



UNAP



FACULTAD DE INDUSTRIAS ALIMENTARIAS

ESCUELA PROFESIONAL DE BROMATOLOGÍA Y NUTRICIÓN HUMANA

TESIS

**OPTIMIZACIÓN DE LA EXTRACCIÓN ETANÓLICA DE COMPUESTOS DE LA
CORTEZA Y HOJAS DE CHUCHUHUASI (*Maytenus amazónica*) Y
EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE**

**PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE
LICENCIADO EN BROMATOLOGÍA Y NUTRICIÓN HUMANA**

PRESENTADO POR:

**CHRISTIC MIRELLA VELA RODRIGUEZ
CARLOS DÍAZ CÓRDOVA**

ASESORES

Ing. JORGE YSAAC VILLACRES VALLEJO, MSc.

Ing. FERNANDO TELLO CÉLIS, Dr.

IQUITOS, PERÚ

2024

ACTA DE SUSTENTACIÓN



UNAP

FACULTAD DE INDUSTRIAS ALIMENTARIAS
Escuela Profesional de
Bromatología y Nutrición Humana

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS N° 006-CGT-FIA-UNAP-2024

A los 29 días del mes de febrero de 2024, a horas... *11.00 am*....., en las instalaciones de la Sala de Reuniones de Decanatura, de la Facultad de Industrias Alimentarias, en la Ciudad Universitaria Zungarococha dando inicio a la Sustentación Pública de la Tesis Titulada: "OPTIMIZACIÓN DE LA EXTRACCIÓN ETANÓLICA DE COMPUESTOS DE LA CORTEZA Y HOJAS DE CHUCHUHUASI (*Maytenus amazónica*) Y EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE", presentado por los Bachilleres **CHRISTIC MIRELLA VELA RODRÍGUEZ** y **CARLOS DÍAZ CÓRDOVA**, para optar el Título Profesional de Licenciado (a) en Bromatología y Nutrición Humana, que otorga la Universidad de acuerdo a Ley y Estatuto.

El Jurado Calificador y dictaminador designado mediante Resolución Decanal N° 047-FIA-UNAP-2024 del 05 de febrero de 2024, está integrado por:

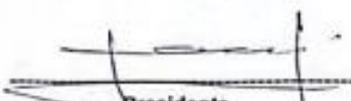
Ing. ALENGUER GERÓNIMO ALVA ARÉVALO, Dr.
Ing. EMILIO DÍAZ SANGAMA, Msc.
Lic. MIRIAM RUTH ALVA ANGULO, Mgr.

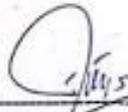
Luego de haber escuchado con atención y formulado las preguntas necesarias, las cuales fueron respondidas: *SATISFACTORIA MENTE*.....

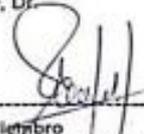
El Jurado después de las deliberaciones correspondientes, llegó a las siguientes conclusiones:

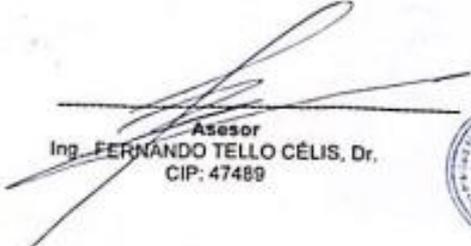
La sustentación pública y la tesis ha sido: *APROBADA*..... con la calificación *M. BUENA*.....

Estando el(la) bachiller apto(a) para obtener el Título Profesional de Licenciado(a) en Bromatología y Nutrición Humana, Siendo las *11.00 am*..... se dio por terminado el acto de sustentación.


Presidente
Ing. ALENGUER GERÓNIMO ALVA ARÉVALO, Dr.
CIP: 45167


Miembro
Ing. EMILIO DÍAZ SANGAMA, Msc.
CIP: 38911


Miembro
Lic. MIRIAM RUTH ALVA ANGULO, Mgr.
CNP: 130

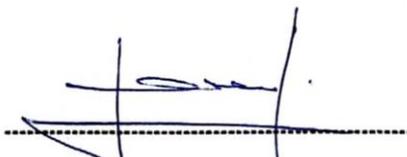

Asesor
Ing. FERNANDO TELLO CÉLIS, Dr.
CIP: 47489


Asesor
Ing. JORGE YSCAC VILLACRES VALLEJO, MSc
CIP: 62013



JURADO Y ASESORES

TESIS APROBADA EN SUSTENTACION PUBLICA, EN LA FACULTAD DE INDUSTRIAS ALIMENTARIAS, DE LA ESCUELA DE BROMATOLOGIA Y NUTRACION HUMANA, DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA AMAZONIA PERUANA, EL DIA 29 DE FEBRERO DEL AÑO 2024, POR EL JURADO CALIFICADOR CONFORMADO POR:



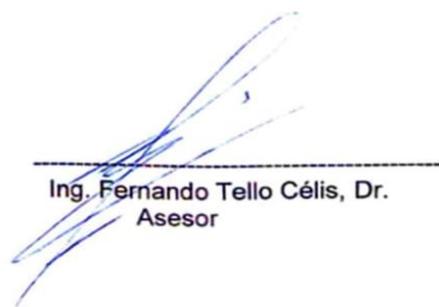
Ing. Alenguer Gerónimo Alva Arévalo, Dr.
Presidente



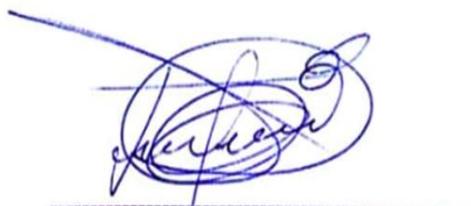
Ing. Emilio Diaz Sangama, MSc.
Miembro



Llc. Miriam Ruth Alva Angulo, Mgr
Miembro



Ing. Fernando Tello Célis, Dr.
Asesor



Ing. Jorge Ysaac Villacres Vallejo, MSc
Asesor

RESULTADO DEL INFORME DE SIMILITUD

Reporte de similitud

NOMBRE DEL TRABAJO

Antiplagio Tesis OPTIMIZACION DE LA EXTRACTACION DE COMPUESTOS DE CHUC HUHUASI 25012024.docx

AUTOR

CARLOS DIAZ

RECuento DE PALABRAS

11274 Words

RECuento DE CARACTERES

64069 Characters

RECuento DE PÁGINAS

43 Pages

TAMAÑO DEL ARCHIVO

169.8KB

FECHA DE ENTREGA

Jan 25, 2024 5:59 PM GMT-5

FECHA DEL INFORME

Jan 25, 2024 5:59 PM GMT-5

● 30% de similitud general

El total combinado de todas las coincidencias, incluidas las fuentes superpuestas, para cada base c

- 29% Base de datos de Internet
- 2% Base de datos de publicaciones
- Base de datos de Crossref
- Base de datos de contenido publicado de Crossr
- 9% Base de datos de trabajos entregados

● Excluir del Reporte de Similitud

- Material bibliográfico
- Coincidencia baja (menos de 10 palabras)

DEDICATORIA

Dedico en primer lugar a Dios, porque me da vida y salud para seguir adelante en todo momento, guía mis pasos y me da fuerzas.

A mis Padres Jhuliana y Tito por su apoyo incondicional ya que siempre me dieron las fuerzas para seguía avanzando y no rendirme.

A mi querido esposo por sus consejos y sus motivaciones constantes para luchar por mis sueños, a mi amada hija porque ella me inspira a seguir adelante y ser un ejemplo para ella.

A mis asesores Dr. Fernando e Ing. Jorge por tener la paciencia y brindarnos sus conocimientos hasta el final de la tesis.

CHRISTIC MIRELLA VELA RODRIGUEZ

Dedico con todo mi corazón mi tesis a mi madre pues sin ella no lo habría logrado.

Tú bendición a diario a lo largo de mi vida me protege y me lleva por el camino del bien.

Por eso te doy mi trabajo en ofrenda por tu paciencia y amor madre mía.

CARLOS DÍAZ CÓRDOVA

AGRADECIMIENTO

En primer lugar, agradezco a Dios por su amor y su inmensa bondad, por darme la capacidad y sabiduría para realizar esta investigación.

A mi familia por su apoyo incondicional, en especial a mis padres por cada día alentarme para seguir con mi objetivo ya que son las personas más importantes en mi vida, por confiar y creer en mi cada día. A mi compañero de vida Joel, por su apoyo y consejos que me dio para seguir luchando y avanzar por mis sueños.

A mi querida hija Abigail, por ser ese soporte y que hay días que no estuve con ella, pero se hija mía que todo esfuerzo tiene su recompensa, pero todo sea para darte un buen futuro princesita.

Al Dr. Fernando Tello y al Ing. Jorge Villacrez, por sus enseñanzas, por compartir sus conocimientos en base a sus experiencias y por el tiempo dedicado. Finalmente agradezco a cada uno de las personas que me ayudaron y me dieron sus conocimientos para lograrlo.

CHRISTIC MIRELLA VELA RODRIGUEZ

A Dios, quien me hizo que fuera más valiente en todas las situaciones que se presentaron.

A mis padres, que con su amor y trabajo me educaron y apoyaron en toda mi formación personal.

A mis hermanos, que de uno u otra forma a lo largo de sus vidas han estado presentes en la mía, para reír, llorar y solidarizarnos, a ustedes hermanos queridos muchas gracias.

CARLOS DÍAZ CÓRDOVA

ÍNDICE DE CONTENIDO

páginas

PORTADA	1
ACTA DE SUSTENTACIÓN	iii
JURADO Y ASESORES	iii
RESULTADO DEL INFORME DE SIMILITUD	iv
DEDICATORIA	v
AGRADECIMIENTO	vii
ÍNDICE DE TABLAS	vii
ÍNDICE DE FIGURAS	viii
ÍNDICE DE ABREVIATURAS	viii
RESUMEN	ix
ABSTRACT	ix
INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO I: MARCO TEÓRICO	4
1.1 Antecedentes	4
1.2 Bases teóricas	4
1.2.1 Aspectos botánicos	4
1.2.2 Procesos de extracción de compuestos	5
1.2.3 Técnicas de extracción	6
1.2.3.1 Extracción sólido-líquido	7
1.2.3.2 Extracción ultrasonido	7
1.2.4 Extractos	7
1.2.5 Metodología de superficie de respuesta (MSR)	8
1.2.5 Metabolitos secundarios	9
1.2.6 Aplicaciones medicinales	10
1.2.7 Taninos	10
1.3 Definición de términos básicos	12
1.3.1 Procesos de extracción	12

1.3.2	Metodología de superficie de respuesta	12
1.3.3	Antioxidantes	12
1.3.4	Polifenoles	13
1.3.5	DPPH	13
1.3.6	ABTS	13
CAPITULO II: HIPÓTESIS Y VARIABLES		14
2.1	Formulación de la hipótesis	14
2.2	Variables y su operacionalización	14
2.2.1	Variables independientes	14
2.2.2	Variables dependientes	14
2.2.3	Operacionalización de variables	15
CAPITULO III: METODOLOGÍA		16
3.1	Material, reactivos, insumos químicos y equipos	16
3.1.1	Material, reactivos e insumos químicos	16
3.1.2	Equipos	16
3.2	Tipo de estudio	17
3.3	Diseño metodológico	17
3.4	Diseño experimental	17
3.5	Población	19
3.6	Tamaño de muestra	19
3.7	Procedimiento de recolección de datos	19
3.7.1	Obtención de las materias primas (corteza y hojas)	20
3.7.2	Obtención de los extractos de materiales de chuchuhuasi (<i>Maytenus amazónica</i>).	20
3.7.3	Procedimiento del estudio	22
3.7.4	Determinaciones analíticas	22
3.7.4.1	Caracterización de materiales	22
3.7.4.2	Determinación de capacidad antioxidante por ABTS	22
3.7.4.3	Determinación de fenoles totales (FT)	22

3.7.4.4	Determinación de la capacidad antioxidante por DPPH	23
3.8	Procesamiento y análisis de datos	23
3.9	Aspectos éticos	23
CAPÍTULO IV: RESULTADOS		24
4.1	Caracterización de los materiales	24
4.2	Optimización de las condiciones de extracción de compuestos	24
4.3	Resultados experimentales optimizados	25
4.3.1	Ensayos experimentales de extracción de la corteza y hojas de chuchuhuasi (<i>Maytenus amazónica</i>)	25
4.3.2	Optimización de la extracción de compuestos de la corteza y hojas de chuchuhuasi (<i>Maytenus amazónica</i>).	27
4.3.3	Selección del modelo apropiado para el rendimiento de extractos de corteza y hojas de chuchuhuasi	29
4.3.4	Optimización del tiempo y ratio de solvente	33
4.3.5	Selección del modelo apropiado para el rendimiento de extractos de compuestos de hojas de chuchuhuasi (<i>Maytenus amazónica</i>)	34
4.3.6	Selección del modelo apropiado para el rendimiento de extractos de hoja	36
4.3.7	Optimización del tiempo y solvente	37
4.4	Determinación de Fenoles Totales	38
4.3.1	Selección del modelo apropiado para el tratamiento de fenoles totales	38
4.5	Determinación de la capacidad antioxidante de los extractos de corteza y hojas de chuchuhuasi (<i>Maytenus amazónica</i>).	38
4.5.1	Capacidad antioxidante por el ensayo DPPH	38
4.5.2	Capacidad antioxidante por los ensayos ABTS y DPPH	39
CAPITULO V: DISCUSIÓN		41
CAPITULO VI: CONCLUSIONES		46
CAPITULO VII: RECOMENDACIONES		47

CAPÍTULO VIII: REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	48
ANEXOS	57

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Factores analíticos y niveles para MSR .	18
Tabla 2: Planeamiento experimental.	18
Tabla 3: Composición centesimal de materiales de estudio de chuchuhuasi (<i>Maytenus amazónica</i>).	24
Tabla 4: Variables experimentales utilizadas en el estudio.	25
Tabla 5: Condiciones operativas ensayadas y resultados experimentales de extracto de corteza de chuchuhuasi (<i>Maytenus amazónica</i>).	26
Tabla 6: Condiciones operativas ensayadas y resultados experimentales de hojas de chuchuhuasi (<i>Maytenus amazónica</i>).	27
Tabla 7: Rendimiento de los extractos de la corteza y hojas de chuchuhuasi (<i>Maytenus amazónica</i>) con variación de tiempo (T) y solvente (S).	28
Tabla 8: Modelo de análisis para el rendimiento de los extractos de la corteza.	29
Tabla 9: Análisis de la varianza para la variable Rendimiento vs Tiempo y Solvente.	32
Tabla 10: Coeficientes codificados del % rendimiento en la extracción de compuestos de la corteza de chuchuhuasi (<i>Maytenus amazónica</i>).	33
Tabla 11: Modelo de análisis para el Rendimientos de extracto de las hojas..	34
Tabla 12: Coeficiente de variación para predecir el % rendimiento en la extracción de compuestos de las hojas de chuchuhuasi (<i>Maytenus amazónica</i>).	36
Tabla 13: Coeficientes codificados del % de rendimiento de extracción de compuestos de hojas de chuchuhuasi (<i>Maytenus amazónica</i>).	37
Tabla 14: Resultados experimentales de fenoles Tgotales	38
Tabla 15: Capacidad antioxidante por métodos ABTS y DPPH.	39
Tabla 16: Correlación de la corteza y hojas de chuchuhuasi.	39

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Diseño compuesto central rotacional.	19
Figura 2: Flujograma para la obtención del extracto de partes chuchuhuasi.	22
Figura 3: Superficie de respuesta del rendimiento de los extractos de la corteza de Chuchuhuasi (<i>Maytenus amazónica</i>).	30
Figura 4: Gráfico de contorno del rendimiento de los extractos de la corteza de Chuchuhuasi (<i>Maytenus amazónica</i>).	30
Figura 5: Valores observados vs Valores predichos del rendimiento de los extractos de la corteza de chuchuhuasi (<i>Maytenus amazónica</i>).	31
Figura 6: Diagrama de Pareto de las variables.	32
Figura 7: Superficie de respuesta del rendimiento del extracto de las hojas de chuchuhuasi (<i>Maytenus amazónica</i>).	35
Figura 8: Gráfico de contorno del rendimiento del extracto de las hojas de chuchuhuasi (<i>Maytenus amazónica</i>).	35
Figura 9: Gráfico de Pareto de las variables de rendimiento de extracto de hojas de chuchuhuasi (<i>Maytenus amazónica</i>).	36

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

Abreviatura	Definición
MSR	Metodología de Superficie de Respuesta
DCCR	Diseño Compuesto Central Rotacional
DPPH	2,2-difenil-1-picrilhidrazilo
ABTS	2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid)
AOAC	Association of Official Analytical Chemists
EAG	Equivalentes de Ácido Gálico
MS	Materia Seca
T	Temperatura
EA	Etanol Absoluto
PP	Persulfato de Potasio
RS	Ratio de Solvente
DCA	Diseño Compuesto Aleatorizado
FC	Folin-Ciocalteau

RESUMEN

En el presente estudio llevó a cabo la optimización de la extracción por maceración de compuestos de la corteza y hojas chuchuhuasi aplicando la metodología de superficie de respuesta (RSM). Además, se realizó la evaluación del extracto obtenido en las condiciones óptimas de extracción. Se analizaron variables como tiempo de maceración relación etanol/agua y las interacciones entre ellas mediante el uso de un diseño factorial 2x2. Los factores significativos fueron considerados para la optimización, empleando un Diseño Box-Behnken, y el rendimiento, capacidad antioxidante y fenoles totales como variables de respuesta. Fue encontrado un modelo cuadrático era adecuado, con un valor de R^2 ajustado de 0.7850 y 0.8406 para corteza y hojas respectivamente, determinando un rendimiento de 13% de extracto en un tiempo de 5 días y 100% de etanol para la corteza y un rendimiento de 3.20% de extracto en un tiempo de 5 días y 50% de etanol y 50% de agua ultra pura para las hojas. Los extractos exhibieron un contenido fenólico de 66.98 ± 9.28 mgEAG/100g MS y 62.36 ± 10.71 mgEAG/100g MS para la corteza y hojas respectivamente. La actividad captadora de radicales del extracto obtenido en condiciones óptimas, se realizó mediante los métodos ABTS y DPPH, dando como resultados donde la máxima actividad de ABTS fue de 111.16 ± 7.46 μ mol TE/100g MS (ABTS) y 14.47 ± 5.56 μ mol TE/100g MS (DPPH) para la corteza y ABTS 102.55 ± 7.81 μ mol TE/100g MS y DPPH 12.78 ± 5.74 μ mol TE/100g MS para las hojas. Los extractos de chuchuhuasi pueden ser propuestos como un componente prometedor para bebidas funcionales, formulaciones cosméticas y farmacéuticas.

Palabras clave: *Maytenus amazónica*, optimización, fenoles totales y capacidad antioxidante.

ABSTRACT

In the present study, the optimization of the extraction and maceration of compounds from the bark and chuchuhuasi leaves was carried out by applying the response surface methodology (RSM). In addition, the evaluation of the extract obtained under the optimal extraction conditions was carried out. Variables such as maceration time, ethanol/water ratio and the interactions between them were analyzed using a 2x2 factorial design. The significant factors were considered for optimization, using a Box-Behnken Design, and yield, antioxidant capacity and total phenols as response variables. A quadratic model was found to be adequate, with an adjusted R² value of 0.7850 and 0.8406 for bark and leaves respectively, determining a yield of 13% of extract in a time of 5 days and 100% ethanol for the bark and a yield of 3.20% extract over a period of 5 days and 50% ethanol and 50% ultra-pure water for the leaves. The extracts exhibited a phenolic content of 66.98±9.28 mgEAG/100g DM and 62.36±10.71 mgEAG/100g DM for the bark and leaves respectively. The radical scavenging activity of the extract obtained under optimal conditions was carried out using the ABTS and DPPH methods, giving results where the maximum activity of ABTS was 111.16 ± 7.46 µmol TE/100g MS (ABTS) and 14.47 ± 5.56 µmol TE /100g MS (DPPH) for the bark and ABTS 102.55±7.81 µmol TE/100g MS and DPPH 12.78±5.74 µmol TE/100g MS for the leaves. Chuchuhuasi extracts can be proposed as a promising component for functional beverages, cosmetic and pharmaceutical formulations.

KEYWORDS: *Maytenus amazonica*, optimization, total phenols and antioxidant capacity.

