RECIBIDO/RECEIVED: 29 OCTUBRE 2016 | ACEPTADO/ACCEPTED: 18 ABRIL 2017 | PP. 61 - 69

Evaluación de la capacidad antioxidante de extractos de hojas de tres variedades de *Mangifera indica* L.

Assessment of antioxidant capacity of leaf extracts from three varieties of *Mangifera indica* L.

Celeste Jacqueline Carrillo Tomalá
Universidad de Guayaquil
(Guayaquil - Ecuador)
celeste.carrillot@ug.edu.ec

Raúl Díaz Torres
Universidad de Guayaquil
(Guayaquil - Ecuador)

Jenny Lorayni Zambrano Sancán
Universidad de Guayaquil
(Guayaquil - Ecuador)

Alejandra García Águila
Universidad de Guayaquil
(Guayaquil - Ecuador)

Estefanía Elizabeth Triana Ramírez
Universidad de Guayaquil
(Guayaquil - Ecuador)

Revista Cumbres Vol.3 Nº2
Versión impresa ISSN 1390-9541
Versión electrónica ISSN 1390-3365
http://investigacion.utmachala.edu.ec/revistas/index.php/Cumbres

RESUMEN

El mango (*Mangifera indica* L) es un cultivo importante, siendo conocida la capacidad antioxidante de la fruta y la corteza del árbol, pero las hojas no han sido suficientemente estudiadas. Estas propiedades dependen de la variedad y forma de extracción. El objetivo fue seleccionar la variedad de mango, forma de extracción, disolvente y concentración del mismo, que permitiera extraer la mayor cantidad de compuestos potencialmente bioactivos. Se seleccionaron tres variedades de mango (Tommy Atkins, Haden y Edward) muestreadas aleatoriamente y se separaron las hojas, que fueron secadas, trituradas y almacenadas protegidas de la luz. Cada muestra fue extraída (maceración y digestión) con tres concentraciones hidroalcohólicas y diferentes disolventes (hexano, éter dietílico y acetona). Se evaluaron el rendimiento y el contenido de sustancias fenólicas (Folin Ciocalteu) y la capacidad antioxidante (método DPPH). Los resultados se procesaron mediante el paquete estadístico SPSS. Con la maceración se obtuvo el mayor rendimiento, el tipo de disolvente utilizado influyó significativamente en el rendimiento de los extractos obtenidos, siendo mayor en las disoluciones hidroalcohólicas; con la maceración con disolución hidroalcohólica al 90% se obtuvo mayor concentración de compuestos fenólicos, pero la mayor capacidad antioxidante se obtuvo por digestión con disolución al 50%. En cuanto a variedades, la Tommy Atkins resultó la de mayor cantidad de compuestos fenólicos. Es posible obtener un extracto rico en compuestos bioactivos de cualquiera de las variedades, pero la concentración de compuestos polifenólicos y la capacidad antioxidante dependen de las condiciones de extracción.

Palabras clave: Capacidad antioxidante, compuestos fenólicos, maceración, digestión, *Mangifera indica* L.

ABSTRACT

Among the crop of exportable fruit from Ecuador, mango (*Mangifera indica* L) occupies an important place. It is known for its antioxidant capacity either from both the fruit and the bark of the tree, but these properties are dependent on the variety and form of extraction. The aim of this work was to select the variety of mango, form of extraction, solvent and concentration of the extraction solution that would allow to obtain compounds with bioactive potential. Three varieties of mango (Tommy Atkins, Haden and Edward) were randomly selected. Leaves were separated and then, dried, crushed and stored protected from light. Each sample was subjected to an extraction (maceration, digestion) with three different hydroalcoholic concentrations and three different solvents (hexane, diethyl ether and acetone). Yield, phenolic content (Folin Ciocalteu), and antioxidant capacity (DPPH method) were evaluated. The results were processed using the SPSS statistical software. Higher yield was obtained with maceration. The type of solvent used significantly influenced the yield of the extracts obtained, with higher values corresponding to hydro alcoholic solutions. It was found that by maceration with hydroalcoho-

lic solution at 90% higher concentration of phenolic compounds were obtained; however, the highest antioxidant capacity was obtained by digestion method and 50% solution. As for the varieties studied, Tommy Atkins resulted in the highest antioxidant activity, presenting more phenolic compounds. It is possible to obtain an extract rich in bioactive compounds of any of the three varieties studied, but the concentration of polyphenolic compounds and antioxidant capacity dependent on the extract conditions.

