

MODELOS PARA EVALUAR LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE EN PLANTAS

Data de aceite: 01/08/2023

Rafael Manuel de Jesús Mex-Álvarez

Área de Farmacia de la Facultad de Ciencias Químico Biológicas de la Universidad Autónoma de Campeche

María Magali Guillen-Morales

Área de Farmacia de la Facultad de Ciencias Químico Biológicas de la Universidad Autónoma de Campeche

Patricia Margarita Garma-Quen

Área de Farmacia de la Facultad de Ciencias Químico Biológicas de la Universidad Autónoma de Campeche

David Yanez-Nava

Área de Farmacia de la Facultad de Ciencias Químico Biológicas de la Universidad Autónoma de Campeche

José Luis Kantún-Haas

Área de Farmacia de la Facultad de Ciencias Químico Biológicas de la Universidad Autónoma de Campeche

Roger Enrique Chan-Martínez

Área de Farmacia de la Facultad de Ciencias Químico Biológicas de la Universidad Autónoma de Campeche

Kevin Ariel Contreras-Dzul

Área de Farmacia de la Facultad de Ciencias Químico Biológicas de la Universidad Autónoma de Campeche

Edwin Román Chulin-Canul

Área de Farmacia de la Facultad de Ciencias Químico Biológicas de la Universidad Autónoma de Campeche

RESUMEN: Los antioxidantes son compuestos capaces de proteger a los sistemas biológicos del daño oxidativo; en el estudio de plantas medicinales existen diversos modelos para medir su actividad antioxidante, generalmente clasificados en métodos *in vitro* e *in vivo*; en este capítulo se revisan tres de los principales métodos para evaluar la actividad antioxidante *in vitro*: la neutralización del radical DPPH, la reducción del peróxido de hidrógeno y la reducción del ion férrico. Estos métodos son complementarios en cuanto a que estudian diferentes mecanismos de acción de los productos naturales y sirven para evaluar la actividad antioxidante de plantas y otros alimentos de consumo humano y animal.

INTRODUCCIÓN

La actividad antioxidante es básica en el estudio de plantas medicinales porque permite vislumbrar el potencial de

picante (HRP) para producir un colorante de quinoneimina de color rosa (**Figura 2**). Los secuestradores de H_2O_2 al disminuir la concentración de esta especie reactiva de oxígeno provocan una disminución de la intensidad de color por una producción disminuida de este cromóforo en particular; una variante del método mide directamente la concentración de peróxido en la región UV del espectrofotómetro.

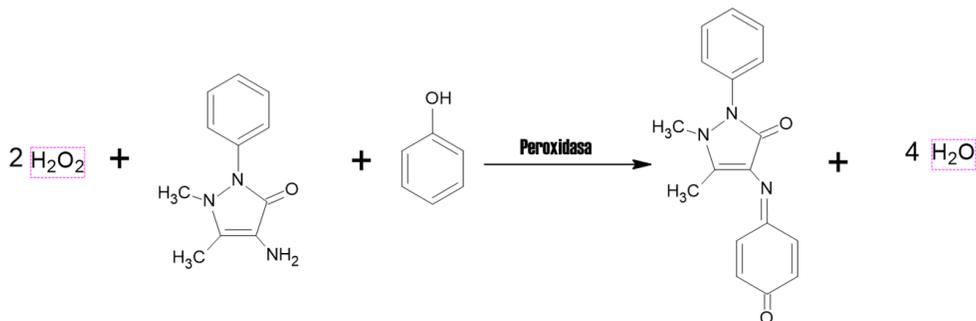


Figura 2. Reacción química catalizada por HRP.

ENSAYO DE POTENCIA ANTIOXIDANTE REDUCTORA FÉRRICA (FRAP)

El ensayo FRAP se basa en la capacidad de los antioxidantes para reducir Fe^{3+} a Fe^{2+} en presencia de 2,4,6-tris(2-piridil)-s-triazina (TPTZ) a pH bajo, formando un complejo azul intenso de Fe^{2+} -TPTZ con una absorción máxima a 593 nm. Los valores de FRAP se pueden obtener comparando el cambio de absorción en la mezcla de prueba con los obtenidos a partir de concentraciones crecientes de Fe^{3+} y expresadas como milimol de equivalentes de Fe^{2+} por Kg (alimento sólido) o por L (bebidas) de muestra. En este ensayo, el $FeSO_4$ se utiliza como estándar para la curva de calibración. La capacidad antioxidante basada en la capacidad de reducir iones férricos de la muestra se calcula a partir de la curva de calibración lineal y expresada como milimol de equivalentes de $FeSO_4$ por gramo de muestra. La **Figura 3** muestra la reacción que tiene lugar en este método de medida de la capacidad antioxidante.

