



FRONTERA BIOTECNOLÓGICA



BIOSENSORES A BASE DE NANOPARTÍCULAS DE ORO PARA LA DETECCIÓN DE MICROORGANISMOS PATÓGENOS

SELF-ASSEMBLED GOLD NANOCCLUSERS ON AMINE-FUNCTIONALIZED GLASS SUBSTRATE TOWARDS THE DEVELOPMENT OF BIOSENSOR BASED ON LIGHT ABSORPTION

ENSILADO DE MAGUEY, UNA ALTERNATIVA PARA LA ALIMENTACIÓN ANIMAL EN ZONAS ÁRIDAS Y SEMIÁRIDAS.

EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE ALGUNAS PLANTAS MEDICINALES COMUNES POR EL MÉTODO COLORIMÉTRICO DPPH

Directorio Institucional

CIBA IPN

IPN

Enrique Fernández Fassnacht

Director General

Julio Gregorio Mendoza Álvarez

Secretario General

Miguel Ángel Álvarez Gómez

Secretario Académico

José Guadalupe Trujillo Ferrara

Secretario de Investigación y Posgrado

Francisco José Plata Olvera

Secretario de Extensión e Integración Social

Mónica Rocío Torres León

Secretaria de Servicios Educativos

Primo Alberto Calva Chavarría

Secretario de Gestión Estratégica

Francisco Javier Anaya Torres

Secretario de Administración

Emmanuel Alejandro Merchán Cruz

Secretario Ejecutivo de la Comisión de

Operación y Fomento de

Actividades Académicas

José Luis Ausencio Flores Ruiz

Secretario Ejecutivo del Patronato de

Obras e Instalaciones

David Cuevas García

Abogado General

Jesús Ávila Galinzoga

Presidente del Decanato

Myrna Solís Oba

Directora del CIBA IPN Tlaxcala

Raúl Jacobo Delgado Macuil

Subdirector Académico y de Investigación del CIBA IPN Tlaxcala

Erik Ocaranza Sánchez

Subdirector de Vinculación del CIBA IPN Tlaxcala

Abdu Orduña Díaz

Subdirector de Innovación Tecnológica del CIBA IPN Tlaxcala

Martha Bibbins Martínez

Editor en Jefe

Gonzalo Pérez Araiza

Soporte Técnico

Pedro Ramírez Calva

Diseño y Diagramación Frontera Biotecnológica

Ismael Sánchez González

Desarrollo Web

Cintillo Legal

FRONTERA BIOTECNOLÓGICA, año 4, número 4, mayo - agosto 2016, es una publicación cuatrimestral editada por el Instituto Politécnico Nacional a través del Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada. Ex-Hacienda San Juan Molino Carretera Estatal Tecuexcomac - Tepetitla Km 1.5, Tlaxcala C.P. 90700, México. Tels.: 01-248-48707-65 y 66 Conmutador IPN: 57296000, Ext. 87816. <http://www.revistafronterabiotecnologica.cibatlaxcala.ipn.mx>, Editor responsable: Dra. Martha Dolores Bibbins Martínez. Reserva de Derechos al Uso Exclusivo del Título No. 04-2015-120313501700-203, ISSN: en trámite, ambos otorgados por el Instituto Nacional del Derecho de Autor (INDAUTOR). Responsable de la última actualización de este número, Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada, Dra. Martha Dolores Bibbins Martínez., Ex-Hacienda San Juan Molino Carretera Estatal Tecuexcomac - Tepetitla Km 1.5, Tlaxcala C.P. 90700, fecha de última modificación, 30 de agosto de 2016.

Las opiniones expresadas por los autores no necesariamente reflejan la postura del editor de la publicación.

Queda estrictamente prohibida la reproducción total o parcial de los contenidos e imágenes de la publicación sin previa autorización del Instituto Politécnico Nacional.

