSeq® System..
55. ILLUMINA. Fungal sequencing and classification with the ITS Metagenomics Protocol..

56. Kergourlay G, Taminau B, Daube G, Vergès MCC. Conocimientos metagenómicos sobre la dinámica de las comunidades microbianas en los alimentos. *Revista Internacional de Microbiología de Alimentos*. 2015 Noviembre; 213.
57. Mengxi Xie. Metagenomic analysis of bacterial community structure and functions during the fermentation of da-jiang, a Chinese traditional fermented food. *LWT*. 2020 July; 129.
58. Ali Soyucok. Análisis metagenómico y químico de Tarhana durante el proceso de fermentación tradicional. *Biociencia de los alimentos*. 2021 febrero; 39.
59. Vargas-Yana , Aguilar-Morón , Pezo-Torres N, Shetty , Gálvez Ranilla. Ancestral Peruvian ethnic fermented beverage “Chicha” based on purple corn (*Zea mays L.*): unraveling the health-relevant functional benefits. *Journal of Ethnic Foods*. 2020 September; 7(35).
60. Álvarez Novoa. Picanterías y chicherías del Perú Patrimonio Cultural de la Nación. 1st ed. J. I, editor. Lima: Universidad San Martín de Porres. Fondo Editorial; 2017.
61. Método utilizado Official methods of analysys 1AOAC. Official methods of analysys, A.O.A.C.. 1990 15 th ed.; II(method 925 45D. USA. P 1010-1011).
62. Kjeldahl. A.O.A.C. Official Methods of Analysis. 1984; 13th edition.
63. NTP Ad. Normas Tecnicas Peruanas (NTP). INCAL. 1980; 205.003.1980.
64. NTP Amgd. Normas Tecnicas Peruanas (NTP). metodo gravimetrico. 2001; 209.263.2001.
65. Method of test for total and direct reducing substances in food.. Normas mexicanas. 1978; NMX-F(312-1978).
66. Singleton VL RJ. Colorimetría de fenólicos totales con reactivos de ácido fosfomólfbdico-fosfotúngstico. *Soy J Enol Vitic*. 1965; 16(144-58).
67. Pérez-Jiménez J SCF. Effect of solvent and certain food constituents on different antioxidant capacity assays. 7th ed.: *Food Res Int.*; 2006.
68. Lee J DRWR. Determination of total monomeric anthocyanin pigment content of fruit juices, beverages, natural colorants, and wines by the pH differential method: Collaborative Study. *AOAC Int*. 2005; 88(5): p. 1269-1278.
69. Rodriguez-Saona L. y Wrolstad R. Extraction, Isolation, and purification of Anthocyanins. *Food Analytical Chem*. 2001; 1(1): p. 1-11.
70. Worthington, V. y Corporation, W. Worthington enzyme manual: Enzymes and related biochemicals – alpha amylase: Worthington Biochemical Corporation; 1993.

71. González-Muñoz A., Quesille-Villalobos A., Fuentealba C., Shetty K. y Gálvez L. Potential of Chilean Native Corn (*Zea mays* L.) Accessions as Natural Sources of Phenolic Antioxidants and in Vitro Bioactivity for Hyperglycemia and Hypertension Management. *J. Agric. Food Chem.* 2013; 61: p. 10995–11007.
72. Gue M. Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar. *Anal. Chem.* 1959; 31(426-428).
73. Worthington, V. y Corporation, W. Worthington enzyme manual: Enzymes and related biochemicals – maltase-glucosidase Corporation WB, editor.; 1993.
74. Valencia Bustamante P. Evaluación tecnológica de la germinación y clarificación de las bebidas tradicionales fermentadas y pasteurizadas de maíz morado (*Zea Mays*) y quinua (*Chenopodium Quinoa*) variedad inia 420 negra collana. Tesis. Arequipa: Universidad Nacional de San Agustín; 2015.
75. CFG Silva , FL Santos , LRR Santana , MVL Silva , TA Conceição. Desarrollo y caracterización de una bebida funcional a base de kéfir de leche de soja. *Ciencia y tecnología de los alimentos.* 2018; 38(3): p. 543-550.
76. Shewakena, S.; Chandravanshi, BS; Debebe, A. Niveles de polifenoles totales, flavonoides, taninos y actividad antioxidante de bebidas tradicionales fermentadas de Etiopía seleccionadas. *Revista Internacional de Investigación Alimentaria.* 2017 Octubre; 24(5).
77. Ochoa-Velasco Carlos Enrique, García-Vidal Verónica, Luna-Guevara Juan José, Luna-Guevara María Lorena, Hernández-Carranza Paola, Guerrero-Beltrán José Ángel,. Características antioxidantes, fisicoquímicas y microbiológicas de jugo fermentado y sin fermentar de tres variedades de pitahaya (*Hylocereus* spp). *Scientia Agropecuaria.* 2012; 3(4).
78. Monroy Y., Rodrigues R., Sartoratto A. y Cabral F. Extraction of bioactive compounds from cob and pericarp of purple corn (*Zea mays* L.) by sequential extraction in fixed bed extractor using supercritical CO<sub>2</sub>, ethanol, and water as solvents. *J. Supercritical Fluids.* 2016 Enero; 107: p. 250-259.
79. Timberlake CF. Anthocyanins Occurrence, Extraction and Chemistry. *Food Chem.* 1980; 05(1).
80. Zamora Cujilema, V., Mariño Brito, GA, González Gallardo, CE, Jácome Villacres, MB y Beltrán Sinchiguano, ER. Estudio de la capacidad antioxidante y contenido de polifenoles en el proceso de clarificación del vino de flor de Jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.). *Enfoque UTE.* 2018; 9(2).
81. MSc. Sandra Zapata Bustamante, MSc. Angélica Tamayo Tenorio, Dr. C. Benjamín Alberto Rojano. Effect of fermentation on the antioxidant activity of different Colombian cocoa clones. *Rev Cubana Plant Med.* 2013; 18(3).

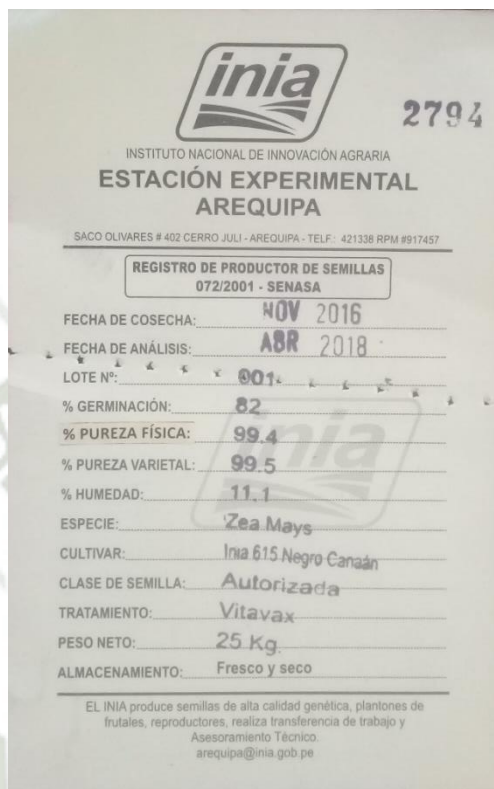
82. Li Z, Teng J, Yilu L, Hu X, Zhao Y, Wang M. Actividad antioxidante mejorada para jugo de manzana fermentado con *Lactobacillus plantarum* ATCC14917. *Moléculas*. 2018; 24(1).
83. Chandra, A. ; Nair, M.; Lezzoni, A. evaluacion y caracterizacion de antocianinas en tarta de cerezas. *Revista de agricultura y quimica de alimentos*. 1992; 40.
84. Neves, N. De A.; Stringheta, Pc.; García-Romero, E.; Gómez-Alonso, S. Elaboración y caracterización de jaboticaba fermentado alcohólico (*Plinia jaboticaba*) artesanalmente. *Investigación, Sociedad y Desarrollo*. 2021 marzo; 10(4).
85. Hassan Rasouli, Seyed Mohammad-Bagher Hosseini-Ghazvini, Hadi Adibi, Reza Khodarahmi. Differential  $\alpha$ -amylase/ $\alpha$ -glucosidase inhibitory activities of plant-derived phenolic compounds: a virtual screening perspective for the treatment of obesity and diabetes. *Royal society of chemistry*. 2017; 8.
86. Michelle H. Johnson,<sup>†</sup> Anita Lucius,<sup>‡</sup> Tessa Meyer,<sup>‡</sup> and Elvira Gonzalez de Mejia. Cultivar Evaluation and Effect of Fermentation on Antioxidant Capacity and in Vitro Inhibition of R-Amylase and R-Glucosidase by Highbush Blueberry (*Vaccinium corombosum*). *Journal of Agricultural and food chemistry*. 2011; 59.
87. Fontana C. Microbial ecology involved in the ripening of naturally fermented llama meat sausages. A focus on lactobacilli diversity. *Food Microbiol*. 2016 Nov; 7(236).
88. Rosmery Cruz-O'Byrne NPSA. Microbial diversity associated with spontaneous coffee bean fermentation process and specialty coffee production in northern Colombia. *International Journal of Food Microbiology*. 2021; 354.
89. Elizaquível P, Pérez-Cataluña A, Yépez A, Aristimuño C, Jiménez E, Cocconcelli PS, et al. Pyrosequencing vs. culture-dependent approaches to analyze lactic acid bacteria associated to chicha, a traditional maize-based fermented beverage from Northwestern Argentina. *Food Microbiol*. 2015; 198(9-18).
90. Pérez-Cataluña A, Elizaquível P, Carrasco P, Espinosa J, Reyes D, Wachter C, et al. Diversity and dynamics of lactic acid bacteria in Atole agrio, a traditional maize-based fermented beverage from South-Eastern Mexico, analysed by high throughput sequencing and culturing. *ntonie Leeuwenhoek*. 2018; 111.
91. Terranova E. *Producción Agrícola I*. 1st ed. Santa Fe de Bogota, Colombia: Terranova Editores; 1995.
92. INIA (Instituto Nacional de Investigación Agraria P. Boletín informativo Maíz. Lima: Sub Dirección de Investigación de Cultivos, Dirección de Investigación Agraria.; 2007.
93. Miller G. Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar. *Analy. Chem*. 1959; 31(3): p. 426-428.

