



Comportamiento antioxidante y polifenólico del Sacha Ajo (*Mansoa allicea* L) en extracción seca y húmeda

.....

Enríquez, M.; Torres, L.A.; López, R.; Checa, X.

COMPORTAMIENTO ANTIOXIDANTE Y POLIFENÓLICO DEL SACHA AJO (*MANSOA ALLICEA L*) EN EXTRACCIÓN SECA Y HÚMEDA

Enríquez, M.¹; Torres, L.A.¹; López, R.²; Checa, X.³

¹ Universidad Estatal Amazónica – Departamento de Ciencias de la Tierra – Escuela de Ingeniería Agroindustrial - Ecuador

² UE José Calixto - Ecuador

³ Gobierno Autónomo Provincial de Chimborazo - Ecuador

menriquez@uea.edu.ec



10.14409/fabicib.v26i2.12274

Recibido 05/10/22 - Aceptado 14/11/22

Resumen

Evaluar el comportamiento antioxidante y polifenólico de la especie (*Mansoa alliacea L*) conocido comúnmente como sachá ajo, que es un arbusto de la región amazónica que tiene usos medicinales por parte de la población, en nuestra investigación se aplicó el método de Folin-Ciocalteu y actividad antioxidante total según FRAP (Ferric ion reducing antioxidant Power) y ABTS (Ácido 2,2 – azinobis (3-etil-benzotiazolin)-6-sulfónico). El método de extracción de aceites esenciales utilizado para esta investigación fue la destilación por arrastre con vapor, empleando reflujo con una trampa de Clevenger para separar los aceites más ligeros que el agua. Se determinó cuantitativamente el rendimiento para cada uno de los aceites esenciales a partir del peso húmedo y seco de la planta. Se empleó un diseño Simplex-Lattice para determinar los puntos de medición de actividad antioxidante (proporciones de los aceites esenciales) Se encontró como resultado que la hoja húmeda en relación a la seca genera más componentes en esta especie vegetal, luego de generar el análisis estadístico definimos que existe una dispersión entre los factores de análisis, generándose diferencias significativas.

Palabras clave: Ajo sachá, aceites esenciales, Folin-Ciocalteu, FRAP, ABTS

Abstract

Antioxidant and polyphenolic behavior of Sacha garlic (*Mansoa alliacea* L) in dry and wet extraction

To evaluate the antioxidant and polyphenolic behavior of the species (*Mansoa alliacea* L) commonly known as sachá ajo, which is a bush of the Amazonian region that has medicinal uses by the population, in our research the Folin-Ciocalteu method was applied and total antioxidant activity according to FRAP (Ferric ion reducing antioxidant Power) and ABTS (2,2-Azinobis (3-ethylbenzthiazolin) -6-sulfonic acid). The method of extraction of essential oils used for this investigation was steam distillation, using reflux with a Clevenger trap to separate oils lighter than water. The yield for each of the essential oils was determined quantitatively from the wet and dry weight of the plant. A simplex-lattice design was used to determine the measuring points of antioxidant activity (proportions of essential oils). It was found that the wet leaf in relation to the dry generates more components in this plant species, after generating statistical analysis we define that there is a dispersion among the analysis factors, generating significant differences.

Keywords: Garlic sachá, essential oils, Folin-Ciocalteu, FRAP, ABTS.

INTRODUCCIÓN

El ajo de monte es un arbusto enredadera de hojas perennes, nativo de la región amazónica. Su nombre científico es *Mansoa alliacea* y sus nombres comunes, ajo de monte o sachá ajo, que significa “ajo falso” debido a su fuerte olor a ajo y al sabor de sus hojas cuando es picado o machacado (Silva, 1995). En los trópicos y en la selva amazónica sus hojas se utilizan como condimento o especia debido a sus características organolépticas (López y Pérez, 2010).

