

## Optimización del proceso de extracción acuosa a partir de hojas de *Psidium guajava* L. (guayabo)

Optimization of the aqueous extraction process from *Psidium guajava* L.  
(guava) leaves

Daliannis Rodríguez Céspedes<sup>1\*</sup> <https://orcid.org/0000-0003-0389-740X>

Mario Antonio García Pérez<sup>2</sup> <https://orcid.org/0000-0002-0304-9665>

Yanelis Chongo Quiñones<sup>3</sup> <https://orcid.org/0000-0002-1435-9546>

Alicia Casariego Año<sup>1</sup> <https://orcid.org/0000-0002-7687-5984>

Eva Salas Olivet<sup>1</sup> <https://orcid.org/0000-0002-5651-193X>

<sup>1</sup>Universidad de La Habana, Instituto de Farmacia y Alimentos. La Habana, Cuba.

<sup>2</sup>Universidad Técnica de Manabí, Facultad de Ciencias de la Salud, Departamento de Ciencias Biológicas. Manabí, Ecuador.

<sup>3</sup>Empresa Integral Agropecuaria. Cienfuegos, Cuba.

\*Autor para la correspondencia: [dalyrc92@gmail.com](mailto:dalyrc92@gmail.com)

### RESUMEN

**Introducción:** Se ha demostrado que *Psidium guajava* L. es una fuente de sustancias bioactivas como los flavonoides. Frecuentemente se recurre a los extractos para aprovechar dichas sustancias. Aunque se ha investigado la actividad antioxidante de extractos acuosos de hojas de esta planta, es necesario conocer las mejores condiciones para el proceso de extracción.

**Objetivo:** Optimizar el proceso de extracción acuosa de la droga cruda obtenida a partir de hojas de *P. guajava* (guayabo) var. cubana Enana Roja EEA-1840.

**Métodos:** Se utilizó el método de optimización numérica mediante superficie de respuesta IV Óptimo para el diseño experimental y procesamiento de los datos de los extractos acuosos de hojas de guayabo. La relación droga/disolvente y tiempo de extracción fueron los factores seleccionados, mientras que el contenido de polifenoles totales y capacidad antioxidante fueron las variables de respuesta.

**Resultados:** El extracto optimizado presentó 6270 mg/L de polifenoles totales, valor inferior al obtenido mediante optimización numérica, mientras que su actividad antioxidante (5241,8 mg/100 mL) resultó superior.

**Conclusiones:** Al aumentar la relación droga cruda/disolvente se incrementaron el contenido de polifenoles totales y la capacidad antioxidante de los extractos acuosos obtenidos a partir de la droga cruda de hojas de guayabo sin que se observara un comportamiento similar por el tiempo de extracción.

**Palabras clave:** *Psidium guajava*; metabolitos secundarios; compuestos fenólicos; actividad antioxidante.

## ABSTRACT

**Introduction:** *Psidium guajava* L. has been shown to be a source of bioactive substances such as flavonoids. Extracts are often used to take advantage of these substances. Although the antioxidant activity of aqueous extracts of leaves of this plant has been investigated, it is necessary to know the best conditions for the extraction process.

**Objective:** To optimize the process of aqueous extraction of the raw drug obtained from leaves of *P. guajava* (guayabo) var. Cuban Red Dwarf EEA-1840.

**Methods:** The method of numerical optimization by optimal IV response surface was used for the experimental design and data processing of aqueous extracts of guava leaves. The drug/solvent ratio and extraction time were the selected factors, while the total polyphenol content and antioxidant capacity were the response variables.

**Results:** The optimized extract presented 6270 mg/L of total polyphenols, a value lower than that obtained by numerical optimization, while its antioxidant activity (5241.8 mg/100 mL) was higher.

**Conclusions:** By increasing the raw drug/solvent ratio, the total polyphenol content and antioxidant capacity of the aqueous extracts obtained from the raw drug of guava leaves were increased without a similar behavior being observed for the extraction time.

**Keywords:** *Psidium guajava*; secondary metabolites; phenolic compounds; antioxidant activity.

Recibido: 03/04/2020

Aceptado: 29/03//2022

## Introducción

Las plantas medicinales han constituido desde tiempos remotos un recurso de gran importancia para cubrir las necesidades terapéuticas. Su uso como agentes para la salud es ampliamente conocido en múltiples culturas del mundo y se transmite a través de generaciones. Este saber tradicional se ha perfeccionado a lo largo del tiempo por el rigor científico de ensayos químicos, farmacológicos, toxicológicos y clínicos para explicar de forma racional el uso terapéutico de una planta, lo que permite además la vigencia de su empleo.<sup>(1)</sup>

*Psidium guajava* L. es una especie que ha sido objeto de varias investigaciones sobre su actividad biológica. Se ha demostrado que tanto las frutas como las hojas son fuentes de sustancias bioactivas como los flavonoides.<sup>(2)</sup> Muchos de estos compuestos son producidos y almacenados en tejidos jóvenes como hojas, flores y semillas.<sup>(3)</sup>

