

Capacidad antioxidante de extractos atomizados y liofilizados de hojas de *Piper aduncum* L. y *Oenothera rosea* L'Hér ex Aiton.

Antioxidant capacity of atomized and lyophilized of leaves of *Piper aduncum* L. and *Oenothera rosea* L'Hér ex Aiton.

Enrique Javier Aguilar Felices¹

Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, Ayacucho

<https://orcid.org/0000-0002-6565-4756>

enrique.aguilar@unsch.edu.pe

Edwin Carlos Enciso Roca

Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, Ayacucho

<https://orcid.org/0000-0003-4089-5905>

edwin.enciso@unsch.edu.pe

Roxana León Aronés

Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, Ayacucho

<https://orcid.org/0009-0007-3478-1561>

roxana.leon@unsch.edu.pe

Gabriela Bellido Mújica

Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, Ayacucho

<https://orcid.org/0000-0002-2311-3417>

gabriela.bellido@unsch.edu.pe

Rubén Alarcón Felices

Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, Ayacucho

<https://orcid.org/0009-0006-0108-9838>

ruben.alarcon@unsch.edu.pe

Fernando Cisneros Ayala

Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, Ayacucho

<https://orcid.org/0009-0000-2411-8538>

fernando.cisneros@unsch.edu.pe

Unidad de Investigación e Innovación de Ciencias de la Salud. Grupo de Investigación en Nutracéuticos Andinos y Tropicales (NUTRATROP). Área de Ciencias de la Salud. Línea de Investigación en Innovación, Desarrollo y Gestión de Tecnologías Farmacéuticas.

¹ Doctor en Farmacia y Bioquímica, docente del área académica de Farmacia y Bioquímica, departamento académico de Medicina Humana.

Resumen

El presente trabajo de investigación se desarrolló con el objetivo de evaluar la capacidad antioxidante de extractos atomizado y liofilizados obtenidos del extracto hidroalcohólico de hojas de *Piper aduncum* L. y de *Oenothera rosea* L'Hér ex Aiton, para el cual se utilizó como agentes encapsulantes a la maltodextrina, goma arábica y una mezcla proporcional de ambos.

Se determinó el contenido de fenoles totales, flavonoides totales y la capacidad antioxidante se realizó utilizando los ensayos de DPPH, ABTS y FRAP. El liofilizado y atomizado de *O. rosea* mostraron mayor contenido de fenoles totales ($p < 0,05$) y flavonoides ($p < 0,05$); asimismo, tuvieron buena actividad en los ensayos de ABTS ($p < 0,05$) y FRAP ($p < 0,05$); mientras que, el liofilizado de *P. aduncum*, mostró mejor actividad en el ensayo de DPPH.

Palabras clave: *P. aduncum*, *O. rosea*, atomización, liofilización, capacidad antioxidante.

Abstract

The present research work was developed with the objective of evaluating the antioxidant capacity of atomized and lyophilized extracts obtained from the hydroalcoholic extract of *Piper aduncum* L. and *Oenothera rosea* L'Hér ex Aiton leaves, for which maltodextrin, gum arabic and a proportional mixture of both were used as encapsulating agents. The content of total phenols, total flavonoids and antioxidant capacity was determined using the DPPH, ABTS and FRAP assays. The freeze-dried and atomized *O. rosea* showed higher contents of total phenols ($p < 0.05$) and flavonoids ($p < 0.05$); likewise, they had good activity in the ABTS ($p < 0.05$) and FRAP ($p < 0.05$) assays; while the freeze-dried *P. aduncum* showed better activity in the DPPH assay.

Key words: *P. aduncum*, *O. rosea*, spray – dried, freeze – dried, antioxidant capacity

I. Introducción

Las hojas de *Piper aduncum* L. (Piperaceae) son ampliamente utilizadas como emplastos en casos de golpes e inflamaciones¹, y se ha descrito que contienen diversos metabolitos secundarios, entre los cuales, destacan los compuestos fenólicos, asimismo, se ha demostrado que tiene actividad antiséptica, hemostática (control de hemorragias), astringente, estimulante digestivo, diurética, antipalúdica, sedante, laxante, para el tratamiento de las hemorroides, gonorrea, leucorrea (flujo vaginal), cólicos menstruales, diarrea, disentería y dolor de muelas². Las hojas de *Oenothera rosea* L'Hér ex Aiton (Onagraceae), también son utilizadas para el tratamiento de golpes y hematomas; se ha descrito que contienen compuestos fenólicos como luteolina, rutina, miricetin – 3 – O – β – glucósido, tamarixetin – 3 – O – glucósido

y apigenina, asimismo, se ha descrito su uso para traumatismos, cicatrización de heridas, contusiones, enfermedades hepáticas y renales, contra la tos, diarrea, dolor de cabeza, inflamación, infecciones de la piel y trastornos estomacales^{3,4}.

