

CLÁUSULA DE CESIÓN DE DERECHO DE PUBLICACIÓN EN EL REPOSITORIO DIGITAL INSTITUCIONAL

El que suscribe, ESPINOZA JUMBO VICTOR FERNANDO, en calidad de autor del siguiente trabajo escrito titulado EFECTO DE PISOS CLIMÁTICOS EN CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE PLANTAS DE SACHA INCHI (PLUKENETIA VOLUBILIS L.) EN LA PROVINCIA DEL ORO, otorga a la Universidad Técnica de Machala, de forma gratuita y no exclusiva, los derechos de reproducción, distribución y comunicación pública de la obra, que constituye un trabajo de autoría propia, sobre la cual tiene potestad para otorgar los derechos contenidos en esta licencia.

El autor declara que el contenido que se publicará es de carácter académico y se enmarca en las disposiciones definidas por la Universidad Técnica de Machala.

Se autoriza a transformar la obra, únicamente cuando sea necesario, y a realizar las adaptaciones pertinentes para permitir su preservación, distribución y publicación en el Repositorio Digital Institucional de la Universidad Técnica de Machala.

El autor como garante de la autoría de la obra y en relación a la misma, declara que la universidad se encuentra libre de todo tipo de responsabilidad sobre el contenido de la obra y que asume la responsabilidad frente a cualquier reclamo o demanda por parte de terceros de manera exclusiva.

Aceptando esta licencia, se cede a la Universidad Técnica de Machala el derecho exclusivo de archivar, reproducir, convertir, comunicar y/o distribuir la obra mundialmente en formato electrónico y digital a través de su Repositorio Digital Institucional, siempre y cuando no se lo haga para obtener beneficio económico.

Machala, 22 de septiembre de 2022



ESPINOZA JUMBO VICTOR FERNANDO
0706281359

EFFECTO DE PISOS ALTITUDINALES EN LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE EN PLANTAS DE SACHA INCHI EN LA PROVINCIA EL ORO

EFFECT OF ALTITUDINAL FLOORS ON ANTIOXIDANT CAPACITY IN SACHA INCHI PLANTS IN EL ORO PROVINCE

Victor Fernando Espinoza Jumbo¹.

E-mail: vespinoza3@utmachala.edu.ec

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7957-9224>

Maria de los Angeles Bernal Pita Da Veiga².

E-mail: Angeles.Bernal@udc.es

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3217-5986>

Alexander Moreno Herrera¹.

E-mail: amoreno@utmachala.edu.ec

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8898-4195>

¹UNIVERSIDAD TECNICA DE MACHALA, EL ORO, ECUADOR

²UNIVERSIDAD DE CORUÑA. ESPAÑA

RESUMEN

Los sistemas de producción de Sacha Inchi (*Plukenetia volubilis* L.) establecidos en diversos pisos altitudinales locales, por sus altos contenidos de ácidos grasos como omega 3, 6 y 9 en aceite de semillas, superior a oleaginosas como el maní, soya, maíz, girasol, palma; Es una fuente innovadora de contenidos fenólicos solubles (CFS) y actividad antioxidante (AO) en órganos y derivados. La determinación del efecto de pisos altitudinales con relación al CFS y AO de diferentes órganos y aceite de semilla fomentando orientación productiva. La valoración en pisos altitudinales, permitió la caracterización de órganos como hoja (H), pedúnculo de la hoja (PH), flor femenina (FF), flor masculina (FM), semilla (S), cáscara de semilla (CS), aceite (AS), y raíz (R) por medio de extractos acuosos y sustancias señalizados de extractos vegetales. Los resultados indicaron que los pisos altitudes a 531 y 521 msnm mostraron mejores respuestas de adaptabilidad local, mediante el contenido significativo CFS donde destacan órganos como el PH, CS; así como, S, R, FM y superiores en H, FF; así como, AS. La AO demostró valores más altos y significativos en flores femeninas, que no difirió de pisos altitudinales, aunque sí en hojas con mayor actividad a 531 msnm. Sin embargo, el aceite mostró a 28 msnm mayor actividad sin diferir de los demás pisos altitudinales. El potencial adaptativo de la especie indica que los pisos altitudinales superiores permiten una expresión de biomoléculas esenciales para la interacción con el medio ambiente.

Palabras clave: extractos, DPPH, fenoles, aceite, órganos vegetales.

ABSTRACT

The production systems of Sacha Inchi (*Plukenetia volubilis* L.) established in various local altitude zones, due to their high content of fatty acids such as omega 3, 6 and 9 in seed oil, superior to oilseeds such as peanuts, soybeans, corn, sunflower, palm; It is an innovative source of soluble phenolic content (CSF) and antioxidant activity (AO) in organs and derivatives. The determination of the effect of altitude floors in relation to the CFS and AO of different organs and seed oil promoting productive orientation. The assessment in altitudinal floors allowed the characterization of organs such as leaf (H), leaf peduncle (PH), female flower (FF), male flower (FM), seed (S), seed shell (CS), oil (AS), and root (R) by means of aqueous extracts and marked substances of plant extracts. The results indicated that the altitude floors at 531 and 521 masl showed better local adaptability responses, through the significant CFS content where organs such as PH, CS stand out; as well as, S, R, FM and above in H, FF; as well as, AS. AO showed higher and more significant values in female flowers, which did not differ from altitude floors, although it did in leaves with greater activity at 531 masl. However, the oil showed greater activity at 28 masl without differing from the other altitudinal floors. The adaptive potential of the species indicates that the higher altitudinal floors allow an expression of essential biomolecules for interaction with the environment.

Keywords: extracts, DPPH, phenols, oil, plant organs.

INTRODUCCIÓN

El Sacha Inchi comúnmente conocido como maní del inca, maní silvestre, maní sachá, en inglés

inca peanut, es una planta oleaginosa perteneciente a la familia *Euforbiaceae*, posee un hábito de crecimiento generalmente trepador, clasificada en 1753 por Linneo en la amazonía peruana, el nombre se deriva de dos palabras quechuas "Sacha" silvestre e "Inchi" haciendo alusión al maní que produce esta planta, su distribución geográficamente es pantropical encontrando 12 especies en Sudamérica y Centroamérica (Hanssen & Schmitz-Hübsch, 2011).

En América se cultiva en diversos países con clima tropical como Perú, Ecuador, Brasil, Bolivia, Antillas menores, Surinam, Venezuela, y Colombia, se puede cultivar en diversos pisos altitudinales adaptado desde los 30 hasta 2000 msnm, temperaturas de 10 a 36°C y humedad relativa no mayor al 78% para evitar problemas al sistema radicular por presencia de hongos. Se desarrolla en zonas con un régimen de precipitaciones desde 1000 a 1200 mm/año, distribuidos durante el año (Ramírez et al., 2021).

Es una planta Amazónica que se desarrolla en climas cálidos, húmedos y en suelos ácidos, además de arcillosos, utilizada para la reforestación. En Ecuador, este cultivo se encuentra en las provincias de El Oro, Esmeraldas, Manabí, Morona Santiago, Pichincha (Valdiviezo et al., 2019). Las semillas están compuestas por un alto contenido de proteínas, ácidos grasos (omega 3,6 y 9) y vitamina E, siendo superior a otras semillas oleaginosas como el maní, soya, maíz, girasol, palma. Además, es una fuente nueva e innovadora con un alto potencial de compuestos fenólicos y antioxidantes (Gutiérrez et al., 2011).

