

Influencia de las Condiciones de Extracción sobre los Compuestos Polifenólicos Totales del *Piper Aduncum* L

Sting Brayan Luna-Fox¹

sb.lunaf@uea.edu.ec

<https://orcid.org/0000-0001-6058-7024>

Universidad Estatal Amazónica
Ecuador

Nancy Rodríguez-Almeida

nn.rodriqueza@uea.edu.ec

<https://orcid.org/0009-0000-8843-920X>

Universidad Estatal Amazónica
Ecuador

Ruth Dayra Dahua-Gualinga

rd.dahuag@uea.edu.ec

<https://orcid.org/0009-0009-3472-6540>

Universidad Estatal Amazónica
Ecuador

Nelly Jazmín Peñafiel-Bonilla

jazmintaz170215@gmail.com

<https://orcid.org/0009-0006-1847-2278>

Universidad Estatal Amazónica
Ecuador

Matteo Radice

mradice@uea.edu.ec

<https://orcid.org/0000-0002-4771-8912>

Universidad Estatal Amazónica
Ecuador

RESUMEN

El objetivo de la presente investigación fue evaluar la influencia de las condiciones de extracción sobre los compuestos polifenólicos totales del *Piper aduncum* L. Las hojas de *P. aduncum* fueron adquiridas frescas en el mercado local de la ciudad de Puyo, ubicado en la amazonia de la provincia de Pastaza-Ecuador. Los extractos acuosos se obtuvieron aplicando la extracción asistida por ultrasonido. Se aplicó la técnica de Folin-Ciocalteu para determinar los compuestos polifenólicos totales, y la actividad antioxidante fue evaluada por los métodos FRAP y ABTS. Los factores de estudio fueron: relación sólido/líquido (5/100, 10/100 y 15/100), tiempo (10, 20 y 30 min) y temperatura (30, 45 y 60°C). Se planteó un diseño factorial 2³ y se usó el software Design Expert versión 10 para el procesamiento estadístico. El valor más alto de polifenoles totales fue de 2.24 g equivalentes de ácido gálico/100 g de materia seca y las mejores condiciones de extracción fueron relación sólido/líquido: 15/100, tiempo: 30 min y temperatura: 60°C. La actividad antioxidante del extracto obtenido en las mejores condiciones, por las técnicas FRAP y ABTS fueron respectivamente 177 y 86.4 mg equivalentes a Trólox/100 g de materia seca; así mismo, los ensayos para el tamizaje fitoquímico identificaron la presencia de saponinas, alcaloides, flavonoides, taninos, aminoácidos, quinonas, triterpenos y azúcares reductores. El análisis de minerales en las hojas de *P. aduncum* identificó concentraciones de nitrógeno (2.07%), fósforo (0.14%), potasio (2.12%), calcio (0.27%), zinc (35.17 mg/100g), hierro (15.15 mg/100g), cobre (11.67 mg/100g) y sodio (103.5 mg/100g). La presente investigación demuestra que las hojas de *P. aduncum* poseen un elevado contenido de polifenoles totales con potencial antioxidante que pueden ser usadas en la industria alimentaria, cosmética y farmacéutica.

Palabras clave: *matico; tamizaje fitoquímico; minerales; actividad antioxidante*

¹ Autor principal

Correspondencia: sb.lunaf@uea.edu.ec

Influence of Extraction Conditions on the Total Polyphenolic Compounds of Piper Aduncum L

ABSTRACT

The objective of the present investigation was to evaluate the influence of the extraction conditions on the total polyphenolic compounds of Piper aduncum L. The leaves of P. aduncum were purchased fresh in the local market of the city of Puyo, located in the Amazonian region of the province of Pastaza-Ecuador. The aqueous extracts were obtained by applying ultrasound-assisted extraction. The Folin-Ciocalteu technique was applied to determine the total polyphenolic compounds, and the antioxidant activity was evaluated by the FRAP and ABTS methods. The study factors were: solid/liquid ratio (5/100, 10/100 and 15/100), time (10, 20 and 30 min) and temperature (30, 45 and 60°C). A 23 factorial design was used and Design Expert version 10 software was used for statistical processing. The highest value of total polyphenols was 2.24 g gallic acid equivalents/100 g of dry matter and the best extraction conditions were solid/liquid ratio: 15/100, time: 30 min and temperature: 60°C. The antioxidant activity of the extract obtained under the best conditions, by FRAP and ABTS techniques were respectively 177 and 86.4 mg Trolox equivalents/100 g of dry matter; likewise, the phytochemical screening assays identified the presence of saponins, alkaloids, flavonoids, tannins, amino acids, quinones, triterpenes and reducing sugars. Mineral analysis of P. aduncum leaves identified concentrations of nitrogen (2.07%), phosphorus (0.14%), potassium (2.12%), calcium (0.27%), zinc (35.17 mg/100g), iron (15.15 mg/100g), copper (11.67 mg/100g) and sodium (103.5 mg/100g). The present research shows that P. aduncum leaves have a high content of total polyphenols with antioxidant potential that can be used in the food, cosmetic and pharmaceutical industries.

Keywords: *matico; phytochemical screening; minerals; antioxidant activity*

Artículo recibido 16 agosto 2023

Aceptado para publicación: 20 setiembre 2023

INTRODUCCIÓN

El matico (*Piper aduncum* L) es una planta oriunda de Perú que se ha extendido hasta los valles interandinos de Chile, Bolivia, Ecuador, México, Colombia y algunos países del continente asiático. Este arbusto perenne alcanza una altura aproximada de 5 m, crece de manera silvestre o domesticada a 3000 msnm en la costa, sierra y selva de Ecuador (Rivero-Montejo et al., 2021). Se ha usado en la medicina convencional como decocciones para desinfectar heridas externas de la piel, así mismo, como antidiarreico, cicatrizante, antivenéreo y para el tratamiento de bronquitis, herpes, úlceras estomacales, resfríos y estreñimientos (Ingaroca et al., 2019).