La práctica de la medicina herbaria se basa en el uso terapéutico de las plantas medicinales como sustitutas de las medicinas farmacéuticas o en combinación. El ajo sachá es un arbusto de hojas perennes, nativas de la selva amazónica que existen alrededor de dos años o más, en habitual florece y produce semillas más de una vez en su vida. Sus hojas no se caen a lo largo de un año. A esta planta se le puede considerar como un arbusto semipredador de aproximadamente 25 m de altura (Calero, 2012). De las plantas se usa sus extractos en diversas formas de preparación, para mejorar el estado de salud (Nacz & Shahidi, 2006). La especie *Mansoa alliacea*, también es conocida en la región amazónica como sachá ajo, esta especie vegetal es un arbusto de hojas perennes, su ciclo vegetativo oscila entre 2 años o más, floreciendo y produciendo semillas más de una vez en su vida (Olivera et al., 2013) Sus hojas no se caen a lo largo de un año, y los comuneros las utilizan para las curaciones shamánicas así como también emplean sus raíces como condimento en los alimentos tales como ayampaco, maito, chiachiano, tilapias, asados, ahumados, guaña, costilla y guanta. Las plantas

medicinales juegan un papel muy importante en el cuidado de la salud de las personas (Hasperué et al., 2016). La *Mansoa alliacea* es una planta común del norte de Sudamérica en países como Ecuador, Colombia y Venezuela, usada por la población indígena para contrarrestar los dolores, conocido por su olor a ajo y sus compuestos sulfúricos, esta especie contiene alcaloides, cumarinas, quinonas, esteroides, triterpenoides, alifáticos, compuestos, aminoácidos, aceites esenciales y flavonoides (Itokawa et al., 1992). Los componentes bioactivos, entre los que están los polifenoles, representan un conjunto importante, y cada año se presentan más estudios que relacionan esta clase de moléculas con funciones benéficas para la salud humana (CYTED 1996). Los alimentos funcionales en la actualidad son un tema interesante y controversial, ya que es innegable el acceso a la información y aun así gran parte de los consumidores expresan su molestia con los términos, y de un fraude en la oferta de productos avalados por un gran aparato de mercadotecnia, por lo que es fundamental recalcar que este tipo de alimentos deben estar enlazados con una dieta equilibrada y un estilo de vida saludable (Enríquez Estrella et al., 2022). La metodología aplicada para la determinación del contenido total de polifenoles es el ensayo de Folin-Ciocalteu (Faustin et al., 2011). Existen otras técnicas para la determinación actividad antioxidante total, entre estas se encuentran el método FRAP (Ferric ion reducing antioxidant Power (Benzie & Strain, 1996). Actualmente, en la región amazónica del Ecuador se ha iniciado investigaciones sobre las propiedades funcionales de algunas especies vegetales de la zona, que serán utilizados en la industria de alimentos (Enríquez, 2021) con este antecedente el objetivo de la investigación es determinar el comportamiento antioxidante y polifenólico del sachá ajo en base seca y húmeda.

MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se realizó en los laboratorios de Química y Biología de la Universidad Estatal Amazónica, de la ciudad del Puyo, ubicada en el Km 2 ½ paso lateral vía al Tena.

Es una investigación tipo aplicada, la cual se fundamenta en la experimentación. Se emplearon métodos cuantitativos que permitieron controlar las variables independientes, se realizaron cálculos numéricos y análisis estadísticos para establecer modelos de comportamiento.

La recolección del tejido vegetativo se realizó en el Cantón Santa Clara ubicado geográficamente a 700 msnm, 10 13' 33.267" latitud Sur y a 78° 01' 0" longitud Oeste, se encuentra en un ambiente tropical, un clima cálido húmedo, donde la precipitación anual alcanza los 4000 mm, una humedad relativa de 80 % y temperatura promedio de 25 °C. la materia prima vegetal fue lavada con agua potable, secado en estufa, con recirculación de aire a una temperatura de 45 °C, pulverizado en molino y posteriormente tamizarlo, con el objetivo de garantizar un tamaño de partícula inferior a 0,5 mm, óptimo para la obtención de los extractos (1). La obtención del extracto se la realizó con el método de Extracción Asistida por Ultrasonido. Para la extracción se utilizó una mezcla etanol y agua en proporción 9 a 1, con una relación de 250 mL de disolvente por cada 50 g de muestra pulverizada. Las extracciones fueron realizadas por triplicado. Se trabajó a 35 °C durante 1 hora

y posteriormente la mezcla fue filtrada a través de un filtro de Gooch y el extracto crudo obtenido fue concentrado con evaporador rotatorio a temperatura de 45°C y presión reducida de 600 mm Hg hasta un volumen final de 50 mL.

