

Efecto Del Uso De Biofertilizantes En La Capacidad Antioxidante Y El Contenido Fenólico Total Del Ajo.

José Manuel Cortez Muñoz ^{a*}, Ambrosio Franco Bañuelos ^b, Juan Manuel García González ^c, Rosalinda Gutiérrez Hernández ^a, Claudia Araceli Reyes Estrada ^a, José Carranza Concha ^a.

^a Universidad Autónoma de Zacatecas, Departamento de Nutrición., Carretera Zacatecas-Guadalajara Km. 6, Ejido "La Escondida", Zacatecas, Zac. C.P. 98160, MÉXICO. *Autor para correspondencia: j-manuel-15@hotmail.com.

^b Universidad Autónoma de Zacatecas, Facultad de Agronomía. Carretera Zacatecas-Guadalajara Km. 15, Cieneguillas, Zacatecas. C.P. 98160, MÉXICO.

^c Universidad Autónoma de Zacatecas Facultad de Ciencias Químicas. Programa de Químico en Alimentos. Carretera Zacatecas-Guadalajara Km. 6, Ejido "La Escondida", Zacatecas, Zac. C.P. 98160, MÉXICO.

RESUMEN:

El ajo (*Allium sativum* L.) es un bulbo medicinal importante, que se ha cultivado extensamente en muchos países. Por su contenido en compuestos organosulfurados así como alicina se le ha catalogado como alimento funcional. La producción de biofertilizantes son una opción amigable para los cultivos agrícolas, ya que evitan el manejo y aplicación de fertilizantes químicos que dañan el medio ambiente, la salud y el suelo de plantación para futuras cosechas. Por eso, el objetivo del presente trabajo fue determinar el efecto del uso de biofertilizantes en la capacidad antioxidante (método ABTS+ y DPPH) el contenido fenólico total (método Folin-Ciocalteu) del ajo. El diseño experimental fue completamente al azar con tres repeticiones. Todos los análisis se realizaron por triplicado y los resultados se expresaron como valores medios \pm desviación estándar. Se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos así como el testigo en cuanto a la actividad antioxidante con el método ABTS+ así como en el contenido fenólico total (Tukey Test, $p \leq 0,05$).

Palabras clave: Ajo, Biofertilizantes

ABSTRACT:

Garlic (*Allium sativum* L.) is an important medicinal bulb, which has been widely cultivated in many countries. Due to its content in organosulfur compounds as well as alicin, it has been classified as a functional food. The production of biofertilizers are a friendly option for agricultural crops, since they avoid the handling and application of chemical fertilizers that damage the environment, health and the plantation soil for future harvests. Therefore, the objective of the present work was to determine the effect of the use of biofertilizers on the antioxidant capacity (ABTS + method and DPPH) the total phenolic content (Folin-Ciocalteu method) of garlic. The experimental design was completely randomized with three replications. All analyzes were performed in triplicate and the results were expressed as mean values \pm standard deviation. Statistically significant differences were observed between treatments as well as the control in terms of antioxidant activity with the ABTS + method as well as in the total phenolic content (Tukey Test, $p \leq 0.05$).

Key-Words: Garlic, Biofertilizer

Área: Alimentos funcionales

INTRODUCCIÓN

La Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA) informó que la producción de ajo "Hecho en México" aumentó en 28.9 por ciento durante 2016, en comparación con el año previo, superando en más de 10 mil toneladas el promedio de los últimos cuatro años. Con base en estadísticas del Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP), la dependencia federal indicó que en 2016 la producción de ajo alcanzó las 75 mil 266 toneladas, lo que representa un volumen adicional de 17 mil 159 toneladas en relación a lo reportado en 2015. El ajo se cultiva en 21 entidades del país, siendo Zacatecas, Guanajuato, Puebla, Baja California y Sonora los principales estados productores, estados que aportan el 87.1 por ciento de la producción nacional. Zacatecas produce 42 mil 340 toneladas, que equivalen al 56.3 por ciento del total (SAGARPA, 2017).

