

Efecto del tiempo y temperatura en la extracción acuosa de los compuestos fenólicos totales presentes en la raíz del género *Smilax*

N. Rodríguez-Trejo, J. E. Botello-Álvarez, H. Jiménez-Islas, R. Miranda-López*

Departamento de Ingeniería Bioquímica, Tecnológico Nacional de México en Celaya.
*rita.miranda@itcelaya.edu.mx

RESUMEN

La raíz del género *Smilax* es utilizada para la elaboración de bebidas debido a sus propiedades bioactivas. Los compuestos de mayor interés en esta raíz son de tipo fenólico. Por lo que el objetivo del presente trabajo fue determinar las condiciones de extracción en medio acuoso para obtener una alta concentración de compuestos fenólicos. Se evaluó el contenido de fenoles totales en tres especies de *Smilax* (*S. moranensis*, *S. aspera* y *Smilax sp*) a un tamaño de muestra de 0.4 mm y 2 cm, así como en la parte leñosa y corteza de la raíz. Se realizó un diseño de experimentos donde los factores evaluados fueron temperatura y tiempo a tres niveles (20, 40 y 80 min y 50, 70 y 94 °C), la variable de respuesta fue el contenido de fenoles totales. Los resultados indicaron que el tamaño de muestra influye en la transferencia de compuestos fenólicos al medio acuoso y que la mayor concentración de compuestos fenólicos se encuentra en la corteza de la raíz. Ambos factores evaluados influyen en la variable de respuesta, los compuestos fenólicos son térmicamente inestables; a una temperatura pueden degradarse algunos compuestos y al mismo tiempo formarse nuevas moléculas de este tipo.

Palabras clave: condiciones de extracción, fenoles totales, *Smilax*

ABSTRACT

The root of the genus *Smilax* is used to make beverages due to its bioactive properties. The compounds of greatest interest in this root are of the phenolic type. The objective of this project was to determine the extraction conditions in an aqueous medium to obtain a high concentration of phenolic compounds. The total phenolic compounds were evaluated in three *Smilax* species (*S. moranensis*, *S. aspera* and *Smilax sp*), in sample sizes of 0.4mm and 2cm, as well as in the woody part and the bark of the root. An experiments design was carried out where the evaluated factors were temperature and time at three levels (20, 40 and 80 min and 50, 70 and 94 °C), the response variable was the total phenolic content. The results indicated that the sample size of 0.4mm had better the transfer of phenolic compounds to the aqueous medium and that the highest concentration of phenolic compounds was found in the root bark. Both evaluated factors influence the response variable, phenolic compounds are thermally unstable; at a certain temperature some compounds can degrade and at the same time form new molecules of this type.

Keywords: extraction conditions, total phenols, *Smilax*

Área: Nutrición y nutraceuticos

INTRODUCCIÓN

En México y el mundo, es muy común el consumo de infusiones de plantas medicinales, tal es el caso de las plantas del género *Smilax*, conocidas comúnmente como “zarzaparrilla” (Aguilar y col.,1994), cuya raíz ha sido y sigue siendo utilizada para la elaboración de infusiones y bebidas gasificadas debido a sus propiedades bioactivas y a sus características sensoriales. Algunos de los compuestos fitoquímicos de tipo fenólico de mayor interés en la raíz del género *Smilax* son el ácido clorogénico y astilbina, los cuales tienen efecto hipoglucemiante (Pérez y col., 2018). Por lo anterior, el objetivo de este trabajo fue determinar las condiciones de extracción en medio acuoso para obtener una alta concentración de compuestos fenólicos, y pueda ser el precedente de una bebida con propiedades bioactivas. Para esto, se evaluó el contenido de fenoles totales en tres especies diferentes de *Smilax* (*S. moranensis*, *S. aspera* y *Smilax sp*), en dos diferentes tamaños de muestra y el contenido en la parte leñosa y corteza de la raíz. Se seleccionó la especie que presentó mayor concentración de fenoles totales y posteriormente se realizó un diseño factorial de experimentos 3^2 donde las variables independientes fueron temperatura y tiempo de extracción; cada factor se empleó a 3 niveles, los cuales fueron 20, 40 y 80 min para el factor tiempo y 50, 70 y 94 °C para el factor temperatura, siendo en todas las interacciones la variable de respuesta el contenido de compuestos fenólicos expresado en miligramos de ácido gálico. Se realizó un análisis de varianza con un valor de significancia de $p < 0.05$ para determinar si las variables independientes influyen en la variable de respuesta, así como la influencia de la interacción que existe entre dichas variables. Con este análisis, se logró encontrar que ambos factores, (tiempo y temperatura) influyen en el contenido de fenoles totales, sin embargo, no necesariamente la interacción de ambos puede influir en esta variable de respuesta. También se pudo afirmar que la mayor parte de fenoles totales se encuentra en la corteza de la raíz y a un tamaño de partícula menor. Dichos resultados indican que los compuestos fenólicos no son termoestables ya que, a temperatura de ebullición y en un tiempo prolongado pueden degradarse algunos compuestos y al mismo tiempo se forman otras moléculas del mismo tipo. El estudio de las infusiones de zarzaparrilla, su composición y transformación química, sigue siendo un objetivo importante de investigación para la producción de bebidas que puedan contribuir a la salud humana.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se obtuvieron tres diferentes especies de raíces de *Smilax*; *S. moranensis* de la comunidad de Teocelo Veracruz, *S. aspera* del Estado de México y *Smilax sp* de la ciudad de Querétaro. Las muestras fueron proporcionadas por botánicos expertos en el muestreo y obtención de las raíces, para fines del presente estudio.

