

Revista Cubana de
Ciencias Forestales

CFORES

Volumen 9, número 1; 2021


Artículo original

Composición fenólica de *Cryptocarya alba* (Mol) Looser en distintas localidades y estaciones del año

Phenolic composition of *Cryptocarya alba* (Mol) Looser in different locations and seasons of the year

Composição fenólica de *Cryptocarya alba* (Mol) Looser em diferentes localidades e estações do ano

Karen Angélica Peña-Rojas^{1*}  <https://orcid.org/0000-0001-6795-1503>

Álvaro Peña Neira²  <https://orcid.org/0000-0003-1605-4241>

Nicolás Pacheco Cruz³  <https://orcid.org/0000-0002-2201-5057>

Sergio Donoso Calderón⁴  <https://orcid.org/0000-0002-4599-4702>

Alejandro Riquelme Escobar⁵  <https://orcid.org/0000-0002-2509-837X>

Rodrigo Gangas¹  <https://orcid.org/0000-0002-0111-9631>

Sergio Durán¹  <https://orcid.org/0000-0001-9366-9990>

¹Universidad de Chile. Facultad de Ciencias Forestales y de la Conservación de la Naturaleza. Departamento de Silvicultura. Chile.

²Universidad de Chile. Facultad de Ciencias Agronómicas. Departamento de Agroindustria y Enología. Chile.

³Universidad de Chile. Chile.

⁴Universidad de Chile. Facultad de Ciencias Forestales y de la Conservación de la Naturaleza. Departamento de Silvicultura. Chile.

⁵Universidad de Chile. Facultad de Ciencias Forestales y de la Conservación de la Naturaleza. Chile.

*Autor para la correspondencia: kpena@uchile.cl

Recibido: 02/09/2020.

Aprobado: 01/03/2021.



RESUMEN

La composición fenólica de diversas especies vegetales se ha estudiado para conocer cuantitativa y cualitativamente los compuestos presentes en ellas y declarar su uso como materia prima en la industria alimentaria, farmacológica, y cosmética, entre otras. En Chile hay poca información de la composición fenólica de especies vegetales nativas del bosque mediterráneo, por lo que es de gran importancia realizar estudios de caracterización fenólica para detectar cuáles son los compuestos mayoritarios, y facilitar su posible extracción o utilización de la materia prima. El objetivo de este estudio fue caracterizar y cuantificar por cromatografía líquida de alta resolución (HPLCDAD), la composición fenólica de *Cryptocarya alba* (Mol) Looser, en hojas y ramas jóvenes, en siete localidades de la zona central de Chile y durante las estaciones de invierno, primavera y verano. En las distintas muestras se cuantificaron los fenoles totales (FT), los taninos condensados (TC) y los fenoles de bajo peso molecular. En hojas de *C. alba*, para las distintas estaciones del año y localidades analizadas, se obtuvieron rangos de concentraciones de 9,8329,85 mgEAG g⁻¹ para FT y 7,0632,00 mgEC g⁻¹ para TC; mientras, en las ramas jóvenes, se observan concentraciones entre 0,681,61 mgEAG g⁻¹ de FT y 1,232,53 mgEC g⁻¹ de TC. Los compuestos fenólicos de bajo peso molecular, identificados en mayor concentración en *C. alba* fueron: ácido trans-clorogénico, seguido de procianidinas y flavonoles. Se concluyó que la composición y la concentración de compuestos fenólicos de *C. alba* varían, con la localidad y estación del año.

Palabras clave: Compuestos fenólicos; *Cryptocarya alba*; Flavonoides; Taninos.

ABSTRACT

The phenolic composition of various plant species has been studied in order to know quantitatively and qualitatively the compounds present in them, to be used as raw material in the food, pharmacological and cosmetic industries, among others. In Chile there is little information on the phenolic composition of native plant species of the Mediterranean forest, so it is of great importance to carry out phenolic characterization studies, in order to detect which are the major compounds for their possible extraction or use of raw materials. The objective of this study was to characterize and quantify by high performance liquid chromatography (HPLC-DAD) the phenolic composition of *Cryptocarya alba* (Mol) Looser, in young leaves and branches, in seven locations in central Chile and during the winter, spring and summer seasons. Total phenols (FT), condensed tannins (TC) and low molecular weight phenols were quantified in the different samples. In *C. alba* leaves, for the different seasons of the year and localities analyzed, concentration ranges of 9.83-29.85 mgEAG g⁻¹ for FT and 7.06-32.00 mgEC g⁻¹ for TC; while in the young branches, concentrations between 0.68-1.61 mgEAG g⁻¹ for TF and 1.23-2.53 mgEC g⁻¹ for TC. The low molecular weight phenolic compounds identified in the highest concentration in *C. alba* were: trans-chlorogenic acid, followed by procyanidins and flavonols. Finally, it was concluded that the composition and concentration of phenolic compounds of *C. alba* changes with the locality and season of the year.

Keywords: Phenolic compounds; *Cryptocarya alba*; Flavonoids; Tannins.



RESUMO

A composição fenólica de várias espécies vegetais tem sido estudada para conhecer quantitativa e qualitativamente os compostos nelas presentes e declarar a sua utilização como matéria-prima nas indústrias alimentar, farmacológica e cosmética, entre outras. No Chile há pouca informação sobre a composição fenólica das espécies vegetais nativas da floresta mediterrânea, pelo que é de grande importância realizar estudos de caracterização fenólica para identificar quais são os principais compostos, e facilitar a sua possível extração ou utilização da matéria-prima. O objetivo deste estudo foi caracterizar e quantificar por cromatografia líquida de alto rendimento (HPLC/DAD), a composição fenólica de *Cryptocarya alba* (Mol) Looser, em folhas e ramos jovens, em sete localidades da zona central do Chile e durante as estações de Inverno, Primavera e Verão. Os fenóis totais (TF), taninos condensados (CT) e fenóis de baixo peso molecular foram quantificados nas diferentes amostras. Em folhas de *C. alba*, para as diferentes estações e localidades analisadas, as concentrações variaram entre 9,8329,85 mgEAG g⁻¹ para TF e 7,0632,00 mgEC g⁻¹ para TC; enquanto que, em ramos jovens, foram observadas concentrações entre 0,681,61 mgEAG g⁻¹ de TF e 1,232,53 mgEC g⁻¹ de TC. Os compostos fenólicos de baixo peso molecular, identificados em maior concentração em *C. alba* foram: ácido trans-clorogénico, seguido de procianidinas e flavonóis. Concluiu-se que a composição e concentração de compostos fenólicos de *C. alba* variam com a localidade e estação do ano.

Palavras chave: Compostos fenólicos; *Cryptocarya alba*; Flavonóides; Taninos.

INTRODUCCIÓN

En Chile hay escasa información de la composición fenólica de especies vegetales nativas del bosque mediterráneo. Entre las especies arbóreas más importantes de la región mediterránea, se destaca *Cryptocarya alba* (Mol.) Looser (peumo), un árbol endémico de Chile, que crece desde el sur de la provincia de Limarí (30° 30' S y 71° 00' O), hasta la provincia de Cautín (entre los 37° 35' y los 39° 35' de latitud Sur) (Rodríguez *et al.*, 1983). Un uso potencial en la medicina tradicional, tiene esta especie, porque para el género *Cryptocarya*, se han descrito, aproximadamente, 40 alcaloides con propiedades antitumorales, bactericidas, antimicrobianas, fungicidas, insecticidas o antioxidantes (Avello *et al.*, 2012; Di Cosmo *et al.*, 2015; Bravo *et al.*, 2017; Viktorová *et al.*, 2020). Específicamente para *C. alba*, se ha encontrado un alcaloide con propiedades hepatoprotectoras, aislado de hojas y corteza (Vogel *et al.*, 2008; Castro-Saavedra *et al.*, 2016). También se han aislado aceites esenciales de sus hojas, como p-cymol, alfafineno, linalol, limoneno, borneol, betapineno, el 1-terpinen-4-ol, betaterpineno y eucaliptol (Vogel *et al.*, 2008; Avello *et al.*, 2012; Bravo *et al.*, 2017), y flavonoides en hojas y tallos, glicósidos y ácido clorogénico (Vogel *et al.*, 2008; Castro-Saavedra *et al.*, 2016). Se desconocen las variaciones que presenta *C. alba* durante las estaciones del año y tampoco se conoce si existen cambios en las concentraciones de los compuestos fenólicos dependiente de la localización de la especie.

