

Actividad antioxidante y contenido fenólico total de extractos preparados de *Ocimum campechianum* variedad blanca y morada

Antioxidant activity and total phenolic content of extracts of *Ocimum campechianum* variety white and purple

Nayive Pino Benítez^{1,2}, Carlos Mario Valencia¹

Resumen

Objetivo: Evaluar la actividad antioxidante y el contenido total de compuestos fenólicos de algunas plantas de uso alimenticio en el departamento del Chocó. **Materiales y métodos:** Las actividades antioxidantes se realizaron 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. **Resultados:** Se determinó un valor Cl_{50} para los extractos etanólicos preparados de *Ocimum campechianum* var. blanca y morada de comida de 13,03 y 24,38 $\mu\text{g/ml}$, respectivamente. Para sus extractos acuosos se reportaron valores de 54,0 y 55,42 $\mu\text{g/ml}$. **Conclusiones:** La actividad como antioxidante de estos extractos se ve poco influida por su contenido total de compuestos fenólicos. De igual forma se evidencian efectos como antioxidantes por parte de estas plantas de uso alimenticio lo que no descarta su funcionalidad en el tratamiento de algunas enfermedades asociadas al estrés oxidativo.

Palabras clave: Albahaca, Antioxidante, Contenido fenólico total, DPPH.

Abstract

Objective: To evaluate the antioxidant activity and total phenolic compounds of some plants used for food in the department of Chocó. **Materials and methods:** The antioxidant activities was conducted through the fading test of radical 2,2-diphenyl-1-picrilhidracilo DPPH, and the total phenolic content by Folin-Ciocalteu method. **Results:** Cl_{50} value was determined for the ethanol extracts prepared from *O. campechianum* var. White Residence meal 13.03 and 24.38 mg/ml, respectively. In addition to aqueous extracts reported values of 54.0 and 55.42 mg/ml. **Conclusions:** The antioxidant activity of these extracts little influenced by the total content of phenolic compounds. Similarly, as effects antioxidant evidenced by these food plants use what functionality does not rule in the treatment of some diseases associated with oxidative stress.

Keywords: Antioxidant, Basil, DPPH, Total phenolic content.

Introducción

Los antioxidantes son moléculas químicas que presentes a bajas concentraciones, son capaces de neutralizar radicales libres y degradar especies reactivas de oxígeno (Coba *et al.* 2010); estas últimas moléculas liberadas en exceso son las responsables del desbalance metabólico denominado como estrés oxidativo, el cual a su vez ha evidenciado estar relacionado con el padecimiento de algunas enfermedades crónico-degenerativas como el cáncer, la diabetes, artritis,

envejecimiento prematuro, Parkinson, Alzheimer y lesiones tisulares como las que provoca la inflamación (Arno *et al.*, 2001; Javanmardi *et al.*, 2003; Venereo Gutiérrez, 2002). La búsqueda de nuevos tratamientos para el control de estas enfermedades, postulan a los antioxidantes como una alternativa terapéutica viable en los sistemas de manejo de estas patologías.

En la actualidad la nutrición y la dietética no sólo se ocupan de estudiar los componentes alimenticios que aportan moléculas indispensables

¹ Universidad Tecnológica del Chocó, Laboratorio de Productos Naturales, Quibdó, Chocó, Colombia.

² Bio-Red-CO-Cenivam, Universidad Industrial de Santander (UIS), Bucaramanga, Colombia.

Autor correspondencia: e-mail: nayivepino@gmail.com

Fecha de recibido: septiembre 30, 2015 Fecha de aprobación: Diciembre 4, 2015

DOI: <http://dx.doi.org/10.18636/riutch.v35i1.811>

para la vida como proteínas, grasas, carbohidratos, vitaminas y minerales, sino también de algunas sustancias fisiológicamente activas con propiedades terapéuticas como los antioxidante, en busca de alimentos funcionalmente activos, proyectando su uso más allá de un efecto nutricional para incrementar el estado de salud y disminuir el riesgo en el padecimiento de enfermedades (Pokorný, 1991). Es muy conocido que las plantas son fuente natural de sustancias biológicamente activas con un enorme potencial farmacológico; entre este tipo de metabolitos secundarios los compuestos fenólicos son las sustancias químicas que han reportado tener el mayor potencial como antioxidantes (Ruiz Torres *et al.*, 2008; Martínez, 2002).

