

PERFIL FITOQUÍMICO DE COMPUESTOS BIOACTIVOS Y DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE PLANTAS MEDICINALES

Solis Ramírez David (1), García-Vieyra María Isabel (2)

1 [Lic. En Ingeniería Agroindustrial, Universidad de Guanajuato] | [david_solis1919@hotmail.com]

2 [Departamento de Ingeniería Agroindustrial, División de Ciencias de la Salud e Ingenierías, Campus Celaya-Salvatierra, Universidad de Guanajuato] | [Isabel.garcia@ugto.mx]

Resumen

El garambullo (*Myrtillocactus geometrizans*) es un cactus que crece en zonas áridas y semiáridas de México algunas evidencias sugieren que el garambullo posee propiedades nutraceuticas y funcionales que podrían contribuir a la prevención de enfermedades humanas. El objetivo fue obtener el perfil fitoquímico y evaluar la actividad antioxidante del fruto y flor de Garambullo como posible fuente de antioxidantes. Se realizó un perfil fitoquímico mediante pruebas colorimétricas. La actividad antioxidante se determinó por el método del DPPH. El contenido de fenoles totales se determinó por el método de Folin-Ciocalteu. Los resultados del perfil fitoquímico fueron positivos para saponinas, flavonoides, glucósidos cardiacos, terpenoides, cumarinas, fenoles y taninos en todos los extractos excepto saponinas para el extracto GM. La actividad antioxidante estuvo en un rango de 51.02-62.82% obteniendo el valor más alto el extracto de (GA). El extracto de (FM) es el que presenta mayor cantidad de Fenoles Totales con (189.33 mg EAG/100g de muestra), y mayor contenido de Taninos Condensados (5.076 mg EC/g de muestra). Se logró obtener el perfil fitoquímico y evaluar la actividad antioxidante del fruto de Garambullo y de su flor, observando metabolitos secundarios tales como flavonoides, G. Cardiacos, Cumarinas, Fenoles y Taninos, presentes en todos los extractos

Abstract

Garambullo (*Myrtillocactus geometrizans*) is a cactus berries that grows in the arid and semi-arid regions of Mexico. Some evidence suggests that garambullo has nutritional and functional properties that contribute to the prevention of human diseases. The objective was to obtain the phytochemical screening and evaluate the antioxidant activity of fruit and flower of garambullo as a possible source of antioxidants. A phytochemical screening was performed using colorimetric tests. The antioxidant activity was determined by the DPPH method. The total phenols content was determined by the Folin-Ciocalteu method. Phytochemical screening was positive for saponins, flavonoids, cardiac glycosides, terpenoids, coumarins, phenols and tannins in all extracts except saponins for the GM extract. The antioxidant activity was in a range of 51.02-62.82% obtaining the highest value of the extract of (GA). The extract of (FM) has the highest amount of total phenols with (189.33 mg EAG / 100 g of sample), and higher content of condensed tannins (5,076 mg EC / g of sample). It was possible to obtain the phytochemical profile and evaluate the antioxidant activity of the Garambullo fruit and flower, observing the secondary metabolites how flavonoids, cardiac glycosides, coumarins, phenols and tannins, present in all the extracts..

Palabras Clave

1; Antioxidantes 2; Radicales libres 3;DPPH 4;Garambullo

INTRODUCCIÓN

Las frutas, reconocidas como fuentes de vitaminas, minerales y fibras, son alimentos nutricionalmente importantes de la dieta. El efecto protector ejercido por estos alimentos ha sido atribuido a la presencia de fitoquímicos con acción antioxidante, entre los cuales se destacan los polifenoles. Los polifenoles, son productos secundarios del metabolismo de los vegetales, constituyen un amplio y complejo grupo de fitoquímicos, con más de 8000 estructuras conocidas, entre las cuales se destacan las de los ácidos fenólicos y la de los flavonoides, entre otras. [1]

El sistema de defensa antioxidante está constituido por un grupo de sustancias que al estar presente en concentraciones bajas con respecto al sustrato oxidable, retrasan o previenen significativamente la oxidación de este. Los antioxidantes impiden que otras moléculas o radicales libres se unan al oxígeno mediante el sacrificio de su propia integridad molecular para evitar alteraciones de moléculas de lípidos, proteínas, ADN, etc [2]. Los antioxidantes exógenos provienen de la dieta, y dentro de este grupo se incluyen la vitamina E, la vitamina C y los carotenoides. Recientemente se han descubierto en algunos alimentos otros antioxidantes no nutrientes, los compuestos fenólicos [3].