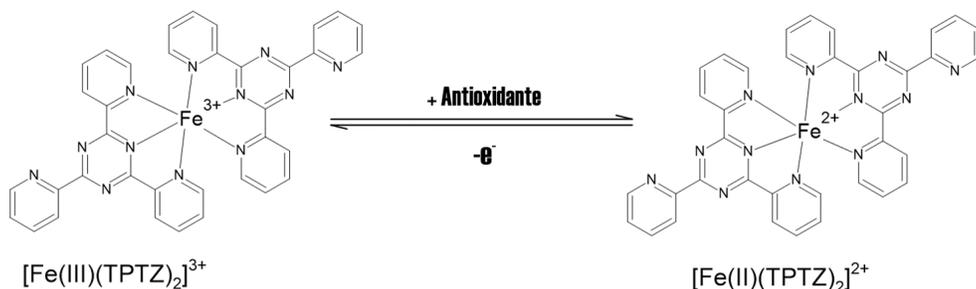


Figura 3. Ecuación química de la reacción del mecanismo de reacción del método FRAP.

Además de estos tres métodos principales, existen otros métodos *in vitro* para determinar la capacidad antioxidante, tales como el ensayo de capacidad de absorción del radical oxígeno (CARO), la actividad antioxidante total, la capacidad antioxidante equivalente a trolox (AAET), el ensayo de eliminación de radicales de anión superóxido, el ensayo de eliminación de radicales hidroxilos, el ensayo de eliminación de radicales de óxido nítrico y contenido total fenólico.

MODELOS *IN VIVO*

Los métodos *in vivo* se usan para la evaluación de la actividad antioxidante de compuestos desconocidos de cultivos celulares o en órganos como riñón o hígado de animales de laboratorio, manteniendo según los principios rectores en el cuidado y uso de animales. Los siguientes métodos se utilizan para estimar la actividad antioxidante *in vivo*: la estimación de superóxido dismutasa, la cantidad de glutatión reducido, la cuantificación de malonaldehído y la estimación de catalasa.

MÉTODOS PARA LA DETERMINACIÓN DE COMPUESTOS POLIFENÓLICOS

Los compuestos polifenólicos se encuentran abundantemente en muchos vegetales y poseen actividades antioxidantes por sus grupos hidroxilos estabilizados aromáticamente por el benceno; estos compuestos son principalmente taninos, flavonoides y antocianinas; aunque existen otros compuestos polifenólicos de importancia biológica y nutricional.

MÉTODO FOLIN-CIOCALTEU PARA DETERMINAR POLIFENOLES TOTALES

El método espectrofotométrico Folin-Ciocalteu se utiliza para determinar los compuestos fenólicos totales; se fundamenta en que los compuestos fenólicos reaccionan con el reactivo de Folin (complejo de ácido fosfomolibdico y fosfotúngstico) de color amarillo que se reduce por los polifenoles y a pH básico se produce la formación de un color azul que se puede cuantificar espectrofotométricamente a 760 nm.

MÉTODO DE VAINILLINA PARA CUANTIFICACIÓN DE TANINOS CONDENSADOS

El método vainillina-HCl es el más utilizado para la determinación cuantitativa de los taninos condensados; este método se basa en la propiedad que presentan los taninos condensados de oxidarse en medio ácido y por aplicación de calor para romper sus enlaces intermonoméricos. Este análisis es específico para determinar flavan-3-ol, dihidrochalconas y proantocianidinas y la catequina se utiliza como estándar.

MÉTODO COLORIMÉTRICO DEL CLORURO DE ALUMINIO PARA CUANTIFICACIÓN DE FLAVONOIDES TOTALES

Este método se basa en la formación de complejos estables de los flavonoides con el catión de aluminio; este complejo produce un desplazamiento batocrómico de la absorción de luz y una intensificación de la absorción. Este método evita la interferencia de otros polifenólicos y sirve para determinar la cantidad específica de flavonoides; el método es reproducible, proporcionando desviaciones muy pequeñas o ninguna diferencia entre una prueba y otra sobre la misma muestra.