Las albahacas (*O. campechianum*) son ampliamente usadas en diversas formas en todo el departamento del Chocó, sobre todo como condimentos culinarios, medicinales y mágicas para atraer la buena suerte (Pino, 2009). De acuerdo con lo anterior, el objetivo principal de la presente investigación fue determinar la actividad antioxidante y el contenido total de compuestos fenólicos de especies y variedades vegetales usadas tanto en la etno-medicina como en la preparación de alimentos por la mayoría de los habitantes de la región norte del Pacífico colombiano.

Materiales y métodos

Reactivos químicos. El reactivo 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH), la vitamina E (97%), reactivo de Folin-Ciocalteu, ácido gálico y etanol (96%) se adquirieron en USA de la marca SIGMA®.

Preparación de los extractos. Las muestras vegetales (Tabla 1), se secaron a 40°C el mismo día de la recolección en un horno con aire circundante durante 72 horas. Después de secas, se molieron en pequeños trozos y se colocaron a maceración en frío con etanol de 96° a temperatura ambiente; se rotaevaporó sucesivamente a presión reducida por 15 días hasta obtener el extracto, que se guardó a 4°C hasta su uso. Para las soluciones se mezclaron 0,1 g en 10 ml de etanol o H₂O según el tipo de solución (etanólica o acuosa a usar). A partir de estas soluciones se dispuso para la determinación de la actividad antioxidante y contenido total de compuestos fenólicos.

Evaluación de la actividad antioxidante. La actividad antioxidante de los extractos vegetales se determinó por el método del DPPH, siguiendo lo descrito por Bounatirou *et al.* (2007) con algunas modificaciones. A 3 ml de una solución etanólica de DPPH preparada a 30 µg/ml, se le adicionó 1,5 ml del posible antioxidante (extracto vegetal) a diferentes concentraciones 1-100 µg/ml. Después de 30 minutos de incubación a temperatura ambiente y en la oscuridad, se determinó la absorbancia de la mezcla en un espectrofotómetro UV-visible (SCHOTT instrument- UVline 9400) equipado con cubetas de cuarzo, utilizando como blanco etanol y como patrón de referencia vitamina E. Los porcentajes de inhibición para cada extracto se calcularon mediante la ecuación 1:

$$\% \text{INH} = [(A_{\text{DPPH}} - A_{\text{muestra}}) / A_{\text{DPPH}}] \times 100. \text{ (Ec. 1)}$$

dónde:

A_{DPPH} = absorbancia del control

A_{muestra} = absorbancia de la muestra a 517 nm

Tabla 1. Especies de albahacas sometidas a evaluación antioxidante

Familia	Nombre científico	Nombre vulgar	Parte usada
Lamiaceae	<i>Ocimum campechianum</i>	Albahaca blanca	Hojas
Lamiaceae	<i>Ocimum campechianum</i>	Albahaca morada	Hojas

Determinación del contenido total de fenoles (CFT). El contenido total de compuestos fenólicos en los extractos se determinó por método espectrofotométrico de acuerdo con el método colorimétrico de Folin-Ciocalteu Singleton y Rossi (1965), con algunas modificaciones: 1 ml del extracto vegetal preparado a 40 mg/l se aforó con agua destilada a 50 ml; 1 ml de esta solución se mezcló con 2,5 ml del reactivo Folin-Ciocalteu, después de cinco minutos de incubación se le añadió a la mezcla 1,5 ml de Na_2CO_3 al 7,5% y se dejó dos horas en reposo a temperatura ambiente y en la oscuridad. Finalmente, la absorbancia de la mezcla se midió a 760 nm y se interpoló en una curva de calibrado preparada con ácido gálico (1-40 mg/l). El contenido fenólico total se determinó usando la ecuación:

$$\text{Absorbancia} = 0,002 \text{ ácido gálico (mg/l)} + 0,005 \text{ (r=0,998)}$$

El contenido total de este tipo de moléculas en los extractos evaluados se expresó como miligramos equivalentes de ácido gálico por gramos de material vegetal (mgEAG/material vegetal seco).

Análisis de los datos

Todos los datos expresados son la media de tres repeticiones ($n=3$) \pm DS; el análisis de regresión lineal se aplicó para determinar la relación dosis-respuesta de los extractos vegetales, así como

para calcular su valor CI_{50} . Una prueba ANOVA de variables múltiples se utilizó para observar la presencia de diferencias estadísticamente significativas, apoyado de una prueba de TUKEY (prueba de comparación múltiple) a través del programa Statgraphics centurión XV.