INTRODUCCIÓN

El creciente interés de la industria alimentaria, farmacéutica y cosmética por la alimentación saludable con compuestos bioactivos que se producen conduciendo a una demanda creciente de desarrollo de nuevas y más efectivas técnicas de análisis y aislamiento. La extracción de compuestos bioactivos de material vegetal es un desafío permanente, acompañado de un creciente requisito de control de los productos finales y un creciente interés por la protección del medio ambiente. Sin embargo, se han realizado esfuerzos en esta dirección y hoy en día un número considerable de técnicas de extracción innovadoras utilizando disolventes de grado alimenticio y respetuosos con el medio ambiente (1).

Sin embargo, no sólo la industria alimentaria está interesada en fuentes alternativas de bioactivos. compuestos; las industrias farmacéutica y cosmética tienen requisitos similares. Los efectos toxicológicos en humanos y animales son los metabolitos secundarios de las especies vegetales y algunas de ellos son los terpenoides, alcaloides, y compuestos fenólicos (2).

Sin embargo, la extracción se considera uno de los pasos más importantes y un punto crítico en el proceso. La eficiencia de extracción de un proceso depende de varios factores. En primer lugar, la técnica de extracción y los solventes utilizados son los factores predominantes, pero otras variables como las propiedades químicas y físicas del objetivo. El principal desafío en la extracción es lograr la máxima utilización y repetitividad del proceso en el menor tiempo posible y con el mínimo uso de energía y productos químicos (3).

Sin embargo, estas técnicas convencionales tienen numerosos inconvenientes, el más importante de los cuales son: largo tiempo de extracción, altos costos de extracción (asociados al uso de grandes cantidades de disolventes orgánicos y energía), extracción no selectiva, posibilidad de degradación/isomerización de analitos debido al calentamiento prolongado, efectos ambientales negativos y reciclaje inadecuado prácticas para los disolventes utilizados (3).

Varias especies vegetales de la amazonia peruana no han sido estudiadas, sin embargo, los pobladores amazónicos conocen los usos empíricos de estas especies (4). Las especies vegetales contienen diferentes

compuestos bioactivos reconocidos como metabolitos secundarios, que son los responsables de las actividades biológicas (5).

Varios autores han discutido la importancia y el potencial de plantas medicinales amazónicas como fuente de nuevos agentes terapéuticos, debido al conocimiento de la bioactividad de las plantas acumulado a través de la experimentación durante siglos por personas que viven en íntima asociación con su entorno (6 ; 7).

Las matrices vegetales poseen diferentes componentes en su estructura química, que tienen importancia fundamental para el desarrollo, crecimiento y producción de las plantas. Estos compuestos poseen diferente estructura química, por lo que son clasificados en compuestos orgánicos y compuestos inorgánicos. Los compuestos inorgánicos de mayor utilidad son el agua y los minerales. Diferentes compuestos orgánicos que incluyen metabolitos primarios están relacionados con el metabolismo celular, asimismo, los metabolitos secundarios que no están relacionados con el metabolismo celular, en su mayoría son los responsables de la actividad biológica de las especies vegetales (8).

Las actividades económicas, el estilo de vida, la alimentación y la incidencia de enfermedades transmisibles y no transmisibles generan estrés en el ser humano. Para contornar este problema una alternativa es el uso de compuestos antioxidantes conocidas como moléculas que actúan antes o durante una reacción de los radicales libres; en cualquiera de las etapas que incluyen las etapas de iniciación, propagación, terminación, descomposición o en la subsecuente oxidación de los productos (9). Así mismo, los compuestos prooxidantes son altamente reactivos con radicales libres o especies reactivas de oxígeno presentes en los sistemas biológicos (10), presentes en los alimentos, así como en los sistemas biológicos.

El chuchuhuasi es un árbol originario de la Amazonia. Sus raíces, hojas, corteza y combinaciones de estos se utilizan en la medicina tradicional principalmente para tratar el reumatismo y, en menor medida, para curar heridas y combatir la bronquitis y la diarrea. Hasta la fecha, se aislaron principalmente triterpenos y sesquiterpenos de dihidro- β -agarofurano de *M. macrocarpa*. Los

compuestos aislados de hojas, raíces y corteza mostraron actividades antibacterianas, antivirales, antiparasitarias, antiinflamatorias y citotóxicas (11).

Los taninos en forma de extractos de plantas son una alternativa para la promover la química verde (12). La principal característica y ventaja de los taninos es su estructura fenólica que es muy similar a los fenoles sintéticos. Otra característica clave de los taninos es su actividad como antioxidante (12). Los taninos son utilizados en la fabricación de bebidas, alimentos, espumas, biológico, conservantes para madera, aglutinantes para recubrimientos de teflón, entre otros (12).

Los diferentes procesos de extracción de compuestos y sustancias específicas precisan ser optimizados para racionalizar su uso, una de las herramientas más utilizadas es la metodología de superficie de respuesta (MSR), esta herramienta es un conjunto de técnicas estadísticas y matemáticas utilizadas para resolver problemas en las que una respuesta de interés está influenciada por variables cuantificables. La MSR es el diseño de los experimentos que encuentren valores razonables para la variable respuesta y, determine un modelo matemático que se ajuste a los datos encontrados y establezca valores que optimicen el valor de la variable respuesta (13). Los diseños experimentales, aplicado junto a la metodología de superficie de respuesta mejora la eficiencia en procesos como la extracción de compuestos de interés, debido a que son herramientas multivariadas que durante la optimización evalúan las variables y sus posibles interacciones. El uso de estas herramientas posibilita obtener información con una menor cantidad de experimentales (14).

Delante de lo expuesto, el objetivo del presente estudio fue optimizar la extracción de compuestos de la corteza y hojas de chuchuhuasi utilizando metodología de superficie de respuesta. Los resultados obtenidos podrían contribuir a la formulación de nuevos productos alimenticios, farmacológicos y otras aplicaciones.

CAPÍTULO I:

MARCO TEÓRICO

1.1 Antecedentes

Plantas medicinales, especias y hierbas son materias primas vegetales o productos aptos para uso, también conocidos como hierbas medicinales y productos aromatizantes que se utilizan principalmente para fines terapéuticos y aromáticos y/o para fines culinarios, o como saborizantes o componentes activos de cosméticos, medicamentos, alimentos saludables y otros productos naturales (15). Estas especies vegetales se han utilizado desde la antigüedad como una alternativa para mitigar enfermedades y mejorar la salud y bienestar. La demanda de plantas medicinales como especias y hierbas está aumentando en países desarrollados y en desarrollo. Aproximadamente el 15% de los medicamentos son obtenidos de plantas y el 80% de la población en países en desarrollo utiliza medicina de fuentes vegetales (16).

La creciente demanda mundial de plantas medicinales, especias y las hierbas proporcionan una oportunidad no solo para el comercio sino también para los agricultores locales con la finalidad de mejorar sus ingresos al incluir estos cultivos en sus actividades agrícolas. La estructura del mercado global de hierbas y especias es competitiva (17). La obtención, purificación e investigación de sustancias naturales continúa siendo una preocupación de la ciencia que incluye la química, biología y farmacología por más de dos siglos por la alta potencialidad de compuestos bioactivos, como productos funcionales y nutraceúticos, que en su gran mayoría se encuentran en las regiones amazónicas.

1.2 Bases teóricas

1.2.1 Aspectos botánicos

El interés científico por el conocimiento de las especies vegetales, continúa siendo una necesidad impostergable debido a que la vida humana depende de las especies vegetales y, consecuentemente, la subsistencia del resto de los seres vivos, por ser ellas las únicas transformadoras de los compuestos inorgánicos en compuestos orgánicos, es decir, en alimento. El

estudio de las plantas continua en evolución siendo la botánica, la ciencia que se encarga de estudiar a las especies vegetales (18).

Maytenus macrocarpa (Celastraceae) es un árbol originario de la Amazonia. Sus raíces, hojas, corteza, y combinaciones de estos se utilizan en la medicina tradicional principalmente para tratar el reumatismo y, en cierta medida, en menor medida, para curar heridas y combatir la bronquitis y la diarrea. Hasta la fecha se aislaron principalmente triterpenos y sesquiterpenos de dihidro- β -agarofurano de *M. macrocarpa*. Extractos y puros seleccionados. Los compuestos aislados de las hojas, raíces y corteza del tallo mostraron propiedades antibacterianas, antivirales, antiparasitarias, actividades antiinflamatorias y citotóxicas *in vitro* (19).

1.2.2 Procesos de extracción de compuestos

La preparación de medicamentos a base de especies vegetales se dispone de varios métodos para extraer los principios activos contenidos en dicha matriz, los cuales necesitan de un líquido extractor que va a depender de la técnica y de la estructura del bioactivo. Los procesos de extracción pueden ser de sólido a líquido, de líquido a líquido, etc. El uso de un tipo de extracción conveniente no sólo influye en la precisión de los resultados, sino que también determina el tiempo total de análisis y de esta manera afecta a la muestra y al análisis. El proceso de extracción se puede clasificar en dos clases: técnicas convencionales y avanzadas (20). Para obtener la concentración adecuada de bioactivos de especies vegetales y que su acción sea efectiva es necesario realizar varios procedimientos, generalmente con solventes de grado alimenticio, seleccionados de acuerdo a la solubilidad y estabilidad de las sustancias a extraer (21).

Los aspectos clave que afectan el proceso de extracción incluyen las variables operativas que influyen en los rendimientos y las tasas, como el tipo de disolvente y la proporción de disolvente, el tiempo y la temperatura de extracción, pero también el acondicionamiento mecánico y térmico de la muestra antes de la extracción un paso esencial que debe optimizarse. La influencia de la preparación del material en el rendimiento de la extracción de ácido ursólico de hojas de *Paulownia fortune* fue confirmada por una reducción en el tiempo

requerido para alcanzar extracción máxima de 20 min con polvo convencional a 5 min con polvo ultramicro (22).

Se han descrito técnicas de extracción tradicionales, como la maceración, la extracción en Soxhlet y la extracción por reflujo térmico, principalmente para la extracción de ácido ursólico de frutas y medicamentos, y dependiendo de Se eligió la materia prima, el método y/o los solventes. Disolventes convencionales como agua, alcoholes inferiores y sus mezclas. con agua, acetona, dietiléter, cloroformo, hexano y etilo (22).

Las moléculas bioactivas se pueden extraer con diferentes disolventes orgánicos o una mezcla de solventes (23). Hay diferentes técnicas para realizar extracciones, y su selección también afecta la eficiencia del proceso. Las técnicas clásicas, como la maceración y la extracción Soxhlet, generalmente requiere largos periodos de extracción y grandes cantidades de disolvente. Sin embargo, varias técnicas alternativas, como la extracción asistida por microondas y la extracción asistida por ultrasonido. Las técnicas alternativas dan como resultado la reducción del tiempo de extracción, consumo de energía y cantidad de disolvente. utilizado, proporcionando un alto rendimiento de recuperación de extracto (24).

1.2.3 Técnicas de extracción

Existen varios métodos para la extracción de compuestos bioactivos, el factor más importante en su selección es el uso final de los compuestos extraídos. Otros factores que influyen en la calidad como en la cantidad de los compuestos extraídos son el método de extracción, el tipo de solvente, el tiempo y temperatura de extracción, la relación solvente / sólido y los tamaños de partículas basados en fluidos comprimidos como agentes de extracción como los fluidos supercríticos, fluidos presurizados o diferentes solventes (25).

Las técnicas de extracción han venido perfeccionándose con la finalidad de obtener sustancias activas cada vez más puras. Pero no han conseguido desplazar a las técnicas convencionales que continúan con importancia en la actualidad, debido a su inocuidad y reacciones con sustancias adversas (24). Con la finalidad de obtener una concentración adecuada de bioactivos que contienen las especies vegetales y que su acción sea efectiva es necesario realizar diferentes procedimientos, para extraer dichos metabolitos con solventes

adecuados y que se han seleccionado de acuerdo a características como la solubilidad y la estabilidad que poseen las sustancias bioactivas (27).

Los métodos tradicionales de extracción de taninos generalmente utilizan agua como solvente, lo que tiene muchas ventajas como la simplicidad del proceso, buena efectividad y amplia aplicabilidad. En la actualidad, la extracción industrial siempre se realiza mediante extracción con agua que contiene 1,5% – 2% de sulfito o bisulfito de sodio más 0,5% de bicarbonato de sodio. En general, la extracción de taninos se realiza en las partes de la planta que contienen más taninos que difiere de una especie a otra (por ejemplo, corteza, madera, hojas, semillas, etc.(28).

1.2.3.1 Extracción sólido-líquido

Este método de extracción está basado en el contacto entre un solvente y un material sólido. Durante el proceso de extracción, el solvente ingresa a través de la pared celular de la matriz vegetal que entra en contacto con la sustancia a extraer. Posteriormente, el compuesto es solubilizado y extraído. La extracción sólido-líquido es el método más simple y tradicional; varios tipos de téis son utilizados que incluyen solventes orgánicos, soluciones acuosos y agua (29).

1.2.3.2 Extracción ultrasonido

El mecanismo de extracción mediante esta técnica se basa en la formación, crecimiento y colapso de micro burbujas en el interior de una fase líquida sometida a cavitación ultrasónica (30). Las burbujas son estimuladas mediante ondas sonoras, con frecuencias superiores a 20 kHz, promoviendo vibraciones mecánicas en la matriz vegetal. Estas vibraciones pueden romper los tejidos de la pared celular y mejorar la penetración del solvente en la matriz y extraer alta cantidad de compuestos activos (31).

1.2.4 Extractos

Los extractos son concentrados de consistencia sólida, líquida o intermedia, derivados generalmente de material vegetal deshidratado, se obtienen al evaporar parcial o totalmente el disolvente de los líquidos extractivos (32).

1.2.5 Metodología de superficie de respuesta (MSR)

MSR es una herramienta estadística y matemática ampliamente utilizada para mejorar y optimizar procesos, en los que una o más variables dependientes están relacionados con varias variables independientes, llamados factores. Esta técnica permite al investigador obtener un modelo matemático, que sea capaz de describir el comportamiento del proceso (33). La MSR se basa en el ajuste de modelos matemáticos (lineales, cuadráticos y funciones cúbicas) de los resultados experimentales generados a partir del diseño de experimentos. La comprobación del modelo se realiza mediante análisis de varianza (Witek-Krowiak et al. 2014). Actualmente, existen diversos trabajos de investigación que reportan sobre el uso de MSR para la optimización del proceso de extracción de compuestos fenólicos de fuentes naturales (Deng et al. 2015; Ghitescu et al. 2015).

Esta técnica permite obtener un modelo matemático que sea capaz de representar el comportamiento del modelo (13). La MSR se basa en el ajuste de modelos matemáticos (lineal, cuadrático y funciones cúbicas y otras) a los resultados experimentales generados a partir del diseño del experimento, la verificación del modelo se muestra mediante el análisis de varianza (34). En reciente trabajo fue utilizado la MSR para optimizar el proceso de extracción de compuestos bioactivos de diversas fuentes vegetales (37 ; 38).

La MSR es una herramienta efectiva y un método estadístico útil para optimizar procesos reduciendo el número de experimentos (Kurunczi et al. 2008). La metodología esta dividida en tres etapas: (1) el diseño rotativo compuesto central (DRCC), (2) la respuesta modelada de la superficie a través de análisis de regresión, y (3) el factor del proceso de optimización empleando los modelos de superficie de respuesta.

Diferentes estudios utilizan MSR con la finalidad de definir las condiciones óptimas para la extracción. En reciente estudio se utilizó un diseño compuesto central rotacional que incluyen variables independientes como temperatura, pH, tiempo de extracción y relación solvente/harina. Teniendo como respuesta el rendimiento de proteína y un modelo de segundo orden obtenido para el rendimiento de proteína mostró un coeficiente de determinación de 96.7%. El rendimiento de proteína se vio afectado principalmente por el pH y la relación

solvente/harina. El rendimiento máximo se consiguió cuando la temperatura, el pH, el tiempo de mezcla y la relación solvente/harina fueron 31°C, 8.8, 20 min, 21: 1 (v/m), respectivamente. Estas condiciones mostraron como resultado 12.24 g de proteína/100 g de harina. La adecuación del modelo fue validada utilizando el modelo con valores óptimos. Estos resultados admiten diseñar el proceso de extracción de proteínas (40).

Las respuestas pueden ser afectadas por factores e interacciones seleccionadas inadecuadamente (41). La MSR proporciona información en el menor tiempo con la menor cantidad de experimentos. Además de analizar los efectos de las variables independientes, la MSR proporciona un modelo matemático que describe los procesos químicos o bioquímicos (42).

1.2.5 Metabolitos secundarios

El entorno de las especies vegetales es amenazado por factores del medio ambiente que incluyen ataques de patógenos (hongos, virus, insectos, nematodos) y condiciones físicas adversas (sequía, salinidad, temperatura, exposición a la radiación UV). Estas amenazas son reconocidas a través de sus receptores y sensores que activan sus respuestas de defensa para controlar estas tensiones. Las respuestas a estos factores son debido a la acumulación de metabolitos secundarios que aseguran la supervivencia, persistencia y competitividad de la planta. Los metabolitos secundarios son variados incluyen aceites esenciales, flavonoides, alcaloides, glucósidos, taninos, resinas, etc., que han sido utilizados como aditivos alimentarios, sabores y productos farmacéuticos de pueden escalar a nivel industrial. La producción y uso de metabolitos secundarios a través de la investigación podría tener importantes beneficios económicos para la industria alimentaria y farmacéutica (41).

Los metabolitos secundarios no solo juegan un papel vital en la defensa de las plantas contra su consumo y otras defensas entre especies, también son utilizados por humanos como medicinas, saborizantes, productos farmacéuticos, agroquímicos, fragancias, colores, bioplaguicidas, aditivos alimentarios y medicamentos. Muchas de las drogas que se venden hoy en día son simples modificaciones sintéticas de sustancias obtenidas de forma natural. El estado comercial en desarrollo de los metabolitos secundarios en los últimos años ha resultó en un gran interés en el metabolismo secundario. Se han estudiado

ampliamente diferentes estrategias con el objetivo de mejorar la producción de metabolitos secundarios en plantas. Basado en este centro de atención, el enfoque de la presente revisión es estudiar la aplicación de reguladores del crecimiento de las plantas para la producción de algunos metabolitos secundarios de la planta (44).

1.2.6 Aplicaciones medicinales

Los compuestos químicos producidos por las plantas se pueden clasificar en metabolitos primarios o secundarios. Mientras que los metabolitos primarios son ubicuos en las plantas, los metabolitos secundarios representan un mecanismo sofisticado para la adaptación a condiciones ambientales adversas. El uso de plantas medicinales por el hombre en el mundo contribuye significativamente y guía la investigación de compuestos biológicamente activos que pueden ser útiles en el combate contra diversas enfermedades. Debido a la gran variedad química y estructural que se encuentra en sus estructuras, fortalece a la etnofarmacología como una ciencia importante para la industria farmacéutica. Dentro de la diversidad de especies vegetales, se encuentra el género *Maytenus*, cuyas investigaciones ha evidenciado varias sustancias aisladas que son responsables de una gran variedad de actividades biológicas, entre las cuales citamos analgésicos y antiinflamatorios, para el tratamiento de enfermedades inflamatorias como como artritis reumatoide, gastritis, úlceras y trastornos gastrointestinales. El objetivo de este artículo de revisión es hacer un compendio del género *Maytenus* y sus compuestos químicos aislados, entre ellos la tingenona (45). Debido al uso medicinal de las especies *Maytenus* para el tratamiento de enfermedades inflamatorias, siendo de importancia investigar las propiedades farmacológicas de los compuestos químicos para definir y dilucidar su uso seguro. Esta es también la base para el desarrollo de nuevos productos a partir de especies vegetales, con el objetivo de dilucidar el mecanismo de acción y evidenciar la actividad biológica (45).

