

CORRELACIÓN DE POLIFENOLES TOTALES, ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE Y POTENCIAL REDUCTOR DE PLANTAS NATIVAS DEL SEMIDESIERTO DE COAHUILA

Ramírez Pérez M.*, Alvarado Martínez M., Rodríguez González J.G.

Universidad Autónoma de Coahuila. Escuela de Ciencias Biológicas U.T. Depto. De Fito biotecnología Aplicada. Blvd. Torreón-Matamoros Km 7.5 s/n Ciudad Universitaria. Ejido el Águila. C.P. 27410. Torreón, Coah. México.

* manuel_ramirez007@hotmail.com

RESUMEN

El metabolismo de alimentos, la respiración y el ejercicio producen radicales libres que dañan a la célula llamado estrés oxidativo. Los vegetales ejercen un efecto protector contra enfermedades degenerativas, debido a antioxidantes como vitaminas y una mezcla de polifenólicos. En 10 g de planta seca en metanol al 80% liofilizado se analizaron Polifenoles totales (Método Folin-Ciocalteu), Capacidad Antioxidante (Método DPPH) y Poder Reductor (Método Oyaizu). Los PT de gobernadora, cenizo y biznaga fueron de 9.56 mg de ácido gálico/g, 1.96 mg/g y 1.41 mg/g. La CA a 10 mg/ml fue de 76.6%, 39.09% y 30.78%, de captación de radicales libres. El PR a la misma concentración fue de 25.8, 2.7 y 0.8 en el mismo orden. Los datos de PT, CA y PR muestran una correlación entre ellos. Siendo la gobernadora una planta potencialmente útil en la extracción de antioxidantes.

ABSTRACT

The metabolism of food, breathing and exercise produce free radicals that damage the cell called oxidative stress. The vegetables have a protective effect against degenerative diseases, because antioxidants such as vitamins and poly phenolic mixture. In 10 g of dried plant in 80% methanol lyophilized Total polyphenols (Folin-Ciocalteu method), Antioxidant Capacity (DPPH method) and Power Reducer (Oyaizu method) were analyzed. PTs governor, Montagu and biznaga were 9.56 mg gallic acid / g, 1.96 mg / g and 1.41 mg / g. The CA 10 mg / ml was 76.6%, 39.09% and 30.78%, of free radical scavenging. The PR at the same concentration was 25.8, 2.7 and 0.8 in the same order. PT data, CA and PR showing a correlation between them. The governor being a potentially useful antioxidants in the extraction plant.

Palabras clave: Estrés Oxidativo, Polifenoles, Antioxidante

Área: Microbiología y Biotecnología

INTRODUCCIÓN

El organismo realiza procesos fisiológicos como el metabolismo de los alimentos produciendo radicales libres (RL), los cuales son altamente reactivos, reaccionan con otros átomos provocando daños a las macromoléculas, su material genético, lípidos, carbohidratos y proteínas. Induciendo una disminución en la resistencia al

ambiente y un incremento en la fragilidad celular [1]. El estrés oxidativo, contribuye al envejecimiento celular y al desarrollo de enfermedades degenerativas como cataratas, artritis, problemas del sistema inmune y cáncer, entre otras. Los RL se producen normal y continuamente en la mitocondria, por reacciones redox, realizadas por enzimas como la NADPH oxidasa, lipoxigenasas, ciclooxigenasas y peroxidases, las oxidaciones microsomales, los fagosomas, la autooxidación de sustratos y los neutrófilos [2].

Una forma de neutralizar el efecto de los radicales libres es mediante los antioxidantes, sustancias presentes en bajas concentraciones que retardan o previenen la oxidación. Al interactuar con el radical libre, el antioxidante cede un electrón, se oxida y se transforma en un radical libre débil no tóxico [3]. Los RL endógenos, son producidos en el organismo y juegan un papel en su defensa del mismo contra infecciones por bacterias y virus. También, participan en procesos como la maduración de los reticulocitos y degradación de proteínas [4].

El problema radica cuando los RL provienen de fuentes exógenas, como el consumo de alimentos con alto contenido de grasa, alimentos procesados, fritos o asados y con conservadores, el consumo excesivo de alcohol, la exposición a pinturas y pegamentos o contaminantes del medio ambiente, radiaciones ionizantes y la exposición prolongada a temperaturas elevadas [5].

