

Capacidad antioxidante y caracterización fitoquímica de *Myrtillocactus geometrizans* y *Prunus serotina*

Antioxidant capacity and phytochemical characterization of *Myrtillocactus geometrizans* and *Prunus serotina*

María Isabel García Vieyra*, Tarsicio Medina Saavedra, Lilia Mexicano Santoyo, Gabriela Arroyo Figueroa, Guadalupe Ingrid Cervantes Vega, Samantha Tapia Molina, Ashley Sofia Nito Castillo

Departamento de Ingeniería Agroindustrial, División de Ciencias de la Salud e Ingenierías, Campus Celaya-Salvatierra, Universidad de Guanajuato, Privada de Arteaga s/n, zona centro, Salvatierra, Guanajuato, México.
isabel.garcia@ugto.mx*

Resumen

Diferentes estudios han mostrado que el consumo de frutas ricas en antioxidantes es benéfico para la salud debido a su capacidad para prevenir diferentes enfermedades. En México existe una gran variedad de frutas que son subutilizadas como es el caso de garambullo (*Myrtillocactus geometrizans*) y el capulín (*Prunus serotina*). Se evaluaron extractos acuosos, metanólico, etanólico y hexánico de garambullo (*Myrtillocactus geometrizans*) y capulín (*Prunus serotina*) para determinar su actividad antioxidante y composición fitoquímica. Se realizaron pruebas cualitativas para identificar metabolitos como flavonoides, quinonas, terpenoides, cumarinas y fenoles. Se determinó la concentración de fenoles totales, taninos condensados y la capacidad antioxidante. Las pruebas cualitativas revelaron la presencia de flavonoides, terpenoides y fenoles en la mayoría de los extractos. En las pruebas cuantitativas, el extracto acuoso de garambullo presentó la mayor actividad antioxidante con un 23.63%; mientras que, en capulín, el extracto metanólico alcanzó un 55.71%. El contenido de fenoles totales fue más alto en el extracto etanólico de garambullo, con 256 mg EAG/100 g de muestra, y el extracto hexánico de capulín presentó el valor más elevado de taninos condensados, con 2755.4 mg EC/g de muestra. Estos resultados sugieren que ambas frutas son una fuente rica en antioxidantes y otros compuestos bioactivos, lo que las convierte en potenciales ingredientes nutraceuticos y funcionales para la industria alimentaria. Se concluye que tanto el garambullo como el capulín presentan una actividad antioxidante significativa, lo que resalta su valor como recursos naturales subutilizados que podrían tener aplicaciones beneficiosas para la salud.

Palabras clave: antioxidantes, garambullo, capulín.

Introducción

El garambullo o *Myrtillocactus geometrizans*, es una cactácea del reino Plantae, la cual posee características que la distinguen de otras cactáceas, ya que requiere menos agua para su crecimiento, posee un periodo de vida de más de 50 años, el garambullo crece en condiciones de clima seco y se desarrolla bien sobre las laderas de los cerros y partes bajas donde hay suelos de mejor calidad. Las semillas de garambullo germinan muy fácilmente en casi cualquier tipo de suelo por más rocoso y árido que se encuentre. El garambullo se encuentra con mayor distribución en los estados de Hidalgo, San Luis Potosí, Querétaro y Guanajuato, siendo estos además sus productores principales. La floración del garambullo ocurre en primavera. Es una especie susceptible al frío, y la temperatura más adecuada para ella durante el invierno no debe superar los 10 °C. Una de las características importantes del fruto es su pigmentación, la cual está dada por su contenido en betalaínas¹.

Las betalaínas se encuentran entre los pigmentos naturales de mayor interés para la industria alimentaria, además son reconocidas como moléculas nutraceuticas por poseer una potente actividad antioxidante. Siendo la propiedad antioxidante, una de las de mayor interés de las fitomoléculas ya que son capaces de proteger el cuerpo humano contra los daños provocados por radicales libres que atacan a macromoléculas tales como lípidos de membrana, proteínas e inclusive el ADN, conduciendo a trastornos de salud como cáncer, diabetes, envejecimiento y enfermedades neurodegenerativas².