CONTENIDO

MENSAJE EDITORIAL 3

BIOSENSORES A BASE DE
NANOPARTÍCULAS DE ORO PARA LA
DETECCIÓN DE MICROORGANISMOS
PATÓGENOS 4

SELF-ASSEMBLED GOLD NANOCCLUSERS
ON AMINE-FUNCTIONALIZED GLASS
SUBSTRATE TOWARDS THE DEVELOPMENT
OF BIOSENSOR BASED ON LIGHT
ABSORPTION 8

ENSILADO DE MAGUEY, UNA
ALTERNATIVA PARA LA ALIMENTACIÓN
ANIMAL EN ZONAS ÁRIDAS Y SEMIÁRIDAS 12

EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD
ANTIOXIDANTE DE ALGUNAS PLANTAS
MEDICINALES COMUNES POR EL MÉTODO
COLORIMÉTRICO DPPH 21



MENSAJE EDITORIAL

Agosto del 2016

Estimados lectores,

En esta edición de FRONTERA BIOTECNOLÓGICA, encontrarán tres interesantes temáticas. La primera aborda el desarrollo de BIOSENSORES, el término biosensor se refiere a los dispositivos que usan reacciones bioquímicas específicas mediadas por enzimas, anticuerpos, organelos, tejidos o células completas para detectar compuestos químicos usualmente por señales eléctricas, térmicas u ópticas. Estos dispositivos han evolucionado de tal forma que la selectividad y la sensibilidad de los mismos, son de gran importancia en diversos campos de la biotecnología. En el artículo titulado “Biosensores a base de nanopartículas de oro para la detección de microorganismos patógenos” los autores nos exponen la relevancia de garantizar la inocuidad de los alimentos que consumimos y hacen una interesante propuesta, para aplicar los biosensores a base de nanopartículas de oro como una alternativa viable de aplicación en el campo del diagnóstico rápido de enfermedades infecciosas.

En el segundo artículo, “Self-assembled gold nanoclusters on amine-functionalized glass substrate towards the development of biosensor based on light absorption” Se presenta la investigación realizada para optimizar una técnica para el auto-ensamblaje de nano-acumulaciones de oro en un sustrato de vidrio funcionalizado con aminas, lo anterior dirigido al desarrollo de un biosensor basado en la absorción de luz en la región ultravioleta-visible (UV-Vis). Para demostrar la funcionalidad de dicho biosensor los autores evaluarán la reacción de reconocimiento anticuerpo-antígeno utilizando HSA (albumina de suero humano), comprobándose la efectividad de dicho biosensor.

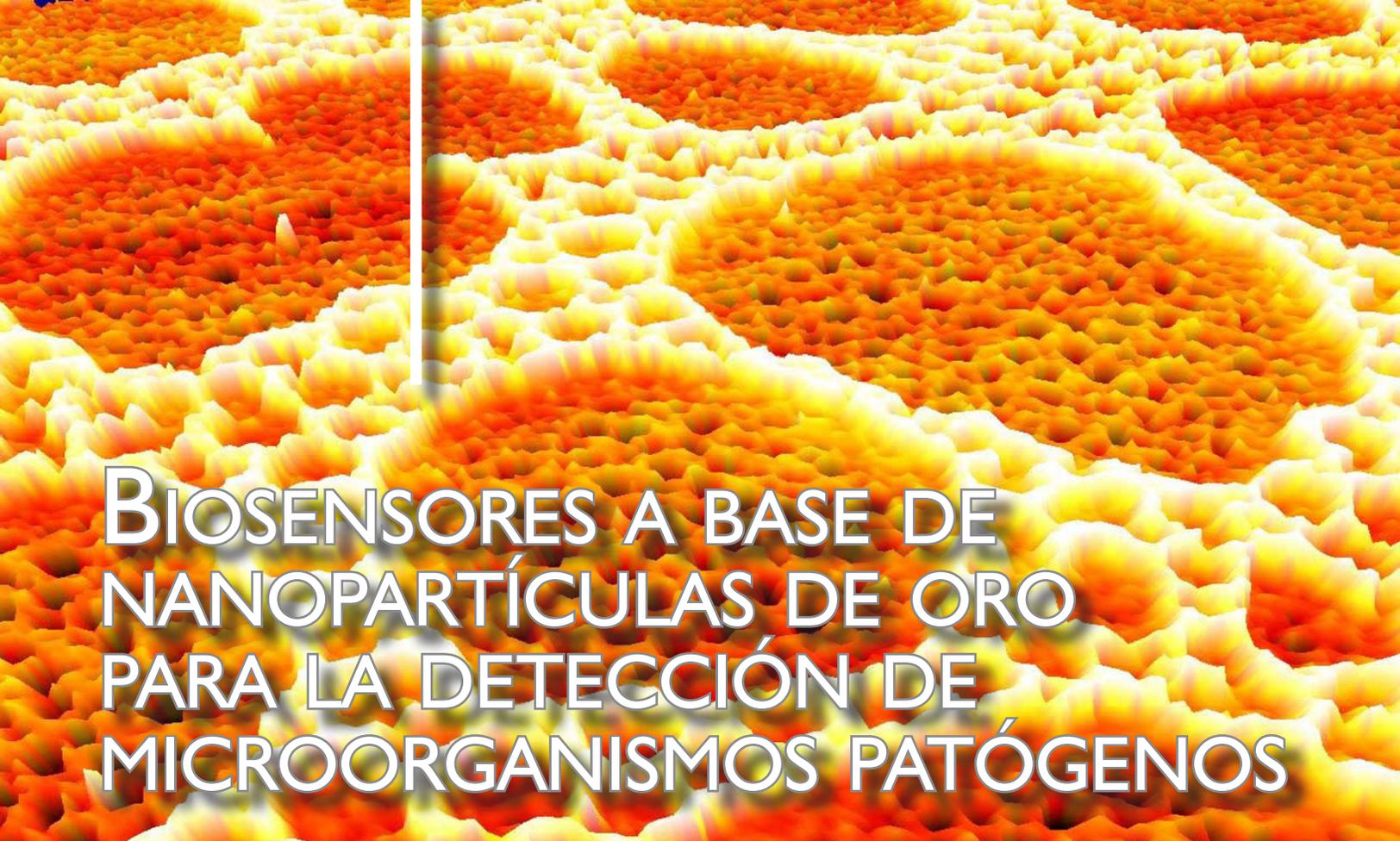
La segunda temática es sobre NUTRICIÓN ANIMAL y se aborda los atributos forrajeros del ensilaje de maguey como una alternativa para la alimentación animal, particularmente en las regiones áridas y semiáridas, en donde la escasez de alimento para los animales es recurrente. En el artículo titulado “Ensilado de maguey, una alternativa para la alimentación animal en zonas áridas y semiáridas” se presenta una revisión de las evidencias científicas sobre la determinación del valor nutritivo del maguey en la alimentación de rumiantes y se concluye que el valor nutritivo del maguey está determinado, por la especie, edad, etapa fenológica, procesamiento previo y la parte de la planta a utilizar.