Los antioxidantes son un grupo de sustancias vegetales que, al estar presente en concentraciones muy bajas (ppm) con respecto al sustrato oxidable, inhiben o retrasan significativamente la oxidación extra e intercelulares. Las moléculas antioxidantes más importantes en la célula vegetal que regulan la homeostasis son: ascorbato, glutatión, además de flavonoides, taninos, α -tocoferol, carotenoides y precursores de la lignina. Estas sustancias son empleadas por las plantas como mecanismo de defensa entre estos tenemos: aceites esenciales, alcaloides, esteroides, fenoles, mucilagos, pectinas, quinonas, saponinas, terpenos. Son sintetizadas por las plantas ante un ataque de hongos, bacterias, plagas, efecto alelopático, estrés abiótico causado por el clima (Reyes-Silva et al., 2020).

En el mundo la industrialización alimentaria, cosmética y farmacéutica va en aumento (Angulo-López et al., 2021), por lo cual evaluar presencia de polifenoles y propiedades antioxidantes que estas poseen, de esta manera se puede abrir nuevos mercados. La mayor cantidad de aceites esenciales se obtienen en zonas que poseen temperaturas bajas, la cantidad de metabolitos secundarios depende de la ubicación geográfica, altitud, factores climáticos, época de cosecha y su estado de crecimiento que se encuentra la planta (Hernandez et al., 2009). El medio ambiente causa un efecto notorio en como un genotipo se expresa en un medio, un ambiente que presente una cantidad mínima de estrés para obtener mayores rendimientos y mejor calidad en los frutos. Las condiciones climáticas influyen significativamente en el crecimiento de las plantas, su fenología, duración en el tiempo de desarrollo y maduración fisiológica de los frutos (Menzel et al., 2020).

Un compuesto antioxidante se puede determinar como material que retrasa o inhibe considerablemente la oxidación cuando se presenta en concentraciones bajas en relación con la del sustrato oxidable (Gulcin, 2020). Los fenoles son sustancias químicas que se encuentran ampliamente distribuidos en las plantas como producto de su metabolismo secundario, varios utilizados para su funcionamiento y otros efectivos en los mecanismos de defensa en situaciones de presión y ante el ataque de organismos patógenos presentes en el ambiente (Bakan et al., 2003).

Los compuestos fenólicos se ven implicados en el color, propiedades organolépticas (sabor y astringencia), las propiedades nutricionales y propiedades antioxidantes (Kähkönen et al., 2001),

En este sentido se destaca la importancia de identificar cual es la influencia de los pisos altitudinales sobre los compuestos bioactivos del cultivo de Sacha Inchi entendiéndose que en las zonas altas de la provincia de El Oro (Las Laja y Marcabelí) tiene temperaturas más bajas debido a que los rayos del sol son menos directos el contenido de oxígeno es menor debido a la presión atmosférica contrario a los que sucede en las zonas bajas de la provincia de El Oro. El clima de la provincia varía según la zona, en la región costera el clima se caracteriza por ser seco en verano y lluvioso en invierno, y en la región montañosa el clima es lluvioso, y la temperatura varía según la altitud, teniendo entre 25° y 35°C en la costa, y en la sierra entre

10° y 18°C (Zhiminaicela et al., 2021).

El objetivo de este trabajo fue determinar el efecto de los pisos altitudinales con relación al contenido de fenoles solubles y la actividad antioxidante de diferentes órganos, y del aceite de semilla de Sacha Inchi mediante caracterización de extractos acuosos para su validación fitoquímica y orientación productiva a nivel provincial.

MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación y caracterización del área experimental

El trabajo de investigación se realizó en los meses de diciembre 2021 hasta abril de 2022 en la Granja Santa Inés en Laboratorio de Micropropagación Vegetal ubicado en la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de Machala, ubicada geográficamente en (Latitud 3° 17' 30" S; Longitud 80° 00' 11" W). El presente estudio dispuso del apoyo de la compañía Biofábrica montubia (BIOMONT S.A) para realizar los análisis fitoquímicos de las muestras del material vegetal recolectado de Sacha Inchi de los diferentes sistemas productivos valorados.

Procedimiento para extracción de muestras vegetales acuosas.

Los sistemas productivos Sacha Inchi de diferentes PALT (pisos altitudinales) en producción de cuatro cantones de la provincia el Oro, como se muestra en ilustraciones en la Figura 1, donde A representó al cantón Las Lajas en el sitio San Isidro (altitud 531 msnm.), B en el cantón Marcabelí en el sitio el Arenal (altitud 521 msnm.) y los sistemas C y D fueron recolectados en cantones de Arenilla (CA) en el sitio Palmales (altitud 72 msnm.) y el Progreso en el sitio Chaguana (altitud 28 msnm.). Para realizar procesos de extracciones se seleccionaron hojas (H), flores masculinas (FM), flores femeninas (FF), aceite (A), semillas (S), cáscara de semilla (CS), raíz (R) y pedúnculo de hoja (PH) para realizar el proceso de extracción de biomoléculas, como se ilustra en la Figura 2, estas muestras fueron seleccionadas de sistemas productivos con presencia de valor agregado en el caso aceites. Los individuos seleccionados respondían a excelentes características fenotípicas, mayor adaptabilidad al presentar buen follaje y resistencia a factores adversos.

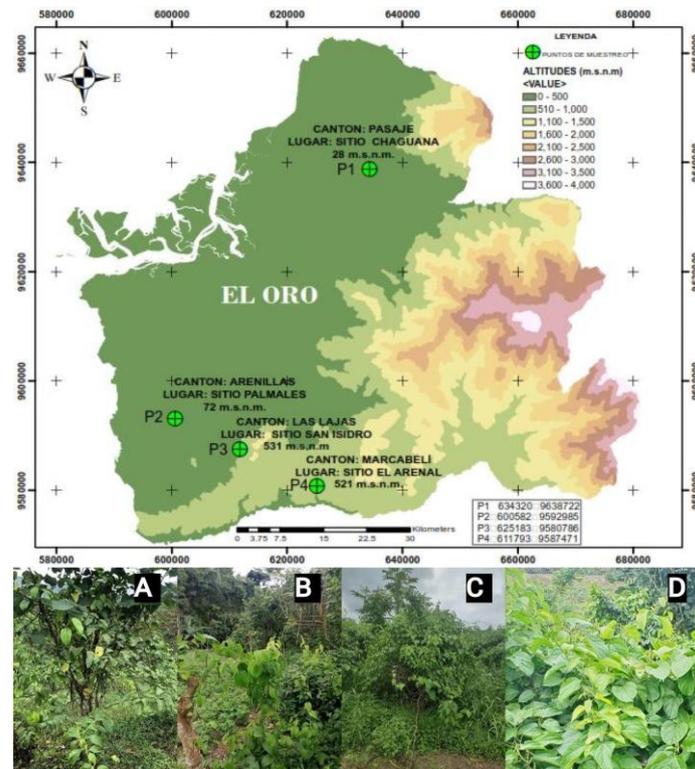


Figura 1: Selección de sistemas productivos de Sacha Inchi en diferentes PALT de la provincia de El Oro. (A) PALT 531 msnm, (B) PALT 521 msnm, (C) PALT 72 msnm, (D) PALT 28 msnm.

Para lograr la separación y recuperación de compuestos bioactivos fue necesario realizar un proceso de extracción (Bellingan, 2007). Este proceso como se ilustra en la Figura 2, donde el material vegetal luego recolectado de campo fueron separadas por órgano a estudiar y se

desmenuza para que las muestras sean más pequeñas logrando un secado homogéneo, seguidamente se colocó en una estufa a 70°C por 24 horas obteniendo el deshidratado del material vegetal. Con un molinillo Hamilton Beach ® se procedió a hacer polvo bien fino las muestras vegetales, posteriormente se guardaron en envases negros para evitar el contacto con la luz y la humedad relativa del ambiente y no deteriorar sus componentes fenólicos y antioxidantes presentes.

