

Actividad antioxidante y contenido de fenoles totales de aceites esenciales y extractos de plantas aromáticas.

Antioxidant activity and total phenolic content of essential oils and extracts of aromatic plants.

María Isabel García Vieyra* ¹, Mariana Susana Gutiérrez Chavez¹, Hannia Nicole Hernández Valadez¹, Raúl Antonio García Martínez¹, Fátima Raquel Labastida González² y Joel Alejandro Guajardo García³

¹División de Ciencias de la Salud e Ingenierías, Campus Celaya-Salvatierra, Universidad de Guanajuato; ²División de Ingenierías, Campus Guanajuato, Universidad de Guanajuato; ³División de Ciencias Naturales y Exactas, Campus Guanajuato, Universidad de Guanajuato.

*isabel.garcia@ugto.mx

Resumen

Las plantas medicinales y aromáticas han sido el foco de la investigación científica para la industria alimentaria y farmacéutica debido a su reconocida capacidad antioxidante. Varios estudios han examinado la correlación del contenido total de fenoles y/o compuestos fenólicos con la actividad antioxidante de infusiones, decocciones y aceites esenciales de plantas. El objetivo de este proyecto es analizar y comparar la actividad antioxidante y contenido de fenoles totales de aceites esenciales y extractos de plantas aromáticas con el fin de establecer las posibles correlaciones entre estos. La selección de las especies de plantas estudiadas se basó en su popularidad y su recomendación de uso. Los resultados obtenidos en el perfil fitoquímico mostraron que los extractos de eucalipto y lavanda no mostraron diferencias en los metabolitos presentes con los solventes utilizados, en cambio los extractos de menta mostraron mayor presencia de metabolitos en el extracto metanólico (M-Met). En el caso de los aceites esenciales no se encontró diferencia entre los solventes utilizados es decir que tanto el etanol como el metanol dieron la misma presencia de los metabolitos analizados. El extracto de plantas con mayor captación del radical DPPH fue el extracto de eucalipto-metanol (Eu-Met) con un valor de 70.99 % de captación, en el caso de los fenoles totales el valor más alto fue el extracto menta-metanol (M-met) con 164.23 mg EAG/ 100 g de muestra y los taninos mostraron mayor presencia en Eu-Met (365.76 mg Ec/g de muestra). Para los aceites esenciales destacan con mayores valores de antioxidantes, fenoles totales y taninos; aceite de eucalipto en metanol (AE-Met) con un valor de 81.17 %, aceite de lavanda en etanol (AL-Et) con 134.68 mg EAG/100g de muestra y AL-Et con 382.17 mg EC/ g de muestra respectivamente.

Palabras clave: menta, eucalipto, lavanda, perfil fitoquímico.

Introducción

Los antioxidantes han sido ampliamente utilizados como aditivos alimentarios para evitar los procesos de degradación de los alimentos. Además, los antioxidantes desempeñan un papel importante en la prevención de diversas enfermedades relacionadas con el estilo de vida y el envejecimiento, ya que están estrechamente relacionadas con el oxígeno activo y la peroxidación lipídica¹. Las investigaciones actuales sobre los radicales libres han confirmado que los alimentos ricos en antioxidantes desempeñan un papel esencial en la reducción del riesgo de incidencia de enfermedades cardiovasculares, así como otras enfermedades crónicas y ciertos tipos de cáncer². Un gran número de especies de plantas ya han sido probadas por su potencial actividad antioxidante³. El género *Mentha* es rico en ácidos fenólicos como el ácido cafeico y sus derivados, el ácido clorogénico y el ácido rosmarínico, siendo este último el que representa la mayoría de los compuestos fenólicos totales. La menta (*Mentha piperita* L.) es una planta aromática que contiene diferentes compuestos activos y produce abundantes aceites esenciales que encuentran diferentes aplicaciones en la industria. Además, la menta posee propiedades antivirales, anti-envejecimiento, antioxidantes y antimicrobianas⁴.

Las plantas de la familia *Myrtaceae* producen aceites esenciales con diversas actividades biológicas, como efectos bacteriostáticos, fungistáticos y antiinflamatorios⁵. El eucalipto es uno de los géneros importantes de la familia *Myrtaceae*, un gran género de árboles y arbustos perennes que contiene alrededor de 700 especies⁶. El eucalipto ha sido conocido como una buena fuente de muchas sustancias naturales que exhiben

actividades antagonistas contra varios microorganismos⁷. Se encuentran diversos fitoquímicos volátiles, como isoprenoides, en las hojas de eucalipto, que muestran varias propiedades medicinales/antimicrobianas. Los extractos de eucalipto han sido aprobados como aditivos alimentarios y actualmente se utilizan en diversas formulaciones cosméticas. Se han encontrado saponinas, taninos, esteroides y flavonoides en el extracto de hojas de eucalipto. Tradicionalmente, las hojas de eucalipto se han utilizado para curar heridas e infecciones fúngicas. Las hojas de eucalipto muestran muchas actividades, como antioxidantes, antisépticas y antiinflamatorias⁸.