94. Sen A., Bergvinson D., Miller S., Atkinson J., Fulcher G. y Amason J. Distribution and Microchemical Detection of Phenolic Acids, Flavonoids, and Phenolic Acid Amides in Maize Kernels. *J. Agric. Food Chem.*. 1994; 42: p. 1879-1883.
95. Bily A., Reid L., Taylor J., Johnston D., Malouin C., Burt A., Bakan B., Regnault-Roger C., Pauls K., Arnason J. y Philogène B. Dehydrodimers of Ferulic Acid in Maize Grain Pericarp and Aleurone: Resistance Factors to *Fusarium graminearum*. *Gen. Resist.* 2003; 93(6): p. 712-719.
96. Shahidi F. y Yeo J. Insoluble-Bound Phenolics in Food. *Molecules.* 2016; 21(1216): p. 1-22.
97. Lieberman S. The Antioxidant Power of purple corn. *Alternative & Complementary Therapies.* 2007.



## ANEXOS

### Anexo 1: Certificado del maíz denominado INIA 615 Negro Canaan



**inia** 2794  
INSTITUTO NACIONAL DE INNOVACIÓN AGRARIA  
**ESTACIÓN EXPERIMENTAL  
AREQUIPA**  
SACO OLIVARES # 402 CERRO JULI - AREQUIPA - TELF.: 421338 RPM #917457

**REGISTRO DE PRODUCTOR DE SEMILLAS**  
072/2001 - SENASA

FECHA DE COSECHA: **NOV 2016**  
FECHA DE ANÁLISIS: **ABR 2018**  
LOTE N°: **001**  
% GERMINACIÓN: **82**  
% PUREZA FÍSICA: **99.4**  
% PUREZA VARIETAL: **99.5**  
% HUMEDAD: **11.1**  
ESPECIE: **Zea Mays**  
CULTIVAR: **Inia 615 Negro Canaan**  
CLASE DE SEMILLA: **Autorizada**  
TRATAMIENTO: **Vitavax**  
PESO NETO: **25 Kg.**  
ALMACENAMIENTO: **Fresco y seco**

EL INIA produce semillas de alta calidad genética, plantones de frutales, reproductores, realiza transferencia de trabajo y Asesoramiento Técnico  
arequipa@inia.gob.pe

**Anexo 2: Análisis proximal de chicha de guíñapo elaborado en condiciones controladas**

**UNIVERSIDAD CATOLICA DE SANTA MARIA**  
FACULTAD DE CIENCIAS FARMACEUTICAS, BIOQUIMICAS Y BIOTECNOLOGICAS  
**LABORATORIO DE ENSAYO Y CONTROL DE CALIDAD**  
Urb. San José S/N Umacollo CAMPUS UNIVERSITARIO H-204/205 ☎ + 51 54 382938 ANEXO 1166  
✉ laboratorioensayo@ucsm.edu.pe 🌐 http://www.ucsm.edu.pe 📄 Aptdo. 1350  
AREQUIPA - PERU

**INFORME DE ENSAYO N° ANA06A20.004461G**

**INFORMACIÓN PROPORCIONADA POR EL CLIENTE**

Nombre del cliente : Universidad Católica de Santa María  
Dirección del cliente : Samuel Velarde 320 Umacollo  
RUC : 20141637941  
Identificación del contacto : María Nelly Pezo  
Descripción de la muestra : C3T0

**INFORMACIÓN DEL ENSAYO**

Condición del muestreo : Por el cliente  
Tamaño de muestra : 100 mL  
Fecha de recepción : 06/01/2019  
Fecha de ejecución de ensayo : 06/01/2020 al 13/01/2020  
Fecha de emisión de informe : 04/02/2020  
Página : 1 de 1

**I. ANALISIS FISICO - QUIMICO:**

ANÁLISIS	UNIDADES	RESULTADO
DETERMINACIÓN DE PROTEINAS Método Kjeldahl, A.O.A.C. Official Methods of Analysis 13 th Edition, 1984.	%	0,43
DETERMINACIÓN DE HUMEDAD Official Methods of Analysis. 1990, Association of Official Analytical Chemists. 15th ed. Vol. II. Method 925.45D. USA. p. 1010 - 1011.	%	92,21
DETERMINACIÓN DE FIBRA CRUDA Adaptado de NTP 205.003.1980	%	0,15
DETERMINACIÓN DE GRASA Adaptado del Metodo gravimetrico NTP 209.263.2001	%	0,10
DETERMINACIÓN DE CENIZA Metodo gravimetrico adaptado de NTP 209.265.2001	%	0,45
DETERMINACIÓN DE HIDRATOS DE CARBONO Alimentos Cocidos De Reconstitución Instantánea, Por cálculo	%	6,66
DETERMINACIÓN DE CONTENIDO CALORICO Alimentos Cocidos De Reconstitución Instantánea, Por cálculo	Kcal %	29,27
DETERMINACIÓN DE AZUCARES REDUCTORES DIRECTOS Y TOTALES EN ALIMENTOS Method of Test for Total and Direct Reducing Substances in Food. Normas mexicanas. NMX-F-312-1978	g/Kg	0,78

**OBSERVACIONES:**

- La información proporcionada por el cliente es de responsabilidad exclusiva del mismo.
- El muestreo, las condiciones de muestreo, tratamiento previo y transporte de la muestra hasta el ingreso al LECC son responsabilidad del solicitante y los resultados emitidos en el presente informe se refieren a la muestra tal como se recibió.
- Los resultados emitidos en el presente informe se relacionan únicamente a las muestras ensayadas y no deben ser utilizados como una certificación de conformidad con normas de producto o como certificado del sistema de calidad de la entidad que lo produce. Este documento no debe ser reproducido, sin autorización escrita del Laboratorio de Ensayo y Control de Calidad

**Q.F. Ricardo A. Abil Ramírez**  
 CQFDA 00024  
 ESPECIALISTA EN CONTROL DE CALIDAD LECC

**UNIVERSIDAD CATOLICA DE SANTA MARIA**  
**FACULTAD DE CIENCIAS FARMACEUTICAS, BIOQUIMICAS Y BIOTECNOLOGICAS**  
**LABORATORIO DE ENSAYO Y CONTROL DE CALIDAD**

Urb. San José S/N Umacollo CAMPUS UNIVERSITARIO H-204/205 ☎ + 51 54 382038 ANEXO 1166  
 E2 laboratoriodeensayo@ucsm.edu.pe 🌐 http://www.ucsm.edu.pe 📄 Aptdo. 1350  
 AREQUIPA - PERÚ

**INFORME DE ENSAYO N° ANA06A20.004461D**

---

**INFORMACIÓN PROPORCIONADA POR EL CLIENTE**

**Nombre del cliente** : Universidad Católica de Santa María  
**Dirección del cliente** : Samuel Velarde 320 Umacollo  
**RUC** : 20141637941  
**Identificación del contacto** : María Nelly Pezo  
**Descripción de la muestra** : C2T0