El objetivo de este estudio fue caracterizar y cuantificar la composición fenólica de *Cryptocarya alba*, en hojas y ramas jóvenes, en distintas localidades y estaciones del año. Conocer esta respuesta permitirá evaluar el potencial de *Cryptocarya alba* como fuente de compuestos fenólicos, y generar propuestas de zonas y épocas de mejor aprovechamiento de extracción de biomasa.



MATERIALES Y METODOS

El muestreo se realizó en siete localidades de la zona central de Chile, durante las estaciones de invierno (julio 2009), primavera (octubre 2009) y verano (diciembre 2009-enero 2010) (Figura 1). Las condiciones climáticas del periodo estival y del periodo invernal de estas localidades son mostradas en la Tabla 1. En estas localidades se seleccionaron árboles adultos, similares en tamaño y desarrollo.

Tabla 1. - Valores promedio de temperaturas media y precipitación normal anual en las localidades estudiadas, del periodo 1980-2010 (Santibáñez *et al.*, 2016)

Localidad	Temperatura media de verano (°C)	Temperatura media de invierno (°C)	Precipitación normal anual (mm)
Casablanca	17,7	10,4	466
Chorombo*	19,3	9,6	472
Til Til (alto)	19,5	8,8	408
Til Til (bajo)	20,5	9,4	338
Alhué	19,4	8,6	554
Rengo	16,7	6,0	760
Peralillo	19,9	9,4	616

*Se empleó para este estudio, la estación climática más próxima: María Pinto.

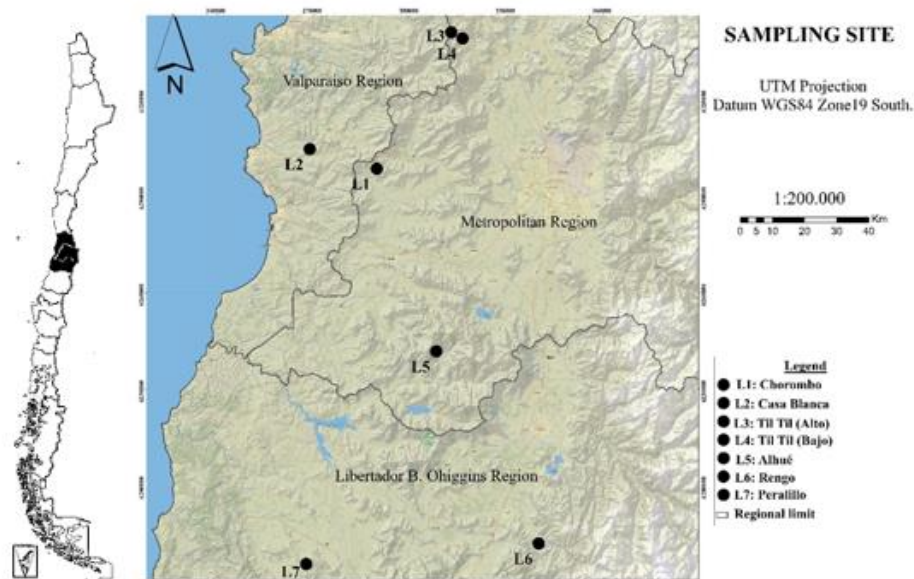


Figura 1. - Localidades de colecta en Chile central



Se colectaron ramillas de 20 cm de largo, con un diámetro máximo de 1,5 cm. La colecta se realizó en la sección media alta de la copa de árboles adultos, en cuatro exposiciones de la misma (Norte, Sur, Este, Oeste). Estas contenían hojas del año en curso y del anterior, completamente desarrolladas, vivas y funcionales. Se desecharon las hojas que se encontraban con síntomas de senescencia. Para el estudio de los compuestos fenólicos (polifenoles de bajo peso molecular), se utilizó un equipo de cromatografía líquida de alta resolución (HPLCAD) marca Agilent, modelo 1200. Se empleó una columna Nova-PaK (Waters) C-18 (3,9x300mm). La separación se ejecutó con un gradiente con ácido acético al 2 % (A), acetonitrilo: ácido acético: agua (20:2:78 %; B) y metanol (C). El programa de elución comenzó con 100% A (flujo 1 ml s⁻¹) durante 55 min; luego, por 2 min, 20 % A y 80 % B (flujo 1,2 ml s⁻¹); por 33 min 10% A y 90 % B (flujo 1,2 ml s⁻¹); finalmente, 100 % C por 2 min (flujo 1,2 ml s⁻¹). La longitud de onda de detección fue de 280nm, y el volumen de inyección, de 30 µL.

Los estándares empleados para las curvas de calibración fueron ácidos: cafeico, clorogénico, elágico, ferúlico, gálico, protocatéquico, vainillínico; (+)-catequina; (-)-epicatequina; quercetina; aldehído vainillínico; trans-resveratrol, obtenidos de Sigma-Aldrich, 99,5 % de pureza. Los análisis se realizaron con tres repeticiones, correspondientes a tres árboles elegidos en las localidades de muestreo.

Preparación de muestras y extracción

Las muestras fueron procesadas separando ramas y hojas, las que fueron secadas a temperatura ambiente y almacenadas en bolsas de papel en un lugar fresco y en oscuridad. Hasta el momento del análisis, las hojas presentaron contenido de humedad entre el 12 y 15 %. De cada muestra se molieron separadamente 5 g de hojas secas y 10 g de ramillas secas. Estas fueron maceradas en 100 ml de una solución de metanol: agua 80:20 (v/v) durante 2 horas. Posteriormente, se centrifugaron las muestras a 3.500 rpm durante 30 minutos y luego fueron filtradas en vacío usando una membrana de 0,45 µm. El extracto obtenido se utilizó para todos los análisis descritos a continuación:

Análisis de compuestos fenólicos

El análisis de fenoles totales se obtuvo por la medición de la densidad óptica a 280 nm. Las lecturas espectrofotométricas se realizaron en un espectrofotómetro UV-VIS PharmaSpec, modelo UV-1700. Los resultados promedio de las lecturas se expresaron en mg equivalentes de ácido gálico por gramo de muestra (mgEAG g⁻¹) (Zoecklein *et al.*, 2001).

Los taninos condensados fueron medidos mediante la reacción de Bate-Smith, que consiste en la transformación de los taninos proantocianídicos en antocianidinas por calentamiento a 95°C por 2 horas con una solución 5 % de butanol en HCl (Bate-Smith, 1981). Los resultados fueron reportados como mg equivalentes de catequina por g de extracto (mgEC g⁻¹).

Para la extracción de los fenoles de bajo peso molecular se tomaron 50 ml del extracto obtenido de cada muestra, para luego llevarla a un rotavapor a 35° C hasta evaporar el 80% del volumen, para eliminar metanol. Después de completar el volumen con agua destilada hasta 50 ml, fue sometida a 3 extracciones con 20 ml de acetato de etilo y luego 3 extracciones con 20 ml éter etílico. Al extracto orgánico obtenido se agregó una sal de sulfato de sodio anhidro por 30 minutos y luego se filtró en papel, concentrándose



a sequedad en un rotavapor a 35° C (Peña-Neira *et al.*, 1999). La lámina obtenida en el matraz corazón, una vez secada la muestra, fue recuperada con 2 ml de una solución de metanol: agua (50:50; v/v), para su posterior análisis por HPLC/DAD, previa filtración (0,45 µm).

