

EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE LOS EXTRACTOS ACUOSOS DE LA RAÍZ Y LAS HOJAS DE *Smallanthus sonchifolius* (YACÓN)

Arnao, I^{a*}; Suárez, S^a; Cisneros, R.^a y Trabucco, J.^a

RESUMEN

El objetivo del presente trabajo fue determinar la capacidad antioxidante *in vitro* del extracto acuoso de raíces (ERY) y hojas (EHY) de yacón y de sus mezclas. Se emplearon extractos acuosos al 4% (p/v) de raíces de yacón y al 2% (p/v) de hojas procedentes del departamento de Cajamarca. Se evaluó la capacidad antioxidante *in vitro*, mediante la prueba de DPPH y el contenido total de fenoles totales y flavonoides de ERY y EHY y de sus mezclas en las proporciones 80/20, 60/40, 50/50, 40/60 y 20/80, respectivamente. El IC₅₀ del ERY fue mayor que del EHY; el contenido de fenoles totales y flavonoides del ERY (11,1 ± 0,06 mg de EAG/g y 2,7 ± 0,02 mg de EQH/g) fueron menores que el EHY (66,4 ± 1,05 mg de EAG/g y 17,0 ± 0,65 mg de EQH/g). Las mezclas de ERY/EHY dieron valores intermedios para los parámetros evaluados. La mayor capacidad antioxidante de EHY sobre ERY se relaciona directamente con el mayor contenido de fenoles totales y flavonoides y menor IC₅₀ frente al DPPH. En promedio, el 24% de los fenoles totales son flavonoides, en los ERY, EHY y en las diferentes mezclas empleadas.

Palabras clave: *Smallanthus sonchifolius*, capacidad antioxidante, flavonoides, fenoles totales.

EVALUATION OF ANTIOXIDANT CAPACITY OF AQUEOUS EXTRACTS OF ROOT AND LEAF *Smallanthus sonchifolius* (YACON)

ABSTRACT

The aim of this study was to determine the antioxidant capacity *in vitro* of aqueous extract of leaves (EHY) and roots (ERY) of yacon and mixtures thereof. Aqueous extracts were used 4% (w/v) of yacon roots and 2% (w/v) of sheets from the department of Cajamarca. We evaluated the antioxidant capacity *in vitro*, by DPPH test and the content of total phenols and flavonoids of ERY and EHY and their mixtures in the proportions 80/20, 60/40, 50/50, 40/60 and 20/80, respectively. The IC₅₀ of ERY was greater than the EHY; the content of total phenols and flavonoids of the ERY (11.1 ± 0.06 mg of EAG / g and 2.7 ± 0.02 mg EQH / g) were lower than for the EHY (66.4 ± 1.05 mg of EAG / g and 17.0 ± 0.65 mg EQH / g). Mixtures of ERY / EHY gave intermediate values for the parameters. The highest antioxidant capacity of EHY on ERY is directly related to the higher content of total phenols and flavonoids and lower IC₅₀ against DPPH. On average, 24% of total phenolics are flavonoids, in the ERY, EHY and different mixtures used.

Key words: *Smallanthus sonchifolius*, antioxidants, flavonoids, total phenols.

^{a*} Miembros del C.I. Bioquímica y Nutrición - Facultad de Medicina - UNMSM.
Avenida Grau 755, Lima 1 - Perú. e-mail: inesarnao@hotmail.com

INTRODUCCIÓN

Los cultivos andinos, como los granos, tubérculos, raíces, frutales, plantas aromáticas y medicinales, tienen gran potencial de transformación en productos procesados; pero actualmente, en nuestro país, no se les da un uso comercial pudiéndose obtener productos con características excepcionales. La gran variabilidad genética de los cultivos andinos que se traduce en diferentes calidades y cantidades de metabolitos primarios y secundarios (alcaloides, taninos, fenoles totales, carotenos, entre otros), también nos permite diferentes formas de procesarlos¹.