Sus hojas presentan varios usos medicinales en forma de droga cruda, decocciones, té, tabletas y extractos. Se utilizan para el tratamiento de la diarrea, diabetes mellitus, enfermedades respiratorias y la tos, aunque también poseen actividad antiinflamatoria, antimicrobiana, cicatrizante, antioxidante y otras.<sup>(2)</sup>

Para aprovechar las sustancias activas de una planta se recurre con frecuencia a los extractos. De los métodos de obtención el que se emplea con mayor frecuencia por su sencillez es la maceración. Esta depende de la adecuada elección del disolvente a utilizar.<sup>(4)</sup>

Varios autores han estudiado las propiedades antioxidantes del extracto acuoso de hojas de *P. guajava*,<sup>(5)</sup> sin embargo se precisan más estudios sobre esta actividad biológica y los compuestos bioactivos responsables de ella.

De manera que el objetivo del presente trabajo fue optimizar el proceso de extracción acuosa de la droga cruda obtenida a partir de hojas de *P. guajava* (guayabo) var. cubana Enana Roja EEA-1840.

## Métodos

### Recolección y procesamiento del material vegetal

Se recolectaron manualmente hojas de guayabo (*P. guajava*) var. cubana Enana Roja EEA-1840 de plantas localizadas en el Instituto de Farmacia y Alimentos de la Universidad de La Habana (La Lisa, La Habana). Debían mostrar las mismas características de estado vegetativo, tamaño, color, ausencia de manchas, grietas, alteraciones morfológicas visibles e infestadas por hongos y parásitos.

Las hojas frescas se cortaron en trozos de aproximadamente 1 cm<sup>2</sup> y se secaron en una estufa sin circulación forzada de aire a 40 °C, y se sometió la muestra a movimiento ocasional. El contenido de humedad se determinó por gravimetría indirecta por volatilización en una termobalanza (Sartorius Mod. MA-40, Alemania) a 105 °C hasta lograr una masa constante. Se realizó al inicio y durante el periodo de secado, tomando muestras de diferentes zonas de la bandeja. Los resultados se expresaron como porcentaje de humedad.

La droga cruda se obtuvo por secado y posterior a la molienda con el molino manual. Se acondicionó en bolsas de doble cierre Ziploc® (Thai Griptech Co. LTD, Tailandia) y en desecadora hasta su posterior análisis.

El tamaño de las partículas se evaluó mediante un análisis granulométrico mediante el empleo de un juego de tamices (DIN 4188, Alemania) con los siguientes tamaños 0,4; 0,315; 0,2; 0,16; 0,1; 0,05 mm. Estos se colocaron en orden de tamaño de abertura decreciente, de arriba hacia abajo y previamente pesados. Luego la muestra se ubicó sobre el tamiz superior y se agitó empleando un vibrador mecánico (Retsch Modelo Vibro VM1, Haan, Alemania) durante 15 min. Posteriormente, se pesaron los tamices para determinar la masa retenida en cada uno y también el colector.

La droga cruda se sometió a pruebas químicas para la detección e identificación cualitativa de componentes químicos bioactivos. Se utilizó el sistema de cruces como criterio de medida para especificar la cualificación de estos metabolitos secundarios.<sup>(6)</sup>

## Diseño experimental

Para el diseño experimental y procesamiento de los datos de los extractos acuosos de hojas de guayabo se empleó el software Design Expert 8.0.6 (Stat-ease Inc., Minneapolis, USA). Se utilizó el método de optimización numérica a través de una superficie de respuesta IV Óptimo. La relación droga/disolvente (A) con valores entre 0,05 y 0,2 y tiempo de extracción (B) entre 12 y 36 h fueron los factores seleccionados, mientras que el contenido de polifenoles totales y capacidad antioxidante fueron las variables de respuesta. El número total de combinaciones definidas por el software fue de 11 corridas, incluyendo 4 réplicas.

## Preparación y evaluación de los extractos acuosos de hojas de guayabo

La maceración se realizó en una zaranda a 260 min<sup>-1</sup> a temperatura ambiente. Al término del tiempo de extracción de cada una de las corridas la mezcla resultante se filtró y se desechó el residuo sólido. Los extractos se almacenaron en congelación a -32 °C hasta su posterior evaluación.

Se realizó la cuantificación de los polifenoles totales mediante una reacción colorimétrica de oxidación-reducción.<sup>(7)</sup> Para la curva de calibración se utilizó como patrón el ácido gálico a concentraciones entre 100 y 500 mg/L. También se realizó un ensayo en blanco preparado con 50  $\mu$ L de agua destilada bajo las mismas condiciones de la muestra. Los resultados fueron expresados como ácido gálico en mg/100 mL de extracto.

