

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA**



**DETERMINACIÓN DE LAS PROPIEDADES ANTIOXIDANTES DE SEIS  
VEGETALES COMESTIBLES AUTÓCTONOS DEL DEPARTAMENTO DE  
ALTA VERAPAZ**

**Informe de Tesis**

Presentado por

**María Leticia Téllez Flores**

Para optar al Título de

**Química Bióloga**

**Guatemala, Junio del 2,006**

DL

06

T(2432)

**JUNTA DIRECTIVA  
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA  
UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA**

M.Sc. Gerardo Leonel Arroyo Catalán

Decano

Licda. Jannette Sandoval Madrid de Cardona

Secretaria

Licda. Gloria Elizabeth Navas Escobedo

Vocal I

Licda. Liliana Vides de Urizar

Vocal II

Licda. Beatriz Eugenia Batres de Jiménez

Vocal III

Br. Juan Francisco Carrascoza Mayén

Vocal IV

Br. Susana Elizabeth Aguilar Castro

Vocal V

## **ACTO QUE DEDICO**

**A DIOS**

Por ser mi guía en cada momento, por permitirme llegar hasta aquí, y poder compartir mi alegría junto a las personas que quiero.

**A MIS PADRES**

Que con su cariño, sabiduría y comprensión, me han guiado hacia un buen camino en la vida, a ustedes especialmente dedico este logro.

**A LA FAMILIA  
HERNÁNDEZ TÉLLEZ**

Por ser parte esencial en mi vida y acompañarme en cada momento incondicionalmente. Gracias por todo su apoyo.

**A MIS COMPAÑEROS  
DE PROMOCIÓN**

Por tantos momentos compartidos en estos años de estudio, gracias por su amistad.

**A MIS AMIGAS**

Especialmente a Alma, Carmen, Cinthya, Sandra, Anabella, Guisela, Chía, Paola, Evelyn, Karina, Lucky y Carola gracias por compartir conmigo parte de su vida.

## **AGRADECIMIENTOS**

### **A MIS ASESORES**

Lcda. Julieta de Ariza y Dr. Rubén Dariel Velásquez Miranda por su tiempo, enseñanzas, consejos sin los cuales no hubiera sido posible la realización de este estudio.

### **A MIS REVISORES**

Lcda. Blanca Samayoa y Lic. Armando Cáceres por su tiempo y comentarios que enriquecieron esta investigación.

### **A PAOLA CALDERÓN Y ANA LUCÍA PINEDA**

Por su apoyo, confianza, colaboración, respaldo y ayuda en la elaboración de esta tesis. Gracias porque sin ustedes mi crecimiento profesional no sería el mismo.

### **AL DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA**

Por su apoyo en la elaboración de este estudio.

## INDICE

I. RESUMEN	1
II. INTRODUCCION	3
III. ANTECEDENTES	5
A. Radicales Libres	5
B. Sistemas Antioxidantes	7
C. Radicales libres, antioxidantes y enfermedad Humana.	14
D. Estudios acerca de antioxidantes y vegetales comestibles.	16
E. Vegetales comestibles autóctonos de Alta Verapaz, Guatemala.	17
F. Métodos para determinar la actividad antioxidante.	19
IV. JUSTIFICACION	21
V. OBJETIVOS	22
VI. HIPÓTESIS	23
VII. MATERIALES Y METODOS	24
A. Universo	24
B. Materiales	24
C. Métodos	26
VIII. RESULTADOS	33
IX. DISCUSION DE RESULTADOS	38
X. CONCLUSIONES	42
XI. RECOMENDACIONES	43
XII. REFERENCIAS	44
XIII. ANEXOS	50



## I. RESUMEN

La formación de radicales libres en el organismo puede causar daño celular, lo que provoca una gran variedad de procesos patológicos crónico degenerativos. Varios estudios han reportado que los vegetales poseen componentes con capacidades antioxidantes, los cuales son capaces de neutralizar la acción oxidante de un radical libre (5,43,46).

El presente estudio se realizó con el objetivo de estimar las propiedades antioxidantes de seis vegetales comestibles autóctonos del departamento de Alta Verapaz. La estimación incluyó tres parámetros: Capacidad antioxidante total, utilizándose el método de difenilpicrilhidrazilo (DPPH), Contenido de fenoles totales con el método de Folin Ciocalteu, el cual mide la intensidad del color producido cuando este reactivo reacciona con compuestos fenólicos. Y el contenido de Vitamina C por medio de la técnica de HPLC (Cromatografía Líquida de Alta Resolución) que es una técnica de separación de dos fases por medio de una sólida estacionaria y una líquida móvil.

En el estudio se incluyeron 5 hojas, 1 fruto y 1 inflorescencia siendo éstas: hojas de Roctix (*Senecio parasiticus*), hojas de Tziton (*Tinantia erecta*), hojas de Tzoloj (*Dahlia imperialis*), hojas de Samat (*Eryngium foetidum*), hojas y fruto de Miltomate (*Physalis philadelphica*) e inflorescencia de Gusnay (*Spatyphyllum blandum*).

Todas las muestras estudiadas presentaron actividad antioxidante que variaron en un amplio rango. El vegetal comestibles que mayor actividad antioxidante presentó fue el Roctix con una capacidad antioxidante total de  $IC_{50}$  en 0.42 mg. de materia fresca y contenido de fenoles totales 63.37 equivalentes de ácido gálico en materia fresca. El Samat presento el mayor contenido de vitamina C con 4.89 mg./100 g. de materia fresca. El vegetal que menor actividad antioxidante presentó fue el fruto del Miltomate con un  $IC_{50}$  de 145.23 mg. en

materia fresca (capacidad antioxidante) 3.74 equivalentes de ácido gálico en materia fresca (contenido de fenoles) y 0.37 mg. de Vitamina C en 100 g. de materia fresca.

Estos resultados demuestran que los vegetales comestibles autóctonos del departamento de Alta Verapaz presentan actividad antioxidante especialmente el Roctix y el Tzoloj los cuales presentan un alto consumo entre los habitantes de la región lo que es beneficioso para ellos pues aparte de ser rico en compuestos nutritivos, también lo es en compuestos funcionales por lo que es importante que se les promocióne su producción y comercialización.

## II. INTRODUCCIÓN

Los radicales libres son parte de los productos finales del metabolismo corporal. Cuando la cantidad de éstos excede la capacidad de manejo por parte del organismo pueden provocar procesos patológicos crónico degenerativos como el cáncer (5).

Existen sustancias que inhiben los efectos de los radicales libres llamadas antioxidantes, algunos de éstos están naturalmente presentes en el organismo y se les llama endógenos y otras ingresan como parte de los alimentos y se les llama exógenos (12).

Se ha comprobado que los vegetales tienen componentes importantes como vitaminas y fitoquímicos que han demostrado exhibir efectos antioxidantes. El consumo de alimentos con propiedades antioxidantes aumenta el nivel de éstos en el plasma sanguíneo previniendo con ello la acción de los radicales libres sobre las células del organismo, disminuyendo así enfermedades asociadas con estos radicales.

Guatemala es un país con una flora rica y variada, siendo especialmente importante su flora alimenticia. Los vegetales comestibles autóctonos de Guatemala tienen, con frecuencia, sabores y aromas muy particulares, los cuales están asociados a la presencia de metabolitos secundarios y compuestos funcionales, que poseen propiedades antioxidantes.

Se han realizado estudios etnobotánicos y nutricionales de plantas comestibles silvestres de varios departamentos. Reportes sobre las características físicas de ciertos vegetales comestibles de Alta Verapaz, así como los conocimientos, actitudes y prácticas de las personas que los consumen, hace pensar que tienen un valor funcional adicional a su valor nutritivo, por lo que es importante determinar las propiedades funcionales de éstos.



Este estudio pretende determinar las propiedades antioxidantes de seis vegetales comestibles autóctonos de Alta Verapaz, analizando su capacidad antioxidante total por medio del método de DPPH (Difenilpicrilhidrazilo), la cantidad de fenoles totales por el método de Folin-Ciocalteu y la cantidad de vitamina C por medio de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC).

El conocer las propiedades antioxidantes en estos vegetales, ayudará a identificar aquellos más promisorios desde el punto de vista de sus propiedades funcionales, para promover su producción, comercialización y consumo.

### III. ANTECEDENTES

#### A. Radicales Libres

##### 1. Generalidades

El organismo esta constituido por átomos que se agrupan en moléculas. Una molécula estable contiene átomos con electrones apareados mientras que una molécula inestable electroquímicamente, tiene un electrón no apareado. Estas moléculas inestables reciben el nombre de radicales libres (1).

Los radicales libres para estabilizarse aparean el electrón libre que poseen con otro de una molécula estable, generando así, un nuevo radical libre (2,3).

La respiración celular produce radicales libres derivados de oxígeno ( $O_2^-$ ,  $H_2O_2$ ,  $OH^-$ , etc.) y se estima que del 2 al 4% del oxígeno inhalado es reducido a especies reactivas que dañan moléculas circundantes volviéndolas no funcionales (2).

Si estas moléculas dañadas no son reparadas y se acumulan, alteran gradualmente la función celular causando eventualmente la muerte de células y tejidos, alterando así, la fisiología del organismo (4).

##### 2. Tipos

###### a) Radical hidroxilo

Es un potente oxidante citotóxico producido en la mitocondria como producto de la respiración celular. La reacción originada se denomina Reacción de Fenton representada en la siguiente ecuación (5).



Este radical es tan reactivo con todas las moléculas biológicas que resulta imposible obtener un neutralizador específico del mismo, su producción se realiza en la mitocondria como resultado de la respiración (6,7).

### b) Radical superóxido

La reducción en un electrón del  $O_2$  produce el radical superóxido ( $O_2^-$ ) que suele generar las demás especies reactivas de oxígeno. Su origen en la célula se sitúa en la mitocondria y en las membranas celulares (1,8).

En la mitocondria, el oxígeno molecular es metabolizado en la cadena respiratoria por la vía tetravalente, pero una pequeña proporción (2-5%) se escapa por una vía univalente, el oxígeno capta un electrón y se convierte en el anión superóxido. Otras fuentes de superóxido son reacciones enzimáticas catalizadas por la flavina oxidasa, xantina oxidasa, NADPH oxidasa, monoamina oxidasa, etc. (1,8).

### c) Óxido nítrico

El óxido nítrico ( $NO$ ), es una molécula con importantes actividades biológicas, ya que actúa como neurotransmisor, como mensajero intercelular con funciones vasorelajantes y antiproliferativas, inhibe el crecimiento del músculo liso, etc. Es un radical que se combina rápidamente con otras especies que tienen electrones impares (8,9).

Es producido por una variedad de tipos celulares que incluye a células endoteliales, neuronas, células del músculo liso, macrófagos y neutrófilos (10).

En cantidades elevadas puede ser tóxico, pues actúa en un mecanismo de lesión hística en enfermedades como inflamación crónica, choque séptico, etc. (11).

### d) Peróxido de hidrógeno

El peróxido de hidrógeno es una molécula normal del metabolismo aeróbico celular. Se encuentra como producto de la cadena de transporte de electrones mitocondrial, de reacciones enzimáticas de oxido-reducción (redox) y de autoxidación de las catecolaminas (8,12).

A través de la reacción de Fenton, en presencia de hierro reducido, genera el radical hidroxilo (12).

## **B. Sistemas antioxidantes**

### **1 Generalidades**

Los antioxidantes son sustancias que tienen la capacidad de inhibir la oxidación causada por los radicales libres, actuando algunos a nivel intracelular y otros en la membrana de las células, siempre en forma conjunta para proteger a los diferentes órganos y sistemas (12).

El antioxidante posee una estructura química apropiada para reaccionar fácilmente con un radical libre con un costo mínimo para el organismo (8).

### **2 Clasificación**

Para neutralizar los radicales libres a los que se expone diariamente el organismo, éste recurre a sustancias con la propiedad de neutralizarlos, los antioxidantes, los cuales pueden ser endógenos y exógenos (13).

#### **a) Endógenos**

Son antioxidantes producidos por el organismo que incluyen a las enzimas superóxido dismutasas, sistema glutatión peroxidasa, catalasa, etc. (12).

##### **i. Superóxido dismutasas (SODs)**

Son un grupo de metaloenzimas presentes frecuentemente en organismos aeróbicos, aerotolerantes y algunos anaerobios obligados, tienen una función fundamental que consiste en eliminar el radical superóxido antes de que éste reaccione con moléculas biológicas susceptibles u o rigine otros agentes tóxicos (8,14).



El superóxido al ser catalizado por la SOD, produce  $\text{H}_2\text{O}_2$  y  $\text{O}_2$  tal como se muestra en la siguiente reacción: (14).