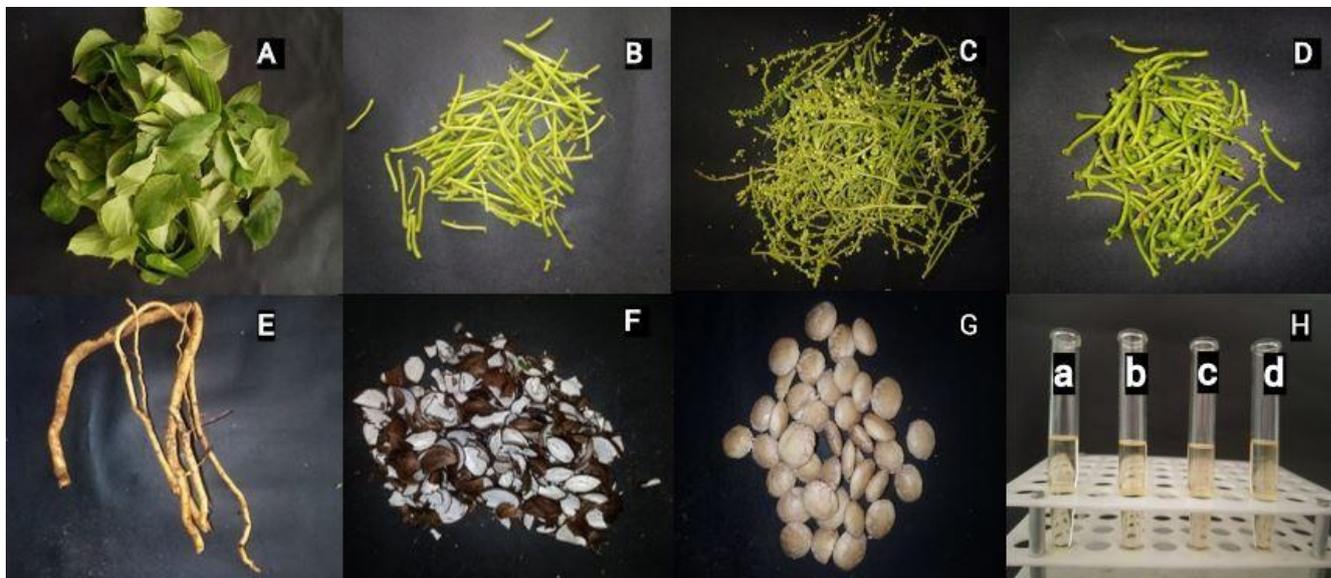


Figura 2: Órganos vegetales de Sacha Inchi de los sistemas productivos de diferentes PALT de la provincia de El Oro para su caracterización. (A) Hoja, (B) Pedúnculo hoja, (C) Flor masculina, (D) Flor femenina, (E) Raíz, (F) Cáscara semilla, (G) semilla, (H) Aceite de semillas de los sistemas productivos de diferentes Pisos Altitudinales (PALT) de la provincia de El Oro (a) PALT 531 msnm, (b) PALT 521 msnm, (c) PALT 72 msnm, (d) PALT 28 msnm.

De cada órgano se obtuvieron tres muestras (Figura 4), de las cuales se pesó 0.1 gramo usando un eppendorf como envase, se agregó 1000 μ L de agua destilada hirviendo, dejando reposar 5 minutos. Luego de este tiempo se procedió a ubicar dentro de cada sitio de la centrífuga. Seguido se centrifugó a 10000 rpm durante 15 minutos en una centrífuga (MiniSpin plus-Eppendorf AG, Hamburg.). Transcurrido los 15 minutos, se extrae la parte acuosa con una micropipeta de 100 μ L logrando obtener la mayor cantidad de líquido, para luego ser depositada en un tubo graduado de 10 ml para enrasar a un volumen final de 5 ml con agua destilada, para ser almacenados en tubos Vacutainer™ a 4°C, hasta realizar la cuantificación de fenoles y actividad antioxidante. El aceite de Sacha Inchi se almacenó en frascos ámbar para evitar que sus compuestos se degraden con la luz.



Figura 3: Procedimiento para obtención de extractos acuosos en órganos de Sacha Inchi. (A) desmenuzado y secado, (B) triturado, (C) pesado, (D) centrifugado de las muestras, (E) extracción, (F) Extractos acuoso.

Fenoles solubles presentes en órganos de Sacha Inchi

La titulación de fenoles solubles se llevó a cabo según el método Folin Ciocalteu con modificaciones para aprovechar al máximo el uso de reactivos.

Para evaluar el contenido de fenoles se decidió realizar una recta de calibrado estándar Folin-Ciocalteu según el método modificado, permitiendo la determinación cuantitativa del contenido de fenoles presentes en la muestra. La preparación requiere el uso de diferentes soluciones de ácido gálico (AG) en concentración: 0.01 mg AG/ml, 0.02 mg AG/ml, 0.05 mg AG/ml, 0.1 mg AG/ml, 0.2 mg AG/ml de metanol. De estos, 100 μ l se extrajeron por triplicado agregándole individualmente 1000 μ l de Folin-Ciocalteu, diluido previamente 10 veces (1:10). Descanso durante 4 minutos en oscuridad; se añaden 1000 μ l de Na_2CO_3 al 7% y enrasamos a 2,5 ml añadiendo 400 μ l de agua destilada en cada tubo. Descanso durante 90 minutos en la oscuridad para realizar las lecturas en el espectrofotómetro (Spectronic 21D). Como resultado se obtiene la siguiente ecuación $\text{Absorbancia } 760 \text{ nm} = 3,8292 [\text{equivalente de ácido gálico}] + 0,0303$ y $R^2 = 0,997$ para determinar la cantidad de polifenoles solubles presentes en la muestra.

En las muestras valoradas se utilizó 100 μ l de los 5 ml de los extractos acuosos almacenados a -4°C , adicionando por triplicado y dispensar en tres tubos adicionar 1000 μ l de Folin-Ciocalteu, agitar para homogeneizar y colocar en la oscuridad durante 4 minutos. Pasado este tiempo agregar 1000 μ l de Na_2CO_3 al 7% y finalmente adicionar 400 μ l de agua destilada a cada tubo, se agitaron durante 1 minuto y se colocaron durante 90 minutos en oscuridad para luego realizar las lecturas en un espectrofotómetro calibrado a 760 nm.

Las lecturas que no se pueden realizar por el espectrofotómetro por estar fuera de los rangos de este >1 , se necesita una disolución 1:10 procediendo a ubicar 100 μ l extraídos de los 5 ml de la muestra en un eppendorf adicionando 900 μ l de agua destilada y almacenada a -4°C hasta su posterior lectura.

Se realizó la lectura del aceite de Sacha Inchi utilizando cubetas de 2,5 cm, donde se añadió 100 μ l de muestra de cada lugar/órgano a excepción del aceite que fue 40 μ l, añadiendo 1000 μ l de Folin-Ciocalteu, dejar reposar en oscuridad por 4 minutos, se adiciona 1000 μ l de Na_2CO_3 al 7% se completó con 460 μ l de metanol enrasando a 2500 μ l y ubicadas en oscuridad durante 90 minutos, para luego realizar la lectura.

