

## EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE Y CONTENIDO FENÓLICO DEL ACEITE ESENCIAL DE HOJAS SECAS Y HÚMEDAS DE GUAVIDUCA (*Piper carpunya* Ruiz & Pav.)

Enríquez-Estrella, Miguel<sup>1</sup>@

<sup>1</sup> Universidad Estatal Amazónica. Facultad de Ciencias de la Tierra. Puyo, Ecuador.  
@menriquez@uea.edu.ec

Recibido: 25/05/2020  
Aceptado: 8/10/2020

**RESUMEN.** El presente estudio evaluó la capacidad antioxidante y contenido de compuestos fenólicos de la hoja cruda y seca de la Guaviduca (*Piper carpunya* Ruiz & Pav.), siendo la capacidad antioxidante determinada por el método FRAP (Ferric ion reducing antioxidant Power) y ABTS (Ácido 2,2 –azinobis (3-etilbenzotiazolin)-6-sulfónico), y el contenido de compuestos fenólicos totales usando el método Folin-Ciocalteu, como resultado evidenciamos que existe una elevada actividad fenólica en aceites esencial obtenido de las hojas húmedas así como la actividad antioxidante total por el método FRAP y ABTS. En conclusión, determinamos que la capacidad antioxidante obtenida por los 2 métodos FRAP Y ABTS esta correlacionada con el contenido de fenoles totales.

**PALABRAS CLAVE:** Tropical; bioactivos; flavonoides; comunidades; Amazonia;

**ABSTRACT. Evaluation of the antioxidant capacity and phenolic content of the essential oil of dry and humid leaves of Guaviduca (*Piper carpunya* Ruiz & Pav.).** The present study evaluated the antioxidant capacity and content of phenolic compounds of the raw and dry leaf of Guaviduca (*Piper carpunya* Ruiz & Pav.), being the antioxidant capacity determined by the FRAP method (Ferric ion reducing antioxidant Power) and ABTS (Acid 2,2 –Azinobis (3-ethylbenzothiazolin) -6-sulfonic), and the content of total phenolic compounds using the Folin-Ciocalteu method, as a result we show that there is a high phenolic activity in essential oils obtained from wet leaves as well as the total antioxidant activity by the FRAP and ABTS method. In conclusion, we determined that the antioxidant capacity obtained by the 2 methods FRAP and ABTS is correlated with the content of total phenols.

**KEY WORDS:** Tropical; bioactive; flavonoids; communities; Amazonia;

### INTRODUCCIÓN

Numerosos estudios en nutrición humana, demuestran una estrecha correlación entre el consumo de frutas y verduras y la menor incidencia de enfermedades crónico degenerativas, debido a su bajo contenido en colesterol y a la presencia de vitaminas, fibras, antioxidantes naturales y minerales (Murillo, 2002). Los compuestos fenólicos son metabolitos esenciales para el crecimiento y reproducción de las plantas y actúan como agentes protectores frente a patógenos, siendo secretados como mecanismo de defensa a

condiciones de estrés, tales como infecciones, radiaciones UV, entre otros, esta síntesis se da a partir de fenilalanina por la vía del shikimato. Juegan un rol vital en las plantas y regulan el metabolismo y síntesis de la lignina (Dixon & Paiva, 1995). Los compuestos fenólicos son un gran grupo de antioxidantes naturales; consumo de fuentes importantes, particularmente de frutas, vegetales y cereales presentan efectos benéficos (Naczak & Shahidi, 2006)

Los principales fenoles presentes en las hojas de té son los flavonoides, dentro de los cuales las catequinas constituyen hasta un 30 % de la materia seca. Dependiendo de la configuración estereoquímica del 3',4'- dihidroxifenil y de los grupos hidroxilos en la posición 2 y 3 del anillo C, las catequinas del té se encuentran formando 2 isómeros: transcatequinas y cis-epicatequinas.

#### Cómo citar este trabajo:

Enríquez-Estrella, M. (2021). Evaluación de la capacidad antioxidante y contenido fenólico del aceite esencial de hojas secas y húmedas de Guaviduca (*Piper carpunya* Ruiz & Pav.). *Semiárida*, 31(1), 09-15.