1.2.7 Taninos

Compuestos fenólicos, particularmente taninos y más particularmente las proantocianidinas y taninos hidrolizables. El término "taninos" es etimológicamente derivado de la antigua raíz léxica kelta "tann" que significa roble y se utilizó por primera vez en 1976 en curtiembres. Esta palabra también

se ha utilizado para designar la sustancia de origen vegetal capaz de transformar la piel fresca en cuero. En 1962, los taninos fueron definidos como compuestos fenólicos solubles en agua que tienen pesos moleculares entre 500 y 3000 Da, con propiedades que incluye la capacidad de precipitar alcaloides, gelatina y otras proteínas. Además, de las propiedades hidrosolubles y pesos moleculares ya definidos, los taninos también poseen unos 12–16 grupos fenólicos y 5-7 anillos aromáticos por 1000 Da de masa molecular. Dependiendo de la estructura del monómero, los taninos se dividen clásicamente en cuatro grupos: taninos condensados o las proantocianidinas (es decir, polímeros de la unidad de flavanol), el taninos hidrolizables (es decir, gallotaninos y elagitaninos), los taninos complejos (taninos compuestos de taninos hidrolizables restos y restos flavonoides), y los florotaninos encontrado en algas (oligómeros de la unidad de floriglucinol) (46).

Los taninos son polifenoles naturales solubles en agua presentes principalmente en plantas materiales, incluida la comida. Los taninos juegan un papel muy importante como materia prima para Industrias verdes sostenibles. Por lo tanto, se utilizan principalmente en diversos tipos de industrias como el cuero, los piensos, la pesca, las bebidas, etc. También encuentran aplicación como potenciales agentes medicinales, antioxidantes, quelantes de metales; y atender como inhibidores de enzimas prooxidativas nocivas y del proceso de peroxidación lipídica. Recientemente, varias propiedades importantes como antisépticos, anticancerígenos y antiinflamatorios de taninos han sido documentados en humanos que los hacen candidatos adecuados para la industria farmacéutica y nutracéutica. Debido a preocupaciones actuales relacionados con compuestos sintéticos utilizados en las industrias de salud humana y alimentos, que dejan efectos altamente adversos en el cuerpo humano y el medio ambiente, los taninos puede ofrecer una alternativa a estos productos químicos nocivos en las industrias emergentes recientes (47).

Los taninos son metabolitos secundarios que forman parte de plantas, frutas de alto valor económico e interés ecológico. También forman complejos con moléculas de proteínas insolubles en agua y alcaloides. El sabor astringente de frutas y verduras es debido a su presencia, que provoca precipitación de las proteínas de la saliva (48).

Los taninos se encuentran en la mayoría de las especies de todo el reino vegetal, donde sus funciones son proteger a la planta contra la depredación y podría ayudar a regular el crecimiento de la planta. Hay dos grupos principales de taninos: los taninos hidrolizables y los condensados. Los taninos se utilizan como productos químicos importantes y eficaces para el curtido de pieles de animales en la industria del procesamiento del cuero desde el inicio de la industria. Además, los taninos se han utilizado con fines de absorción de minerales y precipitación de proteínas desde la década de 1960. Los taninos son considerados compuestos bioactivos en la ciencia de la nutrición. La aplicación de los taninos como medicina es otra nueva dimensión de la ciencia médica (49).

1.3 Definición de términos básicos

1.3.1 Procesos de extracción

El proceso de extracción es una técnica de separación utilizada en la industria alimentaria. Es esencialmente el proceso de mover uno o más compuestos de interés (analitos) desde una fase o su ubicación original (generalmente denominada muestra o matriz) a otra fase o ubicación físicamente separada donde se produce un procesamiento y análisis adicionales (50). La extracción puede ser de sólido a líquido, de líquido a líquido, etc. El uso de un tipo conveniente de extracción no sólo influye en la precisión de los resultados, sino que también determina el tiempo total de análisis y de esta manera afecta a la muestra y al análisis. El proceso de extracción se puede clasificar en dos clases: técnicas convencionales y avanzadas (20).

1.3.2 Metodología de superficie de respuesta

La MSR es una herramienta estadística utilizada para hacer un diseño de experimentos, que facilite el procesamiento de información en menor tiempo a bajo costo. El principio fundamental de la MSR es relacionar las propiedades de un producto con la ecuación de regresión que evidencia las interrelaciones entre los variables de entrada y las propiedades del producto (51).

1.3.3 Antioxidantes

Los antioxidantes son moléculas con capacidad de controlar o prevenir la oxidación de otras moléculas que aportan beneficios para la salud de los consumidores. Diferentes estudios fueron realizados con relación a los radicales

libres, el estrés oxidativo y la actividad antioxidante de los compuestos presentes en los alimentos, dando a los antioxidantes un rol beneficioso prominente contra el envejecimiento y antiinflamación (52).

1.3.4 Polifenoles

Los polifenoles son reconocidos como los más abundantes antioxidantes en nuestra dieta, tienen una amplia gama de características que proporcionan salud, por lo tanto, tienen potencial de uso como alimento funcional para mejorar la salud humana (53).

1.3.5 DPPH

La molécula 1,1-difenil-2-picril-hidrazilo (DPPH) es conocida como un radical libre estable debido a la deslocalización de un electrón desapareado sobre la molécula, por lo cual la molécula no se dimeriza, como es el caso de la mayoría de los radicales libres. La molécula DPPH es un radical libre establecido debido a la deslocalización de un electrón desapareado sobre la estructura de la molécula, por lo cual la molécula no se dimeriza, como es el comportamiento de la mayoría de los radicales libres (54).

1.3.6 ABTS

La generación del radical $ABTS^{\bullet+}$ constituye la base de uno de los métodos espectro métricos que han sido aplicados para medir la actividad antioxidante de soluciones o sustancias puras y mezclas acuosas. El radical ABTS constituye la base de uno de los métodos espectrométricos que han sido aplicados para medir la actividad antioxidante total de soluciones o sustancias puras y mezclas acuosas. El método de ABTS está basado en la activación de la metilmioglobina con peróxido de hidrógeno en presencia de $ABTS^+$ para producir un radical catión, en presencia o ausencia de antioxidantes. El análisis consiste en la decoloración, mediante el cual el radical es generado directamente en una forma estable antes de la reacción con los antioxidantes (55).

CAPITULO II: HIPÓTESIS Y VARIABLES

2.1 Formulación de la hipótesis

Los extractos de la corteza y hojas de chuchuhuasi (*Maytenus amazónica*) contiene metabolitos secundarios que podrían actuar como antioxidantes.

2.2 Variables y su operacionalización

2.2.1 Variables independientes

- Tiempo de extracción (días)
- Solventes (Etanol y Agua)

2.2.2 Variables dependientes

Rendimiento de extracción (%)

Fenoles totales

Capacidad antioxidante (ABTS, DPPH)

2.2.3

Operacionalización de variables

Variable	Definición	Tipo por su naturaleza	Indicador	Escala de medición	Categorías	Valores de las categorías	Medio de verificación
Independiente							
Tiempo de extracción	Magnitud física con la que se mide la duración de acontecimientos	Cuantitativa	Tiempo	Intervalo	Bajo	3 días	Cuaderno de apuntes
					Medio	5 días	
					Alto	7 días	
Solvente	Componente que se encuentra disponible en mayor proporción y generalmente líquido, por ejemplo, el agua.	Cuantitativa	Volumen	Razón	Solvente polar	0, 0.1, 0.5, 0.9 y 1.0	Cuaderno de apuntes
Dependiente							
Rendimiento de extracción	El rendimiento es la cantidad porcentual que se obtiene como producto de un proceso de extracción	Cuantitativa	Porcentual	Razón	Peso del extracto	Porcentaje	Reporte de análisis
Metabolitos	Análisis de compuestos fenólicos	Cuantitativa	Concentración de ácidos gálicos	Razón	Fenoles totales	mg EGA/100 g	Reporte de análisis
Capacidad antioxidante	Es el potencial de una sustancia para inhibir o dificultar el proceso de oxidación de un sustrato.	Cuantitativa	µg/mL	Razón	DPPH	µmol ET/ 100 g	Reporte de análisis
					ABTS		

CAPITULO III:

METODOLOGÍA

Los materiales utilizados en el presente trabajo incluyen la corteza y hojas de chuchuhuasi (*Maytenus amazónica*) fueron recolectadas del jardín botánico del IMET (Georeferencia 18M 0691848-9583706. Altitud 101 msnm). Los ensayos experimentales fueron realizados en el Laboratorio de Investigación de Control de Calidad del CIRNA, ubicado en el distrito de San Juan Bautista y en el Laboratorio de Ingeniería de Alimentos de la planta piloto de la Facultad de Industrias Alimentarias de la Universidad Nacional de la Amazonía Peruana, ubicada en el distrito de Iquitos, provincia de Maynas.

3.1 Material, reactivos, insumos químicos y equipos

3.1.1 Material, reactivos e insumos químicos

Corteza y hojas de Chuchuhuasi (*Maytenus amazónica*, IMET, Iquitos, Perú), etanol absoluto (lote K47446683 604, Merck Peruana S.A., Lima, Perú), ácido clorhídrico (lote: K476888817 611, Merck Peruana S.A., Lima, Perú), ácido sulfúrico (lote: K47246131 545, Merck Peruana S.A., Lima, Perú), cloroformo (lote: K51260745 911, Merck Peruana S.A., Lima, Perú), hidróxido de sodio (lote: K47498778, Merck Peruana S.A., Lima, Perú), metanol (lote: I821009608, Merck Peruana S.A., Lima, Perú). Agua ultra pura y agua destilada, los demás reactivos utilizados son de grado analítico.

3.1.2 Equipos

- Equipo Agitador magnético (VELP CIENTIFICA, MOD. ARE, CODIGO: F20500162, ITALIA).
- Equipo Potenciómetro (IWAUKCE, MOD. CODIGO: F0042163, USA).
- Equipo Homogenizador Ultra Turrax (IKA-WERKE, MOD. T25 DIGITAL, CODIGO: 03289027, GERMANY).
- Equipo Balanza Analítica (OHUAS, MOD. AX324, CODIGO: B734566620, USA).
- Vortex (Mini Shake) (IKA, MOD. MSI Mini Shaker CODIGO: 05-011148, GERMANY).

- Equipo Destilador de Nitrógeno (GESSELLSEHA, MOD. GLF, CODIGO: 11993916, GERMANY)
- Equipo Mufra (NABERTHERM, MOD.MORE THAN HEAT 30-3000°C, CODIGO: 67228077-0015, GERMANY)
- Equipo Centrífuga (HETTICH MOD. 320R, CODIGO: 0004500-02, HOLANDA)
- Equipo Microscópio Óptico (ZEISS, MOD. CARL ZEISS, CODIGO: 3150001630, GERMANY).
- Equipo Estufa (MEMMERT, LOADING MODELS 30-750, CODIGO: E24 899).
- Equipo Baño María (MARCONI, MOD. MA184, CODIGO: 91510539, ITALY).
- Equipo Congelador (COLDEX, MOD. CH10P, CODIGO: 01610791102, PERÚ).
- Equipo Refrigerador (Marca MONTERO, MOD. ND, CODIGO: ND).
- Tamiz (MOD. TEST SIEVE, CODIGO: 7061974).
- Equipo Secador de Spray para Planta Piloto (Modelo: SD-Basic Laboratory Scale Spray Dryer, Serie: SDB1117158).

3.2 Tipo de estudio

El estudio desarrollado es de tipo experimental, utilizando metodología de superficie de respuesta con diseño compuesto central rotacional (DCCR).

3.3 Diseño metodológico

La extracción de compuestos de una matriz vegetal natural convencionalmente es realizada por métodos empíricos donde no se ha llevado a cabo la optimización del proceso. En estas condiciones, para la optimización del proceso de extracción de compuestos, el diseño experimental fue completamente aleatorizado, considerando como variable el tiempo y los solventes (Etanol / agua) y, como respuestas el rendimiento, fenoles totales y capacidad antioxidante.

3.4 Diseño experimental

RSM se utilizó para optimizar la extracción de extracto de corteza y hojas de chuchuhuasi. Un diseño compuesto central rotacional con dos factores. Se

utilizaron variables independientes: tiempo (X_1) y concentración de etanol (X_2) El diseño RSM preliminar utilizado fue con el rango de temperatura: 3 – 7 días, sobre las respuestas: rendimiento de extracción (RE), fenoles totales (FT) y capacidad antioxidante (DPPH y ABTS), lo cual dio como resultado un diseño experimental de 13 puntos experimentales, incluyendo cinco puntos centrales.

Los valores codificados de las variables independientes y el diseño del test esta resumido en la Tabla 1. La ecuación polinomial de segundo orden será:

$$Y_i = a_0 + a_1X_1 + a_2X_2 + a_{11}X_1^2 + a_{22}X_2^2 + a_{12}X_1X_2$$

Donde:

Y_i ($i = 1-2$) es la respuesta prevista para el rendimiento, fenoles totales y capacidad antioxidante. El a_0 es la respuesta ajustada en el punto central; a_1 y a_2 son términos lineales; a_{12} es el efecto de interacción, a_{11} y a_{22} son efectos cuadrados. X_1 y X_2 son las variables independientes.

Tabla 1: Factores analíticos y niveles para MSR .

	-1.41	-1	0	+1	+1.41
X_1 (Tiempo (días))	3.0	3.6	5.0 0	6.4	7.0
X_2 (Solvente (Etanol))	0.0	0.1	0.5	0.9	1.0

Tabla 2: Planeamiento experimental.

Tratamiento	Variables		Rendimiento	Fenoles Totales	ABTS	DPPH
	X_1	X_2				
1	-1	-1				
2	+1	-1				
3	-1	+1				
4	+1	+1				
5	-1.41	0				
6	1.41	0				
7	0	-1.41				

8	0	1.41				
9	0	0				
10	0	0				
11	0	0				
12	0	0				
13	0	0				

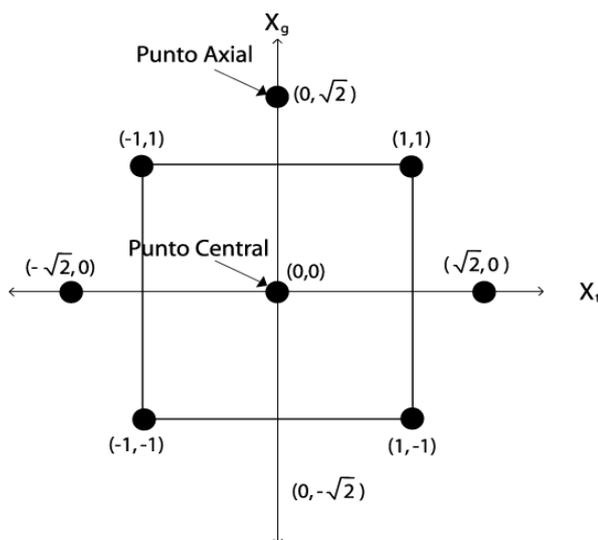


Figura 1: Diseño compuesto central rotacional.

3.5 Población

Los árboles de Chuchuhuasi (*Maytenus amazónica*) del jardín botánico del IMET (Georeferencia 18M 0691848-9583706. Altitud 101 msnm).

3.6 Tamaño de muestra

La corteza y hojas de chuchuhuasi (*Maytenus amazónica*) será proporcionada por el IMET (Georeferencia 18M 0691848-9583706. Alt. 101 msnm).

3.7 Procedimiento de recolección de datos

La investigación fue desarrollada en las siguientes etapas: recolección, caracterización, optimización de la obtención de extractos y evaluación de la capacidad antioxidante de los extractos.

3.7.1 Obtención de las materias primas (corteza y hojas)

Corteza y hojas. La obtención de la corteza fue recolectada del jardín botánico del IMET.

Limpieza. Las impurezas del material a utilizar fueron retiradas manualmente, y mantenidos a temperatura ambiente.

Cortado. Las matrices fueron cortadas en partículas con un diámetro aproximado de 0.5 cm.

Pesado. La cantidad de material utilizado por experimento fue de 148 g de materia seca y colocados en frasco de plástico de 300 ml.

Macerado. La combinación de la materia seca de 148 g y 250 ml de solvente por un tiempo de 3 a 7 días.

Filtrado. El filtrado se realizó con la ayuda de un tamiz de 125 μm donde solo rescatamos el líquido del filtrado y se colocó en vaso precipitado de 200ml.

Eliminación de solvente. La eliminación de la sustancia de interés se realizó en equipo rotavapor a una temperatura de 60°C de 10 a 25 rpm y el extracto obtenido se colocó en las placas Petri.

Desección. Fue realizado utilizando la estufa a una temperatura de 40°C por un tiempo entre 24 a 72 horas.

Envasado. Posterior al secado en estufa las placas Petri fueron colocados en una campana de desecación, luego de 30 minutos se extrajo con espátula y depositados en viales (frasquitos de vidrio de 10ml).

Almacenado. La conservación fue realizado a temperatura de refrigeración ($\approx 5^\circ\text{C}$).

3.7.2 Obtención de los extractos de materiales de chuchuhuasi (*Maytenus amazónica*).

La extracción de los sustratos fue realizada de acuerdo con la metodología descrito por Mailoa et al. (29) con algunas modificaciones, utilizando etanol y agua como solventes, mantenido a temperatura ambiente para disminuir humedad, posterior se descartaron las impurezas, la corteza fue dividida en partículas de aproximadamente 1 cm diámetro, luego se adicionó 148 g de corteza deshidrata para macerar considerando el tiempo y la combinación de

solventes (etanol, agua), posterior del filtrado, el exceso de solvente se eliminó en rotavapor (marca BUCHI, Alemania), los extractos obtenidos se depositaron en placas de Petri y fueron colocados en estufa con circulación de aire previamente pesados y que por diferencia de peso fue determinado el extracto resultante. El material estudiado fue caracterizado con relación a humedad y ceniza de acuerdo con la metodología descrita por la *Association of Official Analytical Chemistry* (56).

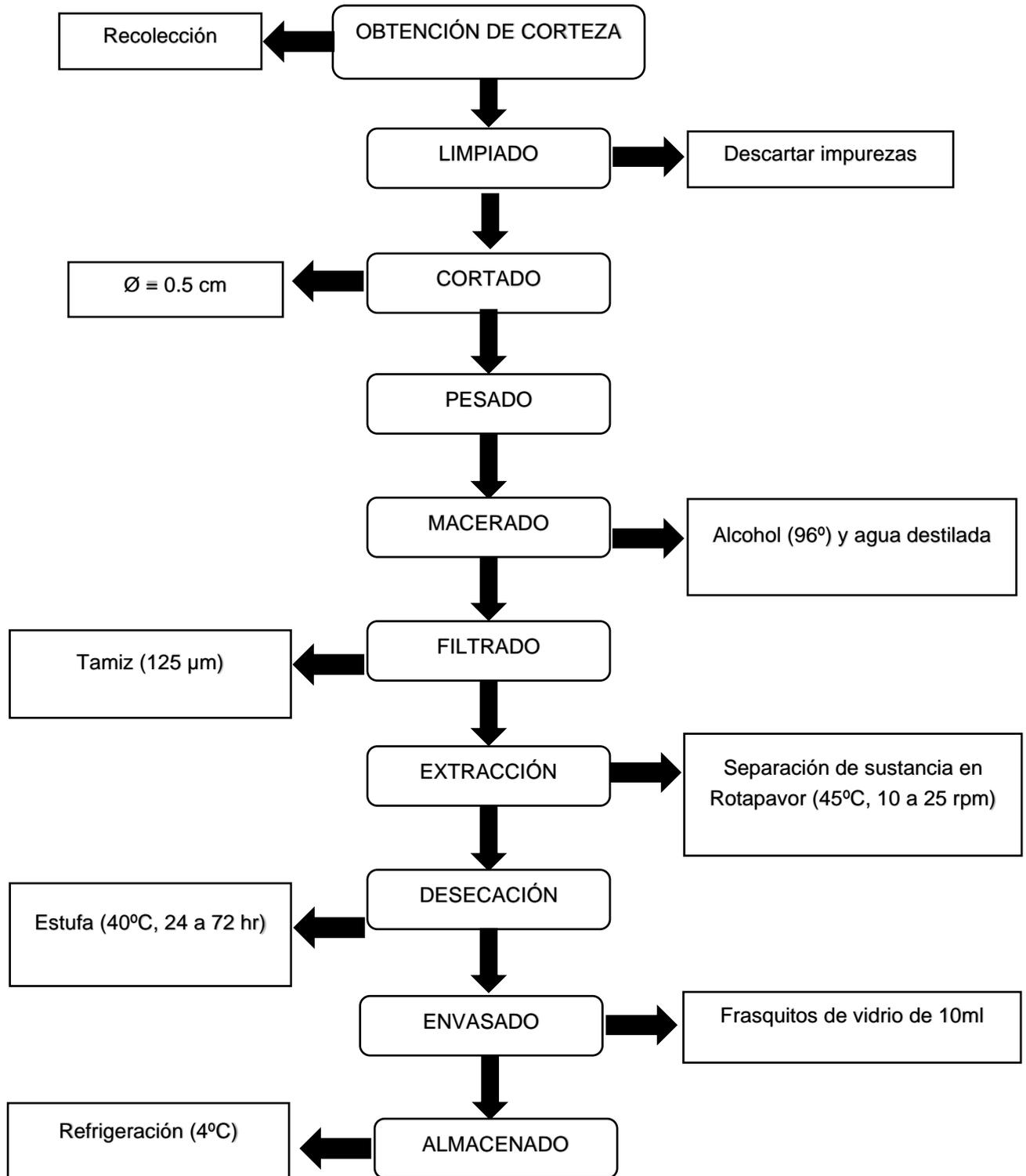


Figura 2: Flujograma para la obtención del extracto de partes chuchuhuasi.