Por último, la tercera temática es sobre el desarrollo de métodos para la detección de COMPUESTOS BIOACTIVOS. Las plantas sintetizan un gran número de sustancias (fitoquímicos), muchas de las cuales son fisiológicamente activas cuando se consumen y pueden jugar un importante papel como factores de protección frente al estrés oxidativo y a la carcinogénesis. En el artículo titulado “Evaluación de la actividad antioxidante de algunas plantas medicinales comunes por el método colorimétrico DPPH” se presentan los resultados de una investigación en la cual se evaluó la capacidad antioxidante de extractos de diferentes plantas utilizando 1, 1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH). El método colorimétrico utilizado en este trabajo resultó ser altamente práctico y conveniente para determinar las propiedades antioxidantes de las plantas evaluadas, por lo que se propone su aplicación en la evaluación de la capacidad funcional antioxidante de alimentos con propiedades benéficas para la salud humana.

Los invitamos a leer y a compartir con otros investigadores, estudiantes, trabajadores y público en general, esta edición tan interesante de FRONTERA BIOTECNOLÓGICA.

“LA TÉCNICA AL SERVICIO DE LA PATRIA”.

Dra. Martha Bibbins Martínez
Editor en jefe

A high-magnification scanning electron micrograph (SEM) showing a dense field of spherical gold nanoparticles. The particles are uniform in size and arranged in a somewhat ordered pattern, with some larger aggregates visible. The color is a bright, metallic yellow-orange.

