

VALORACIÓN DE COMPUESTOS BIOACTIVOS EN EXTRACTOS DE CHILCUAGUE (*Heliopsis longipes*)

Nieto Reséndiz Laura Cecilia (1), Mares Mares Everardo (2), Cerón García Abel (3)

1 [Ingeniería en Alimentos, Universidad de Guanajuato] | [lc.nieto@hotmail.com]

2 [Departamento de Alimentos, División de Ciencias de la Vida, Campus Irapuato-Salamanca, Universidad de Guanajuato] | [everardo_ing.alimentos@live.com]

3 [Departamento de Alimentos, División de Ciencias de la Vida, Campus Irapuato-Salamanca, Universidad de Guanajuato] | [abel.ceron@ugto.mx]

Resumen

Existe una gran variedad de plantas medicinales, las cuales además pueden ser utilizadas como condimento de algunos platillos, como analgésico y desinflamatorio; convirtiéndose así en una excelente fuente de compuestos bioactivos. Para el caso del chilcuague (*Heliopsis longipes*), es una raíz comúnmente usada en la Región de la Sierra Gorda (Querétaro, Guanajuato, San Luis Potosí) usada para los fines antes mencionados. Sin embargo, no existen reportes para esta raíz sobre su contenido de compuestos bioactivos por lo que, mediante extracción diferencial a base de solventes, se determinó el contenido de compuestos fenólicos y flavonoides totales, así como el color y pH de los extractos obtenidos. Como resultado se encontró que la raíz de chilcuague es rica en flavonoides totales, incrementando el contenido de este biocomponente si se emplea etanol para su extracción. La infusión en agua de la raíz de chilcuague (medio de procesamiento realizado mayoritariamente), mostró los niveles más bajos en cuanto a compuestos bioactivos. La raíz de *Heliopsis longipes* presenta el potencial para elaborar extractos que permitan desarrollar alimentos con valor agregado.

Abstract

There is a great variety of medicinal plants, which can also be used as condiments of some dishes, such as analgesic and anti-inflammatory. Thus, it is becoming an excellent source of bioactive compounds. In the case of chilcuague (*Heliopsis longipes*), it is a root commonly used in the Sierra Gorda Region (Querétaro, Guanajuato, San Luis Potosí) used for the aforementioned purposes. However, there are no reports for this root on its content of bioactive compounds so that, by differential solvent extraction, the content of phenolic compounds and total flavonoids, as well as the color and pH of the extracts obtained were determined. As a result, it was found that the chilcuague root is rich in total flavonoids, increasing the content of this biocomponent if ethanol is used for its extraction. The water infusion of the chilcuague root (mostly processed medium) showed the lowest levels in terms of bioactive compounds. The root of *Heliopsis longipes* presents the potential to elaborate extracts that allow to develop foods with added value.

Palabras Clave

Compuestos fenólicos; Flavonoides; Extracción diferencial con solventes; Planta medicinal.

INTRODUCCIÓN

Heliopsis longipes comúnmente conocido como chilcuague, del náhuatl “chilcuan” [1] o “Raíz de Oro”, es una planta mexicana herbácea que se encuentra en los estados de San Luis Potosí, Guanajuato y Querétaro. El pueblo prehispánico utilizaba esta raíz para diversos tipos de dolor, como analgésico y anestésico bucal [2], antibacterial y como antiparasitario [3]. Esta planta es capaz de ejercer diversos efectos biológicos en bacterias, insectos y humanos debido a los compuestos químicos que posee [4, 5]. Se ha documentado que *Heliopsis longipes* contiene Afinina, alcaloide que funciona como factor inductor de defensa potencial y alcalamidas que alteran algunos aspectos el metabolismo de las plantas [3].

Estas raíces son utilizadas de manera cotidiana en infusiones, principalmente por los pobladores de la Sierra Gorda en la zona central de México. Su uso implica la destrucción total de la planta y ha llegado a desaparecer en algunas zonas [6]. Debido a esta situación, se investigó y documentó el crecimiento de esta planta a nivel laboratorio, concluyendo que su germinación ocurre cerca de los 18 °C y que es posible propagar esta planta a partir de tallos de ≤ 3 mm de diámetro, con riego quincenal, sin uso de hormonas y con buenos resultados [7].