Actividad antioxidante presentes en órganos de Sacha Inchi

Esta capacidad antioxidante se calculó según el método Brand et al. (1995) fundamentado en reducir la densidad óptica a 515 nm usando una solución de metanol DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo) reaccionando con las muestras. (Ávila et al., 2019), la solución con metanol se

muestra como absorbancia primario o de inicio (A0). El DPPH al estar presente de un radical oxidado aparece de color púrpura y a medida que continúa la reacción actuando sobre el disminuye, se vuelve amarillo. La tonalidad del color permite medir el contenido de DPPH reducido según la fórmula:

Am= absorbancia de la muestra

A0= absorbancia inicial

$$\text{DPPH reducido} = \left(\frac{A0 - Am}{A0} \right) \times 100$$

Con base en esta ecuación, se creó una solución de DPPH (0.04 g en 100 ml de metanol), se diluyó con metanol para obtener un valor de absorbancia cercano a 0.780 nm. El espectrofotómetro (Spectronic 21D, 1988, USA) se calibró a 515 nm usando metanol como blanco. Se realizaron tres mediciones para cada muestra preparando en una cubeta de cuarzo una solución de 2.375 µl de DPPH y agregando 125 µl de muestra en cubetas 2500 µl, se agita la cubeta y se procede a introducir la cubeta instantáneamente en el espectrofotómetro y tomar nota el dato inicial que se puede visualizar, este debe ser inferior al factor que obteniendo como resultado al ajustar el DPPH. Los resultados están en % DPPH reducido se representa como equivalente a las muestras que se evalúan frente a la línea de calibración con un patrón Trolox externo.

Mediante el patrón Trolox se realiza la recta de calibrado utilizando (6-hidroxi-2.5.7.8-tetrametilchroman-2-carboxílico preparando una disolución madre de 1 mm (25 mg de Trolox en etanol absoluto). Con esta disolución se desarrollaron cinco diversas disoluciones (100, 200, 300, 400 y 500 µl) mediante estas cinco disoluciones triplicado se pudo obtener equivalentes Trolox, la absorbancia inicial (A0) conformado por disolventes de DPPH (950 µl de metanol) y Trolox (50 µl de etanol). Para realizar la recta de calibrado se realizaron lecturas en absorbancia 515 nm se determinó proporcionando 50 µl de las concentraciones Trolox y 950 µl de DPPH con lecturas puntuales para desarrollar recta de calibrado.

La ecuación proporcionada por la recta de calibrado es:

Absorbancia 515 nm = 0.0536 [equivalentes de Trolox] + 2.7577 con R² = 0,9596

Procedimiento estadístico

Para caracterizar la capacidad adaptativa de Sacha Inchi en diferentes PALT se efectuaron cálculos de medidas de resumen de datos en el software SPSS Statistics 22, entre las que se encuentran medidas de tendencia central, dispersión, posición y distribución.

Para conocer si se presentan diferencias significativas o no entre diferentes pisos altitudinales en función del contenido de fenoles y actividad antioxidantes totales en Sacha Inchi, se realizó un análisis de varianza de un factor intergrupo y de forma previa se verificó el cumplimiento de la normalidad de datos y la homogeneidad de varianza. En caso de presentarse diferencias significativas en los pisos altitudinales se realizaron pruebas de rangos y comparaciones de Duncan, con un nivel de confiabilidad del 95%.

El contenido de fenoles solubles y actividad antioxidantes totales, en los órganos hoja, pedúnculo de hoja, raíz, flor masculina, flor femenina, semilla, cáscara de semilla y aceite de Sacha Inchi. Para representar de forma gráfica entre aceite, flor femenina y hoja, la actividad antioxidante se representó mediante un gráfico de perfil ubicando en el eje de las X los pisos altitudinales, en Z los órganos y en el eje Y el peso.

RESULTADOS Y DISCUSIONES

Contenido de fenoles solubles en material vegetal

Los fenoles son compuestos presentes en la célula de los sistemas productivos valorados, en el contenido de estos fenoles en los pedúnculos de hoja (Figura 4 A) podemos encontrar valores significativos en altitud de 531 msnm que indica un incremento de 16 y 41 % con relación a los demás pisos altitudinales. En la Figura 4 B los sistemas de producción evaluados en altitud 521 msnm, mostraron valores significativos para la cantidad de estos fenoles en semilla con 18 y 28 % en comparación con los otros pisos altitudinales.

El contenido de fenoles solubles presente en la muestra vegetal evaluada en cáscara de semilla se encontró valores significativamente inferiores en 521 msnm (Figura 4 c) fue 6, 7 y 8 % menor con respecto a los pisos altitudinales restantes. En (Figura 5D) la raíz presentó un contenido de

fenoles expresando valores con significancia superior ubicado altitudinalmente a 521 msnm expresó un crecimiento de 15 y 24% entre los pisos altitudinales evaluados de los sistemas productivos el Oro.

En la Figura 4 las flores masculinas en sistema productivo establecido a 521 msnm en su contenido fenólico presente en las células vegetales de la muestra siendo 13 y 20 % expresando mayor contenido frente a los demás pisos altitudinales. Los pisos altitudes de 531 y 521 msnm mostraron mejores respuesta de adaptabilidad local , mediante el contenido de fenoles solubles en el pedúnculo de hoja, cáscara de semilla así como la calidad de semilla, raíz y flor masculina en la segunda altitud valorada. Los fenoles solubles del material vegetal presentan una influencia significativa al piso altitudinal inferior en que se encuentre establecido 72 y 28 msnm aportando mejores características en la cáscara de semilla.