Diseño experimental y análisis estadístico

El diseño del experimento fue de tipo factorial, considerando como factores la localidad y la estación del año. La unidad experimental correspondió, en el caso de las hojas, a 100, y en el caso de las ramillas, a 5. A todas las variables obtenidas se realizó análisis de varianza (ANDEVA). De existir diferencias significativas, se les aplicó el Test de Rango Múltiple de Duncan con un nivel de confianza del 95 %.

RESULTADOS

Composición fenólica en hojas: fenoles totales y taninos condensados

Para los fenoles totales (FT) (Figura 2a) se observó una variación en la concentración de $9,83 \pm 0,05$ mgEAG g⁻¹ a $29,85 \pm 4,39$ mgEAG g⁻¹ entre las estaciones de invierno a primavera, presentándose los contenidos mayores en la localidad de Til Til (alto) en ambas estaciones. Las concentraciones de FT fueron significativamente mayores en invierno, aumentando un 40 % en promedio. En invierno se observó mayor variabilidad de FT entre las localidades, mientras que en primavera y verano el contenido de FT no presentó diferencias significativas entre ellas.

Los taninos condensados (TC) (Figura 2b), en general, presentaron un rango de concentración entre $7,06 \pm 1,36$ mgEC g⁻¹ y $32,00 \pm 3,46$ mgEC g⁻¹, mostrando el mínimo valor en la localidad de Alhué (verano) y el máximo, en Casablanca (invierno). Para TC, también se presentaron las concentraciones mayores en invierno. Los resultados mostraron que el factor geográfico o localidad afecta el contenido de compuestos fenólicos significativamente, en las tres estaciones del año.

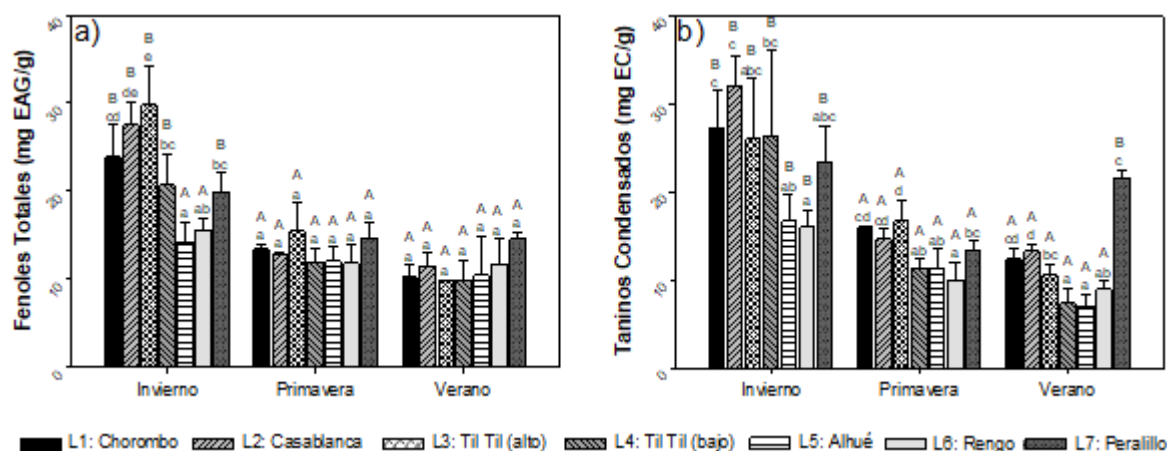


Figura 2. - Fenoles totales (a) y taninos condensados (b) presentes en hojas de *Cryptocarya alba*, según localidad y estación del año

Letras mayúsculas indican diferencias significativas entre estaciones, y letras minúsculas, entre localidades analizadas (n=3).



Composición fenólica en hojas: fenoles de bajo peso molecular

No flavonoides. Todos estos compuestos aumentaron su concentración durante la primavera, y en la mayoría de éstos disminuyó su concentración o no fueron identificados durante el verano (Figura 3). Las localidades de Casablanca y Til Til (alto), en promedio, presentaron las concentraciones más altas de este grupo de compuestos. Para el ácido cis-clorogénico, se observaron concentraciones que van de $3,26 \pm 1,85 \mu\text{g g}^{-1}$ a $34,22 \pm 6,61 \mu\text{g g}^{-1}$ durante invierno y primavera, no siendo identificado en verano (Figura 3a). Para el ácido trans-clorogénico (Figura 3b) se detectaron concentraciones entre $0,43 \pm 0,12 \text{ mg g}^{-1}$ y $13,21 \pm 6,23 \text{ mg g}^{-1}$, con la concentración más alta en la localidad de Casablanca, durante la primavera. Para el ácido cafeico, se obtuvo la máxima concentración de $14,59 \pm 4,71 \mu\text{g g}^{-1}$ en la localidad de Til Til (bajo), durante la primavera, y en esta misma localidad, este compuesto no pudo ser detectado en verano. Los resultados muestran que existe interacción entre los factores analizados, observándose diferencias significativas entre las estaciones del año y entre las localidades, siendo la primavera, el momento en que presentan mayores concentraciones (Figura 3c). En la Figura 3d, se aprecia el contenido de ácido ferúlico, con concentraciones similares a los observados para el ácido cafeico. En primavera se observó la mayor concentración promedio respecto al invierno. También existe interacción entre los factores analizados para la concentración del éster del ácido cafeico, mostrando diferencias significativas entre estaciones y entre localidades. Las diferencias entre las localidades están presentes en primavera y verano (Figura 3e). Para el caso del éster del ácido ferúlico, se obtuvieron concentraciones entre $3,25 \pm 2,95 \mu\text{g g}^{-1}$ y $42,76 \pm 13,92 \mu\text{g g}^{-1}$ entre las estaciones y localidades analizadas. Se aprecia interacción entre los factores estudiados y diferencias significativas entre las estaciones (Figura 3f). El ácido protocatéquico (Figura 3g), presenta rangos de concentración entre $0 \mu\text{g g}^{-1}$ y $9,5 \mu\text{g g}^{-1}$ entre las estaciones y localidades analizadas, presentando concentraciones significativamente mayores en primavera.