Por otro lado, cuando la raíz es masticada se produce un sabor caliente al interior de la boca, de allí que sea utilizado como sustituto de picante en varios platillos. También se añade a bebidas alcohólicas, en la cocina y se utiliza en la preparación de salsas picantes junto con los chiles, donde se complementa y resalta su sabor [7]. A pesar de ser una planta que se ha usado por generaciones como componente de la medicina tradicional y como condimento en los alimentos, se carece de información técnica sobre los beneficios que esta planta puede otorgar al momento de consumirla. Para ello, se llevó a cabo la determinación de compuestos bioactivos (Compuestos fenólicos totales y Flavonoides totales) en diferentes extractos (Etanol al 95%,

metanol:clorofomo y una Infusión en agua a ebullición) a partir de raíz de chilcuague.

MATERIALES Y MÉTODOS

Raíz de chilcuague (*Heliopsis longipes*) fue adquirida en el municipio de Victoria, Gto., y a partir de ella se llevó a cabo la extracción de compuestos bioactivos mediante diferentes mezclas de solventes (Control, extracción en agua; Etanol al 95% y 5 días de agitación; metanol:cloroformo en proporción 50:50 y 5 días de agitación; finalmente, infusión en agua a ebullición durante 5 min), todas ellas protegidas de la luz durante el tiempo de extracción correspondiente, así como partiendo de una relación de muestra:solvente de 1/10 (p/v).

Durante el proceso de extracción, una vez alcanzado el tiempo establecido en cada tratamiento, se determinó el contenido de compuestos fenólicos totales [8] a partir de una alícuota de cada extracto obtenido que se hizo reaccionar con el reactivo de Folin-Ciocalteu. El contenido de compuestos fenólicos totales se obtuvo mediante una curva estándar de ácido gálico y los resultados fueron expresados como mg equivalentes de ácido gálico (GAE) por g de peso seco. Los flavonoides totales [9] se determinaron en los diferentes extractos mediante la reacción con cloruro de aluminio y medición de absorbancia a 415 nm. El contenido de flavonoides totales se calculó mediante una curva estándar de quercetina y los resultados fueron expresados como mg equivalentes de quercetina por g de peso seco.

Así mismo, se caracterizó el color de los extractos obtenidos mediante un colorímetro Hunter-Lab, modelo EZX y usando la escala de color CIEL*a*b*. La determinación de pH se realizó en cada extracto obtenido empleando un electrodo de inmersión (Conductronic P-100) previamente calibrado. Finalmente, los resultados obtenidos durante el proceso de extracción de extractos de chilcuague (los cuales se realizaron por triplicado) fueron analizados estadísticamente con la ayuda del software NCSS mediante una prueba ANOVA

simple y prueba de comparación de medias por Tukey, $p \leq 0.05$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Para la determinación de Flavonoides totales, tanto el extracto de Etanol y Metanol: Cloroformo permanecieron en agitación durante 5 días, el extracto con la Infusión fue por medio de la ebullición durante 4 minutos y el control se determinó directamente de la raíz. De acuerdo a los resultados obtenidos en la Imagen 1, se puede observar que, utilizando el solvente de Etanol, la obtención de Flavonoides es mayor, en comparación con la infusión y el control.

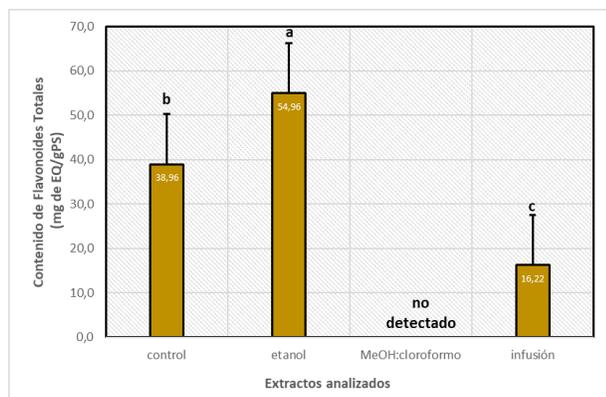


IMAGEN 1: Contenido de Flavonoides totales en extractos de Chilcuague. Valores promedio \pm desviación estándar, $n=3$. Letras diferentes por cada muestra analizada representan diferencia significativa ($p \leq 0.05$).

En este mismo análisis, en los extractos obtenidos con el solvente Metanol: Cloroformo, no se detectaron adecuadamente los flavonoides totales ya que el método colorimétrico empleado presentó interferencia con el cloroformo utilizado en la obtención de dicho extracto. Se encontró diferencia significativa ($p \leq 0.05$) en los tres tipos de extracción siendo el etanol el solvente donde se obtuvo el mayor contenido de flavonoides (54.9 mg equivalentes de quercetina / g de peso seco), seguido del control con un contenido medio (38.9 mg equivalentes de quercetina / g de peso seco) y por último, la infusión con un contenido bajo (16.2 mg equivalentes de quercetina / g de peso seco).