En la medicina moderna se han utilizado diferentes especies vegetales y constituyen laboratorios naturales para la biosíntesis de numerosas sustancias químicas calificadas como una importante fuente de compuestos químicos (Pohl & Lin, 2018). Una gran proporción de las sustancias activas se encuentran en los llamados productos naturales o metabolitos secundarios que son moléculas químicas con una distribución algo complicada y limitada (Katz & Baltz, 2016).

Por otro lado, el vínculo entre los radicales libres y los antioxidantes se ha investigado durante casi cuatro décadas (Taverne et al., 2018). Se han estudiado diferentes especies vegetales y se han identificado sus principios activos en base a su uso popular, demostrando su capacidad antioxidante para ser aprovechada en la creación de medicamentos, suplementos alimenticios, cosméticos y en el sector alimentario (Rivero-Montejo et al., 2021).

Los compuestos polifenólicos (CP) han despertado el interés de los investigadores debido a su alta actividad antioxidante, capacidad quelante de hierro, inhibición de la oxidasa y captadores de radicales libres (Luca et al., 2020). El impacto farmacológico de estos compuestos es amplio y diverso; se ha indicado que cambian la sensibilidad del organismo a sustancias peligrosas como los alérgenos (Guevara, 2018). Los CP también son reconocidos por sus acciones protectoras sobre la pared vascular o capilar, la terapia de la arteriosclerosis, la reducción de la fragilidad capilar y la actividad antibacteriana (Fraga et al., 2019; Khan & Mukhtar, 2019).

Para la extracción de CP en plantas, se han utilizado diferentes técnicas, extracción por microondas, fluido supercrítico, ultrasonidos, entre otras (Xu et al., 2017). Se ha demostrado que la extracción asistida por ultrasonido (EAU) mejora los rendimientos de extracción de compuestos

bioactivos, en comparación con otros métodos. Una investigación desarrollada por Deng et al. (2017) demostró que la aplicación de EAU obtuvo mejores resultados en la extracción de CP en aceitunas frescas, en comparación con la extracción por microondas. La eficiencia de esta técnica depende de factores como: tiempo, temperatura de sonificación, y la potencia de la onda ultrasónica, así mismo, el solvente utilizado y el tamaño de partícula juegan un papel significativo en el proceso de extracción (Goldsmith et al., 2018). La EAU ayuda en el rompimiento de las paredes celular mediante la cavitación acústica, promoviendo la transferencia de materia y mejorando la eficiencia y rendimiento de extracción (Rodsamran & Sothornvit, 2019). En este sentido, el objetivo de la presente investigación fue evaluar la influencia de las condiciones de extracción sobre los compuestos polifenólicos totales del *Piper aduncum* L.

METODOLOGÍA

Localización

El presente estudio fue realizado en la Universidad Estatal Amazónica (UEA) ubicada en el km 2 ½ vía al Tena, provincia Pastaza con altitud de 940 m.s.n.m., latitud de 00 59' -1" y longitud de 77O 49' 0" W.

Materia prima

Las hojas de *P. aduncum* fueron adquiridas frescas en el mercado local de la ciudad de Puyo, ubicado en la amazonia de la provincia de Pastaza-Ecuador. Previo a los análisis, las hojas fueron lavadas con agua destilada y secadas a temperatura ambiente. Luego, fueron colocadas en una estufa a 105 °C hasta alcanzar peso constante. El contenido de humedad fue determinado por diferencia de peso, y este resultado se usó para calcular el peso inicial en base a materia seca. Las hojas fueron pulverizadas en un molino marca KitchenAid, modelo BCG1110B y frecuencia nominal de 60 Hz, después se tamizó para lograr un tamaño de partícula menor a 0.5 mm.

Obtención de los extractos

Se obtuvieron aplicando la extracción asistida por ultrasonido, usando un equipo de baño ultrasónico Branson 38000, serie CPXH, con 5.7 L de capacidad en el tanque, frecuencia de 40 Hz y potencia 110 W. Como solvente se usó agua según Luna-Fox et al. (2023). Para obtener cada extracto acuoso, se pesaron 5, 10 y 15 g del material vegetal según el diseño experimental

planteado, y se colocaron en balones de 250 mL, luego se añadieron 100 mL de agua destilada y se sometieron a sonicación atendiendo las condiciones establecidas para cada experimento. Los extractos fueron filtrados utilizando papel Whatman No 4 y se almacenaron a 4 °C recipientes oscuros de vidrio hasta su posterior uso.

Determinación espectrofotométrica de polifenoles totales.

Se siguió el procedimiento descrito por Luna-Fox et al. (2023). Del extracto acuoso obtenido, se tomó 1 mL en un matraz aforado de 10 mL y se agregó 0.5 mL del reactivo *Folin-Ciocalteu* diluido a la mitad con agua destilada y se dejó en reposo por 10 min, posteriormente se agregó 0.5 mL de carbonato de sodio al 20 % y se enrasó con agua destilada; se agitó, se protegió de la luz con papel aluminio por 2 h a temperatura ambiente. Finalmente, la absorbancia se midió a 765 nm en un espectrofotómetro uv-vis.

El contenido total de polifenoles se determinó utilizando una curva de calibración de ácido gálico y la concentración de polifenoles totales se expresó en gramos equivalentes de ácido gálico por 100 g de hojas de *P. adumcun* en base a materia seca (g equivalentes de ácido gálico/100 g ps), para ello se empleó la ecuación (1), obtenida a partir del modelo matemático de la recta de calibrado (Arteaga-Crespo et al., 2020).

$$A=0.0734C-0.0028 \quad (1)$$

Donde:

A: Absorbancia de la muestra

C: Concentración de la muestra (mg.L⁻¹)

Actividad antioxidante

Se realizó mediante dos métodos, 2,2-azinobis (3-etilbenzotiazolina)-6 ácido sulfónico (ABTS) y el poder de reducción antioxidante de hierro (III) (FRAP) (Suárez-Rebaza et al., 2019).