Cada uno de estos a su vez poseen dos isómeros ópticos: (+)- catequina y (-)-catequina, (-)-epicatequina y (+)-epicatequina, respectivamente. La (-)-catequina puede ser modificada por medio de una esterificación con ácido gálico para formar (-)-catequina-3-galato, (-)-epicatequina-3-galato, (-)-epigallocatequina-3-galato y (-)-galocatequina-3-galato (Friedman et al., 2005).

La Guaviduca crece en las comunidades cercanas a bosques tropicales de la región amazónica con una altura que oscila entre 500 a 100 msnm y en la región subtropical colindante entre la región sierra y costa entre los 500 a 1500 msnm, es utilizada para infusiones por los compuestos bioactivos que posee para problemas gastrointestinales y como aderezo y potenciador de sabor en la gastronomía de la zona (Enríquez, 2019).

La metodología más reconocida y aplicada para la determinación del contenido total de polifenoles es el ensayo de Folin-Ciocalteu (Proestos & Varzakas, 2017). Existen otras técnicas para la determinación actividad antioxidante total, entre estas se encuentran el método FRAP (Ferric ion reducing antioxidant Power) reportado por Benzi y Strain (1996) y el ABTS (ácido 2,2 -azinobis (3-etilbenzotiazolin)-6-sulfónico) informado por Re et al. (1999).

Actualmente, en la región amazónica del Ecuador se ha iniciado investigaciones sobre las propiedades funcionales de algunas especies vegetales. Sin embargo, no se aplicado en la industria de alimentos en la zona. Por tanto, el grupo de investigación de antioxidantes de la Facultad de Ciencias de la Tierra a emprendido el proceso de utilización de estos componentes en una primera fase, en el área de cárnicos (chorizos), por lo que es primordial conocer las características que presenta cada especie vegetal

El objetivo de la investigación

fue la evaluación de la capacidad antioxidante y el contenido fenólico, de la Guaviduca a partir del aceite esencial extraído de hojas secas y húmedas.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Localización

La investigación se llevó a cabo en los laboratorios de Química y Biología de la Universidad Estatal Amazónica, ubicada en el Km 2 ½ de la vía Puyo a Tena, paso lateral.

### Tipo de Investigación

Es una investigación tipo aplicada, la cual se fundamenta en la experimentación. Se emplearon métodos cuantitativos que permitieron controlar las variables independientes, se realizaron cálculos numéricos y análisis estadísticos para establecer modelos de comportamiento.

### Materiales

La especie vegetal fue recolectada en la zona tropical de la provincia de Chimborazo, a 1200 msm, mas específicamente en el canton Pallatanga (Figura 1).

### Métodos

#### Recolección

Se seleccionaron hojas simples, alternas y dísticas, de color verde oscuro en el haz y verde más pálido en el envés, lanceoladas hasta elípticas, el ápice acuminado; base aguda,



Figura 1. Ubicación geográfica del Cantón Pallatanga.

Figure 1. Geographic location of Canton Pallatanga.

predominantemente inequilátera, las láminas coriáceas, glabras, de 9 - 14 cm de longitud y 4 - 7 cm de ancho; nervios secundarios 2 - 3 pares, pinnados, oblicuos; en la mitad basal que ascienden hasta el ápice, y la mitad apical de la hoja posee 5 - 6 pares de nervios cortos, no ascendentes; los 2 - 3 pares basales forman un ángulo de 70° con respecto al nervio principal, los nervios terciarios moderadamente reticulados; peciolo de 8 - 10 mm de longitud, glabro, vaginado en la base. La recolección de la hoja se realiza a partir de los 365 días de vida de la planta.

#### **Deshidratado**

Para la obtención del follaje seco de la muestra se realizó un deshidratado a 65 °C por cinco horas.

#### **Extracción de aceite esencial**

Para la obtención del aceite esencial se utilizó el método de destilación por arrastre de vapor de agua, se lleva a cabo una vaporización selectiva del componente volátil, por medio de la inyección de vapor de agua directamente en el seno de la mezcla.