La lavanda se cultiva principalmente por su aceite esencial, el cual tiene múltiples usos. El aceite esencial de lavanda es muy valorado en cosméticos, conservación de alimentos, agroindustria, medicina tradicional, entre otros⁹. La lavanda se utiliza en la medicina tradicional para el tratamiento de diversas enfermedades¹⁰. Las propiedades medicinales de todas las plantas medicinales, incluida la lavanda, dependen del contenido de compuestos fenólicos y su capacidad antioxidante¹¹. Aunque los procesos genéticos controlan la cantidad de estos componentes en la planta, los factores ambientales y el método de cultivo también afectan significativamente sus contenidos. Sin embargo, se sabe que todos los cultivares acumulan compuestos fenólicos, que se caracterizan por su alta actividad antioxidante¹².

Por lo tanto, esta investigación tuvo como objetivo determinar la capacidad antioxidante y el contenido de los constituyentes de los extractos etanólicos y metanólicos como de los aceites esenciales de menta, eucalipto y lavanda y ver si existe una diferencia en el contenido de fitoquímicos entre los diferentes solventes.

Materiales y Métodos

Material vegetal y reactivos

Las plantas de menta (*Mentha piperita* L), eucalipto (*Eucalyptus camaldulensis* Dehnh) (y lavanda (*Lavanda angustifolia* Mill) en el mercado local de Salvatierra, Guanajuato. Las muestras secas se molieron en un mortero y se reservaron hasta su análisis. Todos los solventes, reactivos y estándares utilizados fueron de grado analítico.

Preparación de los extractos

Los extractos de plantas se realizaron por maceración con etanol y metanol agitando durante 3 h. Posteriormente los extractos fueron filtrados y concentrados. Los aceites esenciales se prepararon haciendo una dilución en etanol y metanol. Cada uno de los extractos y aceites se utilizaron para realizar los diferentes análisis. Se prepararon en total 6 extractos 3 en etanol y 3 metanol uno por cada planta; menta-etanol (M-Et); menta-metanol (M-Met); eucalipto-etanol (Eu-Et); eucalipto-metanol (Eu-Met); lavanda-etanol (Lv-Et) y lavanda-metanol (Lv-Met). El mismo número de muestras se obtuvieron para los aceites esenciales; aceite de menta-etanol (AM-Et); aceite de menta-metanol (AM-Met); aceite de eucalipto-etanol (AE-Et); aceite de eucalipto-metanol (AE-Met); aceite de lavanda-etanol (AL-Et) y aceite de lavanda-metanol (AL-Met). Los extractos y los aceites

Perfil fitoquímico

Los extractos y los aceites fueron analizados de acuerdo a la metodología propuesta por Devika, 2012⁹.

Saponinas

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

Flavonoides

Se colocan 200µl de extracto o aceite en un tubo eppendorf, se agregan 100µl de NaOH 2N. La formación de color amarillo indica la presencia de flavonoides.

Quinonas

Se colocan 100µl de extracto o aceite en un tubo eppendorf, se agregan 100µl de H₂SO₄. La formación de color rojo indica la presencia de Quinonas.

Glucósidos

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

Terpenoides

Se colocan 50µl de extracto en un tubo eppendorf, 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, se agregan 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, se agregan 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, se agregan 200µl de FeCl₃ al 5%. La formación de color verde oscuro o azul oscuro indica la presencia de Taninos.

Actividad Antioxidante

Se colocan 150 µl de cada extracto en tubos eppendorf, se diluye 1:9 y se coloca por triplicado posteriormente se agregan 150 µl de DPPH a 150 µM. Se mezcla y se mide la absorbancia a una longitud de onda de 517nm a 0, 30, 60, y 120 min. Para expresar la actividad antioxidante se usa la siguiente fórmula.

$$\% \text{Inhibición del radical DPPH} = (\text{absorbancia a tiempo 0} - \text{absorbancia (60 minutos)}) / \text{absorbancia tiempo} * 100$$

Determinación de Fenoles Totales Se pesan 0.1 g de cada extracto en 1 ml de agua destilada, y se diluye 1:9. A 30 µl de cada extracto se agregan 150 µl del reactivo Folin-Ciocalteu se mezcla y después 5 minutos a temperatura ambiente, se agregan 120 µl de carbonato de sodio (Na₂CO₃) al 0.075%. Se incuban las muestras durante 2 horas a temperatura ambiente. La absorbancia se mide a 750 nm. Se preparan 11 concentraciones de ácido gálico de 0-200 mg/L. Los resultados se expresan en equivalentes de ácido gálico (EAG)/100 g de muestra.

