

DETERMINACIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE EXTRACTOS DE ALCACHOFA (*Cynara scolymus* L.)

Martín Cruzado¹, Ana Pastor¹, Nino Castro¹ y Juan Carlos Cedrón^{2*}

RESUMEN

Como parte de un proyecto con la empresa Danper Perú, se evaluó el contenido de compuestos fenólicos y la actividad antioxidante de diversos extractos de alcachofa (*Cynara scolymus* L.), cultivada en el norte del Perú (provincia de La Libertad). El contenido de compuestos fenólicos expresados como mg de ácido gálico varía entre 93 y 117 mg por gramo de muestra, dependiendo del tipo de extracto analizado y de la forma de ser procesado. La actividad antioxidante de un gramo de la muestra con mayor contenido de compuestos fenólicos es comparable a la actividad de 47 mg de ácido gálico.

Palabras clave: Actividad antioxidante, fenoles totales, extracto de alcachofa, ácido gálico.

DETERMINATION OF PHENOLIC COMPOUNDS AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF ARTICHOKE EXTRACTS (*Cynara scolymus* L.)

ABSTRACT

As a part of a project with Danper Peru, the content of phenolic compounds and the antioxidant activity of several artichoke (*Cynara scolymus* L.) extracts have been evaluated. The total content of phenolic compounds, expressed as mg of gallic acid was between 93 and 117 mg per gram of extract, depending on the sample and processing. The antioxidant activity of one gram of the sample with the highest amount of phenolic compounds was comparable to the activity of 47 mg of gallic acid.

Keywords: Antioxidant activity, total phenols, artichoke extract, gallic acid.

INTRODUCCIÓN

La alcachofa es una planta perteneciente al género *Cynara*, de reconocido uso alimenticio a lo largo de la historia, que se cultiva en países con climas templados, tales como Italia, España, Egipto y Marruecos.¹ La alcachofa contiene numerosos compuestos químicos de reconocida actividad farmacológica, tales como hepatoprotectora, colerética, diurética, antioxidante, entre otras.^{2,3} Este hecho, acompañado de su alto valor alimenticio, ha permitido que esta planta sea una de las más consumidas en su género.⁴ La especie *Cynara scolymus* L. se cultiva en diferentes zonas de la costa y sierra del Perú, y se ha convertido en los últimos años en un producto de exportación de bandera de nuestro país.

Del proceso industrial de la elaboración de corazones de alcachofa se obtienen diversas soluciones residuales, a partir de las cuales se preparan ingredientes para la industria alimentaria y farmacéutica.⁴ Debido al creciente interés por los productos naturales

¹ Pontificia Universidad Católica del Perú. Sección Química. Av. Universitaria 1801, Lima 32 - Perú.

² Universidad de Ingeniería & Tecnología (UTECH). Av. Cascanueces 2281 Santa Anita, Lima 43 - Perú.
jcedron@utec.edu.pe, mail@jcedron.com

antioxidantes, que logran evita efectos dañinos de los radicales libres en nuestro organismo⁵, nace el interés de determinar la actividad antioxidante en el extracto de alcachofa.⁶ Se considera este trabajo como el primer estudio que evalúa la actividad antioxidante y el contenido de compuestos fenólicos de la alcachofa realizado en Perú. La literatura internacional reporta este tipo de estudios en otras especies de alcachofas.⁷

PARTE EXPERIMENTAL

Determinación de compuestos fenólicos totales en el extracto de alcachofa

La determinación de fenoles se realizó mediante la técnica de Folin-Ciocalteu, la cual se basa en la propiedad de los fenoles de reaccionar frente a agentes oxidantes. Este reactivo contiene molibdato y tungstato sódico que al reaccionar con los compuestos fenólicos presentes, forman complejos fosfomolibdico - fosfotúngstico. En medio básico la transferencia de electrones reduce estos complejos a óxidos de tungsteno (W_8O_{23}) y molibdeno (Mo_8O_{23}), cromógenos de color azul intenso que son proporcionales a la cantidad de grupos fenólicos presentes en la molécula de interés.^{8,9,10}

La lectura de la absorbancia del complejo se realizó a 760 nm en un espectrómetro ultravioleta - visible. Se realizó una curva de calibración con ácido gálico (patrón). Los resultados fueron expresados en mg de ácido gálico equivalentes por gramo de extracto de alcachofa.¹¹

Materiales y reactivos

Solución patrón: ácido gálico 0,1 g/L

Solución de carbonato de sodio al 20% (w/v).

Reactivo Folin-Ciocalteu 1N.