Se conocen 3 formas de SODs según el metal que utilizan como cofactor el cual puede ser manganeso, hierro o cobre. En eucariotas existen 3 tipos de SODs de diferente localización, que en su conjunto contribuyen a la regulación de las concentraciones del superóxido. Ellas son: Mn-SOD mitocondrial, CuZn-SOD citosólica y CuZn-SOD extracelular (15).

La SOD fue la primera enzima de la cual se conoció que actuaba sobre un radical libre. Su descubrimiento en 1968 por McCord y Fridovich, constituyó una prueba de la existencia de estos radicales en los organismos vivos (15).

ii. Sistema glutatión peroxidasa (GPX):

Se denomina así al conjunto formado por el glutatión y las enzimas relacionados con su metabolismo, responsables del mantenimiento del estado redox en condiciones fisiológicas (8,12). Este sistema es dependiente de selenio y ayuda en la prevención de la formación del radical hidroxilo, cataliza la reducción de peróxido de hidrógeno y de peróxidos orgánicos, también regenera la vitamina C, que a su vez regenera la vitamina E (15,16).

iii. Catalasa:

Es una enzima hemoprotéica que descompone el  $\text{H}_2\text{O}_2$  generado durante el metabolismo celular, directamente en  $\text{H}_2\text{O}$  y  $\text{O}_2$  (8).



Es una de las enzimas más abundantes en la naturaleza y se encuentra ampliamente distribuida en el organismo humano, aunque su actividad varía en dependencia del tejido. Esta enzima resulta más elevada en el hígado y los

riñones, más baja en el tejido conectivo y los epitelios, y prácticamente nula en el tejido nervioso (11).

A nivel celular se localiza en las mitocondrias y los peroxisomas, excepto en los eritrocitos, donde se encuentra en el citosol (17).

#### iv Ubiquinona (coenzima Q10):

Es una quinona liposoluble que actúa como cosustrato en la cadena de transporte de electrones mitocondrial (8). Constituye además un importante antioxidante con capacidad de regenerar la vitamina E (18).

#### b) Exógenos

Se les llama así porque no son producidos en el organismo, por lo que es necesario que ingresen al mismo con los alimentos. Su eficacia como neutralizadores de radicales libres depende de su solubilidad en medios acuosos o lipídicos (9).

Cuando los antioxidantes exógenos (liposolubles) llegan a las células, se depositan en sus membranas y las protegen de la lipoperoxidación. A diferencia de los antioxidantes enzimáticos, éstos reaccionan con los radicales libres y modifican su estructura, es decir, los capturan o neutralizan, y se oxidan en el proceso (12,14).

Entre los antioxidantes exógenos se encuentran los compuestos fenólicos, Vitamina C, vitamina E (tocoferol),  $\beta$ -caroteno, etc. (12).

#### i. Compuestos fenólicos:

Son excelentes antioxidantes encontrados en las plantas como frutas y vegetales. Poseen una estructura fenólica la cual está conformada por un núcleo aromático que contiene un grupo hidroxílico libre o sustituido. (12).

Se encuentran en monómeros como ácidos fenólicos (ácido p-hidroxibenzoico, ácido caféico, ácido ferúlico, ácido sinápico, vanilina, etc.) y polifenoles polimerizados (apigenina, luteonina, isorramnetina, etc.), formando complejos (figura No. 1) (12,19).

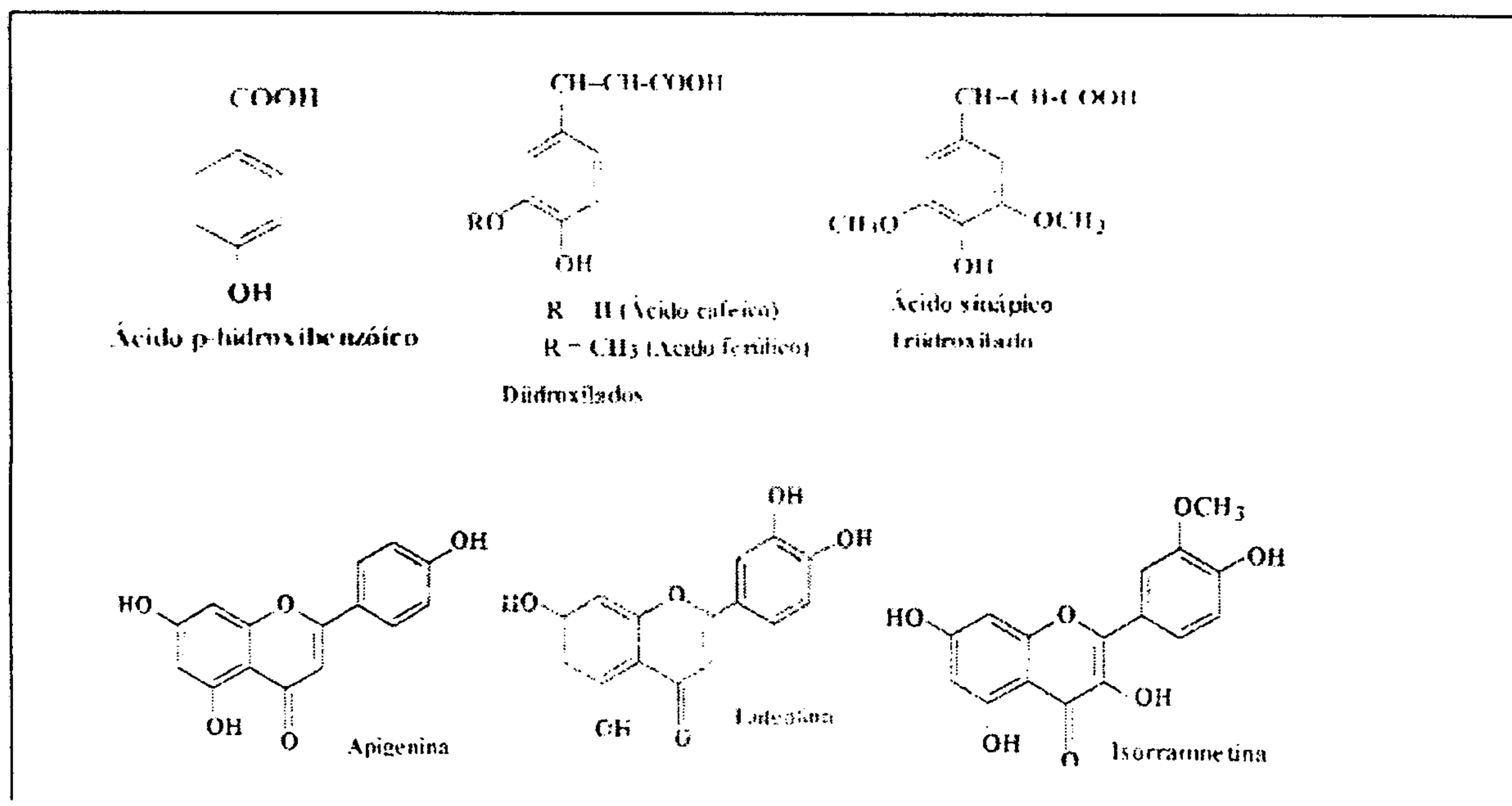


Figura No. 1 Estructuras de algunos ácidos fenólicos y polifenoles (12, 19).

Se clasifican de acuerdo con el número de átomos de carbono del esqueleto base (Anexo 1) (20).

Los compuestos fenólicos por lo general son solubles en agua, y se encuentran en la parte más externa, como la cáscara, de los vegetales y frutas (21).

Entre las fuentes alimentarias de estos antioxidantes se encuentran la zanahoria, perejil, tomate, frutas cítricas, berenjena, granos integrales (21)

Además de su acción como antioxidantes suprimiendo la oxidación de las cadenas lipídicas, ejercen numerosos efectos bioquímicos, aparentemente beneficiosos. In vitro poseen actividad antiinflamatoria, antialérgica, antitrombótica, antimicrobiana y antineoplásica (21).



ii. Vitamina C (ácido ascórbico):

Es una sustancia de color blanco soluble en agua, estable en su forma seca, pero en solución se oxida con facilidad, más aún si se expone al calor. Un pH alcalino (mayor a 7), el cobre y el hierro, también aceleran su oxidación (22).

Posee una fórmula empírica  $C_6H_8O_6$  y su estructura es la siguiente: (figura No. 2).

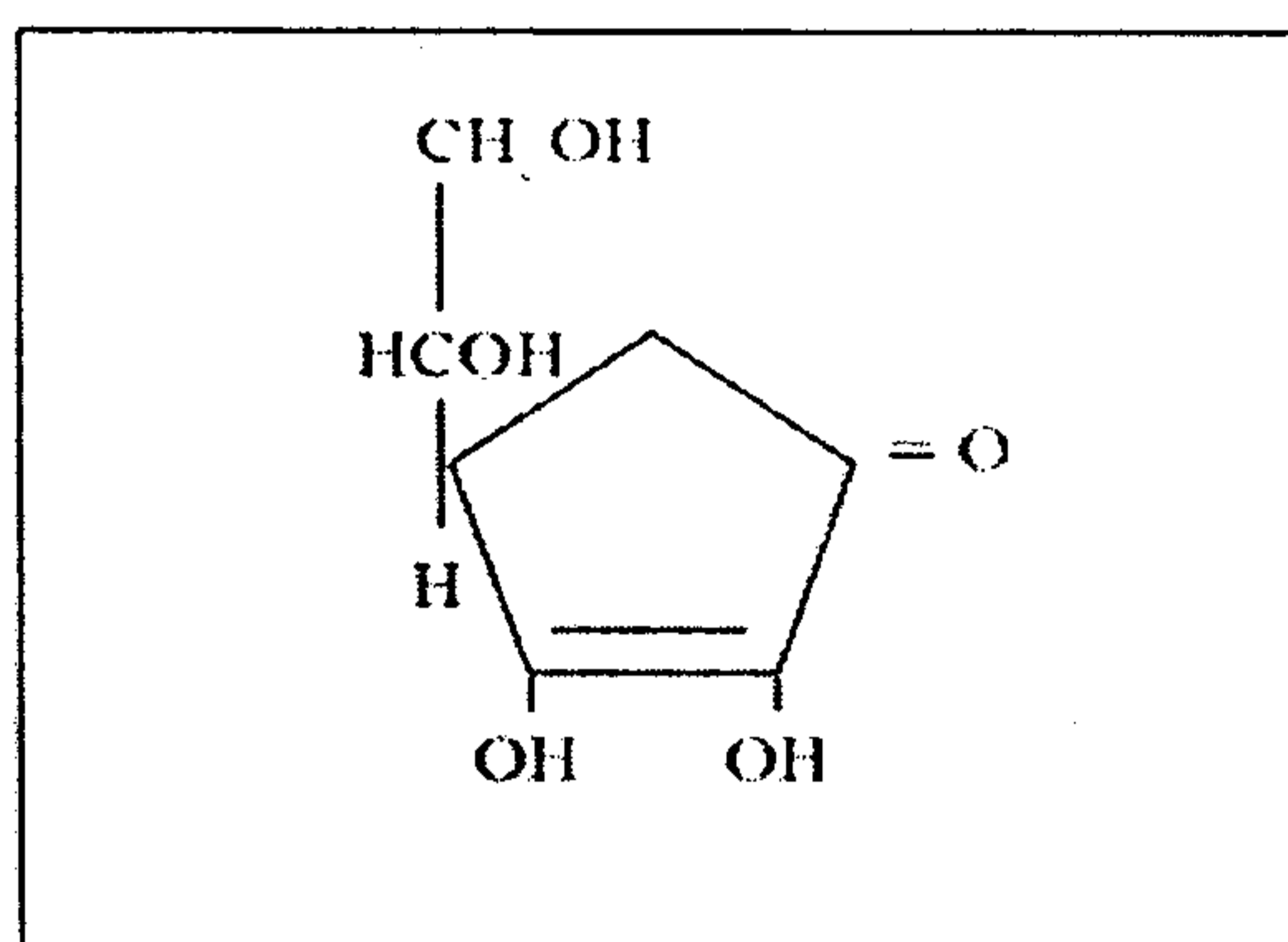


Figura 2. Estructura del ácido ascórbico (22).

Constituye la primera línea de defensa antioxidante en el plasma sanguíneo. Es un protector poderoso contra el daño que los radicales libres causan a la membrana celular. Posee la capacidad de regenerar el tocoferol (vitamina E), inhibe la oxidación de las lipoproteínas y también aumenta la biodisponibilidad de óxido nítrico (22).

Actúa como un agente reductor; se han encontrado concentraciones elevadas en el sistema nervioso central. Es importante en la formación y conservación del colágeno y favorece la absorción de hierro procedente de los alimentos de origen vegetal (23).