REFERENCIAS

1. Alam, N.; Bristi, N. J.; Rafiquzzaman, M. 2012. Review on *in vivo* and *in vitro* methods evaluation of antioxidant activity. Saudi Pharmaceutical Journal. **21** (2): 143-152.
2. Alves, J.; Mendonca, L. A.; Reis da Silva, S. J.; Flach, A. 2014. Color phenolic and flavonoid content and antioxidant activity of honey from Roriana Brazil. Food Science and Technology. **34** (1): 69-73.
3. Avello, M.; Suwalsky, M. 2006. Radicales libres, antioxidantes naturales y mecanismos de protección. Atenea. **494** (2): 161-172.
4. Boots, A. W.; Haenen, G. R.; Bast, A. 2008. Health effects of quercetin: From antioxidant to nutraceutical. European Journal of Pharmacology. **585** (2-3): 325-337.
5. Cabral de Oliveira, A.; Barros Valentim, I.; Fonseca Goulart, M.O. 2009. Fontes vegetais naturais de antioxidantes. Quimica Nova. **3** (32): 689-702.
6. Cabrera, M.L.; Salinas, Y.; Velázquez, G.A.; Espinosa, E. 2009. Contenido de fenoles solubles e insolubles en las estructuras del grano de maíz y su relación con propiedades físicas. Agrociencia. **43**: 827-839.
7. Cadenas, E.; Davies, K.J. 2000. Mitochondrial free radical generation, oxidative stress, and aging. Free Radical Biology and Medicine. **29** (3-4): 222-230.
8. Castañeda, C. B.; Ramos, L.L. E.; Ibáñez, V. L. 2008. Evaluación de la capacidad antioxidante de siete plantas medicinales peruanas. Horizonte Médico. **1** (8): 56-72.
9. Chandra T.; Anju, G. 2015. Antioxidant activity by DPPH radical scavenging method of *Ageratum conyzoides* linn. leaves. American Journal of Ethnomedicine. **4** (1): 244-249.
10. Ciappini, M.C.; Stoppani, F.S.; Martinent, R.; Álvarez, M.B. 2013. Actividad antioxidante y contenido de compuestos fenólicos y flavonoides en mieles de tréboles, eucalipto y alfalfa. Revista Ciencia Tecnología. **19**: 45-51.
11. Daniel, A.; Workneh, M. 2017. Determination of total phenolic content and antioxidant activities of five different brands of Ethiopian coffee. International Journal of Food and Nutrition Research. **1**:1-10.
12. Fernando, C. D.; Soysa, P. 2015. Optimized enzymatic colorimetric assay for determination of hydrogen peroxide (H₂O₂) scavenging activity of plant extracts. Methods X. **2**: 283-291.

13. Hajirnahmoodi, M.; Moghddam, G; Ranjbar, A. M; Khazani, H.; Sadeghi, N.; Reza O. M. 2013. Total phenolic, flavonoids, tannin content and antioxidant power of some Iranian pomegranate flower cultivars (*Punica granatum*, L). American Journal of Plant Sciences. **4** (1):1815-1820.
14. Kumar, S. 2014. The importance antioxidant and their role in pharmaceutical science. Asian Journal of Research in Chemistry and Pharmaceutical Sciences. **1** (1): 27-44.
15. Kumar, S.; Sharma, S.; Vasudeva, N. 2017. Review on antioxidants and evaluation procedures. Chinese Journal of Integrative Medicine. **1**: 1-12.
16. Martínez, N. S.; Arévalo, K.; Verde, M. J.; Rivas, C.; Oranday, A.; Núñez, M. A.; Morales, M. E. 2011. Antocianinas y actividad anti radicales libres de *Rubus adenotrichus* Schldtl (zarzamora). Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas. **42** (4): 66-71.
17. Martínez, S.; González, J.; Culebras, J. M.; Tuñón, M.J. 2002. Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. Nutrición Hospitalaria. **17** (6): 271-278.
18. Mendes de Oliveira, R.M. 2012. Quantification of catechins and caffeine from green tea (*Camellia sinensis*) infusions extract, and ready-to-drink beverages. Ciência e Tecnologia de Alimentos. **32** (1): 163-166.
19. Mex-Álvarez, R. M., Garma-Quen, P. M., Maldonado-Velázquez, M. G., Aguirre-Crespo, F. J., Pantoja-Bolio, F. M., & Núñez-Pinto, Y. G. (2018). Contenido de polifenoles y actividad antioxidante de la Uva de Mar (*Coccoloba uvifera*). *Química Viva*(2), 1-10.
20. Pisoschi, A. M.; Pop A. 2015. The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress. European Journal of Medicinal Chemistry. **97**: 55-74
21. Pisoschi, A. M.; Negulescu, G. P. 2011. Methods for total antioxidant activity determination. Biochemistry and Analytical Biochemistry. **1** (1): 1-10.
22. Pavithra, K.; Vadivukkarasi, S. 2014. Evaluation of free radical scavenging activity of various extracts of leaves from *Kedrostis foetidissima* (Jacq.) Cogn. Food Science and Human Wellness. **4**: 42-46.
23. Porras, A. P.; López, A. 2009. Importancia de los grupos fenólicos en los alimentos. Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos. **3** (1): 121-134.
24. Sáenz, M. A.; Rosales, M.; Rocha, N. E.; Gallegos, J. A.; Gonzales, R.F. 2010. Contenido fenólico y acción antioxidante de extractos de acículas de *Pinus cooperi*, *P. durangensis*, *P. engelmani* y *P. teocote*. Madera y Bosques. **16**: 37-48.