El ensayo consistió en añadir 1 mL de la disolución de ABTS<sup>•+</sup> [ácido 2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazol)-6-sulfónico] en un tampón fosfato salino (0,01 M) a pH 7,4 con absorbancia de  $1,00 \pm 0,02$  UA a 734 nm a un tubo de ensayo que contenía 100  $\mu$ L de extracto acuoso de hojas de guayabo. La muestra se dejó reaccionar durante 10 min a 25 °C en la oscuridad. Transcurrido ese tiempo, el ABTS<sup>•+</sup> remanente se cuantificó a 734 nm<sup>(8)</sup> en un espectrofotómetro (Rayleigh UV-1601, Beijing). Para la curva de calibración se empleó como sustancia patrón el Trolox en concentraciones entre 0 y 7  $\mu$ M. Debido a que la adición del extracto acuoso de hojas de guayabo redujo los radicales ABTS<sup>•+</sup> a su forma decolorada, la diferencia entre las absorbancias se usó para estimar la capacidad antioxidante expresada como Trolox en mg/100 mL de extracto.

El extracto acuoso optimizado se sometió a cromatografía en capa delgada por el método convencional ascendente con el empleo de sílica gel GF254 (Merck) de (10x5 cm) sobre soporte de vidrio aplicado sobre el material con el empleo de capilares.

Las fases móviles fueron acetato de etilo con ácido acético, ácido fórmico y agua (25:2,75:2,75:6,5), y n-butanol con ácido acético y agua (7:3:2). La cámara cromatográfica (19x9x5 cm) fue saturada durante 20 min con la fase móvil, previo a la corrida cromatográfica. Luego, las placas fueron secadas bajo la corriente de aire de la campana a temperatura ambiente (28 °C) hasta lograr la total remoción de la fase móvil.

El revelado de la placa se realizó en el espectro UV-VIS con una lámpara UV de baja intensidad (YL, Mod. WD-9403E, Beijing Liuyi Instrument Factory, China) a las longitudes de onda de 254 y 365 nm, con empleo de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> al 5 % (v/v), metanol y vapores de amoníaco como reveladores. Esta reacción se facilitó al someter a las placas a un flujo de aire caliente durante algunos minutos.

La determinación del color del extracto acuoso optimizado se realizó mediante el método espectrofotométrico.<sup>(9)</sup> También se determinaron el espectro de absorción entre 400 y 800 nm (Rayleigh UV-1601, Beijing) y el contenido de sólidos totales en termobalanza (Sartorius Mod. MA-40, Alemania) a 105 °C hasta masa constante.

## Análisis estadístico

Se realizó un análisis de varianza doble con el programa Statistics (versión 7, 2004, StatSoft. Inc., Tulsa, EE.UU.) y se utilizó la prueba de los rangos múltiples de Duncan para comparar las diferencias ( $p \leq 0,05$ ) entre las muestras.

## Resultados

La disminución del contenido de la humedad y de la velocidad de la pérdida de agua durante el secado de las hojas se ajustaron a un modelo polinomial de orden cinco con altos valores de coeficientes de determinación:

$$- DH = 5 \cdot 10^{-08} x^5 - 0,0001 x^4 + 0,011 x^3 - 0,2626 x^2 - 0,4199 x + 61,562$$

$$R^2 = 0,9965 \text{ (Ec. 1)}$$

$$- PA = 1 \cdot 10^{-05} x^5 - 0,0014 x^4 + 0,0656 x^3 - 1,5288 x^2 + 20,129 x - 78,849$$

$$R^2 = 0,9982 \text{ (Ec. 2)}$$

DH: disminución del contenido de humedad (% m/m b.h.); PA: pérdida de agua (g/h); x: tiempo (h).

El tamizado permitió separar de manera selectiva los tamaños de partículas de la droga cruda. Los porcentajes de retención en cada tamiz fueron 20,6; 14,2; 25,3; 17,4; 6,6; 8,4; y 7,5 % en orden decreciente.

La tabla 1 muestra la identificación cualitativa de los fitoconstituyentes de la droga cruda de hojas de guayabo mediante tres extracciones sucesivas con disolventes de polaridad creciente [éter de petróleo, etanol 90 % (v/v) y agua destilada]. Presenta una alta variabilidad de compuestos en esta droga, muchos de ellos empleados como ingredientes bioactivos en las industrias farmacéuticas y alimentarias.

**Tabla 1** - Perfil fitoquímico de la droga cruda de hojas de guayabo

Ensayo	Metabolito	Extracto		
		Etéreo	Alcohólico	Acuoso
Sudan	Compuestos grasos	+++		
Dragendorff	Alcaloides	±	+++	++
Baljet	Agrupamiento lactónico	-	+++	
Lieberman.B	Triterpenos/esteroides	+++	+++	
Catequinas	Catequinas		++	
Resinas	Resinas		±	
Fehling	Azúcares reductores		+++	+++

Espuma	Saponinas		+++	++
Cloruro de Fe	Compuestos fenólicos		+++	+++
Nihidrina	Aminoácidos libres o aminas		++	
Borotrager	Quinonas benzoquino		+++	
Shinoda	Flavonoides		+++	+++
Kedde	Glucósidos cardiotónicos		-	
Antocianidina	Antocianinas		+++	
Mucílagos	Mucílagos			++
Principios amargos	Principios amargos			+++
Aceites	Aceites			++

+: Presencia; ±: Regular; -: Ausencia.