El ajo (*Allium sativum* L.) es un bulbo medicinal importante, que se ha cultivado extensamente en muchos países. Contiene una variedad de compuestos orgánicos de azufre, como la alicina, que pueden mejorar la digestión y estimular el crecimiento (Lee et al., 2012; Etyemez Büyükdeveci et al., 2018). Desde la antigüedad, el ajo (*Allium sativum* L.) se ha utilizado ya sea por sus propiedades culinarias o por su calidad como planta medicinal, especialmente utilizado como condimento en la cocina mediterránea y asiática (FAO 2014). Varios estudios recientes han asociado un consumo moderado de ajo con mejoras en la salud (Amagase, 2006; Block, 2010; Iciek et al., 2009; Torres-Palazzolo et al., 2018). La evidencia sugiere que sus actividades medicinales se deben principalmente a su contenido de compuestos orgánicos de azufre (OSCs) (Corzo-Martínez et al., 2007; Iciek et al., 2009). Algunas de las actividades biológicas atribuidas a estos OSC son antitumoral, antimicrobiano, antimicótico, antiviral, antiagregante plaquetario, modulador de la presión sanguínea y de la glucosa en sangre, y mejora inmunitaria (Block, 2010; Corzo-Martínez et al., 2007).

Por otra parte, con la irrupción de la “Revolución Verde” (período de mediados del siglo XX que se caracterizó por su alta producción agrícola, así como del uso de los fertilizantes químicos para acelerar la generación de cultivos en altas cantidades) se produjo un impacto ambiental negativo, pues para producir los fertilizantes se requiere de una alta generación de energía, paralelamente a esto se da una contaminación y acidificación de los suelos por el empleo de ellos. Estas problemáticas llevaron a la búsqueda de opciones más amigables con el medio ambiente. Una de ellas ha sido el desarrollo de biofertilizantes. Un biofertilizante está hecho a base de microorganismos que le permita a la planta adquirir nutrientes para mejorar su desempeño. Los microorganismos son extraídos del suelo, reproducidos en grandes cantidades y posteriormente se regresan al mismo suelo, proporcionando nutrimentos a la planta, principalmente nitrógeno y fósforo.

El ajo posee distintos componentes, entre los que destacan el agua y los carbohidratos, calcio, fósforo, potasio, sodio, los compuestos azufrados, fibra, proteína, vitamina C y ácidos omega 3 y 6 así como compuestos fenólicos, y fitoesteroles (Rahman, 2003). No obstante, existe poca información al respecto de su capacidad antioxidante y su contenido fenólico total, por lo que el presente trabajo pretende determinar el impacto del uso de biofertilizantes en estos dos parámetros.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizó ajo blanco, sembrado en la facultad de Agronomía de la Universidad Autónoma de Zacatecas, el 24 de octubre de 2016, a los cuales se les aplicó los biofertilizantes, cuyas dosis consistieron en: 1.9 L de agua con 228 mL para el fertilizante “Biol”, 1.9 L de agua con 5 mL del biofertilizante “Algas marinas” y 1.9 L de agua con 1.5 mL de biofertilizante “Redstar”.

Análisis

Todas las muestras fueron analizadas en el contenido de humedad (AOAC, 1997), la actividad antioxidante (método DPPH y ABTS), así como el contenido fenólico total (método Folin-Ciocalteu).

Extracción de compuestos fenólicos

La extracción de los compuestos fenólicos consistía en homogeneizar 5 g de la muestra de ajo durante 10 minutos con 20 mL de metanol, 5 mL de HCl 6 N y 2 mg de NaF para inactivar las polifenol oxidasas y evitar la degradación fenólica. Después de la extracción, la mezcla se centrifugó (2701 x g, 4°C) durante 10 min. El sobrenadante obtenido se almacenó (24 h) en viales opacos a 4°C hasta analizar.

Determinación del contenido fenólico total (CFT)

El contenido fenólico total (CFT) se cuantificó usando la prueba de Folin-Ciocalteu (Li *et al.*, 2006). Se mezclaron 250 µl de extracto con 15 ml de agua desionizada y 1,25 ml de reactivo de fenol Folin-Ciocalteu. Después de 5 minutos, se añaden 3,75 ml de Na₂CO₃ (7,5%) y se aforaron a 25 ml con agua desionizada. La absorbancia se midió a 765 nm en un espectrofotómetro UV-Vis (Termo Scientific10S, Termo Fisher ScientificInc, EE.UU.). Los resultados se reportaron como miligramos de ácido gálico (mg GAE 100 g⁻¹ de ajo fresco)