Preparación de muestras

- La solución acuosa obtenida de la cocción a 70 °C de corazones de alcachofa fue liofilizada. El extracto liofilizado se denominó **M1**.
- La solución acuosa obtenida de la cocción a 70 °C de hojas picadas y licuadas de alcachofa fue liofilizada. El extracto liofilizado se denominó **M2**.
- La solución acuosa obtenida de la cocción a 70 °C de corazones de alcachofa fue filtrada (filtro 5 µm), para después ser liofilizada. El extracto liofilizado se denominó **M3**.
- La solución acuosa obtenida de la cocción a 70 °C de hojas picadas y licuadas de alcachofa fue filtrada (filtro 5 µm), para después ser liofilizada. El extracto liofilizado se denominó **M4**.

Preparación de curva de calibración

A partir de la solución patrón de ácido gálico de 0,1 g/L, se procedió a realizar una serie de diluciones con agua destilada para obtener concentraciones de 1, 1,5, 2, 3 y 4 mg/L. Para ello se colocó en distintos viales protegidos de la luz 20, 30, 40, 60 y 80 µL de la solución patrón antes descrita. A cada vial se le adicionó 250 µL del reactivo de Folin-Ciocalteu 1 N, se agitó y luego se agregó 0,75 mL de carbonato de sodio al 20%. La mezcla se llevó a volumen final de 2 mL usando agua destilada y se dejó reposar por 2 h. Finalmente, se tomó la lectura en el espectrofotómetro UV a 760 nm. El blanco tuvo los mismos componentes excepto el ácido gálico.⁸

Determinación de fenoles

Se procedió a pesar 2 mg de cada uno de los extractos liofilizados, el cual se disolvió en 50 mL de agua destilada. Se tomó 0,5 mL de la disolución a la cual se le adicionó 0,75 mL del reactivo de Folin-Ciocalteu 1 N. Se dejó reposar alrededor de 5 minutos y se adicionó 0,75 mL de carbonato de sodio al 20%. Se agitó y se dejó reposar por 2 h. Se analizó por UV-V a 760 nm.⁸

Determinación de la actividad antioxidante en el extracto de alcachofa

El radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH) posee un electrón desapareado, lo cual le confiere un color violeta observado en la respectiva banda de absorción alrededor de los 517 nm.^{8,12} El parámetro que se midió es el porcentaje de reducción del DPPH (Q) frente a la muestra, llamado también de inhibición.¹³

Se define Q como:

$$Q = \left(1 - \frac{A_{\text{muestra}}}{A_{\text{control}}} \right) \times 100$$

Donde:

A_{muestra} = absorbancia de la muestra

A_{control} = absorbancia del reactivo DPPH

Materiales y reactivos

Solución de DPPH de 150 $\mu\text{mol/L}$ en metanol/ H_2O 4:1. Esta solución fue preparada antes de cada uso.

Solución patrón: se realizó un control positivo con ácido gálico, para lo cual se preparó ocho diluciones del ácido en el rango de 45 – 0,1 mg/mL.

Preparación de la solución problema: se disolvió 2 g de la muestra en 10 mL de metanol/ H_2O 4:1. La solución se filtró y se preparó siete soluciones diluidas en el rango de 200 - 5 mg/mL de muestra.

Determinación de la actividad antioxidante

Se tomó 0,2 mL de cada dilución de la muestra problema **M1** en viales de 10 mL protegidos de la luz, y se adicionó 2 mL de la solución de DPPH. Se agitó y luego se dejó en reposo durante 30 minutos. Finalmente, se leyó en el espectrofotómetro UV - V a 517 nm.

Se realizó el mismo procedimiento para la solución patrón de ácido gálico usado como estándar.

Finalmente, se determinó el porcentaje de reducción del DPPH (Q), tanto para la muestra M1 (extracto de alcachofa), como para las diluciones de ácido gálico.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN**Determinación del contenido de fenoles totales**

Se midió la absorbancia de las soluciones de ácido gálico patrón (ver tabla 1). Con estos datos se elaboró la curva patrón respectiva (figura 1).

Tabla 1. Absorbancias del estándar de ácido gálico a 760 nm

Concentración (mg/L)	Absorbancia promedio
1,0	0,0316 \pm 0,005
1,5	0,0594 \pm 0,001
2,0	0,1070 \pm 0,006
3,0	0,2215 \pm 0,003
4,0	0,3251 \pm 0,004