3.7.3 Procedimiento del estudio

La investigación incluye los siguientes aspectos: recolección, extracción y ensayos analíticos,

3.7.4 Determinaciones analíticas

3.7.4.1 Caracterización de materiales

Los materiales utilizados en el estudio fueron caracterizados con la finalidad de determinar el contenido de humedad y cenizas de acuerdo con la metodología descrita por la *Association of Official Analytical Chemistry* (AOAC 2012). Para determinación de humedad y cenizas de la corteza y hojas fue utilizada estufa a 105 °C por 6 horas y mufla a temperatura de 600 °C por 6 horas respectivamente.

3.7.4.2 Determinación de capacidad antioxidante por ABTS

El ensayo ABTS fue realizado de acuerdo con la metodología descrita por Re *et al.* (55) y modificada por de Camargo *et al.* (2015). Inicialmente fue preparado el stock ABTS, con 0.0384g = 38.4mg de ABTS y 0.00662g = 6.62mg de persulfato de potasio 2.45mM y solubilizado por separado. Las soluciones fueron mezcladas y colocadas en matraz volumétrico de 10 mL., las mezclas se mantuvieron en ambiente sin luz por 16 horas a una temperatura de 25 °C para la liberación de radicales del ABTS.

3.7.4.3 Determinación de fenoles totales (FT)

La cuantificación de FT fue realizado de acuerdo con la metodología descrita por Singleton, Orthofer y Lamuela-Raventós (58) con modificaciones, utilizando el reactivo de Folin-Ciocalteu en medio básico. Fue preparado 10 ml de carbonato de sodio al 20% (p/v), pesado 2 gramos de carbonato de sodio y diluido con 10 ml de agua destilada caliente para una mejor dilución de 10 ml de ácido Gálico (concentración de 0,1 mg/ml).

Los extractos diluidos de la muestra (200 μ L) fueron colocaron en tubos de ensayo, fue adicionado 1500 μ L de agua destilada y 100 μ L de reactivo de Folin-Ciocalteu, fue homogenizado en vortex con reposo de 5 minutos. Posterior adicionamos 200 μ L de NaCO_3 al 20% para adicionar a los tubos de las muestras, agitamos cada solución y dejamos reposar por 30 minutos en ambiente con ausencia de luz. El blanco fue preparado con igual procedimiento utilizado para el extracto. Finalizado el tiempo de espera, las lecturas de las muestras fueron realizadas, las absorbancias fueron medidas a 765 nm.

3.7.4.4 Determinación de la capacidad antioxidante por DPPH

La capacidad antioxidante fue determinada utilizando el método DPPH de acuerdo con la metodología descrita por Brand-Williams, Cuvelier, & Berset (59). La solución DPPH, fue realizada pesando 0.00985g de DPPH y diluido en 50 mL de etanol. El blanco fue preparado (3.5 ml de etanol + 300 μ l) con lectura inmediata a 515 nm. Con esta solución se obtuvo absorbancia igual a 0.8.

Fue preparado una solución con el radical DPPH más etanol y leídas a 515 nm en espectrofotómetro (UV-VIS Genesys™ 10 Bio, THERMO) fue realizado la comprobación del valor de absorbancia de 0.800 ± 0.02 . Una vez conseguido en radical DPPH, 500 μ L de los extractos se adiciono a tubos de ensayo, con posterior adición de 300 μ L de solución del radical DPPH • y 3 ml de etanol, la solución fue agitada y dejada en ausencia de luz por 45 minutos, cumplido el tiempo, se realizaron las lecturas a 515 nm.

3.8 Procesamiento y análisis de datos

Los resultados encontrados fueron evaluados por análisis de varianza (ANOVA). Los promedios fueron comparados utilizando el programa SAS a través test de Tukey.

3.9 Aspectos éticos

La información obtenida durante el desarrollo de la investigación emana de fuentes confiables, considerando la debida confidencialidad. Uso adecuado de la materia prima con ausencia de uso para manipulación genética.

CAPÍTULO IV: RESULTADOS

4.1 Caracterización de los materiales

La corteza y hojas de chuchuhuasi (*Maytenus amazónica*) fue recolectada del jardín botánico del IMET (Georeferencia 18M 0691848-9583706. Altitud 101 msnm). Los resultados de humedad y ceniza de la corteza y hojas de chuchuhuasi se muestran en la Tabla 3.

Tabla 3: Composición centesimal de materiales de estudio de chuchuhuasi (*Maytenus amazónica*).

Material	Composición centesimal (%)	
	Humedad	Ceniza
Corteza	40.72±1.74 ^b	4.40±0.16 ^a
Hojas	54.70±2.24 ^a	2.29±0.07 ^b

Promedio ± desvío estadístico (n=3)

Letras diferentes en la misma columna revelan diferencia entre los tratamientos (p<0.05), conseguida a través de la prueba de Tukey.

La Tabla 3 muestra los resultados de la caracterización de la corteza y las hojas. Alto contenido de humedad fue observado en las hojas cuando comparada con la corteza, con relación al contenido de ceniza se observa mayor contenido en la corteza equivalente a 4.40±0.16. Resultados diferentes fueron determinados con relación al contenido de agua para hojas y corteza en estudio de Pérez-Portero et al. (60), 62.86% y 60.53%, respectivamente.

4.2 Optimización de las condiciones de extracción de compuestos

Para obtener alto porcentaje de extractos, se utilizó la optimización conjunta de la variable de mayor influencia utilizando el diseño de Box-Bhenken (BBD) combinado con la metodología de superficie de respuesta (MSR). La Tabla 4 muestra la descripción de las variables de los experimentos, incluyendo variables fijas, variables independientes (tiempo y solvente) y dependientes (rendimiento de extracción, fenoles, ABTS y DPPH). Para este estudio se optó como solvente el etanol por aspectos prácticos como costo, no toxicidad y capacidad de extracción (61).

Tabla 4: Variables experimentales utilizadas en el estudio.

Variables	Definición y unidades	Nomenclatura	Valor o rango
Fijas	Relación de extracción de líquido a sólido (v/m)	RLS	5 mL/g
Independiente	Temperatura de extracción (°C)	T _E	TA
	Tiempo de extracción (días)	t _E	3 - 7 días
Dependiente	Concentración de etanol (% v/v)	EtOH	0 - 100 %
	Redimiento de extracción (%)	RE o y ₁	
	Contenido fenoles totales (mg GAE/gr de corteza y hojas seca)	FT o y ₂	
	ABTS actividad captadora de radicales cationicos (mg TE/g corteza y hojas seca)	ABTS o y ₃	
	DPPH actividad captadora de radicales (mg TE/g corteza y hojas seca)	DPPH o y ₄	

4.3 Resultados experimentales optimizados

Para la obtención de los resultados experimentales, se utilizó la optimización conjunta de la variable de mayor influencia utilizando diseño Box-Bhenken (DBB) combinado con MSR.

4.3.1 Ensayos experimentales de extracción de la corteza y hojas de chuchuhuasi (*Maytenus amazónica*)

Los ensayos experimentales para obtener alto rendimiento de extracción fueron utilizados un diseño experimental, eligiendo como variables independientes el tiempo de extracción y el solvente. Un DCCR conteniendo 4 factoriales, 4 experimentos en condiciones axiales y 5 puntos centrales de repeticiones, totalizando 13 experimentos. Las Tablas 5 y 6, muestran los experimentos. Las variables respuestas consideradas fueron el rendimiento de extracción (RE), fenoles totales y la capacidad antioxidante. Para las gráficas de las variables se utilizó la MSR y el modelo Box-Behnken, además del programa Statistica Software Versión 6.0. Con la ayuda del ANOVA se evaluó las posibles interacciones entre los factores y se determinaron los valores óptimos por el análisis de superficie de respuesta que maximicen el proceso de extracción.

Se utilizan varias técnicas para realizar la extracción, siendo la maceración la técnica de mayor uso. La mayoría de los métodos de extracción

implican extracción sólida – líquido. Entre estos métodos, la extracción por solvente es la más utilizada.

Tabla 5: Condiciones operativas ensayadas y resultados experimentales de extracto de corteza de chuchuhuasi (*Maytenus amazónica*).

Tratamientos	Tiempo (X ₁)	EtOH:H ₂ O (X ₂)	Rendimiento (%)	Fenoles Totales (mg A.G./g M.S.)	ABTS (μmol/TROLOX/g M.S.)	DPPH (μmol/TROLOX/g M.S.)
1	3.60 (-1)	0.10 (-1)	6.65±0.11 ^c	61.86±0.53 ^e	121.02±0.83 ^a	15.98±0.06 ^{cb}
2	3.60 (-1)	0.90 (1)	8.68±0.84 ^b	73.77±0.38 ^a	116.62±2.32 ^b	22.90±0.58 ^a
3	6.40 (1)	0.10 (-1)	6.36±0.42 ^c	55.22±0.98 ^f	112.30±0.41 ^c	21.97±0.60 ^a
4	6.40 (1)	0.90 (1)	9.69±0.58 ^b	70.90±0.70 ^{bdc}	122.37±1.08 ^a	17.94±0.32 ^b
5	3.00 (-1.41)	0.50 (0)	9.12±0.85 ^b	72.66±0.70 ^{bac}	105.53±1.30 ^d	9.25±1.53 ^e
6	7.00 (1.41)	0.50 (0)	11.73±0.07 ^a	70.77±0.50 ^{bdc}	100.64±1.30 ^e	10.98±3.49 ^{ed}
7	5.00 (0)	0.00 (-1.41)	6.05±0.41 ^c	40.32±0.78 ^g	118.73±1.52 ^{bc}	14.42±0.07 ^{cd}
8	5.00 (0)	1.00 (1.41)	13.01±0.08 ^a	72.97±0.98 ^{ba}	121.03±1.83 ^a	24.52±0.78 ^a
9	5.00 (0)	0.50 (0)	11.91±0.90 ^a	71.82±0.79 ^{bac}	104.75±1.27 ^d	10.37±0.51 ^e
10	5.00 (0)	0.50 (0)	12.01±0.46 ^a	69.15±0.66 ^d	105.43±1.57 ^d	9.81±0.22 ^e
11	5.00 (0)	0.50 (0)	12.25±0.69 ^a	69.15±0.61 ^d	106.33±0.62 ^d	10.24±0.39 ^e
12	5.00 (0)	0.50 (0)	12.35±0.35 ^a	70.78±0.79 ^{dc}	106.55±0.41 ^d	10.09±0.53 ^e
13	5.00 (0)	0.50 (0)	12.68±0.23 ^a	71.40±0.90 ^{bc}	106.36±0.68 ^d	9.67±0.34 ^e

Los análisis se realizaron por triplicado y los resultados se expresan como Promedio ± desvío estadístico (n = 3). Letras diferentes en la misma columna revelan diferencia entre los tratamientos (p<0.05), obtenido a través de la prueba de Tukey.

La Tabla 5 muestra los resultados de los tratamientos para corteza con relación a rendimiento, fenoles totales, ABTS y DPPH, donde los diferentes superíndices indican diferencias significativas obtenida a través de la prueba Tukey.

En la que es evidente el contenido de fenoles totales con un mínimo de 50.50±0.23 y un máximo de 71.82±0.79. Con relación al ensayo de ABTS es alto con un mínimo de 104.75±1.27 y un máximo de 122.37±1.08. Por otro lado, el valor mínimo y máximo de DPPH de 9.25 ±1.53 y 24.52±0.78.

Tabla 6: Condiciones operativas ensayadas y resultados experimentales de hojas de chuchuhuasi (*Maytenus amazónica*).

Tratamientos	Tiempo (X ₁)	EtOH:H ₂ O (X ₂)	Rendimiento (%)	Fenoles Totales (mg A.G./g M.S.)	ABTS (μmol/TROLOX/g M.S.)	DPPH (μmol/TROLOX/g M.S.)
1	3.60 (-1)	0.10 (-1)	2.49±0.08 ^{bc}	58.74±0.54 ^d	110.42±5.45 ^{ab}	12.06±1.17 ^b
2	3.60 (-1)	0.90 (1)	1.59±0.22 ^c	68.13±0.62 ^{ba}	90.8±1.56 ^{ba}	20.69±1.87 ^a
3	6.40 (1)	0.10 (-1)	2.51±0.14 ^{bc}	38.62±0.90 ^e	112.95±3.5 ^{ba}	20.57±1.22 ^a
4	6.40 (1)	0.90 (1)	1.88±0.48 ^{bc}	68.88±0.84 ^a	103.70±4.52 ^{ba}	16.02±2.35 ^b
5	3.00 (-1.41)	0.50 (0)	2.76±0.43 ^{bac}	67.17±0.48 ^{bac}	89.99±5.68 ^b	7.41±2.20 ^c
6	7.00 (1.41)	0.50 (0)	2.66±0.61 ^{bac}	66.10±0.73 ^c	102.75±2.9 ^{ba}	9.83±1.74 ^c
7	5.00 (0)	0.00 (-1.41)	2.79±0.38 ^{bac}	39.22±0.72 ^e	117.89±5.08 ^a	14.86±0.1 ^b
8	5.00 (0)	1.00 (1.41)	2.98±0.70 ^{ba}	66.78±0.66 ^{bc}	99.88±2.66 ^{ba}	23.37±2.07 ^a
9	5.00 (0)	0.50 (0)	2.42±0.51 ^{bc}	67.53±0.43 ^{bac}	101.34±4.20 ^{ba}	9.95±1.08 ^c
10	5.00 (0)	0.50 (0)	3.98±0.65 ^a	65.78±0.36 ^c	102.81±4.88 ^{ba}	7.00±2.18 ^c
11	5.00 (0)	0.50 (0)	2.81±0.42 ^{bac}	66.90±0.96 ^{bac}	99.55±5.17 ^{ba}	7.45±1.49 ^c
12	5.00 (0)	0.50 (0)	2.68±0.59 ^{bac}	68.49±0.43 ^{ba}	99.11±3.80 ^{ba}	8.99±1.33 ^c
13	5.00 (0)	0.50 (0)	2.81±0.37 ^{bac}	68.33±0.25 ^{ba}	101.91±5.76 ^{ba}	7.99±1.48 ^c

Los análisis se realizaron por triplicado y los resultados se expresan como Promedio ± desvío estadístico (n = 3). Letras diferentes en la misma columna indican diferencia entre los tratamientos (p<0.05), obtenido a través de la prueba de Tukey.

La Tabla 6 muestra los resultados de los ensayos experimentales en hojas que incluyen el rendimiento de extracción, fenoles totales, ABTS y DPPH, es posible observar diferentes superíndices en los valores de las respuestas, donde los diferentes superíndices indican diferencias significativas obtenida a través de la prueba Tukey.

4.3.2 Optimización de la extracción de compuestos de la corteza y hojas de chuchuhuasi (*Maytenus amazónica*).

La Tabla 7 muestra los resultados de la extracción de compuestos de la corteza y hojas de chuchuhuasi, en la que es posible observar mayor cantidad de extracto para la corteza cuando comparado con los resultados del extracto de las hojas.

Tabla 7: Rendimiento de los extractos de la corteza y hojas de chuchuhuasi (*Maytenus amazónica*) con variación de tiempo (T) y solvente (S).

Tratamientos	Tiempo (X ₁)	Solvente (X ₂)	Rendimiento	
			Corteza	Hojas
1	3.60 (-1)	0.10 (-1)	6.65±0.11 ^c	2.49±0.08 ^{bc}
2	3.60 (-1)	0.90 (1)	8.68±0.84 ^b	1.59±0.22 ^c
3	6.40 (1)	0.10 (-1)	6.36±0.42 ^c	2.51±0.14 ^{bc}
4	6.40 (1)	0.90 (1)	9.69±0.58 ^b	1.88±0.48 ^{bc}
5	3.00 (-1.41)	0.50 (0)	9.12±0.85 ^b	2.76±0.43 ^{bac}
6	7.00 (1.41)	0.50 (0)	11.73±0.07 ^a	2.66±0.61 ^{bac}
7	5.00 (0)	0.00 (-1.41)	6.05±0.41 ^c	2.79±0.38 ^{bac}
8	5.00 (0)	1.00 (1.41)	13.01±0.08 ^a	2.98±0.70 ^{ba}
9	5.00 (0)	0.50 (0)	11.91±0.90 ^a	2.42±0.51 ^{bc}
10	5.00 (0)	0.50 (0)	12.01±0.46 ^a	3.98±0.65 ^a
11	5.00 (0)	0.50 (0)	12.25±0.69 ^a	2.81±0.42 ^{bac}
12	5.00 (0)	0.50 (0)	12.35±0.35 ^a	2.68±0.59 ^{bac}
13	5.00 (0)	0.50 (0)	12.68±0.23 ^a	2.81±0.37 ^{bac}

Nota: Las variables independientes corresponden a los valores reales. Los valores entre paréntesis corresponden a los valores codificados. T: tiempo (días); S: ratio de solvente (Etanol: H₂O).

El rendimiento de extracción permitió determinar las cantidades extraídas en los diferentes tratamientos, los valores de 13.01±0.08 y 6.36±0.41 corresponde al porcentaje de extracto de la corteza y los valores de 3.98±0.62 y 1.59±0.22 corresponde al porcentaje de extracto de las hojas. Al comparar los valores de rendimiento de la corteza y hojas se observa que las hojas presentan menores valores lo que puede ser debido a menor concentración de compuestos presentes en la hoja.

4.3.3 Selección del modelo apropiado para el rendimiento de extractos de corteza y hojas de chuchuhuasi

La Tabla 7 muestra los resultados de rendimiento de los extractos de la corteza de chuchuhuasi (*Maytenus amazónica*) obtenido con variación de condiciones de tiempo (T) y solvente (S), utilizando programa estadístico, en la se obtuvo valores de R^2 y suma de cuadrados del error que permitieron elegir el modelo adecuado para predecir los rendimientos de los extractos de la corteza.

Los modelos obtenidos fueron: 1. Términos lineales de los efectos principales; 2. Términos lineales y cuadráticos de los efectos principales; 3. Términos lineales de los efectos principales y las interacciones de 2^{do} orden; 4. Términos lineales y cuadráticos de los efectos principales y las interacciones de 2^{do} orden. Fijamos que el modelo que correlaciona mejor los datos experimentales de rendimiento de extracción fue el modelo de 2^{do} orden “Modelos de términos lineales y cuadráticos de los efectos principales y las interacciones de 2^{do} orden”.

Tabla 8: Modelo de análisis para el rendimiento de los extractos de la corteza.

S	R-Cuadrado	R-Cuadrado (ajustado)	R-Cuadrado (pred)
1.13257	80.77%	78.50%	72.99%

Fuente: Statistica 12

El valor de R^2 del modelo elegido para predecir los rendimientos para los extractos de la corteza de chuchuhuasi ($R^2=0.8077$), admite interpretar los resultados mediante el gráfico de superficie de respuesta (Figura 4) y contorno (Figura 5). Donde la región de color verde representa la combinación de tiempo (T) y solvente (S) para obtener el mayor rendimiento en la muestra de los extractos de la corteza de chuchuhuasi.