Actividad antioxidante por ABTS

El ensayo de decoloración de cationes radicales ABTS, descrito por Re et al. (1999) fue seleccionado con el fin de determinar la actividad secuestrante de radicales libres. El radical ABTS se preparó mezclando soluciones de ABTS 7 mM y persulfato de potasio 2.45 mM, a partes iguales. La solución se mantuvo en la oscuridad a temperatura ambiente durante 16 h para la

formación del radical, el cual se diluyó en etanol para obtener una absorbancia de 0.873. La preparación de la solución de persulfato de potasio se realizó adicionando 0.663 g de la sal en agua destilada y diluir a enrasar a 100 mL. La solución de ABTS se preparó disolviendo 0.384 g en 10 mL de agua destilada. Los resultados se expresaron en miligramos equivalentes de Trolox/100 g de materia seca, calculados a partir de la ecuación (2).

$$A = 0.873 - 0.1304C \quad (2)$$

donde:

A: Absorbancia de la muestra leída a 730 nm

C: concentración de la muestra (mg.L^{-1})

Actividad antioxidante por FRAP

La capacidad antioxidante fue calculada por el ensayo FRAP, según Benzie & Strain (1996). Se colocaron 80 μL de cada extracto en un matraz aforado de 10 mL, al que se le agregaron 5 mL de solución FRAP recién preparada. Luego de agregar el reactivo, se agregó agua destilada al matraz hasta completar 10 mL, y se dejó a 37°C durante 30 min. La lectura se registró a una longitud de onda de 593 nm frente a la solución de control. El reactivo FRAP se preparó mezclando 2.5 mL de solución de 2,4,6-piridil-striazina (TPTZ) con 2.5 mL de solución de cloruro de hierro III y 25 mL de tampón acetato. Para la preparación de la solución de TPTZ se pesaron 0.03 g de reactivo y se colocaron en un matraz aforado de 10 mL y se diluyó hasta enrase con ácido clorhídrico 40 mM. Se preparó tampón de acetato disolviendo 0.0061 g de acetato de sodio en 200 mL de agua destilada, se añadió ácido clorhídrico 40 Mm hasta que la mezcla alcanzó un pH de 3.5, luego se diluyó hasta enrasar con agua destilada hasta 250 mL. Para la preparación de la solución de cloruro de hierro (III) se disolvieron 0.1352 g en 25 mL de agua destilada. Los resultados se expresaron en miligramos equivalentes de Trólox/ 100g de materia seca a partir de la ecuación (3).

$$C = \frac{A}{0,1879} \quad (3)$$

donde:

A: Absorbancia de las muestras leídas a 593 nm.

C: Concentración de las muestras (mg.L⁻¹)

Tamizaje fitoquímico

Se realizó según se detalla en la tabla 1.

Tabla 1
Ensayos realizados para el tamizaje fitoquímico

Nº	Ensayo	Especificación
1	Espuma (saponinas)	Formación de espuma
2	Salkowski (saponinas)	Color rojo
3	Mayer (alcaloides)	Precipitado blanco
4	Dragendorff (alcaloides)	Color naranja rojizo
5	Shinoda (flavonoides)	Color amarillo, anaranjado o rojo intenso
6	Hidróxido de sodio (flavonoides)	Cambio de coloración
7	Cloruro férrico (taninos)	Color verde, azul
8	Ninhidrina (aminoácidos)	Color azul violáceo
9	Borntrager (quinonas)	Color rosado, rojo
10	Liebermann-Burchard (triterpenos y/o esteroides)	Color azul, verde intenso
11	Fehling (azúcares reductores)	Color rojo

Fuente: (Aronés-Jara et al., 2022)

Determinación de minerales

Se determinó el contenido de N, P, K, Ca, Zn, Fe, Cu y Na en las hojas secas de *P. aduncum*, para ello se pesó 0.5 g de hojas secas molidas en pocillos para digestión ácida, luego se añadió 1 mL de peróxido de hidrógeno (30%) y 7 mL de ácido nítrico concentrado (65%), seguidamente se colocaron los pocillos en el equipo de digestión asistido por microondas por 45 min. Después, la muestra digerida se trasvasó a un matraz de 25 mL y se aforó con ácido nítrico 1M. Finalmente, las muestras fueron leídas en un espectrofotómetro de absorción atómica. El cálculo de la concentración de minerales se realizó mediante el método de la curva de calibración según Luna-Fox (2023), mediante el siguiente modelo matemático.

$$C = \frac{CMD * FD}{M} \quad (4)$$

Donde:

C: concentración del mineral a determinar (mg.kg⁻¹)

CMD: concentración de la muestra diluida (mg.L⁻¹)

FD: factor de dilución

M: biomasa de la muestra (g)

Diseño experimental

Se planteó un diseño factorial de dos niveles y tres factores (2^3), con un total de 20 experimentos, ocho pruebas con dos repeticiones para cada experimento y cuatro repeticiones en el punto central para evaluar la curvatura del modelo. Los factores estudiados fueron: Relación sólido/líquido, tiempo y temperatura de sonicación.

Se aplicó la metodología de superficie de respuesta mediante el software Design Expert versión 10 (Melo y López, 2020) para valorar la significancia ($p < 0.05$) de los factores de estudio sobre la respuesta experimental y seleccionar las mejores condiciones de extracción. Se realizó el análisis ANOVA para valorar la relevancia de la influencia que tuvieron los factores estudiados.