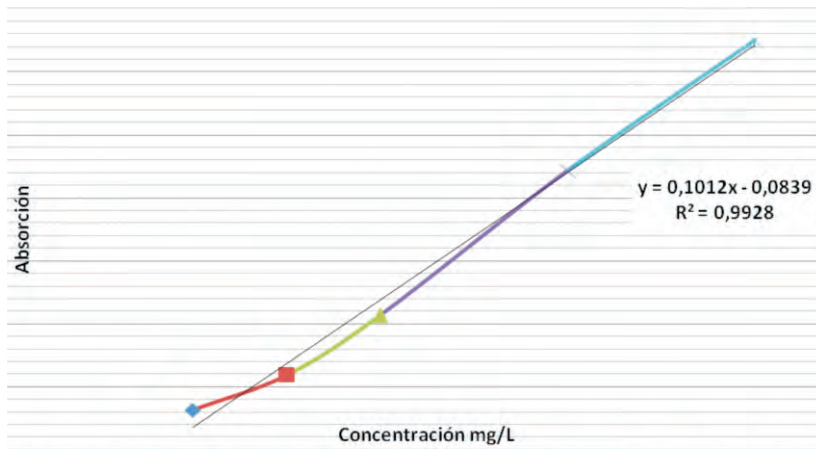


Figura 1. Curva de calibración del ácido gálico

Empleando la siguiente fórmula se relacionó la concentración de ácido gálico con la absorbancia:

$$[\text{Ácido gálico}] = \frac{\text{Absorbancia} + 0,0839}{0,1012}$$

Para el análisis se utilizó las muestras liofilizadas M1, M2, M3 y M4. Las dos primeras (M1 y M2) son muestras sin previo tratamiento, en cambio M3 y M4 fueron microfiltradas.

En la tabla 2 se observa la equivalencia entre la absorbancia promedio de las muestras con la concentración de ácido gálico obtenida de la ecuación proveniente de la curva de calibración del respectivo ácido. Luego, en la última columna se ha expresado el porcentaje equivalente de ácido gálico en el extracto sólido

Tabla 2. Resultados de fenoles totales en los extractos de alcachofa liofilizados

Muestra	Peso (mg)	Absorbancia promedio	Concentración ácido gálico (mg/L)	% equivalente de ácido gálico en el extracto
M1	3,1	0,1002 ± 0.001	1,8192	11,7
M2	2,0	0,0206 ± 0.002	1,0326	10,3
M3	2,2	0,0200 ± 0.003	1,0266	9,3
M4	2,7	0,0461 ± 0.001	1,2845	9,5

De las muestras analizadas, M1 y M2 son las que presentaron una mayor concentración de fenoles totales. Dado que M1 y M2 proceden de soluciones del proceso de cocción de alcachofa y no tienen ningún tratamiento adicional, podemos concluir que el proceso de microfiltración disminuye la concentración de fenoles totales debido a la pérdida de este tipo de compuestos.

Al comparar los valores obtenidos con las de otras variedades de alcachofas (3.1 – 5.8% de compuestos fenólicos) recopilados de la bibliografía¹⁴, se concluye que los distintos extractos de alcachofa tienen una alta concentración de fenoles totales, destacando M1 con 11,7%.

Determinación de la actividad antioxidante

La tabla 3 resume las absorbancias promedio y el porcentaje de inhibición de DDPH (Q) dependiendo de la concentración de ácido gálico (mg/mL).

Tabla 3. Absorbancias promedio y valor de Q del ácido gálico

Concentración ácido gálico (mg/mL)	Absorbancia promedio	Q (%)
0	0,5012 ± 0,009	0
0,1	0,4133 ± 0,007	17,5
0,25	0,3839 ± 0,008	23,4
0,5	0,3571 ± 0,005	28,8
1	0,3374 ± 0,007	32,7
5	0,2694 ± 0,001	46,2
10	0,2337 ± 0,003	53,4
30	0,1956 ± 0,005	61,0
45	0,1872 ± 0,001	62,6

Para el análisis de la actividad antioxidante se eligió la muestra M1, dado que era la que presentaba la mayor cantidad de compuestos fenólicos totales. En la tabla 4 se presenta las absorbancias promedio de la muestra M1. De este promedio se obtiene el porcentaje de inhibición de DDPH de las distintas concentraciones de M1.

Tabla 4. Resultados de la absorbancia promedio y valor de Q de M1

Concentración de M1 (mg/mL)	Absorbancia promedio	Q (%)
0	0,6544 ± 0,009	0
5	0,5599 ± 0,006	14,4
10	0,5483 ± 0,006	16,2
25	0,5382 ± 0,030	17,8
50	0,4788 ± 0,030	26,8
100	0,3768 ± 0,010	42,4
150	0,3451 ± 0,010	47,3
200	0,3225 ± 0,009	50,7

Se observó que la muestra M1 consumió el 50% de reactivo DPPH a una concentración cercana a 200 mg/mL, mientras que el ácido gálico consumió el 50% de reactivo DPPH a una concentración aproximada de 9,5 mg/mL. Por lo tanto, un gramo de alcachofa liofilizada tiene la actividad antioxidante de 47 mg de ácido gálico, valores comparable con los obtenidos en otros estudios realizados con la alcachofa.¹⁵

CONCLUSIONES

- El contenido de fenoles totales del extracto de alcachofa de la especie *Cynara scolymus* L. alcanzó ser de 117,3 mg de ácido gálico/g de extracto. Este valor resultó ser mayor que en otras especies de alcachofas reportadas (31 - 58 mg de ácido gálico/g de extracto). Se encontró las mayores concentraciones de fenoles en muestras que no fueron microfiltradas, concluyendo que este proceso reduce la concentración de fenoles en los extractos de alcachofa.
- Se logró determinar la actividad antioxidante en el extracto liofilizado de alcachofa con mayor contenido de compuestos fenólicos, mediante el empleo del reactivo DPPH. Se obtuvo un valor de CI_{50} a una concentración de 200 mg/mL, lo cual es comparable a una actividad antioxidante de 47 mg de ácido gálico.