BIOSENSORES A BASE DE NANOPARTÍCULAS DE ORO PARA LA DETECCIÓN DE MICROORGANISMOS PATÓGENOS

M.A. Ríos-Corripio, L.S. Arcila-Lozano y M. Rojas-López*
Instituto Politécnico Nacional. CIBA-Tlaxcala. Tepetitla, Tlax. 90700, México.
*e-mail: marlonrl@yahoo.com.mx

Resumen

En la actualidad el uso de biosensores para el diagnóstico de enfermedades infecciosas ha llamado considerablemente la atención debido a la viabilidad que ofrecen por las cualidades de algunos de ellos como son el tiempo de respuesta, la especificidad y sensibilidad, así como su bajo costo. En particular los biosensores elaborados a partir de nanopartículas de oro podrían ofrecer estas ventajas, para la detección de una gran cantidad de analitos. En este trabajo se propone una metodología para la detección rápida de microorganismos patógenos en agua y alimentos utilizando un bioconjugado fluorescente elaborado a partir de nanopartículas de oro. Se probó su eficacia para la detección de las bacterias *Salmonella* spp. y *S. aureus* en muestras de agua y leche contaminada. La metodología propuesta podría representar una alternativa viable de aplicación en el campo del diagnóstico rápido de enfermedades infecciosas.

Palabras clave: Biosensores, nanopartículas, patógenos, *Salmonella*, *S. aureus*

Abstract

Nowadays the use of biosensors for diagnosis of infectious diseases has attracted considerably the attention due their feasibility and also by the qualities of some of them, such as the time of response, specificity, sensibility, as well as the low cost. Particularly biosensors made from gold nanoparticles could offer these advantages, for the detection of a large number of analytes. In this work, it is proposed a methodology for the rapid detection of pathogens in food and water using a fluorescent bioconjugate obtained from gold nanoparticles. The effectiveness of the bioconjugate for the detection of bacteria *Salmonella* spp. and *S. aureus* in contaminated samples of water and milk was proved. The proposed methodology could represent a viable alternative for application in the field of rapid diagnosis of infectious diseases.

Keywords: Biosensors, nanoparticles, pathogens, *Salmonella*, *S. aureus*

Introducción

Actualmente una de las problemáticas que ponen en riesgo la salud del humano es sin duda es la contaminación de agua y alimentos por microorganismos patógenos, los cuales llegan al organismo a través de alimentos preparados, conservados o almacenados en condiciones de higiene cuestionables. La presencia de microorganismos patógenos en el organismo produce síntomas que pueden ser desde leves como los dolores estomacales y diarreas, hasta los severos como la deshidratación, úlceras estomacales, e incluso la muerte. Entre las infecciones por alimentos más comunes se encuentran las que son causadas por *Campylobacter* spp., *Salmonella* spp. y *Escherichia coli* O157:H7. Otro tipo de bacterias tales como, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus*, *Bacillus anthracis*, las enterohemorrágicas *Escherichia coli* O103:H25, O26, O111, O115, O128, O145, así como las recientemente aisladas *Staphylococcus aureus* O104:H4 resistente a antibióticos, además de virus and protozoarios los cuales son transmitidos a través del consumo de alimentos [1].

Uno de los principales desafíos que surgen en esta problemática es sin duda la identificación del tipo de microorganismo patógeno. El método microbiológico estándar para la detección de patógenos en alimentos es el conteo de colonias en placa de agar, procedimiento que requiere varios días para la determinación de la presencia del microorganismo en la muestra. Desafortunadamente, los resultados de estas pruebas comúnmente son difíciles de interpretar y no están disponibles en los tiempos deseados. Por otra parte, los métodos moleculares, los cuales están basados en la reacción en cadena de la polimerasa (siglas en inglés PCR tiempo real) son los que han mostrado tener la mayor sensibilidad para la identificación de microorganismos patógenos. El límite de detección de estos métodos va 10 a 100 unidades formadoras de colonia/ml de muestra [2-4].

Además de los métodos mencionados, hoy en día existe el uso de los biosensores, debido a la viabilidad que ofrecen por las cualidades de algunos de ellos como son el tiempo de respuesta, la especificidad y sensibilidad, así como el costo atractivo. En particular, algunos de estos biosensores están basados en inmunoensayos que utilizan anticuerpos específicos de especies bacteriales y aptameros, que a su vez pueden o no estar marcados con moléculas fluorescentes o

cromóforos [5]. Estos métodos requieren condiciones estándar para una interacción óptima de proteínas y otras moléculas de afinidad específica con: tiras reactivas, laminillas de vidrio, superficies de metálicas, microplacas, membranas y otras superficies adecuadas para separación de complejos antígeno-anticuerpo [6,7].