La tabla 2 presenta los contenidos de polifenoles totales y capacidad antioxidante de los extractos para cada una de las condiciones ensayadas.

**Tabla 2** - Contenido de polifenoles totales y capacidad antioxidante de los extractos de hojas de guayabo

Corrida	Relación droga/disolvente	Tiempo de extracción (h)	Polifenoles totales (mg/L) <sup>1</sup>	Capacidad antioxidante (mg/100 mL) <sup>2</sup>
1	0,15	12,0	7583 (1400) c	2662 (424) bc
2	0,12	25,68	7629 (1044) c	2332 (540) bc
3	0,12	25,68	8058 (975) c	2852 (128) ab
4	0,15	12,0	7669 (1780) c	2934 (53) ab
5	0,12	25,68	7870 (656) c	2024 (126) cd
6	0,18	36,0	9678 (262) b	1139 (441) e
7	0,2	20,52	11030 (240) a	3480 (181) a
8	0,05	36,0	3931 (99) d	2853 (262) ab
9	0,05	15,6	4028 (65) d	1281 (273) e
10	0,05	15,6	4060 (97) d	1518 (252) de
11	0,2	20,52	10915 (450) a	2401 (140) bc

<sup>1</sup>: Expresado como ácido gálico equivalente (n= 6); <sup>2</sup>: Expresado como Trolox (n= 4)

Media (Desviación estándar).

Letras diferentes indican diferencias significativas ( $p \leq 0,05$ ).

La tabla 3 muestra la significación del análisis de varianza de la regresión y de los coeficientes estimados para las variables de respuesta contenido de polifenoles totales y capacidad antioxidante. El modelo cuadrático y 2FI resultaron significativos para un nivel de confianza del 95,0 %. Se demostró una relación significativa de la relación droga/disolvente y tiempo de extracción para el contenido de polifenoles totales, mientras que para la capacidad antioxidante fue la interacción entre ellos. El  $R^2$  indicó que el modelo ajustado explica el 99,69 % de la

variabilidad del contenido de polifenoles totales y 70,44 % de la variabilidad en la capacidad antioxidante.

La relación droga/disolvente y tiempo de extracción (A y B), así como sus homólogos cuadráticos ( $A^2$  y  $B^2$ ) fueron factores significativos ( $p \leq 0,05$ ) para el contenido de polifenoles totales, mientras que la interacción entre ambas variables resultó no significativa. La ecuación del modelo obtenido es:

$$- PT = 8251,47 + 3213,97A + 334,69B + 89,68AB - 276,07A^2 - 1114,02B^2$$

(Ec. 3)

**Tabla 3** - Análisis de varianza para el contenido de polifenoles totales y capacidad antioxidante

Fuente	Polifenoles totales	Capacidad antioxidante
	Valor <i>p</i>	Valor <i>p</i>
Modelo	< 0,0001	0,0086
A	< 0,0001	0,2738
B	0,0037	0,2000
AB	0,3596	0,0021
$A^2$	0,0350	-
$R^2$	0,0001	-
$R^2$ ajustado	0,9969	0,7040
Falta de ajuste	-	0,6819

A: relación droga/disolvente; B: tiempo de extracción.

La influencia de la relación droga/disolvente y tiempo de extracción sobre el contenido de polifenoles totales puede observarse mejor en la figura 1a.

En el caso de la capacidad antioxidante solo la interacción de la relación droga/disolvente y el tiempo de extracción (AB) resultó significativa ( $p \leq 0,05$ ). La ecuación del modelo que describe las relaciones entre estas variables es:

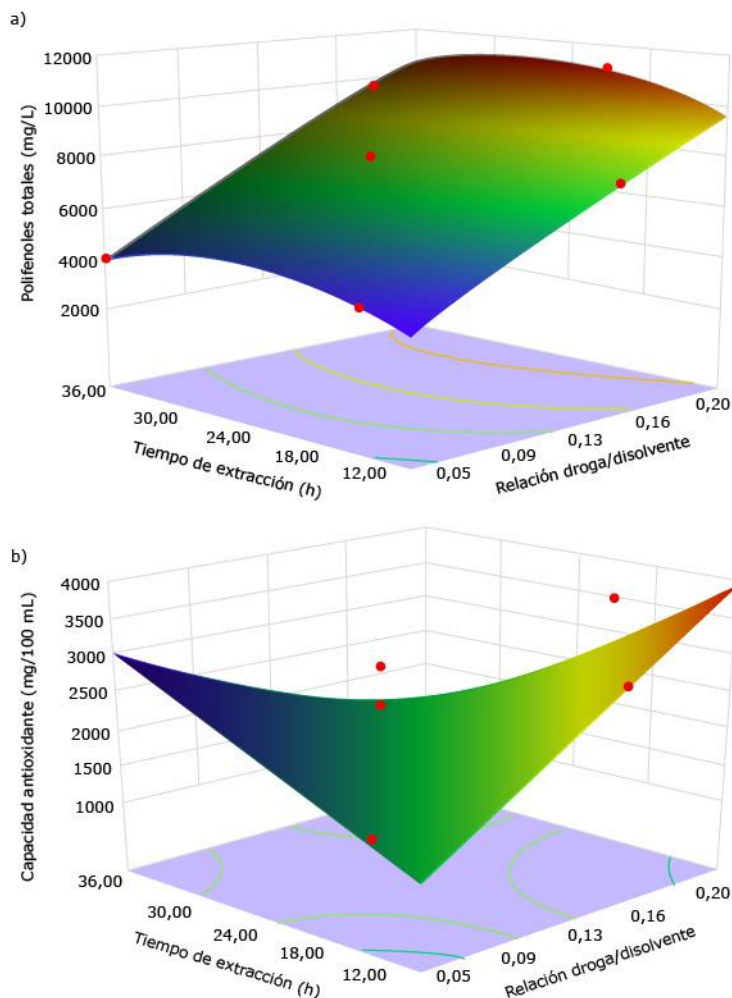
$$- CA = 2275,55 + 205,88A - 261,49B - 1186,02AB$$

(Ec. 4)

La afectación de la capacidad antioxidante por los factores se presenta en la figura 1b.

Para la optimización numérica del proceso de extracción se emplearon como restricciones los intervalos evaluados de las variables independientes relación droga/disolvente y el tiempo de extracción para lograr los mayores valores de contenido de polifenoles totales y capacidad antioxidante.





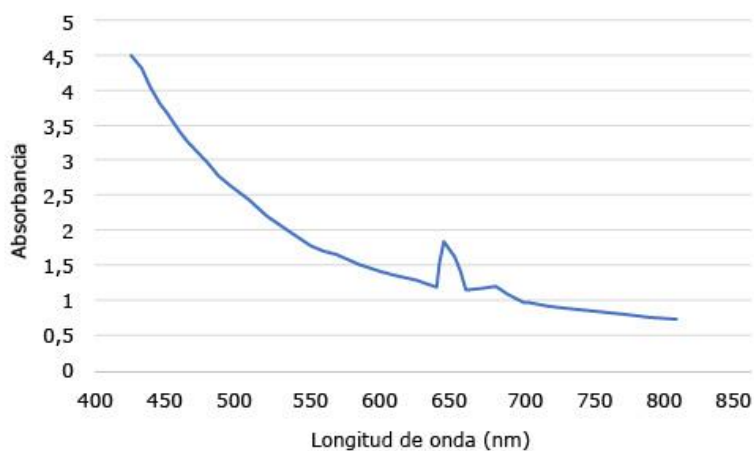
**Fig. 1** - Influencia de la relación droga/disolvente y tiempo de extracción sobre el contenido de polifenoles totales y la capacidad antioxidante.

La optimización numérica del proceso indicó que con el aumento de la relación droga/disolvente aumentan el contenido de polifenoles totales, la capacidad antioxidante y la conveniencia estadística. Sin embargo, el tiempo de extracción solo favoreció el contenido de polifenoles totales.

Se obtuvieron dos soluciones optimizadas que cumplieron con las restricciones. Ambas presentaron valores similares para las variables de respuesta, razón por la cual se seleccionó la de mayor conveniencia estadística.

El extracto acuoso optimizado con 5,3 (0,4) % de sólidos totales mostró 6 270 (140,5) mg/L de polifenoles totales y 5 241 (317,7) mg/100 mL de capacidad antioxidante expresado como Trolox. Los valores de las coordenadas cromáticas fueron 16,824 (0,002); 15,666 (0,006) y 28,5 (0,5) para  $L^*$  (luminosidad),  $a^*$  (coordenada rojo-verde) y  $b^*$  (coordenada amarillo-azul), respectivamente.

La figura 2 presenta el espectro visible del extracto acuoso de hojas de guayabo con un pico bien definido alrededor de los 650 nm.



**Fig. 2** - Espectro de absorción del extracto acuoso de hojas de guayabo optimizado.

## Discusión

La cinética del secado permitió estimar el tiempo óptimo del proceso para que la droga cruda se obtuviera con el menor contenido de humedad. En este caso, a partir de las 25 h el contenido de humedad varió entre 7,8 y 8,9 % (b.h.) hasta las 40 h.

La distribución del tamaño de partículas permitió clasificar a la droga cruda como un polvo fino<sup>(10)</sup>. Para obtener extractos vegetales por maceración se necesitaron polvos semifinos,<sup>(10)</sup> lo que permitió un incremento de la superficie específica del material y, por tanto una mayor área de contacto entre éste y el disolvente. Se obtuvieron mayores concentraciones de sustancias extraíbles.