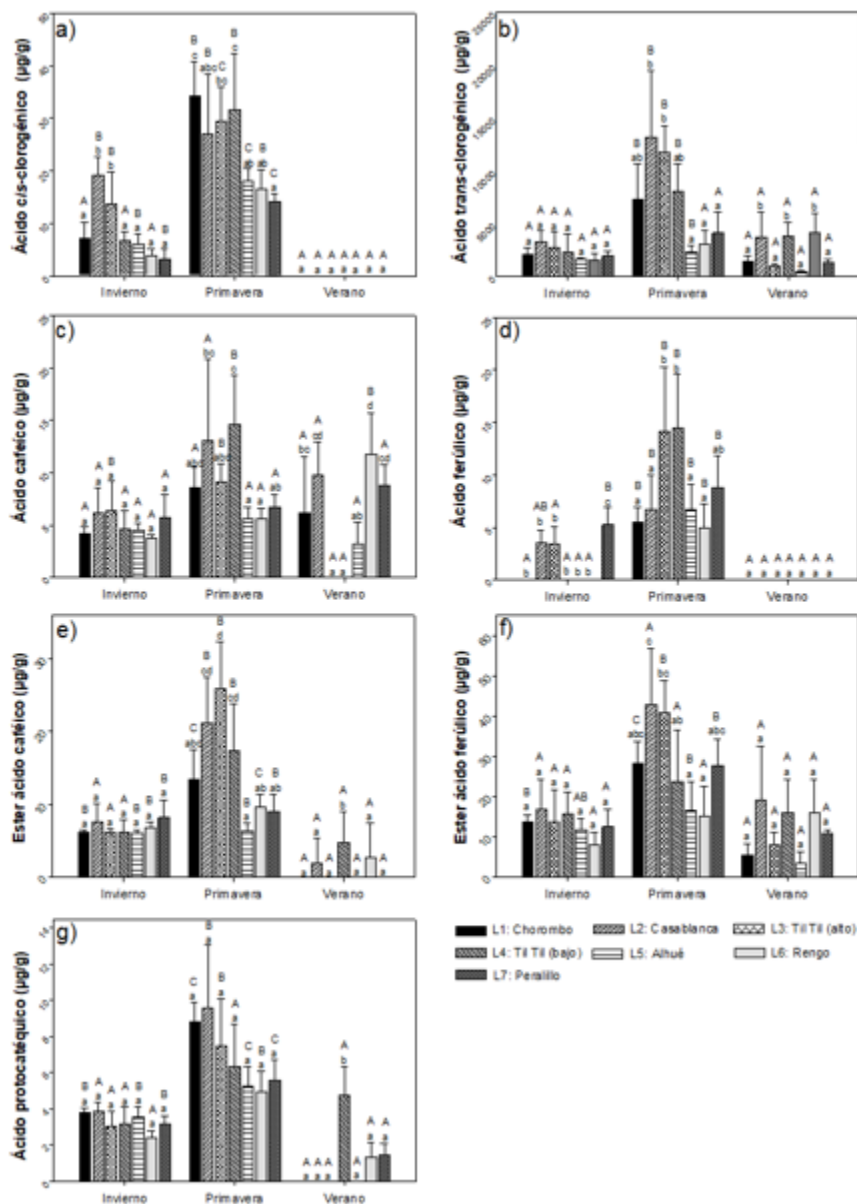


Figura 3. - Compuestos fenólicos no flavonoides (ácido *cis*-clorogénico (a), ácido *trans*-clorogénico (b), ácido cafeico (c), ácido ferúlico (d), éster del ácido cafeico (e), éster del ácido ferúlico (f), ácido protocatéquico (g)) presentes en hojas de *Cryptocarya alba*, según localidad y estación del año
 Letras mayúsculas indican diferencias significativas entre estaciones y letras minúsculas entre localidades analizadas (n=3).

Flavonoides. Se observó la misma tendencia que los compuestos no flavonoides, mostrando mayores concentraciones en primavera (Figura 4). También las localidades de Casablanca y Til Til (alto) presentaron las concentraciones más altas.



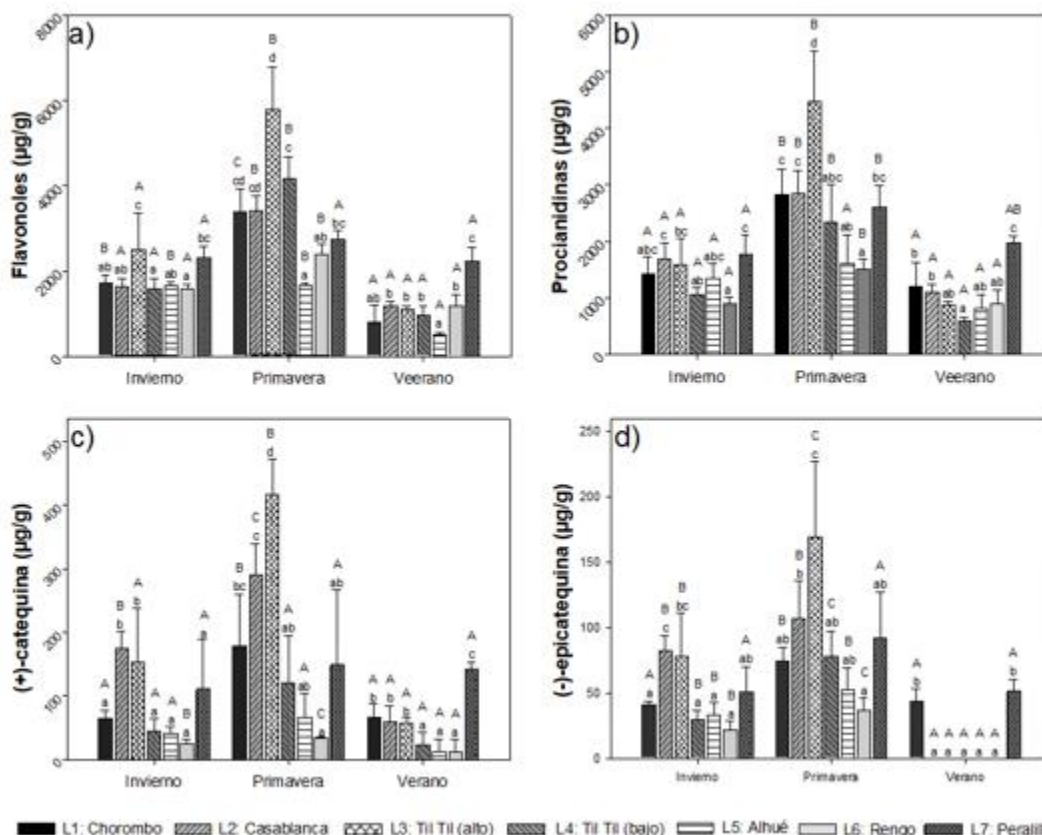


Figura 4. - Compuestos fenólicos flavonoides (flavonoles (a), procianidinas (b), (+)-catequina (c), (-)-epicatequina (d)) presentes en hojas de *Cryptocarya alba*, según localidad y estación del año

Letras mayúsculas indican diferencias significativas entre estaciones y letras minúsculas entre localidades analizadas (n=3).

Para los flavonoles (correspondientes a la suma de todos los flavonoles identificados), se observaron concentraciones promedio entre $0,49 \pm 0,05 \text{ mg g}^{-1}$ y $5,7 \pm 0,99 \text{ mg g}^{-1}$, donde el valor mínimo correspondió a la localidad de Alhué en verano, mientras que el máximo se registró en la localidad de Til Til (alto) en primavera. En primavera se encontraron las concentraciones significativamente mayores, con respecto a las otras estaciones (Figura 4a).

Las procianidinas presentan concentraciones entre $0,58 \pm 0,06 \text{ mg g}^{-1}$ y $4,47 \pm 0,88 \text{ mg g}^{-1}$. Se observó interacción entre estación del año y localidad, y diferencias significativas entre las estaciones, pues en primavera, se obtuvieron concentraciones promedio significativamente mayores (Figura 4b). Resultaron concentraciones entre $13,3 \pm 2,6 \text{ µg g}^{-1}$ y $415 \pm 56,34 \text{ µg g}^{-1}$ para la (+)-catequina, con el mínimo valor correspondiente a la localidad de Rengo, en verano, y el máximo, para la localidad de Til Til, en primavera (Figura 4c). En la Figura 4d, se observan concentraciones entre 0 µg g^{-1} y $169,92 \pm 57,59 \text{ µg g}^{-1}$ para (-)-epicatequina. Existe relación entre las estaciones del año, las localidades y el contenido de (+)-catequina y (-)-epicatequina, observándose diferencias significativas entre las estaciones, siendo en primavera donde se encuentran las concentraciones significativamente mayores para ambos compuestos, al compararla con



las otras estaciones del año (70 % para (+)-catequina y 84 % para (-)-epicatequina. La estación de verano es la que presenta la menor concentración. Entre las localidades existen diferencias significativas en las tres estaciones, para ambos compuestos. En invierno, se observa que las concentraciones promedio más altas, están presentes en la localidad Casablanca y Til Til (alto), y en primavera, en la localidad de Til Til (alto).