Como la gran mayoría de las vitaminas hidrosolubles, la vitamina C no se almacena en el cuerpo por un largo período de tiempo y se elimina a través de la orina. Por este motivo, es importante su ingesta diaria (24).



Las fuentes de vitamina C incluyen los cítricos, fresas frescas, toronja, piña y guayaba, etc. Buenas fuentes vegetales son el brócoli, las coles de Bruselas, tomates, espinacas, chiles pimientos verdes, repollo y nabos (23).

En alimentos puede ser parcial o completamente destruida por almacenamiento prolongado o por sobrecoccimiento. Por ejemplo, en papas, el almacenamiento a temperatura ambiente provoca pérdidas de aproximadamente 15% de vitamina C cada mes, y la ebullición de la papa pelada destruye otro 30 – 50% de su vitamina C (25).

### iii. Vitamina E:

Es un antioxidante liposoluble que previene la destrucción de las membranas celulares biológicas (8). El  $\alpha$ -tocoferol es la forma más común de vitamina E (Figura 3).

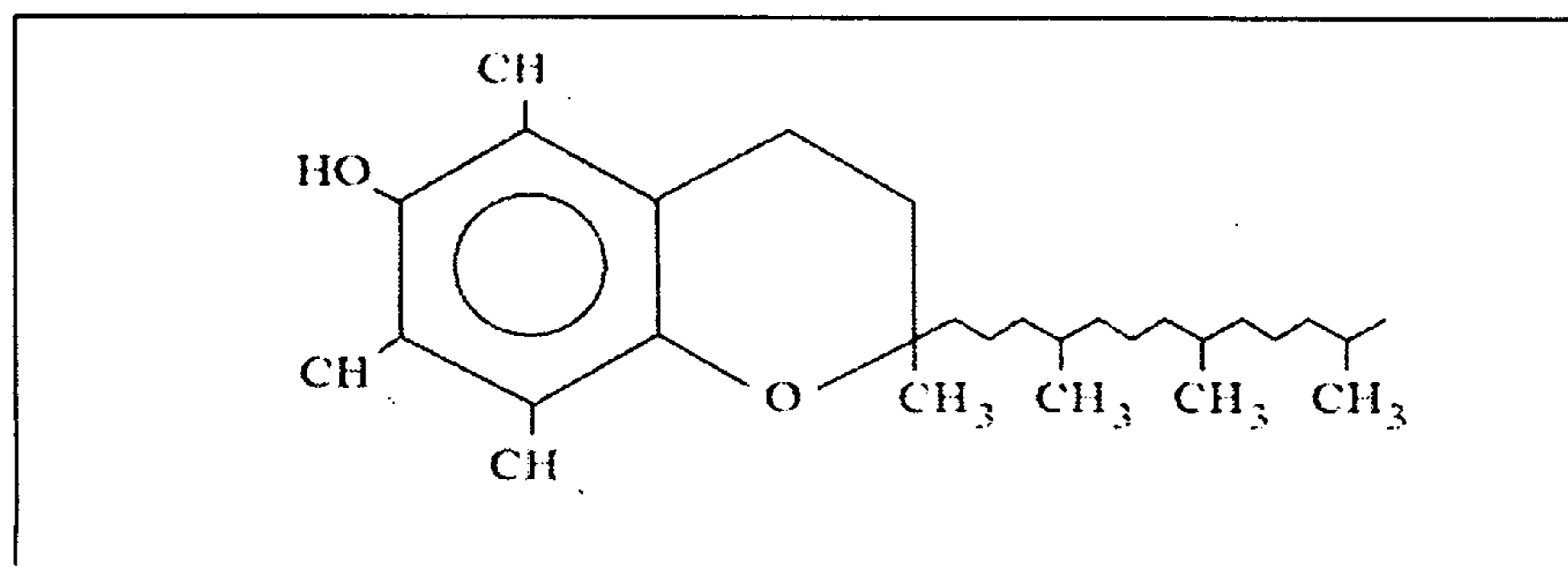


Figura 3 Estructura del  $\alpha$ -tocoferol (25).

Se aloja en el interior de las membranas citoplasmáticas y actúa como bloqueador de reacciones redox en cadena evitando la peroxidación de lípidos (11).

Se encuentra en los aceites vegetales, germen de trigo, hígado y vegetales de hoja verde. Si bien se almacena en el cuerpo, parece que la sobredosis de vitamina E tiene menos efectos tóxicos que las de otras vitaminas liposolubles (15,23,24).

Se ha encontrado que la luz, el oxígeno y el calor son factores determinantes en el procesamiento y almacenamiento de alimentos ya que disminuyen su contenido de vitamina E. En algunos alimentos, puede disminuir más del 50% después de solamente dos semanas de almacenamiento en cuartos a temperatura ambiente, también se sabe el que el freír los aceites vegetales destruye la vitamina E. (25)

iv  $\beta$ -caroteno:

Es un compuesto liposoluble precursor de la vitamina A (8). Su estructura posee dos anillos  $\beta$ -ionona unidos por una cadena conjugada (figura 4.) (14).

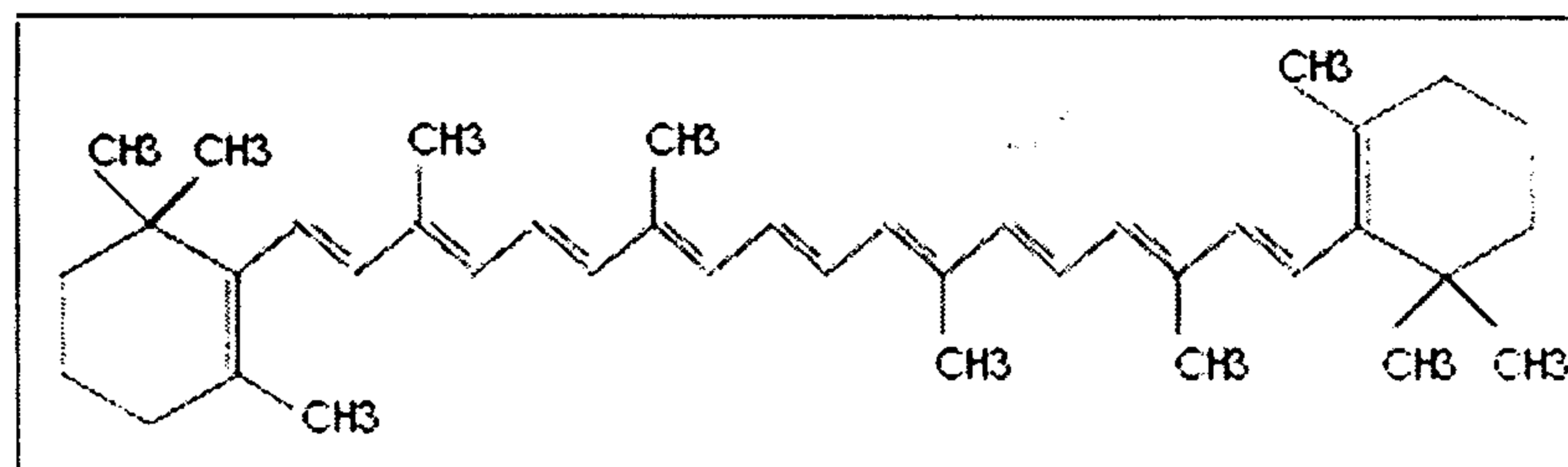


Figura 4. Estructura del  $\beta$ -caroteno (25).

El  $\beta$ -caroteno se combina con el tocoferol para impedir que los radicales libres dañen las membranas celulares (18). Es una de las sustancias más activas de la familia de los carotenos y posee función antioxidante por su capacidad de atrapar al oxígeno libre previniendo así la peroxidación (23). Afecta a la formación y mantenimiento de la piel, membranas mucosas, huesos, dientes, la vista y la reproducción (26).

Se encuentra presente en el reino vegetal, en la zanahoria, el tomate, naranja, papaya, etc. (27).

Los carotenos pueden perder parte de su actividad en alimentos durante el almacenamiento por la acción de enzimas y a la exposición a la luz y al oxígeno. La deshidratación de vegetales y frutas pueden reducir grandemente la actividad

biológica del  $\beta$ -caroteno. Por otro lado, la estabilidad de los carotenoides es mantenida en alimentos congelados (25).

### **C. Radicales libres, antioxidantes y enfermedad humana**

Muchos radicales libres se generan en los procesos metabólicos y celulares normales; otros son ingeridos o inhalados desde el medio ambiente; otros más pueden generarse durante el metabolismo de drogas o producirse en altas proporciones como consecuencia de enfermedades y condiciones degenerativas. Algunos estresantes químicos, como el dióxido de nitrógeno, son de por sí radicales libres y pueden estimular una peroxidación de grasas con producción de más radicales (12).

Las formas principales por medio de las cuales los radicales libres producen daños celulares son: lesión del ADN que lleva a alteraciones celulares y mutaciones, destrucción de la actividad coenzimática de los nucleótidos con cambios en los estados de oxidorreducción, alteraciones de las enzimas dependientes de radicales -SH, cambios en actividades enzimáticas del metabolismo graso, daño a proteínas con incremento en la destrucción de las mismas, peroxidación de grasas con cambios en la estructura funcional de membranas, formación de productos secundarios en la peroxidación de grasas, causando alteraciones a distancia como daños a funciones de otras membranas y proteínas, y alteraciones del transporte iónico (12,28,29).

Como consecuencia de estos daños celulares se generan enfermedades crónicas degenerativas como cáncer, enfermedades coronarias, respiratorias, inflamatorias como artritis, enfermedades neurológicas como Parkinson, etc. Sin embargo, es importante aclarar que dichas enfermedades no son solamente producto de la acción de los radicales libres sino también de otros factores como la genética (5,9,12).



Recientemente se ha incrementado el interés por el papel de los radicales libres de oxígeno en la fisiopatología de una variedad de trastornos renales. Se han encontrado evidencias del rol de los radicales libres en nefropatías tóxicas, fallo renal agudo isquémico, nefropatía diabética, glomerulonefritis, nefropatía del envejecimiento y en el daño renal relacionado con transplantes (30).

Estudios han demostrado que el estrés oxidativo debido a las especies reactivas del nitrógeno (óxido nítrico, peroxinitrito) y la alteración de las defensas de antioxidantes, participan en la fisiopatología de la meningitis bacteriana en humanos (31).

El estrés oxidativo puede disminuirse mediante la neutralización de radicales libres por la acción de compuestos que ejercen actividad antioxidante; lo que reduce el riesgo a desarrollar enfermedades crónicas. Por ejemplo, Solla M., demostró que el consumo de vitamina C previene patologías cardiovasculares agudas al impedir la trombosis in situ (30).

El uso de antioxidantes muestra el efecto beneficioso en el daño cortical producido por una meningitis bacteriana. Varios estudios han reportado que los suplementos antioxidantes pueden reducir la peroxidación de lípidos inducida por el ejercicio al inhibir la oxidación del LDL (colesteroles de baja densidad) y pasan a ser agentes potencialmente antiateroscleróticos (30,31).

Estudios recientes indican que el vino no solamente reduce entre un 20-40% la incidencia de patologías cardiovasculares, sino también en un tercio la mortalidad total. Este efecto ha sido atribuido a la capacidad que poseen de los compuestos polifenólicos, de aumentar el HDL (colesterol de alta densidad), reducir la agregación plaquetaria e incrementar la actividad fibrinolítica (32).

Laranjinha, J. publicó en 1994, que extractos de alcachofa son eficaces en el tratamiento de disfunciones hepatobiliares y problemas digestivos. Estos efectos hepato-protector e hipolipidemiante parecen estar relacionados con la



actividad de los ácidos cafeilquínicos y los flavonoides, ambos compuestos fenólicos (33).

#### **D. Estudios acerca de antioxidantes y vegetales comestibles**

El consumo regular de alimentos naturalmente altos en antioxidantes (frutas, vegetales, granos integrales, nueces, legumbres y condimentos a base de hierbas) está estrechamente asociado con substanciales beneficios de salud (34).

De acuerdo con la pirámide de los alimentos en los Estados Unidos y con la guía alimentaria para Guatemala, se recomienda para una buena salud, que los adultos consuman diariamente 3 a 4 porciones de vegetales (especialmente los vegetales verdes y amarillos) y 2 a 4 porciones de frutas. Las personas que consumen cantidades altas o modestas de estos alimentos, ingieren considerables niveles de compuestos antioxidantes (35).

Los carotenoides son pigmentos encontrados en los vegetales amarillos o anaranjados (zanahorias, calabaza, camote amarillo, etc.) y en frutas rojas, amarillas y anaranjadas (mangos, piñas, duraznos, naranjas, toronja rosada, fresas, sandía, melones, etc.) y poseen actividad importante en contra de la formación de tumores (35).