Resultados

Los resultados de la cantidad necesaria para neutralizar el 50% de moléculas de DPPH, se observan en la Tabla 2. Todos los extractos mostraron tener actividad como antioxidantes dosis-dependiente en los rangos de concentraciones evaluados de 1-25 $\mu\text{g/ml}$. El extracto más activo fue el etanólico preparado a partir de las hojas de *O. campechianum* var., morada con un valor CI_{50} de 13,27 $\mu\text{g/ml}$, frente a la vitamina E con CI_{50} de 4,32 $\mu\text{g/ml}$; este extracto fue mucho más activo que el preparado con un disolvente de mayor polaridad como lo es el agua, el cual reportó un CI_{50} 5,47 $\mu\text{g/ml}$ con un 30,5% menos de actividad en comparación con el extracto etanólico; este efecto se traduce a una diferencia estadísticamente significativa ($p>0,05$) entre ambos extractos (Figuras 1 y 2). De igual forma el extracto etanólico preparado a partir de la variedad blanca también fue mucho más activo como antioxidante en comparación con el extracto acuoso, con valores CI_{50} calculados en 20,03 y 54,34 $\mu\text{g/ml}$, respectivamente, al igual que en

Tabla 2. Concentración inhibitoria (CI_{50}) y contenido fenólico total de los extractos evaluados

Nombre científico	Tipo de extracto	Parte usada	CFT mgEAG/g mv	CI_{50} ($\mu\text{g/ml}$)
Vitamina E				4.32
<i>Ocimum campechianum</i> var. morada	Etanólico	Hoja	63.12	13.27
<i>Ocimum campechianum</i> var. blanca	Etanólico	Hojas	4.92	20.03
<i>Ocimum campechianum</i> var. blanca	Acuoso	Hojas	3.40	54.34
<i>Ocimum campechianum</i> var. morada	Acuoso	Hojas	6.55	55.47

CFT: contenido fenólico total

mg EAG/g muestra vegetal seco = microgramos equivalentes de ácido gálico por gramo de material vegetal seco.

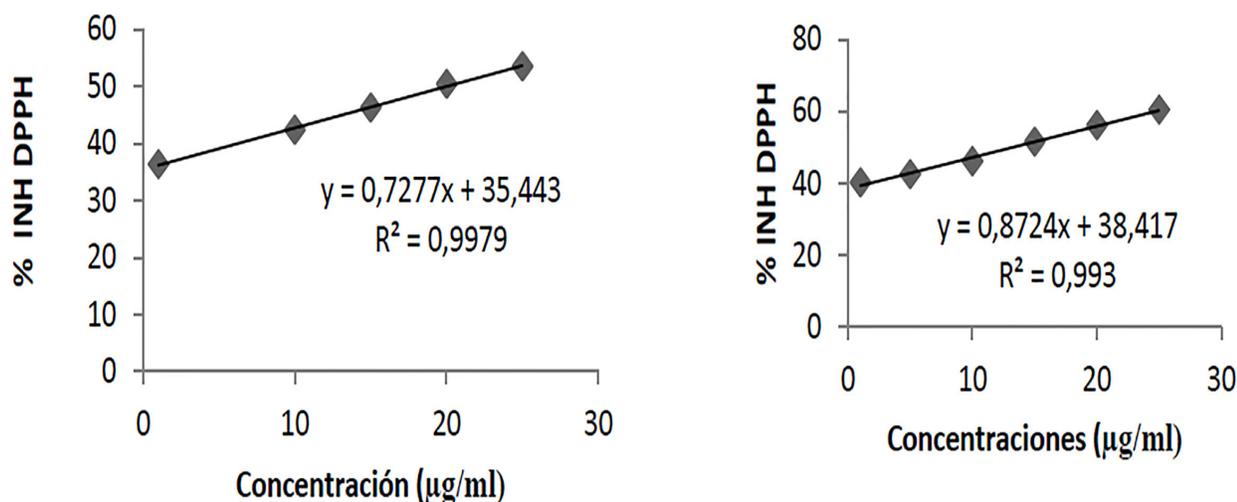


Figura 1. Curvas de calibrados en ETOH para *O campechianum*: a. Variedad morada CI_{50} : 13,27 µg/ml. b. Variedad blanca CI_{50} : 20,03 µg/ml.