Recientemente, la inclusión de la nanotecnología en el campo de los biosensores acrecenta la posibilidad de mejorar las necesidades analíticas de los diagnósticos médicos. Se ha reportado el uso de nanopartículas para el desarrollo de biosensores con sensibilidad comparable a la de los métodos moleculares [8], pero además reduciendo los tiempos de respuesta y muy posiblemente los costos de producción y operación. En particular, el uso de nanopartículas de oro como base para el desarrollo de biosensores de microorganismos patógenos ha mostrado ser una estrategia promisoría en el campo del diagnóstico médico de enfermedades infecciosas [9]. En este trabajo se reporta el uso de nanopartículas de oro como base para la elaboración de un biosensor para el reconocimiento selectivo de bacterias patógenas, y de manera particular se demuestra la efectividad y viabilidad en la detección de *Salmonella* spp. y *S. aureus*.

Resultados

Se utilizaron nanopartículas de oro sintetizadas químicamente por el método de citrato-reducción [10], obteniéndose en forma de coloide, en el cual cada una de estas nanopartículas se encuentra suspendida en agua. Estas nanopartículas de oro son esféricas y tienen un tamaño aproximado de 10 nanómetros (nm) de diámetro (1×10^{-9} m), como se observa en la imagen de la Figura 1(a), obtenida mediante microscopía electrónica de transmisión.

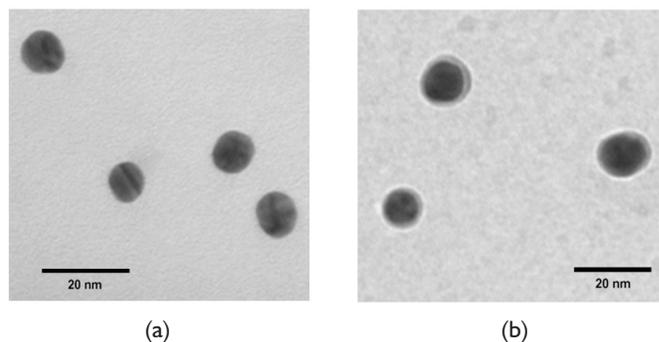


Figura 1. Imágenes obtenidas por microscopía electrónica de transmisión de: (a) nanopartículas de oro, y (b) nanopartículas de oro recubiertas con una capa de proteína A (conjugado).

Una vez que las nanopartículas de oro han sido sintetizadas, se procedió a conjugar una capa de proteína sobre la superficie de cada nanopartícula, como se observa en la Fig. 1(b). Esto se hace agregando proteína a la suspensión coloidal para que cada nanopartícula se recubra y a su vez quede estabilizada eléctricamente para seguirse manteniendo en estado coloidal por un tiempo prolongado. De lo contrario, nanopartículas no conjugadas se vuelven inestables con el tiempo, formando agregados de tamaños micrométricos que posteriormente se precipitan. Posteriormente a la conjugación de la nanopartícula de oro con proteína, se realiza una biofuncionalización utilizando un anticuerpo policlonal marcado con una molécula fluorescente o cromóforo, para obtener finalmente partículas bioconjugadas. Son este tipo de nanopartículas las que poseen la capacidad del bioconocimiento selectivo de diferentes tipos de analitos. La Fig. 2 muestra un diagrama esquemático del proceso de conjugación y biofuncionalización para la obtención de un bioconjugado fluorescente.



Figura 2. Diagrama esquemático del proceso de obtención de un bioconjugado fluorescente utilizando nanopartículas de oro.

Una vez obtenida la suspensión coloidal constituida por este tipo de nanopartículas esféricas biosensoras (bioconjugado), es posible probarla usando el analito para el cual fue diseñado. En este trabajo se muestra la elaboración de nanopartículas bioconjugadas fluorescentes para la detección de dos de las bacterias patógenas cuya presencia puede ser común en alimentos contaminados, como son *Salmonella* spp. y *S. aureus*. La Figura 3 muestra una micrografía de fluorescencia confocal tomada en tres campos diferentes (a) campo claro, (b) mezcla de campos claro+oscuro, y (c) campo oscuro. Para la obtención de esta imagen se analizó una muestra de agua contaminada intencionalmente con una mezcla de las bacterias *Salmonella* spp. (1E3 UFC/ml) y *S. aureus* (1E5 UFC/ml). Para esto se mezcló (1:1) un volumen pequeño (50 μ l) de la solución contaminada con bacterias y otro con la suspensión coloidal de nanopartículas bioconjugadas fluorescentes (biosensor). La mezcla se colocó en laminilla de vidrio y se analizó el campo visual, así como la emisión fluorescente verde (fluoresceína FITC) proveniente de las nanopartículas bioconjugadas adheridas a la superficie de los bacilos de *Salmonella* spp. selectivamente identificados por este tipo de nanopartículas [11]. En este caso las nanopartículas bioconjugadas solamente reconocen y se adhieren a la pared celular de la bacteria *Salmonella* spp.

a pesar de estar presente la bacteria *S. aureus*, la cual no muestra fluorescencia en campo oscuro.

