

## ANÁLISIS FITOQUÍMICO CUALITATIVO Y EVALUACIÓN DE CAPACIDAD NUTRACÉUTICA DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Croton incanus*

R.G. López-Ramos<sup>a</sup>, J. Guzmán-Ceferino<sup>a,b</sup>, L. Hernández-Ocura<sup>a</sup>, A. Iliná, L.I.I. López-López, L.E. Cobos-Puc, S.Y. Silva-Belmares<sup>a,b\*</sup>

<sup>a</sup> Universidad Autónoma de Coahuila, Facultad de Ciencias Químicas, Departamento de Investigación en Alimentos. <sup>b</sup> Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, División Académica Multidisciplinaria de los Ríos. \* yesenia\_silva@hotmail.com

### RESUMEN:

Los nutraceuticos son empleados en la formulación de biopelículas comestibles y en la elaboración de alimentos funcionales por sus propiedades biológicas. La búsqueda de nuevos compuestos bioactivos se realiza mediante la investigación de plantas de uso tradicional que carecen de estudios; tales como el análisis fitoquímico cualitativo y la actividad antioxidante. En ésta investigación se propuso como objetivo realizar un tamizaje fitoquímico para la hoja de *Croton incanus*, cuantificar el contenido polifenólico total y la actividad antioxidante. Por lo que se obtuvo un extracto por maceración, que luego se concentró. Se preparó una solución del extracto a 2000 ppm que fue empleada en todos los ensayos. El tamizaje fitoquímico se realizó por análisis fitoquímico cualitativo. El contenido de polifenoles totales se determinó por la técnica de folin-ciocalteu y la actividad antioxidante por la técnica de DPPH. Los resultados revelaron la presencia de metabolitos secundarios entre ellos oxhidrilos fenólicos y otros compuestos de naturaleza similar. Además el contenido polifenólico total mostró una concentración de  $0.00256 \pm 0.00002$  mgEAG/g. La actividad antioxidante, mostró un porcentaje de captura de radicales de 32.95%. De acuerdo con esto se concluye que *C. incanus* posee metabolitos con potencial nutraceutico.

### ABSTRACT:

Nutraceuticals are used in the formation of edible biofilms and the development of functional foods for their biological properties. The search for new bioactive compounds is performed by investigating plants traditional use that lack studies; such as qualitative analysis phytochemical and antioxidant activity. In this research it was proposed aimed at making a phytochemical screening sheet *Croton incanus*, quantify the total polyphenolic content and antioxidant activity.

As an extract by maceration, then he concentrated was obtained. A solution of 2000 ppm extract that was used in all assays was prepared. The phytochemical screening was performed by qualitative phytochemical analysis. The total polyphenol content was determined by the Folin-Ciocalteu technique and antioxidant activity by DPPH technique. The results revealed the presence of secondary metabolites including phenolic hydroxyls and other compounds of a similar nature. In addition the total polyphenol content showed a concentration of  $0.00256 \pm 0.00002$  mgGAE/g. The antioxidant activity, showed a percentage capture radicals 32.95%. Accordingly it is concluded that *C. incanus* has metabolites with nutraceutical potential.

**Palabras clave:** Actividad biológica, *Croton incanus*, Nutraceuticos

**Keywords:** biological activity, *Croton incanus*, Nutraceuticals

**Área:** Nutrición y Nutraceuticos

## INTRODUCCIÓN.

Los nutraceuticos son compuestos con actividad biológica benéfica para el organismo (DeFelice, 1995). La mayoría de ellos son de origen vegetal y dentro de los compuestos más comunes se encuentran los compuestos fenólicos (Martins et al., 2015). Los nutraceuticos tienen muchas aplicaciones en la industria de los alimentos, especialmente en la formulación de películas comestibles (Figuroa, Salcedo, Aguas, Olivero, & Narvaez, 2011) o en el desarrollo de alimentos funcionales (Ostan et al., 2015). Dentro de las plantas con compuestos que poseen actividad biológica se encuentran aquellas que pertenecen al género *Croton* (Euphorbiaceae). Este género está compuesto por alrededor de 1200 especies y muchas de estas se emplean en la medicina tradicional (Motta et al., 2013).

