

Obtención y evaluación de propiedades antioxidantes de extractos de orégano (*Lippia graveolens*), eucalipto (*Eucalyptus cinerea*) y chile jalapeño (*Capsicum annuum cv.*).

Villagomez Zaldivar G.^{1,*}, González Victoriano L.¹, Chanona Pérez J.¹, Ferrer González B.¹, Gutiérrez Martínez M.¹

¹ Instituto Politécnico Nacional. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas. Av. Wilfrido Massieu s/n Esq. Manuel L. Stampa s/n. Col. Zacatenco, C.P. 07738. Delegación Gustavo A. Madero, Ciudad de México.
*gvillagomez1500@alumno.ipn.mx

RESUMEN

En este estudio se determinaron propiedades antioxidantes y contenido de fenoles totales de extractos de orégano (*Lippia graveolens*), eucalipto (*Eucalyptus cinerea*) y chile jalapeño (*Capsicum annuum cv.*). Para ello, el contenido de fenoles totales se determinó mediante la técnica de Folin Ciocalteu y actividad antioxidante por el método de DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazil) a las horas 1, 2 y 3 correspondientes a la duración del proceso de extracción. Los resultados obtenidos indicaron que la mayor cantidad de compuestos fenólicos fue presentada por el orégano a la hora 3 (23.465±0.143 mg AG/ g MS), con respecto a los demás extractos vegetales. Mientras que para la actividad antioxidante el eucalipto presentó el mayor porcentaje de inhibición (80.34 %), frente a la captación de radicales libres de DPPH, reflejando de esta manera su alta actividad antioxidante. De los resultados anteriores, se puede concluir que el extracto de eucalipto fue el que tuvo mayor potencial nutracéutico, sin embargo, tanto extracto de chile como de orégano presentaron buenas propiedades antioxidantes y en consecuencia podrían tener buenas propiedades nutracéuticas, las cuales podrían aprovecharse para futuras aplicaciones en áreas como tecnología de alimentos, farmacéutica, industria cosmética, agrícola, entre otros.

Palabras clave: Secado, Extractos vegetales, Polifenoles, Antioxidantes, Capacidad nutracéutica

ABSTRACT

In this study, antioxidant properties and total phenol content of extracts of oregano (*Lippia graveolens*), eucalyptus (*Eucalyptus cinerea*) and jalapeno pepper (*Capsicum annuum cv.*) were determined. To do this, the total phenol content was determined using the Folin Ciocalteu technique and antioxidant activity by the DPPH method (1,1-diphenyl-2-picrilhidrazil) at hours 1, 2, and 3 corresponding to the duration of the extraction process. The results obtained indicated that the highest amount of phenolic compounds was presented by oregano at hour 3 (23,465±0,143 mg AG / g MS), with respect to the other plant extracts. While for antioxidant activity eucalyptus presented the highest percentage of inhibition (80.34%), compared to the uptake of free radicals of DPPH, thus reflecting its high antioxidant activity. From the above results, it can be concluded that eucalyptus extract was the one that had the greatest nutraceutical potential, however, both chili and oregano extract presented good antioxidant properties and consequently could have good nutraceutical properties, which could be used for future applications in areas such as food technology, pharmaceuticals, cosmetic industry, agricultural, among others.

Key words: Drying, Vegetable extracts, Polyphenols, Antioxidants, Nutraceutical capacity

INTRODUCCIÓN

Los extractos naturales de diversas plantas y vegetales contienen una gran variedad de compuestos fitoquímicos, que son de suma importancia, puesto que tienen extensas aplicaciones en diversas áreas, principalmente por su potencial nutraceutico. En la actualidad, los nutraceuticos vegetales han sido ampliamente estudiadas debido a sus efectos potencialmente benéficos, tales efectos se han atribuido a la presencia de compuestos bioactivos que están presentes de forma natural en los alimentos o plantas. Estos compuestos bioactivos se clasifican principalmente en terpenos, compuestos fenolicos y alcaloides (Taroncher *et al.*, 2021).