Keywords: Antioxidant capacity, phenolic compounds, maceration, digestion, *Mangifera indica* L.

INTRODUCCIÓN

Los principios "activos" contenidos en un material vegetal pueden extraerse mediante diversas técnicas, o bien pueden ser dispuestos tal y como se encuentran en el material vegetal fresco una vez triturado o previo tratamiento de secado. El objetivo de la extracción es el aprovechamiento de los subproductos orgánicos para la obtención de compuestos naturales de alto valor añadido para la industria alimentaria, cosmética y/o farmacéutica por sus características funcionales, antimicrobianas o antioxidantes. La mayor atención ha sido prestada a los extractos de plantas y hierbas medicinales y especias (Norziah et al., 2015).

Pese a su información genética predeterminada, las plantas de una misma especie desarrolladas en entornos diversos, producen compuestos diferentes, generando un formidable reservorio de sustancias con potencialidades farmacológicas (Petersen & Amstutz, 2008), de ahí que sea posible encontrar diferencias en cuanto a composición, entre variedades de una misma especie.

Existen numerosas investigaciones acerca de la obtención de extractos con actividad antioxidante o antimicrobiana a partir de materiales vegetales, especialmente aquellas partes de los vegetales que no tienen un uso directo en la alimentación humana (Negi, 2012). Esto es debido a que los procesos oxidativos (incluyendo la actividad microbiana) son una forma primaria del deterioro de muchos alimentos y a menudo responsables de la pérdida de calidad y seguridad de los mismos (Norziah et al., 2015). Sin embargo, los métodos de extracción empleados suelen tener un efecto considerable sobre esta capacidad (Padalia & Chanda, 2016).

Recientemente, se ha mostrado interés en la actividad antimicrobiana de las hojas obtenidas de diferentes árboles o arbustos, considerado como potencialmente útil para la conservación industrial de alimentos o en usos farmacéuticos (Luján-Hidalgo et al., 2012; Alarcón et al., 2016), atribuyendo esta actividad a los compuestos fenólicos o terpénicos que los mismos contienen.

Las diferencias químicas entre las sustancias obtenidas en cada órgano son el reflejo de que para una misma especie, la producción y almacenamiento de metabolitos secundarios no es idéntica. Por lo tanto, se deben evitar las comparaciones simplistas entre órganos, que al presentar una composición

química diferente, exhibirán probablemente actividades que pueden ser distintas o de diversa intensidad. También son posibles variaciones cuantitativas e incluso cualitativas dentro del mismo órgano, por la influencia de factores ambientales, como ocurre en el aceite esencial del fruto del tamarindo (Escalona, 2011).

En relación al mango (*Mangifera indica L*), su corteza ha sido extensamente estudiada en Cuba, donde sus diferentes formulaciones se comercializan bajo el nombre de Vimang®. Presenta elevadas concentraciones de selenio, pero su actividad antioxidante ha sido atribuida principalmente a los múltiples polifenoles que produce como son derivados del ácido benzoico, ésteres fenólicos, flavonoides (del tipo flavonoles), y su principal componente es la xantona mangiferina (Núñez Sellés, 2002). También se ha encontrado actividad antimicrobiana en compuestos presentes en su semilla (Kabuki et al., 2000), pero en cambio existen pocos estudios sobre las propiedades antimicrobianas de sus hojas (Doughari & Manzara, 2008), pese a que los informes sobre la actividad antimicrobiana de hojas de diferentes especies datan de la década del ochenta del siglo XX. El objetivo de este trabajo fue seleccionar la variedad de mango, forma de extracción, disolvente y concentración de la solución extractora que permitiera extraer la mayor cantidad de compuestos con potencial bioactivo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se seleccionaron tres variedades de mango (Tommy Atkins, Haden y Edward) cultivadas en la provincia del Guayas, Ecuador. Las plantas fueron seleccionadas aleatoriamente de acuerdo a un programa de muestreo y se separaron las hojas empleando un cuchillo de acero inoxidable. Las hojas fueron posteriormente secadas, trituradas y almacenadas a temperatura ambiente, protegidas de la luz.

Elaboración de extractos: Cada muestra fue sometida a un proceso de extracción (maceración, digestión) con tres concentraciones hidroalcohólicas (50%, 70%, 90%) y diferentes disolventes (hexano, éter dietílico y acetona).