DETERMINACIÓN DE FENOLES TOTALES

Para la implementación del ensayo de Folin-Ciocalteu (15). Previamente se construyó una curva de calibración haciendo diluciones sucesivas a partir de una disolución concentrada de 1000 mg.L⁻¹ de ácido gálico (que se hace referencia en la tabla 1). A partir de esta disolución se prepararon 10 ml de cada una de las disoluciones diluidas de concentraciones crecientes de ácido gálico entre 5 y 25 mg.L⁻¹. Para esta determinación se tomaron 40 µl de la muestra en un matraz aforado de 10 ml y se añadieron 500 µl de reactivo Folin Ciocalteu. Se llevó a reposo protegido de la luz por 10 minutos. finalizado este tiempo, se añaden 500 µl de disolución de carbonato de sodio al 10%. Se homogeniza y se coloca en oscuridad por 2 horas, para finalizar con la medida de la observancia a 765 nm contra blanco de reactivos.

Tabla 1. Preparación de la curva patrón de ácido gálico a partir de una disolución concentrada de 1 000 mg.L⁻¹.
Volumen final 10 mL (agua destilada).

| Componentes añadidos | Concentración de ácido gálico (mg.L ⁻¹) | | | | |
|---|---|-----|-----|-----|-----|
| | 5 | 10 | 15 | 20 | 25 |
| Ácido gálico (µL) | 50 | 100 | 150 | 200 | 250 |
| Reactivo Folin- Ciocalteu (µL) | 500 | 500 | 500 | 500 | 500 |
| Disolución de carbonato de sodio 10% (µL) | 500 | 500 | 500 | 500 | 500 |

DETERMINACIÓN DE ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE

Se la realizó con el método FRAP (Ferric ion reducing antioxidant Power), este consiste en medir la reducción de 2,4,6-Tripiridiltriiazina Férrica (TPTZ) a un producto coloreado por la actividad de compuestos antioxidantes (2).

Para esto se generó una curva de calibración haciendo diluciones sucesivas a partir de una disolución concentrada de 1000 mg.L⁻¹ de ácido gálico (que se hace referencia en la tabla 2). A partir de esta disolución se prepararon 10 ml de cada una de las disoluciones diluidas de concentraciones crecientes de ácido gálico entre 5 y 25 mg.L⁻¹. Para esta determinación se tomaron 80 µl de la muestra en un matraz aforado de 10 ml y se añadieron 5 mL de disolución de FRAP, aforandolos con agua destilada, seguido de un reposo, en una estufa a 37°C, por 30 minutos, transcurrido esto se genera la absorbancia a una longitud de onda de 593 nm contra blanco.

Para esta determinación se añadieron, en un matraz de 10 mL, donde, 80 μ L de muestra, se adicionaron 5 mL de disolución de FRAP. Se genera un reposo, en una cámara oscura a una temperatura de 37 °C, por 30 minutos. Para finalmente medir la absorbancia a una longitud de onda de 593 nm contra blanco.

Tabla 2. Preparación de la curva patrón de trolox a partir de una disolución concentrada de 1 000 mg.L⁻¹.

Volumen final 10 mL (agua destilada).

| Componentes añadidos | Concentración de ácido gálico (mg.L ⁻¹) | | | | |
|-------------------------|---|----|----|----|----|
| | 5 | 10 | 15 | 20 | 25 |
| Ácido gálico (μ L) | 10 | 20 | 25 | 30 | 35 |
| Disolución FRAP (mL) | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |

El Método ABTS (Ácido 2,2 –azinobis (3-etilbenzotiazolin)-6-sulfónico) se fundamenta en la capacidad de un antioxidante para estabilizar el radical catión coloreado ABTS, el cual es generado previamente por la oxidación del ABTS (2,2 –azinobis (3-etilbenzotiazolina-6- ácido sulfúrico) por metamioglobina y peróxido de hidrógeno. Los resultados son expresados como equivalentes de Trolox (19).

Para el experimento se construyó una curva de calibración haciendo diluciones sucesivas a partir de una disolución concentrada de 1000 mg.L⁻¹ de ácido gálico (que se hace referencia en la tabla 3). En base a esta disolución se prepararon 10 ml de cada una de las disoluciones diluidas de concentraciones crecientes de ácido gálico entre 5 y 25 mg.L⁻¹.