Los compuestos fenolicos pueden extraerse de alimentos de origen vegetal (frutas y legumbres) o plantas, son compuestos que proporcionan atributos de calidad como sabor, apariencia y otras propiedades organolépticas. Sin embargo, su importancia radica, en que son los responsables de los principales efectos de los nutraceuticos vegetales, ya que confieren capacidad antioxidante, en algunos casos contribuyen a la actividad antimicrobiana, o bien sobre las propiedades medicinales, etc. (Bostanci *et al.*, 2022).

Diversas investigaciones han demostrado que los extractos obtenidos de plantas presentan alto contenido de compuestos bioactivos, antibacterianos, antifungicos, y propiedades anticancerígenas (Mahato *et al.*, 2022). Es importante mencionar que el chile jalapeño (*Capsicum annuum cv.*), el eucalipto (*Eucalyptus cinerea*) y el orégano (*Lippia graveolens*), son materias vegetales que comparten la característica de poseer buena actividad antioxidante, debido a su alto contenido compuestos fenolicos (Torres, 2020; Flores-Hernández *et al.*, 2011). Aunado a lo anterior, el método de extracción de Soxhlet es una técnica que ha adquirido popularidad con el paso de los años puesto que permite la extracción de componentes importantes de la materia vegetal, y esto es dado principalmente por la característica de reflujo que posee esta técnica (Caldas, 2012; Cazar & Toledo, 2021).

El presente trabajo busca la implementación de un secado de 3 alimentos vegetales seguido del uso de la técnica de Soxhlet para obtener una buena extracción de compuestos fenolicos presentes en las muestras. Además, esta investigación también se centra en la determinación de compuestos bioactivos y actividad antioxidante de los extractos vegetales con la finalidad de conocer sus propiedades nutraceuticas, lo cual ayudara a determinar su uso para futuras aplicaciones.

MATERIALES Y MÉTODOS

Procesamiento de la muestra

Las muestras vegetales de orégano (*Lippia graveolens*), eucalipto (*Eucalyptus cinerea*) y chile (*Capsicum annuum cv.*) fueron lavadas, secadas y reducidas de tamaño de partícula para su posterior determinación de color mediante el colorímetro (COLORIMETER CS-10 CHN Spec). Obteniendo así los parámetros L^* , a^* y b^* , según la norma CIELAB, esta técnica también se realizó para las muestras deshidratadas deshidratadas (Mendoza-Sánchez *et al.*, 2015; Boroski *et al.* 2012; Cardona Serrate, 2020).

Posteriormente, se realizó un secado convectivo, mediante un secador de lecho fluidizado Sherwood Scientific, a 60° C durante 3 h tanto para el orégano, como el eucalipto. Mientras que para el chile jalapeño la deshidratación se llevó a cabo en un secador en charolas (JAYETEC) a una temperatura de 60°C durante 4 h.

Obtención de extractos

Los extractos se obtuvieron pesando 15 g de materia seca de cada muestra vegetal, los cuales se procesaron individualmente por medio del método de Soxhlet, utilizando 150 mL de etanol al 95%, por un periodo de 3 horas. Se tomaron muestras de cada extracción a la hora 1, 2 y 3 posterior al inicio del reflujo dentro del sistema (González-Guñez *et al.*, 2016; Delgado, 2018; Arias *et al.*, 2020). Posteriormente, se realizó la concentración de los extractos, evaporando el disolvente en rotavapor BUCHI R-300 a presión reducida (126 mbar). Finalmente, los extractos se trasvasaron a contenedores ámbar y se conservaron en refrigeración a 4°C.

Contenido de fenoles totales

El contenido de fenoles totales se determinó por la técnica colorimétrica de Folin Ciocalteu. Se realizaron las diluciones correspondientes para las muestras de cada extracto, tomadas a intervalos de una hora, enseguida se adicionaron alícuotas de 1.58 mL de dichas diluciones, se oxidaron con el reactivo de Folin-Ciocalteu, después de 8 min la reacción se neutralizó con carbonato de sodio al 20%. La mezcla se incubó durante 15 min a 50°C. Posteriormente la absorbancia se midió a 765 nm frente a un blanco. Los resultados se expresaron como mg de equivalentes de ácido gálico AG/g de MS (muestra seca) (Mendoza-Sánchez, 2015).