En el extracto etéreo no solo se evidenció la presencia de compuestos grasos dada por la formación de un anillo rojo en las paredes del tubo de ensayo, sino también de alcaloides, agrupamientos lactónicos, triterpenos y esteroides, contrario a lo reportado por *Vikrant* y otros<sup>(11)</sup> y *Chanchal* y *Amit*<sup>(12)</sup> para hojas de guayabo.

Se comprobó también la presencia de saponinas en el extracto alcohólico, sin embargo otros trabajos indicaron la ausencia de este grupo de compuestos.<sup>(1,13)</sup> No se encontraron glucósidos cardiotónicos, lo cual es diferente a lo informado.<sup>(14)</sup> Además, se detectó la presencia de triterpenos y esteroides.<sup>(15)</sup> La coloración naranja intensa adquirida por la muestra, tanto en el extracto etanólico como en el acuoso, evidenció la presencia de flavonoides.

Se ha reportado la presencia de terpenos,<sup>(16)</sup> metabolito no identificado en este trabajo, debido posiblemente a su baja concentración durante la época de colecta y a la sensibilidad de estos ensayos. Un resultado negativo puede deberse a la ausencia de los compuestos, interferencia de sustancias extrañas, concentraciones trazas y selección errónea del disolvente.<sup>(6)</sup>

En la determinación de fenoles se observó una coloración verde oscura característica de este tipo de compuestos, con antioxidantes naturales beneficiosos para la prevención de enfermedades cardiovasculares y algunos tipos de cáncer.<sup>(17)</sup>

Las corridas 7 y 11, réplicas del ensayo de extracción, presentaron el mayor contenido de polifenoles totales ( $p \leq 0,05$ ). Quizás como consecuencia a que estas corridas se correspondieron con la mayor relación droga cruda/agua destilada, mientras que tanto la corrida 8 como las 9 y 10 (réplicas), con la menor relación droga cruda/agua destilada, presentaron el menor contenido de polifenoles totales ( $p \leq 0,05$ ). Los tiempos del proceso de extracción de estas corridas (8: 36 h; 9 y 10: 15,6 h; 7 y 11: 20,52 h) de forma general no influyeron en el contenido de polifenoles totales. No así la relación droga cruda/agua destilada.

Al analizar los coeficientes en la Ec. 3 se tiene que el término de la relación droga/disolvente tiene mayor influencia sobre la variable dependiente, seguido del término cuadrático del tiempo de extracción. De acuerdo al signo de los coeficientes de la ecuación, el contenido de polifenoles totales aumenta a medida que aumenta la relación droga/disolvente y disminuye el tiempo de extracción.

De acuerdo a los coeficientes en la Ec. 4, el término de la interacción de las variables del modelo tuvo mayor influencia sobre la capacidad antioxidante. En relación a los signos de los coeficientes, la capacidad antioxidante aumenta con la disminución de los valores de ambas variables, siendo el tiempo de extracción la variable de mayor incidencia.

En el presente trabajo no se observó una relación entre el contenido de polifenoles totales de los extractos con su capacidad antioxidante (Tabla 2). La correlación entre los compuestos fenólicos y la actividad antioxidante no está definida. La presencia de algunos otros fitoquímicos como el ácido ascórbico, tocoferol y pigmentos, y los efectos sinérgicos entre ellos, también contribuyeron a la capacidad antioxidante total. Por otra parte, el uso de Folin-Ciocalteu no es una medida absoluta de la cantidad de materiales fenólicos.<sup>(18)</sup>

Los extractos de plantas contienen diferentes tipos de compuestos fenólicos que tienen diferentes capacidades antioxidantes.<sup>(19)</sup> Dicha capacidad sugiere que los compuestos fenólicos no hacen una contribución importante a la actividad antioxidante de los extractos, resultados

similares a los informados.<sup>(10)</sup> La falta de estandarización en los métodos analíticos puede conducir a grandes diferencias en los resultados.

El contenido de sólidos totales del extracto optimizado resultó menor que el de otros informados con un contenido de sólidos totales de 12,73 mg/mL con una relación droga cruda/agua destilada de 0,1 y decocción durante 90 min como proceso extractivo.<sup>(11)</sup>

El extracto optimizado presentó 6270 mg/L (6,081 mg/g) de polifenoles totales, valor inferior al obtenido mediante la optimización numérica, y a los reportados para extractos acuosos de hojas de guayabo,<sup>(12)</sup> lo cual pudiera relacionarse con factores como la variedad y las prácticas culturales.

La capacidad antioxidante; 5241,8 mg/100 mL (524180 µg/mL), resultó superior al estimado mediante la optimización numérica, y a la reportada para otros extractos acuosos de hojas de guayabo. Así, se han reportado valores entre 37,17 y 98,74 µg/mL para extractos obtenidos por decocción.<sup>(20)</sup> Esta variabilidad pudo deberse, entre otros factores a diferencias en el proceso de extracción.