México, como uno de los países con mayor diversidad de flora en el mundo, posee muchos géneros y especies vegetales que carecen de estudios científicos sobre su actividad biológica y potencial nutraceutico (Juárez-Vázquez et al., 2013). En este sentido, *Croton incanus* es una especie vegetal usada de manera tradicional para ciertas dolencias, sin embargo se desconoce su perfil fitoquímico, así como su potencial antioxidante, actividad típica de los nutraceuticos debido a que a generación de radicales libres en exceso genera daño celular y por consiguiente diversos problemas de salud. Por tal motivo, el objetivo del presente trabajo fue realizar un tamizaje fitoquímico preliminar así como evaluar la actividad antimicrobiana y toxica del extracto de hoja de *C. incanus*. Por medio del tamizaje fitoquímico se revelo la presencia de varios metabolitos, entre ellos los compuestos fenólicos, los cuales tuvieron una concentración de  $0.00256 \pm 0.00002$  mgEAG/g y una actividad antioxidante de  $32.95 \pm 0.1$  %. Como conclusión, y en base a otros reportes que fueron revisados, valdría la pena cambiar algunas condiciones de extracción para ver si es posible obtener concentraciones más elevadas de polifenoles ya que a una muy baja concentración son capaces de mostrar actividad biológica.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Se colectó la muestra vegetal en Rayones, Nuevo León. Una vez secas las hojas de *C. incanus* estas se trituraron y tamizaron a un tamaño de partícula menor a 1 mm. El extracto se obtuvo por maceración a temperatura ambiente y en agitación constante durante dos horas usando etanol absoluto como solvente. El extracto se concentró en rotavapor y posteriormente se almacenó en refrigeración y ausencia de luz. Se preparó una solución etanólica a 2000 ppm y se realizó un tamizaje fitoquímico preliminar usando metodología descrita en un trabajo anterior (López-Ramos et al., 2014). Posterior a esta etapa, se determinó el contenido polifenólico total por el método de folin-ciocalteu (da Silva Port's, Chisté, Godoy, & Prado, 2013) modificado. La cuantificación del contenido fenólico se midió por espectrofotometría UV-visible a 790 nm y los resultados se expresaron como equivalentes de ácido gálico (EAG) por gramo de base seca.

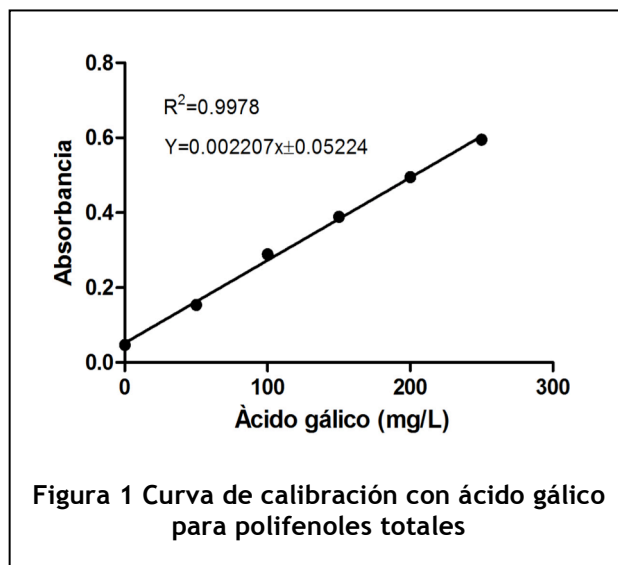
Todos los análisis se hicieron por quintuplicado y los datos se presentaron como media  $\pm$  DE (desviación estándar). Para la determinación de actividad antioxidante se usó la técnica de DPPH descrita por Pollyane da Sliva Port's (2013) utilizando ácido gálico como compuesto de referencia. Las lecturas se hicieron en un espectrofotómetro BioTek Synergy HTX Multi-Mode Reader a una longitud de onda de 517 nm. Todos los análisis se hicieron por quintuplicado.

Resultados y Discusión. Los resultados de la primera etapa se presentan en la tabla 1. El tamizaje fitoquímico para el extracto etanólico de hoja de *C. incanus* reveló la presencia de varios compuestos, entre ellos, flavonoides y alcaloides, compuestos que se han reportado en otras especies del género *Croton*, como en la corteza de *C. uracurana* (Cordeiro et al., 2016). En otro trabajo, se reportó que *C. macrostachyus* presenta en sus ramas, distintos tipos de compuestos fenólicos entre los cuales se encuentran el ácido benzoico, el galato de metilo y el metil 2,4-dihidroxi-3,6-dimetilbenzoato. Además de estos compuestos, también se reportó la presencia de diterpenos y triterpenos. La prueba de  $\text{KMnO}_4$  reveló la presencia de insaturaciones en las estructuras químicas de los metabolitos encontrados en el extracto. Estos resultados confirman que especies de mismo género son capaces de sintetizar compuestos similares. Ahora, lo que hace falta es realizar una investigación más profunda para aislar y dilucidar qué tipos de estructuras químicas conforman dichos compuestos.

| Tabla I. Resultados del tamizaje fitoquímico para el extracto etanólico de <i>C. incanus</i> |                   |
|--|-------------------|
| Leyenda: (+) = presencia, (-) = ausencia.  |                   |
| Compuesto  | <i>C. incanus</i> |
| Esteroides   | +                 |
| Flavonas   | +                 |
| Flavonoides  | +                 |
| Sesquiterpenos   | +                 |
| Alcaloides   | +                 |
| Oxhidrilos fenólicos   | +                 |
| Cumarinas  | +                 |
| Lactonas   | +                 |

En la figura 1 se observa la curva de calibración que se empleó para la obtención del contenido total polifenólico para el extracto etanólico de *C. incanus* que fue de  $0.00256 \pm 0.00002$  mgEAG/g. Pollyane y colaboradores (2013) reportaron para *Croton spp* una concentración de  $26.02 \pm 1.70$  mgEAG/g lo cual supera por mucho a lo obtenido en el presente reporte. Es posible que la diferencia entre el contenido de polifenoles de ambas especies se deba al solvente empleado y a la relación usada para la extracción ya que en el presente trabajo se usó como solvente de extracción agua mientras que Pollyane empleó 500 ml por cada 10 gramos de muestra seca. Esto aunado a que cada especie a pesar de ser el mismo género

produce una concentración distinta de metabolitos secundarios, es probable también que las condiciones de crecimiento y cosecha del material vegetal hayan propiciado variación de biosíntesis de compuestos.