Potencial nutracéutico

Se cuantificó la actividad antioxidante por medio del método de radicales libres DPPH. Inicialmente se diluyeron las muestras tomadas a diferentes lapsos de tiempo de cada extracto individual. Se mezclaron 0.05 mL de las diluciones correspondientes, con 1.95 mL de solución DPPH metanol (0.1 mM). enseguida, se trazó una cinética de reacción durante una hora, determinando así, el porcentaje de inhibición a 517 nm (Mendoza-Sánchez *et al.*, 2015; Muñoz Jáuregui *et al.*, 2014; Granados *et al.*, 2015; Sarmiento, 2020). Los resultados se expresaron en porcentaje de inhibición.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El secado es un proceso recomendable de llevar a cabo previo a operaciones de maceración y extracción sólido-líquido de materiales orgánicos, dado que éste rompe la pared celular de los mismos, facilitando la interacción entre el solvente y el interior de la estructura del sólido. Aunado a lo anterior, se favorece un contacto más efectivo entre el material orgánico y el solvente, ya que el rompimiento de la pared celular maximiza el área de transferencia de masa que a su vez propicia un mejor fluido interfacial (De la Cruz-Leonardo, 2011). El patrón de comportamiento de las muestras secas se mantuvo en las tres materias vegetales, como se observa en la Fig. 1, el parámetro luminosidad L^* aumentó, al igual que b^* (tonos que van de amarillo a azul). Mientras que valores de a^* (denota tonos de rojo a verde) tuvo una variación mínima con respecto a la inicial, lo que indica en general que las muestras secas se desplazaron hacia el blanco y amarillo, siendo así, más luminosas, por otro lado, valores de a^* indican que los tonos verdes se mantuvieron. En general dichos resultados pueden ser causa del fenómeno de pardeamiento químico o enzimático provocado por el proceso de secado (Cardona, 2020). De la misma forma, se puede atribuir una relación entre el color y la cantidad de fenoles presentes en la materia vegetal, ya que se sabe que dichos compuestos contribuyen a la pigmentación de muchas partes de las plantas, además, cuando los fenoles son oxidados se da lugar a la formación de las quinonas, las cuales propician un color pardo, como el mencionado con anterioridad. (Gimeno-Creus, 2004).

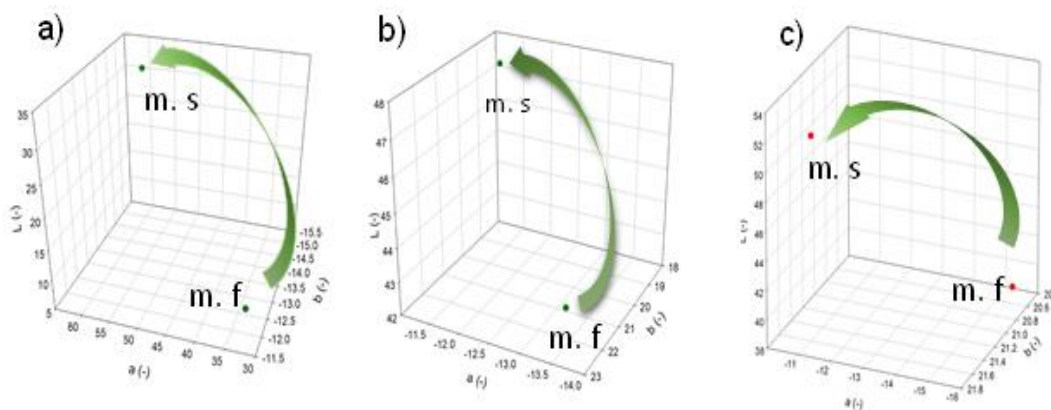


Figura 1. Gráficas de desplazamientos de los parámetros de color CIELab de a) Chile jalapeño (*Capsicum annum cv.*); b) Orégano (*Lippia graveolens*) y c) Eucalipto (*Eucalyptus cinérea*). m.s- muestra seca, m.f- muestra fresca.

Cuantificación de fenoles totales.