Las muestras fueron lavadas y secadas al sol por los productores. Las raíces secas se trituraron en un molino marca Nixtamatic modelo NG-002 y se tamizaron hasta obtener un tamaño de partícula de 0.4 mm. Parte de la muestra de *S. aspera* fue troceada a un tamaño de 2 cm para realizar la comparación de la influencia del tamaño de partícula en la extracción de los compuestos de interés. Así mismo, para esta misma especie, se desprendió la corteza de la parte leñosa de la raíz para determinar en qué parte de esta existe mayor concentración de compuestos.

Muestras de 5 g se disolvieron en 100 ml de agua. La extracción acuosa se efectuó a las temperaturas de 50, 70 y 94 °C durante tiempos de 20, 40 y 80 min con una agitación de 100 rpm. Posteriormente se filtró la solución y se centrifugó a 2000 rpm en una centrifugadora marca Hermle modelo Z200A durante 10 min. Al sobrenadante obtenido se le determinó el contenido de fenoles totales por la técnica de Folin Ciocalteau utilizando ácido gálico como patrón de referencia. La absorbancia se midió a una longitud de onda de 765 nm en un espectrofotómetro UV-visible marca Thermo Electron Corporation modelo GENESIS 10-UV. Finalmente, los resultados se expresaron en mg de ácido gálico/L de solución. Las

mediciones se efectuaron por triplicado y los resultados obtenidos se analizaron estadísticamente en el programa estadístico IBM SPSS Statistics 26.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La figura 1 muestra la comparación entre las muestras de diferente tamaño de partícula. La muestra pulverizada (0.4 mm) mostró tener una mejor difusión de los compuestos de interés hacia el medio acuoso sin haber apelmazamiento, esto, debido al incremento del área de contacto con el líquido, con lo cual se puede inferir que existen problemas de difusión de compuestos de la parte leñosa hacia el exterior del material en la muestra troceada.

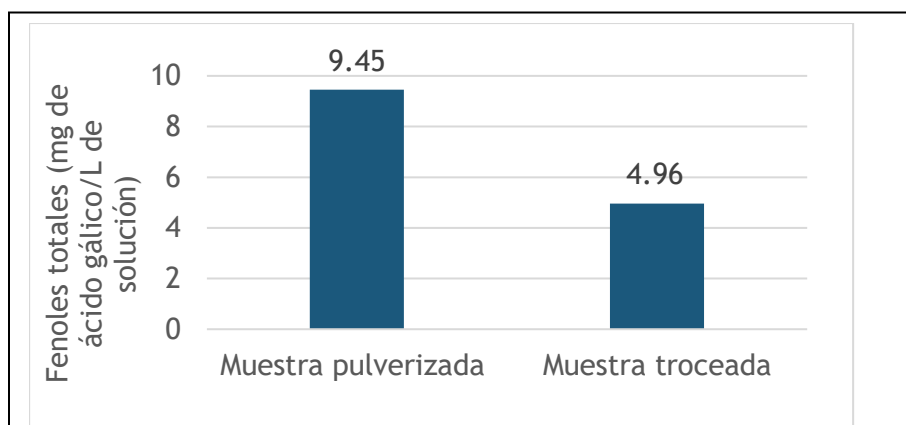


Figura 1. Contenido de fenoles totales en muestra pulverizada (0.4 mm) y muestra troceada (2 cm). Los resultados están expresados en mg de ácido gálico/L de solución.