Los radicales libres son átomos o grupos de átomos que tienen un electrón desapareado o libre por lo que son muy reactivos ya que tienden a captar un electrón de moléculas estables con el fin de alcanzar su estabilidad electroquímica. Una vez que el radical libre ha conseguido sustraer el electrón que necesita, la molécula estable que se lo cede se convierte a su vez en un radical libre por quedar con un electrón desapareado, iniciándose así una verdadera reacción en cadena que destruye nuestras células [3].

México ostenta el privilegio de poseer en su territorio un universo vegetal de excepcional diversificación, variedad y significación [4]. El garambullo (*Myrtillocactus geometrizans*) es un cactus que crece en zonas áridas y semiáridas; lleva una fruta globular de color púrpura que

contiene pigmentos pertenecientes a la familia betalainas [5].

Existen evidencias de que el garambullo posee propiedades nutraceuticas, sin embargo, es poco comercializado y prácticamente no hay estudios que indiquen el tratamiento postcosecha que se debe aplicar para prolongar su vida de anaquel, ya que es sumamente perecedero; tampoco hay estudios sobre el comportamiento climatérico del fruto para poder comercializar esta cactácea [6].

Los atributos nutricionales y funcionales de la fruta de *Myrtillocactus* podrían contribuir a la prevención de las enfermedades humanas, especialmente en las poblaciones rurales, por tener propiedades nutricionales y funcionales [7].

El objetivo de este estudio fue obtener el perfil fitoquímico y evaluar la actividad antioxidante del fruto de Garambullo y de su flor como posible fuente de antioxidantes.

MATERIALES Y MÉTODOS

- *Material Vegetal*

Los frutos de Garambullo y la Flores de Garambullo fueron recolectados de la Colonia "Tres Marías" perteneciente a Acámbaro, Guanajuato, México.

- *Preparación de los extractos*

Se secaron las muestras de Garambullo (flor y fruto) a 60°C durante 24 h en un horno, posteriormente se realizó una molienda en un mortero.

Se realizaron cuatro extractos, dos acuosos (flor y fruto) y dos metanólicos (flor y fruto). Brevemente se colocó 1 g de muestra en 20 ml de agua y/o metanol y se dejaron en agitación por 24 h a 200 rpm, pasadas las 24 h se centrifugaron a 13000 rpm durante 10 minutos a 20°C y se recuperó el sobrenadante, mientras que los precipitados se resuspendieron con 20 ml de sus respectivos disolventes y se pusieron en agitación otras 24 h a 200 rpm, nuevamente se centrifugó a 13000 rpm durante 10 minutos a 20°C, posteriormente se juntaron los dos sobrenadantes de cada extracto (24 h y 48 h). Los extractos acuosos se

concentraron en el rotavapor a 73°C y los metanólicos a 45°C.

Screening fitoquímico

Las pruebas realizadas siguieron la metodología propuesta por [9].

Saponinas

Se colocan 200µl de extracto en un tubo eppendorf de volumen de 1.5 ml, se agregaron 200µl de agua destilada, se agitó manualmente durante 3 minutos. La formación de una capa de espuma indica la presencia de saponinas.

Flavonoides

Se colocan 200µl de extracto en un tubo eppendorf de volumen de 1.5 ml, se agregaron 100µl de NaOH 2N. La formación de color amarillo indica la presencia de flavonoides.

Quinonas

Se colocan 100µl de extracto en un tubo eppendorf de volumen de 1.5 ml, se agregaron 100µl de H₂SO₄. La formación de color rojo indica la presencia de Quinonas.

Glucósidos

Se colocan 200µl de extracto en un tubo eppendorf de volumen de 1.5 ml, se agregaron 300µl de cloroformo y posteriormente gotas de NH₄Cl al 10%. La formación de color rosado indica la presencia de glucósidos.