La presencia de compuestos fenólicos es una característica de gran importancia, puesto que principalmente se les atribuye la actividad antibacteriana y/o antifúngica presente en las materias vegetales. Asimismo, muestran una relevante actividad antioxidante que puede proteger al cuerpo humano de los radicales libres (Torres, 2020). En la Fig. 2, se muestran los resultados del contenido de fenoles totales presentes en el orégano (*Lippia graveolens*), chile (*Capsicum annum cv.*) y eucalipto (*Eucalyptus cinérea*), calculados como los equivalentes de AG, datos que presentaron una variación significativa entre ellos. Como se observa, la mayor cantidad de polifenoles totales fue detectada en el orégano a la tercera hora de extracción con un valor de 23.465 ± 0.143 mg AG/g MS, seguido del eucalipto con 19.459 ± 0.162 mg AG/g MS; finalmente quedando el chile con 9.617 ± 0.0386 mg AG/g MS. Los valores reportados en bibliografía de las tres diferentes muestras, obtenidas por diversos métodos de extracción, son de 6.80-8.60, 1.96, 3.49-5.04 mg AG/g MS de orégano, eucalipto y chile, respectivamente. Dado lo anterior, se puede atribuir el aumento en la cantidad de fenoles al pretratamiento aplicado a las muestras, así como al método de extracción efectuado.

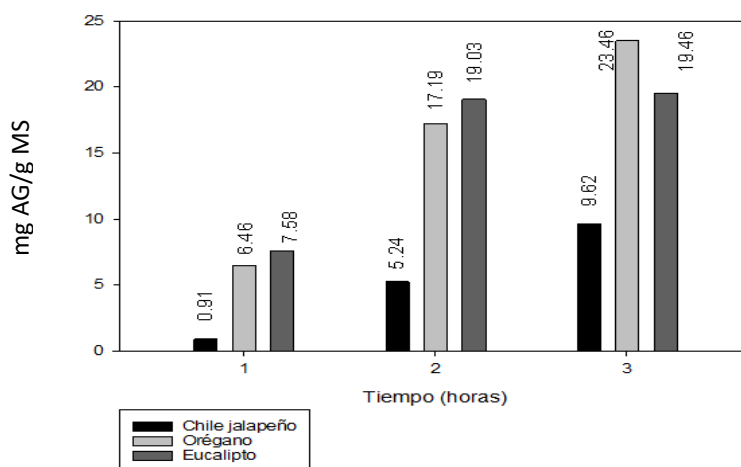


Figura 2. Cuantificación de polifenoles totales de los extractos de chile jalapeño (*Capsicum annum cv.*), orégano (*Lippia graveolens*) y eucalipto (*Eucalyptus cinérea*).

Propiedad nutraceutica

La actividad antioxidante se determinó sobre la base de actividad de barrido de radicales libres DPPH. Los resultados obtenidos se encuentran reflejados en la Fig. 3, a las diferentes h de extracción, donde se observa que a la hora 3 se obtuvo mayor actividad antioxidante para los tres extractos al minuto 60, presentando un porcentaje de inhibición de 52.46% para orégano, 80.34% en el caso de eucalipto, y 16.32% para chile jalapeño. Dado lo anterior, se observa que el eucalipto es la muestra que presenta mayor actividad antioxidante, sin embargo, se esperaba que el orégano presentará mayor porcentaje de inhibición, dado que fue el que obtuvo mayor cantidad de fenoles totales, no obstante, esto puede ser debido al tipo de fenoles presentes en las muestras, además que el DPPH solo puede disolverse en medio orgánico, por lo que mide preferentemente la capacidad antioxidante de compuestos poco polares o no polares (Torrenegra-Alarcón *et al.*, 2019; Boroski *et al.*, 2012), de acuerdo a lo mencionado, si se considera que las estructuras de los principales compuestos reportados en bibliografía se mantienen durante el proceso de obtención de los mismos, entonces, se puede deducir que las estructuras de dichos compuestos influyen, lo que se puede apreciar en la Fig. 4, donde el eucaliptol tiene una estructura considerada estable, que, como resultado, puede presentar menor polaridad que el terpinen-4-ol, que a su vez dada su estructura, pudiese tener una menor polaridad a la de la capsaicina.