Capacidad antioxidante (CA) método ABTS+

El mismo extracto obtenido para la cuantificación de CFT se utilizó para la determinación de la capacidad antioxidante (CA). La CA se determinó mediante una modificación de la técnica espectrofotométrica desarrollada por Re et al. (1999), utilizando el radical ABTS+ (Sigma) generado por 2,45 mM de persulfato de potasio ($K_2S_2O_8$). La mezcla se dejó reposar en la oscuridad a temperatura ambiente ($\sim 20^\circ C$) durante 16 h antes de su uso, y luego la solución de ABTS+ se diluyó para dar una absorbancia de $0,7 \pm 0,1$ a 734 nm. A continuación, se mezclaron 100 μ l de extracto de ajo con 900 μ l de la disolución diluida de ABTS+ y se midió la absorbancia a 734 nm. Los resultados se expresaron como μ mol de Trolox (TEAC) 100 g^{-1} en muestra fresca.

Capacidad antioxidante (CA) método DPPH

El método descrito por Brand- Williams *et al.* (1995) se utilizó para analizar la CA de muestras, con una ligera modificación: se añadieron 100 μ l de extracto de ajo a 1 mL de 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) mM (3 mg 100 mL^{-1} en solución metanólica). La capacidad antioxidante se evaluó midiendo la absorbancia a 515 nm, después de una reacción de 2,5 minutos a $20^\circ C$, en un espectrofotómetro. Los resultados se expresaron como μ mol de Trolox 100 g^{-1} de muestra fresca.

Diseño experimental y análisis estadístico

El diseño experimental fue completamente al azar con tres repeticiones. Todos los análisis se realizaron por triplicado y los resultados se expresaron como valores medios \pm desviación estándar. Para determinar si hubo diferencias estadísticamente significativas entre los datos de las variables en las variedades de uva, se realizó un ANOVA unidireccional. Si el ANOVA fue significativo, se aplicó una prueba de Tukey ($p \leq 0.05$). Los valores de actividad antioxidante y contenido de fenol total se analizaron mediante correlación de Pearson y regresión lineal. Todos los análisis estadísticos se realizaron usando Statgraphics® Centurion XV (Statpoint Technologies Inc., Warrenton, VA, EE.UU.).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Para tener un mejor análisis de los resultados, se realizó un análisis de la varianza ($P = 0,05$) para un mismo tratamiento entre sus muestras, por lo que a continuación se presentan los gráficos de los valores medios de tres muestras analizadas para cada tratamiento por triplicado.

En el % humedad (% de Xw) se encontró el mayor contenido en la muestra Testigo (78,50 %), seguido del biofertilizante Red Star (72,98 %), Biol (72,93 %) y Algas marinas (71,11 % Xw) (Figura 1).

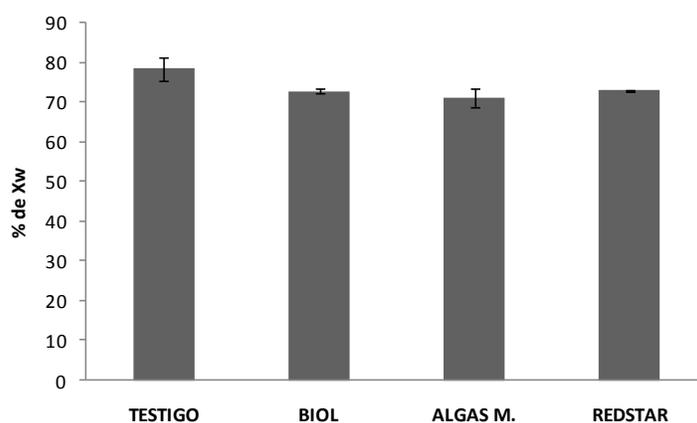


Figura 1. Porcentaje de humedad (% Xw) en las muestras de ajo tratadas con los diferentes biofertilizantes así como el testigo.

Por otra parte, para el análisis de la actividad antioxidante, primero se elaboró una recta de calibrado con un patrón análogo de la vitamina E, (compuesto Trolox (6-hidroxy-2,5,7,8-tetrametichromane-2 carboxylic acid) para el método ABTS+. A partir de la ecuación de la pendiente se calcularon los μmol de Trolox en 100g de ajo.