Hay algunos componentes en las plantas que tienen propiedades antioxidantes y antibacterianas. Este es el caso del capulín (*Prunus serotina*), que ha sido utilizada con fines medicinales desde la época prehispánica para tratar diversas enfermedades, como la diarrea o las inflamaciones respiratorias asociadas con la tos. Esto es probablemente debido al hecho de que el capulín contiene una gran variedad de compuestos fenólicos tales como flavonoides y taninos, cuyas propiedades antioxidantes y antibacterianas están ampliamente documentadas. Un tipo de flavonoide presente en la piel de la fruta de capulín contiene antocianinas. Numerosos estudios han demostrado que las antocianinas son depuradores efectivos de oxígeno reactivo fisiológicamente relevante y otros radicales³.

Se han desarrollado numerosas pruebas para evaluar la actividad antioxidante y explicar la función de los antioxidantes. Los ensayos más comúnmente aceptados para evaluar la actividad antioxidante son los de la actividad antioxidante total, el poder reductor, el ensayo de DPPH, el barrido de aniones superóxido y el ensayo de barrido de radicales hidroxilo⁴.

Materiales y métodos

Obtención del fruto

El garambullo y el capulín se obtuvieron de una comunidad de la ciudad de Salvatierra siendo esta una ciudad dentro del estado de Guanajuato donde se producen mayormente estos frutos.

Obtención de los extractos

Como primer paso se lavó perfectamente el fruto y se extrajo la semilla, se dejó secar a temperatura de 57°C en estufa hasta peso constante. Una vez seco el fruto se pesó y posteriormente se molió el fruto seco y se realizó otro pesado de la molienda obtenida.

Extracto acuoso: De ambas frutas los extractos fueron preparados por adición de agua destilada en una proporción 1:2 de fruta seca pulverizada-agua respectivamente, posteriormente se dejó reposar por 72 h. Una vez transcurrido el tiempo de reposo se filtró y el filtrado se concentró en un rotavapor a 55°C, por último, se pasó la muestra a un vial limpio.

Extractos metanólico, etanólico y hexánico: Los polvos pulverizados de garambullo y capulín fueron cubiertos completamente con cada solvente, posteriormente se dejaron en maceración por 72 h. Una vez transcurrido el tiempo de reposo se filtró y se concentró en un rotavapor a 55°C.

Screening fitoquímico

Para la realización de las pruebas cualitativas de los extractos concentrados, se prepararon las muestras, pesando 0.2 g de cada extracto en un tubo Eppendorf. Posteriormente se añadió 200 µl de agua destilada a cada uno y 900 µl de etanol absoluto, se agitaron los tubos con ayuda de un vortex durante 5min y se centrifugaron a 10,000 rpm durante 10min.

Saponinas: para esta prueba se colocaron 200 µl de la muestra anterior en un tubo Eppendorf y se agregaron 200 µl de agua destilada, se agitó vigorosamente durante 3 min. La prueba se considera positiva con la aparición de una capa de espuma.

Flavonoides: se agregaron 200 µl de cada muestra en un tubo Eppendorf y se añadió a cada tubo 100 µl de NaOH al 2N. La prueba se considera positiva si se torna de color amarillo.

Quinonas: se colocaron 100 µl de cada muestra en un tubo Eppendorf y se añadieron 100 µl de H₂SO₄ a cada tubo. La prueba se considera con resultado positivo con la formación de un color rojo.

Glucósidos: se colocaron 200 µl de cada muestra en un tubo Eppendorf, se agregaron 300 µl de cloroformo y 4 gotas de NH₄Cl al 10% a cada tubo. La prueba se considera positiva si se torna de un color rosado.

Glucósidos Cardíacos: se agregaron 50 µl de cada muestra en un tubo Eppendorf, se añadieron 200 µl de ácido acético glacial y 4 gotas de FeCl₃ al 5%, posteriormente se añadió 60 µl de H₂SO₄. La prueba se considera positiva con la aparición de un anillo de color marrón en la interfase.

Terpenoides: se agregaron 50 µl de cada muestra en un tubo Eppendorf, se añadieron 200 µl de cloroformo y se agregaron 4 gotas de H₂SO₄ a cada tubo. Se considera una prueba positiva si se torna de un color café.

Cumarinas: se agregaron 100 µl de cada muestra en un tubo Eppendorf y se adicionaron 100 µl de NaOH al 10% en cada tubo. Se considera un resultado positivo si se torna una coloración amarilla.

