

Estimación de biocomponentes, color y pH en extractos etanólicos de tallos y hojas de cedrón (*Aloysia citrodora*)

Álvarez-Rosales, J.D.^a, Gaytán-Mares, D.L.^c, Sosa-Morales, M.E.^a, Baltazar-Vera, J.C.^b, Cerón-García, A.^{a,*}

[*abel.ceron@ugto.mx](mailto:abel.ceron@ugto.mx)

^a Universidad de Guanajuato, División de Ciencias de la Vida, Departamento de Alimentos, Ex Hacienda El Copal km 9; carretera Irapuato-Silao; A.P. 311; C.P. 36500; Irapuato, Guanajuato, México.

^b Universidad de Guanajuato, División de Ingenierías, Departamento en Ingeniería de Minas, Metalurgia y Geología, Ex Hacienda de San Matías S/N; C.P. 36020; Guanajuato, Gto. México.

^c Universidad Politécnica del Bicentenario, Ingeniería en Agrotecnología. Carr. Silao - Romita Km. 2, Col. San Juan de los Durán C.P. 36283; Silao, Gto.

RESUMEN:

El cedrón (*Aloysia citrodora*) es una planta usada en la medicina tradicional debido a sus cualidades para aliviar molestias estomacales. Este efecto se atribuye a la riqueza de metabolitos secundarios presentes en esta planta, lo que la hacen una excelente candidata para usarse como ingrediente en el desarrollo de nuevos productos alimenticios. Por tal razón se analizaron las propiedades fisicoquímicas (color CIEL *a*b* y pH) así como la presencia de compuestos fenólicos y flavonoides totales en extractos etanólicos de tallo y hoja de cedrón con diferente granulometría (185 y menor a 125 micras). Los extractos de cedrón presentan coloración verde, la cual se intensifica si dicho extracto proviene de hoja respecto al tallo, así como por una granulometría menor. Estos extractos poseen valores de pH neutros (7.01 a 7.31). Los extractos obtenidos, tanto de hoja como de tallo de cedrón, con granulometría menor a 125 micras, presentaron los mayores niveles de compuestos fenólicos (27.53±0.10 y 20.14±0.17 mg EAG/gPS) y flavonoides (96.66±1.88 y 40.01±1.5 mg ER/gPS), respectivamente. Estos resultados muestran la riqueza de compuestos bioactivos presentes en el cedrón, por lo que su aprovechamiento integral no solo podría estar restringido a la medicina tradicional sino también al desarrollo de nuevos productos alimenticios..

ABSTRACT:

Cedron (*Aloysia citrodora*) is a plant used in traditional medicine due to its qualities to relieve stomach pain. This effect is attributed to the richness of secondary metabolites present in this plant, which makes it an excellent candidate to be used as an ingredient in the development of new food products. For this reason, physicochemical properties (CIEL * a * b * and pH) as well as the presence of phenolic compounds and total flavonoids in ethanolic extracts of stem and leaf of cedron with different granulometry (185 and less than 125 microns) were analyzed. The extracts of cedron present green coloration, which intensifies if this extract comes from leaf with respect to the stem, as well as by a smaller granulometry. These extracts have neutral pH values (7.01 to 7.31). The extracts obtained, both leaf and stem of cedron, with granulometry smaller than 125 microns, showed the highest levels of phenolic compounds (27.53±0.10 and 20.14±0.17 mg GAE/gDW) and flavonoids (96.66±1.88 and 40.01±1.5 mg RE/gDW), respectively. These results show the richness of bioactive compounds present in the cedron, so its integral use could not only be restricted to traditional medicine, but also to the development of new food products..

Palabras clave:

Cedrón, compuestos bioactivos, extractos etanólicos, granulometría, herbolaría.

Key words:

Cedron, bioactive compounds, ethanolic extracts, granulometry, herbalist

Área: Frutas y hortalizas.