**INFORMACIÓN DEL ENSAYO**

**Condición del muestreo** : Por el cliente  
**Tamaño de muestra** : 100 mL  
**Fecha de recepción** : 06/01/2019  
**Fecha de ejecución de ensayo** : 06/01/2020 al 13/01/2020  
**Fecha de emisión de informe** : 04/02/2020  
**Página** : 1 de 1

---

**I. ANALISIS FISICO – QUIMICO:**

ANÁLISIS	UNIDADES	RESULTADO
DETERMINACIÓN DE PROTEINAS Método Kjeldahl, A.O.A.C. Official Methods of Analysis 13 th Edition, 1984.	%	0,53
DETERMINACION DE HUMEDAD Official Methods of Analysis. 1990. Association of Official Analytical Chemists. 15th ed. Vol. II. Method 925.45D. USA. p. 1010 - 1011.	%	91,48
DETERMINACIÓN DE FIBRA CRUDA Adaptado de NTP 205.003.1980	%	0,11
DETERMINACIÓN DE GRASA Adaptado del Metodo gravimetrico NTP 209.263.2001	%	0,15
DETERMINACIÓN DE CENIZA Metodo gravimetrico adaptado de NTP 209.265.2001	%	0,01
DETERMINACION DE HIDRATOS DE CARBONO Alimentos Cocidos De Reconstitución Instantánea, Por cálculo	%	7,73
DETERMINACION DE CONTENIDO CALORICO Alimentos Cocidos De Reconstitución Instantánea, Por cálculo	Kcal %	34,33
DETERMINACIÓN DE AZUCARES REDUCTORES DIRECTOS Y TOTALES EN ALIMENTOS Method of Test for Total and Direct Reducing Substances in Food. Normas mexicanas. NMX-F-312-1978	g/Kg	0,87

**OBSERVACIONES:**

- La información proporcionada por el cliente es de responsabilidad exclusiva del mismo.
- El muestreo, las condiciones de muestreo, tratamiento previo y transporte de la muestra hasta el ingreso al LECC son responsabilidad del solicitante y los resultados emitidos en el presente informe se refieren a la muestra tal como se recibió.
- Los resultados emitidos en el presente informe se relacionan únicamente a las muestras ensayadas y no deben ser utilizados como una certificación de conformidad con normas de producto o como certificado del sistema de calidad de la entidad que lo produce. Este documento no debe ser reproducido, sin autorización escrita del Laboratorio de Ensayo y Control de Calidad

Q.F. Ricardo A. Abril Ramirez  
COFDA 00824  
 ESPECIALISTA EN CONTROL DE CALIDAD LECC



UNIVERSIDAD CATOLICA DE SANTA MARIA  
FACULTAD DE CIENCIAS FARMACEUTICAS, BIOQUIMICAS Y BIOTECNOLOGICAS  
LABORATORIO DE ENSAYO Y CONTROL DE CALIDAD

Urb. San José S/N Umacollo CAMPUS UNIVERSITARIO H-204/205 ☎ + 51 54 382038 ANEXO 1166  
✉ laboratoriodeensayo@ucsm.edu.pe 🌐 http://www.ucsm.edu.pe 📄 Aptdo. 1350  
AREQUIPA - PERU



INFORME DE ENSAYO N° ANA06A20.004461A

INFORMACIÓN PROPORCIONADA POR EL CLIENTE

Nombre del cliente : Universidad Católica de Santa María  
Dirección del cliente : Samuel Velarde 320 Umacollo  
RUC : 20141637941  
Identificación del contacto : María Nelly Pezo  
Descripción de la muestra : C1T0

INFORMACIÓN DEL ENSAYO

Condición del muestreo : Por el cliente  
Tamaño de muestra : 100 mL  
Fecha de recepción : 06/01/2019  
Fecha de ejecución de ensayo : 06/01/2020 al 13/01/2020  
Fecha de emisión de informe : 04/02/2020  
Página : 1 de 1

I. ANALISIS FISICO - QUIMICO:

ANÁLISIS	UNIDADES	RESULTADO
DETERMINACIÓN DE PROTEINAS Método Kjeldahl, A.O.A.C. Official Methods of Analysis 13 th Edition, 1984.	%	0,34
DETERMINACIÓN DE HUMEDAD Official Methods of Analysis. 1990. Association of Official Analytical Chemists. 15th ed. Vol. II. Method 925.45D. USA. p. 1010 - 1011.	%	93,77
DETERMINACIÓN DE FIBRA CRUDA Adaptado de NTP 205.003.1980	%	0,16
DETERMINACIÓN DE GRASA Adaptado del Metodo gravimetrico NTP 209.263.2001	%	0,50
DETERMINACIÓN DE CENIZA Metodo gravimetrico adaptado de NTP 209.265.2001	%	0,10
DETERMINACION DE HIDRATOS DE CARBONO Alimentos Cocidos De Reconstitución Instantánea, Por cálculo	%	5,13
DETERMINACION DE CONTENIDO CALORICO Alimentos Cocidos De Reconstitución Instantánea, Por cálculo	Kcal %	26,39
DETERMINACIÓN DE AZUCARES REDUCTORES DIRECTOS Y TOTALES EN ALIMENTOS Method of Test for Total and Direct Reducing Substances in Food. Normas mexicanas. NMX-F-312-1978	g/Kg	0,75

OBSERVACIONES:

- La información proporcionada por el cliente es de responsabilidad exclusiva del mismo.
- El muestreo, las condiciones de muestreo, tratamiento previo y transporte de la muestra hasta el ingreso al LECC son responsabilidad del solicitante y los resultados emitidos en el presente informe se refieren a la muestra tal como se recibió.
- Los resultados emitidos en el presente informe se relacionan únicamente a las muestras ensayadas y no deben ser utilizados como una certificación de conformidad con normas de producto o como certificado del sistema de calidad de la entidad que lo produce. Este documento no debe ser reproducido, sin autorización escrita del Laboratorio de Ensayo y Control de Calidad

Q.F. Ricardo A. Avrii Ramirez  
CÓFIDA 00624  
ESPECIALISTA EN CONTROL DE CALIDAD LECC



**UNIVERSIDAD CATOLICA DE SANTA MARIA**  
**FACULTAD DE CIENCIAS FARMACEUTICAS, BIOQUIMICAS Y BIOTECNOLOGICAS**  
**LABORATORIO DE ENSAYO Y CONTROL DE CALIDAD**

Urb. San José S/N Umacollo CAMPUS UNIVERSITARIO H-204/205 ☎ + 51 84 362038 ANEXO 1166  
 E2 laboratorioensayo@ucsm.edu.pe 🌐 http://www.ucsm.edu.pe 📄 Apdo. 1350  
 AREQUIPA - PERU

**INFORME DE ENSAYO N° ANA06A20.004461H**

---

**INFORMACIÓN PROPORCIONADA POR EL CLIENTE**

**Nombre del cliente** : Universidad Católica de Santa María  
**Dirección del cliente** : Samuel Velarde 320 Umacollo  
**RUC** : 20141637941  
**Identificación del contacto** : María Nelly Pezo  
**Descripción de la muestra** : C3T13

---

**INFORMACIÓN DEL ENSAYO**

**Condición del muestreo** : Por el cliente  
**Tamaño de muestra** : 100 mL  
**Fecha de recepción** : 06/01/2019  
**Fecha de ejecución de ensayo** : 06/01/2020 al 13/01/2020  
**Fecha de emisión de informe** : 04/02/2020  
**Página** : 1 de 1

---

**I. ANALISIS FISICO - QUIMICO:**

ANÁLISIS	UNIDADES	RESULTADO
DETERMINACIÓN DE PROTEÍNAS Método Kjeldahl, A.O.A.C. Official Methods of Analysis 13 th Edition, 1984.	%	0,52
DETERMINACION DE HUMEDAD Official Methods of Analysis. 1990. Association of Official Analytical Chemists. 15th ed. Vol. II. Method 925.45D. USA. p. 1010 - 1011.	%	92,35
DETERMINACIÓN DE FIBRA CRUDA Adaptado de NTP 205.003.1980	%	0,26
DETERMINACIÓN DE GRASA Adaptado del Metodo gravimetrico NTP 209.263.2001	%	0,14
DETERMINACIÓN DE CENIZA Metodo gravimetrico adaptado de NTP 209.265.2001	%	0,02
DETERMINACION DE HIDRATOS DE CARBONO Alimentos Cocidos De Reconstitución Instantánea, Por cálculo	%	6,71
DETERMINACION DE CONTENIDO CALORICO Alimentos Cocidos De Reconstitución Instantánea, Por cálculo	Kcal %	30,19
DETERMINACIÓN DE AZÚCARES REDUCTORES DIRECTOS Y TOTALES EN ALIMENTOS Method of Test for Total and Direct Reducing Substances in Food. Normas mexicanas. NMX-F-312-1978	g/Kg	0,73