Los antioxidantes exógenos se encuentran en los alimentos naturales, entre estos están las vitaminas A, E y C, los β -carotenos, luteína, flavonoides, licopenos, el ácido tióico o lipoico, los cofactores cobre, zinc manganeso, hierro y selenio, que son necesarios para la actividad del sistema enzimático endógeno y la coenzima Q, [6]. Los alimentos de origen vegetal, de acuerdo a estudios epidemiológicos realizados, pueden ejercer un efecto protector contra algunas enfermedades tales como el cáncer, trastornos cardiovasculares y cerebro vasculares. Esta propiedad se debe a la presencia de compuestos bioactivos con capacidad antioxidante como la vitamina C, E, β -caroteno y una mezcla compleja de compuestos fenólicos [7].

Los polifenoles son un conjunto de moléculas que comparten la característica de poseer en su estructura varios grupos bencénicos sustituidos por funciones hidroxílicas; se encuentran en muchas plantas, algunas de uso común [8]. Estos compuestos provienen del metabolismo secundario de las plantas, relacionándose también con el color y el sabor de estos alimentos. Los polifenoles son poderosos antioxidantes que protegen a las lipoproteínas de baja densidad (LDL) del daño oxidativo. Como antioxidantes, atrapando radicales libres. Por su capacidad de inhibir activar o proteger enzimas específicas en el organismo [9]. Su efecto anti carcinogénico puede deberse a su capacidad de inhibir el daño oxidativo al ADN lo que podría evitar eventos de iniciación, puede estar relacionada con el bloqueo de

la actividad promotora, que en muchos casos está vinculada a la capacidad oxidativa del promotor [10].

Los antioxidantes obtenidos a través de la dieta, pueden actuar de dos formas: primero, previniendo la generación excesiva de RL, evitando así que se produzca el daño celular por efecto del estrés oxidativo. Y segundo, después de que se ha producido el daño, los antioxidantes pueden controlar los niveles de RL evitando que el daño continúe avanzando y con ello algunos síntomas de las enfermedades producidas por el efecto del estrés oxidativo pueden disminuir [11].

El objetivo fue el de cuantificar y correlacionar la concentración de polifenoles totales (PT), la actividad antioxidante (CA) y el potencial reductor (PR) de Gobernadora (*Larrea Tridentata*), Biznaga (*Ferrocactus emoryi*) y Cenizo (*Chenopodium albus*), flora del semidesierto de Coahuila.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se obtuvieron los extractos vegetales de las plantas *Larrea Tridentata*, *Ferrocactus emoryi* y *Chenopodium albus* por maceración. Estas plantas se dejaron secar a temperatura ambiente y se cortaron en trozos pequeños para almacenarse en frascos limpios y secos. Se pesaron 10 g de cada planta y se maceraron en metanol al 80 por ciento durante 48 h. Se filtró al vacío y el residuo se extrajo dos veces más de igual forma. El extracto se concentró por evaporación a 40°C. El extracto se liofilizó, el cual fue utilizado para los análisis de polifenoles totales (PT), capacidad antioxidante (CA) y potencial reductor (PR).

Los Polifenoles totales se determinaron por el método de Folin-Ciocalteu, utilizando una curva de calibración con ácido gálico a concentraciones de 1-5 mg/ml. Se tomaron 2 mg del extracto liofilizado y se aforó a 50 ml de agua tridestilada. Tomando una alícuota de 0.5 ml se mezcló con 0.75 ml del reactivo de Folin-Ciocalteu, reposándolo 5 minutos. Luego se agregó 0.75 ml de carbonato de sodio al 20 por ciento y se llevó a agitación en vortex. Se dejó reposar por 90 minutos a temperatura ambiente en frascos ámbar protegidos de la luz. Finalmente se midió la absorbancia a 760 nm un espectrofotómetro. El contenido de polifenoles totales de los extractos se expresó en miligramos equivalentes de ácido gálico por gramo de extracto liofilizado (mg/g). Como control positivo para este análisis se utilizó un extracto de té verde, el cual fue obtenido con la misma metodología a los otros extractos.