Gráfica de superficie de Rendimiento vs. Solvente; Tiempo

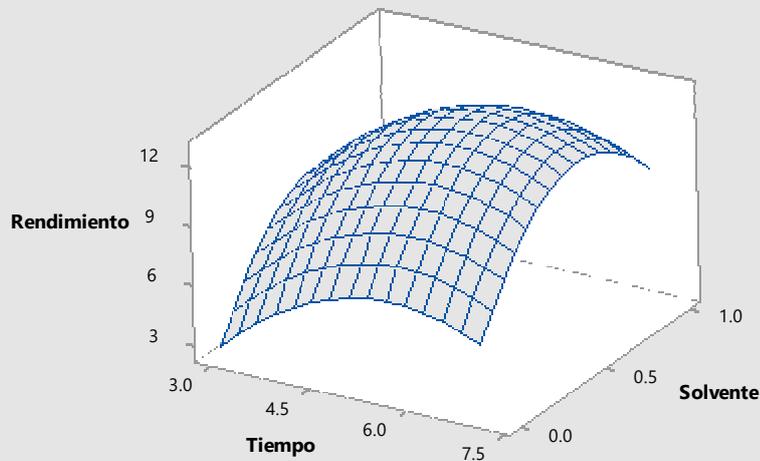


Figura 3: Superficie de respuesta del rendimiento de los extractos de la corteza de Chuchuhuasi (*Maytenus amazónica*).

Gráfica de contorno de Rendimiento vs. Solvente; Tiempo

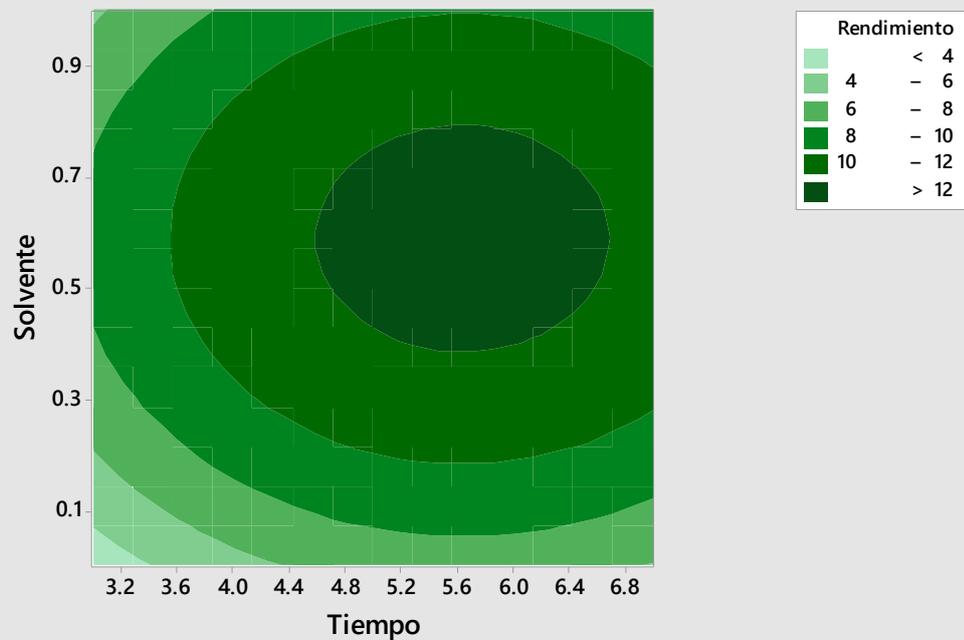


Figura 4: Gráfico de contorno del rendimiento de los extractos de la corteza de Chuchuhuasi (*Maytenus amazónica*).

El ajuste de los resultados experimentales con los predichos, se puede observar en la Figura 4, donde los valores resultados son los puntos de color verde y los valores predichos se encuentran en la línea verde claro. Por lo tanto, se puede observar que los valores experimentales no están tan dispersos de los valores predichos.

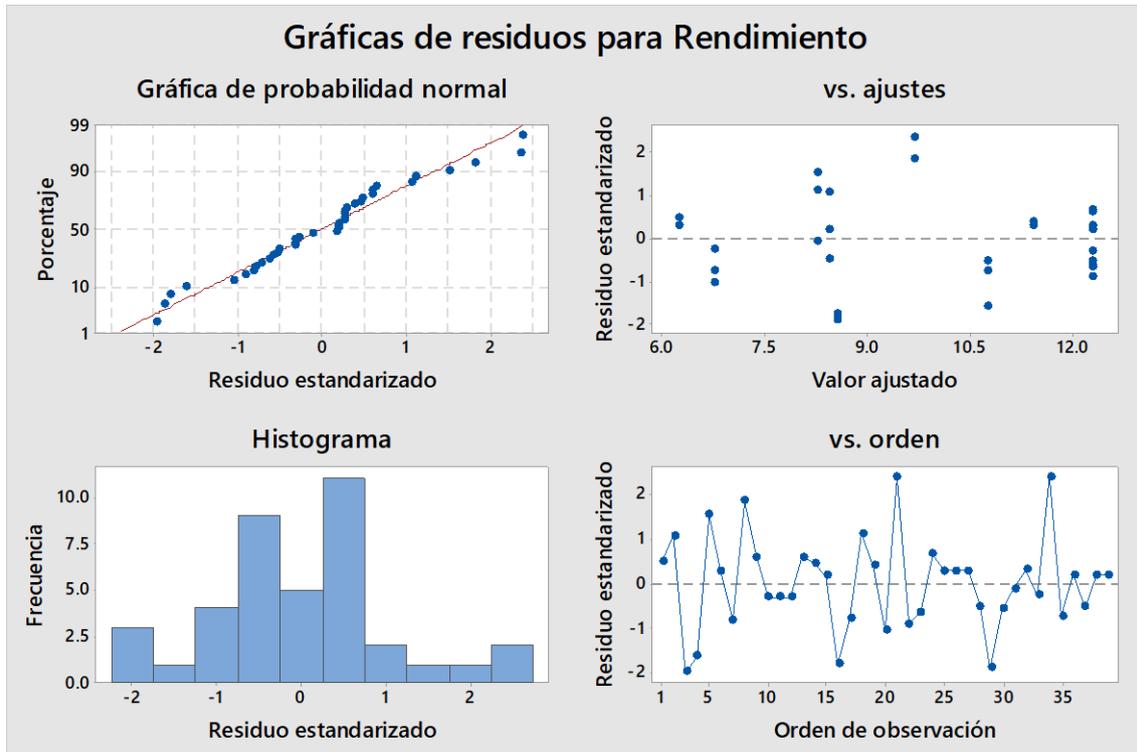


Figura 5: Valores observados vs Valores predichos del rendimiento de los extractos de la corteza de chuchuhuasi (*Maytenus amazónica*).

Evaluando el análisis de la varianza para el rendimiento de corteza y aplicando el modelo seleccionado (Tabla 7), se obtuvo que los efectos principales: solvente cuadrático y lineal, así como tiempo cuadrático fueron significativos ($p \leq 0.05$), esto es posible constatar en la figura del diagrama de Pareto, el cual se muestra en la Figura 5 en la que las variables tiempo y solvente influyen significativamente el proceso

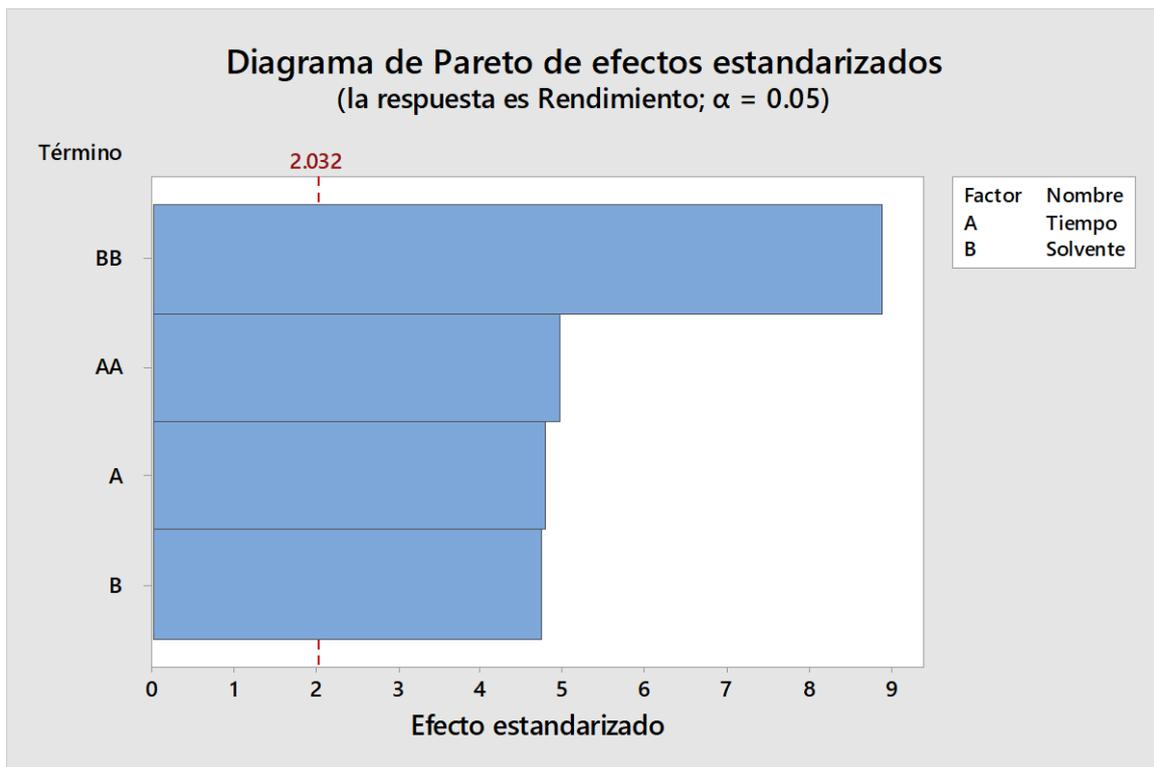


Figura 6: Diagrama de Pareto de las variables.

Tabla 9: Análisis de la varianza para la variable Rendimiento vs Tiempo y Solvente.

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Modelo	4	183.130	45.783	35.69	0.000
Lineal	2	58.124	29.062	22.66	0.000
Tiempo	1	29.420	29.420	22.94	0.000
Solvente	1	28.704	28.704	22.38	0.000
Cuadrado	2	125.006	62.503	48.73	0.000
Tiempo*Tiempo	1	31.441	31.441	24.51	0.000
Solvente*Solvente	1	100.954	100.954	78.70	0.000
Error	34	43.612	1.283		
Falta de ajuste	4	35.072	8.768	30.80	0.000
Error puro	30	8.540	0.285		
Total	38	226.743			

Fuente: Statistica 12

4.3.4 Optimización del tiempo y ratio de solvente

Para establecer los valores optimizados de tiempo y solvente fue transformado la variable respuesta en una nueva variable denominada “deseable”, en la que se requiere definir cuál es la mezcla de tiempo y solvente para obtener el máximo de rendimiento de extracción de la corteza de chuchuhuasi (*Maytenus amazónica*). Como se puede observar en la Figura 3 y 4 de la superficie de respuesta y gráfico de contorno, donde el valor más alto se encuentra localizado en la región de color verde, la cual pertenece a la mezcla de tiempo (~4.5 – 6.5 días) y solvente (0.5 – 1.0), que muestran los valores óptimos. Por otro lado, los resultados muestran mayor rendimiento de extracción de compuestos de la corteza cuando es utilizado etanol puro, cuando comparado con agua como solvente.

Tabla 10: Coeficientes codificados del % rendimiento en la extracción de compuestos de la corteza de chuchuhuasi (*Maytenus amazónica*).

Término	Coeficiente	EE del Coeficiente	Valor T	Valor p	FIV
Constante	12.294	0.292	42.16	0.000	
Tiempo	1.113	0.232	4.79	0.000	1.00
Solvente	1.024	0.217	4.73	0.000	1.00
Tiempo*Tiempo	-1.225	0.247	-4.95	0.000	1.01
Solvente*Solvente	-2.036	0.230	-8.87	0.000	1.01

Fuente: Statistica 12

La ecuación matemática que puede predecir el Rendimiento para cualquier combinación de tiempo y velocidad de flujo se muestra a seguir:

$$\text{Rendimiento} = -12.48 + 6.91 \cdot \text{Tiempo} + 19.19 \cdot \text{Solvente} - 0.613 \cdot \text{Tiempo} \cdot \text{Tiempo} - 16.29 \cdot \text{Solvente} \cdot \text{Solvente}.$$

Los mismos son los coeficientes de regresión de acuerdo con el modelo seleccionado.

4.3.5 Selección del modelo apropiado para el rendimiento de extractos de compuestos de hojas de chuchuhuasi (*Maytenus amazónica*)

La Tabla 7 muestra los valores del rendimiento de los extractos de las hojas de chuchuhuasi (*Maytenus amazónica*) la cual fue sometida a diferentes condiciones de tiempo (T) y solvente (S). Utilizando Statistica 12 y con los datos de la Tabla 7, se obtuvieron los valores de R^2 y la suma de cuadrados del error que permitieron elegir el modelo adecuado para predecir los rendimientos para los extractos de las hojas.

Los modelos evaluados fueron: 1. Términos lineales de los efectos principales; 2. Términos lineales y cuadráticos de los efectos principales; 3. Términos lineales de los efectos principales y las interacciones de 2^{do} orden; 4. Términos lineales y cuadráticos de los efectos principales y las interacciones de 2^{do} orden. Determinamos que el modelo que correlaciona mejor los datos experimentales de rendimiento fue el modelo de segundo orden “Modelos de términos lineales y cuadráticos de los efectos principales y las interacciones de segundo orden”.

Tabla 11: Modelo de análisis para el Rendimientos de extracto de las hojas..

S	R-Cuadrado	R-Cuadrado (ajustado)	R-Cuadrado (pred)
0.217308	85.74%	84.06%	81.50%

Fuente: Statistica 12

El número de coeficiente de determinación (R^2) del modelo seleccionado para predecir los rendimientos para el extracto de las hojas de chuchuhuasi ($R^2=0.8574$) y un R-cuadrado ajustado de 0.8406, permite interpretar los resultados utilizando el gráfico de superficie de respuesta (Figura 6) y contorno (Figura 7). Donde la región de color verde representa la combinación de tiempo (T) y solvente (S) para obtener el mayor rendimiento en la muestra de los extractos de las hojas de chuchuhuasi (*Maytenus amazónica*).

Gráfica de superficie de Rendimiento vs. Tiempo; Solvente

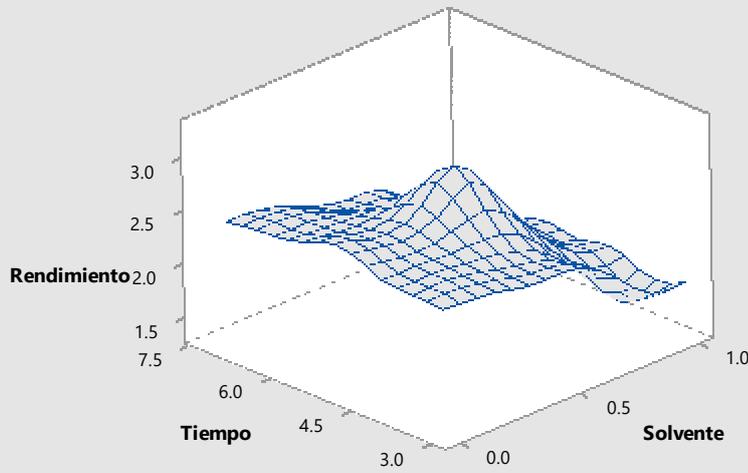


Figura 7: Superficie de respuesta del rendimiento del extracto de las hojas de chuchuhuasi (*Maytenus amazónica*).

Gráfica de contorno de Rendimiento vs. Solvente; Tiempo

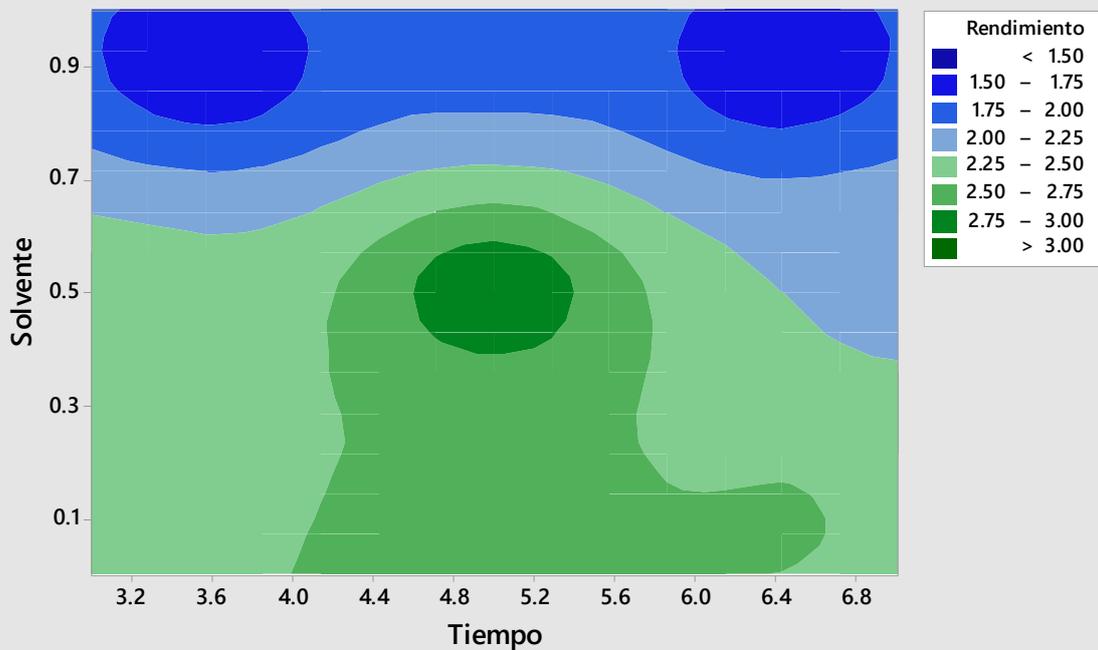


Figura 8: Gráfico de contorno del rendimiento del extracto de las hojas de chuchuhuasi (*Maytenus amazónica*).

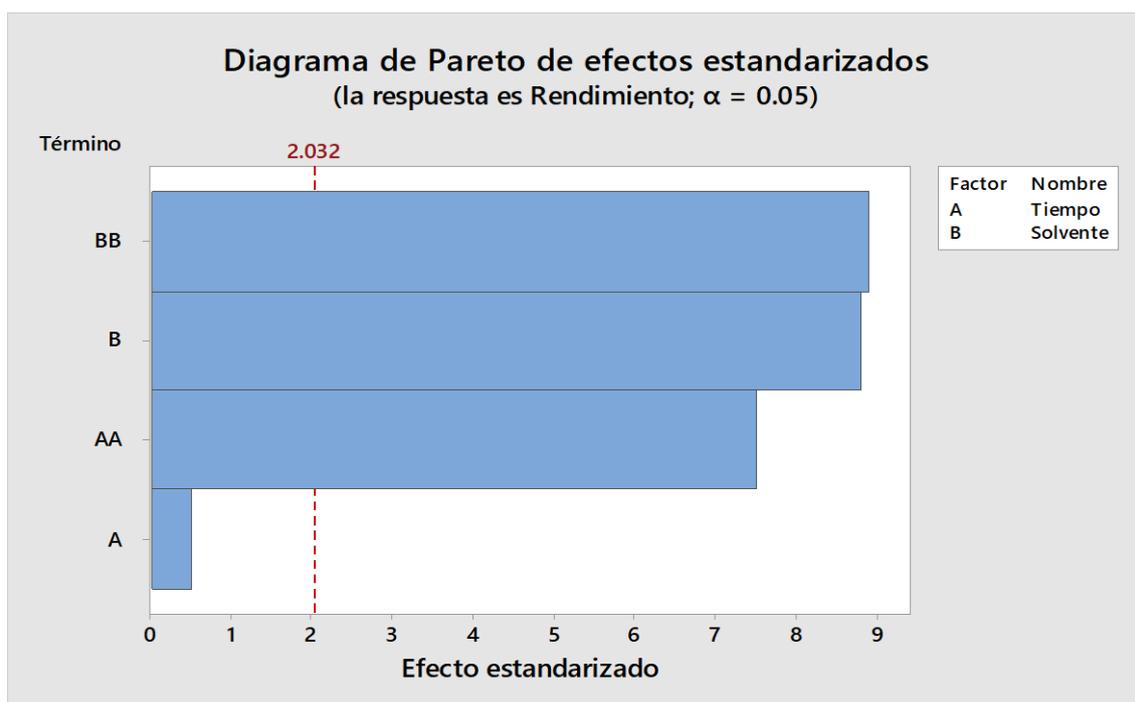


Figura 9: Gráfico de Pareto de las variables de rendimiento de extracto de hojas de chuchuhuasi (*Maytenus amazónica*).

