

ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE Y CONTENIDO TOTAL DE FENOLES DE LOS EXTRACTOS ETANÓLICOS DE *Salvia aratocensis*, *Salvia Sochensis*, *Bidens reptans* y *Montanoa ovalifolia*

RESUMEN

En este trabajo se evaluaron las actividades antioxidantes, a través del ensayo de descoloramiento del radical 2,2-difenil-1-picrilhidracilo, DPPH, y el contenido total de fenoles mediante el método de Folin-Ciocalteu, de los extractos etanólicos de *Salvia aratocensis*, *Salvia sochensis*, *Bidens reptans* y *Montanoa ovalifolia*; los valores obtenidos fueron en orden respectivo: 0.0011 ± 0.0001 , 0.00190 ± 0.00005 , 0.0017 ± 0.0001 y 0.0073 ± 0.0001 (kg extracto/mmol iniciales de DPPH) y $0,30 \pm 0,05$; $0,17 \pm 0,01$; $0,40 \pm 0,04$ y $0,13 \pm 0,01$ (mg fenoles/100 mg de planta).

PALABRAS CLAVES: actividad antioxidante, DPPH, Contenido total de fenoles, Folin-Ciocalteu, *Salvia aratocensis*, *Salvia sochensis*, *Bidens reptans* y *Montanoa ovalifolia*.

ABSTRACT

The antioxidant activities (assessed through the DPPH radical decoloration test) and the total content of phenols (determined by means of the Folin-Ciocalteu method), of the etanolic extracts of Salvia aratocensis, Salvia sochensis, Bidens reptans and Montanoa ovalifolia were determined. The corresponding values were: $0,0011 \pm 0,0001$; $0,00190 \pm 0,00005$; $0,0016 \pm 0,0001$ y $0,0073 \pm 0,0001$ (kg extract/ initial mmol of DPPH), and $0,30 \pm 0,05$; $0,17 \pm 0,01$; $0,40 \pm 0,04$, and $0,13 \pm 0,01$ (mg phenols/100 mg of plant).

KEYWORDS: antioxidant activity, DPPH, total content of phenol, Folin-Ciocalteu, *Salvia aratocensis*, *Salvia Sochensis*, *Bidens reptans* and *Montanoa ovalifolia*.

ÁNGELA VÁSQUEZ CARDEÑO

Estudiante de Química
Universidad Industrial de Santander

MÓNICA CALA MOLINA

Estudiante de Química
Universidad Industrial de Santander

INGRID MIRANDA

Química, Est. Maestría en Química
Universidad Industrial de Santander

GEOVANNA TAFURT GARCÍA

Química, M. Sc.
Estudiante de Doctorado en Química
Universidad Industrial de Santander

JAIRO MARTÍNEZ MORALES

Químico, Ph D.
Profesor Titular, Escuela de Química
Universidad Industrial de Santander
rene@tucan.uis.edu.co

ELENA E. STASHENKO

Química, Ph D.
Profesora Titular, Escuela de Química
Universidad Industrial de Santander
Directora CENIVAM
elena@tucan.uis.edu.co

1. INTRODUCCIÓN

Los antioxidantes son compuestos que al retardar o inhibir la degradación oxidativa de las moléculas orgánicas, ayudan a prevenir la formación de colores y olores desagradables; estos pueden ser de origen natural o sintético, pero la mayoría de los utilizados comercialmente son de origen sintético. Debido a que algunos de los antioxidantes sintéticos, son altamente inestables bajo las condiciones de trabajo y en ciertos casos ocasionan efectos adversos sobre la salud de

animales de experimentación, los investigadores han intentado encontrar sustancias más estables, eficaces, versátiles y/o menos tóxicas. Para cumplir con este objetivo, se han obtenido diferentes tipos de compuestos a partir de rutas sintéticas o fuentes naturales. Así por ejemplo, entre los compuestos de origen natural se encuentran: carotenoides, vitaminas C y E, tocoferoles, tocotrienoles, flavonoides y licopenos, entre otros [1]. Para evaluar la actividad antioxidante de un compuesto o de una mezcla, se puede utilizar el método de descoloramiento del radical DPPH (2,2-difenil-1-

