

Evaluación antioxidante y tóxico de extracto metanólico de *Chrsanthemum parthenium*

Karina Guadalupe Aes Mosqueda^a, Juan Guzmán Ceferino^a, *Mario Alberto Morales Ovando^b, Nicolás González Cortes^a, Temani Durán Mendoza^a, María Concepción de la Cruz Leyva^a.

^aUniversidad Juárez Autónoma de Tabasco, División Académica Multidisciplinaria de los Ríos, Car. Tenosique-Estapilla km 1, Col Solidaridad, C.P. 86901. Tenosique, Tabasco, México.

^bUniversidad de Ciencias y Artes de Chiapas. Facultad Ciencias de la Nutrición y Alimentos. Libramiento Norte Poniente No.1150. Tuxtla Gutiérrez, Chiapas.

RESUMEN:

Se investigó la planta *C. parthenium* (altamisa), de la cual se realizó extracción y cuantificación de dos metabolitos secundarios a partir de la hoja, flor y raíz. Se evaluó el rendimiento de extracto, el contenido total de polifenoles, para lo cual se realizó una curva de calibración con ácido gálico (de 0 a 250 ppm), lo anterior mediante la técnica de Folincioalteau y se leyó a 790 nm; para la determinación de flavonoides se construyó una curva de calibración con catequina (0 a 1000 ppm), se leyó a 510 nm y fue expresado en equivalentes de catequina, la actividad antioxidante in vitro se realizó mediante el método ABTS y DPPH; en ambos métodos el efecto de captura se reportó en porcentaje. Finalmente, se realizó prueba de toxicidad en el modelo de *Artemia salina* en donde aplicó diferentes concentraciones de extracto. Los resultados obtenidos se analizaron mediante un ANOVA de una sola vía ($p \leq 0.05$). Se realizó prueba de comparación de medidas mediante técnica de Tukey ($p \leq 0.05$). Se encontró mayor rendimiento en el extracto de hoja, los contenidos más elevados de polifenoles y flavonoides se identificaron en el tallo y raíz, al igual que mayor actividad antioxidante y tóxica.

ABSTRACT:

The plant *C. parthenium* (altamisa) was investigated, from which extraction and quantification of the secondary metabolites were carried out from the leaf, flower, and root. The yield of the extract, the total content of polyphenols, was evaluated, for which a calibration curve with gallic acid (from 0 to 250 ppm) was made, the previous thing by means of the Folincioalteau technique and read at 790 nm; for the determination of flavonoids a calibration curve with catechin (0 to 1000 ppm) was constructed, read at 510 nm and expressed in catechin equivalents, the in vitro antioxidant activity was performed by the ABTS and DPPH method; in both methods the capture effect was reported as a percentage. Finally, a toxicity test was carried out in the *Artemia salina* model where different concentrations of the extract are added (50 to 1000 ppm). The results have been registered by a one-way ANOVA ($p \leq 0.05$). A comparison test was performed using the Tukey technique ($p \leq 0.05$). Higher yield was found in the leaf extract, the higher contents of polyphenols and flavonoids were identified in the stem and root, as well as the greater antioxidant activity and toxic activity.

Palabras clave:

Extracto, *Chrsanthemum parthenium*, nutracéutico

Extract, *Chrsanthemum parthenium*, nutraceutical

Área: Nutrición y nutracéuticos

INTRODUCCIÓN

En la medicina tradicional mexicana, el uso de las plantas en forma de extractos brutos, infusiones, es una práctica generalizada para tratar infecciones o algunas enfermedades no infecciosas. Existe una rica bibliografía etnobotánica local que describe las especies más frecuentemente utilizado por la población para curar infecciones gastrointestinales, respiratorias, urinarias y de la piel (Martínez, 1944, Baytelman, 1980), Sin embargo, es pocos los estudios científicos que confirmen la posible actividad antibiótica de un gran número de estos remedios (Dimayuga y García, 1991).

Por otra parte, los antioxidantes son sustancias que pueden estar presentes en concentraciones muy pequeñas y que contrarrestan de manera directa o indirecta los efectos nocivos de los radicales libres; uno de los compuestos naturales, que además de presentar actividad antimicrobiana pueden presentar actividad antioxidante son los compuestos polifenólicos (CP), de estos se ha reportado que son los fotoquímicos que contribuyen en mayor

proporción a la capacidad antioxidante (Heo *et al.*, 2007). Se han identificado más de 80 000 polifenoles, que se encuentran en alimentos como el té (Almajano *et al.*, 2008; Chanphai *et al.*, 2017; Zhang *et al.*, 2018), vino tinto (Mendes *et al.*, 2018); chocolate y cocoa (Batista *et al.*, 2016; frutas frescas y secas (Khallouki *et al.*, 2017)), vegetales (Septembre-Malaterre, Remize, y Poucheret, 2017), aceite de oliva extra virgen (Esposito *et al.*, 2015), vegetales (2006; Barbieri *et al.*, 2018), vino tinto (Mendes *et al.*, 2018).