Finalmente, la prueba de actividad antioxidante por el método de DPPH reveló que el extracto de *C. incanus* tuvo un porcentaje de actividad secuestrante de radicales libres del  $32.95 \pm 0.1$  %. Debido a esto no fue posible calcular el  $IC_{50}$ . En comparación con otros trabajos, Thambiraj, Paulsamy y Sevukaperumal (2012) reportaron distintos porcentajes de captura para el extracto metanólico de *Acalypha fruticosa* (Euphorbiaceae) en donde se llegaron a obtener actividad por encima del 50 % (Thambiraj, Paulsamy, & Sevukaperumal, 2012). En dicho trabajo se emplearon distintas concentraciones del extracto en donde se observó una actividad creciente dependiente de dosis. Lo cual supone que dentro de la familia Euphorbiaceae existen especies que poseen metabolitos con mayor actividad antioxidante que otros, sin embargo, aún quedan más estudios por hacer debido que la capacidad nutracéutica no solo se refleja en la actividad antioxidante que posea un compuesto sino en otras actividades biológicas como la actividad antimicrobiana entre otras que pueden ser de interés en la formulación de distintos productos destinados al mejoramiento de los alimentos.

## BIBLIOGRAFÍA

- Cordeiro, K. W., Felipe, J. L., Malange, K. F., do Prado, P. R., de Oliveira Figueiredo, P., Garcez, F. R., ... Toffoli-Kadri, M. C. (2016). Anti-inflammatory and antinociceptive activities of Croton urucurana Baillon bark. *Journal of Ethnopharmacology*, 183, 128–135.
- da Silva Port's, P., Chisté, R. C., Godoy, H. T., & Prado, M. A. (2013). The phenolic compounds and the antioxidant potential of infusion of herbs from the Brazilian Amazonian region. *Food Research International*, 53(2), 875–881.

- DeFelice, S. L. (1995). The nutraceutical revolution: its impact on food industry R&D. *Trends in Food Science & Technology*, 6(2), 59–61. [http://doi.org/10.1016/S0924-2244\(00\)88944-X](http://doi.org/10.1016/S0924-2244(00)88944-X)
- Figuerola, J., Salcedo, J., Aguas, Y., Olivero, R., & Narvaez, G. (2011). Recubrimientos comestibles en la conservación del mango y aguacate, y Perspectiva al uso del propóleo en su formulación. *Revista Colombiana de Ciencia Animal*, 3(2), 386–400.
- Juárez-Vázquez, M. del C., Carranza-Álvarez, C., Alonso-Castro, A. J., González-Alcaraz, V. F., Bravo-Acevedo, E., Chamarro-Tinajero, F. J., & Solano, E. (2013). Ethnobotany of medicinal plants used in Xalpatlahuac, Guerrero, México. *Journal of Ethnopharmacology*, 148(2), 521–7.
- López-Ramos, R. G., Silva-Belmares, S. Y., López-López, L. I., de la Cruz-Galicia, M. G., & González-Zavala, M. A. (2014). ANÁLISIS FITOQUÍMICO PRELIMINAR Y EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTIMICROBIANO DE HOJA DE *Solanum elaeagnifolium*. In *1er Congreso Internacional sobre Innovación y Tendencia en Procesamiento de Alimentos* (pp. 230–235). Guanajuato.
- Martins, N., Barros, L., Santos-Buelga, C., Henriques, M., Silva, S., & Ferreira, I. C. F. R. (2015). Evaluation of bioactive properties and phenolic compounds in different extracts prepared from *Salvia officinalis* L. *Food Chemistry*, 170, 378–85.
- Motta, L. B., Furlan, C. M., Santos, D. Y. A. C., Salatino, M. L. F., Negri, G., de Carvalho, J. E., ... Salatino, A. (2013). Antiproliferative activity and constituents of leaf extracts of *Croton sphaerogynus* Baill. (Euphorbiaceae). *Industrial Crops and Products*, 50, 661–665.
- Ostan, R., Béné, M. C., Spazzafumo, L., Pinto, A., Donini, L. M., Pryen, F., ... d'Alessio, P. A. (2015). Impact of diet and nutraceutical supplementation on inflammation in elderly people. Results from the RISTOMED study, an open-label randomized control trial. *Clinical Nutrition (Edinburgh, Scotland)*.
- Thambiraj, J., Paulsamy, S., & Sevukaperumal, R. (2012). Evaluation of in vitro antioxidant activity in the traditional medicinal shrub of western districts of Tamilnadu, India, *Acalypha fruticosa* Forssk. (Euphorbiaceae). *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 2(1), S127–S130.