Respecto a la determinación de Compuestos Fenólicos Totales, se puede observar que se

encuentra diferencia significativa ($p \leq 0.05$) en la extracción con Metanol: Cloroformo e Infusión, pero no para los extractos de MeOH:Cloroformo y la extracción con Etanol (Imagen 2).

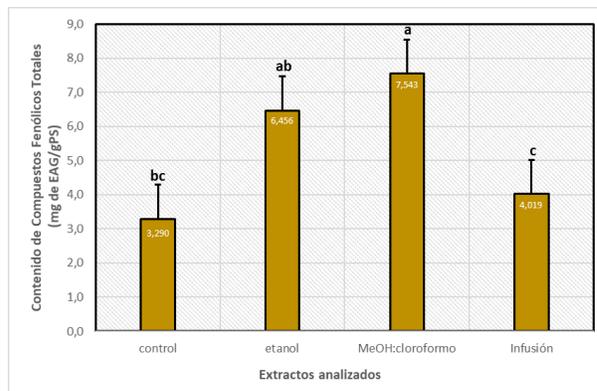


IMAGEN 2: Contenido Compuestos fenólicos totales en extractos de Chilcuague. Valores promedio \pm desviación estándar, $n=3$. Letras diferentes por cada muestra analizada representan diferencia significativa ($p \leq 0.05$).

Así mismo, en el extracto obtenido con Etanol no se encontró diferencia significativa con el control. Este último, no presentó diferencia significativa ($p \geq 0.05$) con la extracción por medio de la infusión. Contrario a la problemática presentada en la determinación de flavonoides totales en los extractos obtenidos con la mezcla de metanol:cloroformo, para la determinación de compuestos fenólicos totales no se presentó problema alguno para este extracto. Por lo tanto, empleando la extracción con la mezcla de solventes MeOH:Cloroformo se logró obtener el mayor contenido de compuestos Fenólicos (7.5 mg equivalentes de ácido gálico / g de peso seco), seguido de la extracción con Etanol (6.3 mg equivalentes de ácido gálico / g de peso seco), estos dos en agitación durante 5 días, después por Infusión con un contenido medio (4.1 mg equivalentes de ácido gálico / g de peso seco) y por último el control con un contenido más bajo (3.3 mg equivalentes de ácido gálico / g de peso seco) (Imagen 2).

Tal como se mencionó anteriormente, no se encontraron trabajos donde se hayan evaluado estos compuestos bioactivos en raíz de chilcuague. A pesar de ello, se aprecian diferencias entre flavonoides respecto a compuestos fenólicos, siendo los primeros muy

abundantes. Así mismo, se apreció sensibilidad al tratamiento térmico por infusión.

Tabla 1: Parámetros de color y pH en extractos de Chilcuague obtenidos mediante el uso de diferentes solventes

Solvente	Color			pH
	L*	a*	b*	
Control	57.04 ^b ±0.23	7.59 ^a ±0.22	24.25 ^a ±0.25	6.16 ^d ±0.005
Etanol	8.44 ^d ±0.18	-0.68 ^d ±0.04	0.71 ^d ±0.04	6.95 ^a ±0.02
MeOH: Cloroformo	26.43 ^c ±0.06	0.24 ^c ±0.005	5.77 ^c ±0.54	6.75 ^b ±0.05
Infusión	58.97 ^a ±0.66	6.51 ^b ±0.22	21.22 ^b ±0.60	6.66 ^c ±0.01

Nota: Valores promedio (n=3) ± desviación estándar. Letras diferentes en cada columna indican diferencia significativa (p≤0.05)

Se puede observar que, estadísticamente el valor de L* para los diferentes extractos presenta diferencia significativa (p ≤ 0.05) siendo el extracto de infusión el de más alto valor de luminosidad, es decir, más claro; seguido de la muestra control con un valor similar, como siguiente extracto se encuentra el extracto con Metanol: Cloroformo con un valor intermedio de L* y por último, el extracto con Etanol con un valor muy bajo de luminosidad, es decir, resultado ser el extracto con la apariencia más oscura (Tabla 1).