En la tabla 2 se muestra el diseño factorial 2^3 realizado.

Tabla 2

Nivel de las variables seleccionadas en el diseño factorial y la metodología de superficie de respuesta

Variable independiente	Nivel de variable codificada			
	Símbolo	Bajo -1	Central 0	Alto 1
Relación sólido/líquido (m/v)	A	5/100	10/100	15/100
Tiempo (min)	B	10	20	30
Temperatura (°C)	C	30	45	60

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Factores que afectan la extracción de los compuestos polifenoles totales (CPT).

La figura 1 (A) muestra la estimación de los efectos estandarizados positivos sobre la extracción de CPT, de acuerdo con Anderson & Whitcomb (2016), los factores altamente significativos corresponden a aquellos que se encuentran alejados de la línea de normalidad y aquellos que no son significativos siguen una distribución normal con varianza constante y media igual a cero. En este sentido, todos los factores de estudio relación sólido/líquido, tiempo y temperatura, así como sus interacciones resultaron ser significativos ($p < 0.05$).

La figura 1 (B) muestra el gráfico de Pareto el cual incluye el límite de Bonferroni que es una línea de corte estadístico, este indica que todos los factores que se encuentren por encima de éste

límite son altamente significativos ($p < 0.05$); las barras verticales indican los factores de estudio y el color muestra el efecto que tienen sobre la variable dependiente, en este sentido, si el color de la barra vertical es naranja significa que el factor tiene un efecto positivo sobre la variable respuesta, es decir, que en la medida que se aumentan los niveles de este factor las respuesta experimental también aumenta, por otro lado, si el color de la barra es azul el efecto es negativo, lo cual indica que, si se incrementan los niveles de este factor la variable respuesta disminuye. En esta investigación los factores estudiados son altamente significativos ya que se encuentran por encima del límite de bonferroni, además tuvieron un efecto positivo sobre los CPT del *P. aduncum*. Así mismo, la tabla 3 confirma una vez más que todos los factores de estudios se mostraron estadísticamente significativos ($p < 0.05$) con efectos positivo sobre la variable respuesta.

Figura 1

Efectos estandarizados de factores positivos en la extracción asistida por ultrasonido de CPT (A); Diagrama de Pareto (B)

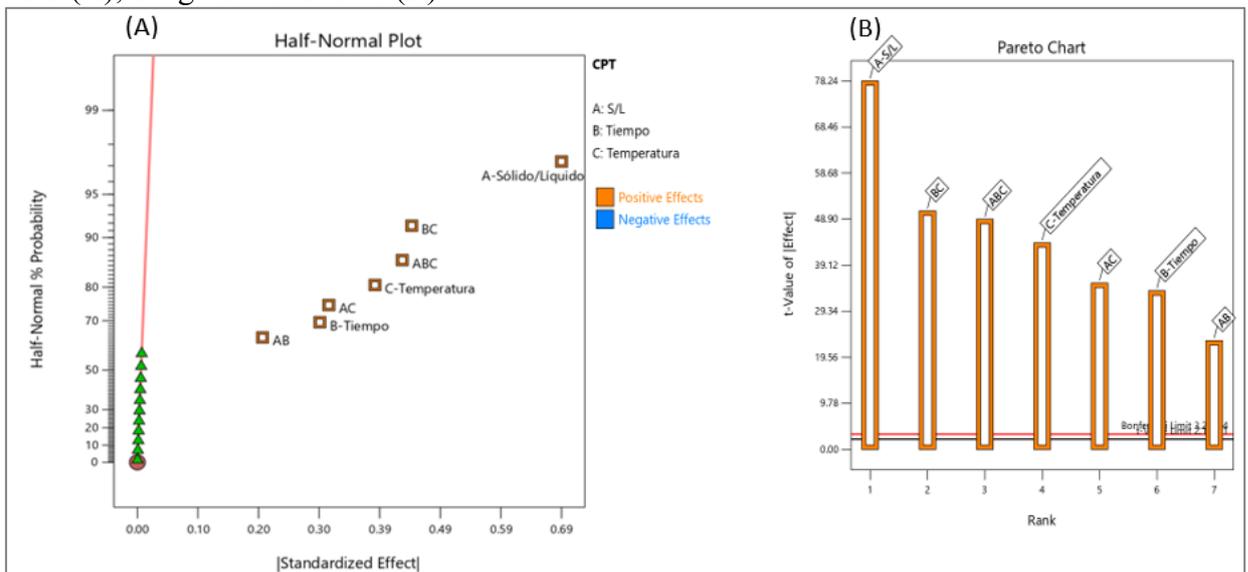


Tabla 3
ANOVA para el modelo factorial seleccionado

Fuente	Suma de cuadrados	gl	Cuadrados medios	F valor	P valor	
Modelo	4.94	7	0.7057	337.63	< 0.0001	significativo
A-S/L	1.90	1	1.90	909.23	< 0.0001	
B-Tiempo	0.3522	1	0.3522	168.52	< 0.0001	
C-Temperatura	0.5968	1	0.5968	285.55	< 0.0001	
AB	0.1659	1	0.1659	79.35	< 0.0001	
AC	0.3872	1	0.3872	185.27	< 0.0001	
BC	0.7957	1	0.7957	380.70	< 0.0001	
ABC	0.7415	1	0.7415	354.76	< 0.0001	
Residual	0.0251	12	0.0021			
Lack of Fit	0.0217	1	0.0217	69.80	0.8901	No significativo
Pure Error	0.0034	11	0.0003			
Cor Total	4.96	19				

El valor F del modelo de 337.63 indica que el modelo seleccionado es significativo, es decir, solo existe una posibilidad del 0.01 % de que se produzca un valor F tan grande debido al ruido. Los valores P menores a 0.05 muestran que los términos del modelo son significativos. En este caso A, B, C, AB, AC, BC, ABC son términos significativos del modelo.