La utilización de agentes para mejorar la estabilidad y la biodisponibilidad de los extractos y principios activos extraídos de matrices vegetales, se ha incrementado en los últimos años, proceso que ha venido en llamarse “encapsulados” o más precisamente “microencapsulados”⁵. Por tanto, es de interés realizar investigaciones que sirvan para determinar las características de los microencapsulados, utilizando extractos vegetales como sus núcleos y evaluando alguna propiedad relevante del “núcleo” que es considerado como su parte activa. La microencapsulación es una tecnología, en

el cual, sustancias en estado sólido, líquido o gaseoso, son atrapados por una matriz continúa de materiales poliméricos (también llamado pared o caparazón), produciendo partículas con un tamaño de distribución en un rango de 1 – 5000 μm . Se considera como un método efectivo para incorporar compuestos bioactivos ambientalmente sensibles en pequeñas cápsulas para incrementar su estabilidad y biodisponibilidad. Entre los métodos de microencapsulación se encuentran la atomización y liofilización⁵. La maltodextrina es un producto derivado de la hidrólisis parcial del almidón, utilizado como agente de microencapsulación, conservando su color, aroma y sabor, mejorando su solubilidad y estabilidad, proporcionando una liberación sostenida de su núcleo⁶, mientras que, la goma arábiga es un exudado de especies del género *Acacia*, en especial de *Acacia Senegal* L., constituyendo un polisacárido complejo y ramificado, de carácter neutro o ácido, posee propiedades aniónicas e hidrofílicas y son utilizadas en la industria alimentaria para formar emulsiones. Por otro lado, sus propiedades encapsulantes pueden mejorarse, cuando se mezclan con maltodextrina en proporciones definidas⁷.

No existen reportes sobre el encapsulado de extractos obtenidos de las hojas de *Piper aduncum* L. y *O. rosea* L'Hér ex Aiton y la determinación de sus propiedades, por tanto, el objetivo de la presente investigación fue determinar el contenido de fenoles totales, flavonoides y su capacidad antioxidante de los extractos atomizados y liofilizados de las hojas de ambas especies utilizando los ensayos del 1,1 – difenil – picril – hidrazilo (DPPH), ácido 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico) (ABTS) y el poder antioxidante reductor del hierro (FRAP), para el cual, se utilizaron como agentes de encapsulación a la maltodextrina y la goma arábiga.

II. Material y Métodos

2.1 Lugar de ejecución

Laboratorios de Farmacognosia y Toxicología de la Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, Av. Independencia s/n Ciudad Universitaria.

2.2 Muestra

Un kg de hojas de *Piper aduncum* L., y de *Oenothera rosea* L'Hér ex Aiton, adquiridas en buen estado en el mercado “Nery García Zarate” de la ciudad de Ayacucho. El tipo de muestreo fue por conveniencia.

2.3 Recolección y selección de las muestras

Fueron colectadas manualmente entre los meses de abril a junio del 2024, seleccionándose las que se encontraban en buen estado. La certificación botánica fue realizada por la especialista en taxonomía y sistemática de plantas Bióloga Laura Aucasime Medina. Las muestras fueron desecadas a medio ambiente, protegidos de la luz sobre papel y luego en una estufa a 40°C hasta sequedad. Estas fueron molidas utilizando un molino doméstico (licuadora) y conservadas en frascos ámbar en refrigeración hasta su uso.

2.4 Obtención de los extractos hidroalcohólicos

100 g de muestra desecada fueron extraídos con un litro de alcohol etílico al 80%, siendo el método de extracción por maceración simple. Se filtró y se volvió a repetir el mismo proceso con el residuo sólido restante. Se reunieron los filtrados y se concentró en un evaporador rotatorio BUCHI 3000 hasta reducir el volumen y; luego desecados en una estufa MEMMERT a 40° hasta sequedad. Los extractos secos fueron conservados en frascos ámbar en una refrigeradora hasta su uso.

2.5 Obtención del extracto atomizado

10 g del extracto desecado, se añadió 100 mL de maltodextrina DE10 (MD) al 10%, se homogenizó utilizando un agitador magnético y luego llevado al equipo de atomización (OLT-SD8000B) hasta la obtención del correspondiente atomizado, las

condiciones de atomización fueron 150°C de temperatura, flujo de alimentación al 10% y la concentración de sólidos totales 12%. Se siguió el mismo procedimiento con la goma arábica (GA) al 10% y la mezcla de MD y GA (1:1) al 10%. Los extractos atomizados obtenidos fueron almacenados en frascos ámbar en una refrigeradora antes de su uso.

2.6 Obtención del extracto liofilizado

10 g del extracto desecado, se añadió 100 mL de maltodextrina DE10 (MD) al 10%, se homogenizó utilizando un agitador magnético y luego llevados al equipo de liofilización hasta la obtención del correspondiente extracto liofilizado, las condiciones de liofilización fueron congelación y sublimación por 48 h a -60°C. Se siguió el mismo procedimiento con la goma arábica (GA) al 10% y la mezcla de MD y GA (1:1) al 10%. Los extractos liofilizados obtenidos fueron almacenados en frascos ámbar en refrigeración antes de su uso.

2.7 Preparación de las muestras para los ensayos

Para los ensayos, las muestras de los extractos atomizados y liofilizados fueron preparadas a la concentración de 1 mg/mL en metanol.

2.8 Determinación del contenido de fenoles totales

Fue determinado por el método espectrofotométrico a una longitud de onda de 725 nm, el cual, se fundamenta en la reducción del ácido fosfomolibdico contenido en el reactivo de Folin – Ciocalteu (Merck ®). La curva de calibración del estándar fue preparada con ácido gálico (0,00; 0,05; 0,10; 0,15; 0,20; 0,25 y 0,30 mg/mL respectivamente). Los resultados son expresados como mg equivalentes de ácido gálico por gramo de muestra (mg GAE/g de muestra)⁸.