Fenoles: se añadieron 100 µl de cada muestra en un tubo eppendorf, se añadieron 200 µl de agua destilada y 4 gotas de FeCl₃ al 10% a cada tubo. Se considera una prueba positiva con la formación de un color azul o verde.

Taninos: se colocaron 100 µl de cada extracto en un tubo Eppendorf, se añadieron 200 µl de FeCl₃ al 5% en cada tubo. Se considera una prueba positiva si se torna un color azul o verde.

Alcaloides: se colocaron 0.5 ml de cada extracto en un tubo eppendorf y se disolvieron en 1 ml de HCl al 37.5%, posteriormente se filtraron y se añadió 300 µl de reactivo Mayer a cada uno de los filtrados. Se considera una prueba positiva si se presenta un precipitado.

Actividad antioxidante

Se realizó una solución de DPPH a una concentración de 150 µM. Se colocaron 150 µl de cada extracto, se puso por triplicado en una microplaca de 96 pozos, posteriormente se agregaron 150 µl de DPPH. Una vez mezclada la muestra con el reactivo se midió la absorbancia a una longitud de onda de 490 nm al tiempo 0, 30, 60 y 120 min en incubación a temperatura ambiente. Para expresar la actividad antioxidante se usó la siguiente fórmula que muestra el porcentaje de captación de radicales libres.

$$\% \text{ Inhibición del radical DPPH} = \frac{\text{Absorbancia muestra (0 min)} - \text{Absorbancia muestra (30 min)}}{\text{Absorbancia muestra (0 min)}} * 100 \quad (1)$$

Determinación de fenoles totales

Se pesaron 0.1 g de cada extracto, se disolvieron en 1 ml de agua destilada, se centrifugó a 13,000 rpm durante 3 minutos. Se pusieron 30 µl de cada extracto por triplicado en una microplaca y se mezclaron con 150 µl del reactivo Folin-Ciocalteu durante 5 minutos a temperatura ambiente. Posteriormente se agregaron 120 µl Na₂CO₃ al 0.075%. Se incubaron las muestras durante 2 horas a temperatura ambiente. La absorbancia se midió a una longitud de onda de 750 nm. Los resultados se expresan como mg de ácido gálico.

Determinación de taninos condensados: Se colocaron 10 µl del extracto diluido 1:6 por triplicado en una microplaca, se agregaron 197 µl de una solución etanol-vainillina al 4%. Se añadieron 99 µl de H₂SO₄ lentamente para cada uno de los extractos, se incubaron durante 15 minutos a temperatura ambiente. Se midió la absorbancia a 490 nm. Los resultados se expresan en µg de catequina.

Resultados y discusión

Screening fitoquímico

En la tabla 1 se muestran los resultados de las pruebas colorimétricas de los frutos de garambullo y capulín, como se puede observar, para la prueba de saponinas casi todos los extractos obtuvieron resultados negativos excepto para el extracto de Hexano-Garambullo (HG). Los flavonoides y las cumarinas estuvieron presentes en todos los extractos. Las pruebas de alcaloides dieron negativas para los extractos acuosos de garambullo y capulín. Los extractos hexánicos presentaron prueba negativa para quinonas, glucósidos, fenoles y taninos. También se observa que los extractos en los que se obtuvieron más resultados positivos

fueron el metanólico y el etanólico; y el extracto en donde se obtuvieron mayormente resultados negativos fue el hexánico.

Tabla 1: Screening fitoquímico de los extractos de garambullo y capulín.

Metabolito	AG	AC	MG	MC	EG	EC	HG	HC
Saponinas	-	-	-	-	-	-	+	-
Flavonoides	+	+	+	+	+	+	+	+
Quinonas	+	+	+	+	+	+	-	-
Glucósidos	+	-	+	+	+	-	-	-
Glucósidos cardiacos	-	-	+	+	+	+	-	+
Terpenoides	+	+	+	+	+	+	+	-
Cumarinas	+	+	+	+	+	+	+	+
Fenoles	+	+	+	+	+	+	-	-
Taninos	+	+	+	+	+	+	-	-
Alcaloides	-	-	+	+	+	+	+	+

Extractos; AG: acuoso-garambullo, AC: acuoso-capulín, MG: metanol-garambullo, MC: metanol-capulín, EG: etanol-garambullo, EC: etanol-capulín, HG: hexano-garambullo, HC: hexano-capulín.