picrilhidracilo), entre otros métodos [2]. A partir del ensayo con DPPH[•], se obtiene la concentración efectiva, EC, con la cual se disminuye en un 50% la concentración inicial de DPPH[•] (EC₅₀, kg extracto/mmol iniciales de DPPH[•]). Adicionalmente, compuestos fenólicos como los tocoferoles, tocotrienoles y flavonoides presentan una capacidad de capturar radicales alta, por lo que en muchas ocasiones resulta de gran utilidad la evaluación del contenido total de fenoles, ya que de esta forma se podría determinar la relación entre ésta y el EC₅₀. En este trabajo se evaluaron las actividades antioxidantes de los extractos etanólicos de *Salvia aratocensis*, *Salvia sochensis*, *Bidens reptans* y *Montanoa ovalifolia*, a través del ensayo de descoloramiento del radical DPPH. Adicionalmente, el contenido total de fenoles (mg fenoles/100 mg de planta), de los extractos se determinó mediante el método de Folin-Ciocalteu [3].

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Reactivos y materiales. La vitamina E (97%), el DPPH (90%), el ácido gálico (98%), el reactivo de Folin-Ciocalteu (2N) y el etanol (99.8%) se adquirieron de Sigma-Aldrich Chemie. Los datos espectrofotométricos se obtuvieron en un espectrofotómetro SHIMADZU modelo 2401PC. Para las medidas de absorbancia en el rango visible se utilizaron cubetas (1cmx1cmx4cm) de cuarzo.

2.2. Material vegetal. Las especies *Salvia aratocensis* (N° Col 517740), *Salvia sochensi* (N° Col 517730), *Bidens reptans* (N° Col 517715) y *Montanoa ovalifolia* (N° Col 517718), fueron recogidas en la región de Boyacá, vertiente oriental de la Cordillera oriental e identificadas por el Dr. José Luís Fernández del Herbario Nacional de Colombia, Universidad Nacional de Colombia, sede Bogotá, según los N° Col ya indicados.

2.3. Extracción del material vegetal. Se pesaron hojas secas de *Salvia aratocensis* (47,39 g), *Salvia sochensis* (79,45 g), *Bidens reptans* (40,97 g) y *Montanoa ovalifolia* (36,97 g). Luego de depositarlas en frascos de vidrio, se les añadió etanol hasta cubrir el material vegetal. Las extracciones exhaustivas se realizaron mediante agitación a temperatura ambiente durante 30 min, cada 8 horas. Los extractos etanólicos obtenidos se llevaron a sequedad en un rotaevaporador.

2.4. Ensayo con DPPH. Este ensayo se ejecutó según lo indicado por W. Brand-Williams, M. E. Cuvelier, y C. Berset. [2]. Se evaluaron los estados estacionarios para cinco valores de concentraciones diferentes, de los extractos etanólicos y la vitamina E. Posteriormente, los valores de absorbancia en el estado estacionario, fueron utilizados para determinar el % de DPPH[•] remanente, para cada una de las EC adicionadas. Luego, se estableció la correlación entre el porcentaje remanente y la EC, y a partir de allí se interpoló el valor de EC, correspondiente al 50% de DPPH[•] remanente (EC₅₀)[4,5].

2.5. Contenido total de fenoles. El contenido total de fenoles fue estimado como equivalentes de ácido gálico, según modificación realizada al procedimiento descrito por Dastmalchi, K. et al. [3], a saber, una alícuota de 1 mL de extracto fue transferida a un tubo de ensayo que contenía 6 mL de agua destilada. Luego, se adicionaron 500 µL del reactivo Folin-Ciocalteu. Después de 5 min, se añadieron 1,5 mL de una solución de Na₂CO₃ (200g/L) y agua hasta completar un volumen de 10 mL. Después de dos horas de reacción a temperatura ambiente, se determinó la absorbancia a 760 nm y se comparó con una curva de calibración realizada con ácido gálico.

2. RESULTADOS

En la Tabla 1 se indican los valores de EC₅₀ obtenidos para la vitamina E y los extractos etanólicos de *Salvia aratocensis*, *Salvia sochensis*, *Bidens reptans* y *Montanoa ovalifolia*.