INTRODUCCIÓN

Aloysia citrodora mejor conocida como cedrón, verbena de indias, hierva Luisa es una especie vegetal que pertenece a la familia Verbenaceae, originaria de Sudamérica (Fig.1). Una de las principales características de esta planta es su contenido de metabolitos secundarios causantes del olor característico de esta especie (Di Leo-Lira, 2016). En la actualidad, el uso y consumo de plantas medicinales se ha posicionado de manera favorable dentro del mercado y esto es, debido a sus compuestos bioactivos, que forman parte del metabolismo secundario de esta especie vegetal. Lo anterior le confiere una gran variedad de aplicaciones tal es el caso como usos medicinales, cosméticos, suplementos dietarios, cuidados de la salud; los cuales han generado una buena alternativa para consumo en productos naturales y venta de productos industrializados.

Dentro de la medicina tradicional (herbolaria), el cedrón es considerado como una de las plantas medicinales más populares; la forma de aprovechar sus múltiples beneficios es mediante la infusión de sus hojas y tallos, la cual es usada preferentemente para el tratamiento de afecciones gastrointestinales (cólico, indigestión, diarrea, náuseas, vómito, entre otras), además de ser empleada como calmante del sistema nervioso (López-Villafranco *et al.*, 2017). Mientras que, en sectores como la perfumería y cosmética, esta planta se usa como parte de esencias y saborizantes, lo cual también le permite ser empleado en la preparación de bebidas, repostería, dulces, principalmente.

La concentración de compuestos bioactivos en plantas medicinales puede variar en respuesta a factores genéticos, ontogénicos, bióticos y abióticos afectando de diversa manera a los diferentes órganos de la planta (Ricco, 2011). Se conoce que los metabolitos secundarios en cedrón a partir de infusiones, elaboradas a partir en hojas de *Aloysia citrodora*; se encontró de manera diferencial presencia de fenoles totales, taninos totales, flavonoides totales y ácidos hidroxicinámicos en extractos acuosos de hojas jóvenes y hojas adultas (Ricco, 2011).

Por todo lo anteriormente descrito, resulta de gran importancia el conocer aspectos clave relacionados con la caracterización de extractos obtenidos no solo de la hoja sino también del tallo del cedrón, todo esto mediante la evaluación de diferentes propiedades fisicoquímicas en dichos extractos, así como la estimación de los compuestos bioactivos (flavonoides totales y compuestos fenólicos totales), lo cual aportará información relevante para un aprovechamiento integral de esta planta medicinal.

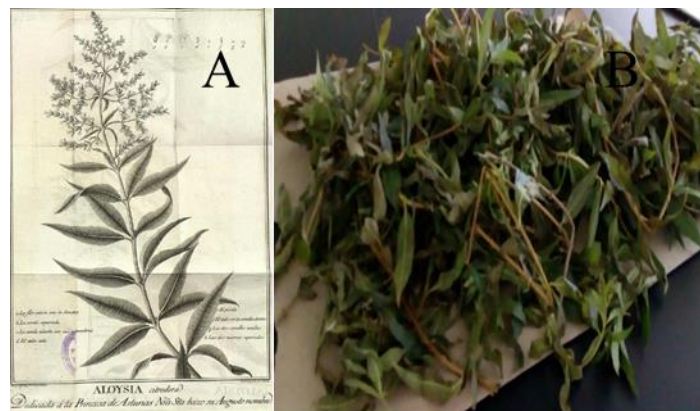


Fig. 1. Cedrón (*Aloysia citrodora*), lectotipo (A, tomado de Di Leo-Lira, 2016), muestras de tallo y hoja previo a la preparación de muestras (B, imagen propia).

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal

Ramas con hojas de *Aloysia citrodora* (aprox. 50 cm de largo), provenientes de la localidad de Santa Rosa de Lima, Gto, México fueron colectadas y llevadas al laboratorio de Agrotecnología en la Universidad Politécnica Bicentenario (Silao, Gto.) en donde se preparó la muestra. Posteriormente, las muestras procesadas fueron trasladadas al Departamento de Alimentos de la Universidad de Guanajuato para su posterior análisis.