Glucósidos Cardiacos

Se colocan 50µl de extracto en un tubo eppendorf de volumen de 1.5 ml, se agregaron 200µl de una solución de ácido acético glacial con gotas de FeCl₃ al 5%, posteriormente se agregaron 60µl de H₂SO₄. La formación de un anillo de color marrón en la interface indica la presencia de Glucósidos Cardiacos.

Terpenoides

Se colocan 50µl de extracto en un tubo eppendorf de volumen de 1.5 ml, se agregaron 200µl de cloroformo y posteriormente se adicionaron cuidadosamente gotas de H₂SO₄. La formación de un color café en la interface indica la presencia de Terpenoides.

Cumarinas

Se colocan 100µl de extracto en un tubo eppendorf de volumen de 1.5 ml, se agregaron 100µl de NaOH al 10%. La formación de una coloración amarilla indica la presencia de Cumarinas.

Fenoles

Se colocan 100µl de extracto en un tubo eppendorf de volumen de 1.5 ml, se agregaron 200µl de agua destilada seguido de gotas de FeCl₃ al 10%. La formación de color azul o verde indica la presencia de Fenoles.

Taninos

Se colocan 100µl de extracto en un tubo eppendorf de volumen de 1.5 ml, se agregaron 200µl de FeCl₃ al 5%. La formación de color verde oscuro o azul oscuro indica la presencia de Taninos.

Actividad Antioxidante

Se colocaron 150 µl de cada extracto en tubos eppendorf de volumen de 1.5 ml [10], se diluyó 1:9 y se puso por triplicado posteriormente se agregaron 150 µl de DPPH a 150 µM. Se mezcló y se midió la absorbancia a una longitud de onda de 517nm a 0, 30, 60, y 120 min. Para expresar la actividad antioxidante se usó la fórmula 1).

%Inhibición del radical DPPH =

$$= \frac{\text{Absorbancia Muestra (0min)} - \text{Absorbancia Muestra (30min)}}{\text{Absorbancia Muestra (0min)}} * 100$$

Determinación de Fenoles Totales

Se pesaron 0.1 g de cada extracto en 1 ml de agua destilada, se centrifugó a 13,000 rpm durante 3 minutos y se diluyó 1:9. A 30 µl de cada extracto se agregaron 150 µl del reactivo Folin-Ciocalteu se mezcló y después 5 minutos a temperatura ambiente, se agregaron 120 µl de carbonato de sodio (Na₂CO₃) al 0.075%. Se incubaron las muestras durante 2 horas a temperatura ambiente. La absorbancia se midió a 750 nm. Se prepararon 11 concentraciones de ácido gálico de 0-200 mg/L. Los resultados fueron expresados en equivalentes de ácido gálico (EAG)/100 g de muestra [11].

Determinación de Taninos Condensados

Se colocaron 10 µl del extracto diluido 1:9 que se usó para la determinación de fenoles totales, se agregaron 197 µl de una solución etanol-vainilla al 4%. Se añadieron 99 µl de ácido sulfúrico al 25% (H₂SO₄) y se incubaron durante 15 minutos a temperatura ambiente. Se midió la absorbancia a

490 nm. Se realizaron 11 concentraciones de catequina de 75-750 µg/ml. Los resultados fueron expresados en mg de equivalente de catequina (EC)/g de muestra [12].

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Screening Fitoquímico

Las pruebas colorimétricas nos dan resultados de manera cualitativa, donde indican la presencia (+,++) o ausencia (-) de los metabolitos secundarios: saponinas, flavonoides, quinonas, glucósidos, glucósidos cardiacos, terpenoides y cumarinas, reportados en la Tabla 1.

Tabla 1. Screening fitoquímico de los extractos de *Myrtillocactus geometrizans*. FM (flor de garambullo metanólico), GM (fruto de garambullo metanólico), FA (flor de garambullo acuoso) y GA (fruto de garambullo acuoso).