Maceración: se cubrieron 10 g de Material Vegetal Seco (MVS) con 100 ml de disolvente en botellas de vidrio selladas y envueltas con papel aluminio, para evitar la evaporación y el efecto de la luz. Después de siete días se retiró el disolvente y se filtró al vacío.

Digestión: se cubrieron 10 g de MVS con 100 ml de disolvente en balones de vidrio, los que fueron calentados por dos horas, controlando la temperatura mediante reflujo, según el disolvente a usar. Después de enfriar, se filtró al vacío.

Determinación del rendimiento: se tomaron cinco ml de los extractos y se colocaron en una cápsula previamente tarada, evaporando a sequedad en baño de agua, hasta obtener un peso final constante empleando una balanza analítica (Mettler Toledo).

Contenido de sustancias fenólicas: Con agua grado HPLC se realizó una dilución 1:10 de los extractos obtenidos. De aquí, se tomaron 0,1 ml de cada

muestra a los que se agregó 0,2 ml del reactivo de Folin Ciocalteu y tras cinco minutos de espera, se adicionó 1 ml de solución de carbonato de sodio al 20%, se esperan 90 minutos y se lee a una absorbancia de 760 nm. Para calcular el contenido de sustancias fenólicas se utiliza una curva patrón previamente preparada, utilizando ácido gálico como estándar.

Capacidad antioxidante: Se preparó una solución de DPPH• (6 x 10-2 mM) en metanol y 2,8 ml de esta solución se mezclaron con 0,2 ml de cada extracto, previamente diluido en metanol a una concentración de 2,5 mg/ml. La mezcla se mantuvo en la oscuridad por 30 min y se midió la absorbancia a 517 nm, usando como blanco una solución conteniendo metanol, en lugar del extracto. Se utilizó una curva de calibración, usando una solución estándar de trolox (0,5; 1,0; 1,5 y 2,0 µg/mL).

Análisis estadísticos: Se utilizó el programa IBM SPSS Statistics 22. A los datos obtenidos se les realizó un análisis de varianza para determinar las diferencias entre variables. En caso de ser necesario se realizó la prueba de Rangos Múltiples de Duncan.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Rendimiento: El análisis de varianza para los rendimientos, mostró que existía interacción estadísticamente significativa ($p<0,001$) entre las tres variables estudiadas. Sin embargo, la variedad no influyó en el rendimiento de los extractos obtenidos, por lo que la prueba de Rangos Múltiples de Duncan solo fue necesaria para establecer la influencia del disolvente. En la Tabla 1 se muestran los valores medios de todos los rendimientos obtenidos.

Tabla 1. Rendimiento (%) de todos los procesos de extracción estudiados.

MÉTODO	VARIEDAD	DISOLVENTES			DISOLUCIONES HIDRO-ALCOHÓLICAS		
		Hexano	Éter dietílico	Acetona	50%	70%	90%
Maceración	Tommy Atkins	0,89	0,79	2,29	2,78	2,74	3,02
	Haden	0,72	0,29	2,76	3,24	2,75	2,84
	Edward	0,61	0,58	2,64	3,34	2,47	3,06
Digestión	Tommy Atkins	0,91	0,61	0,88	3,22	2,54	2,83
	Haden	0,83	0,98	1,04	2,97	2,57	2,33
	Edward	0,24	0,81	1,95	3,79	2,62	2,43

Todos los valores son la media de 3 determinaciones.

El método de maceración mostró un rendimiento medio de 2,10 %, mientras que el método de digestión mostró un rendimiento medio de 1,81 %. Estos valores son estadísticamente diferentes ($p<0,001$) lo que puede deberse al mayor tiempo de contacto en el primer caso. Con relación a las variedades, cuando se analizan de conjunto, el valor medio del rendimiento no difiere de una variedad a otra, como se puede observar en la tabla 2. Sin embargo, la

interacción significativa (p<0,001) entre las tres variables estudiadas indica que el comportamiento de cada variedad depende del método de extracción seleccionado y el disolvente empleado, lo que puede interpretarse en términos de que la composición de los extractos obtenidos variará de un proceso a otro.

Tabla 2. Valor medio del rendimiento (%) por variedad (independiente del disolvente y el método de extracción)

VARIEDAD	MEDIA	ERROR ESTÁNDAR	INTERVALO DE CONFIANZA AL 95%	
			Límite inferior	Límite superior
Edward	1,966	0,023	1,921	2,011
Haden	1,944	0,023	1,899	1,989
Tommy Atkins	1,959	0,023	1,913	2,004

Todos los valores son la media de 18 determinaciones.