Determinación de Taninos Condensados

Se colocan 10 µl del extracto diluido 1:9, se agregan 197 µl de una solución etanol-vainilla al 4%. Se añaden 99 µl de ácido sulfúrico al 25% (H₂SO₄) y se incuban durante 15 minutos a temperatura ambiente. Se mide la absorbancia a 490 nm. Se realizan 11 concentraciones de catequina de 75-750 µg/ml. Los resultados se expresan en mg de equivalente de catequina (EC)/g de muestra.

Análisis estadístico El análisis de varianza se realizó en el software estadístico Infostat, con un nivel de confianza del 95%. La comparación de medias se realizó con el método de diferencia significativa de medias (LSD Fisher) con $\alpha = 0.05$, con un nivel de confianza del 95% ($p < 0.05$). Cada ensayo se realizó por triplicado.

Resultados y Discusión

Perfil fitoquímico

Los antioxidantes son compuestos químicos que tienen la capacidad de neutralizar los radicales libres y proteger a las células del daño oxidativo. Estos metabolitos pueden estar presentes en diferentes partes de las plantas, como las hojas, flores, tallos o frutos, y su concentración puede variar según la parte de la planta y su etapa de crecimiento. Los extractos de plantas obtenidos con solventes polares, como agua o alcohol, generalmente contienen una amplia variedad de compuestos antioxidantes, como polifenoles, flavonoides, carotenoides, etc. Estos compuestos son solubles en solventes polares y se pueden extraer fácilmente de las plantas. Por su parte los aceites esenciales son mezclas complejas de compuestos volátiles que se encuentran en las glándulas especializadas de ciertas plantas. Estos aceites esenciales generalmente se obtienen por destilación de vapor u otros métodos de extracción y son conocidos por tener un aroma característico de la planta. Aunque los aceites esenciales pueden contener algunos compuestos antioxidantes, como terpenos, su composición suele ser diferente a la de los extractos de plantas.

Los resultados obtenidos tras el análisis cualitativo de los extractos de plantas tanto en etanol como metanol se muestran en la Tabla 1. Se puede observar que ninguno de los extractos mostro presencia de glucósidos independiente del solvente utilizado para su extracción. Los extractos de eucalipto y lavanda no mostraron diferencias en los metabolitos presentes con los solventes utilizados, en cambio los extractos de menta mostraron mayor presencia de metabolitos en el extracto metanólico (M-Met).

Tabla 1. Perfil fitoquímico de los extractos de plantas. menta-etanol (M-Et); menta-metanol (M-Met); eucalipto-etanol (Eu-Et); eucalipto-metanol (Eu-Met); lavanda-etanol (Lv-Et) y lavanda-metanol (Lv-Met)

Metabolito	Extractos de plantas					
	Menta		Eucalipto		Lavanda	
	M-Et	M-Met	Eu-Et	Eu-Met	Lv-Et	Lv-Met
Saponinas	+	+	+	+	+	+
Flavonoides	-	-	+	+	+	+
Quinonas	-	+	+	+	+	+
Glucósidos	-	-	-	-	-	-
Glucósidos cardiacos	+	+	+	+	+	+
Terpenoides	+	+	+	+	+	+
Cumarinas	+	-	+	+	+	+
Fenoles	+	+	+	+	+	+
Taninos	+	+	+	+	+	+

(+) presencia del metabolito; (-) ausencia de metabolito.

En el caso del perfil fitoquímico de los aceites esenciales de las plantas aromáticas analizadas no se encontró diferencia entre los solventes utilizados es decir que tanto el etanol como el metanol dieron la misma presencia de los metabolitos analizados.

Sin embargo, si se encontró una diferencia entre los metabolitos de los extractos y los aceites esenciales donde hubo una mayor presencia de metabolitos en los extractos que en los aceites donde los glucósidos, cumarinas y flavonoides fueron no detectados para ninguno de los aceites analizados. Esto puede deberse a la forma en la cual se obtienen los aceites esenciales ya que como los mencionan algunos autores; los valores con respecto al contenido de metabolitos varían dependiendo del genotipo, el cultivo y el método de extracción¹³.

