

ESTUDIO DEL POTENCIAL ANTIOXIDANTE DE ACEITES ESENCIALES DE LAUREL, ORÉGANO Y DAMIANA PRETRATADOS CON ULTRASONIDO.

STUDY OF THE ANTIOXIDANT POTENTIAL OF ESSENTIAL OILS OF LAUREL, OREGANO AND DAMIANA PRETREATED WITH ULTRASOUND.

Recibido: 15 de septiembre de 2020. Aceptado: 29 de septiembre de 2020. M. T. Sánchez Yañez¹
R. Rojas Molina²
J. E. Wong Paz³
D. B. Muñiz Márquez⁴

RESUMEN

En la actualidad, el abuso excesivo de antioxidantes sintéticos en los alimentos ha orientado a las investigaciones a implementar alternativas para la sustitución de estos compuestos por antioxidantes naturales, esto debido a los efectos carcinogénicos que provocan dichos compuestos al consumirlos cotidianamente. En este trabajo se estudió el potencial antioxidante de aceites esenciales de materiales vegetales como laurel, orégano y damiana tratados y no tratados con ultrasonido. Los resultados mostraron que el ultrasonido tuvo impacto en los rendimientos obtenidos dependiendo del material empleado, en el caso del laurel se logró incrementar dicho rendimiento, caso contrario con el orégano donde hubo una disminución del mismo y en el caso de la damiana el ultrasonido no favoreció ni afectó el rendimiento de aceite. Todos los aceites evaluados mostraron una alta capacidad antioxidante particularmente, el aceite esencial de laurel y de orégano. Por lo cual estas especies aromáticas podrían ser consideradas como plantas promisorias para la obtención de antioxidantes naturales y su futura aplicación en el área de alimentos.

PALABRAS CLAVE: Aceites esenciales, laurel, orégano, damiana, ultrasonido.

ABSTRACT

At present, the excessive abuse of synthetic antioxidants in food has led research to implement alternatives to replace these compounds with natural antioxidants, this due to the carcinogenic effects that these compounds cause when consumed on a daily basis. In this work, the antioxidant potential of essential oils of plant materials such as laurel, oregano and damiana treated and not treated with ultrasound was studied. The results showed that ultrasound had an impact on the yields obtained depending on the material used, in the case of laurel it was possible to increase said yield, otherwise with oregano where there was a decrease in it and in the case of damiana the ultrasound did not favor nor did it affect oil yield. All the oils evaluated showed high antioxidant capacity, particularly the essential oil of laurel and oregano. Therefore, these aromatic species could be considered as promising plants for obtaining natural antioxidants and their future application in the food area.

KEY WORDS: Esencial oils, laurel, oregano, damiana, ultrasound.

_

¹Tesista. Tecnológico Nacional de México, Campus Ciudad Valles, marytere-96@outlook.com

²Profesor Investigador de Tiempo Completo. Universidad Autónoma de Nuevo León, <u>romeo.rojasmln@uanl.edu.mx</u>

³Profesor Investigador de Tiempo Completo, Tecnológico Nacional de México, Campus Ciudad Valles, <u>jorge.wong@tecvalles.mx</u>

*Profesor Investigador de Tiempo Completo, Tecnológico Nacional de México, Campus Ciudad Valles, <u>diana.marquez@tecvalles.mx</u>