#### **Extracción de principios activos**

El material vegetal fue lavado con agua potable, secado en estufa (Barnstead International, EEUU) con recirculación de aire a una temperatura de 45 °C, pulverizado en molino de cuchillas (Thomas Scientific, EEUU) y luego tamizado, con el objetivo de garantizar un tamaño de partícula inferior a 0,5 mm, considerado adecuado para la posterior obtención de los extractos (Azwanida, 2015; Ph. Eur., 2017). El extracto de Guaviduca se realizó con el método de Extracción Asistida por Ultrasonido (Ultrasound Assisted Extraction – UAE) (Branson Ultrasonics, EEUU). Para la extracción se utilizó una mezcla etanol: agua en proporción 9:1, con una relación de 250 mL de disolvente por cada 50 g de muestra pulverizada. Las extracciones fueron realizadas por triplicado. Se trabajó a 35 °C durante una hora y posteriormente la mezcla fue filtrada a través de un filtro de Gooch y el extracto crudo obtenido fue concentrado con evaporador rotatorio (Büchi, Alemania) a temperatura de 45 °C y presión reducida de 600 mmHg hasta un

volumen final de 50 mL.

### **Métodos de análisis**

#### **1. Determinación de compuestos fenólicos**

##### **1.1. Fenoles totales**

La determinación de fenoles se realizó por el método colorimétrico de Follin-Ciocalteu diseñado por Singleton et al., 1965, 50 uL de muestra fueron adicionados a 125 uL del reactivo de Folin, y 400 uL de carbonato de Sodio 7,1 % (p/v), ajustando con agua destilada hasta 1000 uL, se realizó la lectura espectrofotométrica a 760 nm y se comparó con la curva patrón usando como estándar ácido gálico (fenol). Los resultados fueron expresados como mg de Ácido gálico Equivalente / 100 g de muestra.

##### **1.2. Flavonoides**

La determinación de flavonoides se realizó siguiendo el método colorimétrico diseñado por Marinova et al. (2005) con algunas modificaciones. 100 uL de muestra fueron mezclados con 30 uL de NaNO<sub>2</sub> al 5 % (p/v), 30 uL de AlCl<sub>3</sub> 10 % (p/v), 200 uL de NaOH a 1M y ajustados con agua destilada hasta un volumen final de 1000 uL, se realizó la lectura espectrofotométrica a 510 nm y se comparó con la curva patrón usando como estándar (+)-catequina. Los resultados fueron expresados como mg de Catequina Equivalente / 100 g de muestra.

##### **1.3. Taninos condensados**

Este método colorimétrico se fundamenta en la reacción de los taninos condensados con vainillina bajo condiciones ácidas como lo diseñó Hagerman et al. (1989): 230 uL de muestra fueron adicionados a 670 uL de una solución de vainillina recién preparada (1 g/100 ml) en ácido sulfúrico al 70 %. La mezcla se incubó a 20 °C durante 15 min y se realizó la lectura espectrofotométrica a 500 nm y se comparó con la curva patrón usando como estándar (+)-catequina. Los resultados fueron expresados como mg de Catequina Equivalente / 100 g de muestra.

##### **1.4. Ácidos Fenólicos**

Ácido elágico, ácido clorogénico y ácido p-Coumárico. El contenido de ácido elágico, ácido

clorogénico y ácido p-Coumárico para la muestra, se determinó mediante análisis por HPLC, según el protocolo modificado de Kelebek et al. (2009). El extracto acuoso se filtró (tamaño de poro 0,45 m) y se hicieron diluciones en agua supra-pura, antes de la inyección al cromatógrafo.

**Tabla 1.** Determinación de fenoles totales, curva patrón de ácido gálico a partir de una solución concentrada de 1 000 mg.L<sup>-1</sup>. Volumen final 10 mL (agua destilada). Fuente: Enríquez M. (2020)

**Table 1.** Determination of total phenols, gallic acid standard curve from a concentrated solution of 1000 mg.L<sup>-1</sup>. Final volume 10 mL (distilled water). Source: Enríquez M. (2020)

Componentes añadidos	Concentración de ácido gálico (mg.L <sup>-1</sup> )				
	5	10	15	20	25
Ácido gálico (uL)	50	100	150	200	250
Reactivo Folin-Ciocalteu (uL)	500	500	500	500	500
Disolución de carbonato de sodio 10 % (uL)	500	500	500	500	500

Para la implementación del ensayo de Folin-Ciocalteu (Proestos & Varzakas, 2017), previamente se construyó una curva de calibración haciendo diluciones sucesivas a partir de una disolución concentrada de 1000 mg.L<sup>-1</sup> de ácido gálico (estándar de referencia, tabla 1). A partir de esta disolución se prepararon 10 ml de cada una de las disoluciones diluidas de concentraciones crecientes de ácido gálico entre 5 y 25 mg.L<sup>-1</sup>. Para la determinación se tomaron 40 µl de la muestra en un matraz aforado de 10 ml y se añadieron 500 µl de reactivo Folin Ciocalteu. Se dejó en reposo