2.9 Determinación del contenido de flavonoides

Fue determinado por el método espectrofotométrico realizando lecturas a 510 nm, el cual, se fundamenta en la formación de un complejo coloreado con cloruro de

aluminio en medio alcalino. La curva de calibración del estándar fue preparada utilizando quercetina (8,0; 16,0; 24,0; 32,0 y 40,0 mg/mL respectivamente). Los resultados son expresados como mg equivalentes de quercetina/g de muestra (mg QE/g de muestra)⁹

2.2 Determinación de la capacidad antioxidante

2.2.1 Actividad secuestradora del radical libre DPPH

Se siguió el método de Brand – Williams et al., con algunas modificaciones realizadas por Thaipong et al⁸. Se preparó una curva de calibración utilizando Trolox a las concentraciones de 25 a 800 µmoles y las lecturas se realizaron a 515 nm. Los resultados son expresados como µmoles equivalentes a Trolox por gramo de muestra (µmoles ET/g de muestra).

2.2.3 Actividad secuestradora del radical libre ABTS

Se utilizó el protocolo propuesto por Arnao et al., con algunas modificaciones de Thaipong et al⁸. Una curva de calibración fue preparada con Trolox (25 – 600 µmoles) y se realizó las lecturas a 734 nm. Los resultados también son expresados en µmoles equivalentes a Trolox por gramo de muestra (µmoles ET/g de muestra).

2.2.4 Poder antioxidante reductor del hierro (FRAP)

Se aplicó el procedimiento descrito por Benzie y Strain modificada por Thaipong et al⁸. La curva de calibración se preparó con Trolox (25 – 800 µmoles) y se leyó las absorbancias a 593 nm. Los resultados se presentaron como µmoles equivalentes de Trolox por gramo de muestras (µmoles ET/g de extracto).

2.3 Análisis de datos

Los resultados son expresados como media ± desviación estándar de tres determinaciones para la determinación de fenoles totales y flavonoides; así como, para los ensayos de capacidad antioxidante del extracto atomizado y liofilizado utilizando los tres agentes encapsulantes, respectivamente. Las

diferencias entre los grupos fueron analizadas por la prueba de ANOVA, se consideró significativo cuando $p < 0,05$; asimismo, se realizó la prueba de comparaciones múltiples de Scheffé entre los tratamientos, para establecer las semejanzas y diferencias entre ellos.

2.4 Consideraciones éticas y regulatorias.

Las hojas de *Piper aduncum* L. “mático” y *Oenothera rosea* L’Hér ex Aiton “yawar soqo” son productos vegetales de venta libre en los mercados de la ciudad de Ayacucho, por tanto, no crea ningún conflicto ético ni regulatorio.

III. Resultados y discusión

Tabla 1.

Contenido de fenoles totales y flavonoides de los extractos atomizados y liofilizados de los extractos hidroalcohólicos de hojas de P. aduncum L. y de O. rosea L’Hér ex Aiton.

Muestra	Método de encapsulación	Agente encapsulante	Fenoles totales (mg GAE/g de muestra)*	Flavonoides (mg QE/g de muestra)*	Relación flavonoides/fenoles totales
<i>P. aduncum</i> L.	Atomizado	MD	36,64 ± 0,56 ^{bc}	23,67 ± 0,99 ^b	0,65
		GA	34,15 ± 1,22 ^b	18,67 ± 0,93 ^a	0,35
		MD + GA	36,19 ± 2,69 ^{bc}	27,00 ± 1,41 ^c	0,75
	Liofilizado	MD	37,55 ± 1,14 ^d	29,22 ± 0,99 ^c	0,78
		GA	34,15 ± 1,49 ^b	18,67 ± 0,93 ^a	0,55
		MD + GA	27,58 ± 1,59 ^a	19,04 ± 2,16 ^a	0,69
<i>O. rosea</i> L’Hér ex Aiton.	Atomizado	MD	50,48 ± 1,72 ^c	33,11 ± 1,17 ^d	0,66
		GA	34,83 ± 1,14 ^a	20,33 ± 0,99 ^a	0,58
		MD + GA	38,46 ± 1,02 ^b	28,67 ± 1,36 ^c	0,75
	Liofilizado	MD	52,74 ± 2,22 ^{cd}	26,45 ± 0,93 ^{bc}	0,50
		GA	63,85 ± 2,00 ^e	40,70 ± 1,15 ^e	0,64
		MD + GA	54,10 ± 1,41 ^d	25,15 ± 0,91 ^b	0,46

MD: Maltodextrina 10%; GA: Goma arábica 10%; MD + GA: Maltodextrina + Goma arábica (1:1) 10%

* ANVA: $p < 0,05$

** **Prueba de Scheffé:** Las letras diferentes en superíndice, significan diferentes respuestas o diferencias significativas entre las muestras.