La planta *Chrysanthemum parthenium* (altamisa) una de las especies vegetales más abundante en diversas zonas de china y que pertenece a la familia composite, tradicionalmente se utiliza para tratar dolencias como hinchazones, dolor de estómago, cerebro y varicela. Varios estudios han demostrado que los flavonoides presentan diversas actividades biológicas, tales como efectos analgésicos, antiinflamatorios, antibacterianos, antioxidantes y hepatoprotectores. Se plantea la hipótesis de que los compuestos polifenólicos obtenidos por extracción metanólica presentes en *C. parthenium* presentan efecto antioxidante y baja toxicidad.

MATERIALES Y MÉTODOS

Este trabajo de investigación se realizó en la División Multidisciplinaria de los Ríos de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. La investigación experimental se llevó a cabo en el Laboratorio de alimentos en el área de instrumental.

Se trabajó con la planta *Chrysanthemum Parthenium* (altamisa), se realizó estudio en la hoja, flor y raíz; las cuales se secaron a temperatura ambiente y a la sombra. Posteriormente, las muestras fueron trituradas manualmente para su reducción de tamaño usando un molino doméstico.

Para la realización de la extracción por maceración, previamente se destiló el metanol; se realizó la extracción metanólica con una relación de (1:4) que consistió en pesar 30 g de cada una de las muestras por separado y adicionó 120 mL de metanol, el proceso se llevó a cabo durante 24 h; la muestra extraída de la hoja, raíz y flor de la planta *Chrysanthemum Parthenium* se lavaron cinco veces con metanol, seguidamente se filtraron a vacío y se colocaron en frascos color ámbar, las muestras se concentraron por evaporación en un rotavapor.

Para la determinación del contenido total de polifenoles se aplicó la técnica de Folin-ciocalteau, después de reaccionar la muestra con los reactivos se leyó a 790 nm y el contenido se expresaron en EAG, para lo cual se realizó una curva de calibración con ácido gálico (de 0 a 250 ppm) (Perla, Holm, & Jayanty, 2012).

Para la determinación de flavonoides se construyó una curva de calibración con catequina (0 a 1000 ppm), se preparó una solución de nitrito de sodio al 7 % en agua destilada, hidróxido de sodio al 2 % en agua, se hizo reaccionar la mezcla de diferentes volúmenes de soluciones con la muestra de extracto, se incubó por 30 min y se leyó a 510 nm, el contenido de flavonoides se expresó en equivalentes de catequina (EC) (En, Flores, & Crataegus, 2012).

La actividad antioxidante *in vitro* se realizó mediante el método ABTS y DPPH; se generó el radical ABTS usando persulfato de potasio a 2.45 mM y la sal ABTS 7 mM, ambos se mezclaron en volúmenes iguales y se dejó reaccionar a temperatura ambiente por 16 h. Se mezcló 10 μ L de muestra con 1000 μ L de radical ABTS y se incubó por 1 min y se leyó a 734 nm, los resultados se expresaron en porcentaje de captura (Zheng, *et al.*, 2016).

Para cuantificar el efecto antioxidante por el método DPPH, este radical se preparó a 0.1 mM y se mezcló 900 μ L de este con 100 μ L de muestra, se dejó reaccionar en oscuridad por 30 min a temperatura ambiente y se leyó a 517 nm. Los resultados se expresaron en porcentaje de captura (Chen *et al.*, 2013).

También se realizaron pruebas de solubilidad de las muestras en DMSO al 10 %. Finalmente, se realizaron pruebas de toxicidad sobre el modelo de *Artemia salina*; se aplicaron diferentes concentraciones (50 a 1000 ppm), y la temperatura de incubación fue de 25°C y los resultados se determinaron a las 24 h de incubación.

A los resultados obtenidos se les aplicó un ANOVA para un diseño completamente al azar ($p \leq 0.05$). Se realizó prueba de comparación de medias mediante la técnica de Tukey ($p \leq 0.05$). Lo anterior usando el programa GraphPad 5.0.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los extractos metanólicos obtenidos de la hoja, flor y raíz presentaron diferentes rendimientos, se observó diferencias estadísticas significativas, siendo el extracto de hoja quien presentó aproximadamente el 11 % (figura 1A). En cuanto al contenido de flavonoides el extracto de raíz presento 0.949 ± 0.02 mg EAG/ gp (1B) y en cuanto al contenido de polifenoles totales el análisis estadístico indicó diferencias significativas entre extractos, siendo el extracto de flor y de raíz quien presentaron mayor contenido polifenólico de aproximadamente, 0.870 ± 0.06 y 0.816 ± 0.02 (1C) respectivamente. De acuerdo a los resultados obtenidos es probable que además de los compuestos polifenólicos y flavonoides se encuentren otros compuestos en el extracto de hoja, ya que presentó mayor rendimiento.