Composición fenólica en ramas jóvenes: fenoles totales y taninos condensados

En las ramas jóvenes de *C. alba* se observaron concentraciones entre $0,68 \pm 0,55$ mgEAG g^{-1} y $1,61 \pm 0,6$ mgEAG g^{-1} para FT; el valor mínimo correspondió a Peralillo, en primavera y el máximo a Til Til (bajo), en invierno (Figura 5a). Por otra parte, se encontraron concentraciones entre $1,23 \pm 0,15$ mgEC g^{-1} y $2,53 \pm 0,41$ mgEC g^{-1} para TC. El valor mínimo correspondió a Rengo, en verano, y el máximo a Til Til (alto), en primavera (Figura 5b). Se encontraron diferencias significativas entre las localidades, para ambos compuestos, las cuales se presentaron en primavera y verano, para los FT, y solo en verano, para los TC.

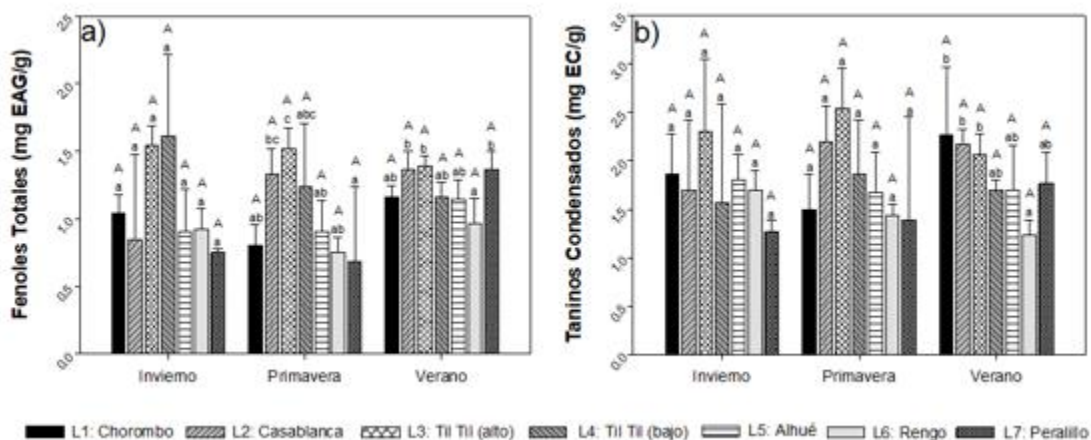


Figura 5. - Fenoles totales (a) y taninos condensados (b) presentes en ramas jóvenes de *Cryptocarya alba*, según localidad y estación del año
Letras mayúsculas indican diferencias significativas entre estaciones y letras minúsculas entre localidades analizadas (Concentraciones promedio \pm desviación estándar con $n=3$).

Composición fenólica en ramas jóvenes: fenoles de bajo peso molecular

No Flavonoides. Los compuestos no flavonoides identificados en ramas de *C. alba* fueron tres: ácido protocatequico, ácido cafeico y ácido vainillínico (Figura 6). Particularmente no se encontró presencia de ácido vainillínico en el período de verano, en ninguna localidad. La concentración de ácido cafeico tendió a aumentar hacia el verano y solo en Rengo no se detectó el compuesto en ningún período.



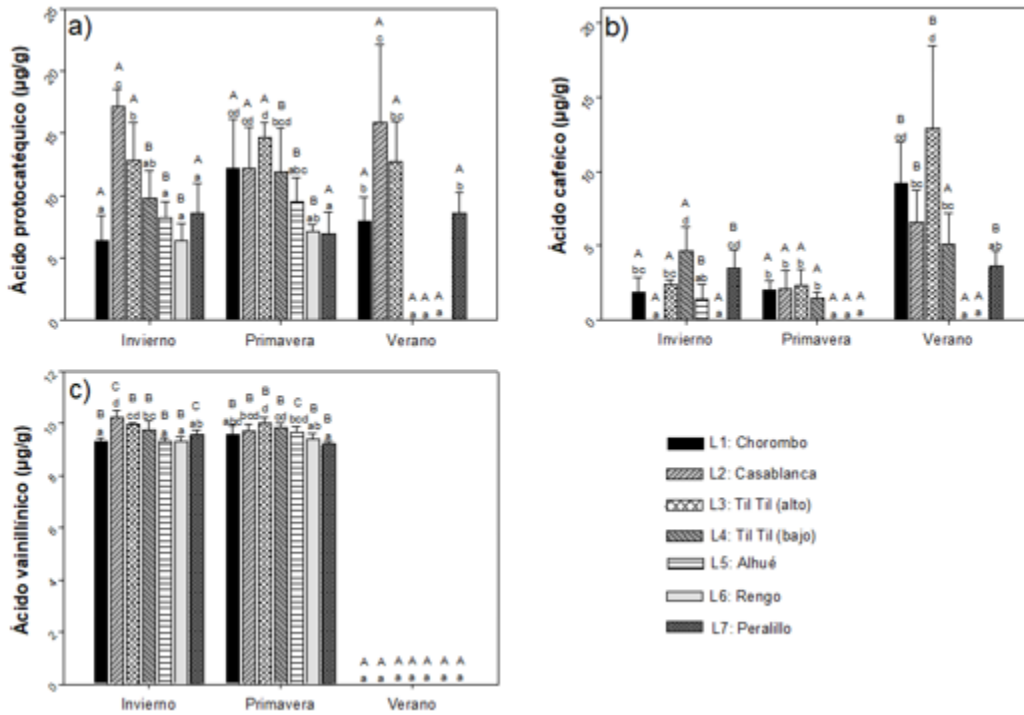


Figura 6. - Compuestos fenólicos no flavonoides (ácido protocatequico (a), ácido cafeico (b), ácido vainillínico (c)) presentes en ramas jóvenes de *Cryptocarya alba*, según localidad y estación
 Letras mayúsculas indican diferencias significativas entre estaciones y letras minúsculas entre localidades analizadas (n=3).

Flavonoides. Los compuestos flavonoides encontrados en ramas jóvenes de *C. alba* son los mismos compuestos que se presentan en las hojas (Figuras 4 y 7), pero la concentración es 90 % menor.

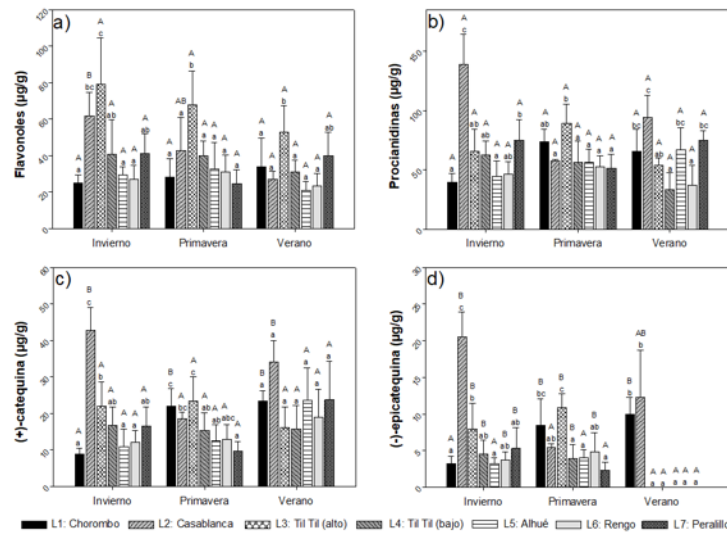


Figura 7. - Compuestos fenólicos flavonoides (flavonoles (a), procianidinas (b), (+)-catequina (c), (-)-epicatequina (d)) presentes en ramas jóvenes de *Cryptocarya alba*, según localidad y estación del año.