En la **tabla 1**, se aprecia que el extracto hidroalcohólico liofilizado y atomizado de las hojas de *O. rosea* L’Hér ex Aiton, mostró un mayor contenido de fenoles totales respecto a los extractos de hojas de *P. aduncum* L. Cuando se compara entre atomizado y liofilizado, en el caso de *O. rosea* L’Hér ex Aiton, se observa que se obtienen mejores resultados con el liofilizado utilizando goma arábica (63,85 ± 2,00 mg GAE/g de extracto), la mezcla de ambos (54,10 ± 1,41 mg GAE/g

de extracto) y maltodextrina (52,74 ± 2,22 mg GAE/g de extracto), mientras que, el atomizado con maltodextrina obtuvo el mejor resultado (50,48 ± 1,72 mg GAE/g de extracto), respectivamente. Asimismo, cuando se compara entre extracto atomizado y liofilizado de *P. aduncum* L, se muestra que, el liofilizado con maltodextrina mostró mayor contenido de fenoles totales (37,55 ± 1,14 mg GAE/g de extracto), por otro lado, también cabe resaltar que en el liofilizado hay una

tendencia a disminuir su contenido en relación al agente encapsulante utilizado. Estas diferencias fueron evaluadas estadísticamente entre atomizado y liofilizado del extracto hidroalcohólico de *O. rosea* L'Her ex Aiton, respecto a *P. aduncum* L (ANVA; $p < 0,05$), conjuntamente con la prueba de Scheffé, respectivamente.

Las investigaciones sugieren que la liofilización suele ser más eficaz que la atomización, para conservar los fenoles totales en los extractos de plantas medicinales, asimismo, la liofilización mantiene la integridad de los polifenoles, lo que resulta en una pérdida mínima durante el procesamiento y el almacenamiento. En un estudio sobre los polifenoles del vino tinto, la liofilización con maltodextrina DE10 al 20% casi no produjo ninguna pérdida total de polifenoles, y el producto final contenía 3,7 veces más, que la concentración encontrada en el vino original¹⁰. Por otro lado, también se ha demostrado que la liofilización con maltodextrina DE10 ofrece una mejor protección para los compuestos fenólicos en general cuando se utiliza como agente encapsulante¹¹. Del mismo modo, se observó que la liofilización conservaba mejor los compuestos bioactivos del polvo de pomelo (*Citrus paradisi* Macfad) en comparación con el secado por atomización¹². Sin embargo, el secado por atomización puede seguir siendo eficaz cuando es optimizado. En el caso de los extractos de *Hibiscus sabdariffa* L, el secado por atomización a 150°C con una proporción de 60:40 de goma arábica y maltodextrina produjo el mayor contenido total de fenoles y antocianinas¹³. Asimismo, en un estudio de microencapsulación con maltodextrina y goma arábica de extractos obtenidos a partir de la cáscara de “jocote” (*Spondias purpurea* L.), mediante atomización y liofilización, los mejores resultados fueron con goma arábica. El microencapsulado por atomización mostró una mayor eficiencia de encapsulación (98,83%) y mayor contenido de fenoles totales (476,82 mg GAE/g de muestra), que las obtenidas por liofilización; incluso su perfil de compuestos fenólicos fue diferente, en la atomización destacaron la presencia de rutina y miricetina,

mientras que, la quercetina y el kaempferol fueron más relevantes en el liofilizado. En cuanto, a la forma de las microcápsulas, fueron esféricas en el caso del atomizado e irregulares en el liofilizado¹⁴. Por otro lado, Hartiati y Mulyani¹⁵ sostienen que los fenoles totales se protegen mejor si se incrementa la concentración de maltodextrina. Evaluaron el contenido de fenoles totales encapsulados con maltodextrina a las concentraciones de 15%, 20% y 25%; y temperaturas de secado a 45, 50 y 55 °C, respectivamente, obteniendo el mejor resultado con maltodextrina al 25% y una temperatura de secado a 45 °C. Sin embargo, cuando se compara con otros agentes encapsulantes como la goma de las semillas de “chia” (*Salvia hispánica* L.), esta última demuestra una mejor capacidad de conservar los fenoles totales que la maltodextrina y se aproxima al extracto natural¹⁶.

Asimismo, en la **tabla 1** también se muestra que, el contenido de flavonoides totales en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *O. rosea* L'Her ex Aiton, muestran un mayor contenido de flavonoides respecto a las hojas de *P. aduncum* L, tanto en atomizados y liofilizados. El liofilizado con goma arábica ($40,70 \pm 1,15$ mg QE/g de extracto) y el atomizado con maltodextrina ($33,11 \pm 1,17$ mg QE/g de extracto) de *O. rosea* mostraron mayor contenido de flavonoides, mientras que, el liofilizado con maltodextrina ($29,22 \pm 0,99$ mg QE/g de extracto) y el atomizado con la mezcla de maltodextrina y goma arábica ($27,00 \pm 1,41$ mg QE/g de extracto) de *Piper aduncum* L, mostraron mayor contenido de flavonoides, respectivamente. Estas diferencias fueron estadísticamente significativas (ANVA, $p < 0,05$), asimismo, la prueba de comparaciones múltiples de Scheffé, evidencia que todas las muestras tienen comportamientos estadísticamente diferentes. Aparentemente, la liofilización permite una mejor conservación de los flavonoides respecto a la atomización, asimismo, se ha demostrado que la liofilización conserva eficazmente la bioactividad de los flavonoides, ya que minimiza su exposición al calor y la humedad, las cuales, pueden degradar a