INTRODUCCIÓN

Los aceites esenciales (AE) son líquidos volátiles naturales de composición compleja que provienen principalmente de plantas aromáticas las cuales aportan aromas generalmente gratos que son extraídos mediante múltiples técnicas de extracción, siendo la más común la destilación por arrastre de vapor. Los AE también son definidos como mezclas de componentes volátiles y resultan del metabolismo secundario de las plantas, están constituidos principalmente por hidrocarburos de la serie polimetilénica del grupo de los terpenos que corresponden a la fórmula (C₆H₈), junto con otros compuestos oxigenados que transmiten el aroma que los caracteriza (Motoya, 2010). Actualmente se conocen diversas propiedades biológicas de los AE entre las que se destacan su potencial antimicrobiano y antioxidante. En varios estudios se ha comprobado que la actividad antioxidante del aceite esencial de una planta está relacionada con la cantidad de compuestos fenólicos presentes en ella (Arango et al., 2012). En este sentido, los antioxidantes son compuestos químicos, muchos de carácter fenólico que el cuerpo humano utiliza para eliminar radicales libres, que son sustancias químicas muy reactivas que introducen oxígeno en las células y producen la oxidación de sus diferentes partes, así como alteraciones en el ADN y cambios diversos que aceleran el envejecimiento del cuerpo. Estudios recientes han revelado los problemas de salud asociados con la acumulación de radicales libres en el organismo aunado al consumo antioxidantes sintéticos presentes en productos alimentarios, destacando el butilhidroxianisol (BHA) y butilhidroxitolueno (BHT) (Cardona y Mejía 2009) En ese sentido, los antioxidantes son ampliamente utilizados como ingredientes en suplementos dietéticos con la esperanza de mantener salud y prevenir enfermedades (Viada et al., 2017) sin embargo, con el BHA y BHT se han encontrado efectos secundarios en humanos como lo son el colesterol alto, hepatomegalia e inducción de cáncer hepático, entre otras enfermedades, por lo que en algunos países tienden a utilizar antioxidantes de origen natural extraídos de plantas aromáticas, por lo cual se abre una nueva oportunidad de investigación relacionada con el potencial antioxidante de plantas aromáticas cultivadas en algunas regiones de San Luis Potosí.

METODOLOGÍA

Recolección y pretratamiento del material vegetal

Los materiales vegetales utilizados fueron hojas de laurel, orégano y damiana. En el caso del laurel, éste fue colectado en fresco en el Ejido San Bartolo y Tacuba en Villa de Guadalupe S. L. P, en el mes de agosto del 2019. El orégano fue obtenido en seco en el Municipio de Real de Catorce en S.L.P., en el mes de agosto del mismo año y la damiana fue colectada en fresco en el Ejido El Progreso del Municipio de Rio verde, S.L.P., en el mes de octubre del 2019. Una vez colectados los materiales, éstos fueron trasladados al laboratorio de Análisis de Alimentos del Instituto Tecnológico de Ciudad Valles, con el propósito de deshidratarlos a temperatura ambiente (laurel-damiana) y deshojarlos para almacenarlos en bolsas de sello hermético hasta su uso.

Para llevar a cabo el pretratamiento de cada uno de los materiales con ultrasonido se utilizaron 100 g triturados de cada material vegetal y se colocaron en un recipiente de vidrio con agua destilada (relación masa: solvente 1:6). La sonicación fue hecha por 30 min en un equipo de ultrasonido marca Branson 3800, operado a 40 kHz.



Obtención de aceites esenciales

El proceso de extracción de aceites esenciales se llevó a cabo utilizando un equipo de hidrodestilación, de acuerdo con lo descrito por Arango et al., 2012. Para esto, se pesaron 100 g del material vegetal (sin tratamiento de ultrasonido y pretratado con ultrasonido) y se adicionó agua como agente extractor en proporción masa: solvente 1:1. El proceso de hidrodestilación fue realizado durante 2 horas consecutivas y el aceite esencial con agua se fue colectando en un recipiente colocado en baño de hielo durante todo el proceso de extracción. Posteriormente el aceite acuoso recuperado fue colocado en un embudo de separación con la finalidad de separar el aceite esencial, el cual fue almacenado en un tubo cónico cubierto con aluminio bajo congelación hasta su uso. Esta metodología fue llevada a cabo en cada uno de los materiales vegetales pretratados y no pretratados con ultrasonido. Todos los ensayos fueron hechos por triplicado.

Estudio del potencial antioxidante

El potencial antioxidante de todos los aceites esenciales obtenidos fue estudiado a través de dos técnicas antioxidantes, ABTS y DPPH. La técnica DPPH se realizó de acuerdo a lo descrito por Williams et al. 1995. Para esto, primero se prepararon 10 ml de solución DPPH-metanol a 60 mM (4 mg de DPPH en 10 mL de metanol). El ensayo de reacción se realizó mezclando 14µl de la muestra con 386 µl de solución DPPH-metanol. La mezcla se incubó durante 30 min a temperatura ambiente en condiciones de oscuridad. La absorbancia fue medida en un espectrofotómetro UV-visible a una longitud de onda de 517 nm. Como control se usó una solución de DPPH-metanol y como blanco se utilizó únicamente metanol. El resultado se expresó como porcentaje de inhibición del radical DPPH de acuerdo a la siguiente fórmula:

Porcentaje de inhibición del DPPH (%) = [(A control- A muestra) / (A control)]*100

Donde:

A control= absorbancia del metanol-DPPH 60 μM a 517 nm.