4.3.6 Selección del modelo apropiado para el rendimiento de extractos de hoja

De acuerdo con la información mostrada en la Tabla 12, los rendimientos de extracción de las hojas la cual fue sometida a diferentes tiempos

Tabla 12: Coeficiente de variación para predecir el % rendimiento en la extracción de compuestos de las hojas de chuchuhuasi (*Maytenus amazónica*).

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Modelo	4	9.6546	2.41364	51.11	0.000
Lineal	2	3.6729	1.83646	38.89	0.000
Tiempo	1	0.0118	0.01181	0.25	0.620
Solvente	1	3.6611	3.66111	77.53	0.000
Cuadrado	2	5.9816	2.99082	63.33	0.000
Tiempo*Tiempo	1	2.6592	2.65922	56.31	0.000
Solvente*Solvente	1	3.7412	3.74123	79.23	0.000
Error	34	1.6056	0.04722		
Falta de ajuste	4	0.1345	0.03363	0.69	0.607
Error puro	30	1.4711	0.04904		
Total	38	11.2601			

4.3.7 Optimización del tiempo y solvente

Para elegir los valores óptimos de tiempo y solvente, inicialmente fue transformado la variable respuesta en una variable denominada “deseable”, para tal efecto, se requiere determinar, cual es la combinación de tiempo y solvente para obtener el mayor rendimiento de los extractos de las hojas de chuchuhuasi. De acuerdo con la Figura 6 y 7 de la superficie de respuesta y el gráfico de contorno, donde el mayor valor se encuentra localizado en la región de color verde, la cual pertenece a la combinación de tiempo (≈ 5 días) y solvente (0.5 – 1.0), que representan los valores máximos. Por lo tanto, los resultados muestran que el rendimiento de extracción de las hojas es mayor cuando se utiliza puro etanol, comparado cuando se utiliza agua pura.

Tabla 13: Coeficientes codificados del % de rendimiento de extracción de compuestos de hojas de chuchuhuasi (*Maytenus amazónica*).

Término	Coeficiente	EE del coeficiente	Valor T	Valor p	FIV
Constante	2.9414	0.0559	52.58	0.000	
Tiempo	-0.0223	0.0446	-0.50	0.620	1.00
Solvente	-0.3658	0.0415	-8.81	0.000	1.00
Tiempo*Tiempo	-0.3563	0.0475	-7.50	0.000	1.01
Solvente*Solvente	-0.3920	0.0440	-8.90	0.000	1.01

Fuente: Statistica 12

La ecuación matemática que predice el rendimiento para cualquier combinación de tiempo y solvente se muestra a continuación:

$$\text{Rendimiento} = -1.701 + 1.766 * \text{Tiempo} + 2.102 * \text{Solvente} - 0.1782 \text{Tiempo} * \text{Tiempo} - 3.136 \text{Solvente} * \text{Solvente}$$

Los cuales son los coeficientes de regresión según el modelo seleccionado. Por otro lado, los resultados de la optimización requieren ser constatados experimentalmente.

4.4 Determinación de Fenoles Totales

Los compuestos fenólicos totales son estructuras bioactivas, por lo que se hallan los principales antioxidantes y libres secuestrantes de radicales presentes en diferentes especies, por lo tanto, actúan para interrumpir las reacciones en cadenas causadas por los radicales libres debido a su capacidad de donar átomos de hidrógeno (67).

Tabla 14: Resultados experimentales de fenoles Tgotales

Material	Fenoles Totales mg AG / g M.S.
Corteza	66.98 ± 9.51 ^a
Hojas	62.36 ± 10.71 ^b

Promedio ± desvío estadístico (n=3)

4.3.1 Selección del modelo apropiado para el tratamiento de fenoles totales

Las Tablas 5 y 6 muestran los resultados de fenoles totales de la corteza y hojas, las cuales fueron sometidos a diferentes tiempos y solvente. Mediante el uso de software seleccionado y con los resultados experimentales, se determinaron los valores R² y suma de cuadrados del error que permitieron elegir el modelo adecuado para predecir el comportamiento de los fenoles totales.

La Tabla 14, muestra los resultados de compuestos de fenoles totales, el cual se observa que existe diferencia significativa (p<0.05) siendo mayor valor para la corteza cuando comparado con los resultados de las hojas.

4.5 Determinación de la capacidad antioxidante de los extractos de corteza y hojas de chuchuhuasi (*Maytenus amazónica*).

Las medidas de la capacidad antioxidantes se pueden utilizar en base a ensayos, en este sentido se utilizó el ensayo DPPH y ABTS, la cual permite evaluar diferentes interacciones de compuestos (70).

4.5.1 Capacidad antioxidante por el ensayo DPPH

DE acuerdo con las Tablas 5 y 6, las cantidades de la capacidad antioxidante correspondientes a los experimentos, utilizaron mayor ratio de etanol para el ensayo DPPH en la que muestra mayores resultados de 24.52±0.73 y 23.37±0.78% para corteza y hojas respectivamente, donde los resultados demuestran para el extracto de corteza un tiempo de 5 días, es decir dependencia del tiempo y ratio de solvente, por lo tanto, los determinantes de la

capacidad antioxidante son el grado de reducción de radicales libres. Algunos resultados semejantes fueron observados cuando se utilizó el método de Brand-Williams, Cuvelier and Berset (59).

4.5.2 Capacidad antioxidante por los ensayos ABTS y DPPH

Las Tablas 5 y 6 muestran los resultados de los ensayos correspondientes a ABTS, DPPH y Fenoles Torales, para los ensayos de ABTS, el tiempo optimo fue de 6,4 días y el 100% de etanol, obteniendo $122.37 \pm 1.08 \mu\text{mol TROLOX/g M.S.}$

Tabla 15: Capacidad antioxidante por métodos ABTS y DPPH.

Material	ABTS ($\mu\text{mol TROLOX/g M.S.}$)	DPPH ($\mu\text{mol TROLOX/g M.S.}$)
Corteza	111.36 ± 7.59^a	14.47 ± 5.63^a
Hojas	102.55 ± 7.81^b	12.78 ± 5.74^a

Promedio \pm desvío estadístico (n=3)

Los resultados de la Tabla 16, muestra los resultados de la capacidad antioxidantes en comparación por los métodos ABTS y DPPH, en la que presentan diferencia significativa ($p < 0.05$), por lo que son distintos entre sí por la especificidad que se traduce en los valores obtenidos de nuestra investigación.

Tabla 16: Correlación de la corteza y hojas de chuchuhuasi.

Prueba	Muestra	Capacidad antioxidante y Fenoles	P-valor	
Prueba de Normalidad (Shapiro Wilk)	Corteza	ABTS	0.47	Coeficiente de Spearman R_s
		DPPH	0.20	
		Fenoles Totales	0.83	
	Hojas	ABTS	0.70	
		DPPH	0.01	
		Fenoles Totales	0.65	
Prueba de correlación (Spearman)	Corteza	Fenoles y ABTS	0.085	0.53
		Fenoles y DPPH	0.18	0.32
	Hojas	Fenoles y ABTS	0.85	0.01
		Fenoles y DPPH	0.73	0.15

Fueron evaluadas la correlación de las muestras de corteza y hojas, utilizando la prueba de normalidad para ver el nivel de significancia al 95% con la prueba de Shapiro Wilk, la Tabla 16, muestra los resultados para fenoles totales y capacidad antioxidante de corteza y hojas, valores mayores a 0.05, tomando la presunción que los datos en su totalidad, no podrán ser estudiados por la distribución normal, así mismo, se optó por usar una prueba no paramétrica para correlación entre ABTS, DPPH y fenoles totales, en este caso utilizando la prueba de Spearman, resultando una leve correlación en corteza para fenoles y ABTS con un R_s de 0.65, por lo otro lado para los demás valores no se encontró correlación alguna

CAPITULO V: DISCUSIÓN

Convencionalmente, el proceso de optimización es realizado evaluando la influencia de un factor sobre la respuesta, manteniendo constantes las otras variables del proceso, del mismo modo, la optimización en diferentes campos es comúnmente utilizada para referirse a la búsqueda de óptimas condiciones, en las cuales un procedimiento accede a obtener la mejor respuesta posible en una investigación. El avance y desarrollo de la ciencia, ha intensificado el impacto y la importancia de las sustancias denominadas metabolitos secundarios con propiedades antioxidantes en la industria alimentaria, farmacéutica y otros. Los antioxidantes son compuestos bioquímicos que tiene la capacidad de capturar radicales libres y reducir sus efectos dañinos a las moléculas biológicas. El amplio espectro de efectos secundarios exhibidos por los compuestos sintéticos ha atraído a varios investigadores a reemplazar los compuestos sintéticos con contrapartes naturales. Así mismo el uso de desechos vegetales como posibles fuentes de antioxidantes no solo podría proporcionar una fuente basada en la naturaleza, sino que también es una investigación respetuosa con el medio ambiente (62).

El uso de diseños experimentales mediante la metodología de superficie de respuesta permitió maximizar el rendimiento, para la optimización se tuvo en consideración las variables y sus posibles interacciones. Asimismo, la aplicación de herramientas estadísticas facilita un análisis minucioso de diferentes factores. Este trabajo tiene como objetivo obtener la máxima información con 13 ensayos experimentales considerando el tiempo y el solvente como variables de trabajo.

Abreu et al. (2019), optimizaron el proceso de extracción a partir de la corteza de *Maytenus macrocarpa*, con la finalidad de aprovechar este recurso natural, aplicaron la metodología para la optimización de factores y obtener un modelo predictivo, que representó adecuadamente los cambios en la variable respuesta, el modelo obtenido de la extracción fue por ultrasonido, resultó significativo, con un coeficiente de determinación $R^2=0.98$, lo que implicó que el 98.19% de la variación total en el proceso estudiado se atribuyó a los factores considerados, las variables estudiadas fueron temperatura, tamaño de partícula y el tiempo, las cuales resultaron significativas y se obtuvo un rendimiento de

14.86% a una temperatura de 54.40°C, 16.57min y 0.63mm de tamaño de partícula.

En reciente trabajo de Missio et al. (2017) realizaron la purificación del extracto industrial, donde evaluaron la extracción Soxhlet utilizando varios solventes con procesos únicos y secuenciales y sus fracciones separadas fueron investigadas analíticamente. Por lo tanto, los polvos tuvieron mayor rendimiento para solventes polares y para temperatura de extracción más altas, por ello tuvieron un rendimiento alrededor del 87%, los resultados de este estudio sugieren la extracción con diferentes solventes orgánicos, por lo que el resultado fue satisfactorio aumentado su rendimiento de extracción.

En otro trabajo realizado por Bruni et al. (2006) emplearon la extracción hidroalcohólica de la corteza de *Maytenus krukovii* donde realizaron actividades biológicas sobre diferentes clases de microorganismos por medios de ensayos, donde la corteza finamente molida se extrajo en etanol al 20%. Por lo tanto, en las diferentes investigaciones secuenciales optimizaron también, algunos compuestos extraídos según la aplicación específica. En el estudio de Ismail and Hong (2002) evaluaron la actividad antioxidante, donde los extractos también se prepararon con etanol y agua, respectivamente. El resultado del extracto de agua mostró la mayor actividad antioxidante total del 63% en comparación con otras muestras, sin embargo, en otra especie exhibió la actividad antioxidante y eliminación de radicales libres más altas en extracto etanólico con 58% y EC50= 0.42mg/ml respectivamente. Por lo tanto, los resultados del análisis ANOVA muestran diferencias significativas ($p < 0,05$) en las medidas de las actividades de eliminación de radicales libres y antioxidantes totales de las especies.

Los compuestos fenólicos totales fueron cuantificados con el reactivo de Folin-Ciocalteu. En reciente investigación de Alijanipoor et al. (2019) fueron estudiados el potencial de los residuos de las variedades comunes de hojas, corteza y tallos de uva, como una fuente de antioxidantes naturales, donde se examinó la actividad antioxidante y como resultado en fenoles totales fue de $9,98 \pm 0,31$ mg/g PS y $14,56 \pm 0,24$ mg/g de ácido gálico equivalente, respectivamente. Por lo tanto, existen diferencias significativas menores cuando comparado al resultado de nuestra investigación, y se concluyó que el uso de residuos naturales como fuentes de antioxidantes tiene efecto beneficioso no

solo para el manejo de desechos, sino que también se podría encontrar posibles aplicaciones en la industria alimentaria y farmacéutica. Por otro lado, se evidencia la existencia de varias técnicas donde se evalúan el efecto de las condiciones de extracción sobre rendimientos de los extractos, donde las variables que pueden ser estudiadas que incluyen tiempo de extracción, edades de la corteza, potencia de extracción. Así mismo, en estudios demostraron que mediante maceración a temperatura ambiente utilizando el solvente metanol fue el mejor para la extracción de algunos polifenoles, resultando uno de ellos, contenido de polifenoles de 442 mg AG/g corteza respectivamente (68).

Saeed, Khan and Shabbir (2012), evaluaron el contenido fenólico total y algunos compuestos del extracto de la planta entera de *Torilis leptophylla* para encontrar posibles fuentes de futuros antioxidantes novedosos en formulaciones alimentarias y farmacéuticas, resultando el contenido fenólico total de $121,9 \pm 3,1$ mg AG/g de extracto. En la naturaleza, muchos antioxidantes se encuentran comúnmente en productos alimenticios, que son clasificados como antioxidantes naturales, sintéticos, dietéticos, y endógenos que son los más comunes, por lo tanto es necesario desarrollar nuevas metodologías de extracción, purificación, identificación y cuantificación de antioxidantes naturales sea de corteza y hojas, utilizando técnicas respetuosas en el medio ambiente para mejorar los rendimientos de extracción y el valor de mercado de los productos naturales (70).

Alijanipoor et al. (2019) Evaluaron las condiciones de extracción, donde utilizaron un gráfico de concentraciones frente a la tasa de inhibición (%) del radical DPPH, los resultados mostraron que los extractos acuosos de los restos de plantas de uvas tenían un poder considerable para eliminar el radical DPPH, por lo tanto, el promedio de las pruebas en el estudio para DPPH resultó una actividad de $302,78 \pm 5,21$ mg/g de peso seco. Así mismo fueron resultados diferentes en comparación al estudio.

En estudio reciente Tanvir et al. (2017) investigo los extractos acuosos y etanólicos de diferentes formas con sus propiedades antioxidantes y contenidos de polifenoles y otros compuestos, en la cual se determinó utilizando los valores de actividad y captación de radicales libres que son DPPH y FRAP, resultando el extracto etanólico concentraciones altas de polifenoles (16.07%), rendimientos

(17,39%) mientras una mayor actividad eliminadora de radicales DPPH con una concentración inhibidora del 50% más baja (IC50) (1,08g/mL) y el valor de FRAP siendo el más alto (4204,46±74,48 M Fe por 100 gramo), por lo tanto, el extracto etanólico tuvo mayores propiedades antioxidantes que las del extracto acuoso, los rendimientos de extracción de algunas especies investigados en estudios sugieren que se puede obtener compuestos antioxidantes más altos con etanol.

Chumbia and Kuamar (2019), investigaron el efecto combinado de cuatro variables que incluyen temperatura, tiempo de extracción, relación etanol-agua, relación sólido-líquido para poder predecir la combinación óptima de compuestos fenólicos de hojas en las que sus condiciones óptimas fueron temperatura de extracción 60°C, tiempo 26,6 min y una relación etanol-agua de 75,1-24,9. Por lo tanto, el extracto optimizado de hojas *I.guayusa* presentó una capacidad antioxidante considerable determinada por 2 métodos que fueron ABTS (0.08mmol/100g) y FRAP (40.71mmol/g). Estos valores resultaron inferiores en comparación a nuestra investigación.

Resultados similares, fueron reportados por Re, Pellegrini, Nicoleta, et al. (1999) en la que el ensayo ABTS mejora claramente el ensayo Teac, por lo tanto, se grafica como una función de la concentración para determinar el Teac, que pueda evaluarse en función del tiempo. En otro estudio evaluaron el extracto etanólico crudo de *Maytenus ilicifolia* como fuente potencial de antioxidantes usando un ensayo basado en el blanqueo del radical monocatión 2,2'-azino-bis (ácido 3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico) (ABTS•+), como resultado indico que la corteza de la raíz es una gran fuente de antioxidantes en base a su potencial como captador de radicales libres (74).

Floegel et al. (2011) Evaluaron la comparabilidad para medir la capacidad antioxidante en alimentos por los ensayos de captación de radicales más comunes ABTS y DPPH. La capacidad antioxidante mostró una relación positiva para ambos ensayos ($r=0.949$, $p<0.001$), por el ensayo ABTS se asoció más positivamente con la capacidad de absorción de radicales oxígeno (ORAC) de la base de datos del USDA para ABTS: $r=0.593$, $p<0.001$; para DPPH: $r=0.539$, $p<0.001$, respectivamente) por lo tanto, la capacidad detectada por el ensayo ABTS fue significativamente mayor en comparación con la del ensayo DPPH,

por lo que en estudio para alimentos puede ser más útil que el ensayo DPPH, resultados fueron diferentes a nuestra investigación.

Por otro lado, Saeed, Khan and Shabbir (2012), evaluaron extractos de la planta de *Torilis leptophylla* para mostrar actividad antioxidante *in vitro* e *in vivo*, demostrando los valores de EC50 basados en DPPH ($41,0 \pm 0,85 \mu\text{mol TROLOX/g M.S.}$) y ABTS ($10,0 \pm 0,9 \mu\text{mol TROLOX/g M.S.}$) mostrando diferencia significativa cuando comparado con los resultados obtenidos en el presente estudio.

CAPITULO VI: CONCLUSIONES

Los materiales de chuchuhuasi utilizados en el estudio mostraron el 54.70±2.24% para hojas y 40.72±1.74% para corteza con relación a la humedad y 2.29±0.07% y 4.40±0.16% para ceniza.

El modelo aplicado al proceso de extracción es adecuado para evaluar los datos experimentales, la mayor extracción de compuestos extraídos utilizando Metodología de Superficie de Respuesta con un valor de R² ajustado de 0.785 para corteza fue de 13.01±0.08% utilizando 5 días y puro etanol.

Se estableció que los extractos etanólicos exhibieron contenido fenólico total de 66.98±9.28 mg A.G./g M.S. de corteza respectivamente.

El mayor contenido de fenoles totales fue observado para los extractos de la corteza con valor promedio de 66.98±9.51 mg A.G./g M.S. con diferencia significativa cuando comparado con el valor promedio 62.36±10.71 mg A.G./g M.S. correspondiente al extracto de las hojas.

La capacidad antioxidante de los extractos fue evaluada utilizando ensayos de captura de radicales DPPH y ABTS, presentándose diferencia significativa con relación al ABTS siendo mayor para la corteza 111.16±7.46 μmol TROLOX /g M.S., cuando fue evaluado el ensayo DPPH no hubo diferencias significativas entre la corteza y las hojas (14.47±5.63 y 12.78±5.74).

CAPITULO VII: RECOMENDACIONES

Fomentar estudios con materiales de la especie chuchuhuasi para la elaboración nuevos productos antioxidantes.

Evaluar la capacidad antimicrobiana de materiales de chuchuhuasi que incluya la raíz.

Realizar estudios con micropartículas conteniendo extractos chuchuhuasi y evaluar su estabilidad con fenoles totales.

Promover el manejo de la especie chuchuhuasi para la sostenibilidad de la especie.