En esta determinación se tomaron 40 μ L de la muestra y se colocaron en la cubeta del espectrofotómetro. adicionando 2 mL de la disolución del radical y se esperaron durante 7 minutos. La lectura de absorbancia a una longitud de onda de 730,0 nm contra un blanco de etanol.

Tabla 3. Preparación de la curva patrón de trolox a partir de una disolución concentrada de 1 000 mg.L⁻¹.

Volumen final 10 mL (agua destilada).

| Componentes añadidos | Concentración de ácido gálico (mg.L ⁻¹) | | | | |
|-------------------------|---|----|----|----|----|
| | 5 | 10 | 15 | 20 | 25 |
| Ácido gálico (μ L) | 20 | 30 | 40 | 50 | 60 |
| Radical ABTS (mL) | 2 | 2 | 2 | 2 | 5 |

MÉTODOS ESTADÍSTICOS

Se realizó un experimento con dos factores:

Tabla 4. Factores de estudio

| Factor 1 – Estado de las hojas | Factor 2- Técnicas de análisis |
|--------------------------------|---|
| Hojas secas Hojas Húmedas | Método Folin-Ciocalteu. FRAP (Ferric ion reducing antioxidant Power). ABTS (ácido 2,2 –azinobis (3- etilbenzotiazolin)-6-sulfónico). |

Se obtuvieron un total de seis tratamientos por especies con la variable de salida polifenoles totales y actividad antioxidante. Las técnicas de análisis usadas son ANOVA y prueba de Tukey, con la determinación de intervalos de confianza para la media de la población.

Técnicas de análisis: El análisis estadístico fue desarrollado mediante el software IBM SPSS Versión 21.0.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La tabla 5 presenta los resultados de actividad polifenólica por el método Folin-Ciocalteu y de actividad antioxidante totales según los métodos de FRAP y ABTS. Se observan valores mayores en todas las determinaciones en los aceites esenciales obtenidos de muestras húmedas de hojas de Sacha Ajo.

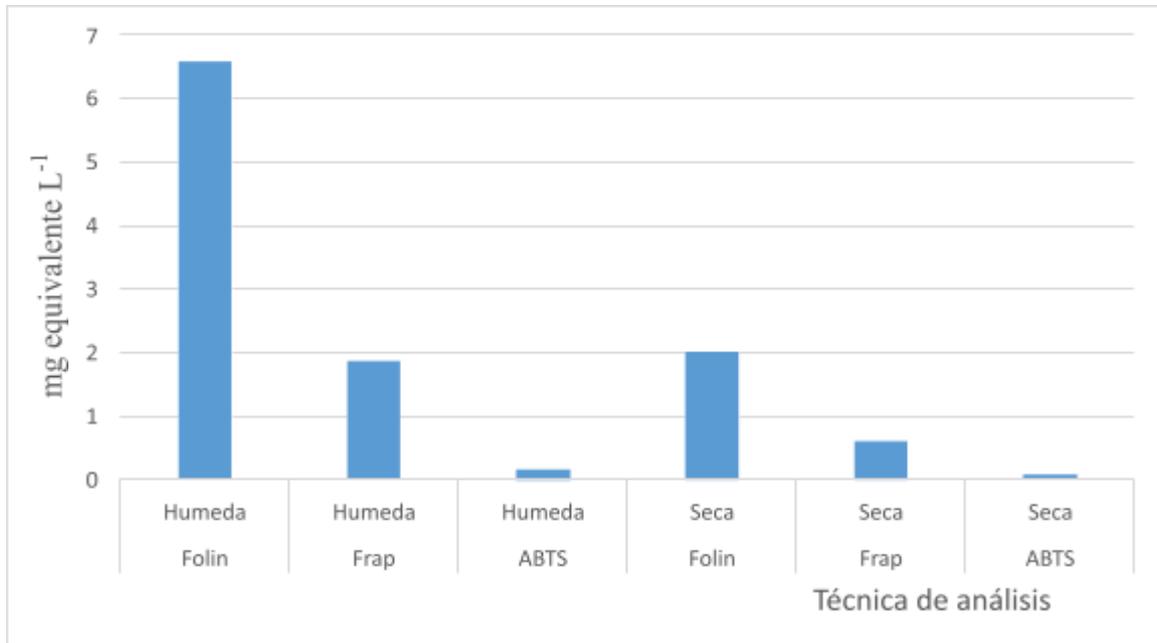
Tabla 5. Actividad polifenólica total según Foli-Ciocalteu (mg equivalente de ácido gálico.L⁻¹) y actividad antioxidante total por FRAP y ABTS (mg equivalente Trolox.L⁻¹) a aceites esenciales de Sacha Ajo (*Mansoa alliacea* L) en muestras húmedas y secas.