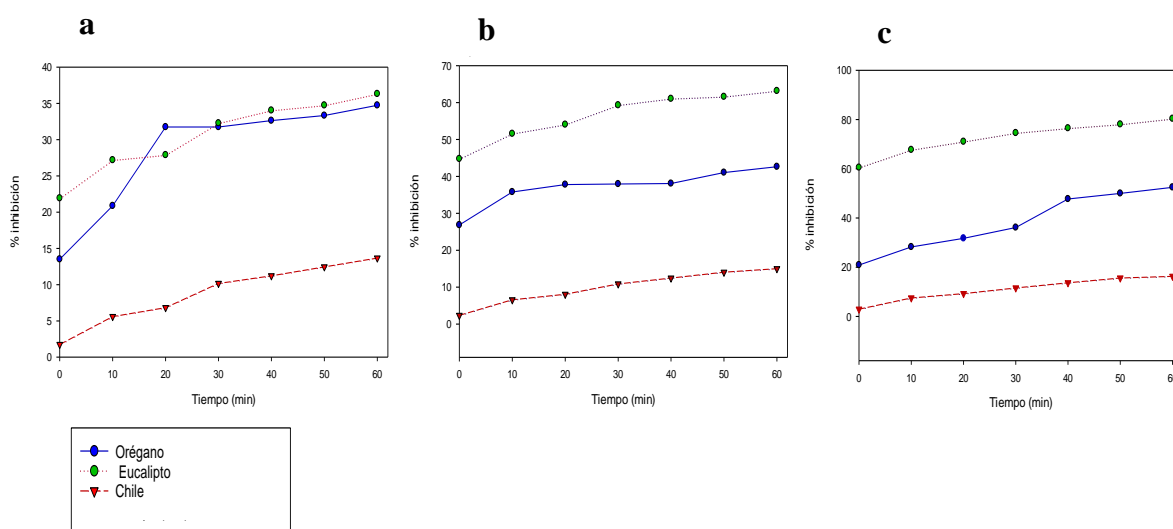


Figura 3. Determinación del % de inhibición mediante un barrido de radicales libres DPPH de los extractos, a diferentes tiempos: a) Hora 1 de extracción; b) Hora 2 de extracción; c) Hora 3 de extracción.

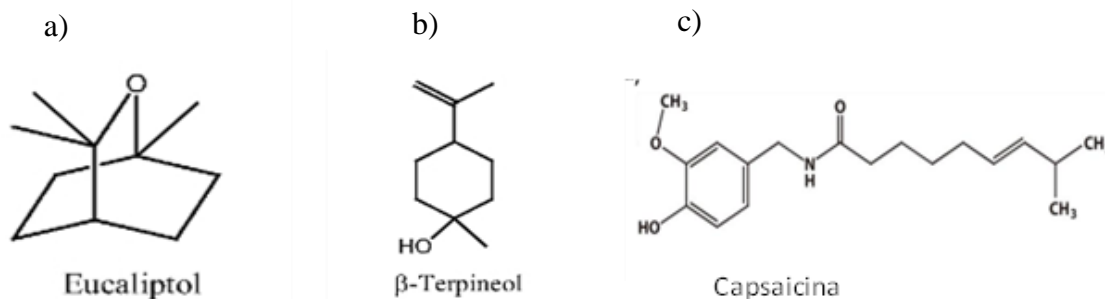


Figura 4. Componentes principales presentes en extractos de a) Eucalipto (*Eucalyptus cinérea*); b) Orégano (*Lippia graveolens*); c) Chile jalapeño (*Capsicum annum cv.*) (Torres, 2020; Tellez & Nolazco, 2017; Quispe-Flores, 2017).