**Tabla 2.** Preparación de la curva patrón de trolox a partir de una disolución concentrada de 1 000 mg.L<sup>-1</sup>. Volumen final 10 mL (agua destilada). Fuente: Enríquez M. (2020)

**Table 2.** Preparation of the standard trolox curve from a concentrated solution of 1 000 mg.L<sup>-1</sup>. Final volume 10 mL (distilled water). Source: Enríquez M. (2020)

Componentes añadidos	Concentración de ácido gálico (mg.L <sup>-1</sup> )				
	5	10	15	20	25
Ácido gálico (uL)	10	20	25	30	35
Disolución FRAP (mL)	5	5	5	5	5

protegido de la luz por 10 minutos. Una vez terminado este tiempo, se añaden 500 µl de disolución de carbonato de sodio al 10 %, se completó el volumen a 10 ml con agua destilada. Se homogeneizó y se mantuvo en oscuridad por 2 horas, para finalizar con la medida de la absorbancia a 765 nm contra blanco de reactivos.

### Determinación de actividad antioxidante

**Método FRAP (Ferric ion reducing antioxidant Power):** En este método se mide la reducción de 2,4,6-Tripiridiltriiazina Férrica (TPTZ) a un producto coloreado por la actividad de compuestos antioxidantes (Benzi y Strain, 1996).

Para esta determinación se tomaron 80 µl de la muestra en un matraz aforado de 10 ml y se añadieron 5 mL de disolución de FRAP, se aforó con agua destilada. Se deja reposar, en una estufa a 37 °C, por 30 minutos y se lee la absorbancia a una longitud de onda de 593 nm contra blanco.

Para esta determinación se añadieron, en un matraz de 10 mL, 80 µL de muestra, y 5 mL de disolución de FRAP. Se dejó reposar, en una cámara oscura a 37 °C, por 30 minutos. Para finalmente medir la absorbancia a una longitud de onda de 593 nm contra blanco.

**Tabla 3.** Preparación de la curva patrón de trolox a partir de una disolución concentrada de 1 000 mg.L<sup>-1</sup>. Volumen final 10 mL (agua destilada). Fuente: Enríquez M. (2020)

**Table 3.** Preparation of the trolox standard curve from a concentrated solution of 1 000 mg.L<sup>-1</sup>. Final volume 10 mL (distilled water). Source: Enríquez M. (2020)

Componentes añadidos	Concentración de ácido gálico (mg.L <sup>-1</sup> )				
	5	10	15	20	25
Ácido gálico (uL)	20	30	40	50	60
Radical ABTS (mL)	2	2	2	2	2

**Método ABTS (Ácido 2,2 –azinobis (3-etilbenzotiazolin)-6-sulfónico):** Este se fundamenta en la capacidad de un antioxidante para estabilizar el radical catión coloreado

ABTS•, el cual es formado previamente por la oxidación del ABTS (2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolína-6-ácido sulfónico)) por metamioglobina y peróxido de hidrógeno. Los resultados son expresados como equivalentes de Trolox (Re et al., 1999).

Fue construida una curva de calibración haciendo diluciones sucesivas a partir de una disolución concentrada de 1000 mg.L<sup>-1</sup> de ácido gálico (Tabla 3). A partir de esta disolución se prepararon 10 ml de cada una de las disoluciones diluidas de concentraciones crecientes de ácido gálico entre 5 y 25 mg.L<sup>-1</sup>.

Para esta determinación se tomaron 40 µL de la muestra y se colocaron en la cubeta del espectrofotómetro. Se adicionaron 2 mL de la disolución del radical y se esperaron 7 minutos. Se realizó la lectura de absorbancia a una longitud de onda de 730 nm contra un blanco de etanol.

#### Análisis Estadístico

El experimento se condujo de acuerdo a dos factores (variables) el estado de la hoja y las técnicas de análisis.

Se obtuvieron un total de seis tratamientos con la variable de salida polifenoles totales y actividad antioxidante. Las técnicas de análisis usadas son anova y prueba de Tukey, con la determinación de intervalos de confianza para la media de la población.