CAPÍTULO VIII: REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Ivanović M, Razboršek MI, Kolar M. Innovative extraction techniques using deep eutectic solvents and analytical methods for the isolation and characterization of natural bioactive compounds from plant material. *Plants*. 2020;9(11):1–29.
2. Ferrazzano GF, Amato I, Ingenito A, Zarrelli A, Pinto G, Pollio A. Plant polyphenols and their anti-cariogenic properties: A review. *Molecules*. 2011;16(2):1486–507.
3. Haque F, Banayan S, Yee J, Chiang YW. Extraction and applications of cyanotoxins and other cyanobacterial secondary metabolites. *Chemosphere*. 2017;183:164–75.
4. Ciencias FDE, Salud DELA, Yupanqui BL, Manuel D. RATAS INDUCIDAS A QUEMADURAS TRATADAS CON EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE *Spondias mombin* L . 2021;
5. Elufioye TO, Obuotor EM, Agbedahunsi JM, Adesanya SA. Anticholinesterase constituents from the leaves of *Spondias mombin* L. (*Anacardiaceae*). *Biol Targets Ther*. 2017;11:107–14.
6. Hamburger M, Hostettman K. Bioactivity in Plants: The Link Between Phytochemistry and Medicine. *Phytochemistry* [Internet]. 1991;30(12):3864–74. Available from: https://www.researchgate.net/profile/Matthias_Hamburger/publication/283046134_Bioactivity_in_Plants_Phytochemistry_1991_30_3864/links/5627632a08aeedae57de5c12/Bioactivity-in-Plants-Phytochemistry-1991-30-3864.pdf
7. Balandrin MF, Klocke JA, Wurtele ES, Bollinger WH. Natural plant chemicals: Sources of industrial and medicinal materials. *Science* (80-). 1985;228(4704):1154–60.
8. Lourenço SC, Moldão-Martins M, Alves VD. Antioxidants of natural plant

- origins: From sources to food industry applications. *Molecules*. 2019;24(22):14–6.
9. Tauchen J, Huml L, Bortl L, Duskocil I, Jarosova V, Marsik P, et al. Screening of medicinal plants traditionally used in Peruvian Amazon for in vitro antioxidant and anticancer potential. *Nat Prod Res* [Internet]. 2019;33(18):2718–21. Available from: <http://doi.org/10.1080/14786419.2018.1462180>
 10. Carocho M, Ferreira ICFR. A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: Natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives. *Food Chem Toxicol*. 2013;51(1):15–25.
 11. Malanik M, Tremli J, Rjaškov V, Tížková K, Kaucká P, Kokoška L, et al. *Maytenus macrocarpa* (Ruiz & Pav.) Briq.: Phytochemistry and Pharmacological Activity. *Molecules*. 2019;24:1–22.
 12. Shirmohammadli Y, Efhamisisi D, Pizzi A. Tannins as a sustainable raw material for green chemistry: A review. *Ind Crop Prod*. 2018;126(June):316–32.
 13. Jacyna J, Kordalewska M, Markuszewski MJ. Design of Experiments in metabolomics-related studies: An overview. *J Pharm Biomed Anal* [Internet]. 2019;164:598–606. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2018.11.027>
 14. Wani AA, Kaur D, Ahmed I, Sogi DS. Extraction optimization of watermelon seed protein using response surface methodology. Vol. 41, *LWT - Food Science and Technology*. 2008. p. 1514–20.
 15. International Trade Center (ITC). *Medicinal and aromatic plants and extracts*. 2017.
 16. Food and Agriculture Organization (FAO). *Trade in Medicinal Plants. Raw Materials, Tropical and Horticultural Products Service Commodities and Trade Division Economic and Social Department Food and Agriculture Organization of the United Nations Rome* [Internet]. Trade in Medicinal

Plants. 1997. 64 p. Available from:
<http://www.fao.org/docrep/pdf/008/af285e/af285e00.pdf>

17. Roosta R, Moghaddasi R, Hosseini SS. Export target markets of medicinal and aromatic plants. *J Appl Res Med Aromat Plants Author.* 2017;7(November 2016):84–8.
18. León J, Coico F, Rosas D, De La Cruz J. Inventario taxonómico , fitogeográfico y etnobotánico de frutales nativos del norte del Perú. *Sci Agropecu.* 2017;8(3):215–24.
19. Malaník M, Tremel J, Rjašková V, Tížková K, Kaucká P, Kokoška L, et al. *Maytenus macrocarpa* (Ruiz & Pav.) Briq.: Phytochemistry and pharmacological activity. *Molecules.* 2019;24(12).
20. Sankar KU. Extraction Processes. In: *Conventional and Advanced Food Processing Technologies.* 2015. p. 129–57.
21. Santana ÁL, Macedo GA. Effects of hydroalcoholic and enzyme-assisted extraction processes on the recovery of catechins and methylxanthines from crude and waste seeds of guarana (*Paullinia cupana*). *Food Chem.* 2019;281(September 2018):222–30.
22. López-Hortas L, Pérez-Larrán P, González-Muñoz MJ, Falqué E, Domínguez H. Recent developments on the extraction and application of ursolic acid. A review. *Food Res Int.* 2018;103(October 2017):130–49.
23. Gullón B, Gullón P, Lú-Chau TA, Moreira MT, Lema JM, Eibes G. Optimization of solvent extraction of antioxidants from *Eucalyptus globulus* leaves by response surface methodology: Characterization and assessment of their bioactive properties. Vol. 108, *Industrial Crops and Products.* 2017. p. 649–59.
24. Braga W, Roberto J, Vaz C, Samanamud G, Loures C, França A, et al. Extraction and optimization of tannin from the flower of *Musa* sp. applied to the treatment of iron ore dump. *J Environ Chem Eng.* 2018;6(June):4310–7.
25. Dai J, Mumper RJ. Plant phenolics: Extraction, analysis and their

- antioxidant and anticancer properties. *Molecules*. 2010;15(10):7313–52.
26. Braga WLM, Roberto JA, Vaz C, Samanamud GRL, Loures CCA, França AB, et al. Extraction and optimization of tannin from the flower of *Musa* sp. applied to the treatment of iron ore dump. *J Environ Chem Eng*. 2018;6(4):4310–7.
 27. Hoyos-Martínez PL, Merle J, Labidi J, Charrier – El Bouhtoury F. Tannins extraction: A key point for their valorization and cleaner production. *J Clean Prod*. 2019;206:1138–55.
 28. Chao B, Liu R, Zhang X, Zhang X, Tan T. Tannin extraction pretreatment and very high gravity fermentation of acorn starch for bioethanol production. *Bioresour Technol*. 2017;241:900–7.
 29. Mailoa MN, Mahendradatta M, Laga A, Djide N. Tannin Extract Of Guava Leaves (*Psidium Guajava* L) Variation With Concentration Organic Solvents. *Int J Sci Technol Res*. 2013;2(9):106–10.
 30. Chemat F, Zill-E-Huma, Khan MK. Applications of ultrasound in food technology: Processing, preservation and extraction. *Ultrason Sonochem*. 2011;18(4):813–35.
 31. Ali A, Lim XY, Chong CH, Mah SH, Chua BL. Optimization of ultrasound-assisted extraction of natural antioxidants from Piper betle using response surface methodology. *LWT - Food Sci Technol*. 2018;89:681–8.
 32. Vinatoru M. An overview of the ultrasonically assisted extraction of bioactive principales from herbs. *Ultrason Sonochemistry*. 2001;8:303–13.
 33. Pompeu DR, Silva EM, Rogez H. Optimisation of the solvent extraction of phenolic antioxidants from fruits of *Euterpe oleracea* using Response Surface Methodology. *Bioresour Technol* [Internet]. 2009;100(23):6076–82. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2009.03.083>
 34. Witek-Krowiak A, Chojnacka K, Podstawczyk D, Dawiec A, Pokomeda K. Application of response surface methodology and artificial neural network methods in modelling and optimization of biosorption process. *Bioresour Technol*. 2014;160:150–60.

35. Deng GF, Xu DP, Li S, Li H Bin. Optimization of ultrasound-assisted extraction of natural antioxidants from sugar apple (*Annona squamosa* L.) peel using response surface methodology. *Molecules*. 2015;20(11):20448–59.
36. Ghitescu RE, Volf I, Carausu C, Bühlmann AM, Gilca IA, Popa VI. Optimization of ultrasound-assisted extraction of polyphenols from spruce wood bark. Vol. 22, *Ultrasonics Sonochemistry*. 2015. p. 535–41.
37. Abreu-Naranjo R, Arteaga-Crespo Y, Bravo-Sanchez LR, Pérez-Quitana ML, García-Quitana Y. Response surface methodology for optimisation of total polyphenol content and antioxidant activity of extracts from *Maytenus macrocarpa* bark by means of ultrasound-assisted extraction. *Wood Sci Technol*. 2018;52:1359–76.
38. Luo X, Bai R, Zhen D, Yang Z, Huang D, Mao H, et al. Response surface optimization of the enzyme-based ultrasound-assisted extraction of acorn tannins and their corrosion inhibition properties. *Ind Crop Prod*. 2019;129(June 2018):405–13.
39. Kurunczi A, Bolzani E, Wilhelm HM, Pereira L. Optimization of the ethanolsis of *Raphanus sativus* (L . Var .) crude oil applying the response surface methodology. *Bioresour Technol*. 2008;99:1837–45.
40. Kang J-H, Kim S, Moon B. Optimization by response surface methodology of lutein recovery from paprika leaves using accelerated solvent extraction [Internet]. Vol. 205, *Food Chemistry*. 2016. p. 140–5. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0308814616303557>
41. Coelho TLS, Braga FMS, Silva NMC, Dantas C, Lopes J, De Souza SA. Optimization of the protein extraction method of goat meat using factorial design and response surface methodology. *Food Chem*. 2019;281(December 2018):63–70.
42. Bas D, Boyaci IH. Modeling and optimization i: Usability of response surface methodology. *J Food Eng*. 2007;78(3):836–45.
43. Thakur M, Bhattacharya S, Khosla PK, Puri S. Improving production of

- plant secondary metabolites through biotic and abiotic elicitation. *J Appl Res Med Aromat Plants*. 2019;12(December 2018):1–12.
44. Jamwal K, Bhattacharya S, Puri S. Plant growth regulator mediated consequences of secondary metabolites in medicinal plants. *J Appl Res Med Aromat Plants*. 2018;9(December 2017):26–38.
 45. Veloso CC, Soares GL, Perez AC, Rodrigues VG, Silva FC. Pharmacological potential of maytenus species and isolated constituents, especially tingenone, for treatment of painful inflammatory diseases. Vol. 27, *Brazilian Journal of Pharmacognosy*. 2017. p. 533–40.
 46. Ky I, Floch A Le, Zeng L, Pechamat L, Jourdes M, Teissedre P-L. Tannins. *Encycl Food Heal*. 2016;247–55.
 47. Sinhg A, Kumer S. Applications of Tannins in Industry. In: *Tannins - Structural Properties, Biological Properties and Current Knowledge [Internet]*. 2019. p. 19. Available from: <https://www.intechopen.com/books/advanced-biometric-technologies/liveness-detection-in-biometrics>
 48. de Jesus N, Falcão H, Gomes IF, Leite T, Lima GR, Barbosa-Filho JM, et al. Tannins, Peptic Ulcers and Related Mechanisms. *Int J Mol Sci*. 2012;13:3203–28.
 49. Das AK, Islam MN, Faruk MO, Ashaduzzaman M, Dungani R. Review on tannins: Extraction processes, applications and possibilities. *South African J Bot*. 2020;135:58–70.
 50. Bicking MKL. Analytical Extractions. In: *Frontiers: A Journal of Women Studies*. 2000. p. 1371–82.
 51. Anuonye JC. Some functional properties of extruded acha / soybean blends using response surface analysis. *African J Food Sci*. 2012;6(10):269–79.
 52. Zehiroglu C, Ozturk Sarikaya SB. The importance of antioxidants and place in today's scientific and technological studies. *J Food Sci Technol [Internet]*. 2019;56(11):4757–74. Available from:

<https://doi.org/10.1007/s13197-019-03952-x>

53. Bravo L. Polyphenols: Chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutr Rev.* 1998;56(11):317–33.
54. Mishra K, Ojha H, Chaudhury N. Estimation of antiradical properties of antioxidants using DPPH. assay: A critical review and results. *Food Chem.* 2012;130(4):1036–43.
55. Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic Biol Med.* 1999;26(9–10):1231–7.
56. AOAC. Methods Committee Guidelines for Validation of Microbiological Methods for Food and Environmental Surfaces. *AOAC Int.* 2012;
57. de Camargo AC, Regitano-d’Arce MAB, Gallo CR, Shahidi F. Gamma-irradiation induced changes in microbiological status, phenolic profile and antioxidant activity of peanut skin. *J Funct Foods [Internet].* 2015;12:129–43. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jff.2014.10.034>
58. Singleton V, Orthofer R, Lamuela-Raventós RM. Analysis of Total Phenols and Other Oxidation Substrates and Antioxidants by Means of Folin-Ciocalteu Reagent. *Methods Enzymol.* 1999;299(1974):152–78.
59. Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Sci Technol [Internet].* 1995;28(1):25–30. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0023643895800085>
60. Pérez-Portero Y, Rodríguez-Leblanch LE, Aguilar-Navarro B, González-Pérez M, Hung-Guzmán B. Caracterización físico-química de extractos de *Spondias mombin* L . Physico-chemical characterization of extracts of *Spondias mombin* L . Resumen Introducción Materiales y métodos. *Rev Cuba Química.* 2016;28(1):444–9.
61. Díaz Reinoso B, Couto D, Moure A, Fernandes E, Domínguez H, Parajó JC. Optimization of antioxidants - Extraction from *Castanea sativa* leaves. *Chem Eng J.* 2012;203:101–9.

62. Alijanipour K, Hosseini R, Sariri R, Vaziri A. Antioxidant Activity of Aqueous Extracts from *Vitis vinifera*'s Wastes. *Nov Approaches Drug Des Dev.* 2019;4(5):1–5.
63. Abreu R, Arteaga Y, Bravo L, Pérez M, García Y. optimizacion de extraíbles totales a partir de corteza de maytenus macrocarpa asistida por ultrasonido mediante metodologia de superficie de respuesta. *AFINIDAD.* 2019;LXXVII(590):118–24.
64. Missio A, Tischer B, dos Santos P, Codevilla C, de Menezes C, Barin J, et al. Analytical characterization of purified mimosa (*Acacia mearnsii*) industrial tannin extract: Single and sequential fractionation. *Sep Purif Technol.* 2017;186:218–25.
65. Bruni R, Rossi D, Muzzoli M, Romagnoli C, Paganetto G, Besco E, et al. Antimutagenic, antioxidant and antimicrobial properties of *Maytenus krukovii* bark. *Fitoterapia.* 2006;77(7–8):538–45.
66. Ismail A, Hong T. Antioxidante Activity of Selected Commercial Seaweeds. *Mal J Nutr.* 2002;8(2):167–77.
67. Neves A, dos Santos R, Silva F, Souza J, Moreira A, Machado M, et al. Phenolic profile , antioxidant and antifungal activity of extracts from four medicinal plants of the Anacardiaceae family. *Res Soc Dev.* 2021;10(8):1–15.
68. Naimaa R, Oumama M, Hannachea H, Sesboue A, Charrierb B, Pizzi A, et al. Comparison of the impac of different extraction from Moroccan *Acacia mollissima* barks. *Ind Crops Prod.* 2015;70:245–52.
69. Saeed N, Khan M, Shabbir M. Antioxidant activity, total phenolic and total flavonoid contents of whole plant extracts *Torilis leptophylla* L. *BMC Complement Altern Med.* 2012;12.
70. Kebede M, Admassu S. Application of Antioxidants in Food Processing Industry: Options to Improve the Extraction Yields and Market Value of Natural Products. *Adv Food Technol Nutr Sci.* 2019;5(2):38–49.
71. Tanvir E, Hossen M, Hossain M, Afroz R, Gan S, Khalil M, et al. Antioxidant

- properties of popular turmeric (*Curcuma longa*) varieties from Bangladesh. *J Food Qual.* 2017;2017.
72. Chumbia G, Kuamar A. Optimización del proceso de extracción asistida por ultrasonido de compuestos fenólicos en Guayusa (*Ilex guayusa* Loes) y determinación de actividad antioxidante y contenido de cafeína. 2019.
 73. Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice C. ANTIOXIDANT ACTIVITY APPLYING AN IMPROVED ABTS RADICAL DECOLORIZATION ASSAY. *Free Radic Biol Med.* 1999;26(9/10):1231–7.
 74. Velloso J, Khalil N, Formenton V, Ximenes V, Fonseca L, Furlan M, et al. Antioxidant activity of *Maytenus ilicifolia* root bark. *Fitoterapia.* 2006;77(3):243–4.
 75. Floegel A, Kim D, Chung S, Koo S, Chun O. Comparison of ABTS/DPPH assays to measure antioxidant capacity in popular antioxidant-rich US foods. *J Food Compos Anal.* 2011;24(7):1043–8.