estos compuestos¹⁷. En el estudio realizado con extractos de *Abelmoschus esculentus* L., mostró que la liofilización conservó niveles más altos de fitoquímicos, incluidos los flavonoides, en comparación con otros métodos de secado¹⁸. También, se ha descrito que las técnicas de liofilización se destacan por su capacidad para conservar el valor nutricional del polen colectado por las abejas, con una reducción mínima de flavonoides¹⁹. Por otro lado, también se han descrito las limitaciones de la atomización, como es el caso de Chhabra et al.²⁰, quienes precisan que los métodos de atomización, si bien son útiles, suelen reducir la retención de flavonoides debido a la exposición a temperaturas más altas durante el proceso de secado. De la misma forma, De Benedictis et al.²¹, después de realizar el análisis comparativo de varias técnicas de secado señalan que la atomización puede no ser tan eficaz como la liofilización para conservar los fitoquímicos sensibles como los flavonoides, porque, si

bien la liofilización y la atomización pueden preservar los perfiles fenólicos, también, se ha descubierto que la abundancia relativa de ciertos flavonoides es mayor en los productos secados por atomización, sugiriendo que los métodos de atomización a veces pueden dar mejores resultados para compuestos concretos.

En consecuencia, si bien ambos métodos tienen sus aplicaciones, la liofilización es generalmente más eficaz para conservar los flavonoides, por lo que sería la opción preferida para mantener la integridad de estos compuestos valiosos, sin embargo, la elección del método también puede depender de los requisitos específicos del producto y de consideraciones de costo. Por otro lado, al determinar la proporción de flavonoides sobre el contenido de fenoles totales, se aprecia una disminución en relación al extracto original en ambos procesos de microencapsulación, pero no se encuentran diferencias apreciables entre atomización y liofilización.

Tabla 2.

Capacidad antioxidante de extractos atomizados y liofilizados del extracto hidroalcohólico de hojas de Piper aduncum L y de Oenothera rosea L'Hér x Aiton.

Muestra	Método de encapsulación	Agente encapsulante	DPPH (μM ET/g de muestra)*	ABTS (μM ET/g de muestra)*	FRAP (μM ET/g de muestra)*
<i>P. aduncum</i> L.	Atomizado	MD	297,81 $\pm$ 0,38 ^a	367,52 $\pm$ 0,54 ^b	258,71 $\pm$ 7,55 ^b
		GA	298,04 $\pm$ 0,67 ^a	364,13 $\pm$ 1,67 ^a	230,37 $\pm$ 3,67 ^a
		MD + GA	296,79 $\pm$ 0,27 ^a	364,67 $\pm$ 0,84 ^a	231,71 $\pm$ 6,12 ^a
	Liofilizado	MD	345,31 $\pm$ 1,20 ^d	371,21 $\pm$ 1,06 ^c	257,71 $\pm$ 4,27 ^b
		GA	339,84 $\pm$ 0,32 ^c	367,29 $\pm$ 1,64 ^b	253,71 $\pm$ 6,38 ^b
		MD + GA	334,52 $\pm$ 0,45 ^b	362,52 $\pm$ 0,98 ^a	226,37 $\pm$ 6,25 ^a
<i>O. rosea</i> L'Hér ex Aiton.	Atomizado	MD	301,93 $\pm$ 0,55 ^b	386,57 $\pm$ 0,51 ^c	285,04 $\pm$ 4,86 ^c
		GA	295,10 $\pm$ 0,67 ^a	366,99 $\pm$ 4,40 ^b	251,71 $\pm$ 3,88 ^a
		MD + GA	294,82 $\pm$ 0,65 ^a	361,15 $\pm$ 1,18 ^a	275,04 $\pm$ 8,07 ^{bc}
	Liofilizado	MD	303,92 $\pm$ 0,55 ^c	383,06 $\pm$ 1,00 ^c	265,04 $\pm$ 7,13 ^b
		GA	306,90 $\pm$ 0,29 ^d	386,93 $\pm$ 1,17 ^c	310,71 $\pm$ 4,68 ^d
		MD + GA	301,56 $\pm$ 0,32 ^b	368,89 $\pm$ 1,19 ^b	249,04 $\pm$ 2,10 ^a

MD: Maltodextrina 10%; GA: Goma arábica 10%; MD + GA: Maltodextrina + Goma arábica (1:1) 10%

* ANVA: $p < 0,05$

** **Prueba de Scheffé:** Las letras diferentes en superíndice, significan diferentes respuestas o diferencias significativas entre

las muestras.

En la **tabla 2**, se observa que el liofilizado del extracto hidroalcohólico de las hojas de *P. aduncum* L., muestra una mayor actividad secuestradora del radical libre DPPH respecto al atomizado; y del atomizado y liofilizado del extracto hidroalcohólico de las hojas de *O. rosea* L'Hér ex Aiton, El extracto liofilizado de *P. aduncum* L, utilizando maltodextrina como encapsulante, mostró mayor actividad ($345,31 \pm 1,20 \mu\text{M ET/g}$ de muestra), mientras que, la mezcla maltodextrina y goma arábica, mostraron menor actividad ($296,79 \pm 0,27 \mu\text{M ET/g}$ de muestra), respectivamente. Por otro lado, los extractos liofilizados del extracto hidroalcohólico de hojas de *O. rosea* L'Hér ex Ait., utilizando maltodextrina ($303,92 \pm 0,55 \mu\text{M ET/g}$ de muestra), goma arábica ($306,90 \pm 0,29 \mu\text{M ET/g}$ de muestra) y la mezcla maltodextrina y goma arábica ($301 \pm 0,32 \mu\text{M ET/g}$ de muestra), no evidenciaron diferencias, respectivamente. En este caso, el liofilizado del extracto hidroalcohólico de las hojas de *P. aduncum* L., conservó mejor su propiedad secuestradora del radical libre DPPH, independientemente del agente encapsulante utilizado en relación a las demás muestras. Existen diferencias estadísticas entre todos los ensayos realizados, resaltando una vez más que las diferencias entre los agentes encapsulantes maltodextrina, goma arábica, la mezcla de ambas, tanto en el liofilizado y el atomizado, son mayores en el caso del extracto hidroalcohólico de las hojas de *P. aduncum* L. (ANVA, $p < 0,05$) y la prueba de comparaciones múltiples de Scheffé, también confirma que todas las muestras tienen comportamientos diferentes.