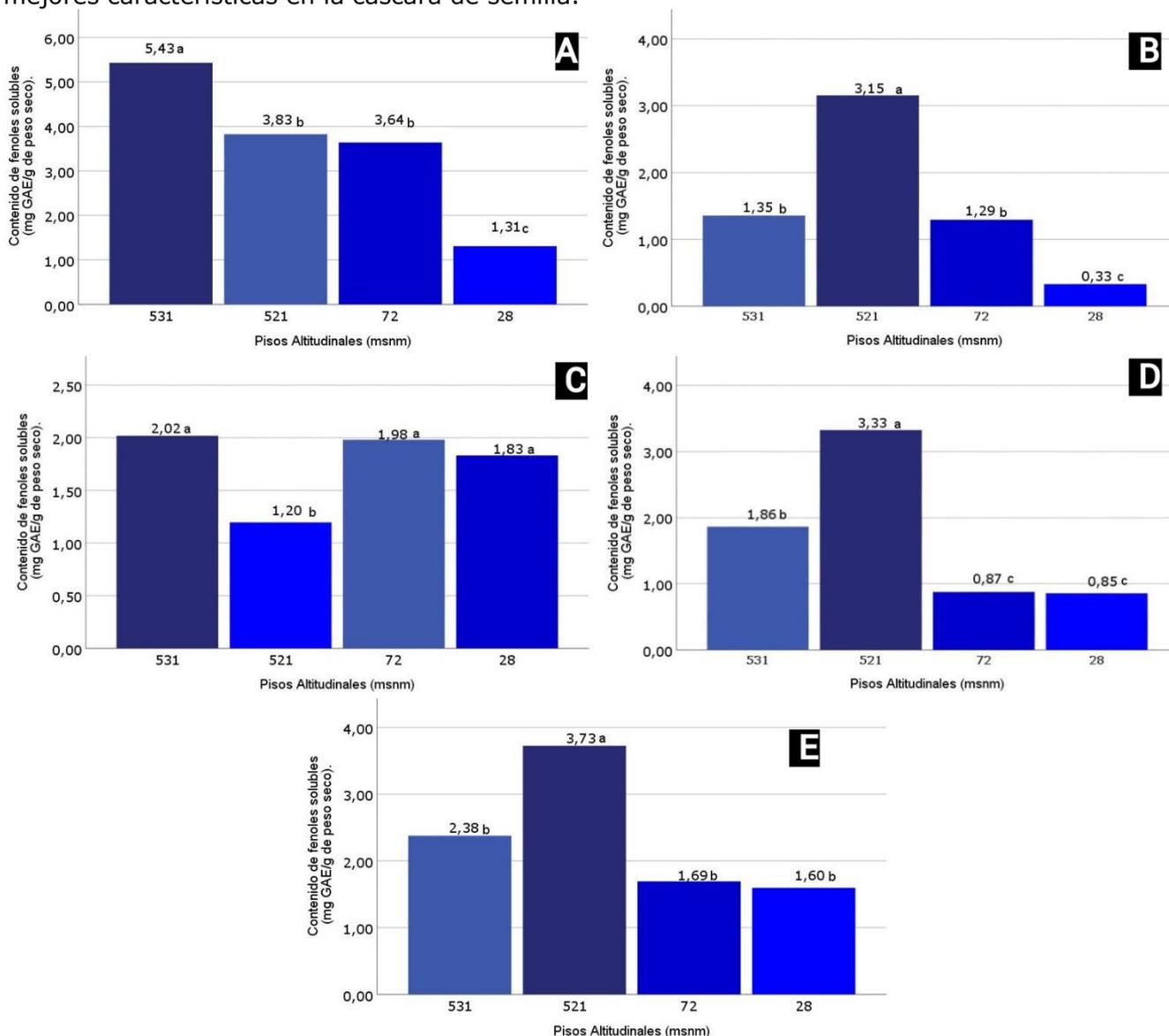


Figura 4: Contenido de Fenoles solubles en órganos de Sacha Inchi en fase floral en diferentes pisos altitudinales de la provincia de El Oro. (A) Pedúnculo de hoja, (B) Semilla, (C)Cáscara de semilla, (D) Raíz, (E) Flor masculina. Diferentes letras difieren estadísticamente según la prueba de rangos y comparaciones de Duncan ($p \leq 0,05$).

Los valores obtenidos en los fenoles de pedúnculo (1,31 mg/g peso seco de PH) y semillas (0,33 mg/g peso seco de S) ponen en disputa destacado Yara & Suescun (2007) sobre la influencia de la altitud en el contenido de fenoles (Yara & Suescun, 2007). En pedúnculo de la hoja (PH), y la

semilla (S) de Sacha Inchi, muestran en ambos casos un menor contenido de fenoles solubles en el piso altitudinal menor a 30 msnm en comparación los pisos altitudinales mayores a 70 msnm desde 72 msnm hasta 531 msnm.

Estudios han determinado que existe un bajo contenido de fenoles solubles en altitudes bajas en raíz de *Moringa olifera* (Ordoñez & Bernal, 2019), con 1.65 mg GAE/g peso seco, comparado con el contenido de fenoles en totales en raíz en *Smalanthus sonchifolius* 11.1 mg GAE/g peso seco en un piso altitudinal 2536 msnm. (Arnao & suárez, 2012). Trabajos realizados en fenoles totales en *Hibiscus sabdariffa* presentan resultados de 8,3 mg GAE/g peso seco (Ramirez et al., 2018). El fruto del *Sambucus* evaluado en dos pisos altitudinales presenta un mayor contenido de fenoles afirmando que el contenido de fenoles está influenciado por los pisos altitudinales (Meza & Segura, 2011). Trabajos realizados en ají rocoto y gallinazo presentaron un contenido de fenoles totales a niveles bajos msnm presentó 39,15 y 60,04 mg GAE/g peso seco (Gonzalez & Saritama, 2018) así como el análisis efectuados en cáscaras de semillas mostraron valores de fenoles totales 50,9 mg GAE/g peso seco (Cuellar, 2021).

La acumulación de metabolitos secundarios presentes en células puede ser la respuesta a numerosas variables o factores agroclimáticos y genéticos (Covelo & Gallardo, 2001). Algunos estudios apuntan que las plantas que se desarrollan en altitudes elevadas almacenan de forma general biomoléculas como flavonoides y antocianinas debido a mayor duración de los días y temperaturas nocturnas bajas (Jaakola & Hohtola, 2010). Esta expresión del contenido de fenoles solubles, es una respuesta de estrés fisiológico, debido a los factores ambientales de cada piso altitudinal, se evidencia en las hojas, y el aceite de semilla de Sacha Inchi, que se encuentran directamente ligadas por los pisos altitudinales, mayor a 500 msnm.

La valoración de los pisos altitudes a 531 y 521 msnm donde se establecen los sistemas productivos, mostraron mejores respuestas de adaptabilidad local, mediante el contenido significativo de fenoles solubles y donde la primera altitud destaca órganos como el pedúnculo de hoja, cáscara de semilla, así como para segunda altitud con los extractos de semilla, raíz y flor masculina.

En la Figura 5 A, el contenido de fenoles en la hoja presentes en los sistemas productivos se puede evidenciar un aumento significativo en el piso altitudinal 531 msnm con un 30 y 50% mayor al resto de altitudes. Esta tendencia se evidenció en la Figura 5B, al presentar aumentos proporcionales en el contenido de fenoles en flor femenina con valores significativos en los sistemas productivos ubicados en el piso altitudinal siendo 531 msnm mayor con 10, 20 y 23% del resto de pisos evaluados.

En la Figura 5 C en el sistema productivo de 521 msnm presentó valores significativos en el contenido de fenoles al resto de pisos altitudinales con 10, 30 y 70% en el aceite de Sacha Inchi. Los pisos altitudes de 531 y 521 msnm mostraron mejores respuestas al medio productivo, mediante el contenido de fenoles solubles en la hoja, flor femenina de igual forma el aceite en la segunda altitud valorada. Los sistemas productivos en 72 y 28 msnm demostraron mejor respuesta a su entorno con menor comportamiento fenólico ante otras altitudes, en 72 msnm en hoja, flor femenina y aceite, presentando este menor contenido en la otra altitud.