Uno de estos cultivos es el yacón (*Smallanthus sonchifolius* [Poepp. & Endl.] H. Robinson), recurso nativo usado en medicina tradicional, que crece desde el nivel del mar hasta 3500 msnm, en un rango óptimo de temperatura de 18 a 25°C y no requiere de fertilizantes químicos ni pesticidas.²

El yacón es un producto natural con potencial en el tratamiento de la diabetes, ya que tanto en las raíces como en las hojas se ha encontrado una acción hipoglicémica y antioxidante. Además, ha sido descrito su empleo con las propiedades siguientes: prebiótico, antienvjecimiento (para la raíz) y antibacteriano y hepatoprotector (para la hoja).²⁻⁵

Las propiedades medicinales de algunas plantas, estarían relacionadas a la presencia de antioxidantes, y la acción terapéutica podría deberse, en parte, a su capacidad para captar radicales libres derivados del oxígeno (ROS) que están involucrados en muchas enfermedades.

En términos generales, la raíz tuberosa recién cosechada contiene entre 50 y 70% de fructooligosacáridos (FOS) y acumulan, además, compuestos fenólicos derivados del ácido cafeico. Por otro lado, las hojas contienen sólo trazas de FOS y han sido identificados sesquiterpenos, lactonas y flavonoides^{3,5}. Está documentado que las propiedades antioxidantes en hojas y raíces de yacón se relacionan con la presencia de los ácidos clorogénico, ferúlico y cafeico⁶.

Es necesario conocer y difundir las propiedades del yacón ya que es un recurso promisorio como nutraceutico o alimento funcional; es decir, que independientemente de su valor nutritivo, ejerce un efecto benéfico para la salud del consumidor². La mayoría de las publicaciones se refieren a la actividad antioxidante de la raíz tuberosa o de la hoja y son pocos los trabajos que realizan estudios comparativos en una misma especie.

En la presente investigación nos propusimos comparar la capacidad antioxidante de un extracto acuoso de las hojas y de las raíces tuberosas de yacón y de sus mezclas en diferentes proporciones, para revalorar este cultivo y darle un valor agregado como antioxidante.

PARTE EXPERIMENTAL

Las hojas y raíces se obtuvieron de los cultivares procedentes del Campo Experimental del Programa de Raíces y Tubérculos Andinos, de la Universidad Nacional de Cajamarca, ubicado a 2536 msnm.

Las hojas y raíces fueron lavadas, secadas en estufa a 37°C por 48 horas y luego molidas.

El extracto acuoso de hojas (EHY) se preparó mediante una decocción al 2% (p/v), por 15 minutos. Luego de enfriado a temperatura ambiente se filtró a través de gasa, se centrifugó a 10 000 gravedades en una Sorvall RC2-B refrigerada y el sobrenadante se filtró en papel Whatman N° 1.

El extracto acuoso de raíz (ERY) fue al 4% (p/v) y se procedió como en el caso anterior. Adicionalmente, se realizó la hidrólisis con una alícuota del filtrado, empleando ácido oxálico al 5%, a 80°C por 30 minutos, para favorecer la liberación de los metabolitos secundarios. A partir de alícuotas de cada filtrado se obtuvo la materia extraíble.

Métodos

Se evaluó la capacidad antioxidante total de los extractos de raíces y hojas, así como de sus mezclas en las proporciones 80/20, 60/40, 50/50 y 40/60, 20/80, respectivamente. El método empleado fue con la prueba de DPPH (1,1-Difenil-2-picrilhidracilo), según el método de Brand-Willians⁷ expresado como IC_{50} (μg de materia extraíble/mL). Este valor corresponde a la concentración del extracto que reduce en un 50% la absorbancia de una solución metanólica de DPPH a 517 nm con una absorbancia inicial de 0,600. Se usó como estándar el ácido ascórbico para obtener la capacidad antioxidante equivalente a la vitamina C (VCEAC-DPPH).

Los metabolitos secundarios determinados fueron:

- Contenido de fenoles totales: se empleó el reactivo de Folin Ciocalteau, según Singleton⁸, expresando los resultados como mg equivalentes de ácido gálico (EAG)/g de materia extraíble.
- Contenido de flavonoides: la determinación se realizó según Geissman⁹ y los valores fueron expresados como mg equivalentes de quercetina dihidratada (EQ)/g de materia extraíble.