Especie	EC ₅₀ (kg extracto/mmol DPPH)
<i>Salvia aratocensis</i>	0.0011 ± 0.0001
<i>Bidens reptans</i>	0.0016 ± 0.0001
<i>Salvia sochensis</i>	0.0019 ± 0.00005
<i>Montanoa ovalifolia</i>	0.0073 ± 0.0001
Vitamina E	0.00011

Tabla 1. Actividad antioxidante de los extractos etanólicos usando el ensayo con el radical DPPH.

A partir de los resultados mostrados en la Tabla 1, se puede indicar que los extractos etanólicos de *Salvia aratocensis*, *Bidens reptans* y *Salvia sochensis* al presentar valores de EC₅₀ similares entre sí, poseen una capacidad análoga de capturar al radical DPPH[•], y muy superior al extracto etanólico de *Montanoa ovalifolia*. A su vez, aunque los extractos de *Salvia aratocensis*, *Bidens reptans* y *Salvia sochensis* presentaron actividades antioxidantes diez veces menores en relación con la vitamina E, podrían convertirse en extractos candidatos para el aislamiento de sustancias activas como antioxidantes, puesto que este caso la actividad observada equivale al efecto total (sinérgico o no) de la mezcla.

En la Tabla 2 se indican los valores hallados del contenido total de fenoles (mg fenoles/100 mg de planta), de los extractos etanólicos de *Salvia aratocensis*, *Salvia sochensis*, *Bidens reptans* y *Montanoa ovalifolia*.

Nombre	Concentración ^a (mg fenoles/100 mg de planta)
<i>Salvia aratocensis</i>	0.31 ± 0.05
<i>Bidens reptans</i>	0.40 ± 0.04
<i>Salvia sochensis</i>	0.17 ± 0.01
<i>Montanoa ovalifolia</i>	0.13 ± 0.01

^a Equivalentes de ácido gálico

Tabla 2. Contenido total de fenoles en los extractos etanólicos determinado mediante el método Folin-Ciocalteu.

Según la Tabla 2, los extractos etanólicos de *Salvia aratocensis* y *Bidens reptans*, poseen el mayor contenido total de fenoles.

4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Los extractos etanólicos de *Salvia aratocensis* y *Bidens reptans*, presentaron la mayor capacidad de capturar el radical DPPH. A su vez, tuvieron el mayor contenido total de fenoles. Mientras que, lo contrario sucede con los extractos de *Salvia sochensis* y *Montanoa ovalifolia*.

En general, los resultados obtenidos dan un indicio sobre la posibilidad de utilizar las especies *Salvia aratocensis* y *Bidens reptans* como plantas promisorias para el aislamiento de sustancias fenólicas con actividad antioxidante.

5. AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a Colciencias por su apoyo financiero a través del Centro de Excelencia CENIVAM (*Contrato RC-432-2004*), a FUNDACOFAN por suministrar el material vegetal necesario para el desarrollo de esta investigación, al Herbario Nacional Colombiano y al Laboratorio de Cromatografía de la Universidad de Santander.

6. BIBLIOGRAFIA

[1] POKORNY, J. YANISHLIEVA, N. GORDON, M. Antioxidants in Food: Practical Applications; CRC Press, Woodhead Publishing Limited, Cambridge, 2001.

[2] BRAND-WILLIAMS, W. CUVELIER, M. BERSET, C. Lebensm. Wiss. U. Technol., 28 (1995) 25.

[3] DASTMALCHI, K. DORMAN, D. KOSARB, M. HILTUNEN, R. Chemical composition and *in vitro* antioxidant evaluation of a watersoluble Moldavian balm (*Dracocephalum moldavica* L.) extract, LWT 40, 240 (2007), 239–248.

[4] JARAMILLO, B.E.; Estudio de la actividad antioxidante in vitro de aceites esenciales de plantas tropicales y compuestos nitrogenados sintéticos; Tesis de grado (Doctorado en química); 2004;pp 147-169.

[5] PUERTAS, M; HILLEBRAND, S; STASHENKO, E; WINTERHALTER, P. In vitro radical scavenging activity of essential oils from Columbian plants and fractions from oregano (*Origanum vulgare* L.) essential oil; Flavour Fragr. J. 2002; 17: pp 380–384.