Metabolito	Extractos			
	FM	GM	FA	GA
Saponinas	++	-	++	++
Flavonoides	+	++	+	++
Quinonas	-	-	-	-
Glucósidos	-	-	-	-
G. Cardiacos	++	++	++	++
Terpenoides	++	++	++	-
Cumarinas	++	++	+	++
Fenoles	++	++	++	+
Taninos	++	++	++	++

Se identificó la presencia de metabolitos secundarios en los cuatro diferentes extractos, en alguna mayor presencia que otros y ausencia como quinonas y glucósidos en los cuatro extractos, saponinas ausente en garambullo metanólico (GM) y terpenoides ausente en garambullo en agua (GA). En general se observó la presencia de flavonoides, G. Cardiacos, Cumarinas, Fenoles y Taninos, presentes en todos los extractos, existiendo mas metabolitos secundarios en los extractos Metanólico y acuoso de la flor de Garambullo (Tabla 1).

Actividad Antioxidante

Diversos métodos para la determinación de actividad antioxidante han sido empleados para determinar en diferentes muestras, sin embargo, no existe un método universal, los métodos mayormente empleados son los ensayos espectrofométricos como DPPH, FRAP y ABTS [13].

La actividad antioxidante se encontró en un rango de 51.02-62.82% obteniendo el valor más alto con el extracto de (GA), que contradictoriamente es el extracto que tiene menor contenido de Fenoles Totales (20.991 mg EAG/100g de muestra) y menor contenido de Taninos Condensados (0.0677 mg EC/g de muestra). Nuestros resultados nos indican que nuestro extracto de (FM) es el que presenta mayor cantidad de Fenoles Totales el cual contiene (189.33 mg EAG/100g de muestra), así como mayor contenido de Taninos Condensados (5.076 mg EC/g de muestra) y es el que menos actividad antioxidante presenta. Nosotros no encontramos una amplia correlación entre la actividad antioxidante con el contenido de Fenoles Totales y Taninos Condensados, según [14] la actividad antioxidante y el contenido de estos compuestos no está del todo correlacionado (Tabla 2).

Tabla 2. Determinación de Actividad Antioxidante, Contenido de Fenoles Totales y Taninos Condensados. FM (flor de garambullo metanólico), GM (fruto de garambullo metanólico), FA (flor de garambullo acuoso) y GA (fruto de garambullo acuoso).

Determinación	Extractos			
	FM	GM	FA	GA
% de Captación de Radicales DPPH	51.02	51.12	51.85	62.82
Contenido de Fenoles Totales (mg EAG/100 g de muestra)	189.33 ± 1.03	40.063 ± 0.28	35.366 ± 0.11	20.991 ± 0.14
Contenido de Taninos Condensados (mg EC/g de muestra)	5.076 ± 0.41	3.190 ± 0.31	0.7936 ± 0.27	0.0677 ± 0.01

Para el fruto de Garambullo recolectado en Guanajuato [8] reporta mayor cantidad de fenoles que los que nosotros obtuvimos en nuestros frutos,

sin embargo, en la flor de garambullo, encontramos mayor cantidad de los mismos. En nuestros extractos metanólicos, reportamos mayor cantidad de Taninos Condensados que los encontrados por [8], mientras que en los acuosos reportamos menor cantidad. Lo anterior puede deberse a las diferencias en la preparación de los extractos, así como los solventes utilizados.

La afinidad entre las moléculas y los disolventes juega un papel importante en la extracción. Tanto el agua como el metanol son solventes polares, por lo que sería interesante probar con solventes de polaridad intermedia y no polares y comparar con los resultados de este estudio.

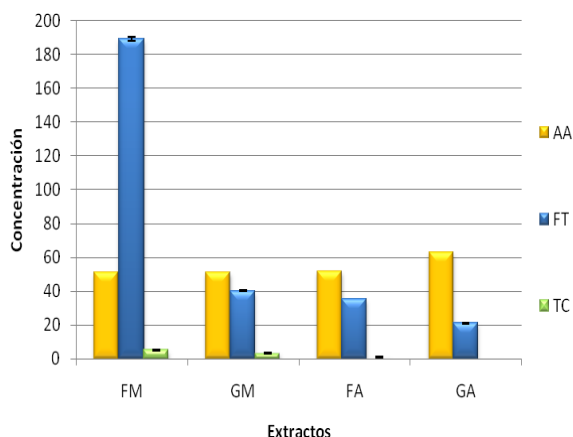


Figura 1. Actividad antioxidante % (AA), Fenoles Totales (mg EAG/100g de muestra) (FT) y Taninos Condensados (mg EC/g de muestra) (TC) de los extractos. FM (flor de garambullo metanólico), GM (fruto de garambullo metanólico), FA (flor de garambullo acuoso) y GA (fruto de Garambullo acuoso).