En relación al tipo de disolvente, la Tabla 3 muestra los valores medios obtenidos, considerando solo la influencia del disolvente. Como se puede apreciar, se distinguen cinco subconjuntos diferentes y el mayor porcentaje de rendimiento corresponde al extracto hidro-alcohólico de 50 % de concentración, indicando que el rendimiento aumenta cuando se posibilita la extracción tanto de compuestos polares cómo apolares.

Tabla 3. Valor medio del porcentaje de rendimiento según el tipo de disolvente empleado.

DISOLVENTE	ÉTER	HEXANO	ACETONA	70%	90%	50%
Rendimiento	0,675 a	0,701 a	1,779 b	2,613 c	2,753 d	3,214 e

Los valores son la media de 18 determinaciones.

Medias con letras diferentes, difieren significativamente (p<0,001)
En base a estos resultados, se seleccionaron los extractos hidroalcohólicos para evaluar su posible actividad antioxidante y el contenido de compuestos fenólicos de los mismos. El análisis de varianza para los valores de capacidad antioxidante (DPPH), mostró que existía interacción estadísticamente significativa (p<0,001) entre las tres variables estudiadas. Los valores medios para todos los tratamientos estudiados se muestran en la tabla 4 y en la tabla 5 los valores separados por variables.

Tabla 4. Valores medios (µg E Trolox/mg) obtenidos por el método del DPPH.

MÉTODO	VARIEDAD	DISOLUCIONES HIDROALCOHÓLICAS		
		50%	70%	90%
Maceración	Tommy Atkins	215,167 c	178,697 f	178,917 f
	Haden	224,747 b	176,973 f	166,640 g
	Edward	194,553 ef	176,500 f	179,750 f
Digestión	Tommy Atkins	186,803 f	197,693 e	242,890 a
	Haden	197,000 e	188,527 ef	187,030 f
	Edward	206,223 d	182,360 f	242,890 a

Cada valor es la media de 3 determinaciones.
Medias con letras diferentes, difieren significativamente (p< 0,05)

Como se aprecia, los mejores resultados se obtienen cuando se emplea el método de digestión, realizando la extracción con una disolución hidroalcohólica de 90 % de concentración, para las variedades Tommy Atkins y Edward. Cuando se analiza la Tabla 5 se observa que el método de maceración mostró un valor medio superior al método de digestión mostrando un mayor poder antioxidante, pese a que el rendimiento obtenido fue menor. Al analizar las variedades, se ve que la Haden es la que menor poder antioxidante posee, sin embargo, el valor obtenido empleando la concentración del 50 % de alcohol, es elevado, lo cual puede deberse a que esta variedad presenta mayor cantidad de compuestos hidrosolubles que el resto. Por último, los extractos obtenidos con la concentración del 70 % de alcohol, mostraron menor poder antioxidante que sus similares a otras concentraciones.

Tabla 5. Valores medios (mg E Trolox /ml) obtenidos por el método del DPPH.

MÉTODO	MEDIA	VARIEDAD	MEDIA	CONCENTRACIÓN	MEDIA
Digestión	203,491 a	Edward	197,046 b	90 %	199,686 b
Maceración	187,994 b	Haden	190,153 a	70 %	183,458 a
		Tommy Atkins	200,028 b	50 %	204,082 b

Medias con letras diferentes, en una misma columna, difieren significativamente (p< 0,05)

Estos resultados corroboran la idea de que el tipo de compuesto extraído en cada método, es diferente, por lo que se procedió a determinar el contenido de fenoles. La tabla 6 muestra los resultados obtenidos.

Tabla 6. Valores medios (E ac. gálico/mg) obtenidos por el método de Folin Ciocalteu.

MÉTODO	VARIEDAD	DISOLUCIONES HIDROALCOHÓLICAS		
		50%	70%	90%
Maceración	Tommy Atkins	352,400 b	339,467 b	390,667 a
	Haden	279,300 cd	224,067 e	376,733 a
	Edward	260,700 d	281,367 cd	292,700 c
Digestión	Tommy Atkins	298,433 c	185,000 f	209,967 e
	Haden	295,167 c	282,533 cd	268,100 d
	Edward	298,067 c	277,367 cd	268,033 d

Cada valor es la media de 3 determinaciones.
Medias con letras diferentes, difieren significativamente (p< 0,05)

Como se aprecia, la maceración de las hojas de la variedad Tommy Atkins y la extracción al 90% de alcohol, son los tratamientos que, en general, aportan mayor contenido de compuestos fenólicos. Esto coincide con lo reportado por otros autores, acerca del alto contenido de compuestos fenólicos presentes en cascaras de mango (Serna y Torres, 2015) y semillas (Torres-Leon et al, 2016) de esta variedad.