Los cítricos ricos en vitamina C como el limón, naranja, mandarina, etc. las frutas y vegetales ricos en vitamina E como el apio, los aceites vegetales las nueces, etc. y los compuestos fenólicos encontrados en uvas frutillas, tomate, etc. poseen alta actividad anticancerosa debido a las propiedades antioxidantes que estos compuestos poseen (36,37).

Si la conexión entre la alimentación y la salud fuera mejor conocida, más personas estarían conscientes de que ciertos hongos estimulan el sistema inmunológico, que el selenio, un mineral encontrado en los granos, las semillas y el ajo induce la muerte de células cancerosas, que los antioxidantes de frutas y vegetales previenen el daño del ADN y bloquean el crecimiento tumoral, que la

vitamina C en las frutas cítricas y las fresas elevan la actividad de los linfocitos T, que la vitamina E en las verduras y las nueces protege contra defectos genéticos que aumentan el riesgo de cáncer y que el  $\beta$ -caroteno en las zanahorias y las papas puede bloquear la formación de tumores (38).

## E. Vegetales comestibles autóctonos de Alta Verapaz, Guatemala

### 1. Generalidades

Alta Verapaz está constituida por cinco zonas de vida (conjunto de ámbitos específicos, de los factores climáticos principales) que son: bosque muy húmedo subtropical (cálido), bosque muy húmedo subtropical (frío), bosque pluvial subtropical, bosque pluvial Montano bajo subtropical y bosque húmedo subtropical (templado). En dichas zonas existe una variada vegetación comestible así como cultivos de caña de azúcar, café, hule, pacaya, cítricos, aguacate, injerto entre otros (39).

### 2. Descripción

Los vegetales comestibles de Alta Verapaz poseen una gran variedad de vitaminas y minerales y pueden ser consumidos de distintas formas como cocidos, fritos, en tamal, etc. Esto ha sido determinado en estudios etnobotánicos como el realizado por Enríquez, J. en el año 2,002 en el que se incluyeron entre otros, los siguientes vegetales (39):

a) Roctix: Familia *Asteraceae*. Especie *Senecio parasiticus* Hemsl. Su nombre común en español es Pie de vieja, en q'eqchí Roctix y en poqomchí Chajtix. La parte comestible son las hojas. En una planta nativa de hábito herbáceo común en bosques húmedos, son débiles arbustos o árboles simples. La frecuencia de consumo es de una o más veces por semana (39).

b) Tziton: Familia *Commelinaceae*. Especie *Tinantia erecta* (Jacq.) Schlecht. Su nombre común en q'eqchí es Tziton. La parte comestible son las hojas. Es una planta anual con tallos purpúreos y hojas delgadas, el fruto tiene de 2 a 3 semillas de color café gris rugosas. Las hojas tiernas se consumen en tamal

pero siempre se debe de "pasar por agua" y escurrirla antes de agregarla a la masa porque el sabor es fuerte. La frecuencia de consumo es de una vez por semana (39).

c) Tzoloj: Familia *Asteraceae*. Especie *Dahlia imperialis* Roezl ex Ortgies in Regel. Su nombre común en español es Mano de león, en q'eqchí Tzoloj o Achach y en poqomchí Xojor. La parte comestible son las hojas. Es una planta herbácea perenne. Se consume con previa cocción en agua, en tamal y fritas, la frecuencia de consumo es de dos veces por semana (39).

d) Cop: Familia: *Solanaceae*. Especie *Physalis gracilis* Miers. Su nombre común en q'eqchí es Cop y en poqomchí K'op. Las partes comestibles son las hojas y el fruto. Es una hierba de 1 metro o menos de altura, se encuentra en lugares húmedos como a orillas de ríos o de pozos (39).

e) Corozo: Familia *Arecaceae*. Especie *Orbignyia cohune* (Mart.) Dahigren ex Standl. Su nombre común en español es Corozo y en q'eqchí Mokooch. Las partes comestibles son el tallo y el fruto. Es una planta muy larga y a veces baja, con un tronco corto y grueso en los árboles maduros. Se utiliza para la construcción y consumo humano. El tallo se consigue en cualquier época del año y se puede consumir frito o en tamal. La frecuencia de consumo es de una vez por semana (39).

Otros vegetales comestibles autóctonos de Alta Verapaz que no se encuentran determinados en el estudio etnobotánico realizado por Enríquez J. son:

f) Samat: Familia *Verbenaceae*. Especie *Erygium foetidum* L. Su nombre común en español es culantro extranjero o culantro real y es conocido en el departamento de Alta Verapaz como Samat y Xamat en el idioma q'eqchí. Es una planta perenne de raíces gruesas, se encuentra extensamente distribuida en Centro América. Es bien conocida por su uso en la cocina. La planta fresca tiene

un olor fuerte y nauseabundo pero cuando se prepara en sopas despide un agradable sabor. Su frecuencia de consumo es de dos a tres veces por semana (40).

g) Miltomate: Familia *Solanaceae*. Especie *Physalis philadelphica* Lam. Hierba que mide 1 metro de alto o menos. El nombre miltomate proviene de la lengua indígena Nahuatl, que significa "tomate del campo de maíz". La parte comestible es el fruto, se utiliza frecuentemente como saborizante de comidas. También se utiliza para preparar conservas y platos dulces. La frecuencia de consumo es tres a cuatro veces por semana (40).

h) Gusnay: Familia *Araceae*. Especie *Spathiphyllum blandum* Schott. Es conocido en la lengua Nahuatl como gusnay o huisnay. Luego de la cosecha se amarran en manojos y se venden en los mercados. Se consumen cocidos y su frecuencia es una o menos veces por semana (40).

## F. Métodos para determinar actividad antioxidante

### 1. Generalidades

Se han empleado distintos métodos para evaluar la capacidad antioxidante de mezclas complejas como vino, extracto de tejidos o fluido biológico. No existe un método único y los índices obtenidos para una muestra dependen del procedimiento utilizado para evaluarla. Entre las formas de evaluar la capacidad antioxidante se encuentran: El índice **TRAP (Potencial Antioxidante Total)**, que corresponde a la cantidad de radicales libres que pueden ser atrapados por una muestra que contenga antioxidantes. Índice **TAR (Reactividad Antioxidante Total)**, es la concentración de radicales libres que pueden ser inicialmente atrapados por la muestra. Índice **TAA (Actividad Antioxidante Total)**, es un procedimiento intermedio entre TRAP y TAR. Refleja la cantidad y reactividad de los antioxidantes presentes en la muestra (28).



## 2. Métodos

### a) Difenilpicrilhidrazilo (DPPH)

El DPPH es un radical libre capaz de aceptar un electrón o un radical de hidrógeno para así estabilizarse. Al reaccionar éste con agentes reductores, su electrón se enlaza y la solución pierde color estequiométricamente a 517 nm. Tal reactividad es utilizada para evaluar la Actividad Antioxidante Total, y se expresa en términos de la concentración de inhibición al 50% (IC<sub>50</sub>) (16).

### b) Folin-Ciocalteu

Los compuestos fenólicos reaccionan con el reactivo de Folin-Ciocalteu para formar un complejo coloreado debido a la reacción del cobre alcalino con los anillos aromáticos de los polifenoles (41).

La intensidad del color se mide espectrofotométricamente a 765 nm y se relaciona directamente con la cantidad de anillos aromáticos contenidos en la muestra (41).

### c) HPLC

High Performance Liquid Chromatography o cromatografía líquida de alta resolución. Es una técnica de alta sensibilidad de separación en dos fases, una sólida estacionaria y una líquida móvil. El material para análisis se extrae con solventes apropiados y se inyecta presión dentro de las columnas de diámetro angosto. El solvente pasa por un detector que mide una propiedad específica de la solución que está pasando, tal como su naturaleza química, su fluorescencia o su absorbancia. Estas son registradas en una tira de papel o monitor electrónico como picos, los cuales pueden ser medidos manualmente o con computadoras. Con este método es posible realizar cuantificaciones simultáneas de diversas vitaminas como vitamina C, carotenos, riboflavina, folatos, tiamina y piridoxina. Se ha comprobado que el método es altamente específico y no existen interferencias de otros compuestos (28).

#### IV. JUSTIFICACIÓN

Los alimentos poseen compuestos nutricionales y funcionales. Dentro de los compuestos funcionales se encuentran los antioxidantes, sustancias relacionadas con la prevención de enfermedades crónico degenerativas, por lo que es importante su determinación (25).

Estudios realizados en vegetales comestibles del departamento de Alta Verapaz, demuestran la importancia de éstos en cuanto al aspecto nutritivo. Sin embargo, aún no se ha realizado estudios que determinen los compuestos funcionales que poseen y que puedan ejercer funciones antioxidantes. La composición de un vegetal es muy compleja por lo que resultaría muy difícil establecer cuáles compuestos con función antioxidante poseen, por esta razón se analizarán tres parámetros que pueden servir como indicadores de la capacidad antioxidante de los compuestos presentes en el vegetal. Estos parámetros son: Capacidad Antioxidante Total, Compuestos Fenólicos y Vitamina C.

Los vegetales comestibles objeto de este estudio, en su mayoría, se consumen casi exclusivamente en el departamento de Alta Verapaz; por esta razón y porque han sido poco estudiados, es importante identificar la presencia y la cantidad de compuestos antioxidantes en estos vegetales, pues ayudará a identificar aquellos más promisorios desde el punto de vista de sus propiedades funcionales para promover su producción, comercialización y consumo.

## V. OBJETIVOS

### A. General:

Estimar las propiedades antioxidantes de seis vegetales comestibles autóctonos de Alta Verapaz.

### B. Específicos:

1. Estimar la Capacidad Antioxidante Total de las plantas objeto de estudio.
2. Estimar la Cantidad de Fenoles Totales de las plantas objeto de estudio.
3. Estimar la cantidad de Vitamina C de las plantas objeto de estudio.
4. Comparar los resultados obtenidos en el presente estudio con otros realizados con anterioridad.

## VI. HIPÓTESIS

Los vegetales comestibles autóctonos de Alta Verapaz: Roctix (*Senecio parasiticus*), Tziton (*Tinantia erecta*), Tzoloj (*Dahlia imperialis*), Samat (*Eryngium foetidum*), Miltomate (*Physalis philadelphica*) y Gusnay (*Spatyphyllum blandum*) poseen propiedades antioxidantes.



## VII. MATERIALES Y MÉTODOS

### A. Universo: Vegetales comestibles autóctonos de Alta Verapaz

Muestra: Seis vegetales comestibles de Alta Verapaz: Roctix (*Senecio parasiticus*), Tziton (*Tinantia erecta*), Tzoloj (*Dahlia imperialis*), Samat (*Eryngium foetidum*), Cop (*Physalis philadelphica*) y Gusnay (*Spatyphyllum blandum*)

### B. Materiales:

#### 1. Recursos Humanos:

- a) Br. María Leticia Téllez Flores (tesista)
- b) Dr. Rubén Velásquez (asesor)
- c) Lcda. Julieta Salazar de Ariza (asesora)

#### 2. Equipo:

- a) Agitador magnético
- b) Desecadora
- c) Balanza analítica (sensibilidad 0.0001)
- d) Balanza semianalítica (sensibilidad 0.001)
- e) Estufas con agitador
- f) Horno (90 - 100°C.)
- g) Espectrofotómetro 210 marca Milton Roy
- h) Baño de María (90 – 100°C.)
- i) Vortex
- j) Refrigeradora (2-8°C.)
- k) Congelador (< 20°C.)
- l) Termómetro (sensibilidad 1°C.)
- m) Gradillas
- n) Potenciómetro

**3. Reactivos:**

- a) Metanol (marca: Merck, calidad: Industrial)
- b) DPPH (marca: Sigma)
- c) Ácido acético glacial (marca: Merck)
- d) Acetato de sodio (marca: Merck)
- e) Ácido gálico (marca: Sigma)
- f) Carbonato de sodio (marca: Merck)
- g) Agua desmineralizada (marca: Salvavidas, calidad: Industrial)
- h) Nitrógeno gaseoso (marca: Messer)
- i) Reactivo de Folin-Ciocalteu (marca: Sigma)
- j) Hidróxido sodio (marca: Merck, calidad: Industrial)
- k) Acetato de sodio anhidro (marca: Merck)
- l) Solución de fosfatos concentración 1M pH 3 (marca: Merck)

**4. Cristalería:**

- a) Beakers (30, 50, 200, 500 ml.)
- b) Probetas (100, 200 ml.)
- c) Pipetas volumétricas (5,10 ml.)
- d) Micropipetas (20- 40, 40-200, 200-1,000  $\mu$ l.)
- e) Jeringa de inyección (20  $\mu$ l.)
- f) Macropipeteadores
- g) Cubetas de lectura
- h) Balones aforados (25, 100, 250, 500, 1,000 ml.)
- i) Agitadores de vidrio
- j) Frascos ámbar
- k) Vidrios de reloj

**5. Papelería y equipo:**

- a) Computadora
- b) Hojas
- c) Impresora
- d) Tinta

- e) Fotocopias
- f) Folders con gancho
- g) Papel aluminio
- h) Bolsas negras
- i) Recipientes de plástico
- j) Hielera

**6. Artículos de limpieza:**

- a) Jabón
- b) Detergente
- c) Limpiador
- d) Papel mayordomo
- e) Esponja

**7. Otros:**

- a) Electricidad
- b) Conexión a internet
- c) Agua
- d) Transporte

**C. Métodos:**

**1. Selección de Muestra y Criterios de Inclusión:**

Los vegetales comestibles seleccionados para el presente estudio son hojas de Roctix (*Senecio parasiticus*), hojas de Tziton (*Tinantia erecta*) y hojas de Tzoloj (*Dahlia imperialis*), reportados en el estudio realizado por Enríquez, J. en el año 2,002 y hojas de Samat (*Eryngium foetidum*) hojas y fruto de Miltomate (*Physalis philadelphica*) y fruto de Gusnay (*Spatyphyllum blandum*).