La actividad antioxidante de los extractos se midió con el método del 1,1-Difenil-2-picrilhidracil (DPPH). Se utilizaron cinco concentraciones de los extractos de 0.1 a 10 mg/ml, se diluyeron con metanol al 80 por ciento. Se tomaron 200 µl de cada

extracto y se le agrego 2 ml de la disolución de DPPH a 150 µmol/L. Se dejó reposar por 30 minutos en frascos ámbar protegidos de la luz, posteriormente se midió la absorbancia a 420nm en un espectrofotómetro, utilizando una disolución de 100 µmol/L de 2,6-di-t-butil-4-metilfenol (BHT) como control. La actividad antioxidante se expresa en porcentaje como la capacidad del extracto para secuestrar los radicales libres, o capacidad secuestrante de radicales libres (CSRL), la cual se calcula mediante la ecuación: %CSRL= (A DPPH – A muestra / A DPPH) x100

El potencial reductor se determinó con el método de Oyaizu. Se basa en la capacidad que posee el extracto para reducir el Fe+3 a Fe+2. Se utilizaron disoluciones de cinco concentraciones, de 0.1-10 mg/ml en metanol al 80 por ciento de cada extracto. A 1 ml de extracto se le adicionaron 5 ml de una solución 0.1 M buffer de fosfatos pH 6.6 y 5 ml de ferrocianuro de potasio al 1 por ciento, se incubó durante 20 minutos a 50 °C y después de la incubación se le adicionaron 5 ml de ácido tricloroacético al 10 por ciento. Se centrifugó por 10 minutos a 3000 rpm. Se tomaron 5 ml del sobrenadante y se agregaron 5 ml de agua destilada y 1 ml de cloruro férrico al 1 por ciento; finalmente se midió la absorbancia a 700 nm en un espectrofotómetro, utilizando como control disoluciones de ácido ascórbico a las mismas concentraciones que el problema. Todos los procedimientos se realizaron por triplicado para cada planta.

RESULTADOS

Poli fenoles Totales. La Tabla 1 muestra que el extracto de Larrea tridentata mostró una concentración de fenoles totales de 9.56 mg de ácido gálico/g del extracto, el extracto de Chenopodium album de 1.96 mg/g y el de Ferrocactus emoryi 1.41 mg/g. La concentración de la gobernadora fue mayor a la mostrada por el té verde planta utilizada como control. La figura 1 el contenido fenólico de los extractos se expresó como miligramos equivalentes de ácido gálico por gramo de extracto liofilizado (mg/g).

Tabla 1. Contenido de fenoles totales de los extractos vegetales

Extracto vegetal	Fenoles Totales (mg/g)
Té Verde (control)	6.4
Larrea tridentata	9.56
Ferrocactus emoryi	1.41
Chenopodium album	1.96

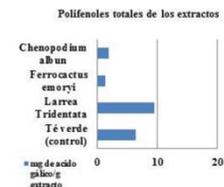


Figura 1. Polifenoles totales de los extractos crudos de Larrea tridentata, Ferrocactus emoryi y Chenopodium album extraídos en agua tridestilada.

Capacidad Antioxidante. Los extractos de Larrea tridentata y de Chenopodium album mostraron una capacidad antioxidante del 82.87 y 96.06 por ciento, respectivamente a una concentración de 0.1 mg/ml, indicando que ambos extractos fueron capaces de capturar radicales libres. El extracto de Ferrocactus emoryi no mostró resultados satisfactorios al método. En la figura 2. El extracto de Larrea

tridentata mostró alta capacidad antioxidante lo cual se puede relacionar con su alto contenido de polifenoles totales, sin embargo el extracto de *Chenopodium album* desarrollo mayor capacidad antioxidante contrario a su contenido de polifenoles que es menor.

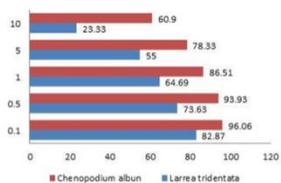


Figura 2. %CSRL para los extractos de *Larrea tridentata* y de *Chenopodium album* a diferentes concentraciones en metanol al 80 por ciento.

Potencial reductor. La Figura 3 muestra los valores promedio de la absorbancia (A) de los extractos. Un incremento en la absorbancia es indicativo de un mayor potencial reductor. El extracto de *Larrea tridentata* mostró una (A) mayor al de los extractos de *Chenopodium album* y el de *Ferrocactus emoryi*, pero no sobrepaso la concentración del ácido ascórbico que se utilizó como control para esta prueba. Esta prueba se realizó como complemento de la capacidad antioxidante.