Acondicionamiento de muestras

El material vegetal fue dispuesto en un horno de secado (Felisa, México) para eliminar la humedad hasta obtener la muestra a peso constante (40 °C, 96 h). Posteriormente, de forma separada, tanto tallo como hojas de cedrón se sometieron a un proceso de molienda mecánica (25000 rpm, 3 min) en un molino ciclónico modelo Tube mill control (IKA, Alemania). La clasificación de la muestra pulverizada se realizó por granulometría mediante en un equipo Orbital Genie (USA) usando tamices metálicos del #80 y #120 (apertura de 180 y 125 micras, respectivamente).

Preparación de extractos de cedrón

A partir de las muestras de cedrón tamizadas, se prepararon extractos etanólicos al 10% (p/v), los cuales fueron homogenizados en una placa con agitación magnética (100 rpm, toda la noche y protegidos de la luz). Finalmente, los extractos fueron centrifugados a 5000 rpm durante 20 minutos y el sobrenadante fue recuperado en tubos falcon de 15 ml para su posterior análisis.

Determinación de color

Para los diferentes extractos de cedrón (25 ml) fue realizada la estimación del color (Colorímetro ColorFlex EZ, HunterLab, USA) en el espacio CIEL*a*b* en un modo de medición absoluto (D65/10°), usando la capsula para contener muestras líquidas y las trampas de luz correspondientes (Pathare *et al.*, 2013).

Determinación de pH

La estimación del pH fue realizada mediante el potenciómetro de inmersión con corrección de temperatura SensION TM (Hach, USA) en una alícuota de 10 ml de extracto de cedrón.

Estimación de compuestos bioactivos

Tanto los compuestos fenólicos totales como flavonoides totales fueron determinados mediante el método colorimétrico reportado por Slinkard y Singleton (1977) y Khanam *et al.*, (2012), respectivamente. Para los compuestos fenólicos totales, 200 µl de extracto fueron puestos a reaccionar con 200 µl de reactivo de Folin-Ciocalteu diluido (1:4) y posteriormente, neutralizado con Na₂CO₃ al 5%. Luego de reposar los extractos 1 h en oscuridad, se les midió la absorbancia a 765 nm (Genesys UV-Visible, Thermo, USA). El contenido de compuestos fenólicos fue reportado como mg equivalentes de ácido gálico por gramo de peso seco (mg EAG/gPS).

Los flavonoides totales fueron determinados midiendo la absorbancia de una mezcla de reacción (200 µl de extracto, 50 µl de Al₃Cl al 10%, 50 µl acetato de potasio 1M, 0.8 ml de metanol al 80% y 1.4 ml de H₂O destilada) a 415 nm. El contenido de flavonoides totales fue reportado como mg equivalentes de rutina por gramo de peso seco (mg ER/gPS).

Análisis estadístico

Cada una de las determinaciones fue realizada por triplicado y los datos obtenidos fueron sometidos a un análisis de varianza de una vía (p<0.05) para encontrar significancia estadística. Así mismo, se aplicó una prueba de comparación de medias LSD (p<0.05) haciendo uso del programa estadístico Statgraphics (StatPoint Inc., USA). Los resultados se expresan como promedio ± desviación estándar.





RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Propiedades fisicoquímicas

A partir de muestras de tallos y hojas de cedrón (*Aloysia citrodora*), clasificados por tamaño de partícula, se obtuvieron extractos etanólicos con características de color y pH distintos (Tabla I). En términos generales, los

parámetros de color L*, a* y b* mostraron diferencias significativas ($p < 0.05$), independientemente del origen y tamaño de partícula para los extractos de cedrón. Mientras que los extractos que resultaron con la mayor luminosidad se obtuvieron a partir de tallo de cedrón, los extractos obtenidos a partir de hojas presentaron la menor luminosidad conforme se reduce el tamaño de partícula (< 125 micras). Esto hace que el extracto presente tonalidades oscuras. Por otro lado, de acuerdo a la escala cromática a* (verde a rojo), todos los extractos analizados presentan tonalidades verdes (-24.83 ± 0.03 a -11.78 ± 0.04) que se acentúan si el extracto se elabora a partir de hojas de cedrón que con tallo. Para la escala cromática b* (azul a amarillo), los extractos presentan tonalidades amarillas si estos se elaboran a partir de hoja, y en menor medida de tallo de cedrón ($p < 0.05$). En la tabla I se aprecia la representación gráfica del color para cada uno de los extractos analizados. Destacan tonalidades verdes en estos extractos, mostrando diferentes intensidades tanto para las muestras de tallo y hoja, así como por la granulometría presentada luego de tamizar el material vegetal previo a la obtención de estos extractos.