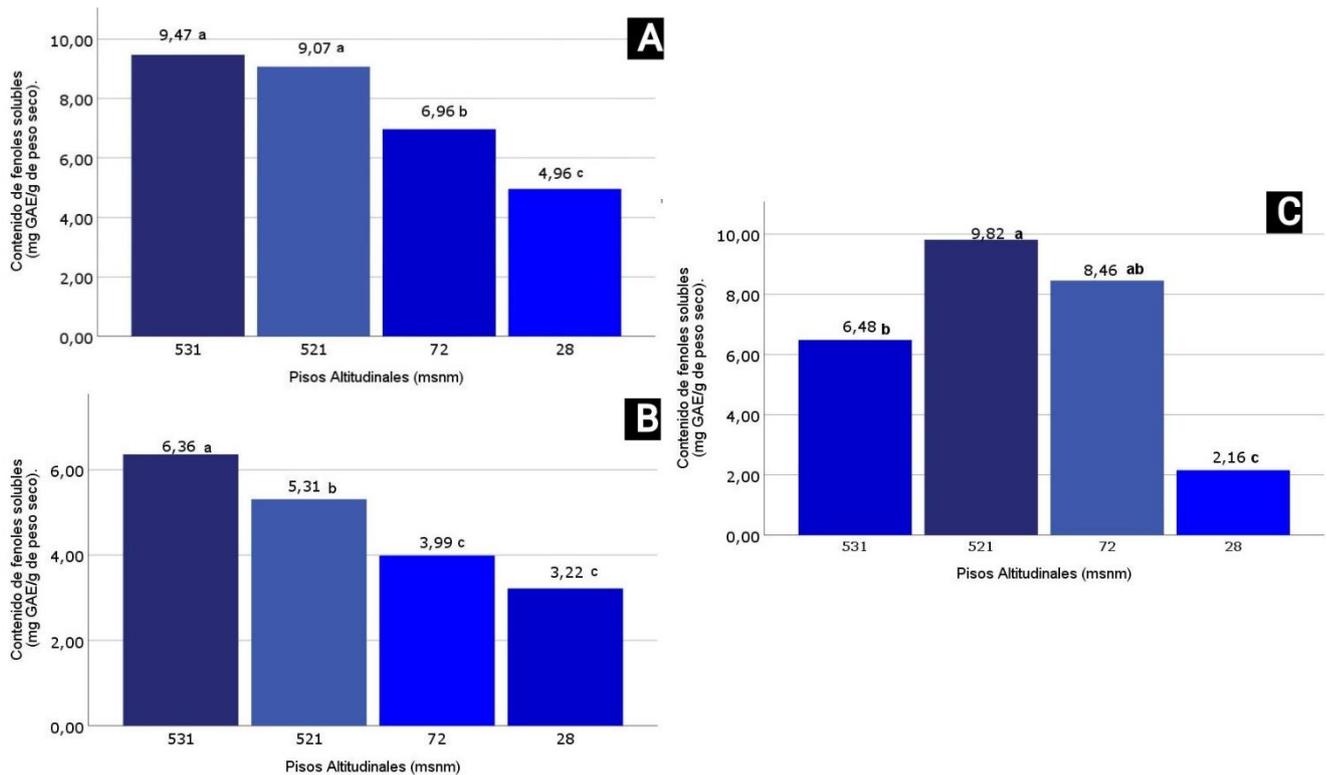


Figura 5: Contenido de Fenoles solubles en órganos de Sacha Inchi en fase floral en diferentes pisos altitudinales de la provincia de El Oro. **(A)** hojas, **(B)** flor femenina, **(C)** aceite de semilla. Diferentes letras difieren estadísticamente según prueba de rangos y comparaciones de Duncan ($p \leq 0,05$).

En hojas existe diferencia significativa en el contenido de fenoles con relación al piso altitudinal siendo de forma ascendente 28 msnm (4,96); 72 msnm (6,96); 521 msnm (9,07) y 531 msnm (9,47) EAG mg/g peso seco, lo cual se corrobora con los resultados Giménez, Sanabria & Salas (2020). Estos valores fenólicos en hojas son ascendente a partir de 72 msnm, y siempre superiores a los obtenidos en hojas de *Moringa oleifera* en estado floral con un reporte de 6.32 EAG mg/g peso seco cuando se utiliza extractos acuosos en altitud inferior (Castillo et al., 2019) Estudios realizados por Zhapan & Lima (2021) en *Annona muricata* en el piso altitudinal 531 msnm obtuvieron 6,72 mg GAE/g peso seco, y en aceites esenciales de hoja de *Stevia rebaudiana*, así como la influencia de los pisos altitudinales (Giménez, Sanabria & Salas, 2020; Tobar et al., 2011). Esta condición de altitud puede influir en incrementos, como es reportado en hojas de lavanda obtuvieron 2158 mg EAG mg/100 mg (Flores et al., 2019).

La flor femenina con valores de 5.31 y 6,36 mg/g peso seco tiene un alto contenido de fenoles en las altitudes superiores a los 500 msnm, esto se corrobora con el estudio realizado por Gündüz & Özbay (2018) en especies arbóreas, el cual destaca los valores significativos del piso altitudinal, además, de la incidencia del genotipo en la composición físico-química y metabolitos secundarios (Gündüz & Özbay, 2018).

El aceite de semillas a la altitud de 521 msnm expresa su mayor contenido de fenoles solubles, este es uno de los productos de mayor demanda al ser un derivado de valor agregado con aminoácidos esenciales, proteínas, ácidos grasos insaturados, y moléculas antioxidantes (Valdiviezo et al., 2019). La calidad del aceite se ve determinada por el factor de la temperatura, además de ser fotosensible (Hidalgo et al., 2019).

El contenido de fenoles solubles evaluados en los sistemas productivos demostró que en un piso altitudinal superior a los 500 msnm presentaron datos significativos en el contenido de la hoja, flor femenina para mostrar mayor grado de adaptabilidad del cultivo a estas altitudes, así como la obtención valores significativos en el aceite de semilla como producto final en el segundo piso altitudinal de 521 msnm. En los sistemas productivos en 72 y 28 msnm demostraron menor

comportamiento fenólico ante las otras altitudes, en 72 msnm en aceite de semilla, se obtuvo un contenido valioso pisos altitudinales bajos.

Contenido de actividad antioxidante en pisos altitudinales

La determinación de la actividad antioxidante se realizó en muestras órganos que demostraron un alto contenido de polifenoles solubles en la célula vegetal como destaca Yara & Suescun (2007), los polifenoles o compuestos fenólicos poseen un numeroso grupo de compuestos con actividad antioxidante. La flor femenina representa un 78% de actividad de antioxidante total, seguido por el aceite de la semilla con 14% de actividad de antioxidante total, superior a la hoja que revela 13% de actividad de antioxidante total.

En la figura 6 los sistemas de producción evaluados en altitudes 521 y 72 msnm, manifestaron valores significativos para la actividad antioxidante presente en flor femenina con 10 % mayor en comparación con las otras altitudes. El contenido de actividad antioxidante en aceite de semilla de Sacha Inchi presente en pisos altitudinales a 28 msnm mostró valores con significancia siendo mayor con 13 y 10% al resto de altitudes que fueron evaluadas. En los sistemas de producción la actividad antioxidante en las hojas demostró valores significativos en el piso altitudinal 531 msnm siendo 45 y 50 % mayor al resto de altitudes.

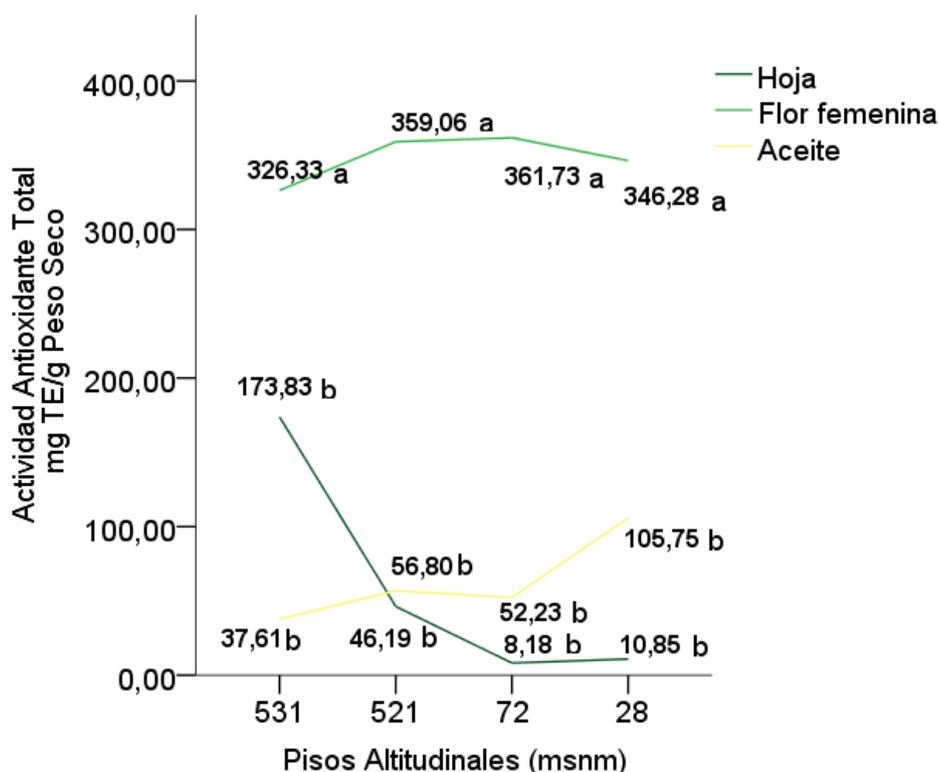


Figura 6: Actividad antioxidante de órganos de Sacha Inchi en fase floral en diferentes pisos altitudinales de la provincia de El Oro. Diferentes letras difieren estadísticamente según prueba de rangos y comparaciones de Duncan ($p \leq 0,05$).