Los valores que se encuentran por encima de 0.05 muestran que los términos del modelo no son significativos. El valor F de falta de ajuste de 69.80 indica que la falta de ajuste es no significativa y que solo existe una probabilidad del 0.01 % de que se produzca un valor F de falta de ajuste tan grande debido al ruido.

El software Design-Expert generó un modelo predictivo para demostrar la relación entre la variable respuesta y los tres factores de estudio. Este modelo presentó un buen ajuste con R² de 0.9949, lo cual significa que el 99.49 % de la variación en la extracción de los CPT estuvo determinada por las variables independientes.

$$Y_{CPT} = 0.786815 + 0.344642 * A + 0.148375 * B + 0.19314 * C + 0.101816 * AB + 0.155572 * AC + 0.22301 * BC + 0.215278 * ABC \quad (5)$$

Donde:

A: relación sólido líquido (m/v)

B: tiempo (min)

C: temperatura (°C)

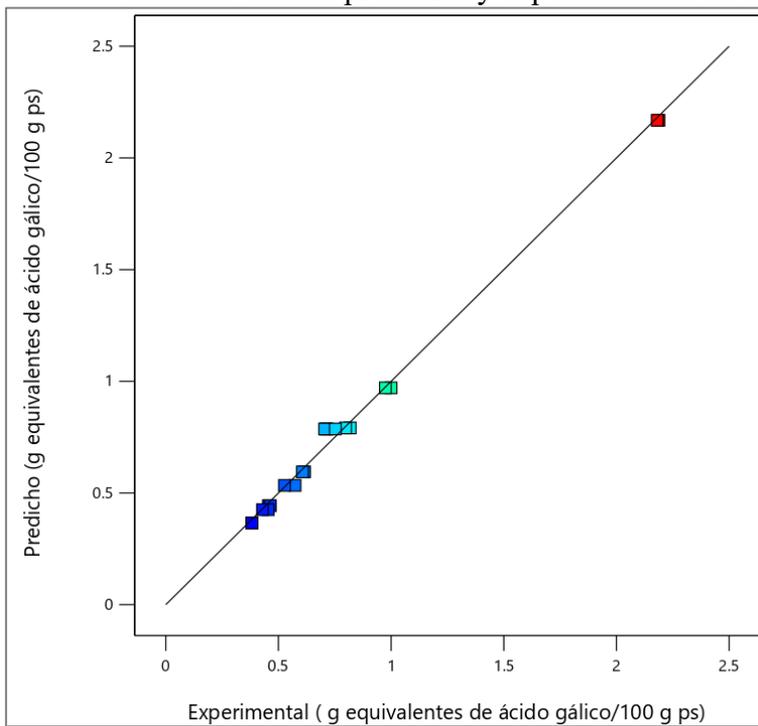
La ecuación en términos de factores codificados puede usarse para hacer predicciones sobre la respuesta experimental para niveles dados de cada factor. De forma predeterminada, los niveles altos de los factores se codifican como +1 y los niveles bajos se codifican como -1. La ecuación codificada es útil para identificar el impacto relativo de los factores.

De acuerdo con Anderson & Whitcomb, (2016), la diferencia entre el R² predicho y el ajustado debe ser menor a 0.2 para que el modelo factorial planteado en un estudio sea adecuado. El R² predicho de 0.9909 está razonablemente de acuerdo con el R² ajustado de 0.9920; es decir, la diferencia es inferior a 0.2.

Los valores predichos y experimentales de CPT relacionados con el modelo predictivo, se compararon y se presentan en la figura 2.

Figura 2

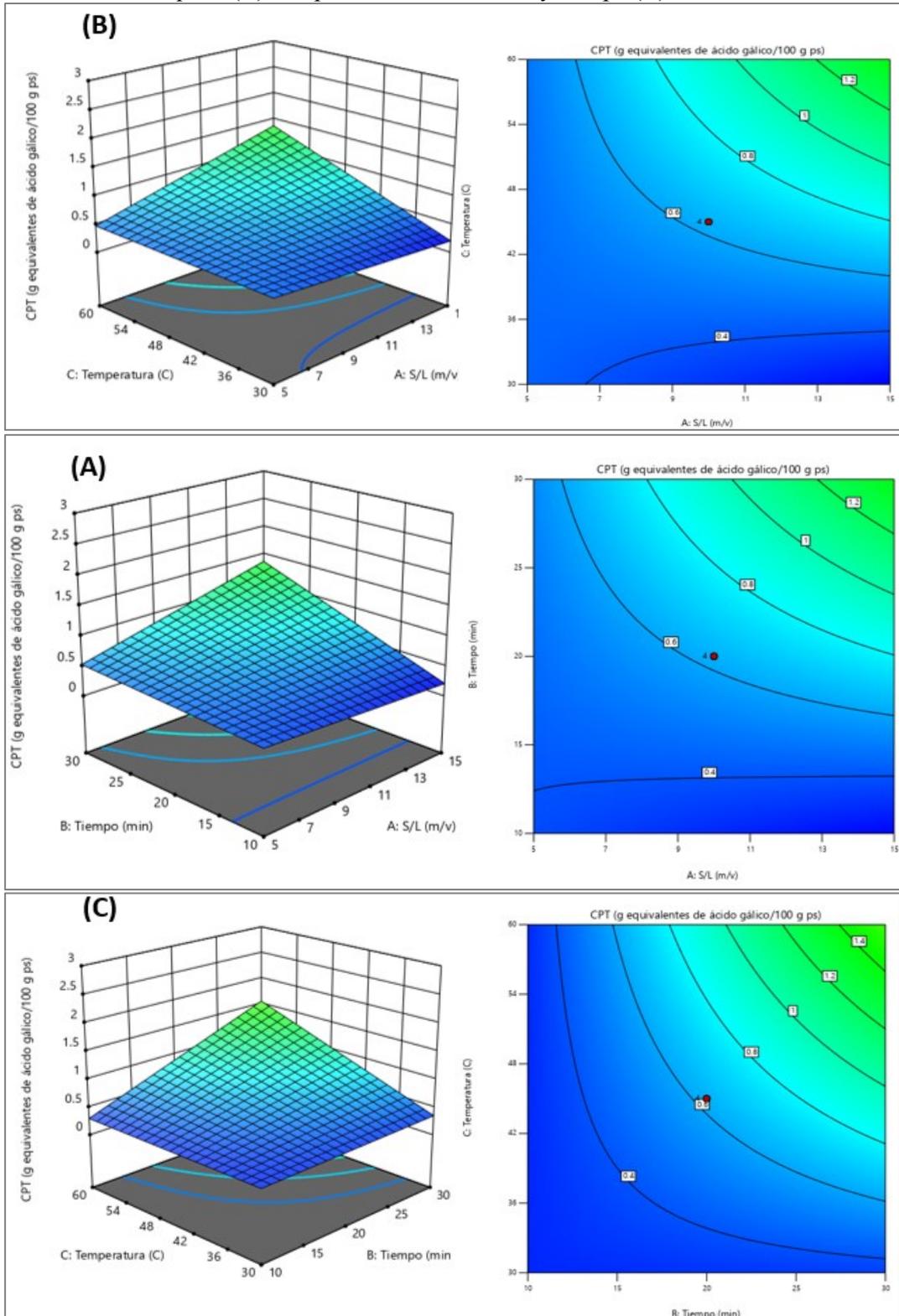
Relación entre los valores predichos y experimentales de CPT en hojas de *P. aduncum*.