**OBSERVACIONES:**

- La información proporcionada por el cliente es de responsabilidad exclusiva del mismo.
- El muestreo, las condiciones de muestreo, tratamiento previo y transporte de la muestra hasta el ingreso al LECC son responsabilidad del solicitante y los resultados emitidos en el presente informe se refieren a la muestra tal como se recibió.
- Los resultados emitidos en el presente informe se relacionan únicamente a las muestras ensayadas y no deben ser utilizados como una certificación de conformidad con normas de producto o como certificado del sistema de calidad de la entidad que lo produce. Este documento no debe ser reproducido, sin autorización escrita del Laboratorio de Ensayo y Control de Calidad

Q.F. Ricardo A. Abril Ramírez  
 CQFDA 00624  
 ESPECIALISTA EN CONTROL DE CALIDAD LECC

**UNIVERSIDAD CATOLICA DE SANTA MARIA**  
**FACULTAD DE CIENCIAS FARMACEUTICAS, BIOQUIMICAS Y BIOTECNOLOGICAS**  
**LABORATORIO DE ENSAYO Y CONTROL DE CALIDAD**

Urb. San José S/N Umacollo CAMPUS UNIVERSITARIO H-204/205 ☎ + 51 54 382038 ANEXO 1166  
 ✉ laboratorioensayo@ucsm.edu.pe 🌐 http://www.ucsm.edu.pe 📄 Apdo. 1359  
 AREQUIPA - PERU

**INFORME DE ENSAYO N° ANA06A20.004461E**

---

**INFORMACIÓN PROPORCIONADA POR EL CLIENTE**

**Nombre del cliente** : Universidad Católica de Santa María  
**Dirección del cliente** : Samuel Velarde 320 Umacollo  
**RUC** : 20141637941  
**Identificación del contacto** : María Nelly Pezo  
**Descripción de la muestra** : C2T13

**INFORMACIÓN DEL ENSAYO**

**Condición del muestreo** : Por el cliente  
**Tamaño de muestra** : 100 mL  
**Fecha de recepción** : 06/01/2019  
**Fecha de ejecución de ensayo** : 06/01/2020 al 13/01/2020  
**Fecha de emisión de informe** : 04/02/2020  
**Página** : 1 de 1

---

**I. ANALISIS FISICO – QUIMICO:**

ANÁLISIS	UNIDADES	RESULTADO
DETERMINACIÓN DE PROTEINAS Método Kjeldahl, A.O.A.C. Official Methods of Analysis 13 th Edition, 1984.	%	0,45
DETERMINACIÓN DE HUMEDAD Official Methods of Analysis. 1990. Association of Official Analytical Chemists. 15th ed. Vol. II. Method 925.45D. USA. p. 1010 - 1011.	%	92,71
DETERMINACIÓN DE FIBRA CRUDA Adaptado de NTP 205.003.1980	%	0,17
DETERMINACIÓN DE GRASA Adaptado del Metodo gravimetrico NTP 209.263.2001	%	0,11
DETERMINACIÓN DE CENIZA Metodo gravimetrico adaptado de NTP 209.265.2001	%	0,33
DETERMINACIÓN DE HIDRATOS DE CARBONO Alimentos Cocidos De Reconstitución Instantánea, Por cálculo	%	6,23
DETERMINACIÓN DE CONTENIDO CALORICO Alimentos Cocidos De Reconstitución Instantánea, Por cálculo	Kcal %	27,72
DETERMINACIÓN DE AZUCARES REDUCTORES DIRECTOS Y TOTALES EN ALIMENTOS Method of Test for Total and Direct Reducing Substances in Food. Normas mexicanas. NMX-F-312-1978	g/Kg	0,39

**OBSERVACIONES:**

- La información proporcionada por el cliente es de responsabilidad exclusiva del mismo.
- El muestreo, las condiciones de muestreo, tratamiento previo y transporte de la muestra hasta el ingreso al LECC son responsabilidad del solicitante y los resultados emitidos en el presente informe se refieren a la muestra tal como se recibió.
- Los resultados emitidos en el presente informe se relacionan únicamente a las muestras ensayadas y no deben ser utilizados como una certificación de conformidad con normas de producto o como certificado del sistema de calidad de la entidad que lo produce. Este documento no debe ser reproducido, sin autorización escrita del Laboratorio de Ensayo y Control de Calidad

Q.F. Ricardo A. Abril Ramírez  
 CQFDA 06824  
 ESPECIALISTA EN CONTROL DE CALIDAD LECC

**UNIVERSIDAD CATOLICA DE SANTA MARIA**  
**FACULTAD DE CIENCIAS FARMACEUTICAS, BIOQUIMICAS Y BIOTECNOLOGICAS**  
**LABORATORIO DE ENSAYO Y CONTROL DE CALIDAD**

Urb. San José S/N Umacollo CAMPUS UNIVERSITARIO H-204/205 ☎ + 51 54 362038 ANEXO 1166  
 ✉ laboratoriodeensayo@ucsm.edu.pe 🌐 http://www.ucsm.edu.pe 📄 Apto. 1350  
 AREQUIPA - PERU

**INFORME DE ENSAYO N° ANA06A20.004461B**

---

**INFORMACIÓN PROPORCIONADA POR EL CLIENTE**

**Nombre del cliente** : Universidad Católica de Santa María  
**Dirección del cliente** : Samuel Velarde 320 Umacollo  
**RUC** : 20141637941  
**Identificación del contacto** : María Nelly Pezo  
**Descripción de la muestra** : C1T13

**INFORMACIÓN DEL ENSAYO**

**Condición del muestreo** : Por el cliente  
**Tamaño de muestra** : 100 mL  
**Fecha de recepción** : 06/01/2019  
**Fecha de ejecución de ensayo** : 06/01/2020 al 13/01/2020  
**Fecha de emisión de informe** : 04/02/2020  
**Página** : 1 de 1

---

**I. ANALISIS FISICO – QUIMICO:**

ANÁLISIS	UNIDADES	RESULTADO
DETERMINACIÓN DE PROTEINAS Método Kjeldahl, A.O.A.C. Official Methods of Analysis 13 th Edition, 1984.	%	0,34
DETERMINACIÓN DE HUMEDAD Official Methods of Analysis. 1990. Association of Official Analytical Chemists. 15th ed. Vol. II. Method 925.45D. USA. p. 1010 - 1011.	%	93,67
DETERMINACIÓN DE FIBRA CRUDA Adaptado de NTP 205.003.1980	%	0,17
DETERMINACIÓN DE GRASA Adaptado del Método gravimétrico NTP 209.263.2001	%	0,20
DETERMINACIÓN DE CENIZA Método gravimétrico adaptado de NTP 209.265.2001	%	0,12
DETERMINACION DE HIDRATOS DE CARBONO Alimentos Cocidos De Reconstitución Instantánea, Por cálculo	%	5,50
DETERMINACION DE CONTENIDO CALORICO Alimentos Cocidos De Reconstitución Instantánea, Por cálculo	Kcal %	25,17
DETERMINACIÓN DE AZUCARES REDUCTORES DIRECTOS Y TOTALES EN ALIMENTOS Method of Test for Total and Direct Reducing Substances in Food. Normas mexicanas. NMX-F-312-1978	g/Kg	0,33

**OBSERVACIONES:**

- La información proporcionada por el cliente es de responsabilidad exclusiva del mismo.
- El muestreo, las condiciones de muestreo, tratamiento previo y transporte de la muestra hasta el ingreso al LECC son responsabilidad del solicitante y los resultados emitidos en el presente informe se refieren a la muestra tal como se recibió.
- Los resultados emitidos en el presente informe se relacionan únicamente a las muestras ensayadas y no deben ser utilizados como una certificación de conformidad con normas de producto o como certificado del sistema de calidad de la entidad que lo produce. Este documento no debe ser reproducido, sin autorización escrita del Laboratorio de Ensayo y Control de Calidad

Q.F. Ricardo A. Abril Ramírez  
 COFDA 00824  
 ESPECIALISTA EN CONTROL DE CALIDAD LECC

**UNIVERSIDAD CATOLICA DE SANTA MARIA**  
**FACULTAD DE CIENCIAS FARMACEUTICAS, BIOQUIMICAS Y BIOTECNOLOGICAS**  
**LABORATORIO DE ENSAYO Y CONTROL DE CALIDAD**

Urb. San José S/N Umacollo CAMPUS UNIVERSITARIO H-204/205 ☎ + 51 54 362036 ANEXO 1166  
 E2 laboratorioensayo@ucsm.edu.pe http://www.ucsm.edu.pe Apto. 1350  
 AREQUIPA - PERU