La flor femenina muestra una actividad antioxidante por encima de los demás órganos, donde las altitudes de 72 y 521 msnm superan los 300 mg TE/g peso seco, lo cual muestra que existe una baja influencia de los pisos altitudinales con la actividad antioxidante de flor femenina. Estudios realizados en flor de *Hibiscus sabdariffa* obtuvieron resultados inferiores en un piso altitudinal de 1015 msnm según Batalla et al.,(2019). Se evidencia que el contenido de antioxidante es influenciado por el color de las lígulas en *dahlías* y no siempre va asociada con el contenido de fenoles, donde se sugiere que el contenido de antioxidante depende de la pigmentación (Solomon et al., 2006).

La hoja presenta baja actividad antioxidante en 72 y 28 msnm, que a su vez se incrementa en valores valiosos por encima de los 500 msnm con valores superiores a los 170 mg TE/g peso seco, el cual sugiere que la actividad antioxidante es influenciada por diferencias por las altitudes

y su expresión fenotípicas. Estudios realizados en *azorella compacta* en un piso altitudinal de 4900 msnm presentaron los contenidos mayores de antioxidantes (Pizarro, 2019).

El contenido de antioxidantes en Sacha Inchi. se obtiene un mayor contenido de antioxidantes en flores femeninas demostrando que este órgano no se ve afectado en su contenido de antioxidantes. De acuerdo a Castaño y colaboradores (2012) la actividad antioxidante está estrechamente ligada a los ácidos grasos en su estudio realizado en hoja y raíz de esta especie (Castaño et al., 2012). En el trabajo realizado en hojas de *Anona muricata* encontraron valores de 213,77 mg TE/g peso seco establecidos en un sistema productivo de 531 msnm. en esta altitud, pero en especies de crecimiento trepador *Passiflora tripartita* en pulpa del fruto se obtuvo valores 10,53 mg TE/g peso seco (Giambanelli et al., 2020).

El aceite de semilla en la actividad antioxidante presenta una mayor actividad en el piso altitudinal de 28 msnm con 105,75 mg TE/g peso seco, lo cual no se concatena con estudios realizados en *Plukenetia volubilis* L. obteniendo valores inferiores en aceite de semillas sin tostar con 18,2 TE/g pesos fresco en un piso altitudinal de 800 msnm. Esta actividad antioxidante que se encuentran en el aceite o semillas aumentan dependiendo del tratamiento térmico que se les aplique para aumentar su contenido antioxidante (Cisneros et al., 2014; Wang & Kakuda, 2018). La actividad antioxidante demostró valores más altos y significativos cuando se valoraron las flores femeninas, pero estas no fueron influenciadas por la ubicación de sistemas productivos en los diferentes pisos altitudinales. Esta altitud muestra su influencia directa cuando se valora la actividad antioxidante en hojas, donde su mayor expresión se obtuvo a 531 msnm. y caso contrario se puede apreciar en el contenido de aceite de semilla donde la mayor expresión se obtuvo a 28 msnm, pero no difirió de los demás pisos altitudinales.

CONCLUSIONES

El contenido de fenoles solubles evaluados en los sistemas productivos demostró que los pisos altitudinales superiores a los 500 msnm influyen directamente en este contenido, destacando órganos como pedúnculo de hoja, cáscara de semilla, raíz y flor masculina, así como contenido en hoja, flor femenina y aceite de semilla con los contenidos fenólicos superiores.

La actividad antioxidante demostró valores más altos y significativos cuando se valoraron las flores femeninas, pero estas no fueron influenciadas por la ubicación de sistemas productivos en los diferentes pisos altitudinales. La altitud muestra su influencia directa cuando se valora la actividad antioxidante en hojas con mayor expresión a 531 msnm y en aceite a 28 msnm que no difirió de los demás pisos altitudinales siendo una condición que debería seguir en análisis de metabolitos secundarios y su influencia de los diferentes pisos altitudinales.

BIBLIOGRAFÍA CONSULTADA

- Angulo-López, J. E., Flores-Gallegos, A. C., Torres-León, C., Ramírez-Guzmán, K. N., Martínez, G. A., & Aguilar, C. N. (2021). Guava (*Psidium guajava* L.) fruit and valorization of industrialization by-products. *Processes*, 9(6), 1075.
- Arnao, I, Suárez, S, Cisneros, R, & Trabucco, J. (2012). Evaluación de la capacidad antioxidante de los extractos acuosos de la raíz y las hojas de *Smallanthus sonchifolius* (yacón). *Revista de la Sociedad Química del Perú*, 78(2), 120-125. Recuperado en 04 de septiembre de 2022, de http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1810-634X2012000200006&lng=es&tng=es.
- Ávila Ávila, W., Medina Vargas, O. J., & Moreno Bastidas, L. M. (2019). Aplicación de un diseño factorial 23 en la extracción asistida por microondas y evaluación de la actividad antioxidante de los compuestos presentes en frutos de *Vaeenium meridionale*. *Revista Colombiana de Ciencias Químico-Farmacéuticas*, 48(3), 643-661.
- Bakan, B., Bily, A. C., Melcion, D., Cahagnier, B., Regnault-Roger, C., Philogène, B. J., & Richard-Molard, D. (2003). Possible role of plant phenolics in the production of trichothecenes by *Fusarium graminearum* strains on different fractions of maize kernels. *Journal of agricultural and food chemistry*, 51(9), 2826-2831.
- Rajakariar, R., Hilliard, M., Lawrence, T., Trivedi, S., Colville-Nash, P., Bellingan, G., ... & Gilroy, D. W. (2007). Hematopoietic prostaglandin D2 synthase controls the onset and resolution of acute inflammation through PGD2 and 15-deoxy Δ 12-14 PGJ2. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104(52), 20979-20984.
- Castaño, D. L., del Pilar Valencia, M., Murillo, E., Mendez, J. J., & Joli, J. E. COMPOSICIÓN DE ÁCIDOS GRASOS DE SACHA INCHI (*Plukenetia volúbilis* Linneo) Y SU RELACIÓN CON LA BIOACTIVIDAD DEL VEGETAL FATTY ACID COMPOSITION OF INCA PEANUT (*Plukenetia*

volubilis Linneo) AND.