La parte leñosa de la raíz, mostró tener menor concentración de fenoles totales que la parte leñosa, como se muestra en la figura 2, debido a que, según lo expresó Osbourne y Lanzotti (2009), algunos compuestos fenólicos se encuentran principalmente en las capas externas de granos, frutos, tallos y raíces ya que incrementan la tolerancia de las plantas al ataque a algunos patógenos y herbívoros, así como a condiciones medioambientales desfavorables tales como la luz ultravioleta y otros factores.

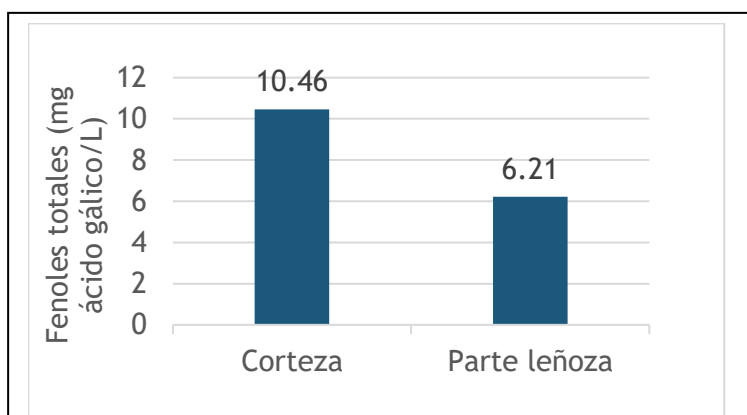
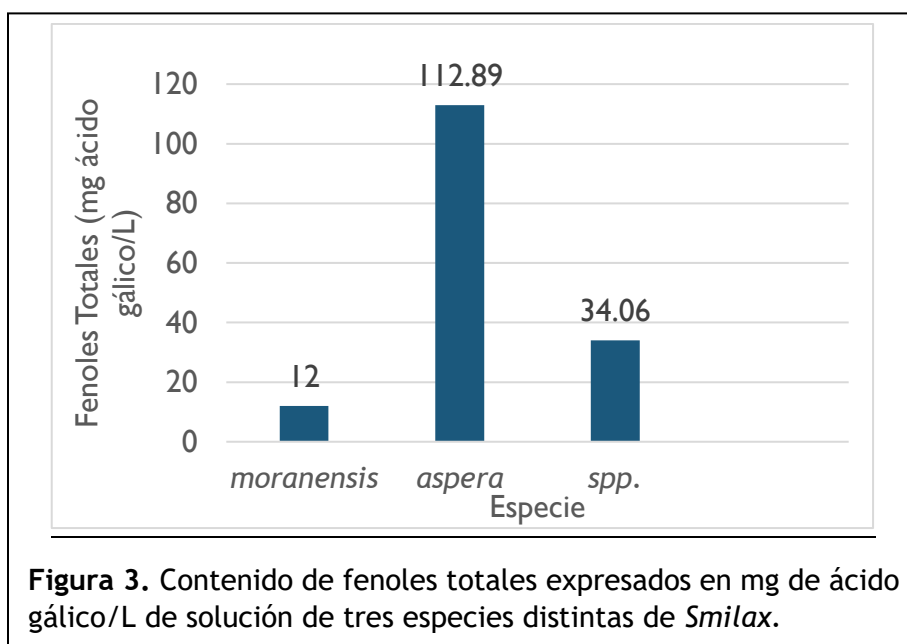


Figura 2. Concentración de fenoles totales en la corteza y la parte leñosa de la raíz.

En cuanto al contenido de fenoles totales presentes en las tres diferentes especies de *Smilax*, se pudo encontrar que la especie *S. aspera* presenta mayor concentración, seguida de la *Smilax sp* y finalmente *S. moranensis* muy por debajo de las anteriores, la figura 3 muestra esta comparación.



La tabla I, muestra los resultados de los nueve tratamientos planteados en el diseño factorial de experimentos, se observa que el tratamiento de mayor extracción de los compuestos de interés es el tratamiento de 94°C (temperatura de ebullición en la ciudad de Celaya Gto.) en un tiempo de 80 min.

Tabla I. Resultados de todas las combinaciones de tratamientos del diseño factorial

Temperatura (°C)	Tiempo (min)		
	20	40	80
50	73.21	84.96	100.33
70	131.95	138.24	182.16
94	178.25	157.21	201.07

Los resultados del análisis de varianza se muestran en la tabla II, los datos obtenidos arrojan un valor de significancia menor a 0.05 para el tiempo y temperatura, lo cual afirma que ambos factores influyen en la variable de respuesta, por el contrario, la interacción de ambos no influye en la concentración de fenoles totales. Como se puede apreciar en la figura 4, los resultados anteriores también indican que, al tiempo de 40 min, en la temperatura de ebullición, la concentración de fenoles totales fue menor que en el tratamiento a la misma temperatura, pero de 20 min. Esto es debido a que según Smith y Hossain (2006), a temperaturas elevadas y tiempos largos se pueden destruir algunos de los compuestos fenólicos e incrementar otros, dependiendo de la complejidad de cada compuesto. También, Pocorny y Yanishlieva (2005) afirmaron que los compuestos fenólicos tienen comportamientos variables en presencia de calor, siendo sensibles aquellos de bajo peso molecular.