ANEXOS



Corteza de Chuchuhuasi



Hojas de Chuchuhuasi



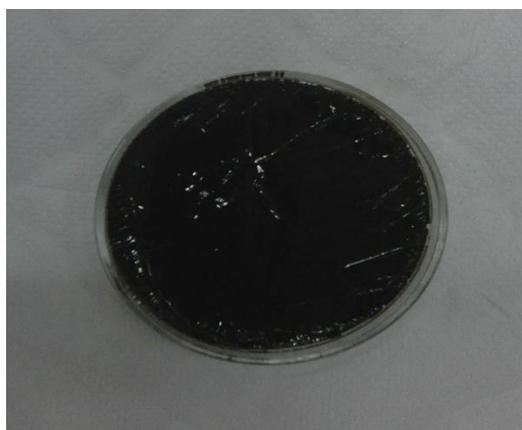
Maceración



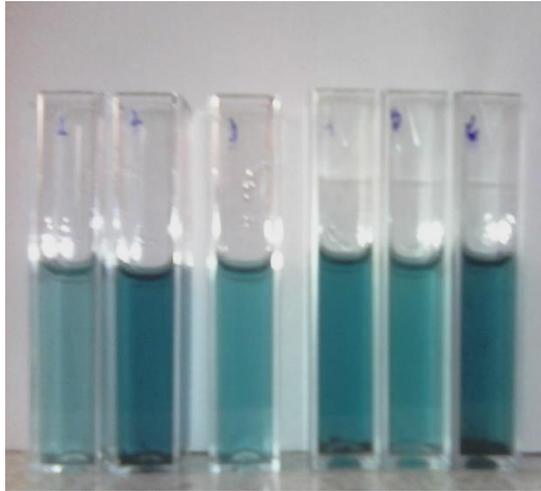
Filtrado



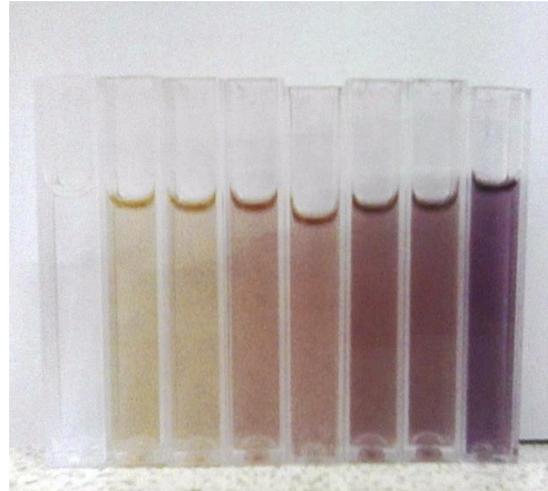
Rotavapor



Extracto

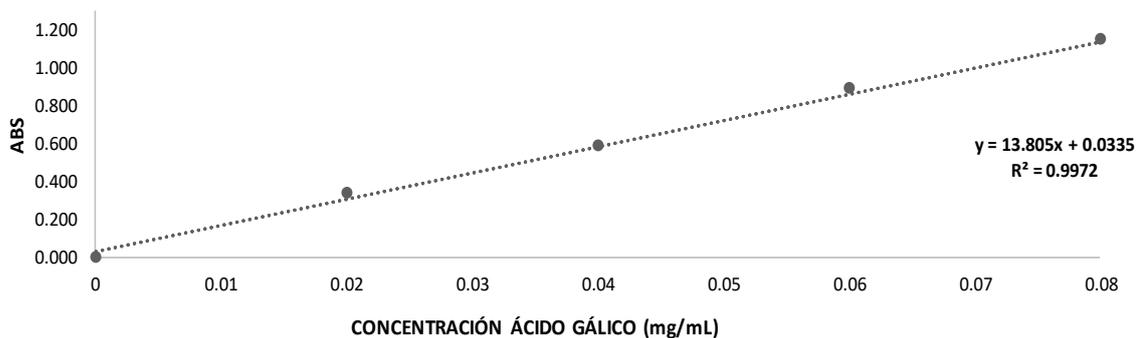


Dilución

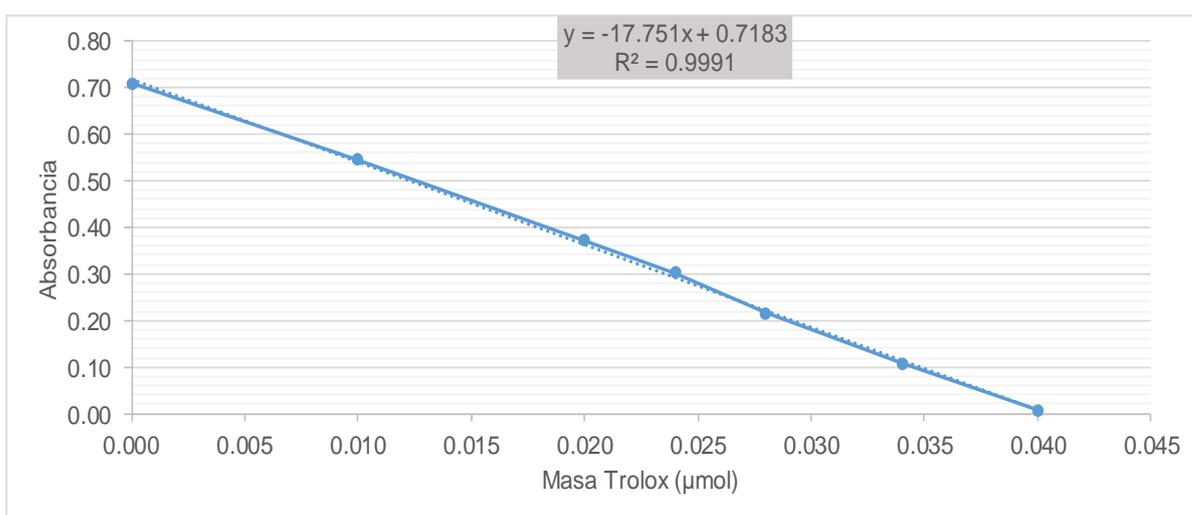


Dilución

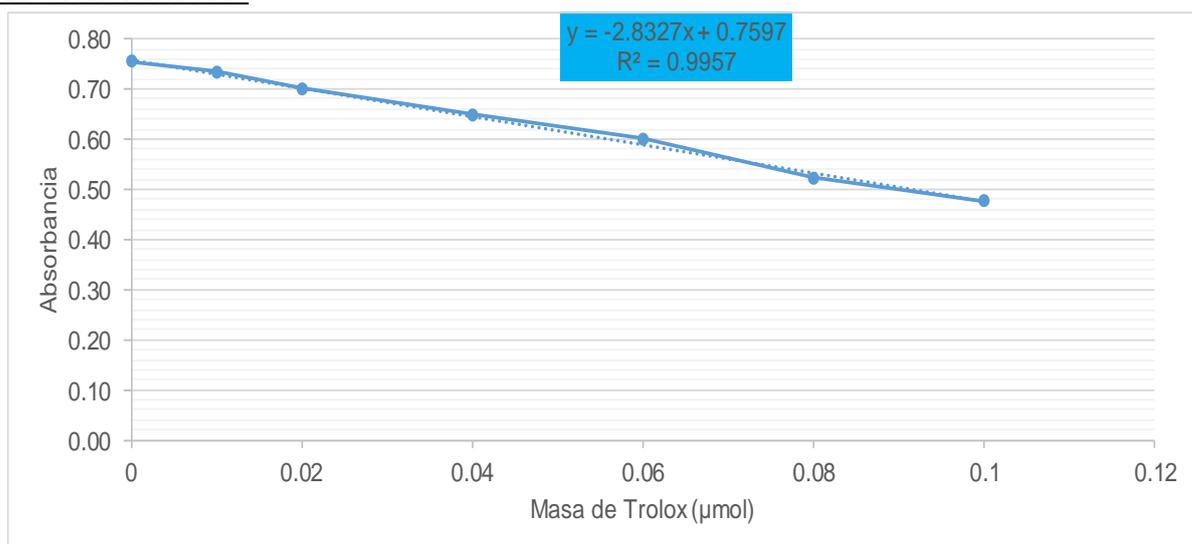
CURVA PADRON DE COMPUESTOS DE FENOLES TOTALES DE CORTEZA DE CHUCHUHUASI



CURVA PADRON ABTS



CURVA PADRON DPPH



RESULTADOS DE FENOLES TOTALES DE CORTEZA DE CHUCHUHUASI

Maytenus amazonica (chuchuhuasi)	Código	repetición	Peso amostra	Peso amostra	Materia seca	Volumen Acertado	Alicota no tubo	leitura no Equipamento	concentração FT	concentração FT	concentração FT	concentração FT	concentração FT	concentração FT	MEDIA FT	DS
			(g)	(mg)	(mg)	(mL)	(mL)	Abs.765 nm	mgGAE/mL	mgGAE	mgGAE/mg materia seca	mgGAE/g materia seca	mgGAE/100g materia seca	gGAE/100g materia seca	mgGAE/g materia seca	
			a	b = a*1000	c = a* % Mat. seca	d	e	f	g = @	h=g*d	i = h / c	j = i * 1000	k = j * 100	L = k/1000		
CORTEZA	H1	R1	0.0115	11.50	9.76	10.00	0.200	0.438	0.029	0.293	0.030	62.154	6,215.400	6.215	61.858	0.531
		R2	0.0115	11.50	9.76	10.00	0.200	0.420	0.028	0.280	0.029	61.245	6,124.500	6.125		
		R3	0.0115	11.50	9.76	10.00	0.200	0.431	0.029	0.288	0.030	62.175	6,217.500	6.218		
CORTEZA	H2	R1	0.0117	11.70	9.90	10.00	0.200	0.350	0.023	0.229	0.023	54.274	5,427.400	5.427	55.219	0.976
		R2	0.0117	11.70	9.90	10.00	0.200	0.365	0.024	0.240	0.024	55.159	5,515.900	5.516		
		R3	0.0117	11.70	9.90	10.00	0.200	0.350	0.023	0.229	0.023	56.223	5,622.300	5.622		
CORTEZA	H3	R1	0.0116	11.60	9.83	10.00	0.200	1.033	0.072	0.724	0.074	73.669	7,366.935	7.367	73.768	0.378
		R2	0.0116	11.60	9.83	10.00	0.200	1.040	0.073	0.729	0.074	74.185	7,418.529	7.419		
		R3	0.0116	11.60	9.83	10.00	0.200	1.030	0.072	0.722	0.073	73.448	7,344.823	7.345		
CORTEZA	H4	R1	0.0115	11.50	10.39	10.00	0.200	1.060	0.074	0.744	0.072	71.571	7,157.090	7.157	70.897	0.698
		R2	0.0115	11.50	10.39	10.00	0.200	1.051	0.074	0.737	0.071	70.943	7,094.339	7.094		
		R3	0.0115	11.50	10.39	10.00	0.200	1.040	0.073	0.729	0.070	70.176	7,017.643	7.018		
CORTEZA	H5	R1	0.0115	11.50	10.38	10.00	0.200	1.065	0.075	0.747	0.072	72.010	7,201.041	7.201	72.662	0.703
		R2	0.0115	11.50	10.38	10.00	0.200	1.073	0.075	0.753	0.073	72.569	7,256.890	7.257		
		R3	0.0115	11.50	10.38	10.00	0.200	1.085	0.076	0.762	0.073	73.407	7,340.664	7.341		
CORTEZA	H6	R1	0.0115	11.50	10.37	10.00	0.200	1.053	0.074	0.739	0.071	71.213	7,121.280	7.121	70.770	0.496
		R2	0.0115	11.50	10.37	10.00	0.200	1.048	0.073	0.735	0.071	70.864	7,086.355	7.086		
		R3	0.0115	11.50	10.37	10.00	0.200	1.039	0.073	0.728	0.070	70.235	7,023.489	7.023		
CORTEZA	H7	R1	0.0116	11.60	10.68	10.00	0.200	0.318	0.021	0.206	0.019	41.145	4,114.500	4.115	40.315	0.784
		R2	0.0116	11.60	10.68	10.00	0.200	0.313	0.020	0.202	0.019	40.212	4,021.200	4.021		
		R3	0.0116	11.60	10.68	10.00	0.200	0.308	0.020	0.199	0.019	39.587	3,958.700	3.959		
CORTEZA	H8	R1	0.0115	11.50	10.59	10.00	0.200	0.340	0.022	0.222	0.021	73.945	7,394.500	7.395	72.971	0.984
		R2	0.0115	11.50	10.59	10.00	0.200	0.320	0.021	0.208	0.020	71.978	7,197.800	7.198		
		R3	0.0115	11.50	10.59	10.00	0.200	0.313	0.020	0.202	0.019	72.990	7,299.000	7.299		
CORTEZA	H9	R1	0.0115	11.50	10.59	10.00	0.200	1.095	0.077	0.769	0.073	72.613	7,261.294	7.261	71.815	0.787
		R2	0.0115	11.50	10.59	10.00	0.200	1.083	0.076	0.760	0.072	71.792	7,179.207	7.179		
		R3	0.0115	11.50	10.59	10.00	0.200	1.072	0.075	0.752	0.071	71.040	7,103.960	7.104		
CORTEZA	H10	R1	0.0115	11.50	10.52	10.00	0.200	1.049	0.074	0.736	0.070	69.907	6,990.740	6.991	69.150	0.664
		R2	0.0115	11.50	10.52	10.00	0.200	1.034	0.072	0.725	0.069	68.875	6,887.480	6.887		
		R3	0.0115	11.50	10.52	10.00	0.200	1.031	0.072	0.723	0.069	68.668	6,866.828	6.867		
CORTEZA	H11	R1	0.0115	11.50	10.54	10.00	0.200	1.047	0.073	0.734	0.070	69.632	6,963.178	6.963	69.151	0.611
		R2	0.0115	11.50	10.54	10.00	0.200	1.030	0.072	0.722	0.068	68.464	6,846.381	6.846		
		R3	0.0115	11.50	10.54	10.00	0.200	1.043	0.073	0.731	0.069	69.357	6,935.697	6.936		
CORTEZA	H12	R1	0.0116	11.60	10.64	10.00	0.200	1.082	0.076	0.760	0.071	71.395	7,139.496	7.139	70.782	0.785
		R2	0.0116	11.60	10.64	10.00	0.200	1.077	0.076	0.756	0.071	71.054	7,105.449	7.105		
		R3	0.0116	11.60	10.64	10.00	0.200	1.060	0.074	0.744	0.070	69.897	6,989.692	6.990		
CORTEZA	H13	R1	0.0116	11.60	10.64	10.00	0.200	1.092	0.077	0.767	0.072	72.076	7,207.588	7.208	71.395	0.901
		R2	0.0116	11.60	10.64	10.00	0.200	1.087	0.076	0.763	0.072	71.735	7,173.542	7.174		
		R3	0.0116	11.60	10.64	10.00	0.200	1.067	0.075	0.749	0.070	70.374	7,037.357	7.037		

RESULTADOS DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE ABTS DE CORTEZA DE CHUCHUHUASI

N	Tiempo	PESO MUESTRA (g)	MATERIA SECA (mg)	VOLUMEN SOLVENTE (ml)	ALICUOTA EN TUBO (ul)	LECTURA BLANCO (734nm ABS)	LECTURA MUESTRA (734 nm ABS)	% RADICAL ABTS	CAPACIDAD ANTIOXIDANTE (μmol)	CAPACIDAD DE ANTIOXIDANTE DE MATERIA SECA (umol)	MEDIA DE MATERIA SECA (μmol)	DESVEST
A1	3.6	0.0254	0.041	2.5	0.020	0.702	0.021	97.009	0.039	120.32	121.02	0.83
		0.0251	0.040	2.5	0.020	0.702	0.020	97.151	0.039	121.93		
		0.0253	0.041	2.5	0.020	0.702	0.021	97.009	0.039	120.80		
A2	6.4	0.0252	0.040	2.5	0.020	0.702	0.074	89.459	0.036	112.06	112.30	0.41
		0.0250	0.040	2.5	0.020	0.702	0.075	89.316	0.036	112.78		
		0.0250	0.040	2.5	0.020	0.702	0.079	88.746	0.036	112.08		
E3	3.6	0.0255	0.041	2.5	0.020	0.702	0.036	94.872	0.038	117.27	116.62	2.32
		0.0258	0.041	2.5	0.020	0.702	0.047	93.305	0.038	114.04		
		0.0253	0.041	2.5	0.020	0.702	0.034	95.157	0.039	118.54		
E4	6.4	0.0250	0.040	2.5	0.020	0.702	0.015	97.863	0.040	123.30	122.37	1.08
		0.0251	0.040	2.5	0.020	0.702	0.016	97.721	0.040	122.63		
		0.0254	0.041	2.5	0.020	0.702	0.016	97.721	0.040	121.18		
H5	3	0.0250	0.040	2.5	0.020	0.702	0.117	83.333	0.034	105.41	105.53	0.20
		0.0250	0.040	2.5	0.020	0.702	0.115	83.618	0.034	105.77		
		0.0250	0.040	2.5	0.020	0.702	0.117	83.333	0.034	105.41		
H6	7	0.0253	0.041	2.5	0.020	0.702	0.133	81.054	0.033	101.39	100.64	1.30
		0.0253	0.041	2.5	0.020	0.702	0.133	81.054	0.033	101.39		
		0.0257	0.041	2.5	0.020	0.702	0.137	80.484	0.033	99.13		
A7	5	0.0250	0.040	2.5	0.020	0.702	0.046	93.447	0.038	117.86	118.73	1.52
		0.0250	0.040	2.5	0.020	0.702	0.031	95.584	0.039	120.49		
		0.0253	0.041	2.5	0.020	0.702	0.038	94.587	0.038	117.85		
E8	5	0.0253	0.041	2.5	0.020	0.702	0.016	97.721	0.040	121.66	121.03	1.83
		0.0258	0.041	2.5	0.020	0.702	0.018	97.436	0.039	118.96		
		0.0251	0.040	2.5	0.020	0.702	0.017	97.578	0.040	122.46		
H9	5	0.0258	0.041	2.5	0.020	0.702	0.108	84.615	0.034	103.67	104.75	1.27
		0.0257	0.041	2.5	0.020	0.702	0.106	84.900	0.034	104.42		
		0.0252	0.040	2.5	0.020	0.702	0.108	84.615	0.034	106.14		
H10	5	0.0258	0.041	2.5	0.020	0.702	0.1082	84.587	0.034	103.64	105.43	1.57
		0.0251	0.040	2.5	0.020	0.702	0.108	84.615	0.034	106.57		
		0.0252	0.040	2.5	0.020	0.702	0.1083	84.573	0.034	106.09		
H11	5	0.0250	0.040	2.5	0.020	0.702	0.1079	84.630	0.034	107.01	106.33	0.62
		0.0253	0.041	2.5	0.020	0.702	0.108	84.687	0.034	105.81		
		0.0252	0.040	2.5	0.020	0.702	0.1079	84.630	0.034	106.16		
H12	5	0.0252	0.040	2.5	0.020	0.702	0.1074	84.701	0.034	106.25	106.55	0.41
		0.0251	0.040	2.5	0.020	0.702	0.109	84.473	0.034	106.39		
		0.0250	0.040	2.5	0.020	0.702	0.1079	84.630	0.034	107.01		
H13	5	0.0252	0.040	2.5	0.020	0.702	0.1074	84.701	0.034	106.25	106.36	0.68
		0.0250	0.040	2.5	0.020	0.702	0.108	84.687	0.034	107.08		
		0.0253	0.041	2.5	0.020	0.702	0.1079	84.630	0.034	105.74		

RESULTADOS DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DPPH DE CORTEZA DE CHUCHUHUASI

N	Tiempo	PESO MUESTRA (g)	MATERIA SECA (mg)	VOLUMEN SOLVENTE (ml)	ALICUOTA EN TUBO (ul)	LECTURA BLANCO (515nm ABS)	LECTURA MUESTRA (515 nm ABS)	% RADICAL DPPH	CAPACIDAD ANTIOXIDANTE (umol)	CAPACIDAD DE ANTIXIDANTE DE MATERIA SECA (umol)	MEDIA DE MATERIA SECA (umol)	DESVEST
A1	3.6	0.0253	0.041	2.5	0.500	0.805	0.393	51.180	0.129	15.92	15.98	0.06
		0.0252	0.040	2.5	0.500	0.805	0.393	51.180	0.129	15.99		
		0.0254	0.041	2.5	0.500	0.805	0.389	51.677	0.131	16.03		
A2	6.4	0.0254	0.041	2.5	0.500	0.805	0.257	68.075	0.177	21.74	21.97	0.60
		0.0253	0.041	2.5	0.500	0.805	0.238	70.435	0.184	22.65		
		0.0257	0.041	2.5	0.500	0.805	0.256	68.199	0.178	21.53		
E3	3.6	0.0251	0.040	2.5	0.500	0.805	0.243	69.814	0.182	22.61	22.90	0.58
		0.0253	0.041	2.5	0.500	0.805	0.241	70.062	0.183	22.52		
		0.0251	0.040	2.5	0.500	0.805	0.221	72.547	0.190	23.58		
E4	6.4	0.0251	0.040	2.5	0.500	0.805	0.348	56.770	0.145	18.02	17.94	0.32
		0.0254	0.041	2.5	0.500	0.805	0.353	56.149	0.144	17.59		
		0.0252	0.040	2.5	0.500	0.805	0.342	57.516	0.147	18.21		
H5	3	0.0254	0.041	2.5	0.500	0.805	0.513	36.273	0.087	10.67	9.25	1.53
		0.0250	0.040	2.5	0.500	0.805	0.586	27.205	0.061	7.63		
		0.0250	0.040	2.5	0.500	0.805	0.545	32.298	0.076	9.43		
H6	7	0.0250	0.040	2.5	0.500	0.805	0.593	26.335	0.059	7.32	10.98	3.49
		0.0250	0.040	2.5	0.500	0.805	0.435	45.963	0.115	14.27		
		0.0257	0.041	2.5	0.500	0.805	0.494	38.634	0.094	11.36		
A7	5	0.0257	0.041	2.5	0.500	0.805	0.424	47.329	0.119	14.35	14.42	0.07
		0.0250	0.040	2.5	0.500	0.805	0.430	46.584	0.116	14.49		
		0.0252	0.040	2.5	0.500	0.805	0.429	46.708	0.117	14.42		
E8	5	0.0250	0.040	2.5	0.500	0.805	0.197	75.528	0.199	24.73	24.52	0.78
		0.0253	0.041	2.5	0.500	0.805	0.180	77.640	0.205	25.17		
		0.0259	0.042	2.5	0.500	0.805	0.202	74.907	0.197	23.65		
H9	5	0.0252	0.040	2.5	0.500	0.805	0.5122	36.373	0.087	10.79	10.37	0.51
		0.0256	0.041	2.5	0.500	0.805	0.5148	36.050	0.086	10.51		
		0.0259	0.042	2.5	0.500	0.805	0.5287	34.323	0.082	9.80		
H10	5	0.0252	0.040	2.5	0.500	0.805	0.5395	32.981	0.078	9.60	9.81	0.22
		0.0256	0.041	2.5	0.500	0.805	0.5258	34.683	0.083	10.04		
		0.0259	0.042	2.5	0.500	0.805	0.5287	34.323	0.082	9.80		
H11	5	0.0252	0.040	2.5	0.500	0.805	0.5195	35.466	0.085	10.47	10.24	0.39
		0.0256	0.041	2.5	0.500	0.805	0.5158	35.925	0.086	10.47		
		0.0259	0.042	2.5	0.500	0.805	0.5287	34.323	0.082	9.80		
H12	5	0.0252	0.040	2.5	0.500	0.805	0.5395	32.981	0.078	9.60	10.09	0.53
		0.0256	0.041	2.5	0.500	0.805	0.5258	34.683	0.083	10.04		
		0.0259	0.042	2.5	0.500	0.805	0.5087	36.807	0.089	10.65		
H13	5	0.0252	0.040	2.5	0.500	0.805	0.5395	32.981	0.078	9.60	9.67	0.34
		0.0256	0.041	2.5	0.500	0.805	0.5258	34.683	0.083	10.04		
		0.0259	0.042	2.5	0.500	0.805	0.5387	33.081	0.078	9.37		