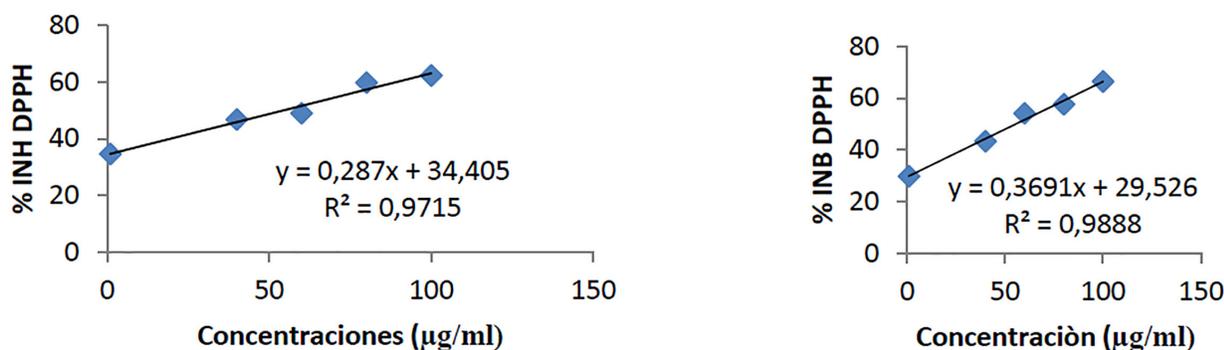


Figura 2. Curvas de calibrados acuosos para *O campechianum*: a. Variedad morada CI_{50} : 55,47 µg/ml. b. Variedad blanca CI_{50} : 54,34 µg/ml.

la variedad morada el extracto etanólico de la variedad blanca tiene una diferencia estadística ($p > 0,05$) sobre el extracto acuoso, representada 25,3% más de actividad sobre este. El extracto más rico en compuestos fenólicos fue el más activo como antioxidante natural; el extracto etanólico de la variedad morada está contenida en compuestos fenólicos por 63,12 mg EAG/g material vegetal seco, en comparación con el extracto etanólico de la variedad blanca con 4,92 mg EAG/g material vegetal seco (Tabla 2). Según el análisis de correlación estos compuestos tienen 70,7% de participación en las propiedades antioxidantes de estos extractos.

Los compuestos fenólicos de la especie *O. campechianum* mostraron mejor comportamiento con el etanol que con el H_2O , porque los contenidos totales de estas moléculas en sus extractos acuosos son de 3,40 y 6,55 mg EAG/g material vegetal seco, variedad blanca y morada, respectivamente, pero con una mayor participación es su actividad por parte de estas moléculas estimada en 81,2%.

Ninguno de los extractos evaluados logra superar al patrón de referencia vitamina E; este en cambio, exhibe diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) sobre la efectividad antioxidante de todas las muestras vegetales evaluadas en ambos rangos de concentraciones.

Discusión

De acuerdo con los resultados, al parecer la actividad antioxidante de la especie *O. campechianum* está fuertemente influida por las variaciones fenotípicas, siendo más activa la variedad morada en comparación con la blanca. Igualmente, dependiente del solvente, siendo más activo el etanólico que el acuoso. En varios estudios se ha evidenciado la importante participación de los compuestos fenólicos en las propiedades antioxidantes de algunos extractos preparados de plantas medicinales (Gutiérrez, 2008; Wang y Lin, 2000). En las especies del género *Ocimum*, se han identificado algunas moléculas fenólicas tanto en sus extractos como en sus esencias (Fernández *et al.*, 2007), responsables posiblemente de sus propiedades como antioxidantes naturales. Evaluaciones antioxidantes realizadas a especies de este género en cerebros aislados de ratones homogéneos, en busca de determinar su capacidad de inhibir la lipoperoxidación, evidencia la potente actividad de estos extractos y la fuerte participación de las moléculas fenólicas en sus propiedades (Oboh, 2008). Otras propiedades terapéuticas han sido reportadas para los compuestos fenólicos como antidiabéticos, hipoglucemiantes, antiinflamatorios, cicatrizantes, anticancerígenos, inhibición de las LDL, y otras enfermedades asociadas con el estrés oxidativo (Kumar *et al.*, 2009; Rupasinghe *et al.*, 2003; Martínez-Florez, 2002).

Conclusiones

Se encontró que tanto los extractos etanólicos como los acuosos obtenidos de las variedades morada y blanca de usos culinarios y medicinales de las especies de albahacas (*O. campechianum*), tienen actividad antioxidante. Estos resultados son de gran interés, por las bondades que potencialmente poseen los alimentos y/o medicamentos con actividad antioxidante.

Nomenclatura

CFT: contenido fenólico total
 CI_{50} : concentración a la cual el extracto puede inhibir el 50% de los radicales.
 mg EAG/g muestra vegetal seco = microgramos equivalentes de ácido gálico por gramo de material vegetal seco
 DPPH: 2,2-difenil-1-picrilhidracilo
 μ g: Microgramos
 r: Coeficiente de correlación
 R^2 : Coeficiente de determinación

Agradecimientos

Al grupo de semillero BIOFUTURO y al Contrato RC-245-2011 Colciencias (Patrimonio Autónomo del Fondo Nacional de Financiamiento para la Ciencia, la Tecnología y la Innovación, Francisco José de Caldas) por financiamiento de equipos y reactivos para la realización del trabajo.