En el caso del capulín los extractos con mayores resultados positivos fueron el metanólico y el etanólico, y el extracto con resultados menos favorables fue el hexánico.

Actividad antioxidante

En la tabla 2 podemos observar que el porcentaje más alto de actividad antioxidante fue de 23.63% que corresponde al extracto acuoso de garambullo y 55.71% para el extracto metanólico de capulín, y el valor más alto de fenoles totales fue en el extracto EG con un valor de 256 mg EAG 100g de muestra y para taninos el extracto hexánico (HG) fue mayor con un valor de 2755.4 mg EC/g de muestra.

Tabla 2: Resultados cuantitativos de los extractos de garambullo y capulín.

Determinación	AG	AC	MG	MC	EG	EC	HG	HC
% de captación de radicales libres DPPH	23.63%	46.07%	11.40%	55.71%	8.30%	47.13%	6.80%	11.34%
Contenido de fenoles totales (mg EAG)	100	106	96.8	175.6	256	115	193.8	124.2
Cuantificación de taninos condensación de (mg EC/g de muestra)	1622.2	4522.2	2111	1518.4	2259.2	3548	2755.4	3696.2

Extractos; AG: acuoso-garambullo, AC: acuoso-capulín, MG: metanol-garambullo, MC: metanol-capulín, EG: etanol-garambullo, EC: etanol-capulín, HG: hexano-garambullo, HC: hexano-capulín.

En el caso del capulín el extracto con mayor contenido de fenoles totales también fue el metanólico con un valor de 175.6 mg EAG; y por último para taninos el extracto acuoso fue el de mayor valor con un resultado de 4522.2 mg EC/g de muestra.

Conclusiones

Los métodos de determinación de la actividad antioxidante se basan en comprobar cómo un agente oxidante induce daño oxidativo a un sustrato oxidable, daño que es inhibido o reducido en presencia de un antioxidante. Esta inhibición es proporcional a la actividad antioxidante del compuesto o la muestra. Por otra parte, hay ensayos que se basan en la cuantificación de los productos formados tras el proceso oxidativo.

Referente a los resultados obtenidos al realizar las pruebas cualitativas comprobamos la presencia de ciertos metabolitos secundarios, en la cual los extractos en donde dio un resultado positivo a la mayoría de esos metabolitos fueron el metanólico y el etanólico en ambos frutos; al realizar las pruebas cuantitativas comparando los extractos hubo cierta variación dependiendo de la prueba. En los porcentajes de la actividad antioxidante al comparar los dos frutos, el que tuvo un porcentaje mayor fue el de capulín, en todos los extractos presentó un porcentaje más alto en comparación con el garambullo; en la prueba de taninos obtuvimos resultados muy elevados en todos los extractos y en ambos frutos. Por último, al realizar todas las pruebas necesarias, podemos concluir que el garambullo y el capulín si presentan una actividad antioxidante considerable, por lo tanto, es necesario seguir estudiando estos dos frutos más a fondo para confirmar y descubrir las propiedades que presentan.

Bibliografía

- Gómez, A., Lira Saade, A., Madrigal, E., García, B., Soto, E., & Romo, M. (2015). Manejo y síndromes de domesticación del capulín (*Prunus serotina* Ehrh ssp. *capuli* (Cav.) Mc Vaugh) en comunidades del estado de Tlaxcala. *Agrociencia*, 49(2), 1405-3195.
- Frankel, E. N., & Meyer, A. C. (2000). The problems of using one-dimensional methods to evaluate multifunctional food and biological antioxidants. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80(13), 1925–1941. [https://doi.org/10.1002/1097-0010\(200010\)80:13<1925::AID-JSFA725>3.0.CO;2-4](https://doi.org/10.1002/1097-0010(200010)80:13<1925::AID-JSFA725>3.0.CO;2-4)
- INI. (1994). *Atlas de las plantas de la medicina tradicional mexicana* (Vol. I). Instituto Indigenista Mexicano.
- Einbond, L. S., Reynertson, K. A., Luo, X. D., Basile, M. J., & Kennelly, E. J. (2004). Anthocyanin antioxidants from edible fruits. *Food Chemistry*, 84(1), 23–28. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(03\)00162-6](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(03)00162-6)