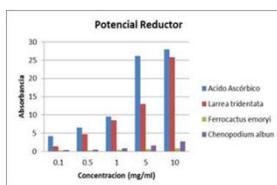


Figura 3. PR de los extractos metanólicos de las plantas *Larrea tridentata*, *Chenopodium album* y *Ferrocactus emoryi* y del ácido ascórbico a diferentes concentraciones

DISCUSIÓN

La *Larrea tridentata*, mostró ser una planta competitiva contra el té verde, en su contenido de polifenoles totales. Inclusive sobrepasa la concentración de éste, lo que le da probabilidad de ser utilizada en la extracción de estos metabolitos. No así el *Chenopodium album* y el *Ferrocactus emoryi* cuyas concentraciones de PT se manifestaron muy alejadas del té verde y la gobernadora. La *Larrea tridentata* como el *Chenopodium album* presentaron alta capacidad antioxidante, siendo competitivas entre sí. La *Larrea tridentata* mostro un poder reductor muy competitivo en comparación al del ácido ascórbico que fue el control. Por lo que puede ser una planta que puede ser utilizada en la búsqueda de moléculas antioxidantes con fines alimentarios y de salud pública.

El presente trabajo demostró una correlación entre el contenido de fenoles totales, la capacidad antioxidante y el potencial reductor. Sin embargo, se observa que la capacidad antioxidante no solo depende del contenido de polifenoles sino de otros factores no considerados en este trabajo. Por lo que sería conveniente realizar estudios de identificación de estos otros posibles factores presentes en los extractos de las plantas.

BIBLIOGRAFÍA

- [1]Hernández, A. M., y Prieto, G. A. (1999). Plantas que contienen Polifenoles. Antioxidantes dentro del estilo de vida. Centro de Investigaciones Biomédicas. Rev Cubana Invest Biomed 1999.
- [2] Roche, C.E. y Romero, A.D., Estrés oxidativo y degradación de proteínas, Medicina clínica. 1994.
- [3]Velázquez, P.M., Prieto, B., Contreras, P. R. El envejecimiento y los radicales libres. Ciencias, 2004
- [4] Benzer-Benzer, M. Castro–Mercado, E. y García Pineda, E., La producción de Especies Reactivas deOxígeno Durante la Expresión de la Resistencia a Enfermedades en Plantas, Revista Mexicana de Fitopatología. 2008.
- [5] Nguyen, A.T. y Donnalson, R.P., Metal-Cattalyzed oxidation induces carbonylation of peroxisomal proteins and loss of enzymatic activities, Archives of Biochemistry and biophysics. 2005.
- [6] Mohseni Salehi Monfared, S.S. Vahidi, H. Abdolghaffari, A.H. Nikfar, S. y Abdollahi, M., Antioxidant therapy in the management of acute, chronic and post-ERCP pancreatitis: a systematic review, World Journal of Gastroenterology. 15(36) 2009.
- [7]Padilla, F. C., Rincón, A. M., Bou-Rached, L. Contenido de polifenoles y actividad antioxidante de varias semillas y nueces. ARCHIVOS LATINOAMERICANOS DE NUTRICION. Órgano Oficial de la Sociedad Latinoamericana de Nutrición, 2008.
- [8] Beltran, I. Polifenoles y Xantinas:su aplicación en obesidad. Actividad dietética,2003
- [9] V. Dewato, X. Wu, K. Adom and R. Lui. Therma processing enhances the nutritional value of tomatoes by increasing total antioxidant activity. 2002. Journal of Agricultural and Food Chemistry. Vol. 50 No. 10. 2003.
- [10] L. R. Fukumoto and G. Mazza. Assessing antioxidant and prooxidant activities of phenolic compounds. Journal of Agricultural and Food Chemistry. Vol. 48. 2000.
- [11] Uttara, B. Singh, A.V. Zamboni, P. y Mahajan, R.T., Oxidative stress and neurodegen- rative diseases: A review of Upstream and Downstream antioxidant therapeutic options, Current Neuropharmacology. 2009.