



**FACULTAD CIENCIAS AGROPECUARIAS
INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL**

**ARTICULO CIENTIFICO PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE
INGENIERO AGROINDUSTRIAL**

Tema:

“Determinación del proceso óptimo de extracción de compuestos fenólicos de la planta
Petiveria alliacea.”

Autores:

María Gabriela Arreaga Rosado
Nairobi Monserrate Bailón Anchundia

Tutor:

Ing. Mirabella Lucas Ormaza. MG

Manta - Manabí - Ecuador

2020

**“DETERMINACIÓN DEL PROCESO ÓPTIMO DE EXTRACCIÓN DE
COMPUESTOS FENÓLICOS DE LA PLANTA *Petiveria alliacea*.”**

**DETERMINATION OF THE OPTIMAL PROCESS OF EXTRACTION OF
PHENOLIC COMPOUNDS FROM THE *Petiveria alliacea* PLANT.”**

Gabriela Arreaga¹, Nairobi Bailón², Mirabella Lucas³

Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí, Avenida circunvalación, Manta - Ecuador.

*Dirección de contacto: mirabella@hotmail.com.ar

RESUMEN

El anamú *Petiveria alliacea* L. es una hierba perenne, utilizada por la medicina tradicional ampliamente distribuida en las regiones tropicales del Caribe, Centroamérica, Suramérica, y África, esta planta es utilizada en Ecuador para uso medicinal debido a su contenido de compuestos bioactivos. La finalidad de esta investigación fue comparar el método de maceración convencional frente a la maceración asistida por ultrasonidos en tres tiempos diferentes de horas y minutos respectivamente para cada caso y con dos tipos de solventes agua y solución hidroalcohólica al 80%, y así establecer el método óptimo de extracción de compuestos fenólicos del anamú, manteniendo la capacidad antioxidante de los mismos, la variable de mayor significancia fue el tiempo de extracción para ambos casos en la determinación de la cantidad pero para la capacidad antioxidante fue el tipo de solvente, demostrando que el método más loable de extracción es la maceración asistidas por ultrasonido a 90 minutos, debido a que el método y tiempo optimizaron la cantidad extraídas mantenido la capacidad antioxidante de los compuestos fenólicos extraídos.

Palabras Claves: Abts, hidroalcohólica, capacidad antioxidante, ultrasonido, maceración.

ABSTRACT

The anamú *Petiveria alliacea* L. is a perennial herb, used by traditional medicine widely distributed in the tropical regions of the Caribbean, Central America, South America, and Africa, this plant is used in Ecuador for medicinal use due to its content of bioactive compounds. The purpose of this investigation was to compare the conventional maceration method against ultrasonic assisted maceration in three different times of hours and minutes respectively for each case and with two types of solvents Water and 80% hydroalcoholic solution, and thus establish the method optimal extraction of phenolic compounds from the anamú, maintaining the antioxidant capacity of the same, the most significant variable was the extraction time for both cases in the determination of the amount but for the antioxidant capacity was the type of solvent, demonstrating that the The most laudable method of extraction is ultrasound assisted maceration at 90 minutes, because the method and time optimized the amount extracted while maintaining the antioxidant capacity of the extracted phenolic compounds.

Keywords: Abts, hydroalcoholic, antioxidant capacity, ultrasound, maceration.

1. INTRODUCCIÓN

La infusión a base de *Petiveria alliacea* se la conoce por su actividad antiespasmódica, antirreumática y antiinflamatoria sistémica, así como antiinflamatorio bucal, analgésico, también se utiliza como fuente potencial para el tratamiento de trastornos del SNC, tales como ansiedad, depresión, dolor, epilepsia y alteraciones de la memoria, la infusión acuosa se ha utilizado en el tratamiento de la leucemia y el cáncer de seno. En cuanto a su actividad sobre el metabolismo, el conocimiento tradicional le atribuye propiedades hipoglucémicas (García et al. 2016).

El Ecuador, presenta condiciones óptimas para el cultivo y la identificación de plantas que podrían ser la base para el desarrollo fitofarmacéutico y compuesto activos que puedan incorporarse en la industria alimenticia, siendo base fundamental para el desarrollo de alimentos biofuncionales. (Flores, 2018). La mayoría de los extractos no son obtenidos en su totalidad ya que se pierden muchos de sus compuestos debido a la sensibilidad de estos a algunos factores; como pueden ser la temperatura y la luz, por lo general los procesos de extracción de este tipo de bio-compuestos implica aplicación, por una parte, de elevadas temperaturas y en algunos casos el uso de solventes que incorporan un riesgo para la salud y el medioambiente (Barba et al., 2016).