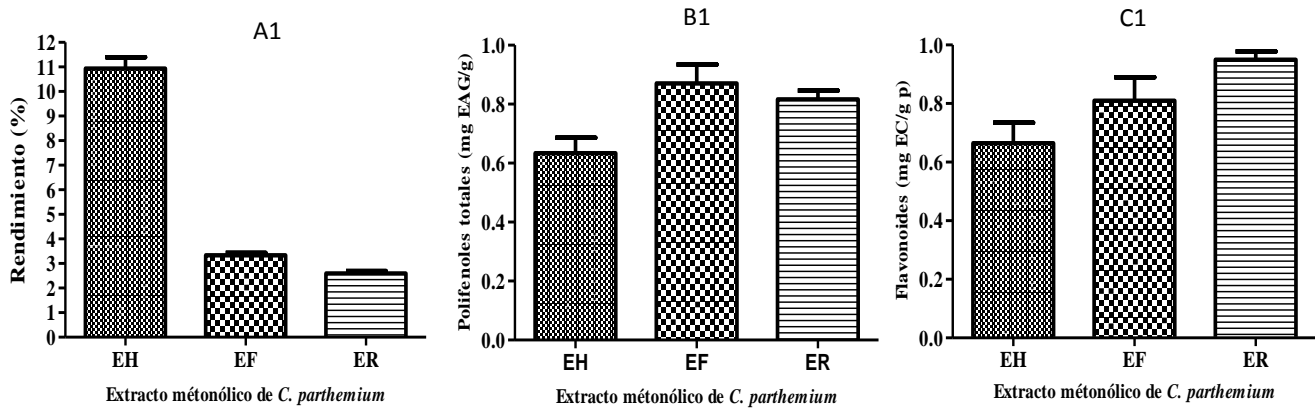


Figura 1. Valores de rendimientos y análisis cuantitativo de dos metabolitos secundarios de *C. parthemiun*.

Respecto a la actividad antioxidante de los extractos metanólicos que se presentan en la figura 2, se encontraron diferencias estadísticas significativas, siendo los extractos de flor y de raíz quienes presentan los mayores porcentajes de captura de radical DPPH. En cuanto a la actividad de radical ABTS los extractos presentaron valores inferiores al 40 %, no obstante que el extracto de hoja presentó mayor efecto de captura. Este comportamiento se puede deber al perfil de compuestos polifenólicos totales, a su estructura química y a la naturaleza química del radical. En los resultados preliminares de toxicidad, se encontró mayor efecto en el extracto de hoja a 50 ppm, y menor toxicidad en el extracto de flor y raíz a la misma concentración, los valores de mortalidad fueron de 10 a 50 %.

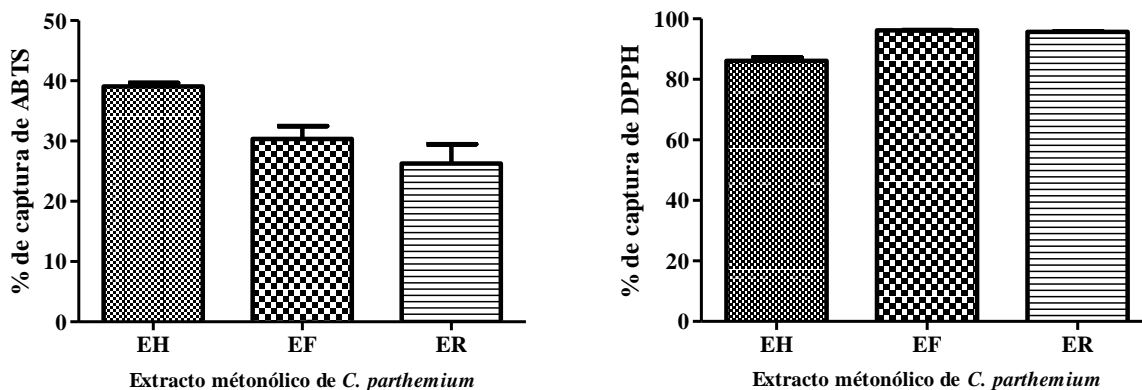


Figura 2. Efecto antioxidante de los extractos metanólicos de *C. parthemiun*.

Tabla 1. Efecto tóxico (%) del extracto de *C. parthemiun*.