El color del extracto acuoso optimizado se debió principalmente a la contribución amarilla (valor positivo de  $b^*$ ) y en menor proporción a la contribución roja (valor positivo de  $a^*$ ). Su combinación con la luminosidad resultó en un color marrón intenso con tonalidades anaranjadas, lo cual pudo estar relacionado con la presencia de flavonoides.

El revelado con luz ultravioleta a 254 nm mostró manchas fluorescentes que indicaron la presencia de compuestos con grupos cromóforos en su estructura. El revelado con vapores de amoníaco, basado en los cambios de color por alcalinidad, indicó la presencia de compuestos con grupos fenólicos en su estructura que al reaccionar con el amoníaco exhibieron una coloración amarilla.

Al revelar con H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> al 5 % en metanol y calor se observaron manchas del extracto. La corrida con acetato de etilo, ácido acético, ácido fórmico y agua destilada (25: 2,75: 2,75: 6,5) presentó tres manchas amarillas en las dos bandas. La primera banda mostró manchas con valores de Rf iguales a 5,6; 5,7 y 1,2 semejantes a la segunda con valores de 5,6; 5,3 y 1,2 que pertenecían al mismo extracto pero a una mayor concentración.

Cuando se empleó n-butanol, ácido acético y agua destilada (35: 15: 10) como fase móvil ocurrió de forma similar a la corrida anterior pero solo se observaron dos manchas amarillas con valores de Rf de 2,4 y 1,4 en la primera banda y 2,4 y 1,3 en la segunda, la de mayor concentración de extracto.

La droga cruda presentó entre 7,8 y 8,9 % de humedad. Al aumentar la relación droga cruda/disolvente se incrementaron el contenido de polifenoles totales y la capacidad antioxidante, sin que se observara un comportamiento similar para el tiempo de extracción. El extracto optimizado presentó 6270 mg/L de polifenoles totales y una capacidad antioxidante de 5241,8 mg/100 mL.

El perfil fitoquímico mostró que las hojas de guayabo constituyen una fuente importante de metabolitos secundarios, especialmente aquellos de naturaleza fenólica como flavonoides, taninos, saponinas y otros compuestos bioactivos que se encuentran ampliamente difundidos en el reino vegetal.

### Referencias bibliográficas

1. Kumar M, Tomar M, Amarowicz R, Saurabh V, Nair MS, Maheshwari C, *et al.* Guava (*Psidium guajava* L.) leaves: Nutritional composition, phytochemical profile and health-promoting bioactivities. *Foods*. 2021;10:752. DOI: <https://doi.org/10.3390/foods10040752>
2. Vargas D, Soto M, González VA, Engleman EM, Nava AD. Flavonoids in *Psidium guajava* L. leaves. *Horticult Int J*. 2021;5(1):38-41. DOI: <https://doi.org/10.15406/hij.2021.05.00201>
3. Haggag MI, Elhaw MH. Phytochemical assay on leaves, bracts, and flowers of *Bougainvillea spectabilis* and isolation of phenolic materials from bracts. *Science Direct*. 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2021.12.039>
4. Lezoul NE, Belkadi M, Habibi F, Guillén F. *Molecules*. 2020;25:4672. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules25204672>
5. Melo C, Cornejal N, Cruz V, Alsaidi S, Cruz G, Gomez A, *et al.* Antioxidant capacity and antimicrobial activity of commercial samples of guava leaves (*Psidium guajava*). *J Medicinally Active Plants*. 2020;9(1):13. DOI: <https://doi.org/10.7275/zzfy-zk15>
6. Terán EC, Cuéllar A, Salas E. Tamizaje fitoquímico de extractos etéreo, acuoso y alcohólico de *Croton wagneri* Müll. Arg. (moshquera). *Rev Cubana Plantas Medicinales*. 2021 [acceso: 15/02/2021];26(1):e852. Disponible en: <http://www.revplantasmedicinales.sld.cu/index.php/pla/article/download/852/462>
7. Lamuela Raventós RM. Folin Ciocalteu method for the measurement of total phenolic content and antioxidant capacity. *Wiley Online Library*. 2017. DOI: <https://doi.org/10.1002/9781119135388.ch6>