También se encontró diferencia significativa (p ≤ 0.05) para los valores de a*, en este caso a diferencia de L*, los valores son más bajos debido a las coordenadas de color rojo, siendo el Control el extracto con más alto nivel de cromaticidad, seguido de la Infusión con un valor semejante, para Metanol: Cloroformo su nivel es bajo pero aún más el valor de a* para el extracto con Etanol (Tabla 1). Para los valores de b* se encuentra también diferencia significativa como base de las coordenadas de color amarillo, el extracto de Control fue el de mayor contenido de cromaticidad, seguido del extracto por Infusión, después sigue el extracto de Metanol: Cloroformo con un valor bajo, pero más bajo con el extracto con Etanol (Tabla 1). La apariencia de cada uno de los extractos obtenidos se relaciona de manera inversa con el contenido de compuestos bioactivos analizados previamente, destacando el extracto etanólico tanto por su color más oscuro y mayor contenido de compuestos bioactivos.

Para la determinación de pH se encontró diferencia significativa (p ≤ 0.05) en cada uno de los extractos, siendo el rango de pH entre 6.95 y

6.16 (extracto obtenido con etanol y el control, respectivamente, Tabla 1). Los valores de pH para el extracto de Etanol son mayores con un valor casi neutro (6.95 ± 0.02), siguiendo el extracto de Metanol: Cloroformo (6.75 ± 0.05), como siguiente está el extracto por Infusión (6.66 ± 0.01) y por último el control (6.16 ± 0.005), que resulto un valor de pH relativamente bajo. De esta determinación, se logró identificar el efecto que tienen los diferentes solventes empleados para la obtención de extractos de chichuague en el valor de pH de cada extracto, el cual se encuentra en un valor cercano a la neutralidad, por lo que al incorporarlos en algún alimento consideramos no afectarán el valor de pH propio del producto final.

CONCLUSIONES

La riqueza de compuestos bioactivos presentes en la raíz de chilcuague puede aprovecharse si estos se obtienen mediante técnicas de extracción usando diferentes solventes como el etanol, ya que, mediante infusión en agua (como generalmente se consume), los niveles detectados son bajos. El mayor efecto de la extracción sobre los parámetros fisicoquímicos evaluados radica en el color y en menor medida en el pH de cada extracto. Así mismo, se genera un área de oportunidad para formular alimentos que se consumen de manera cotidiana pero que incorporen en su formulación este tipo de extractos altos en compuestos bioactivos.

AGRADECIMIENTOS

Universidad de Guanajuato. División de Ciencias de la Vida, Campus Irapuato-Salamanca, por darme la oportunidad de realizar el Verano de Investigación. Asimismo, agradezco a todas las personas que me acompañaron y apoyaron en el trayecto, Dr. Abel Cerón García, Mtro. Everardo Mares Mares, mis compañeras de laboratorio, y especialmente a mi familia y mis amigos.

REFERENCIAS

[1] Martínez M. Las plantas medicinales de México. Ed. Ediciones Botas, México DF. (1989).

[2] Correa J, Roquet S, Díaz E. Multiple NMR analysis of the affinin. *Org Magn Reson* (1971) 3:1-5.

[3] Molina-Torres J, Salazar-Cabrera CJ, Armenta-Salinas C, Ramírez-Chávez E. Fungistatic and bacteriostatic activity of alkalamides from *Heliopsis longipes* roots: affinin and reduced amides. *J Agric Food Chem* (2004) 52:4700-4704.

[4] Molina-Torres, J., R. Salgado-Garciglia, E. Ramírez-Chávez, and R. E. Del-Río. Purely olefinic alkalamides in *Heliopsis longipes* and *Acmella* (*Spilanthes*) *oppositifolia*. *Biochem. Syst. Ecol.* (1996) 24: 43-47.

[5] Little, E. L. 1948b. El chilcuague. *Boletín de la Sociedad Botánica de México*. 7: 23-27.

[6] Cilia López, V. G. (2007). *Biología y utilización del chilcuague (Heliopsis longipes S.F. Blake)*. Ciudad: San Luis Potosí.

[7] Cruz-Ramirez, L.A., Valdez-Morales, M., Chacón-López, M.A., Rosas-Cárdenas, F.F., y Cruz-Hernández, A. Mexican crops of agro-alimentary importance. In *Advances in agricultural and food biotechnology* (2006) pp. 35-53. India: Research Signpost.

[8] Slinkard K, Singleton VL. Total phenol analyses: Automation and Comparison with Manual Methods. *Am. J. Enol. Vitic.* (1977) 28: 49-55.

[9] Marianova D., Rivarova F., Atannasova M. Total phenolics and total flavonoids in bulgarian fruits and vegetables. *J. V. Chem Technol* (2005) 40: 255-260