Estadística: Las muestras por duplicado fueron analizadas en tres determinaciones independientes y los valores se reportan como la media aritmética y su desviación estándar.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la figura 1 se presenta los valores de captación del radical libre DPPH* de hojas y raíces de yacón y sus mezclas, expresados en IC_{50} . Se observa que los extractos de hojas presentan valores de IC_{50} menores que las raíces, lo que significa que tienen mayor capacidad para captar los radicales libres. Los IC_{50} , disminuyen a medida que la proporción de EHY aumenta en la mezcla, alcanzando el valor más bajo ($26,1 \mu\text{g}/\text{mL} \pm 0,6$) en la relación 0/100 raíz/hoja. Empleando ácido ascórbico como referencia obtuvimos un IC_{50} de $1,72 \pm 0,046 \mu\text{g}/\text{mL}$, correspondiendo a un VCEAC de $6\,590 \text{ mg}/100 \text{ g}$ para el EHY. En el caso del ERY, el IC_{50} fue de $346,4 \mu\text{g}/\text{mL}$ y un VCEAC de $497 \text{ mg}/100 \text{ g}$.

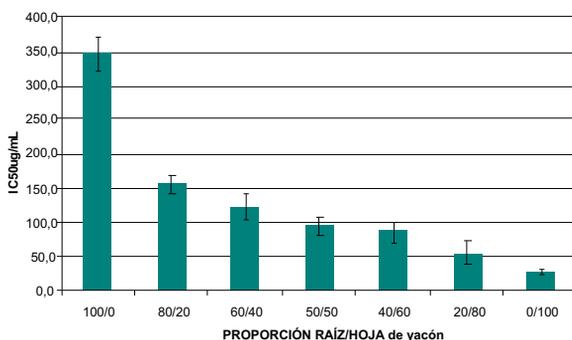


Figura 1. Valores de IC_{50} ($\mu\text{g}/\text{mL}$) de raíz y de hoja secas de yacón en las proporciones que se indican en la abscisa.

Referente al contenido de fenoles totales y flavonoides, los resultados se muestran en la tabla 1 y se observa que las hojas presentan un mayor contenido de fenoles totales y flavonoides (66,4 mg/g y 17,0 mg/g) comparados con los de la raíz (11,1 mg/g y 2,7 mg/g). Sin embargo, la relación porcentual de flavonoides/fenoles se encuentra en el rango de 23,3 a 25,5 siendo el promedio 24%.

Tabla 1: Contenido de fenoles totales y flavonoides en mezclas de extracto acuoso de raíces y hojas de yacón

Proporción Raíz/Hoja	Fenoles totales (mg EAG/g)	Flavonoides totales (mg EQ/g)	Flavonoides Fenoles (%)
R100%/H0%	11,1 +/- 0,06	2,7 +/- 0,02	24,7
R80%/H20%	12,0 +/- 0,11	2,9 +/- 0,03	24,1
R60%/H40%	13,7 +/- 0,30	3,2 +/- 0,18	23,3
R50%/H50%	14,7 +/- 0,20	3,5 +/- 0,08	23,6
R40%/H60%	16,0 +/- 0,23	3,9 +/- 0,12	24,3
R20%/H80%	22,1 +/- 0,22	5,2 +/- 0,16	23,5
R0%/H100%	66,4 +/- 1,05	17,0 +/- 0,65	25,5

Los valores de IC_{50} de 346,4 $\mu\text{g/mL}$ y 26,1 $\mu\text{g/mL}$ para el ERY y el EHY, respectivamente, nos indican que las hojas tienen 13 veces mayor capacidad para captar los radicales libres (RL) con respecto a la raíz. Este resultado es importante porque, además de la acción hipoglicemiantes del yacón³, se agrega el potencial antioxidante. Por otro lado, debe resaltarse que esto permitiría un mayor rendimiento de esta planta porque la cosecha de la hoja se realiza en menor tiempo y con mayor frecuencia que la raíz. Por otro lado, Muñoz y col. reportaron para la raíz de yacón un valor de VCEAC menor al nuestro; pero este dato fue expresado en muestra fresca¹⁰.

Datos previos publicados para 10 accesiones procedentes de Cajamarca presentan valores de IC_{50} para la raíz (247,08 - 814,96 $\mu\text{g/mL}$) y la hoja de yacón (44,2 - 110,3 $\mu\text{g/mL}$) bajo una extracción etanólica¹¹. En este caso, el IC_{50} sólo del ERY está dentro de dicho rango, pero el IC_{50} del EHY expresa un mejor comportamiento. Al parecer el tratamiento por decocción incrementa la capacidad antioxidante de las hojas. Valentová y col¹², quienes trabajaron con extractos acuosos de las hojas de yacón cultivadas en la República Checa, encuentran IC_{50} para DPPH de 16,14 y 33,39 $\mu\text{g/mL}$, en comparación al 26,1 $\mu\text{g/mL}$ del presente trabajo.