Actualmente el empleo de ultrasonido como proceso asistido en la extracción de compuestos, es muy empleado y la ventaja que representa es la reducción del tiempo de extracción y el evitar uso de temperaturas elevadas lo cual contribuye a mejorar los atributos de calidad. Por ello es considerada una tecnología limpia y de gran potencial en la aplicación en procesos de secado, congelado, descongelado, extracción entre otros.

Fundamentalmente está establecido que la cavitación gaseosa es el efecto que produce el ultrasonido, ya que de esta manera se promueve la implosión de microburbujas las cuales generan la liberación de energía. Esto permite aumentos de temperatura que generan los diferentes cambios físicos, químicos y bioquímicos en el microentorno de las células de los diferentes productos procesados. Los ultrasonidos se aplican en diferentes modalidades de alta y baja intensidad y frecuencia, de esta manera variando la longitud de onda, se promueven mejores tiempos y formas de mezclado al igual que transferencia de energía y masa, para reducir tiempos de extracción e incrementar la producción y elaboración de alimentos (Robles et al., 2012).

Todo esto ha conducido al desarrollo de nuevas estrategias que permitan la recuperación de estos compuestos de este tipo de residuo minimizando el impacto sobre el medio ambiente, tal es el caso de los ultrasonidos de potencia los cuales son considerados una tecnología verde y respetuosa del medioambiente (Katsampa et al., 2015). Es así que la presente investigación pretende determinar los compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante del anamú, asistido por ultrasonido con la finalidad de encontrar las mejores condiciones de extracción por este método, evitando el uso de temperaturas que se emplean regularmente en los procesos de maceración tradicional. (Katsampa et al., 2015).

2. MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron hojas, tallos y raíces frescas de *Petiveria alliacea*, cultivadas de forma silvestre en la ciudad de Manta- Manabí- Ecuador, para las maceraciones se empleó 50 g del extracto blando de la planta con dos tipos de solventes; agua destilada para la extracción acuosa y una solución hidroalcohólica v/v al 80%, usando una relación de 1:5 en ambos procesos de maceración (Ochoa et al., 2013).

Se realizó el proceso de extracción convencional a temperatura ambiente 23 ± 2 °C y en tiempos de 6, 12 y 24 horas para los dos tipos de solventes, y de 30, 90 y 150 minutos para la extracción asistida por ultrasonidos a temperatura controlada de 24 ± 1 °C para ambos tipos de solventes acuoso e hidroalcohólicos, posterior a ello se realizó la separación del extracto y de los residuos sólidos por medio de centrifugación a 2000 rpm por un tiempo de 30 minutos, utilizando un equipo de ultrasonido modelo 40000-00303, con una frecuencia de 40 KHz, potencia de 300 Watts, con dimensiones exteriores de 300X240X250mm y una capacidad de 10 Litros.

2.1 Determinación de las características fisicoquímicas de la planta *Petiveria alliacea*.

Para determinar la característica del pH y brix se emplearon métodos de lectura directa los cuales corresponden a la norma NTE INEN 389: 86 para pH y NTE INEN 380 para brix, el análisis de humedad se lo realizó bajo los lineamientos del método de la AOAC. 925.10, basada en la pérdida de peso que sufre la muestra por calentamiento hasta obtener un peso constante.

$$\text{La fórmula para el cálculo es: } \% \text{Humedad} = \frac{M-m}{M}(100)$$

En la que:

M = Peso inicial en gramos de la muestra.

m = Peso en gramos del producto seco

Para la determinación de las cenizas se ejecutó el Método de la AOAC 923.03, incineración de la muestra a 600 °C para quemar todo el material orgánico, al material inorgánico no destruido se le llama ceniza.

$$\text{La fórmula para el cálculo es: } \% \text{Cenizas} = \frac{100 \cdot (P1 - P2)}{P}$$

El análisis de proteína fue realizado en los laboratorios de CE.SE.C.CA, utilizando la técnica de Kjeldahl por el método PEE/CESECCA/QC/15, método de referencia AOAC Ed.20.2016:2001.11 NTE INEN 465:1980