Tabla I. Parámetros de color y pH en extractos etanólicos obtenidos a partir de muestras de cedrón (*Aloysia citrodora*) con diferente granulometría.

Muestra	# de tamiz	Color			Representación gráfica	pH
		L*	a*	b*		
Tallo	80	67.30 ^d ±0.06	-11.78 ^a ±0.04	37.93 ^a ±0.10		7.31 ^b ±0.04
	>120	64.06 ^c ±0.07	-12.54 ^b ±0.01	47.35 ^c ±0.01		7.26 ^b ±0.01
Hoja	80	45.78 ^b ±0.04	-24.61 ^c ±0.01	65.37 ^d ±0.03		7.01 ^a ±0.04
	>120	29.00 ^a ±0.07	-24.83 ^d ±0.03	44.97 ^b ±0.10		7.28 ^c ±0.05

Letras diferentes en cada columna representan diferencia significativa ($p < 0.05$).

Respecto al pH determinado en los diferentes extractos, estos se consideran como muestras de naturaleza neutra (Tabla I). Así mismo, mientras que los extractos provenientes de tallo de cedrón no mostraron diferencia significativa por efecto del tamaño de partícula ($p > 0.05$), en los extractos obtenidos de hoja, el tamaño de partícula presentó un efecto significativo en esta variable, aumentando el valor de pH ($p < 0.05$).

Biocomponentes en extractos de cedrón

En cuanto a la estimación de compuestos bioactivos en extractos de cedrón, fue posible apreciar un efecto significativo del tamaño de partícula, así como del tipo de tejido empleado para la obtención del extracto sobre estos biocomponentes ($p < 0.05$). Para los compuestos fenólicos totales (Fig. 2), destaca una mayor concentración calculada en extractos de hoja respecto a los obtenidos de tallo de cedrón con tamaño de partícula menor de 125 micras (tamiz >120); mientras que el extracto obtenido de hoja alcanzó valores de 27.53 ± 0.10 mg EAG/gPS, para el extracto proveniente del tallo los compuestos fenólicos estimados fueron de 20.14 ± 0.17 mg EAG/gPS. A pesar de que no se encontró diferencia significativa ($p > 0.05$) entre el extracto de hoja respecto al extracto de tallo, ambos obtenidos con muestras de cedrón con un tamaño de partícula de 80 (180 micras) y > 120 (menor a 125 micras) respectivamente, el extracto obtenido a partir de muestra de tallo obtenidas usando el tamiz #80 mostró el menor contenido de compuestos fenólicos evaluado (11.23 ± 0.23 mg EAG/gPS). Lo anterior se debe a que, en procesos de extracción, el tamaño de partícula es determinante para lograr rendimientos elevados.

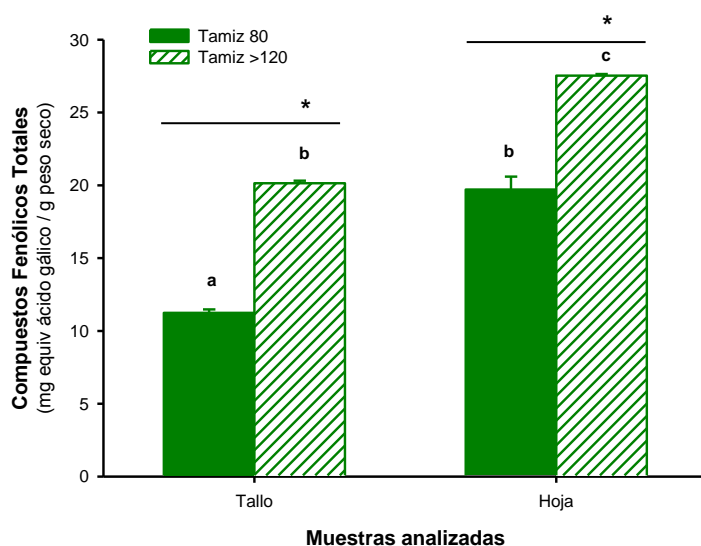


Fig. 2. Estimación de compuestos fenólicos totales en extractos etanólicos obtenidos a partir de muestras de cedrón (*Aloysia citrodora*) con diferente granulometría. Letras diferentes y * representan diferencia significativa ($p < 0.05$) entre las muestras y entre tejidos, respectivamente.