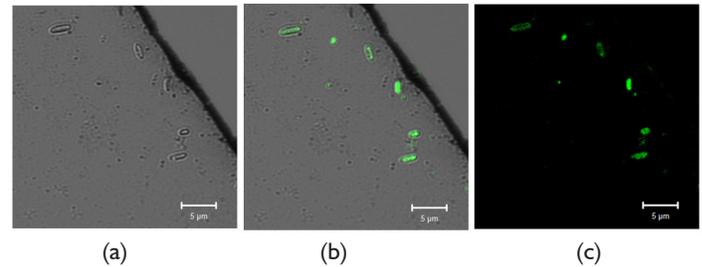


Figura 3. Micrografías de fluorescencia confocal de una muestra de agua contaminada con *Salmonella* spp (1E3 UFC/ml) y *S. aureus* (1E5 UFC/ml). Se observa la presencia de ambas bacterias en (a) campo claro y (b) mezcla de campos claro+oscuro; en campo oscuro (c) se observa la fluorescencia verde de las nanopartículas bioconjugadas identificando selectivamente a los bacilos de *Salmonella* spp.

De manera similar al caso anterior, la Figura 4 muestra una micrografía de fluorescencia confocal de una muestra de leche contaminada intencionalmente con las bacterias *S. aureus* (1E5 UFC/ml) y *E. coli* (1E5 UFC/ml). Esta muestra de leche contaminada fue mezclada con la suspensión coloidal biosensora, colocándose posteriormente en laminilla de vidrio para su análisis en los tres campos diferentes (a) campo claro y (b) mezcla de campos claro+oscuro; en campo oscuro (c) se observa la fluorescencia roja (rodamina TRITC) proveniente de las nanopartículas bioconjugadas adheridas a la superficie de los cocos de *S. aureus* selectivamente identificados por estas [12]. A diferencia del caso anterior, las nanopartículas bioconjugadas solamente reconocen y se adhieren a la pared celular de la bacteria *S. aureus* a pesar de estar presente la bacteria *E. coli*, la cual no muestra fluorescencia en campo oscuro.

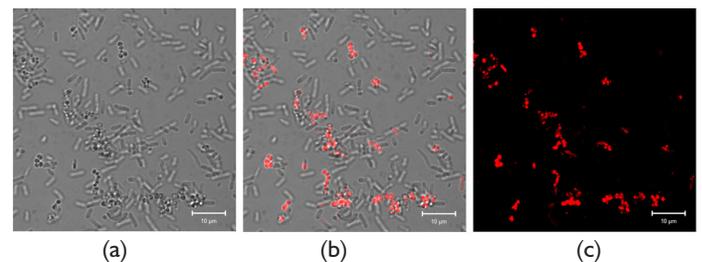


Figura 4. Micrografías de fluorescencia confocal de una muestra de leche contaminada intencionalmente con *S. aureus* (1E5 UFC/ml) y *E. coli* (1E5 UFC/ml). Se observa la presencia de ambas bacterias en (a) campo claro y (b) mezcla de campos claro+oscuro; en campo oscuro (c) se observa la fluorescencia roja de las nanopartículas bioconjugadas identificando selectivamente a los cocos de *S. aureus*.

Conclusiones

La suspensión coloidal biosensora constituida por nanopartículas bioconjugadas fluorescentes obtenida en esta investigación puede ser utilizada para determinar la presencia de microorganismos patógenos presentes en agua y alimentos contaminados. Para este caso se probó la detección selectiva de las bacterias *Salmonella* spp. y *S. aureus*, en presencia de la bacteria *E. coli*. De esta forma, la metodología propuesta podría representar una alternativa viable de aplicación en el campo del diagnóstico rápido de enfermedades infecciosas.