**INFORME DE ENSAYO N° ANA06A20.0044611**

---

**INFORMACIÓN PROPORCIONADA POR EL CLIENTE**

Nombre del cliente : Universidad Católica de Santa María  
 Dirección del cliente : Samuel Velarde 320 Umacollo  
 RUC : 20141637941  
 Identificación del contacto : María Nelly Pezo  
 Descripción de la muestra : C3T26

---

**INFORMACIÓN DEL ENSAYO**

Condición del muestreo : Por el cliente  
 Tamaño de muestra : 100 mL  
 Fecha de recepción : 06/01/2019  
 Fecha de ejecución de ensayo : 06/01/2020 al 13/01/2020  
 Fecha de emisión de informe : 04/02/2020  
 Página : 1 de 1

---

**I. ANALISIS FISICO – QUIMICO:**

ANÁLISIS	UNIDADES	RESULTADO
DETERMINACIÓN DE PROTEINAS Método Kjeldahl, A.O.A.C. Official Methods of Analysis 13 th Edition, 1984.	%	0,51
DETERMINACION DE HUMEDAD Official Methods of Analysis. 1990. Association of Official Analytical Chemists. 15th ed. Vol. II. Method 925.45D. USA. p. 1010 - 1011.	%	93,37
DETERMINACIÓN DE FIBRA CRUDA Adaptado de NTP 205.003.1980	%	0,12
DETERMINACIÓN DE GRASA Adaptado del Metodo gravimetrico NTP 209.263.2001	%	0,13
DETERMINACIÓN DE CENIZA Metodo gravimetrico adaptado de NTP 209.265.2001	%	0,13
DETERMINACION DE HIDRATOS DE CARBONO Alimentos Cocidos De Reconstitución Instantánea, Por cálculo	%	5,75
DETERMINACION DE CONTENIDO CALORICO Alimentos Cocidos De Reconstitución Instantánea, Por cálculo	Kcal %	26,15
DETERMINACION DE AZUCARES REDUCTORES DIRECTOS Y TOTALES EN ALIMENTOS Method of Test for Total and Direct Reducing Substances in Food. Normas mexicanas. NMX-F-312-1978	g/Kg	0,41

**OBSERVACIONES:**

- La información proporcionada por el cliente es de responsabilidad exclusiva del mismo.
- El muestreo, las condiciones de muestreo, tratamiento previo y transporte de la muestra hasta el ingreso al LECC son responsabilidad del solicitante y los resultados emitidos en el presente informe se refieren a la muestra tal como se recibió.
- Los resultados emitidos en el presente informe se relacionan únicamente a las muestras ensayadas y no deben ser utilizados como una certificación de conformidad con normas de producto o como certificado del sistema de calidad de la entidad que lo produce. Este documento no debe ser reproducido, sin autorización escrita del Laboratorio de Ensayo y Control de Calidad

Q.F. Ricardo A. Abril Ramírez  
 CQFDA 00624  
 ESPECIALISTA EN CONTROL DE CALIDAD LECC

**UNIVERSIDAD CATOLICA DE SANTA MARIA**  
**FACULTAD DE CIENCIAS FARMACEUTICAS, BIOQUIMICAS Y BIOTECNOLOGICAS**  
**LABORATORIO DE ENSAYO Y CONTROL DE CALIDAD**

Urb. San José S/N Umacollo CAMPUS UNIVERSITARIO H-204/205 ☎ + 51 54 382038 ANEXO 1166  
 ✉ laboratoriodeensayo@ucsm.edu.pe 🌐 http://www.ucsm.edu.pe 📄 Apldo. 1350  
 AREQUIPA - PERU

**INFORME DE ENSAYO N° ANA06A20.004461F**

---

**INFORMACIÓN PROPORCIONADA POR EL CLIENTE**

**Nombre del cliente** : Universidad Católica de Santa María  
**Dirección del cliente** : Samuel Velarde 320 Umacollo  
**RUC** : 20141637941  
**Identificación del contacto** : María Nelly Pezo  
**Descripción de la muestra** : C2T26

**INFORMACIÓN DEL ENSAYO**

**Condición del muestreo** : Por el cliente  
**Tamaño de muestra** : 100 mL  
**Fecha de recepción** : 06/01/2019  
**Fecha de ejecución de ensayo** : 06/01/2020 al 13/01/2020  
**Fecha de emisión de informe** : 04/02/2020  
**Página** : 1 de 1

---

**I. ANALISIS FISICO – QUIMICO:**

ANÁLISIS	UNIDADES	RESULTADO
DETERMINACIÓN DE PROTEÍNAS Método Kjeldahl, A.O.A.C. Official Methods of Analysis 13 th Edition, 1984.	%	0,50
DETERMINACIÓN DE HUMEDAD Official Methods of Analysis, 1990. Association of Official Analytical Chemists. 15th ed. Vol. II. Method 925.45D. USA. p. 1010 - 1011.	%	93,12
DETERMINACIÓN DE FIBRA CRUDA Adaptado de NTP 205.003.1980	%	0,18
DETERMINACIÓN DE GRASA Adaptado del Metodo gravimetrico NTP 209.263.2001	%	0,23
DETERMINACIÓN DE CENIZA Metodo gravimetrico adaptado de NTP 209.265.2001	%	0,08
DETERMINACION DE HIDRATOS DE CARBONO Alimentos Cocidos De Reconstitución Instantánea, Por cálculo	%	5,89
DETERMINACIÓN DE CONTENIDO CALORICO Alimentos Cocidos De Reconstitución Instantánea, Por cálculo	Kcal %	27,64
DETERMINACIÓN DE AZUCARES REDUCTORES DIRECTOS Y TOTALES EN ALIMENTOS Method of Test for Total and Direct Reducing Substances in Food. Normas mexicanas. NMX-F-312-1978	g/Kg	0,34

**OBSERVACIONES:**

- La información proporcionada por el cliente es de responsabilidad exclusiva del mismo.
- El muestreo, las condiciones de muestreo, tratamiento previo y transporte de la muestra hasta el ingreso al LECC son responsabilidad del solicitante y los resultados emitidos en el presente informe se refieren a la muestra tal como se recibió.
- Los resultados emitidos en el presente informe se relacionan únicamente a las muestras ensayadas y no deben ser utilizados como una certificación de conformidad con normas de producto o como certificado del sistema de calidad de la entidad que lo produce. Este documento no debe ser reproducido, sin autorización escrita del Laboratorio de Ensayo y Control de Calidad

Q.F. Ricardo A. Abril Ramírez  
 CQFDA 00624  
 ESPECIALISTA EN CONTROL DE CALIDAD LECC



UNIVERSIDAD CATOLICA DE SANTA MARIA  
FACULTAD DE CIENCIAS FARMACEUTICAS, BIOQUIMICAS Y BIOTECNOLOGICAS  
LABORATORIO DE ENSAYO Y CONTROL DE CALIDAD

Urb. San José S/N Umacollo CAMPUS UNIVERSITARIO H-204/205 ☎ + 51 54 382038 ANEXO 1166  
✉ laboratoriodeensayo@ucsm.edu.pe 🌐 http://www.ucsm.edu.pe 📄 Apto. 1350  
AREQUIPA - PERÚ



INFORME DE ENSAYO N° ANA06A20.004461C

INFORMACIÓN PROPORCIONADA POR EL CLIENTE

Nombre del cliente : Universidad Católica de Santa María  
Dirección del cliente : Samuel Velarde 320 Umacollo  
RUC : 20141637941  
Identificación del contacto : María Nelly Pezo  
Descripción de la muestra : C1T26

INFORMACIÓN DEL ENSAYO

Condición del muestreo : Por el cliente  
Tamaño de muestra : 100 mL  
Fecha de recepción : 06/01/2019  
Fecha de ejecución de ensayo : 06/01/2020 al 13/01/2020  
Fecha de emisión de informe : 04/02/2020  
Página : 1 de 1

I. ANALISIS FISICO – QUIMICO:

ANÁLISIS	UNIDADES	RESULTADO
DETERMINACIÓN DE PROTEINAS Método Kjeldahl, A.O.A.C. Official Methods of Analysis 13 th Edition, 1984.	%	0,25
DETERMINACIÓN DE HUMEDAD Official Methods of Analysis. 1990. Association of Official Analytical Chemists. 15th ed. Vol. II. Method 925.45D. USA. p. 1010 - 1011.	%	93,92
DETERMINACIÓN DE FIBRA CRUDA Adaptado de NTP 205.003.1980	%	0,17
DETERMINACIÓN DE GRASA Adaptado del Metodo gravimetrico NTP 209.263.2001	%	0,21
DETERMINACIÓN DE CENIZA Metodo gravimetrico adaptado de NTP 209.265.2001	%	0,36
DETERMINACION DE HIDRATOS DE CARBONO Alimentos Cocidos De Reconstitución Instantánea, Por cálculo	%	5,10
DETERMINACION DE CONTENIDO CALORICO Alimentos Cocidos De Reconstitución Instantánea, Por cálculo	Kcal %	23,24
DETERMINACIÓN DE AZUCARES REDUCTORES DIRECTOS Y TOTALES EN ALIMENTOS Method of Test for Total and Direct Reducing Substances in Food. Normas mexicanas. NMX-F-312-1978	g/Kg	0,46