Así mismo, los niveles de compuestos fenólicos determinados en el presente estudio se encuentran por debajo a lo reportado por Cheurfa y Allem (2015) quienes restimaron valores de 61.13 mg EAG/gPS, mientras que Gálvez-Ranilla *et al.*, (2016) reporta valores de 50 mg EAG/gPS. Mientras que, para infusiones de hojas de cedrón, se estimó un valor de 51.85 ± 3.17 mg equivalentes de ácido tánico/gPS (Ragone *et al.*, 2007). Estas diferencias pueden deberse a los diferentes métodos de extracción, así como el origen del material vegetal empleado para dicha cuantificación de este biocomponente.

Por otro lado, en la figura 3 se muestra el contenido de flavonoides totales presente en diferentes extractos de cedrón. Tal como se presentó para los compuestos fenólicos totales, la presencia de flavonoides en los extractos de cedrón resulta mayor en muestras provenientes de hojas que en aquellas donde la materia prima fue el tallo ($p < 0.05$). También es posible apreciar que, dependiendo de la granulometría de la muestra empleada para obtener los diferentes extractos, el contenido de flavonoides totales resulta ser inversamente proporcional. Destaca el elevado contenido de flavonoides en extractos de hoja (96.66 ± 1.88 y 49.64 ± 3.13 mg ER/gPS), mientras que valores entre 40.01 ± 1.5 y 21.46 ± 2.82 mg ER/gPS fueron estimados en los extractos elaborados con tallo de cedrón con una granulometría de 180 micras (tamiz #80) y menor a 125 micras (tamiz > a 120), respectivamente (Fig. 3).

Infusiones de hojas de cedrón reportadas por Ragone *et al.*, (2007) presentaron un contenido de flavonoides totales de 20.82 ± 1.8 mg ER/gPS. Este valor fue similar a lo estimado para el extracto etanólico elaborado a partir de tallo de cedrón pasado por el tamiz #80, mientras que para el resto de las muestras, dicho valor se encuentra por debajo a lo reportado en esta investigación. Sin embargo, se tiene reporte de la estimación de flavonoides totales en hojas de cedrón proveniente de Argelia con un valor de 6.81 mg equivalentes de Quercetina/g de muestra (Cheurfa y

Allem, 2015), lo que representa valores muy por debajo a lo estimado en los diferentes extractos etanólicos presentados en esta investigación. La diferencia en cuanto a concentraciones puede atribuirse a la concentración con la que se prepararon los diferentes extractos etanólicos (10% p/v). A pesar de ello, los flavonoides estimados en esta investigación presentan un contenido mayor a lo reportado por otros autores. Lo anterior tiene gran relevancia ya que cabe la posibilidad de usar los extractos de cedrón en el diseño y formulación de nuevos productos alimenticios