AGRADECIMIENTOS

Al programa de ciencia y tecnología FINCYT (Contrato N° 162-FINCYT-FIDECOM-PIPEI-2010) por el financiamiento del proyecto de investigación.

Al personal de la Sección Química de la Pontificia Universidad Católica del Perú, por las facilidades otorgadas en el uso de las instalaciones y equipos.

REFERENCIAS

1. Sonnante G, Pignone D, Hammer K. The domestication of artichoke and cardoon: from Roman times to the genomic age. *Ann. Bot.* 2007; 100 (5): 1095-1100.
2. Lattanzio V, Kroon P, Linsalata V, Cardinali A. Globe artichoke: A functional food and source of nutraceutical ingredients. *Journal of Functional Foods*. [en línea] 2009 [consultado el 22 de abril del 2011]; 1: 131-144. Disponible en: www.sciencedirect.com

3. Ruepp M. Use of artichoke (*Cynara*) extracts. Patente US 0012708 A1. 31-1-2002
4. Rodríguez J. Aprovechamiento de residuos de alcachofa. [en línea] (s.f) [Consultado el 11 de julio del 2011]. Disponible en: [http://digitum.um.es/xmlui/bitstream/10201/6303/1/Aprovechamiento de Residuos de Alcachofa-Aspectos Teoricos.pdf](http://digitum.um.es/xmlui/bitstream/10201/6303/1/Aprovechamiento%20de%20Residuos%20de%20Alcachofa-Aspectos%20Teoricos.pdf).
5. Ramos E, Castaneda B, Ibáñez L. Evaluación de la capacidad antioxidante de plantas medicinales peruanas nativas e introducidas. *Rev Acad Peru Salud*. 2008; 15 (1): 42-46.
6. Wang M, Simon J, Avilés I, He Kan, Zheng Q, Tadmor Y. Analysis of antioxidative phenolic compounds in artichoke (*Cynara Scolymus* L.) *J. Agric. Food Chem*. 2003; 51 (3): 601-608.
7. Fratianni F, Tucci M, De Palma M, Pepe R, Nazzaro F. Polyphenolic composition in different parts of some cultivars of globe artichoke (*Cynara cardunculus* L. var. *scolymus* (L.) Fiori). *Food chemistry*. [en línea] 2007 [consultado el 8 de setiembre del 2012]; 104: 1282-1286. Disponible en: www.sciencedirect.com.
8. Gutiérrez D, Ortiz C, Mendoza C. Medición de fenoles y actividad antioxidante en malezas usadas para alimentación animal. Simposio de Metrología. Santiago de Querétaro, México. Del 22 al 24 de octubre del 2008.
9. Ávalos K, Sgroppo S, Avanza J. Actividad antioxidante y contenido de fenoles totales en vinos de origen nacional. *Facena*. 2003; 19: 11-19.
10. Fukumoto L, Mazza G. Assessing antioxidant and prooxidant activities of phenolic compounds. *J. Agric. Food Chem*. 2000; 48 (8): 3597-3604.
11. Dudonne S, Vitrac X, Coutiere P, Merillon J. Comparative study of antioxidant properties and total phenolic content of 30 plant extracts of industrial interest using DPPH, ABTS, FRAP, SOD, and ORAC Assays. *J. Agric. Food Chem*. 2009; 57 (5): 1768-1774.
12. Brand-Williams W, Cuvelier M, Berset C. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *Technol*. 1995; 28 (1): 25-30.
13. Molyneux P. The use of a stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *J. Sci. Technol*. 2004; 26 (2): 211-219
14. Jiménez-Escrig A, Ove L; Daneshvar B, Pulido R, Saura-Calixto F. In vitro antioxidant activities of edible artichoke (*Cynara scolymus* L.) and effect on biomarkers of antioxidants in rats. *J. Agric. Food Chem*. 2003; 51 (18): 5540-5545.
15. Romero T, Pérez M, Ortola D. Efecto del tratamiento higienizante, recubrimiento comestible y envasado en atmósferas modificadas, en el control del pardeamiento enzimático en alcachofa (*Cynara scolymus* L) cortada en fresco [tesis magistral]. Valencia: Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias, Universidad Politécnica de Valencia.