OBSERVACIONES:

- La información proporcionada por el cliente es de responsabilidad exclusiva del mismo.
- El muestreo, las condiciones de muestreo, tratamiento previo y transporte de la muestra hasta el ingreso al LECC son responsabilidad del solicitante y los resultados emitidos en el presente informe se refieren a la muestra tal como se recibió.
- Los resultados emitidos en el presente informe se relacionan únicamente a las muestras ensayadas y no deben ser utilizados como una certificación de conformidad con normas de producto o como certificado del sistema de calidad de la entidad que lo produce. Este documento no debe ser reproducido, sin autorización escrita del Laboratorio de Ensayo y Control de Calidad

Q.F. Ricardo A. Abril Ramírez  
CQPDA 00824  
ESPECIALISTA EN CONTROL DE CALIDAD LECC





# ANÁLISIS DE VARIABILIDAD DE LAS CARACTERÍSTICAS BIOACTIVAS DURANTE EL PROCESO FERMENTATIVO DE LA CHICHA DE GUIÑAPO, BEBIDA TRADICIONAL DE LA CIUDAD DE AREQUIPA OBTENIDA EN CONDICIONES CONTROLADAS

## INFORME DE ORIGINALIDAD

16%

INDICE DE SIMILITUD

14%

FUENTES DE INTERNET

10%

PUBLICACIONES

5%

TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

## FUENTES PRIMARIAS

1	Submitted to 94839 Trabajo del estudiante	<1 %
2	<a href="http://bdigital.unal.edu.co">bdigital.unal.edu.co</a> Fuente de Internet	<1 %
3	<a href="http://bolsa-trabajo.upads.edu.pe">bolsa-trabajo.upads.edu.pe</a> Fuente de Internet	<1 %
4	<a href="http://cathi.uacj.mx">cathi.uacj.mx</a> Fuente de Internet	<1 %
5	<a href="http://dspace.unitru.edu.pe">dspace.unitru.edu.pe</a> Fuente de Internet	<1 %
6	<a href="http://www.coursehero.com">www.coursehero.com</a> Fuente de Internet	<1 %
7	<a href="http://repositorio.uncp.edu.pe">repositorio.uncp.edu.pe</a> Fuente de Internet	<1 %
8	<a href="http://docplayer.es">docplayer.es</a> Fuente de Internet	<1 %

9	<a href="http://redi.unjbg.edu.pe">redi.unjbg.edu.pe</a> Fuente de Internet	<1 %
10	Submitted to Universidad Nacional del Centro del Peru Trabajo del estudiante	<1 %
11	<a href="http://www.researchgate.net">www.researchgate.net</a> Fuente de Internet	<1 %
12	<a href="http://dspace.esPOCH.edu.ec">dSPACE.esPOCH.edu.ec</a> Fuente de Internet	<1 %
13	<a href="http://repositorio.lamolina.edu.pe">repositorio.lamolina.edu.pe</a> Fuente de Internet	<1 %
14	<a href="http://sites.google.com">sites.google.com</a> Fuente de Internet	<1 %
15	<a href="http://doczz.es">doczz.es</a> Fuente de Internet	<1 %
16	<a href="http://investigacion.ucsm.edu.pe">investigacion.ucsm.edu.pe</a> Fuente de Internet	<1 %
17	<a href="http://es.scribd.com">es.scribd.com</a> Fuente de Internet	<1 %
18	<a href="http://www.urp.edu.pe">www.urp.edu.pe</a> Fuente de Internet	<1 %
19	<a href="http://alicia.concytec.gob.pe">alicia.concytec.gob.pe</a> Fuente de Internet	<1 %
20	<a href="http://pgc-snia.inia.gob.pe:8080">pgc-snia.inia.gob.pe:8080</a>	

Fuente de Internet

<1 %

21

Submitted to Universitat Politècnica de València

Trabajo del estudiante

<1 %

22

repositorio.unsa.edu.pe

Fuente de Internet

<1 %

23

González Gómez Roberto. "Inmovilización de Cu y Zn en dos tipos de Hidrogeles tipo peine, sintetizados mediante radiación gama", TESIUNAM, 2012

Publicación

<1 %

24

www.scribd.com

Fuente de Internet

<1 %

25

Submitted to UNIV DE LAS AMERICAS

Trabajo del estudiante

<1 %

26

Submitted to Universidad San Ignacio de Loyola

Trabajo del estudiante

<1 %

27

digital.bl.fcen.uba.ar

Fuente de Internet

<1 %

28

Alvarez Flores Jazmin. "Efecto de los compuestos lqm319 y 328 con posible actividad antihipertensiva, sobre la cinética enzimática "in vitro" de la enzima convertidora de angiotensina, estudiado en

<1 %

# un microarreglo por electroforesis capilar", TESIUNAM, 2012

Publicación

29

[vsip.info](http://vsip.info)

Fuente de Internet

<1 %

30

Submitted to UISEK

Trabajo del estudiante

<1 %

31

[eprints.uanl.mx](http://eprints.uanl.mx)

Fuente de Internet

<1 %

32

[repositorio.upads.edu.pe](http://repositorio.upads.edu.pe)

Fuente de Internet

<1 %

33

[repositorioinstitucional.uson.mx](http://repositorioinstitucional.uson.mx)

Fuente de Internet

<1 %

34

[v3r.esp.org](http://v3r.esp.org)

Fuente de Internet

<1 %

35

Alvarado Lopez Cristian. "Pruebas analíticas para el control de calidad de la planta medicinal *Alnus acuminata* SPP, Arguta (betulaceae) y análisis por microextracción en fase sólida, HS-SPME-CG-EM-TOF, de la raíz *Heliopsis Longipes*, A. Gray, S.F. Black, Asteraceae", TESIUNAM, 2014

Publicación

<1 %

36

[core.ac.uk](http://core.ac.uk)

Fuente de Internet

<1 %

37 López Vidaña Erick César. "Estudio experimental del proceso de secado solar directo e indirecto y su efecto sobre la capacidad antioxidante de la fresa (fragaria x ananassa), arándano azul (vaccinium corymbosum) y zarzamora (rubus fruticosus)", TESIUNAM, 2016  
Publicación <1 %

---

38 ebin.pub  
Fuente de Internet <1 %

---

39 idoc.pub  
Fuente de Internet <1 %

---

40 Submitted to Escuela Politecnica Nacional  
Trabajo del estudiante <1 %

---

41 dspace.utpl.edu.ec  
Fuente de Internet <1 %

---

42 repositorio.uta.edu.ec  
Fuente de Internet <1 %

---

43 www.kerwa.ucr.ac.cr  
Fuente de Internet <1 %

---

44 ri-ng.uaq.mx  
Fuente de Internet <1 %

---

45 González Camacho Bertha Alicia. "Contenido y perfil de compuestos bioactivos de los

órganos de la planta de los maíces coloridos",  
TESIUNAM, 2022

Publicación

46

Reyna Garduño Wilber. "Efecto de la zona y la época de colecta en la producción de marcadores químicos en propóleos de la región del altiplano mexicano", TESIUNAM, 2013

Publicación

<1 %

47

[repositorio.unfv.edu.pe](http://repositorio.unfv.edu.pe)

Fuente de Internet

<1 %

48

Submitted to Universidad Andina Nestor Caceres Velasquez

Trabajo del estudiante

<1 %

49

[www.cienciasagrarias.bogota.unal.edu.co](http://www.cienciasagrarias.bogota.unal.edu.co)

Fuente de Internet

<1 %

50

Eleno Medina María Guadalupe. "Actividad antibacteriana, antioxidante y toxicidad del fruto (en diferentes estados de maduración) y la hoja de *Cyrtocarpa procera* Kunth (Chupandilla)", TESIUNAM, 2010

Publicación

<1 %

51

Granados Pineda Jessica. "Determinación de la actividad antibacteriana y actividad antioxidante del extracto metanólico de la corteza de *Byrsonima Crassifolia* (Nanche)", TESIUNAM, 2012