Técnicas de análisis: Todos los análisis se hicieron con la aplicación del programa estadístico Infostat versión 1.0 para Windows (Di Rienzo et al., 2017).

**Tabla 4.** Actividad fenólica total según Foli-Ciocalteu y actividad antioxidante total por FRAP y ABTS a aceites esenciales de Guaviduca (*Piper carpunya* L) en muestras húmedas y secas.

**Table 4.** Total phenolic activity according to Foli-Ciocalteu and total antioxidant activity by FRAP and ABTS to essential oils of Guaviduca (*Piper carpunya* L) in wet and dry samples.

Muestras	Métodos (mg.L <sup>-1</sup> )		
	Folin-Ciocalteu	FRAP	ABTS
Hoja verde	23,72	13,26	0,31
Hoja seca	19,34	9,1	0,13

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la tabla 4 se muestran los resultados de actividad polifenólica por el método Folin-Ciocalteu y la actividad antioxidante totales estimadas según los métodos de FRAP y ABTS. Se observaron valores mayores, en todas las determinaciones, del aceite esencial obtenido de las muestras húmedas de las hojas de Guaviduca. Este comportamiento puede deberse a la degradación de los compuestos activos con actividad antioxidante y a la pérdida de aceites esenciales por el proceso de evaporación durante el secado.

En la tabla 4 se observa que el Folin extraído a partir de la hoja húmeda tiene diferencia significativa en relación a los demás métodos.

La diferencia significativa entre métodos (seco y húmedo, Tabla 5) se debe a la degradación de las plantas al momento de secado así como la humedad relativa del ambiente en el que se realiza los ensayos (Enríquez et al., 2018). Cerca del 20 % de las plantas del Ecuador se han utilizado en estudios farmacéuticos, lo que ha tenido un impacto positivo en el sistema de salud, como el tratamiento del cáncer y otras enfermedades nocivas (Nacz & Shahidi, 2006). Las plantas generan diversos compuestos bioactivos entre ellos polifenoles. Las altas concentraciones de fotoquímicos, que pueden proteger contra el daño de los radicales libres, se acumulan en frutas, verduras y plantas en general (Suffredini et al., 2004). Las plantas que contienen fotoquímicos beneficiosos pueden

**Tabla 5.** Evaluación estadística Test de Tukey.

**Table 5.** Statistical evaluation Tukey Test.

Tratamientos	N	Subconjunto para alfa = 0,05				
		1	2	3	4	5
ABTS seca	6	0,1267				
ABTS húmeda	6	0,314				
Frap seca	6		9,1035			
Frap húmeda	6			13,2698		
Folin seca	6				19,3372	
Folin húmeda	6					23,7246
Sig.		0,979	1	1	1	1
Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.						
a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 6,000.						

complementar las necesidades del cuerpo humano actuando como antioxidantes naturales (Boots et al., 2008). Compuestos fenólicos como flavonoides, taninos y ligninas, que se encuentran en las plantas, actúan como antioxidantes con eficacia (Suffredini et al., 2004). El consumo de frutas y verduras se ha relacionado con varios beneficios para la salud, como resultado de propiedades medicinales y alto valor nutricional (Valko et al., 2006). Los antioxidantes controlan y reducen el daño oxidativo en los alimentos al retrasar o inhibir la oxidación causada por las especies reactivas de oxígeno, lo que en última instancia aumenta la vida útil y la calidad de estos alimentos (Ames et al., 1993). El betacaroteno, el ácido ascórbico y muchos compuestos fenólicos desempeñan papeles dinámicos para retrasar el envejecimiento, reducir la inflamación y prevenir ciertos cánceres (Duthie et al., 1996).

La actividad antioxidante de una especie vegetal es la expresión de los diferentes componentes poli fenólicos, los cuales emplean diferentes mecanismos de acción para neutralizar las especies reactivas de oxígeno. (Zulueta et al., 2009).

Los contenidos poli fenólicos fueron mayores en relación al FRAP y ABTS, la diferencia sugiere que los compuestos antioxidantes presentes en las fracciones líquidas evaluadas son altamente hidrofílicas y estas son más sensibles a la técnica ABTS. El valor ABTS en el extracto acuoso fue menor al reportado por el poder reductor del método FRAP.