Los resultados, obtenidos con el método ABTS+ de la capacidad antioxidante mostraron valores del orden de 76,5 a 96,44 μmol de TEAC/100g en el ajo que fue tratado con RedStar, para el biofertilizante Biol se obtuvieron valores de 6,7 a 21,5 μmol de TEAC/100 g. En las muestra tratadas con el biofertilizante Algas Marinas se encontró un rango de 2,6 a 10,7 μmol de TEAC/100 g, mientras que el Testigo presentó de 23,4 a 28.6 μmol de TEAC/100g. Se encontraron diferencias estadísticamente significativas según el ANOVA entre sus muestras en el biofertilizante Biol, también cuando se utilizó Algas Marinas así como con el RedStar (Figura 2).

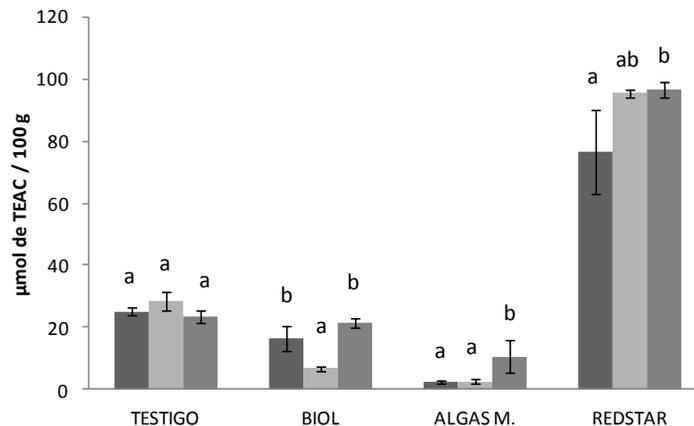


Figura 2. Actividad antioxidante (ABTS+) de las diferentes muestras de ajo. Letras diferentes entre las barras de un mismo tratamiento indican diferencias estadísticamente significativas según el ANOVA (Tukey test, $P \leq 0,05$).

Al igual que con el método ABTS+, para poder cuantificar la actividad antioxidante con el método DPPH, se elaboró la curva de calibrado, cuyos resultados en el biofertilizante RedStar fueron del rango de 104,4 μmol de TEAC/100g como valor mínimo y 118.9 μmol de TEAC/100g como valor máximo.

Con respecto a las muestras fertilizadas con el Biol se encontraron valores del orden de 102.4 a 120,5 μmol de TEAC/100g, mientras que para las muestras tratadas con el biofertilizante Algas Marinas 105,1 a 114,5 μmol de TEAC/100g. Por su parte, las muestras que no recibieron ningún tratamiento, denominadas grupo testigo se registró un valor de 117,3 a 123,2 μmol de TEAC/100g. Se encontraron diferencias estadísticamente significativas según el ANOVA entre sus muestras cuando se aplicó el biofertilizante, Biol, el de RedStar así como con el Testigo.

Para el análisis de los compuestos fenólicos también se elaboró una curva de calibrado, en este caso con un patrón del fitoquímico ácido gálico. A partir de la ecuación de la pendiente se calcula su concentración expresándose los resultados, mg de GAE/100g de muestra. Se obtuvo un contenido fenólico total con las muestras tratadas con el biofertilizante RedStar de 89,6 a 128,4 mg de GAE/100 g de muestra.

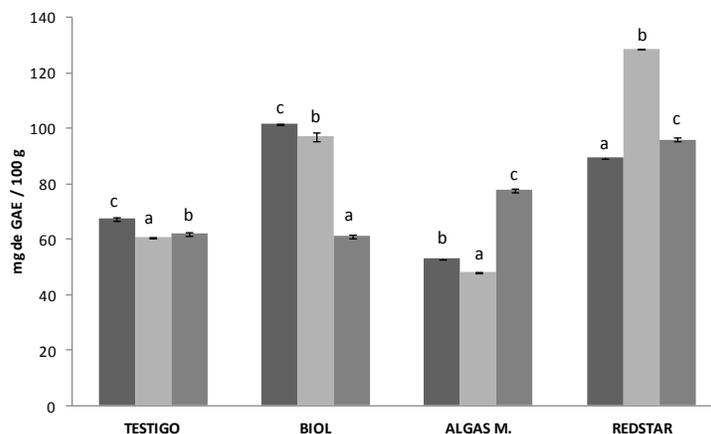


Figura 3. Valores medios y desviación estándar de los fenoles totales. Letras diferentes entre las barras de un mismo tratamiento indican diferencias estadísticamente significativas según el ANOVA (Tukey test, $P \leq 0,05$).