Se seleccionaron estos vegetales porque se cuenta con referencia previa sobre su composición nutricional y frecuencia de consumo; y porque se considera importante reconocer las cualidades nutricionales y funcionales de los vegetales autóctonos del país.

## **2. Obtención de Muestra:**

Los vegetales comestibles serán obtenidos en el mercado de Cobán y en algunas de las regiones donde crecen, entre las que se encuentra, Cobán, San Juan Chamelco y San Pedro Carchá. Para identificarlos correctamente se contará con la colaboración de los habitantes del lugar. Se adquirirá la parte seleccionada del vegetal en la presentación disponible que equivalga a 1 libra de peso. La identificación botánica de las muestras se realizará en el Herbario de la Escuela de Biología de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia (BIGUA), en donde quedará depositado un ejemplar herborizado.

La muestra se introducirá en bolsas plásticas negras y se transportará dentro de una hielera hasta el laboratorio de Bioquímica de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia y se analizarán por separado. Se limpiarán perfectamente las muestras para eliminar residuos de tierra y se seleccionará la parte comestible del vegetal para preparar los extractos en los que se realizarán los análisis. Se determinará el peso seco de las muestras siguiendo el procedimiento descrito más adelante.

## **3. Preparación de los Extractos Vegetales:**

- a) Pesar 10 g. de muestra fresca del vegetal y agregar 50 ml. de metanol.
- b) Saturar el recipiente con atmósfera de nitrógeno gaseoso.
- c) Agitar por dos horas con un agitador magnético protegiendo la muestra de la luz.
- d) Filtrar utilizando un embudo y papel filtro.
- e) Repetir las extracciones con fracciones de 25 ml. hasta que el extracto que se obtenga sea incoloro. Todas las fracciones se colectan en el mismo recipiente.
- f) Medir el volumen final de cada extracto y guardarlos en recipientes oscuros.



#### 4. Determinación de peso seco:

- a) Tarar un vidrio de reloj.
- b) Pesar 1 g. de muestra en el vidrio de reloj tarado.
- c) Introducir la muestra en horno a 105°C. por una hora.
- d) Introducir la muestra en la desecadora por 15 minutos.
- e) Repetir el proceso hasta que la muestra no presente variación en el peso o ésta sea mínima.

#### 5. Determinaciones:

##### a) Determinación de Capacidad Antioxidante Total:

##### i. Preparación de reactivos:

##### DPPH

- Preparar el volumen necesario de DPPH a una concentración de 0.219 mg./ml.

##### Amortiguador de Acetato pH 6:

Preparar el volumen necesario de acuerdo a lo siguiente:

- Disolver 2.72 g. de acetato de sodio anhidro en 100 ml. de agua destilada.
- Agregar 2.4 ml. de ácido acético a 47.5 ml. de la solución anterior (acetato de sodio).
- Ajustar el pH de la solución a 6.0 con NaOH 0.24 g./ml.

##### ii. Medición de actividad antioxidante

Preparar una serie de 4 tubos de reacción por ensayo, con lo siguiente:

Reactivos	Blanco	Control	Control de ensayo	Ensayo
Amortiguador de acetatos (ml.)	1.0	1.0	1.0	1.0
Metanol (ml.)	2.0	1.5	1.9	1.4
Muestra (ml.)	---	---	0.1	0.1
DPPH (ml.)	---	0.5	---	0.5

Agitar las mezclas en vortex por 30 segundos e incubar a temperatura ambiente por 30 minutos protegidas de la luz. Leer la absorbancia a una longitud de onda de 517 nm. Realizar el ensayo por duplicado.

Calcular el porcentaje de reducción del DPPH utilizando la fórmula:

$$\frac{[\text{Abs. Control} - \text{Abs. Muestra}]}{\text{Abs. Control}} * 100 = \% \text{ disminución de Abs.}$$

De acuerdo a la disminución de absorbancia de la muestra, establecer si es necesario concentrar o diluir la muestra a fin de encontrar el IC<sub>50</sub>.

b) Determinación de Compuestos Fenólicos:

i. Preparación de soluciones:

Preparar el volumen necesario en el momento de su utilización de acuerdo a lo siguiente:

- Disolver 10 mg. de carbonato de sodio en 90 ml. de agua destilada.
- Preparar una solución de ácido gálico con relación 1:10 (1 ml. de ácido gálico en 9 ml. de agua destilada)

ii. Determinación de la curva patrón:

Medir una curva patrón con estándares de ácido gálico de la siguiente forma:

Patrones	H <sub>2</sub> O (ml.)	Ácido gálico (ml.)	Folin (ml.)	Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> 10% (ml.)
Blanco	4.00	0	0.4	0.8
Patrón <sub>1</sub>	3.975	0.025	0.4	0.8
Patrón <sub>2</sub>	3.950	0.050	0.4	0.8
Patrón <sub>3</sub>	3.900	0.100	0.4	0.8
Patrón <sub>4</sub>	3.850	0.150	0.4	0.8
Patrón <sub>5</sub>	3.800	0.200	0.4	0.8
Patrón <sub>6</sub>	3.750	0.250	0.4	0.8

### iii. Determinación de Compuestos Fenólicos

Efectuar la medición de los compuestos fenólicos en los extractos vegetales agregando a tubos rotulados lo siguiente:

Muestra	H <sub>2</sub> O (ml.)	Extracto (ml.)	Folin (ml.)	Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> 10% (ml.)
M <sub>1</sub>	3.95	0.05	0.4	0.8
M <sub>2</sub>	3.90	0.10	0.4	0.8

Mezclar cada tubo y colocar en baño de maría a una temperatura de 90° a 100°C. por un minuto. Dejar enfriar los tubos y leer la absorbancia de cada uno a 765 nm.

Calcular los Eq. de ácido gálico a partir de la curva patrón mediante una ecuación de la recta generada al graficar Eq. de ácido gálico vrs. absorbancia a 765 nm:

$$\text{Eq. ácido gálico} = \frac{\text{Abs} - m}{b}$$

#### c) Determinación de Vitamina C

##### i. Condiciones cromatográficas:

- Fase móvil: Isocrática. Solución de fosfatos 1M pH 3 y metanol en una proporción de 95:5
- Columna de Nucleofil de 100-5 µl.
- Flujo 0.8
- Longitud de onda 265 nm.
- C<sub>18</sub> 12.5 x 4 mm. de diámetro interno.
- Todos los reactivos a utilizar se filtrarán previo a iniciar los análisis.

- ii. Determinación
  - o Inyectar estándares de ácido ascórbico para obtener una curva patrón.
  - o Filtrar los extractos vegetales utilizando membranas de 20  $\mu\text{m}$ . de poro.
  - o Inyectar una cantidad adecuada de extracto vegetal.

Integrar las áreas obtenidas a la ecuación de la recta basada en la curva patrón para obtener los valores de Vitamina C.

## 6. Diseño Estadístico:

- a) Tipo de estudio
  - i. Según el tipo de ocurrencia de los hechos y registros de la información:

Prospectivo
  - ii. Según el período y secuencia del estudio:

Transversal
  - iii. Según el análisis y alcance de los resultados:

Descriptivo
- b) Tipo de muestreo

Por Conveniencia. De cada especie comestible se colectarán 2 muestras, una del Mercado Municipal de Cobán y otra del lugar donde crezcan de forma silvestre. Estas últimas serán colectadas en los tres distintos lugares según el siguiente cuadro:



Muestra	Mercado central de Cobán	Cobán	San Pedro Carchá	San Juan Chamelco
Roctix	X			X
Tziton	X	X		
Tzoloj	X			X
Samat	X	X		
Miltomate (hojas)	X		X	
Miltomate (fruto)	X		X	
Gusnay (inflorescencia)	X			X

De cada muestra se obtendrán, por duplicado, extractos etanólicos. Cada extracto será utilizado para determinar la capacidad antioxidante total, compuestos fenólicos y vitamina C, realizándose el análisis de cada extracto por duplicado. No es necesario realizar más repeticiones de los extractos ó de los análisis ya que los métodos mencionados se utilizan rutinariamente en el laboratorio de Bioquímica según lo reportado por Caballeros, K. en el año 2001 (16).

c) Análisis Estadístico

A los resultados obtenidos se les realizará un análisis descriptivo con una estimación de los siguientes parámetros: Actividad antioxidante total, concentración de fenoles y vitamina C, con un nivel de confianza del 95 % utilizando la distribución de t de Student.

d) Análisis de datos

Los resultados se expresarán de la siguiente forma:

- i Capacidad Antioxidante Total: En IC<sub>50</sub> en mg. del extracto vegetal.
- ii Fenoles Totales: En equivalentes de mg. de ácido gálico.
- iii Vitamina C: En mg. de ácido ascórbico/100 g. de extracto vegetal.

## VIII. RESULTADOS

Se analizaron seis vegetales comestibles de la región de Alta Verapaz. Las plantas comestibles estudiadas fueron: Roctix (*Senecio parasiticus*), Tziton (*Tinantia erecta*), Tzoloj (*Dahlia imperialis*), Samat (*Eryngium foetidum*), Miltomate (*Physalis philadelphica*) y Gusnay (*Spatyphyllum blandum*).

Se escogió esta región por poseer una rica flora silvestre, pues se encuentran tanto plantas nativas como introducidas. Las muestras fueron obtenidas en Cobán y en dos municipios de Alta Verapaz: San Juan Chamelco y San Pedro Carchá según lo indica la sección de materiales y métodos. Para la recolección de las muestras que crecen silvestres se contó con la ayuda de los pobladores los que facilitaron la búsqueda y obtención de las mismas. Todas las muestras obtenidas de mercado fueron compradas en el mercado central de Cobán.

Las tablas 1, 2 y 3 presentan los resultados obtenidos, para cada vegetal se indica el órgano o parte comestible. Los valores se expresan como promedio, desviación estándar y rango.

En la tabla no. 1 se muestran resultados para la determinación de la Capacidad Antioxidante Total, en la que el Roctix presenta la mayor actividad antioxidante total:  $IC_{50}$  en 0.42 mg. de materia fresca (0.06 mg. en materia seca), y el Miltomate (fruto) presenta la menor actividad antioxidante total:  $IC_{50}$  de 145.23 mg. en materia fresca (10.41 mg. en materia seca).

La tabla no. 2 muestra los resultados para la determinación del contenido de Fenoles Totales. El Roctix presenta el mayor contenido de Fenoles Totales: 63.37 equivalentes de ácido gálico / g. de materia fresca (427.23 equivalentes de ácido gálico / g. de materia seca). Y el Miltomate (fruto) el menor contenido de

Fenoles Totales: 3.74 equivalentes de ácido gálico / g. de materia fresca (36.60 equivalentes de ácido gálico / g. de materia seca).

La tabla no. 3 presenta los resultados para la determinación de Vitamina C, el Samat posee el mayor contenido: 4.89 mg./100 g. de materia fresca (34.4 mg./100 g. de materia seca), y el miltomate (fruto) el menor contenido: 0.37 mg./100 g. de materia fresca (2.42 mg./100 g. de materia seca).