- Ordoñez Castillo, F. M., Bernal Pita Da Veiga, M. de L. Á., Vidal González, N. P., & Moreno Herrera, A. (2019). EFECTOS ANTIOXIDANTES DE MORINGA OLEIFERA LAM EN VITROPLAN- TAS DE BANANO CLON WILLIAMS ENRAIZADAS EN SISTEMAS DE IN- MERSIÓN TEMPORAL RITA. *Revista científica agroecosistemas*, 5, 7–63.
- Cisneros, F. H., Paredes, D., Arana, A., & Cisneros-Zevallos, L. (2014). Chemical composition, oxidative stability and antioxidant capacity of oil extracted from roasted seeds of Sacha- inchi (*Plukenetia volubilis* L.). *Journal of agricultural and food chemistry*, 62(22), 5191- 5197.
- Covelo, F., & Gallardo, A. (2001). Temporal variation in total leaf phenolics concentration of *Quercus robur* in forested and harvested stands in northwestern Spain. *Canadian Journal of Botany*, 79(11), 1262-1269.
- Felices, E. J. A., Rivera, P. E. B., & Roca, E. C. E. (2020). Capacidad antioxidante de extractos obtenidos de las hojas de *Senecio rufescens* DC. *Revista de la Sociedad Química del Perú*, 86(4), 374-385.
- Giménez, B., Sanabria, M. E., & Salas, J. E. (2020). Efecto del cultivo en dos pisos altitudinales sobre la síntesis de metabolitos secundarios en hojas de *Stevia rebusiana* Bertoni. *Ciencia y Desarrollo*, 23(2), 57-64.
- González, C. G., González, M. A., Saritama, R. C., & Aguilar, J. A. (2018, September). Determinación de fenoles en Ají Gallinazo (*Capsicum frutescens*)-Ají Rocoto (*Capsicum pubescens*) aplicando Espectrofotometría. In *Conference Proceedings UTMACH* (Vol. 2, No. 1)
- Gulcin, İ. (2020). Antioxidants and antioxidant methods: an updated overview. *Archives of Toxicology*, 94(3), 651–715. <https://doi.org/10.1007/s00204-020-02689-3>
- Gündüz, K., & Özbay, H. (2018). The effects of genotype and altitude of the growing location on physical, chemical, and phytochemical properties of strawberry. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 42(3), 145–153. <https://doi.org/10.3906/tar-1706-65>
- Gutiérrez, L. F., Rosada, L. M., & Jiménez, Á. (2011). Chemical composition of Sacha Inchi (*Plukenetia volubilis* L.) seeds and characteristics of their lipid fraction. *Grasas y Aceites*, 62(1), 76–83.
- Giambanelli, E., Gómez-Caravaca, A. M., Ruiz-Torralba, A., Guerra-Hernández, E. J., Figueroa- Hurtado, J. G., García-Villanova, B., & Verardo, V. (2020). New advances in the determination of free and bound phenolic compounds of banana passion fruit pulp (*Passiflora tripartita*, Var. *Mollissima* (Kunth) Ih Bailey) and their in vitro antioxidant and hypoglycemic capacities. *Antioxidants*, 9(7), 628.
- Hanssen, H.-P., & Schmitz-Hübsch, M. (2011). Sacha Inchi (*Plukenetia volubilis* L.) Nut Oil and Its Therapeutic and Nutritional Uses. In *Nuts and Seeds in Health and Disease Prevention* (pp. 991–994). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-375688-6.10117-3>
- Hidalgo, R., Eduardo, L., Valdiviezo Rogel, C. J., & Bonilla Bermeo, S. M. (2019). Caracterización del aceite de la semilla de Sacha Inchi (*plukenetia volubilis*) del cantón San Vicente, Manabí, Ecuador, obtenida mediante procesos no térmicos de extrusión. *LA GRANJA. Revista de Ciencias de la Vida*, 30(2), 77-87.
- Hernandez, T., Canales, M., Avila, J. G., García, A. M., Meraz, S., Caballero, J., & Rafael, L. I. R. A. (2009). Composition and antibacterial activity of essential oil of *Lippia graveolens* HBK (Verbenaceae). *Boletín Latinoamericano y Del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 8(4), 295–300.
- Jaakola, L., & Hohtola, A. (2010). Effect of latitude on flavonoid biosynthesis in plants. *Plant, cell & environment*, 33(8), 1239-1247.
- Jorge Meza, E., & Segura Alania, E. S. (2011). Evaluación de la actividad antioxidante y la concentración de polifenoles totales en el fruto de sauco (*sambucus peruviana* hbk) provenientes de la provincia de Tarma y Huancayo.
- Kähkönen, M. P., Hopia, A. I., & Heinonen, M. (2001). Berry phenolics and their antioxidant activity. *Journal of agricultural and food chemistry*, 49(8), 4076- 4082. <https://doi.org/10.1021/jf010152t>
- Menzel, A., Yuan, Y., Matiu, M., Sparks, T., Scheifinger, H., Gehrig, R., & Estrella, N. (2020). Climate change fingerprints in recent European plant phenology. *Global Change Biology*, 26(4), 2599–2612. <https://doi.org/10.1111/gcb.15000>

- Ramirez-Azuaje, D., Pinto-Catari, I., Peraza-Marrero, M., Orosco-Vargas, C., & Pacheco-Coello, F. (2018). *Hibiscus sabdariffa* L. Una comparación de compuestos fenólicos totales y flavonoides en cálices y hoja. *Vitae*, (76), 1-5.
- Ramírez, J. D. P., Soria, E. E. A., Chinga, A. E. P., & Herrera, K. S. G. (2021). Condiciones de mercado para la demanda nacional del sacha inchi en Ecuador. *Revista de Ciencias Sociales*, 27(1), 290–301.
- Revilla, M. X. Z., Morales, K. L., Pita, M. D. L. Á. B., Veiga, D., & Herrera, A. M. (2021). Potencial antioxidante de hojas de guanábana (*Annona muricata* L.) para sistemas productivos de banano. *Revista Científica Agroecosistemas*, 9(1), 35-40.
- Reyes-Silva, J. A., Salazar-Campos, A., & Ríos-Cortés, H. H. (2020). Metabolitos secundarios de las plantas (angiospermas) y algunos usos interesantes. *UNO Sapiens Boletín Científico de La Escuela Preparatoria No. 1*, 2(4), 16–18.
- Solomon, A., Golubowicz, S., Yablowicz, Z., Grossman, S., Bergman, M., Gottlieb, H. E., ... & Flaishman, M. A. (2006). Antioxidant activities and anthocyanin content of fresh fruits of common fig (*Ficus carica* L.). *Journal of agricultural and food chemistry*, 54(20), 7717-7723
- Tobar-Reyes, J. R., Franco-Mora, O., Morales-Rosales, E. J., Cruz -Castillo, J. G. (2011). Fenoles de interés farmacológico en hojas de vides silvestres (*Vitis* spp.) de México. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 10(2), 167-172.
- Valdiviezo, C. J., Romero Hidalgo, L. E., & Bonilla Bermeo, S. M. (2019). Caracterización del aceite de la semilla de Sacha Inchi (*Plukenetia volubilis*) del cantón San Vicente, Manabí, Ecuador, obtenida mediante procesos no térmicos de extrusión. *La Granja*, 30(2), 77–87. <https://doi.org/10.17163/lgr.n30.2019.07>
- Varón, E. Y., Ospina, F. S., Murillo, E., & Méndez, J. J. (2007). Tamizaje fitoquímico y actividad antioxidante de extractos acuoso y orgánicos de *justicia pectoralis* jacq.(amansa toros) y de volátiles y no volátiles de *lippia alba* mill.(pronto alivio) cultivadas en diferentes pisos térmicos. *Scientia et technica*, 13(33), 349-350.
- W. Brand-Williams, M.E. Cuvelier, C. B. (1995). Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. *Food Science and Technology*, 28(1), 25–30. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5).
- Wang, S., Zhu, F., & Kakuda, Y. (2018). Sacha inchi (*Plukenetia volubilis* L.): Nutritional composition, biological activity, and uses. *Food chemistry*, 265, 316-328.
- Zenteno Pizarro, B. F. (2019). Extracción de principios activos de estructura fenólica y evaluación de la capacidad antioxidante a partir de *Azorella Compacta*.
- Zhiminaicela Cabrera, J. B., Lima Morales, K. A., Quevedo Guerrero, J. N., García Batista, R. M., & Rogel Jarrín, B. A. (2021). Incendios forestales un factor influyente en la degradación de la biodiversidad del cantón Chilla, Ecuador. *Revista Científica Del Amazonas*, 4(7), 5–12. <https://doi.org/10.34069/RA/2021.7.01>
- Zhiminaicela Cabrera, J. B., Mora Encalada, C., Quevedo Guerrero, J., Herrera Reyes, S., Morocho Castillo, A., & León Toro, J. (2021). Influencia De la Madurez de las Mazorcas de Cacao: Calidad Nutricional y Sensorial del Cultivar CCN-51. *Revista Bases de La Ciencia. e-ISSN 2588-0764*, 6(2), 27. https://doi.org/10.33936/rev_bas_de_la_ciencia.v6i2.2706