Dicho de otra manera, los extractos de plantas con solventes polares como en este caso que se utilizó etanol y metanol y los aceites esenciales de las mismas plantas pueden tener diferentes perfiles de compuestos antioxidantes debido a las diferencias en sus composiciones químicas y en los métodos de extracción utilizados.

Tabla 2. Perfil fitoquímico de los aceites esenciales de plantas aromáticas. Aceite de menta-etanol (AM-Et); aceite de menta-metanol (AM-Met); aceite de eucalipto-etanol (AE-Et); aceite de eucalipto-metanol (AE-Met); aceite de lavanda-etanol (AL-Et) y aceite de lavanda-metanol (AL-Met)

Metabolito	Aceites esenciales					
	Menta		Eucalipto		Lavanda	
	AM-Et	AM-Met	AE-Et	AE-Met	AL-Et	AL-Met
Saponinas	+	+	+	+	+	+
Flavonoides	-	-	-	-	-	-
Quinonas	+	+	+	+	+	+
Glucósidos	-	-	-	-	-	-
Glucósidos cardíacos	+	+	+	+	+	+
Terpenoides	+	+	+	+	+	+
Cumarinas	-	-	-	-	-	-
Fenoles	+	+	+	+	+	+
Taninos	+	+	+	+	+	+

Tabla 3. Determinación de actividad antioxidante, Contenido de fenoles totales y taninos condensados; menta-etanol (M-Et); menta-metanol (M-Met); eucalipto-etanol (Eu-Et); eucalipto-metanol (Eu-Met); lavanda-etanol (Lv-Et) y lavanda-metanol (Lv-Met)

Metabolito	Extractos de plantas					
	Menta		Eucalipto		Lavanda	
	M-Et	M-Met	Eu-Et	Eu-Met	Lv-Et	Lv-Met
% De Captación de Radicales DPPH	58.44 ^b	58.88 ^b	53.56 ^a	70.99 ^c	68.20 ^c	57.31 ^b
Fenoles Totales (mg EAG)/ 100 g de muestra	151.85 ^c	164.23 ^c	113.74 ^a	95.73 ^a	114.68 ^a	138.87 ^b
Taninos Condensados de (mg EC/ g de muestra)	264.50 ^b	218.45 ^a	300.17 ^c	365.76 ^d	282.17 ^b	334.56 ^c

La Tabla 3 muestra los resultados del análisis cuantitativo donde se realizaron las pruebas de capacidad antioxidante, fenoles totales y taninos condensados a cada una de las muestras, a diferencia de las pruebas cualitativas en estos análisis si se observó diferencia en los contenidos dependiendo del solvente utilizado siendo los extractos con metanol los que mostraron mejor respuesta, cabe aclarar que en el caso de las pruebas del screening estas diferencias se encuentren más limitadas ya que lo que evaluamos en ese caso solo es presencia o ausencia del metabolito y con las pruebas cualitativas vemos ya concentración de cada metabolito.

Tabla 4. Determinación de actividad antioxidante, Contenido de fenoles totales y taninos condensados de los aceites esenciales; aceite de menta-etanol (AM-Et); aceite de menta-metanol (AM-Met); aceite de eucalipto-etanol (AE-Et); aceite de eucalipto-metanol (AE-Met); aceite de lavanda-etanol (AL-Et) y aceite de lavanda-metanol (AL-Met).

Metabolito	Aceites esenciales					
	Menta		Eucalipto		Lavanda	
	AM-Et	AM-Met	AE-Et	AE-Met	AL-Et	AL-Met
% De Captación de Radicales DPPH	78.59	74.322	80.21	81.17	75.34	70.45
Fenoles Totales (mg EAG)/ 100 g de muestra	111.85	114.23	123.14	128.95	134.68	127.37
Taninos Condensados de (mg EC/ g de muestra)	214.25	201.78	330.57	315.89	382.17	364.61

El extracto de plantas con mayor captación del radical DPPH fue el extracto de eucalipto-metanol (Eu-Met) con un valor de 70.99 % de captación y el de menor captación el extracto de eucalipto-etanol (Eu-Et) con 53.56%. En el caso de los fenoles totales el valor más alto fue el extracto menta-metanol (M-met) con 164.23 mg EAG/ 100 g de muestra y el menor valor Eu-Et con 113.74 mg EAG/100 g de muestra. Los valores para taninos también fueron mayores en el extracto de Eu-Met (365.76 mg Ec/g de muestra) y el que mostro menor valor M-Met con 218 mg EC/g de muestra.