Las representaciones gráficas generadas a partir de la ecuación de regresión de CPT se muestran mediante gráficos de superficie de respuesta 3D y gráficos de contorno 2D (figura 3).

Figura 3

Los gráficos de superficie de respuesta 3D (izquierda) y los gráficos de contorno 2D (derecha) muestran los efectos del tiempo y la relación sólido/líquido (A), la temperatura de extracción y relación sólido/líquido (B), temperatura de extracción y tiempo (C) frente al contenido de CPT.



El valor más alto de CPT fue de 2.24 g equivalentes de ácido gálico/100 g ps y las mejores condiciones de extracción fueron: relación sólido/líquido 15/100 m/v, temperatura 60 °C y tiempo

de extracción 30 min. La investigación desarrollada por Herrera-Calderon et al. (2019), reportó resultados inferiores utilizando como solvente metanol, dando valores que van desde 1.22 a 1.61 g equivalentes de ácido gálico/ 100 g ps. El solvente utilizado en la extracción juega un papel importante en el rendimiento de los compuestos bioactivos ya que su concentración puede variar; en este sentido, Santillán y Quintana (2020) en su investigación menciona que el agua, en comparación con etanol y metanol, es el mejor solvente para aumentar los rendimientos de extracción de los CPT. Por otro lado, Quiñones, (2019) indica que la variabilidad de esos metabolitos puede verse afectada por factores como, la especie de la planta, tipo de suelo y condiciones climáticas, en este sentido, Alvarado, (2020) indica que la altitud a la cual se recolectan las muestras influye significativamente en el rendimiento de extracción de los compuestos bioactivos del matico.

La actividad eliminadora de radicales del extracto obtenido en las mejores condiciones, por las técnicas FRAP y ABTS fueron respectivamente 177 y 86.4 mg equivalentes a Trólox/100 g ps. los resultados conseguidos por Ingaroca et al. (2019) fueron menores a los reportados en esta investigación. Se ha demostrado que existe una alta correlación entre los CPT y la actividad antioxidante.

Tamizaje Fitoquímico

Los resultados del tamizaje fitoquímico (tabla 4) realizado en el extracto obtenido en las mejores condiciones, indica una alta presencia de saponinas, alcaloides, flavonoides, compuestos fenólicos aminoácidos y triterpenos esteroides.

Los compuestos bioactivos como alcaloides, saponinas, flavonoides, compuestos fenólicos, aminoácidos quinonas, entre otros., contribuyen de manera significativa en las actividades fisiológicas y medicinales de las plantas. Los metabolitos secundarios están estrechamente relacionados con los mecanismos de defensas de las plantas, así como de los efectos del clima y suelo. Según Luna-Fox (2023) el contenido de metabolitos secundarios pueden verse afectados por factores como la edad de la planta, condiciones climáticas y de suelo; así mismo, Cuello-Pérez et al. (2017) ha indicado que compuestos como taninos y flavonoides cambian su concentración según la luminosidad, humedad y estación climática. Por otro lado, las plantas que crecen lugares

rocosos se desenvuelven en hábitats con elevada radiación ultravioleta, frío intenso y estrés abiótico, estas desarrollan mecanismos para adaptarse y sobrevivir, como la generación de metabolitos secundarios (Castillo-Mendoza et al., 2022).

Tabla 4
Tamizaje fitoquímico en el extracto acuoso de *P. aduncum*

Ensayos	Metabolitos	Resultados
Espuma	Saponinas	+
Salkowski	Saponinas	+++
Mayer	Alcaloides	++
Dragendorff	Alcaloides	+++
Shinoda	Flavonoides	+++
NaOH 20%	Flavonoides	+++
HCl 1%	Taninos	+++
Ninhidrina	Aminoácidos	+++
Borntrager	Quinonas	++
Liebermann-Burchard	Triterpenos y esteroides	+++
Fehling	Azúcares reductores	++

Presencia escasa (+), presencia relativamente abundante (++), presencia abundante (+++)

Minerales presentes en las hojas de *P. aduncum*

Se analizó el contenido de nutrientes (Tabla 5) presentes en las hojas secas de *P. aduncum* utilizadas en la presente investigación. Los macro y micronutrientes son esenciales para el desarrollo de las plantas y su deficiencia puede ocasionar deterioro en el desarrollo fisiológico (Damascos y Arribere, 2019).