| Aceites esenciales | Técnicas de análisis | | |
|---------------------------------------|----------------------|-------------|-------------|
| | Folin- Ciocalteu | FRAP | ABTS |
| | 765 nm | 593 nm | 730 nm |
| Aceite esencial muestra húmeda (mg/L) | 6,58925 | 1,866616667 | 0,171816667 |
| Aceite esencial muestra seca (mg/L) | 2,0215 | 0,60795 | 0,084166667 |

Diferencia significativa en la columna para las técnicas empleadas en los análisis ($p < 0,05$ según Tukey).

A continuación, se grafica la actividad polifenólica total mediante Folin-Ciocalteu y la actividad antioxidante según FRAP y ABTS, en el aceite esencial de Sacha Ajo (*Mansoa alliacea* L) en muestras húmedas y seca.

Figura 1. Actividad polifenólica total según Folin-Ciocalteu (mg equivalente de ácido gálico.L⁻¹) y actividad antioxidante total por FRAP y ABTS (mg equivalente Trolox.L⁻¹) a aceites esenciales de Sacha Ajo (*Mansoa alliacea* L) en muestras húmedas y secas.



En el análisis estadístico se determinó la homogeneidad de los seis tratamientos, para ello se realizó prueba de hipótesis ANOVA con un nivel de significación de 0,05, se declaró las siguientes hipótesis.

Ho: Influye el estado de las hojas en la actividad antioxidante y polifenolica mediante las técnicas de análisis.

Ho: No influye el estado de las hojas en la actividad antioxidante y polifenolica mediante las técnicas de análisis.

Tabla 6. Anova del Sacha ajo.

| Suma de cuadrados | | gl | Media cuadrática | F | Sig. |
|-------------------|---------|----|------------------|---------|------|
| Entre grupos | 179,746 | 5 | 35,949 | 548,554 | ,000 |
| Dentro de grupos | 1,966 | 30 | ,066 | | |
| Total | 181,712 | 35 | | | |

El nivel de significación de la prueba es 0,00, se rechaza las hipótesis nulas, se asume la alternativa, se obtiene que el grupo no es homogéneo. Se aplica la prueba de Tukey donde se determinan los tratamientos que muestran diferencias significativas.

Tabla 7. Tukey del Sacha Ajo

| Tratamiento | N | Subconjunto para alfa = 0.05 | | | |
|--------------|---|------------------------------|-------|--------|--------|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 |
| ABTS seca | 6 | ,0842 | | | |
| ABTS húmeda | 6 | ,1718 | ,1718 | | |
| Frap seca | 6 | | ,6080 | | |
| Frap húmeda | 6 | | | 1,8666 | |
| Folin seca | 6 | | | 2,0215 | |
| Folin húmeda | 6 | | | | 6,5893 |
| Sig. | | ,991 | ,061 | ,898 | 1,000 |

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 6,000.