CONCLUSIONES

Logramos obtener el perfil fitoquímico y evaluar la actividad antioxidante del fruto de Garambullo y de su flor, observando metabolitos secundarios tales como flavonoides, G. Cardiacos, Cumarinas, Fenoles y Taninos, presentes en todos los extractos, obteniendo mayor actividad antioxidante en el extracto de fruto de garambullo acuoso así como mayor contenido de Fenoles Totales y Taninos Condensados en el extracto de Flor de Garambullo metanólico.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad de Guanajuato, por ser una institución preocupada por la investigación entre los jóvenes estudiantes. A la Dra. María Isabel García Vieyra, por darme la oportunidad de incursionar en sus proyectos científicos. Al Ing. Joel Flores Vásquez, por su apoyo en esta investigación.

REFERENCIAS

- [1] Almeida, M. E. & Sucupira, M. M. I. (2008). Capacidad antioxidante de frutas. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*. 44(2), 193-201.
- [2] Venereo, G. J. R. (2002). Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes. *Rev Cubana Med Milit*. 31(2), 126-133.
- [3] Avello, M. & Suwalsky, M. (2006). Radicales libres, antioxidantes naturales y mecanismos de protección. *Atenea (Concepc.)* n. 494-II sem. 161-172.
- [4] Rzedowski, J. (1991). Diversidad y orígenes de la flora fanerogámica de México. *Acta Botánica Mexicana*. 14:3-21. 3-6.
- [5] García, B.F.A & Reynoso, C.R. (1998). Estabilidad de las betalainas extraídas del garambullo (*Myrtillocactus geometrizans*) / Stability of betalains extracted from garambullo (*Myrtillocactus geometrizans*). *SAGE journals*. Volumen 4(2). 115-120.
- [6] Corona, M. C. & Mercado, S.E. (2007). Efecto del 1-MCP sobre el comportamiento fisiológico postcosecha de Garambullo (*Myrtillocactus geometrizans*). Recuperado el 06/06/2017 de http://www.uaq.mx/investigacion/difusion/veranos/memorias-2007/31_6UAQCoronaMartinez.pdf
- [7] Martínez, N. N. & Camacho V.M. (2008). The bioactive compounds of fruits and their effects on health. *ELSEVIER*. Volumen 12, Issue 2. 64-68
- [8] Guzmán, M. S. H. & Herrera, H.G. (2009). Physicochemical, nutritional and functional characteristics of two underutilised fruit cactus species (*Myrtillocactus*) produced in central Mexico. *ELSEVIER*. Vol. 121 Inssue 2. 381-386.
- [9] Devika, R. & Koilpillai, J. (2012). Phytochemical screening studies of bioactive compounds of *Tagetes erecta*. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*, 3(4), 597-598.
- [10] Chaikham, P. & Prangthip, P. (2014). Alteration of antioxidative properties of longan flower-honey after high pressure, ultra-sonic and thermal processing. *Food Bioscience*, 10(2015), 1-7.

[11] Meda, A., Lamien, C. E., Romito, M., Millogo, J. & Nacoulma, O. G. (2005). Determination of the total phenolic, flavonoid and proline contents in Burkina Fasan honey, as well as their radical scavenging activity. *Food Chemistry*, 91(2005), 571-577.

[12] Tili, N., Mejri, H., Anouer, F., Saadaoui, E., Khaldi, A. & Nasri, N. (2015). Phenolic profile and antioxidant activity of *Capparis spinosa* seedsharvested from different wild habitatsNizar. *Industrial Crops and Products*. 76 (2015) 930–935.

[13] Agudo, L. (2014). Técnicas para la determinación de compuestos antioxidantes en alimentos. *Autodidacta*. Recuperado el 10/07/2017 de http://www.anpebadajoz.es/autodidacta/autodidacta_archivos/numero_9_archivos/l_a_medina.pdf

[14] Kuskoki, E.M & Asuero, A. G (2005). Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. *Food Science and Technology*. 25(4). 726-732.