Tabla no. 1  
Valores de Capacidad Antioxidante Total mediante el método de Difenilpicrilhidrazilo (DPPH)

Vegetal	Valores de IC <sub>50</sub>		
	Parte Comestible	mg. de Materia fresca	mg. de Materia seca
Roctix	Md	0.42	0.06
<i>Senecio parasiticus</i>	DS	0.02	0.01
Hojas	Int. Conf.	0.43 - 0.41	0.07 - 0.05
Tziton	Md	4.65	0.45
<i>Tinantia erecta</i>	DS	0.19	0.06
Hojas	Int. Conf.	4.76 - 4.55	0.48 - 0.42
Tzoloj	Md	1.23	0.21
<i>Dahlia imperialis</i>	DS	0.07	0.17
Hojas	Int. Conf.	1.27 - 1.20	0.22 - 0.20
Samat	Md	1.45	0.19
<i>Eryngium foetidum</i>	DS	0.29	0.07
Hojas	Int. Conf.	1.61 - 1.30	0.23 - 0.15
Miltomate	Md	14.48	2.42
<i>Physalis philadelphica</i>	DS	0.49	0.26
Hojas	Int. Conf.	14.74 - 14.22	2.55 - 2.28
Miltomate	Md	145.23	10.41
<i>Physalis philadelphica</i>	DS	9.15	3.92
Fruto	Int. Conf.	150.11	140.35
Gusnay	Md	1.85	0.29
<i>Spatyphyllum blandum</i>	DS	0.17	0.99
Inflorescencia	Int. Conf.	1.94 - 1.75	0.34 - 0.24

Md: Media

DS: Desviación Estándar

Int. Conf: Intervalo de confianza 95%



Tabla no. 2  
Valores de Fenoles Totales mediante el método de Folin - Ciocalteu

Vegetal	Valores de Equivalentes de Acido Gálico por		
	Parte Comestible	g. de Materia fresca	g. de Materia seca
Roctix	Md	63.37	427.23
<i>Senecio parasiticus</i>	DS	2.77	23.18
Hojas	Int. Conf.	64.85 - 61.90	439.63 - 414.93
Tziton	Md	22.45	230.21
<i>Tinantia erecta</i>	DS	4.68	44.77
Hojas	Int. Conf.	24.95 - 19.96	252.97 - 205.26
Tzoloj	Md	41.01	242.95
<i>Dahlia imperialis</i>	DS	4.37	26.54
Hojas	Int. Conf.	43.34 - 38.68	257.09 - 228.81
Samat	Md	37.1	254.88
<i>Eryngium foetidum</i>	DS	1.81	11.24
Hojas	Int. Conf.	38.07 - 36.14	260.88 - 248.89
Miltomate	Md	13.5	91.02
<i>Physalis philadelphica</i>	DS	0.68	3.62
Hojas	Int. Conf.	13.86 - 13.15	92.96 - 89.09
Miltomate	Md	3.74	36.6
<i>Physalis philadelphica</i>	DS	0.49	3.46
Fruto	Int. Conf.	4.00 - 3.48	39.16 - 35.47
Gusnay	Md	24.05	148.01
<i>Spatyphyllum blandum</i>	DS	6.52	44.19
Inflorescencia	Int. Conf.	27.53 - 20.58	171.55 - 124.46

Md: Media

DS: Desviación Estándar

Int. Conf: Intervalo de confianza 95%

Tabla no. 3  
Valores de Vitamina C mediante el método de Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC)

Vegetal Parte Comestible	Contenido de Vitamina C		
		mg./100 g. Materia fresca	mg./100 g. Materia seca
Roctix	Md	0.15	0.98
<i>Senecio parasiticus</i>	DS	0.02	0.24
Hojas	Int. Conf.	0.16 - 0.14	1.12 - 0.87
Tziton	Md	0.67	6.91
<i>Tinantia erecta</i>	DS	0.09	0.92
Hojas	Int. Conf.	0.76 - 0.58	7.82 - 5.99
Tzoloj	Md	1.22	6.72
<i>Dahlia imperialis</i>	DS	0.21	0.36
Hojas	Int. Conf.	0.71 - 0.62	7.40 - 6.42
Samat	Md	4.89	34.4
<i>Eryngium foetidum</i>	DS	0.59	3.19
Hojas	Int. Conf.	5.21 - 4.58	36.10 - 32.70
Miltomate	Md	0.34	2.37
<i>Physalis philadelphica</i>	DS	0.27	0.24
Hojas	Int. Conf.	0.35 - 0.32	2.50 - 2.25
Miltomate	Md	0.07	0.67
<i>Physalis philadelphica</i>	DS	0.01	0.12
Fruto	Int. Conf.	0.07 - 0.06	0.74 - 0.61
Gusnay	Md	0.37	2.42
<i>Spatyphyllum blandum</i>	DS	0.03	0.31
Inflorescencia	Int. Conf.	0.39 - 0.36	2.58 - 2.25

Md: Media

DS: Desviación Estándar

Int. Conf: Intervalo de confianza 95%

## IX. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

En el presente estudio se determinó las propiedades antioxidantes de seis vegetales comestibles autóctonos del departamento de Alta Verapaz.

Para la determinación de los distintos parámetros de capacidad antioxidante se utilizaron métodos estandarizados en estudios previos realizados por Caballeros, K. en el año 2001, Barahona y colaboradores en el año 2001 y Lima, S. en el año 2003. Estos métodos se realizan de rutina en el Departamento de Bioquímica; lugar en el que se realizaron los análisis, en donde han demostrado confiabilidad y sensibilidad al ser utilizados en todo tipo de matriz vegetal. Por lo anterior se considera que los resultados son confiables (16, 43, 44).

Se cree que el transporte y almacenamiento de las muestras fue el adecuado ya que no se observó cambios notables de color o turgencia entre el momento de su colecta y su análisis.

Las muestras recolectadas en el mercado no muestran diferencias significativas en cuanto a su aspecto, en comparación con los vegetales recolectados en el área donde crecen silvestres. Lo anterior indica que la manipulación y transporte de los vegetales desde el lugar del corte hasta el mercado no afecta la cantidad de compuestos antioxidantes en el mismo.

Este estudio determinó que de todos los vegetales analizados, el Roctix posee la mayor capacidad antioxidante, lo que coloca a este vegetal comestible como el más importante y significativo en cuanto a componentes funcionales se refiere.

Según el estudio de Enríquez, J. en el año 2002, este vegetal tiene una frecuencia de consumo de 3 veces por semana y la manera de cocinarlo en su gran mayoría es frito o en tamal (39) por lo que este vegetal puede ser una fuente

significativa de antioxidantes en la población rural, debido a la frecuencia de consumo mencionada.

También la forma de preparación puede resultar relevante: la fritura hace más biodisponible los antioxidantes de naturaleza lipofílica; esto al ser consumidos y absorbidos se alojan en la bicapa lipídica de las membranas celulares del organismo, protegiéndolas de la lipoperoxidación lípida. Los vegetales preparados al vapor, método de cocción de los tamales, evitan la pérdida por solubilización de sustancias hidrofílicas, como la que se da con la cocción en agua de los vegetales. Parece ser que las formas de preparación de este vegetal, son las óptimas para aprovechar al máximo su contenido de sustancias antioxidantes.

El Roctix presenta la mayor Actividad Antioxidante Total y el menor contenido de Vitamina C. Lo anterior indica que la capacidad antioxidante de este vegetal está relacionada principalmente con el contenido de Fenoles Totales, entre los cuales hay compuestos fitogénicos con actividades biológicas importantes. Además esto resulta congruente, pues las hojas de color verde intenso contienen gran cantidad de compuestos polifenólicos (44).

De los seis vegetales estudiados, la parte analizada consistió en hojas en cuatro de ellos, una inflorescencia y un fruto. En general las hojas presentan la mayor actividad antioxidante; este contenido sumado al hecho de que las hojas tienen una frecuencia de consumo alta (3 a 4 veces por semana) también las hacen importantes como fuente de sustancias antioxidantes. Se ha reportado que el Samat también se vende en la capital con el nombre de culantrillo, lo cual amplía el interés de esta planta, al ser utilizada en áreas rurales y urbanas.

Los requerimientos nutricionales de Vitamina C son de 100 mg. diarios, el Samat es el vegetal comestible que presenta la mayor cantidad de Vitamina C, sin embargo no es significativo, pues constituye el 4.5% del requerimiento diario; sumado a esto, se sabe que el sobrecocimiento puede destruir total o



parcialmente dicha vitamina; por lo tanto existe Vitamina C en los vegetales comestibles estudiados pero no es significativo para suplir los requerimientos nutricionales.

La única inflorescencia presente en este estudio es el Gusnay, el cual demostró un contenido bastante balanceado de Capacidad Antioxidante Total, Fenoles Totales y Vitamina C, colocándolo en el cuarto lugar en cuanto a importancia de contenido en componentes funcionales, en comparación con el resto de los vegetales comestibles analizados en el estudio.

El consumo de ésta inflorescencia está más extendido en todo el territorio guatemalteco, pues se han reportado informes del consumo de ésta en la costa sur, así mismo, también se observa esta inflorescencia como decoración en jardines, incluso en la ciudad capital, lo cual resulta beneficioso para el consumidor, pues aparte de contener significativa cantidad de componentes funcionales, es de fácil obtención (40).

De las muestras analizadas la que menos cantidad de Capacidad Antioxidante Total, Fenoles Totales y Vitamina C presentó, fue el fruto del Miltomate, este es el más común y conocido por lo tanto, aunque no tenga cantidades significativas de sustancias antioxidantes puede tener otras características nutritivas que lo puedan hacer importante para el consumo humano.

Estudios similares, realizados en el departamento de Chiquimula con las hojas de Gamuza (*Liabum vagans* Blake.) y Pie de paloma (*Boerhaavia erecta* L.), indican que éstas tienen similares características antioxidantes, con respecto a las analizadas en este estudio, lo que hace pensar que en el país los vegetales comestibles son una fuente rica tanto en componentes funcionales como nutricionales (44).

Este estudio ha identificado como los vegetales más promisorios al Roctix, Tzoloj, Tziton y Samat, desde el punto de vista de sus propiedades funcionales, por lo tanto es importante promover su producción, comercialización y consumo.

## X. CONCLUSIONES

- A. Los seis vegetales comestibles autóctonos del departamento de Alta Verapaz poseen compuestos antioxidantes.
- B. El Roctix (*Senecio parasiticus*) posee la mayor Actividad Antioxidante Total y contenido de Fenoles Totales. Este, es el vegetal comestible más importante y significativo en cuanto a componentes funcionales se refiere.
- C. El Samat (*Eryngium foetidum*) presento el mayor contenido de Vitamina C, sin embargo no es relevante, pues no es significativo para suplir los requerimientos diarios.
- D. La capacidad antioxidante de los vegetales de estudio está asociada principalmente al contenido de Fenoles Totales.
- E. Esta investigación junto con estudios realizados con anterioridad hacen pensar que los vegetales comestibles del país son una fuente rica tanto en componentes funcionales como nutricionales.
- F. Los vegetales más promisorios desde el punto de vista de propiedades funcionales son: Roctix, Tzoloj, Tziton y Samat.

## XI. RECOMENDACIONES

- A. Se recomienda utilizar los resultados de este estudio, para dar a conocer las bondades de los vegetales comestibles autóctonos de Alta Verapaz como fuente de sustancias antioxidantes.
- B. Promocionar la producción, comercialización y consumo de los vegetales autóctonos de la región.
- C. Determinar las propiedades antioxidantes de estos vegetales en preparaciones tradicionales, para determinar si existen variaciones de sus componentes.



## XII. REFERENCIAS

1. Negri A., F2 Isoprostanos y Daño Oxidativo Renal. Rev. Nefrol. Diál. y Transpl. 1999; 49: 3-7
2. Sanchis B *et al.* Determination of Glutation Levels, Glutation System Enzymes and Lipid Peroxidation Products, In the Cataract Lens and In the Clear Lens. Arch. Soc. Esp. Oftal. 1999;11:1-6
3. Demachelier C., Ciccio G, Antioxidantes de Origen Vegetal. Ciencia Hoy. 1998; 8: 44
4. Radicales libres antioxidantes y tabaquismo. 2001. (en línea). Guatemala. Consultado 10 de febrero 2003. Disponible en <http://www.tabaquismo.freehostingnet>
5. Yamaguchi F, *et al.* Free Radical Scavenging Activity and Antiulcer Activity of Garcinol from *Garcinia indica* Fruit Rind. J. Agric. Food Chem. 2000;48:2320-2325.
6. Soares, J. *et al.* Antioxidant Activities of Some Extracts of *Thymus zygis*. Fr. Rad. Bio. Med. 1997;26:469-478.
7. Diccionario de términos relacionados con la temática de los Radicales Libres. (en línea). Guatemala. Consultado 10 de febrero 2003. Disponible en <http://www.glosario-antioxidantesycalidaddevida.htm>
8. Aviv, A. Hipótesis de la relación entre el consumo de sal, los radicales libres del oxígeno y el envejecimiento cardiovascular. N. J. Med. Sch. J. Hypert. 2002; 20: 555-59.