En general, los resultados concuerdan con lo reportado por otros autores en el sentido de que el contenido de compuestos fenólicos varía entre variedades de mango (Ma et al., 2011).

CONCLUSIONES

Es posible obtener un extracto rico en compuestos bioactivos de cualquiera de las tres variedades estudiadas, pero la concentración de compuestos polifenólicos y la capacidad antioxidante dependen de las condiciones de extracción.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Alarcón, L., Peña, A., Velasco, J., Usubillaga, A., Contreras-Moreno, B.Z. Rojas, L., Ramírez, D. & Rosa, A. (2016). Composición química y evaluación de la actividad antimicrobiana del aceite esencial de *Espeletia schultzii* Wedd (Asteraceae) recolectada en el estado Trujillo- Venezuela. *Academia*, *15*(35): 69-79.

Doughari, J. H., & Manzara, S. (2008). In vitro antibacterial activity of crude leaf extracts of *Mangifera indica* Linn. *Afr J Microbiol Res*, *2*(4), 67-72.

Escalona Arranz, J. C. (2011). *Evaluación de la actividad antioxidante y antimicrobiana de extractos de hojas de Tamarindus indica L. como premisa para su introducción en la medicina complementaria* (Doctoral dissertation, Universidad de Oriente. Facultad de Ciencias Naturales).

Kabuki, T., Nakajima, H., Arai, M., Ueda, S., Kuwabara, Y., & Dosako, S. I. (2000). Characterization of novel antimicrobial compounds from mango (*Mangifera indica* L.) kernel seeds. *Food chemistry*, *71*(1), 61-66.

Luján-Hidalgo, M. C., Gutiérrez-Miceli, F. A., Ventura-Canseco, L. M. C., Dendooven, L., Mendoza-López, M. R., Cruz-Sánchez, S., ... & Abud-Archila, *M.* (2012). Composición quimica y actividad antimicrobiana de los aceites esenciales de hojas de *Bursera graveolens* y *Taxodium mucronatum* de Chiapas, *México. Gayana Bot, 69, 7-14.*

Ma, X., Wu, H., Liu, L., Yao, Q., Wang, S., Zhan, R., ... & Zhou, Y. (2011). Polyphenolic compounds and antioxidant properties in mango fruits. *Scientia Horticulturae*, *129*(1), 102-107.

Negi, P.S. (2012). Plant extracts for the control of bacterial growth: Efficacy, stability and safety issues for food application. *International Journal of Food Microbiology* 156 (1): 7–17.

Norziah, M. H., Fezea, F. A., Bhat, R., & Ahmad, M. (2015). Effect of extraction solvents on antioxidant and antimicrobial properties of fenugreek seeds (Trigonella foenum-graecum L.). International *Food Research Journal,*22 (3): 1261-1271

Núñez Sellés, A. J., Vélez Castro, H. T., Agüero-Agüero, J., González-González, J., Naddeo, F., De Simone, F., & Rastrelli, L. (2002). Isolation and quantitative analysis of phenolic antioxidants, free sugars, and polyols from mango (*Mangifera indica* L.) stem bark aqueous decoction used in Cuba as a nutritional supplement. *Journal of Agricultural and Food Chemistry,* 50(4), 762-766.

Padalia, H, and Chanda, S. (2015). Antimicrobial Efficacy of Different Solvent Extracts of Tagetes erecta L. Flower, Alone and in Combination with

Antibiotics. *Applied Microbiology: open access* 1:106

Petersen, F., & Amstutz, R. (Eds.). (2008). *Natural compounds as drugs* (Vol. 2). Springer Science & Business Media.

Serna, L. & Torres, C. (2015). Potencial agroindustrial de cáscaras de mango de las variedades Keitt, y Tommy Atkins (*Mangifera indica*). *Acta Agronómica*, *64*(2), 110.

Torres-León, C., Rojas, R., Contreras-Esquivel, J. C., Serna-Cock, L., Belmares-Cerda, R. E., & Aguilar, C. N. (2016). Mango seed: Functional and nutritional properties. *Trends in Food Science & Technology*, *55*, 109-117.