Ácsóvá y col. (2019)²², sostienen que el método del DPPH es simple, muy sensible y fácilmente influenciado por varios factores, tales como la presencia y concentraciones de átomos de hidrógeno, cantidad del solvente utilizado, presencia de iones metálicos actuando catalíticamente y si el DPPH ha sido recientemente preparado. Lo que hace reactivo al DPPH es la presencia de un átomo de nitrógeno con un electrón desapareado en el centro de la molécula. Sin embargo, ésta

presenta una limitación estérica para grandes moléculas que no pueden inhibir la porción radical del radical DPPH localizado en su centro. Las pequeñas moléculas son hábiles para superar efectivamente la barrera estérica en la molécula de DPPH, entre las cuales, se tienen a la vitamina C y los fenoles simples. La reacción entre el fenol y el radical se puede ralentizar, si las cadenas laterales o grupos ácidos están conectados con el anillo aromático de los fenoles. Por tanto, se puede suponer que en el liofilizado del extracto hidroalcohólico de hojas de *P. aduncum* L., existen en general fenoles y otras moléculas pequeñas, que pueden acercarse al nitrógeno con electrón desapareado y ejercer su efecto antioxidante.

Este resultado aparentemente no es consistente con el contenido de fenoles totales y flavonoides descrito en la **tabla 1**, respectivamente, es decir que, teóricamente a mayor contenido de fenoles totales y flavonoides, mayor actividad secuestradora del radical libre DPPH. Sin embargo, el ensayo de DPPH evalúa la presencia de antioxidantes liposolubles principalmente porque se realiza en medio de metanol, por eso, existirían esas aparentes diferencias con el contenido de fenoles y flavonoides. La presencia de otros compuestos diferentes a los compuestos fenólicos, también podrían ejercer algún nivel de secuestro del radical libre. Se ha reportado que el extracto liofilizado de un subproducto de la extracción de aceite de las hojas de *Origanum vulgare* L., tiene mayor actividad secuestradora del radical libre DPPH, que el extracto atomizado, respectivamente²³.

También en la **tabla 2**, se muestra que el extracto liofilizado de las hojas de *O. rosea* L'Hér ex Aiton encapsulado con maltodextrina ($383,06 \pm 1,00 \mu\text{M ET/g}$ de muestra) y goma arábica ($386,93 \pm 1,17 \mu\text{M ET/g}$ de muestra), asimismo, el extracto atomizado con maltodextrina ($386,57 \pm 1,00 \mu\text{M ET/g}$ de muestra), tienen mayor actividad secuestradora del radical libre ABTS, respectivamente. En general se aprecia que, tanto el atomizado como el liofilizado

conservan su actividad secuestradora del radical ABTS, cuando se encapsulan con maltodextrina y goma arábica, pero disminuye su actividad cuando se encapsula con la mezcla de ambos agentes. Por otro lado, estos resultados son coherentes con lo mostrado en la **tabla 1**, en las cuales, el mayor contenido de fenoles totales se encuentra en el liofilizado encapsulado con goma arábica y la mezcla de maltodextrina más goma arábica y en el atomizado encapsulado con maltodextrina, para el extracto hidroalcohólico de las hojas de *O. rosea* L'Hér ex Aiton, en relación con los encapsulados obtenidos por atomización y liofilización del extracto hidroalcohólico de las hojas de *P. aduncum* L., utilizando los mismos agentes. Estas diferencias fueron corroboradas utilizando el estadístico ANVA ($p < 0,05$) y mediante la prueba de comparaciones múltiples de Scheffé.

Acsová y col. (2019)²², refieren que el ensayo del ABTS se aplica para evaluar antioxidantes hidrofílicos (polares) y lipofílicos (apolares), incluyendo carotenoides y flavonoides, principalmente por su solubilidad en agua y en otros solventes orgánicos. Asimismo, mencionan que puede cuantificarse actividad antioxidante en polifenoles (ácido cafeico, ácido ferúlico, ácido gálico, quercetina, rutina) presentes en la uva blanca y roja; también antocianinas, α – tocoferol, β – caroteno y vitamina C. Por tanto, con el ensayo de ABTS se ha ampliado el espectro de los antioxidantes evaluados en la presente investigación y nos permite tener una visión más amplia sobre la capacidad antioxidante de las muestras ensayadas conjuntamente con sus agentes encapsulantes.