## CONCLUSIONES

La abundancia de las especies vegetales en el Ecuador, nos brinda la oportunidad de realizar estudios de compuestos bioactivos, en relación al aceite esencial de hojas secas y húmedas, revelo que los contenidos fenólicos y la actividad antioxidante de la especie vegetal tiene mejor rendimiento cuando se realiza con el aceite extraído de hojas secas, generando mejores resultados en la absorción del cuerpo humano de contenidos fitoquímicos, que ayudan al desarrollo metabólico.

La (*Piper carpunya* Ruiz & Pav.) al presentar una capacidad captadora de radicales libres, por

presencia de fenoles y flavonoides, se convierte en un aditivo natural que se incluiría en productos alimenticios para darle una funcionalidad y también como una alternativa para calmar dolores gastrointestinales.

## BIBLIOGRAFÍA

- Ames, B. N., Shigenaga, M. K. & Hagen, T. M. (1993). Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 90, 7915-7922. doi: 10.1073/pnas.90.17.7915.
- Benzie, I. & Strain, J. (1996) The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, 239(1), 70-76.
- Boots, A. W., Haenen, G. R. & Bast, A. (2008). Health effects of quercetin: From antioxidant to nutraceutical. *European Journal of Pharmacology*, 585, 325-337. doi: 10.1016/j.ejphar.2008.03.008
- Boada, C. (2006). El Choco Biogeográfico. *Revista Ecuador terra incógnita*, 40. Website: [http://www.terraecuador.net/revista\\_40/40\\_choco.htm](http://www.terraecuador.net/revista_40/40_choco.htm)
- Castillo Valdés, E. Y. (2014). Estudio preclínico de la guaviduca (*Piper carpunya*) de propiedades y efecto antiulceroso en ratas wista (Tesis para la obtención del título de Bioquímica-Farmacéutica), Escuela de Bioquímica y Farmacia, Facultad de Ciencias Químicas y de la Salud. Universidad Técnica de Machala. 99 p.
- CYTED (Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo). (1995). Página Web: [http://www.cytcd.org/es/Acciones\\_destacadas](http://www.cytcd.org/es/Acciones_destacadas).
- Da Silva, J., Da Trindade, R., Alves N., Figueiredo, P., Maia, J. & Setzer, W. (2017). Essential Oils from Neotropical *Piper* Species and Their Biological Activities. *International Journal of Molecular Sciences*, 18, 25-71. doi:10.3390/ijms1812257.
- De Vargas, F., Almeida, P., De Boleti, A., Pereira, M., De Souza, T., De Vasconcelos, M., Núñez, C., Pohlit, A. & Lima, E. (2016). Antioxidant activity and peroxidase inhibition of Amazonian plants extracts traditionally used as anti-inflammatory. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 16, 83. doi: 10.1186/s12906-016-1061-9.
- Di Rienzo, J. A., Casanoves, F., Balzarini, M. G., González, L. y Robledo, C. W. (2017). InfoStat v. 2017. Universidad Nacional de Córdoba. <http://www.infostat.com.ar/>
- Dixon, R. A. & Paiva, N. L. (1995). Stress-induced phenylpropanoid metabolism. *Plant Cell*, 7, 1085-1097.
- Duthie, S. J., Ma, A., Ross, M. A. & Collins, A. R. (1996). Antioxidant supplementation decreases oxidative DNA damage in human lymphocytes. *Cancer Research*, 56, 1291-1295.