A muestra = absorbancia de la muestra a 517 nm.

Por otra parte, la técnica de inhibición de radical libre ABTS se realizó de acuerdo con el método descrito por Williams et al. 1995. Primero se prepararon los reactivos empleados en esta técnica. Para esto, se preparó una solución de ABTS (7mM, 38.4 mg de sal cristalizada ABTS se aforaron con 10 mL con agua destilada) y otra solución de persulfato de potasio (66.2 mg de $K_2S_2O_8$ en 100 mL de agua destilada, concentración de 2.45 mM). Posteriormente se mezclaron ambas soluciones en proporción de 1:2 respectivamente y la mezcla final se dejó reaccionar en oscuridad por 12 h a temperatura ambiente y, por último, transcurrido ese tiempo, la mezcla fue diluida con etanol hasta alcanzar una absorbancia de 0.7 ± 2 o mayor.

El ensayo fue hecho en tubos eppendorf forrados de aluminio. Primero se colocaron $10\,\mu l$ de muestra con $190\,\mu l$ de solución ABTS-etanol. La mezcla de reacción se dejó reposar por 1 min y enseguida se leyó la absorbancia a una longitud de onda de 734 nm. Como blanco se utilizó etanol y como control se utilizó la solución de ABTS-etanol. El resultado fue expresado como porcentaje de reducción del radical ABTS de acuerdo con la siguiente fórmula:



Porcentaje de reducción del ABTS (%) = [(A control- A muestra) / (A control)]*100

Donde:

A control = Absorbancia del ABTS-etanol

A muestra = Absorbancia de la muestra

RESULTADOS

De acuerdo con la obtención de aceites esenciales, en la Figura 1 se observan los rendimientos obtenidos. En el caso del laurel el rendimiento de aceite esencial aumentó significativamente, ya que a partir del material no pretratado con ultrasonido no se logró obtener aceite, caso contrario, cuando se utilizó ultrasonido como pretratamiento, se alcanzó un volumen de 0.125 ml por cada 100 g de material vegetal. Por otra parte, el pretratamiento con ultrasonido afectó el rendimiento de aceite obtenido a partir del orégano, disminuyendo de 0.7 hasta 0.2 ml por cada 100 g de material. En lo que respecta a la damiana, el pre-tratamiento con ultrasonido no incrementó ni disminuyó el rendimiento de aceite esencial (0.3 ml/100g de material), esto demuestra que este pretratamiento puede o no funcionar dependiendo de la estructura y composición del material vegetal.

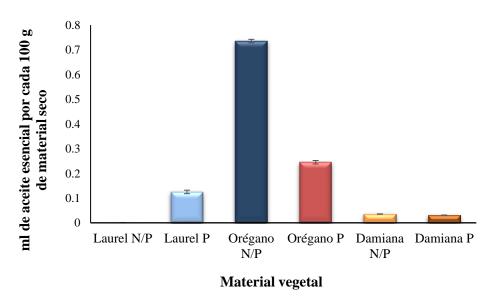


Fig. 1. Rendimientos de aceite esencial obtenidos a partir de material pre-tratado y no pretratado.

En la Fig. 2 se muestran los resultados del potencial antioxidante de los aceites esenciales estudiados por DPPH. Para el caso del aceite esencial de laurel, se observa una actividad antioxidante del 25 % en el material pretratado con ultrasonido ya que no fue posible evaluar la actividad antioxidante del laurel sin pretratamiento porque no se logró la obtención de aceite. En cuanto al aceite esencial de orégano, se aprecia un porcentaje de actividad antioxidante por arriba del 95%, independientemente del pretratamiento o del material no pretratado. Y para el caso del aceite esencial de damiana, se alcanzaron porcentajes de actividad antioxidante del 66% para el material sin pretratamiento y del 62% para el material pretratado. En este último caso, se observó una ligera disminución de la actividad



antioxidante medida por DPPH, lo que pudiera estar relacionado con una posible degradación de compuestos sensibles a las ondas ultrasónicas.