Extracto de Hoja	Extracto de Flor	Extracto de Raíz
50*	10*	20*

*50 ppm

CONCLUSIÓN

Los tres extractos metanólicos poseen potencial nutracéutico con efecto antioxidante, sin embargo, a mayor concentración, estos presentan toxicidad, por lo que es necesario analizar concentraciones inferiores de 50 ppm y realizar nuevamente su efecto antioxidante, cual permitirá estimar la cantidad de antioxidante mínima para reducir los radicales en un 50 %, en el caso de DPPH.

BIBLIOGRAFÍA

- Almajano, M. P., Carbó, R., Jiménez, J. A. L., & Gordon, M. H. (2008). Antioxidant and antimicrobial activities of tea infusions. *Food Chemistry*, *108*(1), 55–63. <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.10.040>
- Bai, L., Guo, S., Liu, Q., Cui, X., Zhang, X., Zhang, L., ... Bai, N. (2016). Characterization of nine polyphenols in fruits of *Malus pumila* Mill by high-performance liquid chromatography. *Journal of Food and Drug Analysis*, *24*(2), 293–298. <http://doi.org/10.1016/j.jfda.2015.10.002>
- Barbieri, G., Bergamaschi, M., Franceschini, M., & Barbieri, G. (2018). Feasibility of addition of polyphenol-rich vegetable extracts in whole cooked products: Benefits and drawbacks. *Meat Science*, *139*(January), 1–6. <http://doi.org/10.1016/j.meatsci.2018.01.010>
- Batista, N. N., de Andrade, D. P., Ramos, C. L., Dias, D. R., & Schwan, R. F. (2016). Antioxidant capacity of cocoa beans and chocolate assessed by FTIR. *Food Research International*, *90*, 313–319. <http://doi.org/10.1016/j.foodres.2016.10.028>
- Chanphai, P., Bourassa, P., Kanakis, C. D., Tarantilis, P. A., Polissiou, M. G., & Tajmir-Riahi, H. A. (2017). Review on the loading efficacy of dietary tea polyphenols with milk proteins. *Food Hydrocolloids*, *77*, 322–328. <http://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2017.10.008>
- Chen, S., Shen, X., Cheng, S., Li, P., Du, J., Chang, Y., & Meng, H. (2013). Evaluation of garlic cultivars for polyphenolic content and antioxidant properties. *PLoS ONE*, *8*(11). <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0079730>
- Cieślak, E., Gręda, A., & Adamus, W. (2006). Contents of polyphenols in fruit and vegetables. *Food Chemistry*, *94*(1), 135–142. <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.11.015>
- Effect of water stress on antioxidant systems and oxidative parameters in fruits of tomato (*Solanum lycopersicon* L. (2013), *19*(September), 363–378. <http://doi.org/10.1007/s12298-013-0173-7>
- En, A., Flores, L. A. S., & Crataegus, D. E. (2012). Total phenolic compounds, flavonoids and antioxidant activity in the flowers of, 651–662.
- Esposito, S., Taticchi, a., Di Maio, I., Urbani, S., Veneziani, G., Selvaggini, R., ... Servili, M. (2015). Effect of an olive phenolic extract on the quality of vegetable oils during frying. *Food Chemistry*, *176*, 184–192. <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.12.036>
- Khallouki, F., Voggel, J., Breuer, A., Klika, K. D., Ulrich, C. M., & Owen, R. W. (2017). Comparison of the major polyphenols in mature Argan fruits from two regions of Morocco. *Food Chemistry*, *221*, 1034–1040. <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.11.058>
- Mendes, D., Oliveira, M. M., Moreira, P. I., Coutinho, J., Nunes, F. M., Pereira, D. M., ... Videira, R. A. (2018). Beneficial effects of white wine polyphenols-enriched diet on Alzheimer's disease-like pathology. *The*

Journal of Nutritional Biochemistry. <http://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2018.02.001>

- Perla, V., Holm, D. G., & Jayanty, S. S. (2012). Effects of cooking methods on polyphenols, pigments and antioxidant activity in potato tubers. *LWT - Food Science and Technology*, *45*(2), 161–171. <http://doi.org/10.1016/j.lwt.2011.08.005>
- Septembre-Malaterre, A., Remize, F., & Poucheret, P. (2017). Fruits and vegetables, as a source of nutritional compounds and phytochemicals: Changes in bioactive compounds during lactic fermentation. *Food Research International*, *104*(April 2017), 86–99. <http://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.09.031>
- Zhang, C., Suen, C. L. C., Yang, C., & Quek, S. Y. (2018). Antioxidant capacity and major polyphenol composition of teas as affected by geographical location, plantation elevation and leaf grade. *Food Chemistry*, *244*(September 2017), 109–119. <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.09.126>
- Zheng, L., Zhao, M., Xiao, C., Zhao, Q., & Su, G. (2016). Practical problems when using ABTS assay to assess the radical-scavenging activity of peptides: Importance of controlling reaction pH and time. *Food Chemistry*, *192*, 288–294. <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.07.015>