Tabla I. Valores medios (n=9) y desviación estándar de los valores de actividad antioxidante y compuestos fenólicos para cada uno de los tratamientos.

| Biofertilizante | ABTS ($\mu\text{mol de Trolox } 100\text{g}^{-1}$) | DPPH ($\mu\text{mol de Trolox } 100\text{g}^{-1}$) | FT (mg de GAE 100 g^{-1}) |
|-----------------|---|---|---|
| Testigo | 25.73 c | 119.531 a | 63.35 a |
| Biol | 14.95 b | 112.94 a | 86.51 b |
| Redstar | 93.15 d | 114.339 a | 104.68 b |
| Algas Marinas | 5.16 a | 114.031 a | 59.64 a |
| Valor de P | 0,0000 | 0.0606 | 0.0000 |

Letras diferentes en la misma columna indican diferencias estadísticamente significativas según el ANOVA (Tukey test, $P \leq 0,05$).

Con respecto a las muestras tratadas con el biofertilizante Biol se encontró rango de valores de 61,1 a 101.4 mg de GAE/100 g. En cuanto al tratamiento con algas marinas se registraron valores de 53,1 a 77,7 mg de GAE/100 g. En las muestras que no recibieron ningún tratamiento, se obtuvieron valores del orden de 60,7 a 67,3 mg de GAE/100 g de muestra (Figura 3).

La tabla I muestra el valor medio de las muestras de cada tratamiento (n=9) y las diferencias estadísticas significativas entre cada tratamiento, es decir son los valores medios de cada tratamiento independientemente del bloque. En ella se puede observar, que los valores más bajos de capacidad antioxidante se cuantificaron con el método ABTS+.

CONCLUSIÓN

La utilización del biofertilizante RedStar registró una mayor capacidad antioxidante cuando ésta se cuantificó con el método ABTS+*. No obstante, no todos los biofertilizantes mejoraron la capacidad antioxidante y el contenido fenólico total. El uso de biofertilizantes son una opción amigable para los cultivos agrícolas ya que es una buena alternativa para disminuir el manejo y aplicación de fertilizantes químicos que dañen el medio ambiente, la salud y el suelo de plantación para futuras cosechas.

BIBLIOGRAFÍA

Torres-Palazzolo C., Ramírez D., Locatelli D., Manucha W., Castro C., Camargo A. (2018). Bioaccessibility and permeability of bioactive compounds in raw and cooked garlic. *Journal of Food Composition and Analysis* 70, 49–53.

Amagase, H., 2006. Claryfying the real bioactive constituents of garlic. *The Journal of Nutrition*. 136, 736–740.

- Block, E., 2010. *Garlic and Other Alliums: the Lore and the Science*, 1st ed. RSC Publishing, New York, USA.
- Corzo-Martínez M., Corzo N., Villamiel M. (2007). Biological properties of onions and garlic. *Trends in Food Science and Technology*. 18, 609–625.
- Iciek M., Kwiecień I., Włodek L. (2009). Biological properties of garlic and garlic-derived organosulfur compounds. *Environ. Mol. Mutagen*. 50, 247–265.
- Lee, D.H., Ra, C.S., Song, Y.H., Sung, K.I., Kim, J.D. (2012). Effects of dietary garlic extract on growth, feed utilization and whole body composition of juvenile sterlet sturgeon (*Acipenser ruthenus*). *Asian Australas. J. Anim. Sci.* 25, 577–583.
- Etyemez Büyükdvecia M., Balcázar J. L., Demirkale I., Dike S. (2018). Effects of garlic-supplemented diet on growth performance and intestinal microbiota of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture* 486, 170–174
- FAO, 2014. Food and Agriculture Organization. Value of Agricultural production (FAO). URL: <http://knoema.com/FAOVAP2014Feb/fao-value-of-agricultural-production-february-2014?location=1000510-cuba&item=1000830-garlic>. Acceso: 24.02.2018
- Schwingshackl L., Missbach B., Hoffmann G. (2016). An umbrella review of garlic intake and risk of cardiovascular disease. *Phytomedicine* 23, 1127–1133