El estudio de Castañeda y col.¹³ reportó que con 200 $\mu\text{g/mL}$ de extracto acuoso proveniente de Cañete, obtuvieron un 103% de captación de DPPH, siendo en nuestro caso de 113% con una concentración de 26,1 $\mu\text{g/mL}$. En ese mismo estudio se reporta valores de 100% de capacidad antioxidante para las hojas de *Minthostachys mollis* "muña", *Alchornea casteneifolia* "hiporuro", *Calophyllum brasiliense* "lagarto", pero a una concentración de 100 $\mu\text{g/mL}$.

La capacidad para captar RL indica que estas plantas pueden ser usadas como una fuente de antioxidantes y la actividad reportada puede ser atribuida al efecto sinérgico de varios compuestos bioactivos presentes en el extracto.

Con respecto a las mezclas que realizamos en diferentes proporciones de extractos de hojas y raíces de yacón, ninguna de ellas logró tener un valor de IC_{50} menor al obtenido con la hoja, y observamos que estos aumentan linealmente conforme se incrementan las cantidades de la raíz en estas mezclas (de 115,2 hasta 316,2 $\mu\text{g}/\text{mL}$).

Los compuestos fenólicos son un grupo de antioxidantes que forman parte importante de la dieta y engloba a más de 8,000 compuestos que tienen como característica estructural un anillo benceno y grupos hidroxilos. Los ácidos protocatehuico, clorogénico, cafeico y ferúlico contribuyen mayoritariamente a la actividad antioxidante de los extractos preparados a partir de hojas, rizomas y la raíz tuberosa de yacón^{10, 14, 15}

Cuando evaluamos el contenido de polifenoles y flavonoides en yacón observamos que los valores más altos corresponden al EHY (66,4 mg EAG/g y 17,0 mg EQ/g, respectivamente) comparados con los de la raíz (11,1 mg EAG/g y 2,7 mg EQ/g).

Si expresamos el contenido de fenoles en la raíz por 100 g, tendríamos un valor mayor a los 67,64 mg reportados por Muñoz y col¹⁰. Esta diferencia se debería al elevado porcentaje de agua presente en la raíz tuberosa fresca, como ya lo hemos mencionado.

Lachman y col¹⁵ determinaron los polifenoles totales en la biomasa de la planta de cinco genotipos de yacón en el rango de 34,94 a 68,49 mg/g y estableció una relación para raíz, hojas y rizomas de 1,0:1,4:3,3. En nuestro caso, los fenoles totales de las hojas de yacón están dentro de los valores descritos; pero la relación para raíz y hojas es diferente (1,0:6,0). Un aspecto a considerar, según Simonovska y col¹⁴, son las condiciones de la hidrólisis ácida, que incrementa la cantidad de ácidos fenólicos liberados en la raíz de yacón, al parecer en nuestro caso estas condiciones fueron muy suaves, ya que no se logró incrementar el contenido de compuestos fenólicos.

Un tipo de polifenoles son los flavonoides, que son más abundantes en las hojas de yacón (4,62 mg EQ/g) que en la raíz (0,43 mg EQ/g). Establecimos una relación porcentual de los flavonoides/fenoles totales y se observó que ésta fue casi 60% mayor en las hojas con respecto a las raíces.

Finalmente, las proporciones de las diferentes mezclas del EHY y del ERY dieron valores intermedios a los referidos anteriormente y se obtuvo una relación porcentual de flavonoides/fenoles de 24%. Una relación semejante (23%) encontramos en un estudio con 10 accesiones de hojas de yacón procedentes de Cajamarca (datos no publicados). Estos resultados pueden, parcialmente, explicar su potencial antioxidante; sin embargo, se debe mencionar que aún no se han dilucidado todos los metabolitos secundarios del yacón, aunque se están reconociendo nuevos componentes¹⁶.

Tomando en consideración los resultados mencionados, los EHY presentan mayor capacidad antioxidante que los ERY, y teniendo en cuenta una mayor frecuencia de cosecha de las hojas, puede sugerirse su aplicación preferencial en la elaboración de bebidas hidratantes con antioxidantes para deportistas y diabéticos. El yacón puede ser usado no sólo como alimento sino como fuente de suplementos antioxidantes, siendo este valor agregado el requerido en la prevención de enfermedades crónicas.