Finalmente, en la **tabla 2** también se reportan los resultados del potencial reductor del hierro (FRAP), en el cual, se observa que el atomizado y liofilizado del extracto hidroalcohólico de las hojas de *O. rosea* L'Hér ex Aiton, tienen mejor actividad, destacando como agente encapsulante a la goma arábica en el liofilizado ($310,71 \pm 4,68 \mu\text{M ET/g}$ de muestra) y a la maltodextrina en el atomizado ($285,04 \pm 0,4 \mu\text{M ET/g}$ de muestra), en relación con las otras muestras ensayadas.

En ambas muestras, se aprecia que conservan esta actividad, pero las diferencias podrían deberse a la naturaleza química presente en cada uno de los extractos hidroalcohólicos de ambas especies, independientemente del agente encapsulante utilizado. Las diferencias estadísticas entre las muestras ensayadas fueron evaluadas utilizando el análisis de varianza (ANVA, $p < 0,05$) la prueba de comparaciones múltiples de Scheffé.

En consecuencia, podemos afirmar que el extracto hidroalcohólico de hojas de *Oenothera rosea* L'Hér ex Aiton demostró tener mayor contenido de fenoles totales y flavonoides, respecto al extracto hidroalcohólico de las hojas de *Piper aduncum* L., y esto se refleja en los procesos empleados para encapsularlos utilizando como agentes a la maltodextrina, la goma arábica y la mezcla proporcional de ambos. La maltodextrina es un homo polímero formado por unidades de glucosa con un pH 4,5 – 5,5, baja viscosidad, inodoro, mientras que, la goma arábica es un hetero polímero formado por D – galactosa, L – arabinosa, L – rhamnosa y ácido D – glucorónico, con un pH entre 4,5 – 5,0, baja viscosidad y alta solubilidad en agua, por tanto, ambos agentes tienen aproximadamente las mismas características físicas, diferenciándose solamente por sus características químicas. El liofilizado utilizando como agente encapsulante a la goma arábica del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Oenothera rosea*, demostró conservar mejor los fenoles totales y los flavonoides; con los ensayos ABTS y FRAP también demostraron tener mejor actividad antioxidante, sin embargo, para el ensayo del DPPH, el liofilizado del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Piper aduncum* L. tuvo mejor actividad utilizando como encapsulantes a la goma arábica, maltodextrina y la mezcla proporcional de ambos, respectivamente. En este último caso podría deberse a la composición química del extracto hidroalcohólico.

IV. Conclusiones

Se determinó la capacidad antioxidante in

vitro de los extractos atomizados y liofilizados obtenidos del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Piper aduncum* L. y *Oenothera rosea* L'Hér ex Aiton.

Los extractos atomizados y liofilizados obtenidos del extracto hidroalcohólico de hojas *O. rosea* L'Hér ex Aiton., mostraron mayor contenido de fenoles totales que los de *Piper aduncum* L. El liofilizado utilizando goma arábica como agente encapsulante obtuvo mayor contenido.

Los extractos atomizados y liofilizados obtenidos del extracto hidroalcohólico de hojas de *O. rosea* L'Hér ex Aiton, con excepción del liofilizado con maltodextrina, tuvieron mayor contenido de flavonoides totales, que los de *Piper aduncum* L. El liofilizado utilizando como agente encapsulante la goma arábica obtuvo mayor contenido.

El liofilizado del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Piper aduncum* L., utilizando como agentes encapsulantes a la maltodextrina y goma arábica; y la mezcla de ambos tuvieron mejor actividad en el ensayo del DPPH. En los ensayos del ABTS y FRAP, el liofilizado y atomizado del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Oenothera rosea* L'Hér ex Aiton tuvieron mejor actividad, con excepción del atomizado con la mezcla de maltodextrina y goma arábica en el ensayo del ABTS; y en ambos casos, el liofilizado utilizando como agente encapsulante la goma arábica obtuvo una mejor actividad.

V. Agradecimiento

A la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga por el financiamiento del presente proyecto de investigación aprobado con Resolución Vicerrectoral N° 008 – 2024 – UNSCH – VRI de fecha 09 de febrero de 2024.

VI. Contribuciones de los autores

Enrique Javier Aguilar Felices, diseño y ejecución del proyecto de investigación, análisis de resultados y redacción del informe final; **Edwin Carlos Enciso Roca**, revisión bibliográfica, ensayos de capacidad antioxidante de los extractos atomizados y

liofilizados; análisis de datos y redacción del informe final; **Roxana León Aronés**, recolección de muestra, obtención de extractos hidroalcohólicos, obtención de atomizados y liofilizados; **Gabriela Bellido Mújica**, recolección de muestra, preparación de materiales y reactivos, determinación del contenido de fenoles totales y flavonoides; **Rubén Alarcón Felices** y **Fernando Cisneros Ayala**, recolección y preparación de muestras vegetales, obtención de extractos hidroalcohólicos y preparación de materiales y reactivos.