9. Producción de Radicales Libres y Estados Excitados en Sistemas Biológicos. 2003. (en línea). Consultado 10 de febrero 2003. Disponible en <http://www.fyb.uba.ar/fisicoqca/investigación.htm#inves1>
10. El Estrés Oxidativo y sus Implicaciones en la Enfermedad de Parkinson. 2001. (en línea). Consultado 10 de febrero 2003. Disponible en <http://www.galenored.com>
11. Ekhard, E. *et al.* Conocimientos actuales sobre nutrición. 7 ed. Estados Unidos: Organización Panamericana de la Salud, 1996.
12. Radicales Libres, Antioxidantes, y Tabaquismo. 2002. (en línea). Consultado el 10 de febrero 2003. Disponible en <http://www.buenasalud.com>
13. Carbonell, L. Estrés Oxidativo y Riesgo Cardiovascular. Boletín SECF. 2001; 1(4):1-5
14. Goodhart, R., Shills, M. La nutrición en la salud y la enfermedad. España: Salvat Editores, S.A., 1,987. 125p. (32,41)
15. García, B. *et al.* Enzimas que participan como barreras fisiológicas para eliminar los radicales libres: Superóxido Dismutasa. Rev. Cub. Invest. Biomed. 2002;14(1):1-4

16. Caballeros, K. Optimización de dos métodos para el tamizaje de la actividad antioxidante de extractos vegetales. Guatemala: Universidad de San Carlos (Tesis de graduación Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia) 2001. 54p.
17. Céspedes, E., Hernández, I., Llópiz, N. Enzimas que participan como barreras fisiológicas para eliminar los radicales libres. II. Catalasa. Rev. Cub. Invest. Biomed. 2002;15(2):1-6
18. Antioxidantes y Radicales libres. 2002. (en línea). Consultado el 10 febrero 2003. Disponible en <<http://www.revistanatural.com/primavera299/sumario.htm>>
19. Valverde, I., Periago, M., Ros G Significado nutricional de los compuestos fenólicos de la dieta. Arch. Latinoamer. Nut. 2002;1(50)
20. Alonso, J. Boletín de la Papa. Nut. Rev. 2000;23(2):1-2
21. Polifenoles del vino y salud humana. 2001. (en línea). Consultado 26 febrero 2003. Disponible en <<http://www.anti oxidantes.com.ar/12/Com010.htm>>
22. Dietary Reference Intakes for vitamin C, vitamin E, Selenium and Carotenoids. Food Nut. Brd. 2000;7:3-6.

23. Siro, T., Young-In, K. Té y Salud. Nut. Rev. 2000;58:1-10.
24. Auer, M. *et al.* Effects of clinically used antioxidants in experimental pneumococcal meningitis. J. Infect. Dis. 2000;18;(2):347-50.
25. Roche. Vitamins. Doc. Tec. 74p. (5-7, 13-15, 21-23,)
26. ¿Qué son los antioxidantes naturales? 2002. (en línea). Consultado 10 febrero 2003. Disponible en<[http://www.consumer\\_estuportaldeconsumo.htm](http://www.consumer_estuportaldeconsumo.htm)>
27. Liu, L, *et al.* La vitamina C preserva la función endotelial luego de una ingesta rica en grasas en pacientes con enfermedad coronaria. Clin. Cardiol. 2002;25:219-224.
28. Mykkänen, R. H.Versus Omnivores. I. J. Appl. Nut. Scien. 2000;2(16)
29. Parks, D., *et al.* Protección cardiovascular por los polifenoles del vino. N. J. Med. Sch. J. Hypert. 2002;957:115-121.
30. Solla, M. Papel de los estresantes inmunológicos en la inmunodeficiencia. Rev. Med. LATRELA. 1997;10(2):1-5
31. Kastenbauer, S., *et al.* Estrés oxidativo en humanos con meningitis bacteriana. J. Infect. Dis. 2002;58:186-191



32. Laranjinha, J., *et al.* Reactivity dietary phenolic acids with peroxy radicals: Antioxidant activity upon low density lipoprotein proxidation. *Biochem. Pharmacol.* 1994;48(3):487-494
33. Nakata, Y., *et al.* Formación de placa aterosclerótica de estructura vulnerable en el ratón transgénico incapaz de sintetizar vitamina C y apolipoproteína E. *J. Infect. Dis.* 2002;105:1485-90
34. Auer, M., *et al.* Effects of clinically used antioxidants in experimental pneumococcal meningitis. *J. Infect. Dis.* 2000;182:347-350.
35. Los antioxidantes nutricionales y el cáncer. Consultado el 13 de marzo 2003. Disponible en <<http://www.hector.Solórzano.com/articulos/index.html>>
36. Oreste, B., Plagiarini, E. Multivariate analysis de antioxidant power and polyphenolic composition in red wines. *J. Agric. Food Chem.* 2001;49:4841-4844.
37. Fitoquímicos guardianes de la salud. 2002. (en línea). Consultado 13 de marzo 2003. Disponible en <<http://www.andrews.edu/NUFS>>
38. Antioxidantes y radicales. 2002. (en línea). Consultado 13 de marzo 2003. Disponible en <<http://www.aula21.net/nutriweb/pagmarco.htm>>
39. Enríquez, J. Estudio etnobotánico y nutricional de plantas comestibles silvestres en el departamento de Alta Verapaz. Guatemala: Universidad de San Carlos (Tesis de graduación Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia) 2002. 77p.
40. Standley, P., Williams, L. *Flora de Guatemala.* Fieldiana Botany, 1966. 6,721p. Vol. 24 (p. 46-47, 92-93, 352-353).

41. Plumier, D. *Introducción a la Bioquímica Práctica*. Colombia: McGraw-Hill Latinoamericana, 1981. 345p. (p.137).
42. Lima, S. Evaluación de distintos solventes para el proceso de extracción en la determinación de la actividad antioxidante de quilete (*Solanum americanum*) y mamey (*Mammea americana*). Universidad de San Carlos de Guatemala (Tesis de graduación Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia) 2003. 56 pp.
43. Barahona, A. et.al. Actividad antioxidante de frutas autóctonas de Guatemala. *Atti Resumenes. XI Cong. Italo-Latinoamericano Di Etnomedicina "Alberto Di Capra"* Roma:2002;9.
44. Medrano, K. Capacidad antioxidante, contenido de vitamina C y carotenos en plantas comestibles silvestres del departamento de Chiquimula. Universidad de San Carlos de Guatemala (Tesis de graduación Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia). 2005. 58pp.
45. Pineta, C. Capacidad antioxidante en algunas plantas comestibles autóctonas de Guatemala. Universidad de San Carlos de Guatemala. (Tesis de graduación Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia). 2002. 49pp.

## XIII. ANEXOS


## ANEXO 1

Principales tipos de compuestos fenólicos en plantas.

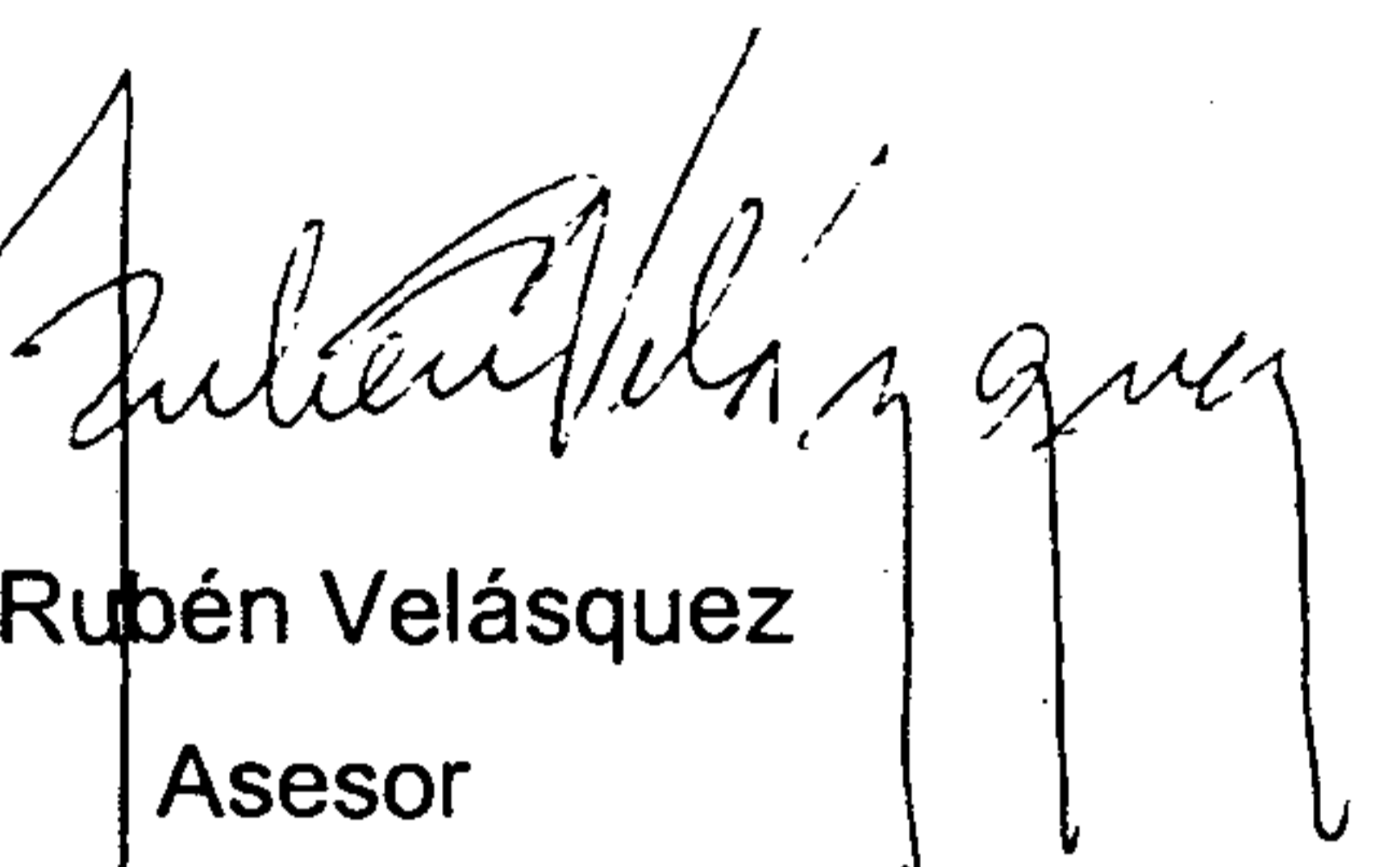
Átomos de carbono	Esqueleto	Tipo
6	$C_6$	Fenoles simples, benzoquinonas
7	$C_6 - C_1$	Ácidos fenólicos
8	$C_6 - C_2$	Derivados de tirosina. Ácidos fenilacéticos
9	$C_6 - C_3$	Ac. cinámicos, fenilpropenos, cumarinas
10	$C_6 - C_4$	Naftoquinonas
13	$C_6 - C_1 - C_6$	Xantonas
14	$C_6 - C_2 - C_6$	Estilbenos, antraquinones
15	$C_6 - C_3 - C_6$	Flavonoides, isoflavonoides
18	$(C_6 - C_3)_2$	Lignanós, neolignanós
30	$(C_6 - C_3 - C_6)_2$	Bioflavonoides
N9	$(C_6 - C_3)_n$	Ligninas
N6	$(C_6)_n$	Melaninas catecólícas