Agradecimientos

Este trabajo de investigación fue realizado con el apoyo del Instituto Politécnico Nacional (COFAA-IPN, CNMN-IPN)

Referencias

1. Scallan, E., Hoekstra, R.M., Angulo, F.J., Tauxe, R.V., Widdowson, M.A., Roy, S.L., Jones, J.L. and Griffin, P.M. 2011. Foodborne illness acquired in the United States Major pathogens. *Emerg. Infect. Dis.*, 7, 7–15.
2. Poltronieri, P., de Blasi, M.D., D'Urso, O.F. 2009. Detection of *Listeria monocytogenes* through RealTime PCR and biosensor methods. *Plant Soil Environ.*, 9, 363–369.
3. D'Urso, O.F., Poltronieri, P., Marsigliante, S., Storelli, C., Hernandez, M., Rodriguez Lazaro, D. A 2009. Filtration-based real-time PCR method for the quantitative detection of viable *Salmonella enterica* and *Listeria monocytogenes* in food samples. *Food Microbiol.*, 26, 311–316.
4. Kuang, H., Cui, G., Chen, X., Yin, H., Yong, Q., Xu, L., Peng, C., Wang, L., Xu, C. 2013. A one-step homogeneous sandwich immunosensor for *Salmonella* detection based on magnetic nanoparticles (MNPs) and quantum dots (QDs). *Int. J. Mol. Sci.*, 14, 8603–8610. *Foods* 2014, 3 523.
5. Granqvist, N., Hanning, A., Eng, L., Tuppurainen, J., Viitala, 2013. T. Label-enhanced Surface Plasmon Resonance: A new concept for improved performance in optical biosensor analysis. *Sensors*, 13, 15348–15363.
6. Amaya-González, S., de-los-Santos-Alvarez, N., Miranda-Ordieres, A.J.,

Lobo-Castañón, M.J. 2013. Aptamer-based analysis: A promising alternative for food safety control. *Sensors*, 13, 16292–16311.

7. Paniel, N., Baudart, J., Hayat, A., Barthelmebs, L. 2013. Aptasensor and genosensor methods for detection of microbes in real world samples. *Methods*, 64, 229–240.

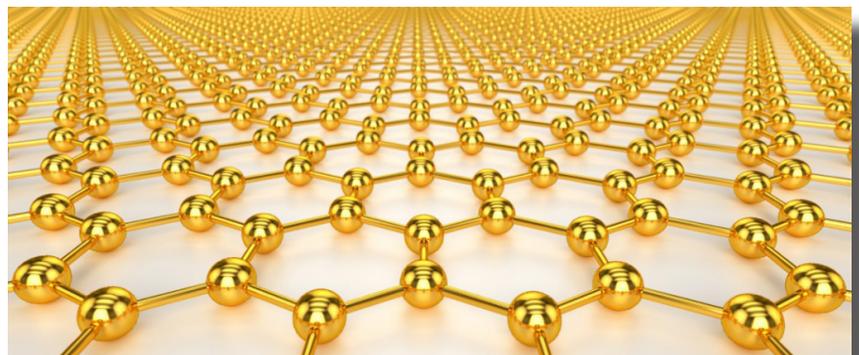
8. Litos, I. K., P. C. Ioannou, T. K. Christopoulos, J. Synodinos, and E. Kanavakis. 2009. Multianalyte, dipstick-type, nanoparticle-based DNA biosensor for visual genotyping of single-nucleotide polymorphisms. *Biosensors and Bioelectronics* 24 (10):3135–39.

9. Wang, Y., Ravindranath, S., and Irudayaraj, J. 2010. Separation and detection of multiple pathogens in a food matrix by magnetic SERS nanoprobe. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 399:1271–78. doi:10.1007/s00216-010-4453-6.

10. Hermanson, G. 2008. Bioconjugate techniques. Rockford, IL, USA: Academic Press.

11. Ríos-Corripio, M.A., Arcila-Lozano, L.S., García-Pérez, B.E., Jaramillo-Flores, M.E., Hernández-Pérez, A.D., Carlos-Martínez, A., Rosales-Pérez, M. and Rojas-López, M. 2016. Fluorescent gold nanoparticle-based bioconjugate for the detection of *Salmonella*. *Analytical Letters* 49, 1-12. ISSN: 0003-2719 (Print), 1532-236X (Online).