CONCLUSIONES

Por los resultados obtenidos: mayor contenido de fenoles totales y flavonoides, menor IC_{50} y mayor VCEAC, podemos concluir que la hoja tiene mayor capacidad de captar radicales libres que la raíz y constituye una fuente antioxidante alternativa con gran proyección industrial. Los fenoles totales y flavonoides contribuirían parcialmente con esta actividad.

AGRADECIMIENTOS

Los autores del trabajo agradecen al Vicerrectorado de Investigación - Consejo Superior de Investigación de la UNMSM, por el financiamiento parcial del proyecto 090104261.

Un agradecimiento especial, al Ing Juan Seminario por habernos proporcionado las hojas y raíces de yacón.

BIBLIOGRAFÍA

- Jacobsen, SE; Mujica, A y Ortiz, R. La Importancia de los Cultivos Andinos. *Fermentum*, 2003; 13(36): 14-24
- Seminario J, Valderrama M, y Manrique I. “El yacón, fundamentos para el aprovechamiento de un recurso promisorio”. Centro Internacional de la Papa (CIP), Universidad Nacional de Cajamarca, Agencia Suiza para el Desarrollo y la Cooperación (COSUDE), Lima, Perú, 60 p, 2003.
- Valentová, K & Ulrichová, J. *Smallanthus sonchifolius* and *Lepidium meyenii* - prospective andean crops for the prevention of chronic diseases. *Biomed. Papers*, 2003; 147(2): 119-130.
- Lachman, J; Fernández, EC; Orsák, M. Yacon [*Smallanthus sonchifolia* (Poepp. et Endl.) H. Robinson] chemical composition and use-a review. *Plant Soil Environ*, 2003; 49 (6): 283–290.
- Lock, O. y Rojas, R. Química y Farmacología de *Smallanthus sonchifolius* (Poepp.) H. Rob. (“Yacón”). *Revista de Química*, 2005; 19(1): 31-35.
- Valentová, K, et al. The biological and chemical variability of yacon. *J. Agric. Food Chem.* 2006; 54: 1347-1352.
- Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset C. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensm. Wiss. Technol* 1995; 28 (1): 25-30.
- Singleton, V; Orthofer, R.; Lamuela-Raventós, R. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. *Method. Enzymol.* 1999; 299: 152-178.
- Geissman, JL. Absorption Spectra of metal complexes of flavonoid compounds. *J Org Chem*, 1956; 21: 1395-1401.
- Muñoz, AM; Ramos-Escudero, Alvarado-Ortiz, C; Castañeda, B. Evaluación de la capacidad antioxidante y contenido de compuestos fenólicos en recursos vegetales promisorios. *Rev Soc Quím Perú.* 2007; 73 (3): 142-149.
- Arnao, I; Seminario, J; Cisneros, R, Trabucco, J. Potencial antioxidante de 10 accesiones de yacón, *Smallanthus sonchifolius* (Poepp. & Endl.) H. Robinson, procedentes de Cajamarca - Perú. *An Fac med.* 2011; 72 (4): 239-43.
- Valentová, K; Sersen, F; Ulrichová, J. Radical scavenging and anti-lipoperoxidative activities of *Smallanthus sonchifolius* leaf extracts. *J. Agric. Food Chem.*, 2005; 53(14): 5577-82.
- Castañeda CB, Ramos LLE, Ibáñez VL. Evaluación de la capacidad antioxidante de siete plantas medicinales peruanas. *Revista Horizonte Médico*, 2008; 8 (1): 56-72.
- Simonovska, B., Vovk, I, Andrenšek, S; Valentová, K & Ulrichová, J. Investigation of phenolic acids in yacon (*Smallanthus sonchifolius*) leaves and tubers. *J. Chromatogr. A*. 2003; 1016(1): 89-98.
- Lachman, J, Fernández, EC, Viehmannová, I., Sulc, M & Cepková, P. Total phenolic content of yacon (*Smallanthus sonchifolius*) rhizomes, leaves, and roots affected by genotype. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*, 2007; 35: 117-123.
- Dou DQ, Tian F, Qiu YK, Xiang Z, Xu BX, Kang TG, Dong F. Studies on chemical constituents of the leaves of *Smallanthus sonchifolius* (yacon): Structures of two new diterpenes. *Nat Prod Res.* 2010; 24(1): 40-7.