VII. Referencias Bibliográficas

- Polesna L, Polesny Z, Clavo MZ, Hansson A, Kokoska L. Ethnopharmacological inventory of plants used in Coronel Portillo Province of Ucayali Department, Peru. Pharm Biol. 13 de febrero de 2011;49(2):125-36.
- Morais VP, Cabral FV, Fernandes CC, Miranda MLD. Brief Review on *Piper aduncum* L., its Bioactive Metabolites and its Potential to Develop Bioproducts. Brazilian Archives of Biology and Technology. 2023;66.
- Shawky EM, Elgindi MR, Ibrahim HA, Baky MH. The potential and outgoing trends in traditional, phytochemical, economical, and ethnopharmacological importance of family Onagraceae: A comprehensive review. J Ethnopharmacol. diciembre de 2021;281:114450.
- Márquez-Flores YK, Meléndez-Camargo ME, García-Mateos NJ, Huerta-Anaya MC, Pablo-Pérez SS, Silva-Torres R. Phytochemical composition and pharmacological evaluation of different extracts of *Oenothera rosea* L'Hér. ex Ait (Onagraceae) aerial part. South African Journal of Botany. mayo de 2018;116:245-50.
- Huang K, Yuan Y, Baojun X. A Critical Review on the Microencapsulation of Bioactive Compounds and Their Application. Food Reviews International. 4 de julio

- de 2023;39(5):2594-634.
- Xiao Z, Xia J, Zhao Q, Niu Y, Zhao D. Maltodextrin as wall material for microcapsules: A review. *Carbohydr Polym.* 2022;298(June).
- Al-Hamayda A, Abu-Jdayil B, Ayyash M, Tannous J. Advances in microencapsulation techniques using Arabic gum: A comprehensive review. *Ind Crops Prod.* diciembre de 2023;205:117556.
- Thaipong K, Boonprakob U, Crosby K, Cisneros-Zevallos L, Hawkins Byrne D. Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. *Journal of Food Composition and Analysis.* septiembre de 2006;19(6-7):669-75.
- Thangaraj P. Quantification of Secondary Metabolites. En: Thangaraj P, editor. *Pharmacological Assays of Plant-Based Natural Products.* First Edition. Tamil Nadu India: Springer; 2016. p. 49-55.
- Sanchez V, Baeza R, Galmarini M V., Zamora MC, Chirife J. Freeze-Drying Encapsulation of Red Wine Polyphenols in an Amorphous Matrix of Maltodextrin. *Food Bioproc Tech.* 26 de mayo de 2013;6(5):1350-4.
- Laureanti EJG, Paiva TS, de Matos Jorge LM, Jorge RMM. Microencapsulation of bioactive compound extracts using maltodextrin and gum arabic by spray and freeze-drying techniques. *Int J Biol Macromol.* diciembre de 2023;253:126969.
- Agudelo Sterling CM. Selección del mejor proceso para la obtención de pomelo en polvo (*Citrus Paradisi*) de alta calidad nutritiva, funcional y sensorial.
- Campo-Fernández M, Granja-Rizzo DF, Matute-Castro NL, Cuesta-Rubio O, Márquez-Hernández I. Microencapsulación mediante secado por atomización a partir de un extracto de los cálices de *Hibiscus sabdariffa* L.
- da Silva Júnior ME, Araújo MVRL, Martins ACS, dos Santos Lima M, da Silva FLH, Converti A, et al. Microencapsulation by spray-drying and freeze-drying of extract of phenolic compounds obtained from ciriguela peel. *Sci Rep.* 14 de septiembre de 2023;13(1):15222.
- Hartiati A, Mulyani S. The Effect of Maltodextrin Concentration and Drying Temperature to Antioxidant Content of Sinom Beverage Powder. *Agriculture and Agricultural Science Procedia.* 2015;3:231-4.
- Abdel-Aty AM, Gad AAM, Barakat AZ, Mohamed SA. Microencapsulation of antioxidant phenolics from tamarind seed peels using chia gum and maltodextrin. *Sci Rep.* 25 de febrero de 2025;15(1):6720.
- Xiang J, Mlambo R, Shaw I, Seid Y, Shah H, He Y, et al. Cryopreservation of bioflavonoid-rich plant sources and bioflavonoid-microcapsules: emerging technologies for preserving bioactivity and enhancing nutraceutical applications. *Front Nutr.* 14 de septiembre de 2023;10.
- Rababah TM, Al-U'datt MH, Angor M, Gammoh S, Abweni F, Magableh G, et al. Effect of Drying and Freezing on the Phytochemical Properties of Okra during Storage. *ACS Omega.* 26 de septiembre de 2023;8(38):34448-57.
- Castagna A, Benelli G, Conte G, Sgherri C, Signorini F, Nicoletta C, et al. Drying Techniques and Storage: Do They Affect the Nutritional Value of Bee-Collected Pollen? *Molecules.* 24 de octubre de 2020;25(21):4925.
- Chhabra N, Arora M, Garg D, Samota MK. Spray freeze drying - A synergistic drying technology and its applications in the food industry to preserve bioactive compounds. *Food Control.* enero de

2024;155:110099.

DeBenedictis JN, de Kok TM, van Breda SG. Impact of Processing Method and Storage Time on Phytochemical Concentrations in an Antioxidant-Rich Food Mixture. *Antioxidants*. 10 de junio de 2023;12(6):1252.

Ácsová A, Martiniaková S, Hojerová J. Selected *in vitro* methods to determine antioxidant activity of hydrophilic/lipophilic substances. *Acta Chimica Slovaca*. 1 de octubre de 2019;12(2):200-11.

Vareltzis P, Stergiou A, Kalinderi K, Chamilaki M. Antioxidant Potential of Spray- and Freeze-Dried Extract from Oregano Processing Wastes, Using an Optimized Ultrasound-Assisted Method. *Foods*. 7 de julio de 2023;12(13):2628.