Tabla II. Análisis de varianza de los resultados del diseño factorial

Variable dependiente: FenolesTotales

Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	49140.560 ^a	8	6142.570	22.893	.000
Intersección	518649.834	1	518649.834	1932.939	.000
Temperatura	40655.778	2	20327.889	75.759	.000
Tiempo	6891.554	2	3445.777	12.842	.000
Temperatura * Tiempo	1593.228	4	398.307	1.484	.248
Error	4829.795	18	268.322		
Total	572620.190	27			
Total corregido	53970.355	26			

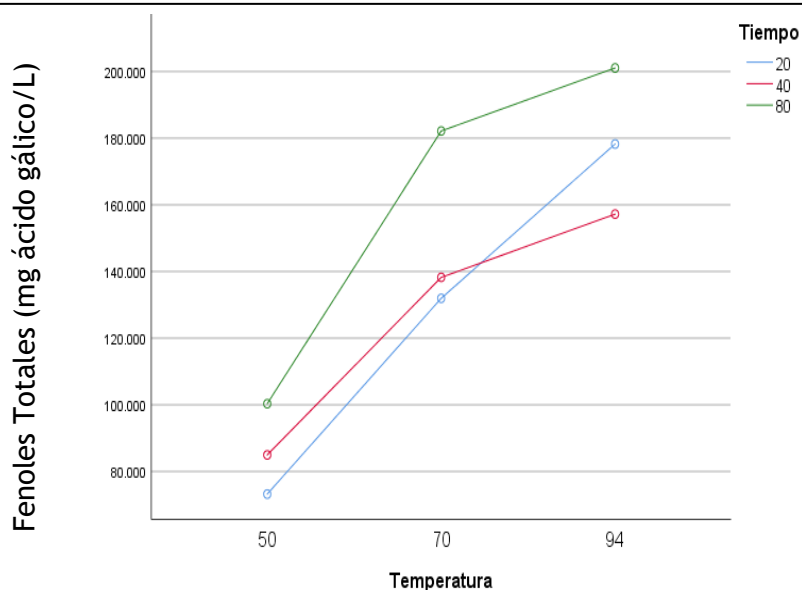


Figura 4. Influencia e interacción de temperatura y tiempo en la concentración de fenoles totales.

Las transformaciones de los compuestos fenólicos en la raíz del género *Smilax*, se ven influenciadas por las condiciones de procesamiento de dicho material, tales como, el tamaño de partícula, la temperatura y el tiempo de extracción. Los resultados obtenidos en el presente trabajo de investigación pueden contribuir a predecir las condiciones de extracción en las cuales se obtenga un mayor rendimiento de fenoles totales, o bien, manipular esta concentración de acuerdo con el objetivo deseado.

BIBLIOGRAFÍA

- Aguilar, A., Camacho, S., Chino, P., Jácquez, M. 1994. Herbario Medicinal del Instituto Mexicano del Seguro Social. Instituto Mexicano del Seguro Social, 3-6.
- Lim, B., Smith, B., & Hossain, M. 2006. Extraction of phenolics from citrus peels and solvents extraction method separation and purification. *Foods Technology* (48), 182-188.
- Lim, T. 2012. Medicinal and non- medicinal plants. Springer Science Business Media, 437.
- Lima, P., López, C., Rossetto, M., Vianello, F. 2009. Nutritional composition phenolic compounds, nitrate content in eatable vegetables obtained by conventional and certified organic grow culture subject to thermal treatment. *Journal Food Science*, 1118-1124.
- Osbourn A. E. y Lanzotti V. 2009. Plant-derived natural products: synthesis, function, and application. Editorial Springer. 598.
- Pérez, V., Gutiérrez, J., Antunes, M., Hidalgo-Figueroa, S., Del Toro, Salazar, L., Lugo, E. 2018. Smilax aristolochiifolia Root Extract and Its Compounds Chlorogenic Acid and Astilbin Inhibit the Activity of alpha-Amylase and alpha-Glucosidase Enzymes. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine* Pokorny, J., Yanishlieva, N., & Gordon, M. 2005. Antioxidantes de los alimentos. Zaragoza, Ed. Acibria SA, 364.