Publicación

<1 %

---

52	<a href="https://dspace.conicyt.cl">dspace.conicyt.cl</a> Fuente de Internet	<1 %
53	<a href="https://prezi.com">prezi.com</a> Fuente de Internet	<1 %
54	<a href="https://repositorio.unap.edu.pe">repositorio.unap.edu.pe</a> Fuente de Internet	<1 %
55	<a href="https://www.iingen.unam.mx">www.iingen.unam.mx</a> Fuente de Internet	<1 %
56	<a href="https://rdcb.cbg.ipn.mx">rdcb.cbg.ipn.mx</a> Fuente de Internet	<1 %
57	<a href="https://cybertesis.unmsm.edu.pe">cybertesis.unmsm.edu.pe</a> Fuente de Internet	<1 %
58	<a href="https://manualzz.com">manualzz.com</a> Fuente de Internet	<1 %
59	<a href="https://repositorio.ucv.edu.pe">repositorio.ucv.edu.pe</a> Fuente de Internet	<1 %
60	<a href="https://repositorio.ug.edu.ec">repositorio.ug.edu.ec</a> Fuente de Internet	<1 %
61	<a href="https://ruja.ujaen.es">ruja.ujaen.es</a> Fuente de Internet	<1 %
62	Lina Marcela Aguilera Agudelo, Nicole Dayanna Hernández León, Miguel Angel Ramírez Niño, Miguel Ángel Navarro Ramírez. "Actividad antioxidante y contenido de	<1 %

---

polifenoles en pulpa del caimo (Pouteria caimito)", Revista Sistemas de Producción Agroecológicos, 2021

Publicación

63

[eprints.ucm.es](https://eprints.ucm.es)

Fuente de Internet

<1 %

64

Contreras Rosales Aldo José. "Monografías tipo OMS y farmacopeica de la especie Calea ternifolia Kunth (Asteraceae)", TESIUNAM, 2021

Publicación

<1 %

65

López Sánchez Rafael. "Análisis bioinformático del metagenoma fermentativo del pozol", TESIUNAM, 2018

Publicación

<1 %

66

Arminio Ravelo José Alejandro. "Validación del método de espectroscopia óptica de emisión atómica por plasma acoplado inductivamente en la determinación de Ag, As, Ba, Be, Cd, Ni, Pb, Se, Tl y V en suelos", TESIUNAM, 2015

Publicación

<1 %

67

Submitted to Universidad Nacional José María Arguedas

Trabajo del estudiante

<1 %

68

[sedici.unlp.edu.ar](https://sedici.unlp.edu.ar)

Fuente de Internet

<1 %

69	JUAN MANUEL CASTAGNINI. "Estudio del proceso de obtención de zumo de arándanos y su utilización como ingrediente para la obtención de un alimento funcional por impregnación a vacío.", Universitat Politecnica de Valencia, 2014 Publicación	<1 %
70	Submitted to Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga Trabajo del estudiante	<1 %
71	Submitted to Universidad Pontificia Bolivariana Trabajo del estudiante	<1 %
72	Villanueva Jacobo Diana Paola. "Efecto sobre la vida de anaquel de ciruelas negras (Prunus domestica) recubiertas con biopolímeros obtenidos de residuos de crustáceos", TESIUNAM, 2022 Publicación	<1 %
73	<a href="https://repositorio.ucm.edu.co:8080">repositorio.ucm.edu.co:8080</a> Fuente de Internet	<1 %
74	<a href="https://repositorio.unimagdalena.edu.co">repositorio.unimagdalena.edu.co</a> Fuente de Internet	<1 %
75	<a href="https://repositorio.upct.es">repositorio.upct.es</a> Fuente de Internet	<1 %
76	<a href="https://scielo.sld.cu">scielo.sld.cu</a> Fuente de Internet	<1 %

77	<a href="http://www.dspace.uce.edu.ec:8080">www.dspace.uce.edu.ec:8080</a> Fuente de Internet	<1 %
78	"Avanços em Ciência e Tecnologia de Alimentos - Volume 3", Editora Científica Digital, 2021 Publicación	<1 %
79	Aguilera Martínez Yoatzi Ketzali. "Estudio de la actividad antimicrobiana de Lactobacillus plantarum y Lactococcus lactis aisladas del atole agrio de Villahermosa, Tabasco", TESIUNAM, 2021 Publicación	<1 %
80	Contreras Contreras José Antonio. "Caracterización química de vinazas de torres de destilación y posible remoción de polifenoles de ellas empleando sistemas bioquímicos anaerobios", TESIUNAM, 2019 Publicación	<1 %
81	Pérez Rodríguez Jazmín. "Aislamiento, cuantificación y evaluación de posibles antioxidantes presentes en la semilla de mango mexicano residual (mangifera indica L.)", TESIUNAM, 2016 Publicación	<1 %
82	Rosas Rosas Melissa. "Desarrollo de una bebida con antioxidantes elaborada a partir	<1 %

de Rubus spp. e ilex paraguariensis",  
TESIUNAM, 2021

Publicación

83

[biblioteca.udenar.edu.co:8085](http://biblioteca.udenar.edu.co:8085)

Fuente de Internet

<1 %

84

[colposdigital.colpos.mx:8080](http://colposdigital.colpos.mx:8080)

Fuente de Internet

<1 %

85

Botia Carreño Edwin Oswaldo.

"Determinación de fenoles totales en la leche de ovejas lacaune-awassi e east friesland durante una lactancia en condiciones de estabulación", TESIUNAM, 2022

Publicación

<1 %

86

Catalan Maya Emmanuel. "Evaluación de la actividad antifúngica del propóleo del estado de Morelos contra diversas especies del género Candida", TESIUNAM, 2019

Publicación

<1 %

87

Sánchez Soto Ahtziri. "Caracterización de películas biodegradables y su aplicación como envase activo en zarzamora (rubus frocticosus) para el control de podredumbre gris", TESIUNAM, 2013

Publicación

<1 %

88

Zaldivar Mendoza Gabriela. "Efecto antioxidante de jugos de frutas en Salmonella

<1 %

# Typhimurium tratados con 4-nitro-orto-fenilendiamina (NOP)", TESIUNAM, 2012

Publicación

89

[produccioncientificaluz.org](http://produccioncientificaluz.org)

Fuente de Internet

<1 %

90

[repositorio.unamba.edu.pe](http://repositorio.unamba.edu.pe)

Fuente de Internet

<1 %

91

[repositorio.usil.edu.pe](http://repositorio.usil.edu.pe)

Fuente de Internet

<1 %

92

[search.ndltd.org](http://search.ndltd.org)

Fuente de Internet

<1 %

93

[www.bdigital.unal.edu.co](http://www.bdigital.unal.edu.co)

Fuente de Internet

<1 %

94

[www.medwave.cl](http://www.medwave.cl)

Fuente de Internet

<1 %

95

Carlos Alberto Martins Cordeiro, Evaldo Martins da Silva, Norma Suely Evangelista-Barreto. "Ciência e Tecnologia de Alimentos: pesquisa e práticas contemporâneas - Volume 2", Editora Científica Digital, 2021

Publicación

<1 %

96

Granados López Gonzalo. "Optimización de métodos de extracción de compuestos fenólicos de la planta hojaseñ (flourensia cernua d.c.) para su determinación por electroforesis capilar", TESIUNAM, 2014

<1 %

97

Hermelinda Servín-Campuzano, Mauricio González-Avilés, José Ángel Rodríguez-Morales, Marco Antonio Serrato Juárez et al. "Preservation of Antioxidant Properties of Endemic Dark Corn Using Solar Energy for Nixtamalization", Processes, 2021

Publicación

---

<1 %

98

Zúñiga Girón Verónica. "Determinación del efecto de un compuesto aislado de tagetes lucida cav. con actividad vasodilatadora y antihipertensiva en rata shr", TESIUNAM, 2013

Publicación

---

<1 %

99

[issuu.com](https://issuu.com)

Fuente de Internet

---

<1 %

100

[pesquisa.bvsalud.org](https://pesquisa.bvsalud.org)

Fuente de Internet

---

<1 %

101

[repositorio.uchile.cl](https://repositorio.uchile.cl)

Fuente de Internet

---

<1 %

102

[repositorio.ulima.edu.pe](https://repositorio.ulima.edu.pe)

Fuente de Internet

---

<1 %

103

[repositorio.unheval.edu.pe](https://repositorio.unheval.edu.pe)

Fuente de Internet

---

<1 %

104

[repository.javeriana.edu.co](https://repository.javeriana.edu.co)