2.2 Determinación de los contenidos de compuestos fenólicos.

Realizado mediante el método propuesto por García et al. (2015), del ETSIAMN, Universidad Politécnica de Valencia, en su instructivo “Determinación de polifenoles totales por el método de Folin-Ciocalteu”, para la preparación de las disoluciones para la curva patrón de ácido gálico; se realizaron disoluciones del mismo de 0.0251 g/250 ml (disolución concentrada o madre), de esta disolución se prepararon disoluciones de concentraciones

crecientes de ácido gálico entre 1 y 9 ppm, posteriormente se mantienen en la oscuridad, siguiendo el debido procedimiento y realizando la lectura a 765 nm como se muestra en el cuadro 02 preparación de la curva patrón de ácido gálico a partir de una disolución concentrada de 0.0251 g/250 ml.

2.3 DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTES DE LOS EXTRACTOS DE *Petiveria alliacea*.

2.3.1 Preparación del ABTS para las lecturas espectrofotométricas de los extractos de *Petiveria alliacea*

Para la preparación del medio ABTS se pesaron 0.384g de ABTS (7mM) y 0.0663g de Persulfato de Potasio $K_2S_2O_8$ (2.45 mM) en 100 mL de agua destilada, dejando madurar un tiempo mínimo de 16 horas en oscuridad. Para la lectura del blanco se tomó 2 mL del medio ABTS radicalizado y 455 ml de etanol hasta obtener una absorbancia de 0.7038 para lecturas espectrofotométricas a 738 nm.

2.3.2 Lectura del blanco

Se procedió a colocar en un tubo de ensayo 2.7 mL de la preparación de ABTS para lecturas espectrofotométricas y 0.3 mL del extracto de la maceración y se lo llevo al espectrofotómetro a 738 nm, para leer la absorbancia.

2.3.3 Lectura de las soluciones.

Se tomó 2.7 ml de la solución de ABTS para lecturas espectrofotométricas y se añadió 0.3 ml de cada solución extraída por el método acuoso e hidroalcohólico de la *Petiveria alliacea*, la actividad del barrido del radical se calcula según la siguiente ecuación:

$$\% \text{ de inhibición} = 1 + \frac{\text{OD blanco} - \text{OD muestra}}{\text{OD blanco}} \times 10$$

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Características fisicoquímicas de la planta *Petiveria alliacea*.

Las características fisicoquímicas evaluadas obtuvieron como resultados que la planta *Petiveria alliacea* tiene un pH alcalino de 5.8, este resultado sugiere, que los compuestos químicos presentes en la planta tienen características ácidas débiles, este valor de pH coincide con las determinaciones de este parámetro, realizadas en otros trabajos experimentales como el de Ochoa et al. (2008), un contenido bajo en solidos totales expresados como °Brix lo cual guarda relación con el alto contenido de humedad y el bajo porcentaje de proteína encontrado en la planta, el contenido de cenizas de la planta es elevado comparándolo con los resultados del estudio de Luna et al. (2005), quien determinó el porcentaje de cenizas en las hojas de la *petiveria alliacea* L. encontrando que esta planta es rica en minerales tales como el calcio, cobre, hierro, magnesio, manganeso, selenio, sodio y potasio ver en el cuadro 01 caracterización fisicoquímica (°Brix, pH, % cenizas, % humedad, % proteína).

3.2. Estudio de la normalidad para el contenido y capacidad antioxidante de los compuestos fenólicos obtenidos de la planta *Petiveria alliacea*

Como se muestran los resultados de la prueba de normalidad no hay datos dispersos y están cercanos a la línea de tendencia, mostrando nivel de significancia a $p > 0.01$ para las variables tiempos de extracción a 24 horas (Capacidad Antioxidante) y 30 minutos (Compuestos Fenólicos), para el método convencional y método asistido por ultrasonido respectivamente. Ver cuadro 02 prueba de normalidad.

