

Análisis y determinación de la actividad antioxidante del fruto de *Byrsonima crassifolia* mediante el radical DPPH

ESPINOSA-ENRÍQUEZ, José Luis*†, GONZALES-JIMÉNEZ, Erik Francisco`, BAÑOS-ESPÍNOLA, Bernardette` y AYALA-GUERRERO, Luis Mario`

`Universidad Tecnológica de la Costa Grande de Guerrero. Carretera Nacional Acapulco- Zihuatanejo Km. 201. Ejido el Cocotero, Petatlán, Gro. CP. 40830

`Escuela Nacional de Ciencias Biológicas del Instituto Politécnico Nacional.Unidad Profesional Lázaro Cárdenas, Prologación de carpío y Plan de Ayala s/n, Col. Santo Tomas C.P. 11340. Delegación Miguel Hidalgo

Recibido Junio 4, 2014; Aceptado Octubre 13, 2014

Resumen

El nanche (*Byrsonima crassifolia*) es una planta subutilizada en México; sus frutos son comestibles y usados como medicamentos tradicionales contra infecciones bacterianas humanas, sin embargo, los reportes científicos que avalen los usos y promuevan su consumo son escasos. (Pio-Leon et al., 2013). Es posible que los beneficios atribuidos al fruto de *Byrsonima crassifolia* sea causado por diferentes fitoquímicos entre los que resaltan aquellos que confieren capacidad antioxidante. Distintos métodos han sido propuestos para la determinación de la capacidad antioxidante de plantas medicinales y vegetales entre los que destacan el método del ABTS, ORAC y DPPH (Oueslati et al., 2013).

Antioxidante, *Byrsonima crassifolia*, radical.

Abstract

The nanche (Nanche) is an underutilized plant in Mexico; its fruits are edible and used as traditional medicines against human bacterial infections, however, scientists reports that support the uses and promote their use are scarce. (Pio-Leon et al., 2013). It is possible that the benefits attributed to the fruit of Nanche is caused by different phytochemicals including highlight those that confer antioxidant capacity. Different methods have been proposed for the determination of the antioxidant capacity of medicinal plants and vegetables among which the ABTS method, ORAC and DPPH (Oueslati et al., 2013).

Antioxidant, Nanche, radical.

Citación: ESPINOSA-ENRÍQUEZ, José Luis, GONZALES-JIMÉNEZ, Erik Francisco, BAÑOS-ESPÍNOLA, Bernardette y AYALA-GUERRERO, Luis Mario. Análisis y determinación de la actividad antioxidante del fruto de *Byrsonima crassifolia* mediante el radical DPPH. Foro de Estudios sobre Guerrero. Mayo 2013 Abril 2014, 1-1: 103-106

* Correspondencia al Autor (Correo Electrónico: jespinoza_enriquez@hotmail.com)

† Investigador contribuyendo como primer autor.

Introducción

En el presente trabajo se aplicó el método del DPPH para evaluar la capacidad antioxidante del fruto de *Byrsonima crassifolia*, el radical DPPH (1,1-difenil-2-picrylhidrazil) tiene su máxima absorbancia a 515 nm en metanol y la adición de antioxidantes decrece la absorbancia de forma proporcional a la actividad antioxidante, del antioxidante evaluado (Brand-Williams et al., 1995.) este método presenta la ventaja, cuando el radical utilizado es comercialmente disponible y estable, se ha utilizado en la determinación de distintos tipos de muestra (frutas, jugos, aceite de olivo y vino) (Arnous et al., 2001). Existen distintas formas de expresar los resultados de la actividad antioxidante, uno de los más conocidos es TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity), el cual fue utilizado en primer lugar para el método ABTS esta forma es una comparación de la actividad antioxidante de la muestra evaluada con "Trolox" el cual es un antioxidante de referencia, hidrosoluble análogo de la vitamina E. (Villaño et al., 2007).

Objetivos

- Determinar la actividad antioxidante en el extracto de *Byrsonima crassifolia* por el método de DPPH.
- Analizar la capacidad antioxidante de *Byrsonima crassifolia* para aplicarla en la industria de alimentos.

Metodología

La extracción de los compuestos fenólicos se realizó de acuerdo a la metodología propuesta por Saura-Calixto et al., 2007 estableciendo el siguiente protocolo; 1 g de muestra es tratada con una mezcla metanol-agua 1:1 v/v durante 1 h en agitación constante a temperatura ambiente, transcurrido este tiempo se decanta el sobrenadante y el residuo es tratado con una mezcla de acetona-agua 7:3 v/v durante 1 h a temperatura ambiente bajo agitación constante.

Posteriormente se centrifugan los sobrenadantes a 3000 g durante 15 min y finalmente se combinan para reducir el volumen en un rotavapor al vacío a 40 °C, posteriormente se afora a 25 mL con etanol y se conserva protegido de la luz a -20 °C hasta su posterior análisis.

Método del DPPH

En este ensayo, se evalúa la capacidad que tiene un posible antioxidante para neutralizar un radical. El compuesto 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH) es un radical estable que presenta una intensa coloración violeta y que absorbe radiación a 517 nm, de forma que su concentración se puede determinar mediante métodos espectrofotométricos. En el ensayo se determina la concentración inicial de DPPH y la concentración resultante una vez que se ha añadido el posible antioxidante, de forma que una disminución de la absorción de radiación se traduce en una disminución de la concentración de DPPH debida a la cesión de electrones de la especie antioxidante. Se introducen en la cubeta del espectrofotómetro 2 mL de la disolución de DPPH 0.1 mM. Se le añade 0.05 mL del extracto obtenido previamente y se va leyendo la absorbancia a 517 nm. Si la disminución de absorción es muy rápida, se realizará una dilución apropiada del extracto. Se determinará el tiempo en que la concentración de DPPH se reduce a la mitad (EC50) y el tiempo necesario para alcanzar dicha reducción (TEC50).