De igual manera todos los tratamientos son significativamente diferentes entre sí. En este caso a excepción de ABTS seca y ABTS húmeda, ABTS húmeda y Frap seca, Frap húmeda y Folin seca. Es de destacar que Folin húmeda es significativamente diferente a las demás técnicas de análisis. Según el estudio (Enríquez y Pérez 2019) realizado en Guaviduca (*Piper Carpunya L*) analizaron la actividad antioxidante y poli fenólica donde determinaron que sometiénolo a un secado de 35 °C / 60 minutos, se extrae lamayor cantidad de bioactivos (fenoles y flavonoides) que se convirtieron en aditivos naturales para alimentos, tomando en cuenta la abundancia de especies vegetales en el Ecuador. Quiroga (2021) determina que el contenido de polifenoles en *Mansoa allicea* fue de 18,57±0,64 g en extractos obtenidos de los tallos, con un contenido de antiocianinas de 0,30±0,06 EAG/100g extraído de hojas húmedas y en el caso de la capacidad antioxidante de hojas y tallos de base húmeda mediante los radicales libres DPPH fueron 1,21±0,09 IC50 (mg/mL) y 1,17±0,15 IC50 (mg/mL) respectivamente y con el radical ABTS0+ fueron 0,45±0,13 IC50 (mg/mL) y 0,51±0,04 IC50 (mg/mL) respectivamente, donde existió mayor capacidad en los tallos.

CONCLUSIONES

Mediante el análisis estadístico observamos que existe una dispersión, en relación al comportamiento antioxidante y polifenólico de la especie *Mansoa alliacea.*, esto se debe a los 2 factores tomados que son las hojas arbustivas en estado natural y seco, se observaron valores elevados en estado húmedo en el método de Folin y FRAP en estado húmedo mas no en el ABTS, y en estado seco los resultados son directamente

proporcionales entre ellos, definiendo que si influye el estado de la hoja en los resultados. Este estudio nos sirvió de inicio en la utilización de esta especie vegetal en procesos alimenticios.

Referencias bibliográficas

- Benzie I, Strain J. 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. *Anal Biochem.* 15; 239(1):70-6.
- Calero, A. (2012). Evaluación agroindustrial de ajo del monte (*Mansoa alliacea*). Quito. Disponible en: <https://bibdigital.epn.edu.ec/handle/15000/4866>
- CYTED (Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo). 1995. Disponible en: <https://www.cyteted.org/>
- Enríquez Estrella, M. 2021. Evaluación de la capacidad antioxidante y contenido fenólico del aceite esencial de hojas secas y húmedas de Guaviduca (*Piper carpunya* Ruiz & Pav.). *Semiárida*, 31, 1: 0915.
- Enríquez, M. y Pérez, M. 2019. Comportamiento antioxidante y polifenólico de la Guaviduca (*Piper carpunya* L) en extracción seca y húmeda. *Revista Alimentos Ciencia e Ingeniería*, 27, 1: 3544. <https://revistas.uta.edu.ec/erevista/index.php/aci/article/view/926/874>
- Hasperué, J. H., Rodoni, L. M., Guardianelli, L. M., Chaves, A. R., & Martínez, G. A. 2016. Use of LED light for Brussels sprouts postharvest conservation. *Scientia Horticulturae*, 213, 1974: 281–286.
- Ito-kawa H, Matsumoto K, Morita H, Takeya K., 1992. Cytotoxic naphthoquinones from *Mansoa alliacea*. *Phytochem.*31, 3: 1061-1062.
- López, J. y Pérez, J., 2010, "Fitoquímica y valor ecológico del olor a ajo en los vegetales", *Medicina Naturista*, Madrid, España, pp. 15-23.
- M. Faustin, M. Lebrini, F. Robert, C. Roos., 2011. Corrosion studies of C38 steel by alkaloids extract of a tropical plant type, *International Journal of Electrochemical Science*, 6: 4095-4113.
- Nacz M., Shahidi F. 2006. Phenolics in cereals, fruits and vegetables: Occurrence, extraction and analysis. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 41:1523–1542.
- Olivera-Condori M, Flores-Arizaca J, Vasquez Zavaleta T, Ocsa-Borda E. 2013. Propiedades Físicoquímicas y Bioactivas in Vitro del aceite esencial de *Mansoa alliacea* (LAM.) A. GENTRY. *El CEPROSIMAD.* 2, 1: 96-102.
- Quiroga P. 2012. Compuestos bioactivos y capacidad antioxidante en los extractos de hojas y tallo de ajos sacha (*Mansoa alliacea*), efecto de la temperatura y ph en su estabilidad. In *Facultad De Zootecnia*. Disponible en: <https://repositorio.unas.edu.pe/handle/UNAS/1969>
- Silva, D., 1995. Plantas medicinales de la amazonia peruana. Instituto peruano de seguridad social, Instituto de medicina tradicional, Lima, Perú, p.28