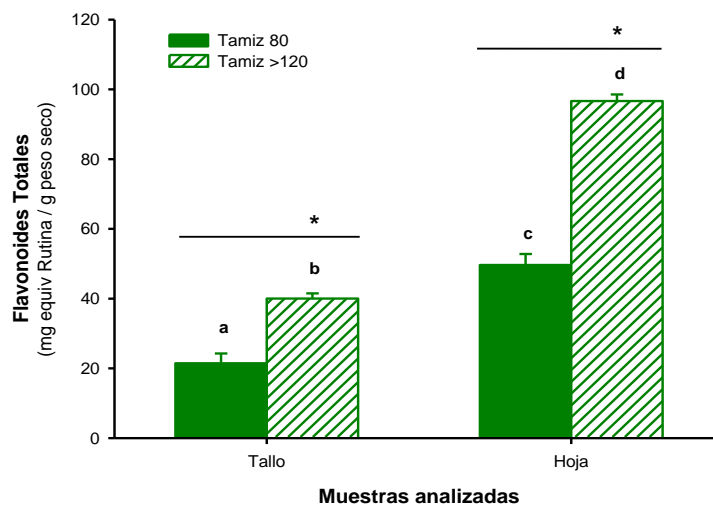


Fig. 3. Estimación de flavonoides totales en extractos etanólicos obtenidos a partir de muestras de cedrón (*Aloysia citrodora*) con diferente tamaño de partícula. Letras diferentes y * representan diferencia significativa ($p < 0.05$) entre las muestras y entre tejidos, respectivamente.

CONCLUSIÓN

La obtención de extractos etanólicos a partir de tallo y hojas de cedrón (*Aloysia citrodora*) presento diferencias significativas en cuanto a color, siendo más intensas las tonalidades verdes en muestras de hoja y granulometría menor a 125 micras (tamiz > a 120). Dichos extractos resultaron ser de naturaleza neutra, por lo que su adición como ingrediente funcional podría no alterar esta característica en un alimento. Si bien, dichos extractos son usados ampliamente en la medicina tradicional herbolaria, se aprecian niveles elevados en flavonoides totales, seguido por los compuestos fenólicos; básicamente en extractos provenientes de hojas de cedrón con un tamaño de partícula menor a 125 micras. Esta investigación aporta información relevante en cuanto biocomponentes del cedrón, lo cual permitirá aprovechar de manera integral esta planta medicinal.

BIBLIOGRAFÍA

- Cheurfa, M., y Allem, R. (2016). Evaluation of antioxidant activity of different extracts of *Aloysia triphylla* leaves (L'Herit.) from Algeria in vitro. *Phytothérapie*, 14(3), 181-187.
- Di Leo-Lira, P. (2016). Caracterización fitoquímica del cedrón (*Aloysia citrodora* Paláu, Verbenáceas) en Argentina para su normalización. Tesis doctoral. Universidad de Buenos Aires. Facultad de Farmacia y Bioquímica. http://repositorioubi.sisbi.uba.ar/gsd/collect/posgrauba/index/assoc/HWA_1383.dir/13.PDF
- Galvez Ranilla, L., Kwon, Y., Apostolidis, E., Shetty, K. 2010. Phenolic compounds, antioxidant activity and in vitro inhibitory potential against key enzymes relevant for hyperglycemia and hypertension of commonly used medicinal plants, herbs and spices in Latin America. *Bioresource Technology* 101, 4676-4689.
- Khanam, U. K., Oba, S., Yanase, E., y Murakami, Y. (2012). Phenolic acids, flavonoids and total antioxidant capacity of selected leafy vegetables. *Journal of Functional Foods*, 4, 979-987.
- Pathare, P. B., Opara, U. L., & Al-Said, F. A. J. (2013). Color measurement and analysis in fresh and processed foods: a review. *Food and Bioprocess Technology*, 6(1), pp.36-60.

- Ragone, M.A., Sella, M., Conforti, P., Volonté, M.G., Consolini, A.E. 2007. The spasmolytic effect of *Aloysia citriodora* Palau (South American cedrón) is partially due to its vitexin but not isovitexin on rat duodenum. *Journal of Ethnopharmacology* 113, 258-266.
- Ricco, R., Wagner, M., Gurni, A. 2011. Dinámica de polifenoles de “Cedrón” (*Aloysia citrodora* Palau - Verbenaceae-) en relación al desarrollo foliar. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas* 10 (1), 67-74.
- Slinkard, K., y Singleton, V. L. (1977). Total phenol analysis: automation and comparison with Manual Methods. *American Journal of Enology and Viticulture*, 28, 49-55.
- Villafranco, M. E. L., Contreras, A. A., Rodríguez, S. A., & Molina, S. X. (2017). Las *Verbenaceae* empleadas como recurso herbolario en México. *Polibotánica*, (44), 195-211.