Literatura citada

- Arnao MB, Cano A, Acosta M. 2001. The hydrophilic and lipophilic contribution to total antioxidant activity. *Food Chem.* 73(2): 239-44. Disponible en: [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(00\)00324-1](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(00)00324-1)
- Bounatirou S, Smiti S, Miguel MG, Faleiro L, Rejeb MN, Neffati M, *et al.* 2007. Chemical composition, antioxidant and antibacterial activities of the essential oils isolated from Tunisian *Thymus capitatus* Hoff et Link. *Food Chem.* 105(1): 146-55. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.03.059>
- Coba P, Mayacu Tivi L, Vidari G. 2010. Importancia de la actividad antioxidante y evaluación de extractos en etanol del género *Oryctanthus*. *La Granja.* 11 (1): 20-30.
- Fernández LK, Viña Patiño A, Murillo PE, Méndez JJ. 2007. Actividad antioxidante y antimicrobiana de los volátiles de cuatro variedades de albahacas cultivadas en el departamento del Tolima. *Scientia Et Technica* (33): 339-41. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/849/84903397.pdf>
- Gutiérrez D, Avella C, Ortiz García CA, Mendoza Cisneros A. 2008. Medición de fenoles y actividad antioxidante en malezas usadas para la alimentación animal. *Simposio de Metrología.* 1108: 1-5.
- Javanmardi J, Stushnoff C, Locke E, Vivanco JM. 2003. Antioxidant activity and total phenolic content of Iranian *Ocimum accessions*. *Food Chem.* 83(4): 547-50. Disponible en: [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(03\)00151-1](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(03)00151-1)

- Kumar A, Ilavarasan R, Jayachandran T, Decaraman M, Aravindhan P, Padmanabhan N, *et al.* 2009. Phytochemicals investigation on a tropical, *Syzygiumcumini* from Kattuppalayam, Erode District, Tamil Nadu, south India. *Pakistan J Nutr.* 8 (1): 83-5. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.3923/pjn.2009.83.85>
- Martínez-Flórez S, González-Gallego J, Culebras JM, Tuñón Ma J. 2002. Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. *Nutr Hospital.* 17(6): 271-78. Disponible en: <http://www.nutricionhospitalaria.com/pdf/3338.pdf>
- Oboh G. 2008. Antioxidante potencial of *Ocimum gratissimum* and *canum* Leaf polyphenols and protective effect on some pro-oxidants induced lipid peroxidation rat brain: an in vitro study. *Am J Food Technol.* 3(5): 325-34. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.3923/ajft.2008.325.334>
- Pino-Benítez N. 2009. Plantas útiles del departamento del Chocó. Parte I: Extractos. Quibdó: Universidad Tecnológica del Chocó; 312 pp.
- Pokorný J. 1991. Natural antioxidant for food use. *Trends Food Sci Technol.* 2: 223-27. Disponible en: [https://doi.org/10.1016/0924-2244\(91\)90695-F](https://doi.org/10.1016/0924-2244(91)90695-F)
- Rupasinghe HP, Jackson CJ, Poysa V, Di Berardo C, Bewley JD, Jenkinson J. 2003. Sayasapogenol A and B distribution en soybeen (*Glycine Max L. Merr*) in relation to seed physiology, genetic variability and growing location. *Rev J Agric Food Chem.* 51 (20): 5888-94. Disponible en: <https://doi.org/10.1021/jf0343736>
- Ruiz Torres NA, Rincón Sánchez F, Hernández López VM, Figueroa Cárdenas JdeD, Loarca Piña MaGF. 2008. Determinación de compuestos fenólicos y su actividad antioxidante en granos de maíz. *Rev Fitotecnica Mex.* 31(3): 29-34. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/610/61009706.pdf>
- Singleton VL, Rossi JA. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphor-molybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am J Enol Viticulture.* 16: 144-58. Disponible en: <https://www.ajeonline.org/content/16/3/144>
- Venereo Gutiérrez JR. 2002. Daño oxidativo, radicales libres y actividad antioxidante. *Rev Cubana Med Mil.* 31 (2): 126-33. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0138-65572002000200009&lng=es&nrm=iso
- Wang SY, Lin HS. 2000. Antioxidant activity in fruits and leaves of blackberry, raspberry and strawberry varies with cultivar and development stage. *J Agricult Food Chem.* 48 (2): 140-46. Disponible en: <https://doi.org/10.1021/jf9908345>