3.3. Resultados del contenido de compuestos fenólicos de la planta *Petiveria alliacea*

Bajo las condiciones estudiadas se observa el contenido de compuestos fenólicos presentes en la planta de *Petiveria alliacea* extraídos por maceración convencional y maceración asistida por ultrasonido, mostrando que no existe diferencia significativa al $p < 0.01$ para las variables de tiempo y solución de extracción, para ninguno de los casos, sin embargo a las 24 horas por método de maceración convencional se obtiene mayor contenido de compuestos fenólicos, mostrando que a mayor tiempo de maceración y exposición al ultrasonido, mayor cantidad de extracción de estos, tanto para la solución acuosa e hidroalcohólica, estos resultados varían en cuanto a la cantidad de compuestos fenólicos extraídos por Rico et al. (2019) debido a que el tratamiento empleado por ultrasonidos solo fue en un tiempo máximo de 15 minutos obtenido bajo contenido de estos compuestos, por eso se afianza el hecho de que a mayor tiempo de exposición en la extracción mayores serán los fenoles obtenidos, generando diferencias en el contenido de polifenoles a comparación de usar un método convencional, cuadro 03 pruebas de los efectos inter sujetos para contenido de compuestos fenólicos.

Lo mismo sucede en la extracción asistida por el método de ultrasonido, no hay diferencia significativa a $p < 0.01$ en los casos estudiados a pesar de ello se observa que el contenido de compuestos fenólicos varía según el tiempo, indistintamente de la solución de extracción, determinado que a 90 minutos se obtiene una media mayor, lo que indica que esta tiene mejor capacidad de extracción frente a los otros tiempos de estudios, dejando ver que a medida que se incrementó el tiempo de extracción aumento el contenido de compuestos fenólicos, pero seguir aumentando el tiempo existe una fase estacionaria donde no hay mayor incremento, produciéndose una atenuación del proceso de extracción debido a las temperaturas poco elevadas y la mayor intensidad de las ondas del equipo, perdiéndose la intensidad del haz en profundidad, tal como sucede con ultrasonidos de mayor frecuencia Messineoa et al. (2014). Ver cuadro 04 cont. Compuestos fenólicos: Dhs de Tukey^{A,B}

Analizando la relación solución y tiempo de extracción de la cantidad de compuestos fenólicos obtenidos en ambos procesos de maceración convencional y asistida por ultrasonido se muestra que se obtiene la mayor cantidad de compuestos fenólicos en solución acuosa en un tiempo de 24 horas y 90 minutos respectivamente, esto se debe a que la solubilidad de los compuestos fenólicos disminuye en solventes menos polares como metanol y etanol, recomendándose emplear mezclas con agua, para aumentar la polaridad como acetona-agua y/o etanol-agua para mejorar la extracción de polifenoles manifestado por Zou et al. (2016) y citado por Rojas et al. (2019), así como se manejó la investigación actual que se empleo agua al 100% y solución hidroalcohólica al 80%. Ver cuadro 05 solución extracción * tiempo extracción

3.4. Resultados de la capacidad antioxidante del contenido de compuestos fenólicos de la planta *petiveria alliacea*

Con respecto a la capacidad antioxidante de los compuestos fenólicos extraídos de la *petiveria alliacea*, según los resultados de las pruebas de efectos inter sujetos de las variables en estudio hay significancia a $p > 0.01$ para la solución de extracción en el método convencional mientras que para el método asistido por ultrasonido la diferencia significativa se encuentra en el tiempo de extracción autores como Rico et al. (2019) sugiere que esta diferencia puede deberse a que existe una variedad de compuestos fenólicos que son más solubles en mezclas de disolventes que en disolventes acuosos puros. Cuadro 06 pruebas de los efectos inter sujetos para la capacidad antioxidante

Los resultados del tiempo para maceración convencional muestran un subconjunto homogéneo recalando que la capacidad antioxidante está relacionada al tiempo de maceración a pesar de no haber mostrado significancia para esta variable, a diferencia de la maceración asistida por ultrasonidos donde la capacidad antioxidante se expresa en dos subconjuntos debido a la diferencia significativa encontrada, y así analizando el tiempo por capacidad se obtiene que a los 90 minutos hay mayor porcentaje de inhibición en cuanto a la capacidad antioxidante de los compuestos fenólicos extraídos, actualmente se está estudiando la incorporación de ultrasonidos en varias operaciones unitarias de procesos de elaboración y extracción observándose que la capacidad antioxidante y el contenido polifenólico se conservan mejor disminuyendo los tiempos de las operaciones encontrando mayor eficiencia a potencias ultrasónicas más elevadas pudiéndose conservar la capacidad antioxidante tal como lo menciona Santa catalina (2012), cuadro 07 capacidad compuestos fenólicos: Dhs de Tukey^{A,B} alfa: 0,01