Letras mayúsculas indican diferencias significativas entre estaciones, y letras minúsculas, entre localidades analizadas (n=3).

DISCUSIÓN

La composición y concentración de compuestos fenólicos presentes en hojas de *C. alba* variaron con la localidad y la estación del año, tal como se ha informado en otras especies vegetales. En bosques boreales se observaron que las hojas de *Betula pubescens* Ehrh. (Abedul de montaña), presentan una amplia diferencia en la acumulación de compuestos fenólicos dependiendo de la estación del año, encontrando que las concentraciones de proantocianidinas aumentan a medida que avanza la temporada de verano. Sin embargo, procianidinas unidas a la pared celular, galotaninos y flavonoides glicosilados, bajan su concentración luego de un incremento inicial, en hojas jóvenes (Wam *et al.*, 2017). En el caso de las hojas de *Quercus robur* L. (roble), se encontró también una variación estacional de los compuestos fenólicos, además de que las proantocianidinas totales aumentan a lo largo de la temporada estival y otros compuestos como taninos hidrolizables totales, flavonoides glicosilados, glicósidos de quercetina y glicósidos de kaempferol decrecen en su concentración en el mismo periodo (Salminen *et al.*, 2004; Burlacu *et al.*, 2020). El lugar geográfico también es un factor en la acumulación de los compuestos fenólicos en las plantas, pues las condiciones climáticas y nutricionales inciden en la actividad de la Fenilalanina amonioliasa (Kováèika *et al.*, 2007; Sharma *et al.*, 2019).

Aunque en los últimos años el cambio climático global ha modificado tanto las temperaturas como la cantidad de precipitaciones en el área de estudio (mostrando una razón de incremento de 0,13°C por década y acentuando los episodios de sequía), estos cambios han afectado en forma similar a toda la zona central de Chile (Villaruel *et al.*, 2020). La constatación de los resultados presentados se refuerza por el trabajo de Giordano *et al.*, (2019), quienes también indicaron que la localidad de Til Til (Cuesta La Dormida) presentó los contenidos más altos de compuestos fenólicos de la parte aérea de árboles *C. alba*.

En el caso de ramas jóvenes de *C. alba*, la concentración fue menor que la mostrada en las hojas, mas no se observaron diferencias significativas para FT y TC entre estaciones del año. Por lo tanto, para continuar con este tipo de estudio y determinar la época adecuada de extracción de estos compuestos, es mejor utilizar hojas. Especies como *Vaccinium angustifolium* Aiton y *Vaccinium myrtillus* L. también presentan una mayor concentración de compuestos fenólicos en sus hojas que en sus ramas, raíces y frutos (Harris *et al.*, 2007; Witzell *et al.*, 2003; Stefănescu *et al.*, 2019).

Se observó una variación en la composición y concentración de fenoles no flavonoides en hojas y ramas de *C. alba*, y entre localidades y estaciones del año. El ácido trans-clorogénico fue el compuesto mayoritario identificado en extractos de hojas de *C. alba*. La máxima concentración encontrada de ácido trans-clorogénico (13 mg g⁻¹) fue baja comparada a otras especies vegetales, como es el caso de *Ilex paraguariensis* A.St.-Hil. (hierba mate), con concentraciones de 97 mg g⁻¹ (Marques y Farah, 2009; Meinhart *et al.*, 2019), y *Coffea canephora* Pierre ex A. Froehner (café), con concentraciones de 95 mg g⁻¹ (Farah y Donangelo, 2006; Pérez-Hernández *et al.*, 2013).



En hojas de *C. alba*, el ácido cis-clorogénico y ácido ferúlico disminuyeron totalmente su concentración en verano y en todas las localidades. Esto sugiere un comportamiento propio de *C. alba*, asociado a la reducción de humedad en el suelo, elevada radiación solar y altas temperaturas. Para ramas jóvenes también se observó un comportamiento atribuido a la especie, con que se redujo totalmente la concentración de ácido vainillínico en verano, y en todas las localidades. Un comportamiento similar ha sido descrito para ramas de nogal (*Juglans regia* L.) con una disminución de primavera a verano para compuestos no flavonoides como los ácidos clorogénico y vainillínico (Solar *et al.*, 2006; Binbin *et al.*, 2017). La disminución hacia el final de la estación de crecimiento en el contenido de compuestos fenólicos no flavonoides, puede resultar de tres causas principales: (1) tasa decreciente de su biosíntesis, (2) conversión en componentes insolubles unidos a la pared celular y (3) transformación activa en compuestos oligo- y poliméricos; por ejemplo, taninos o ligninas. Además, estas consecuencias pueden estar dadas, en parte, a un efecto de dilución por un contenido relativo creciente de componentes de la pared celular, en la hoja y ramas como celulosa, hemicelulosa, pectina y lignina (Nurmi *et al.*, 1996; Vanholme *et al.*, 2019).

Uno de los mecanismos de adaptación a radiación UV-B más documentado es el aumento de la producción de metabolitos secundarios tales como fenoles y flavonoides, los que se acumulan en las células de la epidermis de diversas especies vegetales y por ser compuestos que absorben radiación entre los 280-360 nm, reducen el efecto deletéreo de la luz UV-B sobre los distintos componentes celulares (Rozema *et al.*, 2002; Klein *et al.*, 2018). Los flavonoides cumplen funciones asociadas a la respuesta de la planta a la luz y controlan los niveles de las auxinas reguladoras del crecimiento y diferenciación de las plantas y, además, se han detectado papeles antifúngico y bactericida (Martínez-Florez *et al.*, 2002; Saxena *et al.*, 2012).

En ramas de algunos cultivares de nogal Solar *et al.*, (2006) y Binbin *et al.*, (2017) observaron para flavanoles como la (+)-catequina y flavonoles como la miricetina, una mayor concentración en primavera respecto a las otras estaciones del año, lo que concuerda con las diferencias entre las estaciones del año para estos grupos de compuestos en *C. alba*.

CONCLUSIONES

La composición y la concentración de compuestos fenólicos varían con la localidad y estación del año, en hojas y ramas jóvenes de *C. alba*. Las hojas poseen concentraciones mayores de compuestos fenólicos a las encontradas en las ramas. Específicamente, las máximas concentraciones de fenoles y taninos totales, en hojas, se observan en la estación de invierno. Para el caso de las ramas, la concentración se mantiene constante. El compuesto fenólico mayoritario identificado en esta especie fue el ácido *trans*-clorogénico, seguido de procianidinas y flavonoles. Respecto a los compuestos fenólicos de bajo peso molecular en hojas de *C. alba*, estos aumentan su concentración en la estación de primavera, y la mayoría, bajan su concentración, o no son identificados, durante el verano. Por lo tanto, es necesario identificar los posibles usos de las hojas con el momento de cosecha. La mejor época para extraer compuestos fenólicos en hojas de *C. alba* sería la temporada de invierno-primavera. Y los mejores sectores fueron Til Til (alto) y Casablanca. Las mayores concentraciones de fenoles totales y taninos condensados encontrados en las hojas de *C. alba* permiten suponer un buen potencial para ser usadas en la industria alimentaria, farmacológica y cosmética.