Resultados similares fueron reportados por Mendoza-Sánchez *et al.* 2015, donde el porcentaje de inhibición de extractos acuosos del chile jalapeño en estado verde fue de 19.42%, mientras que, para el eucalipto (miel de eucalipto) se reportó por Muñoz Jáuregui *et al.* 2014, con un porcentaje de inhibición de 64,73 %, el cual es un valor menor al obtenido, esto puede ser causado gracias a que el origen de las muestras difiere, siendo una miel de eucalipto (procesada) la evaluada en dicho estudio. De la misma manera, Granados *et al.* 2015 reportó un % de inhibición para *Eucalyptus camaldulensis* menor al 10%, dicho dato supone que las composiciones químicas de los eucaliptos son diferentes, por ende, varían en función de los diversos orígenes, lo cual, pudiese explicar que, en especies de eucalipto de otras regiones, sí se presenta una buena capacidad antioxidante frente al radical DPPH, como es el caso de la muestra evaluada en este artículo. Por otro lado, el valor reportado por Sarmiento 2020 para el orégano fue una inhibición promedio de 50.77% para una muestra de orégano en la que se combinaron técnicas de procesos de secado y ultrasonido durante la obtención del extracto.

CONCLUSIÓN

Los extractos vegetales estudiados mostraron importantes contenidos de fitoconstituyentes, dando como resultado una alta actividad antioxidante, lo cual podría contribuir en gran medida a su capacidad nutracéutica. Por lo que, estas plantas podrían explotarse ampliamente para futuras aplicaciones en el desarrollo de productos o compuestos nutracéuticos.

BIBLIOGRAFÍA

- Arias, J., Mejía, J., Córdoba, Y., René-Martínez, J., Stashenko, E., del Valle, J. M. (2020) Optimization of flavonoids extraction from *Lippia graveolens* and *Lippia origanoides* chemotypes with ethanol-modified supercritical CO₂ after steam distillation. *Industrial Crops and Products*. 146: 112170. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112170>
- Beltrán Cifuentes, M.C., Peláez Gutiérrez, E.C., Estrada Álvarez, J. M., Escobar Ríos, J.A., Serna Ángel, L., & Ríos Morales, D. (2010). Estudio farmacognóstico para el cuidado de la salud a partir de aceites esenciales obtenidos por destilación de arrastre de vapor. *Investigaciones Andina*, 12(20), 8-18.
- Boroski, M., Giroux, H.J., Sabik, H., Petit, H.V., Visentainer, J.V., Matumoto-Pintro, P.T., Britten, M. (2012). Use of oregano extract and oregano essential oil as antioxidants in functional dairy beverage formulations. *LWT - Food Science and Technology*. 47(1): 167-174. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2011.12.018>
- Boroski, M., Giroux, H.J., Sabik, H., Petit, H.V., Visentainer, J.V., Matumoto-Pintro, P.T., Britten, M. (2012). Use of oregano extract and oregano essential oil as antioxidants in functional dairy beverage formulations. *LWT - Food Science and Technology*. 47(1): 167-174. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2011.12.018>
- Bostanci, M. T., Bulbul, A. S., Celik, I. S., Kocabas, Y. Z., Burhan, H., Bayat, R., Sen, F., Zakariae, N., Esmaili, R., Jafari, H., Karimi, F., & Karimi-Maleh, H. (2022). Investigation of antibacterial, antifungal, antibiofilm, antioxidant and anticancer properties of methanol extracts of *Salvia marashica* İlçim, Celep & Doğan and *Salvia caespitosa* Montbret & Aucher ex Benth plants with medicinal importance. *Chemosphere*, 288(Pt 2): 132602. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.132602>
- Caldas Ávila, A.P., (2012). Optimización, escalamiento y diseño de una planta piloto de extracción sólido líquido. *Ingeniería Química, Escuela de ingeniería Química, Facultad de ciencias químicas*. Cuenca. 10-47
- Cardona Serrate, F. (2020). Alteraciones no microbianas en alimentos: el pardeamiento y el enranciamiento. *E.T.S. de Ingeniería Agronómica y del Medio Natural. Universitat Politècnica de València*. 1-8.
- Cazar Hidalgo, F.C., Toledo Aguilar, A. R. (2021). Actividad antioxidante de extractos etanólicos y acuosos de hojas senescentes de *Terminalia catappa* y la actividad inhibitoria sobre *Edwardsiella*