8. Ilyasov IR, Beloborodov VL, Selivanova IA, Terekhov RP. ABTS/PP decolorization assay of antioxidant capacity reaction pathways. *Int J Mol Sci.* 2020;21:1131. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms21031131>
9. Ruiz Y, García MA, Rodríguez D. Efecto del extracto hidroalcohólico de cúrcuma en la inhibición del pardeamiento no enzimático en néctar de mango. *Cienc Tecnol Aliment.* 2017 [acceso: 11/09/2019];27(2):39-44. Disponible en: <https://www.revcitecal.iiia.edu.cu/revista/index.php/RCTA/article/view/146/124>
10. Sharapin N. Materias primas vegetales para la industria de productos fitofarmacéuticos. *Rev Fitoterapia.* 2000 [acceso: 21/01/2020];1(3):197-203. Disponible en: [https://www.fitoterapia.net/php/descargar\\_documento.php?id=4797&doc\\_r=sn&num\\_volume\\_n=3&secc\\_volumen=5951](https://www.fitoterapia.net/php/descargar_documento.php?id=4797&doc_r=sn&num_volume_n=3&secc_volumen=5951)
11. Arya V, Thakur N, Kashyap CP. Preliminary phytochemical analysis of the extracts of *Psidium guajava* leaves. *J Pharmacogn Phytochem.* 2010 [acceso: 13/01/2020];1(1):1-5. Disponible en: [https://www.phytojournal.com/vol1Issue1/Issue\\_may\\_2012/1.1.pdf](https://www.phytojournal.com/vol1Issue1/Issue_may_2012/1.1.pdf)
12. Roy CK, Das AK. Comparative evaluation of different extracts of leaves of *Psidium guajava* Linn. for hepatoprotective activity. *Pak J Pharm Sci.* 2010 [acceso: 13/01/2020];23(1):15-20. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20067861/>
13. Biswas B, Rogers K, McLaughlin F, Daniels D, Yadav A. Antimicrobial activities of leaf extracts of guava (*Psidium guajava* L.) on two Gram-negative and Gram-positive bacteria. *Int J Microbiol.* 2013;1-7. DOI: <https://doi.org/10.1155/2013/746165>
14. Anbuselvi S, Jeyanthi R. Phytochemical biochemical and antimicrobial activity of *Psidium Guajava* leaf extract. *J Pharm Sci Res.* 2017 [acceso: 13/01/2020];9(12):2431-3. Disponible en: <https://www.jpsr.pharmainfo.in/Documents/Volumes/vol9Issue12/jpsr09121726.pdf>
15. Sudira IW, Merdana IM, Qurani SN. Preliminary phytochemical analysis of guava leaves (*Psidium guajava* L.) as antidiarrheal in calves. *J Adv Trop Biod Environ Scien.* 2019;3(2):21-4. DOI: <https://doi.org/10.24843/atbes.v03.i02.p01>
16. Naseer S, Hussain S, Naeem N, Pervaiz M, Rahman M. The phytochemistry and medicinal value of *Psidium guajava* (guava). *Clin Phytosci.* 2018;4(32). DOI: <https://doi.org/10.1186/s40816-018-0093-8>
17. Reboredo Rodríguez P, Varela López A, Forbes Hernández TY, Gasparini M, Afrin S, Cianciosi D, *et al.* Phenolic compounds isolated from olive oil as nutraceutical tools for the prevention and management of cancer and cardiovascular diseases. *Int J Mol Sci.* 2018;19(8):2305. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms19082305>

18. Rahiman S, Tantry BA, Kumar A. Variation of antioxidant activity and phenolic content of some common home remedies with storage time. *Afr J Tradit Complement Altern Med*. 2012;10(1):124-7. DOI: <https://doi.org/10.4314/ajtcam.v10i1.16>
19. Maina S, Ryu DH, Bakari G, Misinzo G, Nho CW, Kim H-Y. Variation in phenolic compounds and antioxidant activity of various organs of African cabbage (*Cleome gynandra* L.) Accessions at different growth stages. *Antioxidants*. 2021;10(12):1952. DOI: <https://doi.org/10.3390/antiox10121952>
20. Pineda CA, Roque M. Efecto antimicrobiano de *Psidium guajava* L. contra *Salmonella typhimurium* en *Cavia porcellus* L. [Tesis de maestría]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2013 [acceso: 13/01/2020]. Disponible en: <https://hdl.handle.net/20.500.12672/3942>

### Conflicto de intereses

Los autores declaran que no existe conflicto de intereses.

### Contribuciones de los autores

*Conceptualización:* Daliannis Rodríguez Céspedes.

*Curación de datos:* Mario Antonio García Pérez, Alicia Casariego Año.

*Análisis formal:* Daliannis Rodríguez Céspedes, Mario Antonio García Pérez, Yanelis Chongo Quiñones, Eva Salas Olivet.

*Investigación:* Daliannis Rodríguez Céspedes, Mario Antonio García Pérez, Yanelis Chongo Quiñones, Eva Salas Olivet.

*Metodología:* Daliannis Rodríguez Céspedes, Mario Antonio García Pérez, Eva Salas Olivet.

*Visualización:* Daliannis Rodríguez Céspedes, Yanelis Chongo Quiñones.

*Redacción del borrador original:* Daliannis Rodríguez Céspedes, Mario Antonio García Pérez, Yanelis Chongo Quiñones, Alicia Casariego Año, Eva Salas Olivet.

*Redacción, revisión y edición:* Daliannis Rodríguez Céspedes, Mario Antonio García Pérez.