AGRADECIMIENTOS

A la Ingeniera Forestal Marie Claire Aravena por su apoyo en la elaboración de la imagen. Este estudio ha sido realizado gracias al proyecto "Propuestas de modelos de gestión y conservación de la biodiversidad en bosques mediterráneos. Programa Domeyko Biodiversidad, Vicerrectoría de Investigación y Desarrollo, Universidad de Chile.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AVELLO LORCA, M., LÓPEZ CANALES, C., GATICA VALENZUELA, C., BUSTOS CONCHA, E., BRIEVA CHAIT, A., PASTENE NAVARRETE, E. y BITTNER BERNER, M., 2012. Efectos antimicrobianos de extractos de plantas chilenas de las familias Lauraceae y Atherospermataceae. *Revista Cubana de Plantas Medicinales* [en línea], vol. 17, no. 1, pp. 73-83. [Consulta: 21 septiembre 2020]. ISSN 1028-4796. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S1028-47962012000100008&lng=es&nrm=iso&tlng=es.
- BATE-SMITH, E.C., 1981. Astringent tannins of the leaves of Geranium species. *Phytochemistry* [en línea], vol. 20, pp. 211-216. Disponible en: <https://www.semanticscholar.org/paper/Astringent-tannins-of-the-leaves-of-Geranium-Bate-smith/9d83ba2e735c197194f6ac07cca90ea79c4938fd>.
- BINBIN, S., WENE, Z., XUE, L. & XUEJUN, P., 2017. Seasonal variations of phenolic profiles and antioxidant activity of walnut (*Juglans sigillata* Dode) green husks, *International Journal of Food Properties*, 20:sup3, S2635-S2646. Disponible en: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/10942912.2017.1381706>
- BRAVO, J., CARBONELL, V., SEPÚLVEDA, B., DELPORTE, C., VALDOVINOS, C.E., MARTÍNHERNÁNDEZ, R., HIGES, M., 2017. Antifungal activity of the essential oil obtained from *Cryptocarya alba* against infection in honey bees by *Nosema ceranae*, *Journal of Invertebrate Pathology*. vol. 149, pp 141-147. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0022201117301532?via%3Dihub>
- BURLACU, E., NISCA, A., Y TANASE C., 2020. A Comprehensive Review of Phytochemistry and Biological Activities of *Quercus* Species. *Forests*. 11(9) 904-928. Disponible en: <https://www.mdpi.com/1999-4907/11/9/904>
- CASTRO-SAAVEDRA, S.; FUENTES-BARROS, G.; TIRAPEGUI, C.; ACEVEDO-FUENTES, W.; CASSELS, B.K.; BARRIGA, A.; VILCHES-HERRERA, M. 2016. Phytochemical analysis of alkaloids from the Chilean endemic tree *Cryptocarya alba*. *Journal of the Chilean Chemical Society*, 61, 3076-3080. Disponible en: https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-97072016000300014.
- DI COSMO, D., SANTANDER, R., URZÚA, A., PALACIOS, S., ROSSI, Y. 2015. Insecticidal effect of *Cryptocarya alba* essential oil on the housefly, *Musca domestica* L. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas* 14 (2): 113-117. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/856/85636183006.pdf>
- FARAH, A. y DONANGELO, C.M., 2006. Phenolic compounds in coffee. *Brazilian Journal of Plant Physiology* [en línea], vol. 18, no. 1, pp. 23-36. [Consulta: 21 septiembre



- 2020]. ISSN 1677-0420. DOI 10.1590/S1677-04202006000100003. Disponible en: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S1677-04202006000100003&lng=en&nrm=iso&tlng=en.
- GIORDANO A., FUENTES-BARROS, G., CASTRO-SAAVEDRA, S., GONZÁLEZ-COOPER, A., SUÁREZ-ROZAS, C., SALAS-NORAMBUENA J., ACEVEDO-FUENTES, W., LEYTON, F., TIRAPEGUI, C., ECHEVERRÍA, J., CLARO, S., CASSELS, B. 2019. Variation of Secondary Metabolites in the Aerial Biomass of *Cryptocarya alba*. *Natural Product Communications*. pp 1-11. Disponible en: <https://journals.sagepub.com/doi/10.1177/1934578X19856258?icid=int.sj-abstract.similar-articles.2>
- HARRIS, C.S., BURT, A.J., SALEEM, A., LE, P.M., MARTINEAU, L.C., HADDAD, P.S., BENNETT, S.A.L. y ARNASON, J.T., 2007. A single HPLC-PAD-APCI/MS method for the quantitative comparison of phenolic compounds found in leaf, stem, root and fruit extracts of *Vaccinium angustifolium*. *Phytochemical Analysis* [en línea], vol. 18, no. 2, pp. 161-169. [Consulta: 21 septiembre 2020]. ISSN 1099-1565. DOI 10.1002/pca.970. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/pca.970>.
- KLEIN, FÁTIMA ROSANE S., REIS, ANDRESSA, KLEINOWSKI, ALÍTCIA M., TELLES, RENATA T., AMARANTE, LUCIANO DO, PETERS, JOSÉ A., & BRAGA, EUGENIA JACIRA B., 2018. UV-B radiation as an elicitor of secondary metabolite production in plants of the genus *Alternanthera*. *Acta Botanica Brasílica*, 32(4), 615-623. Disponible en: https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-33062018000400615
- KOVÁÈIK, J., KLEJDUS, B., BAÈKOR, M. y REPÈÁK, M., 2007. Phenylalanine ammonia-lyase activity and phenolic compounds accumulation in nitrogen-deficient *Matricaria chamomilla* leaf rosettes. *Plant Science* [en línea], vol. 172, no. 2, pp. 393-399. [Consulta: 21 septiembre 2020]. ISSN 0168-9452. DOI 10.1016/j.plantsci.2006.10.001. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S016894520600272X>.
- MARQUES, V. y FARAH, A., 2009. Chlorogenic acids and related compounds in medicinal plants and infusions. *Food Chemistry* [en línea], vol. 113, no. 4, pp. 1370-1376. [Consulta: 21 septiembre 2020]. ISSN 0308-8146. DOI 10.1016/j.foodchem.2008.08.086. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814608010649>.
- MARTÍNEZ-FLOREZ, S., GONZÁLEZ, J., CULEBRAS, J. y TUÑÓN, M., 2002. Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. *Nutr. Hosp*, vol. 17, no. 6, pp. 1.370-1.376. Disponible en: <http://www.nutricionhospitalaria.com/pdf/3338.pdf>
- MEINHART AD, DAMIN FM, CALDEIRÃO L, da SILVEIRAA TFF, FILHO TJ, GODOY HT. 2017. Chlorogenic acid isomer contents in 100 plants commercialized in Brazil. *Food Research International* (Ottawa, Ont.). 99: 522-530. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0963996917302697?via%3Dihub>