Por otro lado, los aceites esenciales en la prueba de capacidad antioxidante muestran valores más altos que los obtenidos para los extractos, lo cual puede deberse a la mayor concentración de metabolitos presentes en la muestra (Tabla 4). La muestra con una mayor captación del radical DPPH fue la de aceite de eucalipto en metanol (AE-Met) con un valor de 81.17 % y el aceite de lavanda en metanol con 70.45 % fue el valor más pequeño. En cuanto al contenido de fenoles y taninos lo valores fueron similares a los obtenidos para los extractos. El aceite de lavanda en etanol (AL-Et) dio el mayor valor de fenoles totales con 134.68 mg EAG/100g de muestra y la muestra AM-Met el menor valor con 111.85 mg EAG/100 g de muestra. Para taninos nuevamente (AL-Et) presenta el mayor valor con 382.17 mg EC/ g de muestra y el extracto AM-Met el valor más bajo con 201.78 mg EC/ g de muestra.

Conclusiones

En base a los resultados obtenidos podemos decir que, tanto los extractos de plantas con solventes polares como etanol y metanol y los aceites esenciales ofrecen una amplia gama de beneficios para la salud y el bienestar, dado la gran cantidad de compuestos con propiedades antioxidantes y que el número de metabolitos y la concentración va a depender de diferentes factores como; el cultivo, la parte de la planta que se utiliza y los métodos de extracción de los metabolitos.

Bibliografía/Referencias

1. Krishnaiah, D; Sarbatly, R; Bono A. Phytochemical antioxidants for health and medicine—A move towards nature. *Biotechnology Molecular Biology*. 2007, 1: 97–104.
2. Raut, JS; Karuppayil, SM. A status review on the medicinal properties of essential oils. *Ind. Crops Prod*. 2014, 62: 250–264.
3. Inoue, M; Hayashi, S; Craker, LE. Role of Medicinal and Aromatic Plants: Past, Present, and Future. In *Pharmacognosy, Medicinal Plants; Chapter 2; Perveen, S., Ed.; IntechOpen: London, UK, 2019; pp. 1–13.*
4. Curutchet, A; Dellacassa, E; Ringuelet, JA; Chaves, AR; Viña, SZ. Nutritional and sensory quality during refrigerated storage of fresh-cut mints (*Mentha×piperita* and *M. spicata*). *Food Chemistry*. 2014, 143, 231–238.
5. Batish DR, Singh HP, Kohli RK, Kaur S. Eucalyptus essential oil as a natural pesticide. *Forest Ecology and Management*. 2008; 256:2166-2174.
6. Jahan M, Warsi K, Khatoon F. Studies on antibacterial properties of eucalyptus- The Aromatic plant. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*. 2011; 7:86-87.
7. Yuvneet R, Navneet K, Deepa A, Rajandeep K, Hatish P. Phytochemical analysis and antimicrobial activity of methanolic extract of *Eucalyptus globulus*. *Journal of Microbiology and Biotechnology Research*. 2017; 3(2):77-82.
8. Hassine DB, Abderrabba M, Yvon Y, Lebrihi A, Mathieu F, Couderc F. Chemical composition and in vitro evaluation of the antioxidant and antimicrobial activities of *Eucalyptus gillii* essential Oil and extracts. *Molecules*. 2012; 17:9540-9558.
9. Komnenić, A, Jovović, Z, Velimirović, A. Impact of different organic fertilizers on lavender productivity (*Lavandula officinalis* Chaix). *Agriculture and Forestry*. 2020; 66 (2): 51-56.
10. Firoozeei, TS, Feizi, A, Rezaeizadeh, H, Zargarani, A, Roohafza, HR, Karimi, M. The antidepressant effects of lavender (*Lavandula angustifolia* Mill.): A systematic review and meta-analysis of randomized controlled clinical trials. *Complementary Therapies in Medicine*. 2021; 59: 1026-79. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ctim.2021.102679>.
11. Gavrić, T, Marković Stefan, Cengić, L. Feasibility of growing basil as an alternative crop for adaptation to climate change in Bosnia and Herzegovina. *Chilean Journal of Agricultural Research*. 2023; 83(1): 43–51. doi: 10.4067/S0718-58392023000100043.
12. Wells, R, Truong, F, Adal, AM, Sarker, LS, Mahmoud, SS. Lavandula Essential Oils: A Current Review of Applications in Medicinal, Food, and Cosmetic Industries of Lavender. *Natural Product Communications*. 2018; 13(10). doi:10.1177/1934578X1801301038
13. B. Blazeković, S, Vladimir-Knezević, A, Brantner, Stefan MB. "Evaluation of antioxidant potential of *Lavandula x intermedia* Emeric ex Loisel. 'Budrovka': a comparative study with *L. angustifolia* Mill.," *Molecules*. 2010. 15:9, 5971–5987.