El contenido mineral presente en las hojas de *P. aduncum* se encuentra escasamente reportado en la literatura, sin embargo, comparando los resultados de los principales macro y micronutrientes con otras especies vegetales reportadas por Cuello-Pérez et al. (2017) las concentraciones encontradas en *P. aduncum* son mayores. Según Yazzie et al. (2017) los nutrientes presentes en las plantas están altamente relacionados con el estado de madures fisiológico pero también las las condiciones edafológicas.

Tabla 5Minerales presentes en las hojas de *P. aduncum*

N	P	K	Ca	Zn	Fe	Cu	Na
(%)		mg/100g					
2.07	0.14	2.12	0.27	35.17	15.25	11.67	103.50

N: nitrógeno, P: fósforo, K: potasio, Ca: calcio, Zn: zinc, Fe: hierro, Cu: cobre, Na: sodio

CONCLUSIONES

El factor relación sólido/líquido fue el más influyente en la extracción asistida por ultrasonido de los compuestos polifenólicos totales del *P. aduncum*, seguido por la temperatura y tiempo de sonicación. El análisis de los gráficos de superficie de respuesta y de contorno permitieron determinar las mejores condiciones para maximizar la extracción de polifenoles, las cuales fueron: Relación sólido/líquido 15/100 m/v, temperatura 60 °C y tiempo de extracción 30 min. El modelo predictivo presentó un buen ajuste con R^2 de 0.9949. La presente investigación demuestra que las hojas de *P. aduncum* poseen un elevado contenido de polifenoles totales con potencial antioxidante que pueden ser usadas en la industria alimentaria, cosmética y farmacéutica.

El tamizaje fitoquímico en las hojas de *P. aduncum* identificó la presencia de compuestos bioactivos como saponinas, alcaloides, flavonoides, taninos, aminoácidos, quinonas triterpenos y azúcares reductores, esto confirma las propiedades terapéuticas que se le atribuyen a la especie, en diferentes culturas amazónicas de países como Perú y Ecuador. El macro y micronutriente más abundante en las hojas de *P. aduncum* fueron respectivamente nitrógeno (2.07%) y sodio (103.50 mg/100 g).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Anderson, M. J., & Whitcomb, P. J. (2016). Rsm simplified: Optimizing processes using response surface methods for design of experiments. *RSM Simplified: Optimizing Processes Using Response Surface Methods for Design of Experiments, Second Edition*, 1–295. <https://doi.org/10.1201/9781315382326/RSM-SIMPLIFIED-MARK-ANDERSON-PATRICK-WHITCOMB>
- Aronés-Jara, M., Cárdenas-Landeo, E., Luna-Molero, H., Barbarán-Vilcatoma, S., & Gómez-Quispe, M. (2022). Tamizaje fitoquímico, contenido de compuestos fenólicos y

- potencial antioxidante de trece plantas medicinales de los afloramientos rocosos del Bosque de Piedras de Huaraca en Perú. *Revista de La Sociedad Química Del Perú*, 88(2), 165–179. <https://doi.org/10.37761/RSQP.V88I2.388>
- Arteaga-Crespo, Y., Radice, M., Bravo-Sanchez, L. R., García-Quintana, Y., & Scalvenzi, L. (2020). Optimisation of ultrasound-assisted extraction of phenolic antioxidants from *Ilex guayusa* Loes. leaves using response surface methodology. *Heliyon*, 6(1), e03043. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e03043>
- Benzie, I., & Strain, J. (1996). The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of “Antioxidant Power”: The FRAP Assay. *Analytical Biochemistry*, 239(1), 70–76. <https://doi.org/10.1006/ABIO.1996.0292>
- Castillo-Mendoza, B., Pilar-Cajas, P., & Larreta, S.-G. (2022). Actividad Antioxidante, Polifenoles Totales y Tamizaje Fitoquímico de Chilangua (*Eryngium Foetidum*). *RECIAMUC*, 6(3), 480–489. [https://doi.org/10.26820/RECIAMUC/6.\(3\).JULIO.2022.480-489](https://doi.org/10.26820/RECIAMUC/6.(3).JULIO.2022.480-489)
- Cuello-Pérez, M., Jaramillo-García, G., y Canchingre-Bone, E. (2017). Determinación de componentes nutricionales presentes en las hojas secas de *Annona muricata* L. (Guanábana). *Cumbres*, ISSN-e 1390-3365, ISSN 1390-9541, Vol. 3, N°. 1, 2017 (Ejemplar Dedicado a: Cumbres, Enero - Junio), Págs. 9-16, 3(1), 9–16. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=6550744&info=resumen&idioma=SPA>
- Damascos, M., y Arribere, M. (2019). Contenido mineral de hojas de *Aristolelia chilensis* (Molina) Stuntz usadas en fitoterapia. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 14(4), 0–0. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962009000400003&lng=es&nrm=iso&tlng=es
- Deng, J., Xu, Z., Xiang, C., Liu, J., Zhou, L., & Li, T. (2017). Comparative evaluation of maceration and ultrasonic-assisted extraction of phenolic compounds from fresh olives. *Elsevier*, 37, 328–334. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1350417717300330>