Fuente de Internet

---

<1 %

105	<a href="http://rinacional.tecnm.mx">rinacional.tecnm.mx</a> Fuente de Internet	<1 %
106	<a href="http://worldwidescience.org">worldwidescience.org</a> Fuente de Internet	<1 %
107	<a href="http://www.akademik.ege.edu.tr">www.akademik.ege.edu.tr</a> Fuente de Internet	<1 %
108	<a href="http://www.dspace.uce.edu.ec">www.dspace.uce.edu.ec</a> Fuente de Internet	<1 %
109	<a href="http://www.mdpi.com">www.mdpi.com</a> Fuente de Internet	<1 %
110	<a href="http://www.venezuelasaludable.gov.ve">www.venezuelasaludable.gov.ve</a> Fuente de Internet	<1 %
111	<a href="http://www.worldcocoafoundation.org">www.worldcocoafoundation.org</a> Fuente de Internet	<1 %
112	Acosta Dávila Luz Carolina. "Evaluación de la actividad antioxidante y vasorrelajante de la corteza de haematoxylon brasiletto karst", TESIUNAM, 2013 Publicación	<1 %
113	Andrade Gallardo Virginia. "Desarrollo de un helado deslactosado de nopal", TESIUNAM, 2015 Publicación	<1 %
114	Hernández Pérez David. "Efecto antimicrobiano de derivados de $\alpha$ - y $\beta$ -	<1 %

amirina, provenientes de fuentes naturales  
contra bacterias de la cavidad oral",  
TESIUNAM, 2011

Publicación

---

115 Jiménez Villarreal Natalia. "Obtención de  
cianidina 3-glucósido a partir de fuentes  
vegetales y maíz criollo morado (Zea Mays)",  
TESIUNAM, 2012

Publicación

---

116 MARÍA ELIZABETH ESCUDERO FERNÁNDEZ.  
"ESTUDIO DE PEQUEÑOS PÉPTIDOS (<1500  
Da) CON ACTIVIDAD ANTIHIPERTENSIVA Y  
ANTIOXIDANTE GENERADOS EN EL JAMÓN  
CURADO", Universitat Politecnica de Valencia,  
2012

Publicación

---

117 [bibliotecadigital.udea.edu.co](http://bibliotecadigital.udea.edu.co)

Fuente de Internet

---

118 [dokumen.site](http://dokumen.site)

Fuente de Internet

---

119 [dspace.umh.es](http://dspace.umh.es)

Fuente de Internet

---

120 [inba.info](http://inba.info)

Fuente de Internet

---

121 [missionbooks.org](http://missionbooks.org)

Fuente de Internet

---

122	<a href="http://repositorio.unsaac.edu.pe">repositorio.unsaac.edu.pe</a> Fuente de Internet	<1 %
123	<a href="http://repositorio.unsm.edu.pe">repositorio.unsm.edu.pe</a> Fuente de Internet	<1 %
124	<a href="http://riuat.uat.edu.mx">riuat.uat.edu.mx</a> Fuente de Internet	<1 %
125	<a href="http://tesis.pucp.edu.pe">tesis.pucp.edu.pe</a> Fuente de Internet	<1 %
126	<a href="http://xdocs.net">xdocs.net</a> Fuente de Internet	<1 %
127	Fabian Bautista Carmen Yazmin, Hernández Duarte Mara Katya. "Golosina funcional a base de pulpa de noni ( <i>Morinda citrifolia</i> ) baja en calorías", TESIUNAM, 2014 Publicación	<1 %
128	Gasca Galvez Anabel. "Extracción y estabilización de antocianinas del salvado de maíz morado, criollo ( <i>zea mays</i> l.) para su aplicación en alimentos", TESIUNAM, 2013 Publicación	<1 %
129	Hernández Guerrero Gabriela Lucero. "Cuantificación de bacterias lácticas amilolíticas y determinación de los cambios químicos durante la fermentación del atole agrio, elaborado con maíz morado del estado de Tlaxcala", TESIUNAM, 2017	<1 %

130

L.J. Bernal-Roa, L.A. Melo, C. Díaz-Moreno. "EVALUACIÓN DEL PERFIL AROMÁTICO Y PROPIEDADES ANTIOXIDANTES DURANTE LA MADURACIÓN DE FRUTOS DE MORA (RUBUS GLAUCUS BENTH.) - AROMATIC PROFILE AND ANTIOXIDANT PROPERTIES DURING BLACKBERRY (RUBUS GLAUCUS BENTH.) FRUIT RIPENING", Acta Horticulturae, 2014

<1 %

Publicación

---

131

Montes Montiel José Rubén. "Análisis filogenético de pinus subsección Cembroides engelm. a partir de datos multi locus", TESIUNAM, 2022

<1 %

Publicación

---

132

Mónica M. Rivas, Josué Zaldaña, Alex Gálvez, Ulises G. Castillo, Jenny Menjívar, Morena L. Martínez, Marvin J. Núñez. "Contenido de fenoles totales y actividad antioxidante en frutos de la flora salvadoreña", Revista Minerva, 2022

<1 %

Publicación

---

133

Vega Baray Benjamín de Jesús. "La cinasa de histidina CckA es inhibida por el regulador de respuesta Osp y forma un asa de retroalimentación negativa del sistema de CckA-CtrA en la bacteria Rhodobacter sphaeroides", TESIUNAM, 2022

<1 %

Publicación

---

134	Vicuña Gómez Melody Cinthya. "Efecto del tamaño de partícula temperatura y pH en la extracción y evaluación de antocianinas de jamaica ( <i>Hibiscus sabdariffa</i> )", TESIUNAM, 2017 Publicación	<1 %
135	<a href="http://bibliotecadigital.ufro.cl">bibliotecadigital.ufro.cl</a> Fuente de Internet	<1 %
136	<a href="http://cdn.www.gob.pe">cdn.www.gob.pe</a> Fuente de Internet	<1 %
137	<a href="http://dialnet.unirioja.es">dialnet.unirioja.es</a> Fuente de Internet	<1 %
138	<a href="http://documents.mx">documents.mx</a> Fuente de Internet	<1 %
139	<a href="http://dspace.cuni.cz">dspace.cuni.cz</a> Fuente de Internet	<1 %
140	<a href="http://helvia.uco.es">helvia.uco.es</a> Fuente de Internet	<1 %
141	<a href="http://renatiqa.sunedu.gob.pe">renatiqa.sunedu.gob.pe</a> Fuente de Internet	<1 %
142	<a href="http://repositorio.uladech.edu.pe">repositorio.uladech.edu.pe</a> Fuente de Internet	<1 %
143	<a href="http://repositorio.uma.edu.pe">repositorio.uma.edu.pe</a> Fuente de Internet	<1 %

---

144	<a href="http://repositorio.unac.edu.pe">repositorio.unac.edu.pe</a> Fuente de Internet	<1 %
145	<a href="http://repositorio.untrm.edu.pe">repositorio.untrm.edu.pe</a> Fuente de Internet	<1 %
146	<a href="http://repositorio.ute.edu.ec">repositorio.ute.edu.ec</a> Fuente de Internet	<1 %
147	<a href="http://repository.lppm.unila.ac.id">repository.lppm.unila.ac.id</a> Fuente de Internet	<1 %
148	<a href="http://ri.ues.edu.sv">ri.ues.edu.sv</a> Fuente de Internet	<1 %
149	<a href="http://www.conabio.gob.mx">www.conabio.gob.mx</a> Fuente de Internet	<1 %
150	<a href="http://www.itson.mx">www.itson.mx</a> Fuente de Internet	<1 %
151	<a href="http://www3.uji.es">www3.uji.es</a> Fuente de Internet	<1 %
152	Hernandez Briones Veronica. "Queso Cotija : estudio del análisis fisicoquimico, proximal y actividad antioxidante", TESIUNAM, 2007 Publicación	<1 %
153	Mauricio Lizano Calvo, Arturo Brenes Angulo, Luis Gómez Alpízar. "Primer caso de onicomycosis causada por <i>Cylindrocarpon lichenicola</i> en un paciente inmunosuprimido	<1 %

en Costa Rica", Acta Médica Costarricense,  
2013

Publicación

154

dokumen.pub

Fuente de Internet

<1 %

155

patents.google.com

Fuente de Internet

<1 %

156

Parada Cisneros José Leopoldo. "Desarrollo de un metodo analitico por cromatografia de liquidos de alta presion para la cuantificacion del plaguicida clorpirifos en muestras de agua provenientes de baños de inmersion para ganado", TESIUNAM, 2006

Publicación

<1 %

157

Velazquez Rosas Noe. "Caracteristicas foliares de los arboles de bosques humedos de montaña en la region de la Chinantla, sierra norte de Oaxaca", TESIUNAM, 1997

Publicación

<1 %

158

Aguilar Alaniz Amelia Reyna. "Amaranthus hypochondriacus estudio de la fibra dietetica total y su actividad antioxidante", TESIUNAM, 2006

Publicación

<1 %