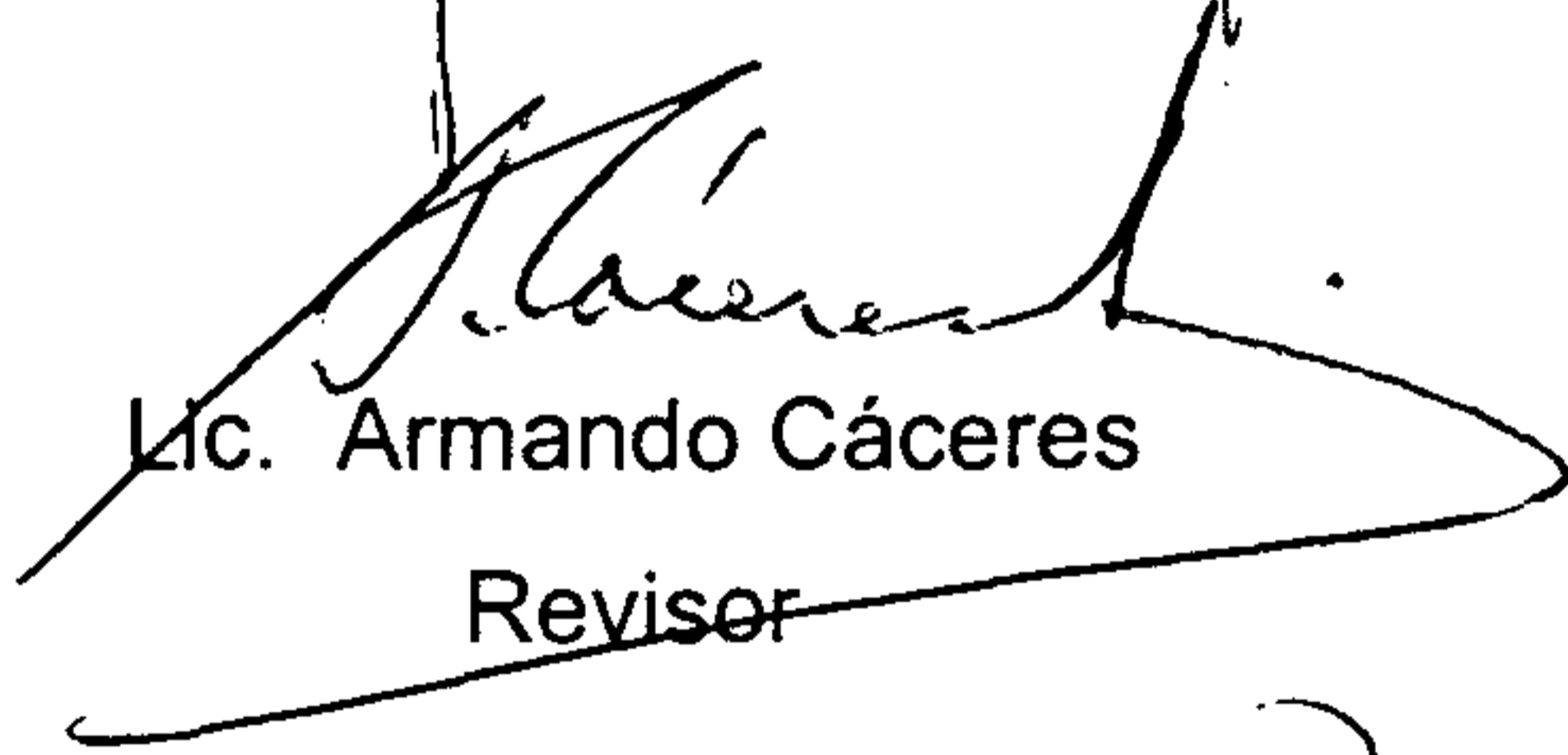
María Leticia Téllez Flores  
Autora



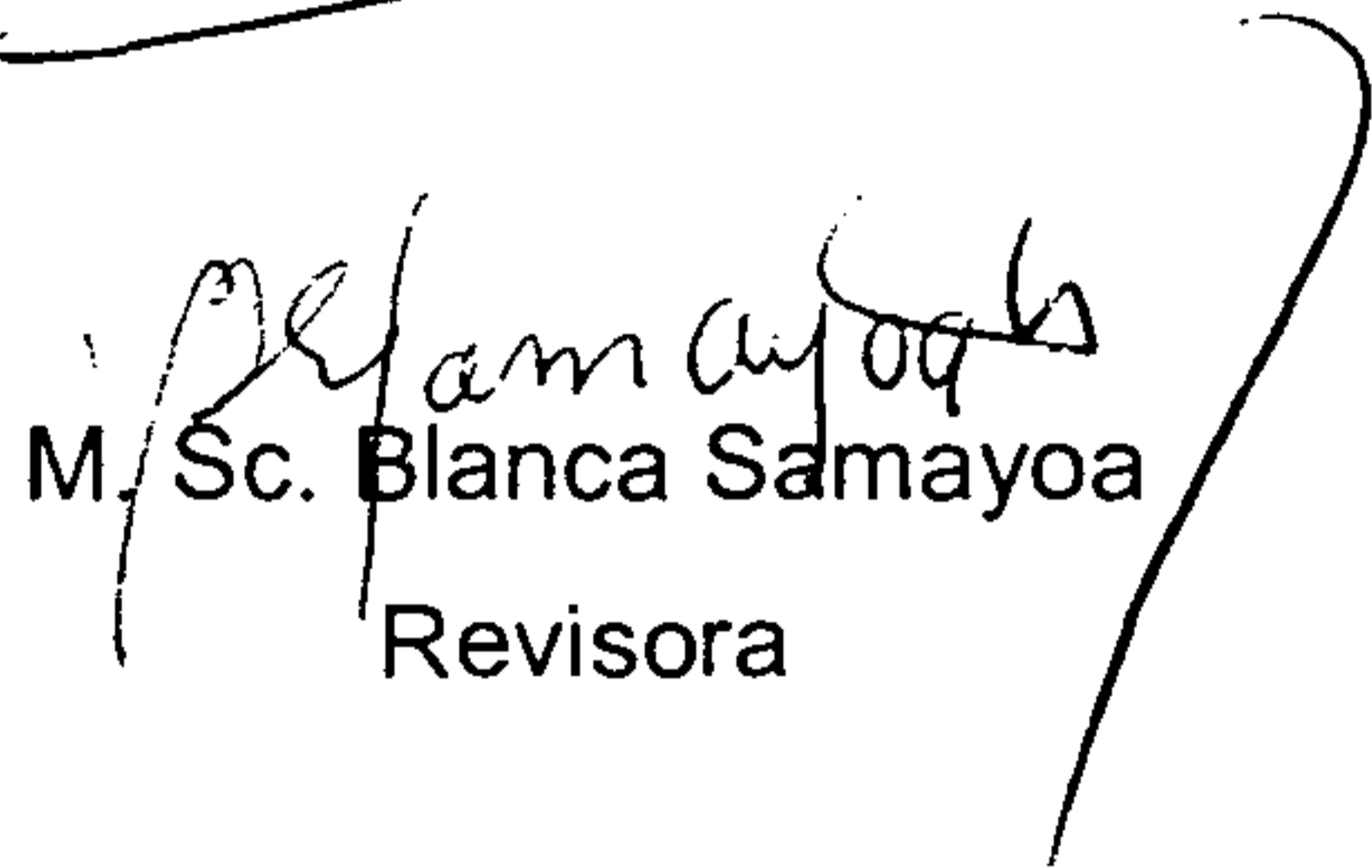
Lcda. Julieta de Ariza  
Asesora



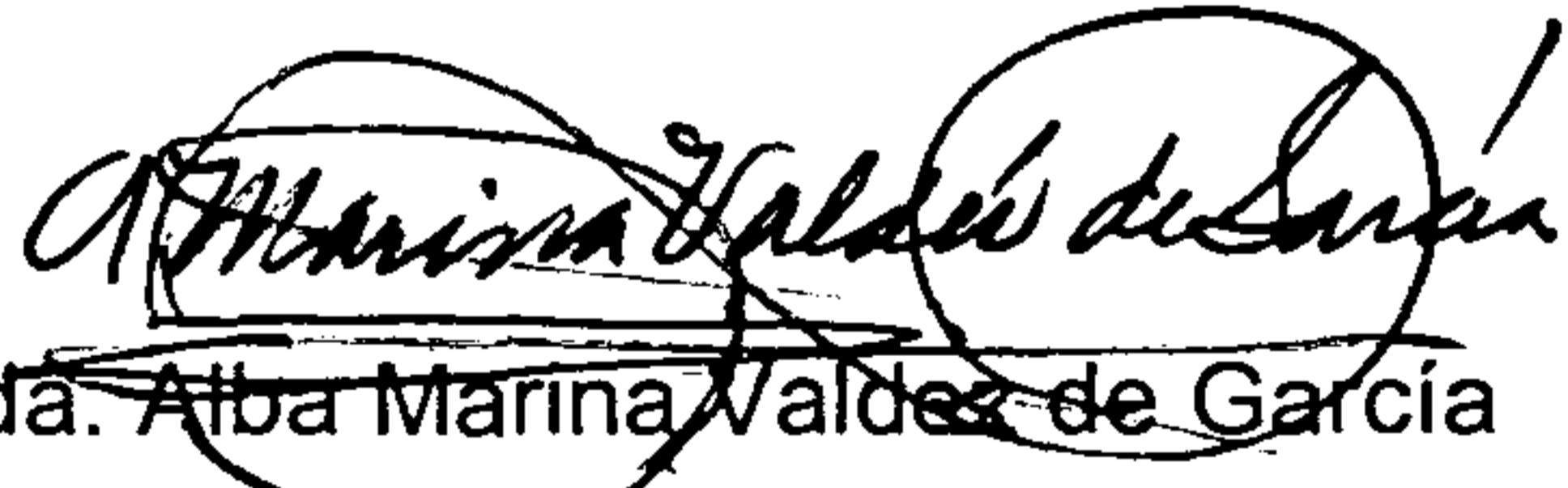
Dr. Rubén Velásquez  
Asesor



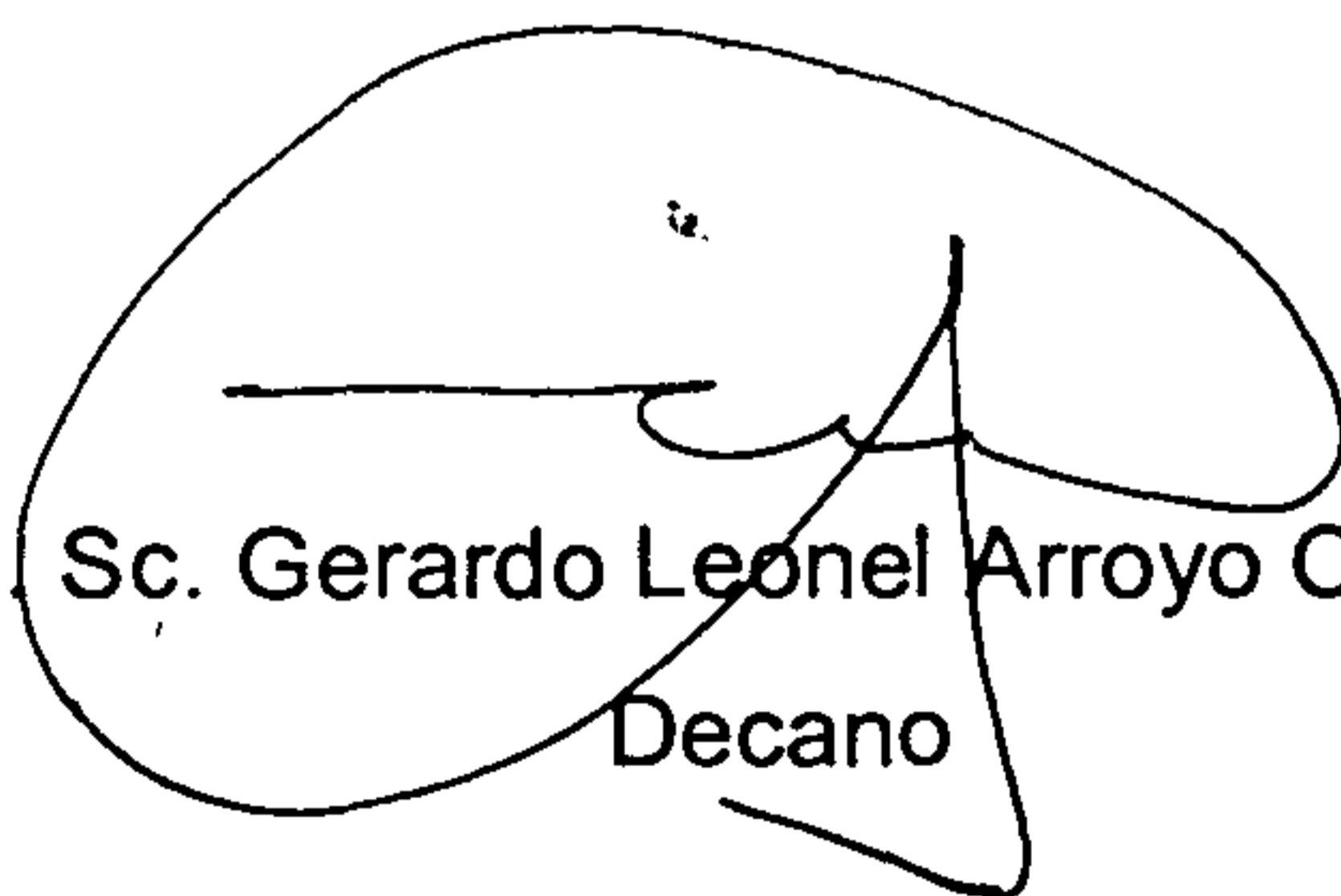
Lic. Armando Cáceres  
Revisor



M. Sc. Blanca Samayoa  
Revisora



Lcda. Alba Marina Valdez de García  
Directora de Escuela de Química Biológica



M. Sc. Gerardo Leonel Arroyo Catalán  
Decano