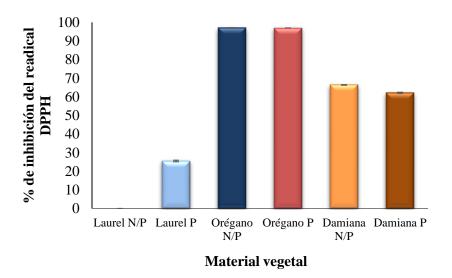
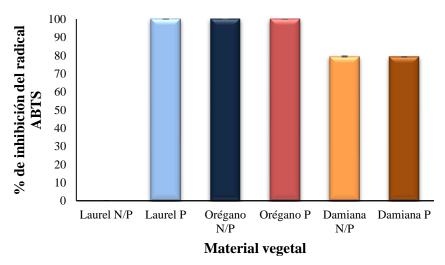


Fig.2. Porcentaje de inhibición del radical DPPH de los aceites esenciales evaluados. N/P (No pretratado), P (pretratado)

En la Fig. 3 se muestran los resultados del potencial antioxidante de los aceites esenciales estudiados por ABTS. Para el caso del aceite esencial de laurel y de orégano, se observa una actividad antioxidante del 100 % en el material pretratado con ultrasonido (laurel) y en ambos materiales en orégano. En cuanto al aceite esencial de damiana se observa una actividad antioxidante del 79% en ambos materiales (sin y con pretratamiento).



1 Fig. 3 Porcentaje de inhibición del radical ABTS de los aceites esenciales evaluados. N/P (No pretratado), P (pretratado)



Los resultados indican que todos los aceites evaluados presentaron actividad antioxidante por arriba del 50% independientemente de la técnica utilizada para medir dicha actividad. Algunas investigaciones han relacionado la capacidad antioxidante de los aceites esenciales con el contenido fenólico presente (Arango et al., 2012), sin embargo, existe otra variedad de componentes de tipo terpeno que pudieran estar involucrados en dicha actividad.

CONCLUSIONES

En este trabajo fueron posible estudiar los rendimientos y el potencial antioxidante de aceites esenciales de laurel (*Laurus* sp.), orégano (*Oreganum* sp.) y damiana (*Turnera difussa*), en los cuales se observó que el ultrasonido, como pretratamiento puede o no funcionar dependiendo de la especie aromática con la que se desee trabajar. En cuanto a los porcentajes de actividad antioxidante, todos los aceites estudiados presentaron arriba del 50% de actividad, siendo los aceites de laurel y orégano los que alcanzaron el 100% de inhibición de los radicales DPPH y ABTS. Por lo tanto, estas especies aromáticas podrían ser consideradas como plantas promisorias para la obtención de antioxidantes naturales y su futura aplicación en el área de alimentos.

BIBLIOGRAFÍA

- Arango, O. A., Pantoja, D., Santacruz, L, Hurtado A, 2012. *Actividad antioxidante del aceite esencial de orégano (Lippia origanoides HBK) del Alto Patía*, Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial, 10 (2), 79-86.
- Cardona, L. E. H., Mejía, L. F. G, 2009. Evaluación del efecto antioxidante de aceites esenciales y extractos de Eugenia caryophyllata, Origanum vulgare y Thymus vulgaris, BIOSALUD, 8 (1), 58-70
- Montoya, G. D. J, 2010. ACEITES ESENCIALES: una alternativa de diversificación para el eje cafetero. Sección de Publicaciones E Imagen Universidad Nacional de Colombia sede Manizales, 1, 12-174.
- Viada Pupo, E., Gómez Robles, L., Marrero, C., Reyna, I, 2017. *Estrés oxidativo*. Correo Científico Médico, 21(1), 171-186.
- Williams, W. B., Cuvelier, M.E., Berset C, 1995. *Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity*. LWT Food Science and Technology, 28 (1), 25-30.