- tarda. Ingeniería en Biotecnología de los Recursos Naturales. Universidad Politécnica Salesiana. Quito. 1-57
- Delgado Zegarra, K.R. (2018). Optimización de los métodos de obtención de la capsaicina del ají limo (*Capsicum sinense jacq*) para la determinación de la dosis letal (DL50) del pulgón verde (aphididae). Repositorio Institucional de la UNSA. Recuperado: <http://repositorio.unsa.edu.pe/handle/UNSA/5923>
- Gimeno-Creus, E. (2004). Compuestos fenólicos. Un análisis de sus beneficios para la salud. *Ámbito Farmacéutico, Nutrición*. 23(6):80-84.
- González-Guiñez, R., Silva-Aguayo, G., Urbina-Parra, A., Gerding-González, M. (2016). Aceite esencial de *Eucalyptus globulus* Labill y *Eucalyptus nitens* H. Deane & Maiden (Myrtaceae) para el control de *Sitophilus zeamais* Motschulsky. *Chilean journal of agricultural & animal sciences*. 32(3):204-216.
- Granados, C., Santafé, G., Acevedo Correa, D. (2015). Composición química y evaluación de la actividad antioxidante del aceite esencial foliar de *Eucalyptus camaldulensis* de Norte de Santander (Colombia). *Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica*. 18(1): 235–240. <https://doi.org/10.31910/rudca.v18.n1.2015.477>
- Mahato, K.D., Kargwal, R., Kamle, M., Sharma, B., Pandi, S., Mishra, S., Gupta, A., Mahmud, M.C., Gupta, M.K., Singha, B.L., & Kumar, P. (2022). Ethnopharmacological properties and Nutraceutical potential of *Moringa oleífera*. *Phytomedicine plus*, 2: 100168.
- Mehnaza M., Jagmohan S., Adil G. (2021). Characterization of apple (*Malus domestica*) seed flour for its structural and nutraceutical potential. *LWT*, 151: 112138. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112138>
- Mendoza-Sánchez, L.G., Mendoza-López, M.R., García-Barradas, O., Azuara-Nieto, E., Pascual-Pineda. L.A., Jiménez-Fernández, M. (2015) Propiedades fisicoquímicas y antioxidantes del chile jalapeño (*Capsicum annum* var. *annuum*) durante almacenamiento. *Revista Chapingo Serie Horticultura*. 21(3): 229-241. <https://doi.org/10.5154/r.rchsh.2015.06.010>
- Muñoz Jáuregui, A.M., Alvarado-Ortíz Ureta, C., Blanco Blasco, T., Castañeda Castañeda, B., Ruiz Quiroz, J., Alvarado Yarasca, A. (2014). Determinación de compuestos fenólicos, flavonoides totales y capacidad antioxidante en mieles peruanas de diferentes fuentes florales. *Revista de la Sociedad Química del Perú*. 80(4), 287-297.
- Sarmiento Gonzaga, C.D. (2020). Evaluación de la actividad antioxidante del aceite esencial se orégano (*Origanum vulgare*), obtenido a partir de dos pretratamientos. Ingeniería en Biotecnología de los Recursos Naturales. Universidad Politécnica Salesiana sede Cuenca. 1-70.
- Taroncher, M., Vila-Donat, P., Tolosa, J., Ruiz, M.J., Rodríguez-Carrasco, Y. (2021). Biological activity and toxicity of plant nutraceuticals: an overview. *Current Opinion in Food Science*. 42:113-118. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2021.05.008>
- Téllez Monzón, L.A., Nolzco Cama, D.M. (2017). Estudio de la composición química del aceite esencial de orégano (*Origanum vulgare* spp.) de Tacna. *Ingeniería Industrial*. (35): 195-205. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=337453922010>
- Thornton Morrison, R., Neilson Boyd, R. (1998). Capítulo 1. Estructura y propiedades. En: *Química Orgánica*. Zagazagoitia Herranz, R., Fiedler, P., Rock, C. Editorial Pearson. México. 1-36.
- Torrenegra-Alarcón, M.E., León-Méndez. G., Granados-Conde, C. (2019). Extracción, caracterización y actividad antioxidante del aceite esencial de *Eucalyptus globulus* Labill. *Revista Cubana de Farmacia*. 52(1):e266.
- Torres Ventura, H.H. (2020). “Potencial antibacteriano de extractos de *Capsicum annum* L. var. *Aviculare*” Doctorado en ciencias en alimentos. Escuela Nacional