Resultados

En la figura 1 se observa los resultados obtenidos para el cálculo de EC50 del fruto de *Byrsonima crassifolia*, las concentraciones evaluadas del fruto fueron 1.6, 3.2, 6.4, 12.8 y 16 mg (fruto fresco) puede observarse que existe una relación dosis-dependiente obteniéndose el 96% de inhibición del DPPH con 16 mg de fruto, y 17 % de inhibición al evaluarse 1.6 mg de fruto.

La EC50 obtenida fue de 3.74 mg la cual fue obtenida de forma gráfica utilizando el software Microsoft Excel 2010, dicha grafica mostró un buen ajuste a un modelo exponencial con un coeficiente de correlación superior a 0.98 ($R^2 = 0.9825$).

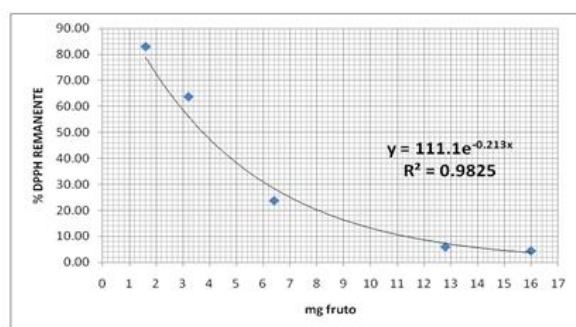


Figura 1 Determinación de EC50 del fruto de *Byrsonima crassifolia* comparado con radical DPPH.

Discusión

Existen distintos reportes en la literatura acerca de distintos datos obtenidos de EC50 para sustancias antioxidantes como el Trolox y quercetina (flavonoide) Spranger et al 2008 reportan valores de EC50 de 0.199 para Trolox y 0.124 (moles/moles DPPH) para quercetina sin embargo los datos no pueden ser del todo comparables con este trabajo debido a la discrepancia de las unidades de expresión, sin embargo en el mismo reporte la TEC50 la cual nos indica el tiempo necesario (minutos) para alcanzar la EC50 sí puede compararse, en el presente trabajo la TEC50 hallada fue 61 minutos, (Figura 2) en comparación con el Trolox y la quercetina los cuales muestran valores de 4.1 y 25.7 min (Spranger et al 2011), lo cual muestra una alta eficiencia del Trolox en comparación con moléculas de tipo flavonoide (quercetina) la cual es más lenta su velocidad de neutralización de radicales libres.

Este comportamiento es general de distintas moléculas, por ejemplo la (+)-catequina en el mismo estudio muestra valor de 32.4 min, lo cual confirma que los polifenoles de naturaleza de flavonoides muestran TEC50 más alta, en lo que respecta a la muestra del fruto de nanche este valor obtenido (61 minutos) nos indica la presencia de compuestos flavonoides los cuales provocan este efecto, sin embargo aunque parezca ser un valor alto esto puede ser explicado debido a la pureza del extracto analizado debido a que el proceso de extracción de compuestos fenólicos no es selectivo y debido a la polaridad de la mezcla de disolventes utilizados es posible que se tengan impurezas principalmente de azúcares los cuales se encuentran en cantidades importantes en el fruto fresco, sin embargo bajo estas condiciones se ha demostrado que el fruto de nanche tiene actividad antioxidante la cual puede tener distintos usos en la industria de alimentos.

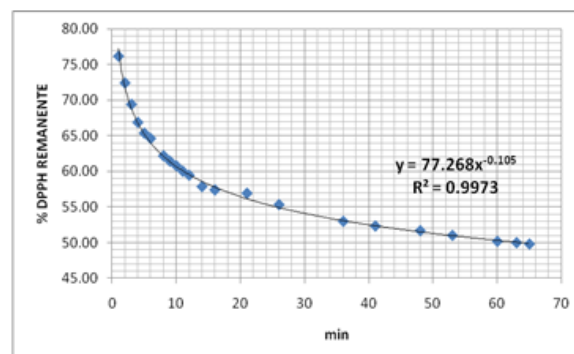


Figura 2 Determinación de TEC50 del fruto de *Byrsonima crassifolia* frente al radical DPPH.

Conclusión

En el presente trabajo se confirmó la actividad antioxidante del fruto de nanche, los indicios muestran que los componentes involucrados en esta actividad son compuestos flavonoides debido a la TEC50 mostrada en lo que respecta a la EC50 se encontró un efecto dosis-dependiente la cual varió desde el 17 % de inhibición al evaluarse 1.6 mg del fruto hasta el 96% de inhibición del DPPH con 16 mg de fruto.

Referencias

Pío-León J.F., Díaz-Camacho, S.P., López-López, M.A., Uribe-Beltrán, M.J., Willms, K., López-Angulo, G., Montes-Avila, J., Delgado-Vargas, F. 2013 Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas 12 (4): 356 – 364

Arnous, D.P. Makris, P. Kefalas, J. Agric. Food Chem. (2001) 49 5736.

Brand-Williams, M.E. Cuvelier, C. Berset, Food Sci. Technol. (1995) 28 25.

Oueslati Samia a, Najla Trabelsia, Mondher Boulaabaa, Jean Legaultb, Chedly Abdellya, Riadh Ksouri. Industrial Crops and Products (2012) 36 513–518.

Villaño a, M.S. Fernández-Pachón a, M.L. Moya, A.M. Troncoso, M.C. García-Parrilla. (2007) Talanta 71 230–235

Goupy, P. C. Dufour, M. Loonis, O. Dangles, J. Agric. Food Chem. (2003) 51 615.