- Fraga, C., Croft, K., Kennedy, D., & Tomás-Barberán, F. (2019). The effects of polyphenols and other bioactives on human health. *Food and Function*, *10*(2), 514–528. <https://doi.org/10.1039/c8fo01997e>
- Goldsmith, C., Vuong, Q., Stathopoulos, C., Roach, P., & Scarlett, C. (2018). Ultrasound increases the aqueous extraction of phenolic compounds with high antioxidant activity from olive pomace. *Elsevier*, *284–290*, 89. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.10.065>
- Guevara, D. I. (2018). Elaboración de una bebida potencialmente funcional a partir de la hoja de aguacate (*Persea americana*). *Revista de Ciencias Farmacéuticas y Alimentarias*, *4*(1). <http://www.rcfa.uh.cu/index.php/RCFA/article/view/126>
- Herrera-Calderon, O., Chacaltana-Ramos, L., Yuli-Posadas, R., Pari-Olarte, B., Enciso-Roca, E., Tinco-Jayo, J., Rojas-Armas, J., Felix-Veliz, L., & Franco-Quino, C. (2019). Antioxidant and Cytoprotective Effect of *Piper aduncum* L. against Sodium Fluoride (NaF)-Induced Toxicity in Albino Mice. *Toxics 2019, Vol. 7, Page 28*, *7*(2), 28. <https://doi.org/10.3390/TOXICS7020028>
- Ingaroca, S., Castro, A., y Ramos, N. (2019). composición química y ensayos de actividad antioxidante y del efecto fungistático sobre *candida albicans* del aceite esencial de *Piper aduncum* L. “matico.” *Revista de La Sociedad Química Del Perú*, *85*(2), 268–279. <https://doi.org/10.37761/RSQP.V85I2.83>
- Katz, L., & Baltz, R. (2016). Natural product discovery: past, present, and future. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, *43*(2–3), 155–176. <https://doi.org/10.1007/s10295-015-1723-5>
- Khan, N., & Mukhtar, H. (2019). Tea polyphenols in promotion of human health. *Nutrients*, *11*(1). <https://doi.org/10.3390/nu11010039>
- Luca, S., Macovei, I., Bujor, A., Miron, A., Skalicka-Woźniak, K., Aprotosoai, A. C., & Trifan, A. (2020). Bioactivity of dietary polyphenols: The role of metabolites. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *60*(4), 626–659. <https://doi.org/10.1080/10408398.2018.1546669>
- Luna-Fox, S. B., Álvarez Castro, R. R., Peñafiel-Bonilla, N. J., Radice, M., Scalvenzi, L.,

- Arteaga-Crespo, Y., López-Hernández, O. D., y Bravo-Sánchez, L. R. (2023). Elaboración de un preparado hidrosoluble en forma de sólido pulverulento a partir de *Ilex guayusa* Loes. *La Técnica*, ISSN 1390-6895, ISSN-e 2477-8982, Vol. 13, N°. 1, 2023 (Ejemplar Dedicado a: Enero - Junio), Págs. 47-56, 13(1), 47–56. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=9035502&info=resumen&idioma=SPA>
- Melo, O., & López, L. (2020). *Diseño de Experimentos Métodos y Aplicaciones*.
- Pohl, F., & Lin, P. (2018). The potential use of plant natural products and plant extracts with antioxidant properties for the prevention/treatment of neurodegenerative diseases: In vitro, in vivo and clinical trials. *Molecules*, 23(12). <https://doi.org/10.3390/molecules23123283>
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26(9–10), 1231–1237. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00315-3)
- Rivero-Montejo, S., Vargas-Hernandez, M., & Torres-Pacheco, I. (2021). Nanoparticles as Novel Elicitors to Improve Bioactive Compounds in Plants. *Agriculture 2021*, Vol. 11, Page 134, 11(2), 134. <https://doi.org/10.3390/AGRICULTURE11020134>
- Rodsamran, P., & Sothornvit, R. (2019). Extraction of phenolic compounds from lime peel waste using ultrasonic-assisted and microwave-assisted extractions. *Food Bioscience*, 28, 66–73. <https://doi.org/10.1016/J.FBIO.2019.01.017>
- Santillán, G. A., & Quintana, S. G. C. (2020). Actividad antioxidante y polifenoles de extractos de *Piper* sp. “matico” recolectados en el distrito de Levanto, Amazonas. *Revista Científica Dékamu Agropec*, 1(2), 16–25. <https://doi.org/10.55996/DEKAMUAGROPEC.V1I2.33>
- Suárez-Rebaza, L., Ganoza-Yupanqui, L., Zavala-Urtecho, D., y Alva-Plasencia, M. (2019). Compuestos fenólicos y actividad antioxidante de extractos hidroalcohólicos y acuosos de frutos de *Prosopis pallida* “algarrobo.” *Agroindustrial Science*, ISSN-e 2226-2989,

Vol. 9, Nº. 1, 2019 (Ejemplar Dedicado a: Agroindustrial Science), Págs. 87-91, 9(1), 87–91. <https://doi.org/10.17268/agroind.sci.2019.01.11>

Taverne, Y., Merkus, D., Bogers, A. J., Halliwell, B., Duncker, D., & Lyons, T. (2018). Reactive Oxygen Species: Radical Factors in the Evolution of Animal Life: A molecular timescale from Earth's earliest history to the rise of complex life. *BioEssays*, 40(3), 9. <https://doi.org/10.1002/BIES.201700158>

Xu, D., Li, Y., Meng, X., Zhou, T., Zhou, Y., Zheng, J., Zhang, J., & Li, H. (2017). Natural antioxidants in foods and medicinal plants: Extraction, assessment and resources. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(1), 20–31. <https://doi.org/10.3390/ijms18010096>

Yazzie, D., Vander-Jagt, D., Pastuszyn, A., Okolo, A., & Glew, R. (2017). The Amino Acid and Mineral Content of Baobab (*Adansonia digitata* L.) Leaves. *Journal of Food Composition and Analysis*, 7(3), 189–193. <https://doi.org/10.1006/JFCA.1994.1018>