- NURMI, K., OSSIPOV, V., HAUKIOJA, E. y PIHLAJA, K., 1996. Variation of total phenolic content and individual low-molecular-weight phenolics in foliage of mountain birch trees (*Betula pubescens* ssp. *tortuosa*). *Journal of Chemical Ecology*, vol. 22, no. 11, pp. 2023-2040. ISSN 0098-0331. DOI 10.1007/BF02040093.
- PEÑA-NEIRA, A., HERNÁNDEZ, T., GARCÍA-VALLEJO, M.C., CADAHIA, E., SIMÓN, B.F.D. y SUAREZ, J.A., 1999. Low Molecular Weight Phenols in Cork Stoppers. *American Journal of Enology and Viticulture* [en línea], vol. 50, no. 3, pp. 285-290. [Consulta: 21 septiembre 2020]. ISSN 0002-9254. Disponible en: <https://www.ajevonline.org/content/50/3/285>.
- PÉREZ-HERNÁNDEZ, L.M., CHÁVEZ-QUIROZ, K., MEDINA-JUÁREZ, L.A., GÁMEZ-MEZA, N., 2013. Compuestos fenólicos, melanoidinas y actividad antioxidante de café verde y procesado de las especies *Coffea arabica* y *Coffea canéfora*. *BIOtecnica*, 15(1):51. Disponible en: <https://biotecnica.unison.mx/index.php/biotecnica/article/view/136>
- RODRÍGUEZ, R., R, R.R., J, O.M. y M, M.Q., 1983. *Flora arbórea de Chile* [en línea]. S.l.: Editorial de la Universidad de Concepción. Disponible en: https://books.google.com/cu/books/about/Flora_arb%C3%B3rea_de_Chile.html?id=HrZgAAAAMAAJ&redir_esc=y.
- ROZEMA, J., BJÖRN, L.O., BORNMAN, J.F., GABERSCIK, A., HÄDER, D.-P., TROST, T., GERM, M., KLISCH, M., GRÖNIGER, A., SINHA, R.P., LEBERT, M., HE, Y.-Y., BUFFONI-HALL, R., DE BAKKER, N.V.J., VAN DE STAAIJ, J. y MEIJKAMP, B.B., 2002. The role of UV-B radiation in aquatic and terrestrial ecosystems—an experimental and functional analysis of the evolution of UV-absorbing compounds. *Journal of Photochemistry and Photobiology. B, Biology* [en línea], vol. 66, no. 1, pp. 2-12. ISSN 1011-1344. DOI 10.1016/s1011-1344(01)00269-x. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11849977/>.
- SAXENA, M., SAXENA, J., PRADHAN, A., 2012. Flavonoids and phenolic acids as antioxidants in plants and human health. *Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res.*, 16(2) nR" 28, 130-134. Disponible en: <https://www.globalresearchonline.net/journalcontents/v16-2/28.pdf>
- SALMINEN, J-P., ROSLIN, T., KARONEN, M., SINKKONEN, J., PIHLAJA, K., y PULKKINEN, P., 2004. Seasonal variation in the content of hydrolyzable tannins, flavonoid glycosides, and proanthocyanidins in oak leaves. *Journal of Chemical Ecology*, 30 (9):1693-1711. Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1023/B:JOEC.0000042396.40756.b7>
- SANTIBÁÑEZ, F., SANTIBÁÑEZ, P., GONZÁLEZ, P. 2016. Elaboración de una base digital del clima comunal de Chile: línea base (1980 2010) y proyección al año 2050. Informe final. Julio 2016. INFODEP. Ministerio del Medio Ambiente. Gobierno de Chile. p 99. Disponible en: <http://basedigitaldelclima.mma.gob.cl/study/one>
- SHARMA, A., SHAHZAD, B., REHMAN, A. BHARDWAJ, R., LANDI, M. Y ZHENG, B. 2019. Response of Phenylpropanoid Pathway and the Role of Polyphenols in Plants under Abiotic Stress. *Molecules*. 24(13): 2452-2474. Disponible en: <https://www.mdpi.com/1420-3049/24/13/2452>



- SOLAR, A., COLARIÈ, M., USENIK, V. y STAMPAR, F., 2006. Seasonal variations of selected flavonoids, phenolic acids and quinones in annual shoots of common walnut (*Juglans regia* L.). *Plant Science* [en línea], vol. 170, no. 3, pp. 453-461. [Consulta: 21 septiembre 2020]. ISSN 0168-9452. DOI 10.1016/j.plantsci.2005.09.012. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168945205003614>
- TEFĂNESCU B.E., SZABO, K., MOCAN, A Y CRIĂN G., 2019. Phenolic Compounds from Five Ericaceae Species Leaves and Their Related Bioavailability and Health Benefits. *Molecules*. 24(11): 2046. Disponible en: <https://www.mdpi.com/1420-3049/24/11/2046>
- VANHOLME, R., DE MEESTER, B., RALPH, J., BOERJAN, W. 2019. Lignin biosynthesis and its integration into metabolism. *Current Opinion in Biotechnology* , 56:230-239. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0958166918301435?via%3Dihub>
- VIKTOROVÁ, J., KUMAR, R., REHOROVÁ, K., HOANG, L., RUMIL, T., FIGUEROA, C.R., VALDENEGRO, M., FUENTES, L. 2020. Antimicrobial Activity of Extracts of Two Native Fruits of Chile: Arrayan (*Luma apiculata*) and Peumo (*Cryptocarya alba*). *Antibiotics*. 9(8), 444. Disponible en: <https://www.mdpi.com/2079-6382/9/8/444>
- VILLARROEL, C., VÁSQUEZ, R., VILCHES, C., ARAVENA, C., BUSTOS, M. 2020. Reporte anual de la evolución del clima en Chile 2019. Dirección Meteorológica de Chile. 37p. Disponible en: <https://climatologia.meteochile.gob.cl/application/publicaciones/documentoPdf/reportEvolucionClima/reportEvolucionClima2019.pdf>
- VOGEL, H., RAZMILIC, I., SAN MARTÍN, J., DOLL, U. y GONZÁLEZ, B., 2008. Plantas medicinales chilenas: experiencias de domesticación y cultivo de boldo, matico, bailahuén, canelo, peumo y maqui [en línea], 2008. S.l.: Editorial Universidad de Talca. ISBN 978-956-7059-91-1. Disponible en: https://books.google.com/cu/books/about/Plantas_medicinales_chilenas.html?id=GiDWXwAACAAJ&redir_esc=y
- WITZELL, J., GREF, R. y NÄSHOLM, T., 2003. Plant-part specific and temporal variation in phenolic compounds of boreal bilberry (*Vaccinium myrtillus*) plants. *Biochemical Systematics and Ecology* [en línea], vol. 31, no. 2, pp. 115-127. [Consulta: 21 septiembre 2020]. ISSN 0305-1978. DOI 10.1016/S0305-1978(02)00141-2. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0305197802001412>.
- ZOECKLEIN, B.W. y MACARRÓN, E.L., 2000. *Análisis y producción de vino* [en línea]. S.l.: Acribia. ISBN 978-84-200-0936-0. Disponible en: https://books.google.com/cu/books/about/An%C3%A1lisis_y_producci%C3%B3n_de_vino.html?id=OTwGAAAACAAJ&source=kp_book_description&redir_esc=y



Conflicto de intereses:

Los autores declaran no tener conflictos de intereses.

Contribución de los autores:

Karen Angélica Peña-Rojas: Concepción de la idea, confección de instrumentos, análisis estadístico, asesoramiento general por la temática abordada, redacción del original (primera versión), revisión y versión final del artículo, corrección del artículo, coordinador de la autoría, traducción de términos o información obtenida.

Álvaro Peña Neira: Concepción de la idea, confección de instrumentos, análisis estadístico, asesoramiento general por la temática abordada, revisión y versión final del artículo, traducción de términos o información obtenida.

Nicolás Pacheco Cruz: Confección de instrumentos, asesoramiento general por la temática abordada, revisión y versión final del artículo, corrección del artículo, traducción de términos o información obtenida.

Sergio Donoso Calderón: Búsqueda y revisión de literatura, confección de tablas, gráficos e imágenes, redacción del original (primera versión), corrección del artículo, traducción de términos o información obtenida, revisión de la aplicación de la norma bibliográfica aplicada.

Alejandro Riquelme Escobar: Búsqueda y revisión de literatura, confección de tablas, gráficos e imágenes, redacción del original (primera versión), revisión de la aplicación de la norma bibliográfica aplicada.

Rodrigo Gangas: búsqueda y revisión de literatura, aplicación de instrumentos, recopilación de la información resultado de los instrumentos aplicados, confección de base de datos.

Sergio Durán: confección de instrumentos, aplicación de instrumentos, recopilación de la información resultado de los instrumentos aplicados, confección de base de datos.



Esta obra está bajo una licencia de Creative Commons Reconocimiento-NoComercial 4.0 Internacional.

Copyright (c) 2021 Karen Angélica Peña-Rojas, Álvaro Peña Neira, Nicolás Pacheco Cruz, Sergio Donoso Calderón, Alejandro Riquelme Escobar, Rodrigo Gangas, Sergio Durán