- Enríquez, M., Pérez, M., Manobanda, P., Villafuerte, F., Yáñez, K., Ramos, M. & Morell, L. (2018). Antioxidant Activity and Differentiation of Essential Oils of Guaviduca (*Piper carpunya* L.) and Sacha Ajo (*Mansoa alliacea* L.). In: Arteaga, C., Franco, C., Silva, J. y Terán, D. (Eds.). 1st International Congress of Food Science and Biotechnology, Ambato, Italia, 25-29 June 2018
- Enríquez, M. y Pérez, M. (2019) Comportamiento antioxidante y polifenólico de la Guaviduca (*Piper carpunya* L.) en extracción seca y húmeda. *Revista Alimentos Ciencia e Ingeniería*, 27(1), 35-44. <https://revistas.uta.edu.ec/erevista/index.php/acil/article/view/926/874>
- Enríquez, M. Pérez, M., Torres, L., Sánchez, J., (2020) Formulación y evaluación de una infusión filtrante y aromatizante en base a hierba luisa y naranja. *Revista El Misionero del Agro*. 21 (1). 40-49.
- Friedman, M., Soo-Yeun, K., Sin-Jung, L., Gyeong-Phil, H., Jae-Sook, H., Kap-Rang, L. & Nobuyuke, K. (2005). Distribution of catechins, theaflavins, caffeine, and theobromine in 77 teas consumed in the united states. *Journal of Food Science*, 70, 550-559.
- García, A., Baenas, N., Benítez, A. M., Stinco, C. M., Meléndez-Martínez, A. J., Moreno, D. A. & Ruales J. (2017). Guayusa (*Ilex guayusa* L.) new tea: phenolic and carotenoid composition and antioxidant capacity. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 97: 3929–3936. doi: 10.1002/jsfa.8255.
- Hagerman, A. E. & Butler, L. G. (1989). Choosing appropriate methods and standards for assaying tannin. *Journal Chemistry Ecology*, 15(6), 1795-1810.
- Jakubowski, W. & Bartosz G. (1997). Estimation of oxidative stress in *Saccharomyces cerevisiae* with fluorescent probes. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 29, 1297-1301. doi: 10.1016/S1357-2725(97)00056-3.
- Lizcano, L., Siles, M., Trepiana, J., Hernández, L., Navarro, R., Ruiz, B. & Ruiz-Sanz, J. (2015). *Piper* and *Vismia* Species from Colombian Amazonia Differentially Affect Cell Proliferation of Hepatocarcinoma Cells. *Nutrients*, 7, 179-195. doi:10.3390/nu7010179.
- Marinova, D., Ribarova, F. & Atanassova, M. (2005) Total phenolics and total flavonoids in bulgarian fruits and vegetables. *Journal of the University of Chemical Technology and Metallurgy*, 40(3), 255-260.
- Murillo, E. (2002). Informe de la Actividad antioxidante de bebidas de frutas y de Té comercializadas en Costa Rica. Universidad de Panama - Instituto de Alimentación y Nutrición (IANUT).
- Naczki, M. & Shahidi, F. (2006). Phenolics in cereals, fruits and vegetables: Occurrence, extraction and analysis. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 41, 1523-1542. doi: 10.1016/j.jpba.2006.04.002.
- Proestos, C. & Varzakas, T. (2017). Aromatic Plants: Antioxidant Capacity and Polyphenol Characterisation. *Foods*, 6, 28. doi:10.3390/foods6040028.
- Quijano-Abril, M. A., Callejas-Posada, R. & Miranda-Esquível, D. R. (2006). Areas of endemism and distribution patterns for Neotropical *Piper* species (Piperaceae). *Journal of Biogeography*, 33, 1266-1278.
- Quispe, G., Hwang, S., Zhiqiang, W., Guangle, Z. & Soon, L. (2017). Screening *In Vitro* Targets Related to Diabetes in Herbal Extracts from Peru: Identification of Active Compounds in *Hypericum laricifolium* Juss. by Offline High-Performance Liquid Chromatography. *International Journal of Molecular Sciences*, 18, 2512. doi:10.3390/ijms18122512.
- Ramirez Amezcua, J. M. (2016). *Piper commutatum* (Piperaceae), the correct name for a widespread species in Mexico and Mesoamerica. *Acta Botanica mexicana*, 116, 9-19.
- Re R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M. & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26(9-10), 1231-1237.
- Singleton, V. L. & Rossi J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16 (3), 144-158
- Suffredini, I. B., Sader, H. S., Gonçalves, A. G., Reis, A. O., Gales, A. C., Varella, A. D. & Younes, R. N. (2004). Screening of antibacterial extracts from plants native to the Brazilian Amazon rain forest and Atlantic forest. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 37, 379-384. doi: 10.1590/S0100-879X2004000300015.
- Valko, M., Rhodes, C. J., Moncol, J., Izakovic, M. & Mazur, M. (2006). Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-Biological Interactions*, 160, 1-40. doi: 10.1016/j.cbi.2005.12.009.
- Zoghbi, M. d. G. B., Oliveira, J. & Guilhon, G. M. S. P. (2009). The genus *Mansoa* (Bignoniaceae): a source of organosulfur compounds. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 19(3), 795-804.