La relación solución y tiempo de extracción para la dependiente capacidad antioxidantes de los compuestos fenólicos extraídos muestra que el porcentaje de inhibición es más elevado en el medio hidroalcohólico para el método convencional, mientras que en método asistido por ultrasonidos los valores más altos se dan en la solución acuosa al 80% los mismos que guardan relación con los datos obtenidos en el medio acuso del método convencional. Cuadro 08 solución extracción * tiempo extracción

4. CONCLUSIONES

Se encontró que la planta *petiveria alliacea L.* es una fuente promisoría en cuanto a su contenido de minerales presentes en la planta por lo cual puede ser considerada como una base importante para alimentos enriquecidos, valorando los procesos de extracción y capacidad antioxidantes de compuestos fenólicos se obtuvieron resultados similares en cuanto al contenido de fenoles expresados como ácido gálico en ambos tipos de maceraciones pero en tiempos diferentes, la maceración asistida por ultrasonidos realizada en minutos deja la oportunidad de optimizar los tiempos de extracción logrando una reducción significativa de horas de trabajo y conservando la capacidad antioxidante de los compuestos fenólicos extraídos.

BIBLIOGRAFIA

- Ochoa, A; Marín, J; Rivero, D; Aguilera, E. 2013. Caracterización física, fisicoquímica y química de extractos totales de hojas frescas de *Petiveria alliacea* L. con acción antimicrobiana. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*, vol. 44. núm. 1. pp. 52-59.
- Katsampa, P; Valsamedou, E., Grigorakis, S., Makris, D.P., 2015. A green ultrasound-assisted extraction process for the recovery of antioxidant polyphenols and pigments from onion solid wastes using Box-Behnken experimental design and kinetics. *Industrial Crops and Products* 77, 535-543.
- Pérez, R; García, M; Martínez, M; Soto, M. 2006. Actividad citotóxica y antioxidante de *Petiveria alliacea* L. revista *Chapingo serie horticultura*, vol. 12, núm. 1, pp. 51-56.
- Robles 2012 ultrasonido y sus aplicaciones en el procesamiento de alimentos. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, vol. 13, núm. 2, 2012, pp. 109-122.
- García, B; Rojo, D; García, G; Hernández, Á. 2002. *Rev. Cubana Invest Bioméd* v.21 n.3
- Aillon, L. 2014 Estudios de actividad antioxidante en fracciones provenientes de dos plantas medicinales ecuatorianas: extracto hidroalcohólico mashua (*tropaeolum tuberosum* (ruiz y pavón) *tropaeolacea*) y aceite esencial de congona (*peperomia inaequalifolia* (Ruíz y pavón) *piperaceae*) (tesis de pregrado). Universidad Politécnica Salesiana Sede Quito, Ecuador
- Flores, G. 2018, Plantas medicinales en Ecuador. *Diario El Comercio*
- Rico, J., Borrego, A, Solís, E., Galaviz, E a, Martínez, J., Sáenz, M., Femenia A., Minjares, R., a Universidad Juárez del Estado de Durango. Artículo 123 s/n, col. Filadelfia, México.
- Compuestos fenólicos y actividad antioxidante de extractos obtenidos con ultrasonido de potencia a partir de mezclas de Aloe vera (*Aloe barbadensis* Miller) y pasta prensada de uva.
- Messineoa, M; Frontinia, G. 2014 Estimación de la atenuación de una onda de ultrasonido resolviendo un problema inverso, Universidad Nacional de Mar del Plata, Argentina,
- Zou, T; Xia, E; He, T; Huang, M; Jia, Q; Li, H. Ultrasound-assisted extraction of Mangiferin from Mango (*Mangifera indica* L.) leaves using response surface methodology. *Molecules*. 2014;19(2):1411-21.
- Luna, B; Melo, M; Handal, E; Pérez, E; Rodríguez, A. Suplementos Minerales a partir de Anamú (*Petiveria Alliacea* l.) y Plátano (*Mussa Paradisi-aca* l.) *Revista CENIC. Ciencias Biológicas*, vol. 36, 2005 Centro Nacional de Investigaciones Científicas, Cuba.

García, E; Fernández, I; Fuentes, A. 2015. Determinación de polifenoles totales por el método de Folin Cio-Calteau. Valencia, España.