12. Arcila Lozano, L.S., Ríos-Corripio, M.A., García-Pérez B.E., Jaramillo-Flores, M.E., González, C.A., Rocha-Gracia, R.C., Gracia-Jiménez, J.M. and Rojas-López, M. 2016. Fluorescent bioconjugate based on gold nanoparticles for the determination of *Staphylococcus aureus*. *Analytical Letters*. ISSN: 0003-2719 (Print), 1532-236X (Online). Article accepted.





SELF-ASSEMBLED GOLD NANOCCLUSERS ON AMINE-FUNCTIONALIZED GLASS SUBSTRATE TOWARDS THE DEVELOPMENT OF BIOSENSOR BASED ON LIGHT ABSORPTION

Noelia Ortega Hernández¹, Ángel Netzahual Lopantzi², Dalia Castillo Hernández², Joel Díaz Reyes¹, Abdu Orduña Díaz¹, José Francisco Sánchez-Ramírez^{1,2}

¹Instituto Politécnico Nacional-CIBA Tlaxcala. jfsanchez@ipn.com.mx

²Instituto Politécnico Nacional-UPIITA

Abstract

A technique for self-assembly of gold nanoclusters on amine-functionalized glass substrate is presented. The amount of self-assembled nanoclusters can be controlled by varying the time of immersion in the colloidal solution. The electrostatic interaction between the ionized amine group and the citrate anions is utilized for the self-assembly of gold nanoclusters on the amine glass substrate. The self-assembly process is studied by microscopy and spectroscopy techniques. The use of self-assembled gold nanoclusters as biosensor based on light absorption is demonstrated.

Key words: Gold Nanoclusters, Self-Assembled, Biosensor, Optical Absorption.

1. Introduction

Metallic nanoclusters research became a thrust area of interest among the scientific community due to the potential applications of this “neglected dimension” of matter in almost all the fields of science and technology [1, 2]. While the synthesis of these nanoclusters is a key approach important aspect of the research, the self-assembly (SA) of nanoclusters (NC) is important for various purposes such

as environmental [3], biomedical [4] or (electro) chemical analytical applications [5]. The self-assembly of metallic nanoclusters is a process by which metallic particles spontaneously organize due to direct specific interactions or indirectly (for example, electrostatic or ion-dipole), through their environment [6].

In particular, self-assembly of gold nanoclusters on substrate [7] is crucial to the development of biosensors based on the light absorption that can be easily measured using absorption spectroscopy. It is well known that not only is the absorbance originating from localized surface plasmon resonance (LSPR) of the gold nanoclusters influenced by the dielectric properties of molecules attached to the nanoclusters but also the interband absorption of the nanoclusters changes [8]. Therefore, the adsorption of chemical or biological molecules on the surface will change the intensities and frequency of absorption bands that can be monitored by measuring the absorption spectra of the metallic nanoclusters.

In this paper it is reported the self-assembly of gold nanoclusters on amine-functionalized glass substrate evaluating their application in the development of biosensors based on light absorption in the ultraviolet-visible (UV-Vis) spectral region (Figure 1).

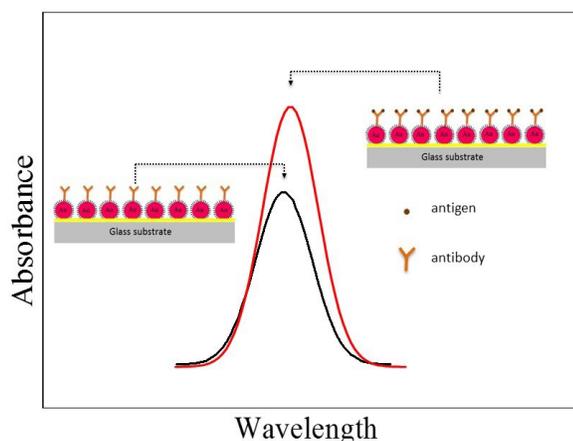


Figure 1. Schematic illustration of a biosensor based on self-assembly of gold nanoclusters on amine-functionalized glass substrate, and resulting absorbance spectra increase upon binding of analytes to the metallic nanoclusters.

2. Experimental Section

The synthesis of gold nanoclusters and self-assembly were studied using of UV-Vis absorption spectroscopy, IR and AFM techniques. Aminopropyltrimethoxysilane (APTES) was used to obtain amine-functionalized glass substrate (AFGS). The gold nanoclusters density self-assembled on AFGS was controlled by varying the immersion time. The biosensor activity was evaluated to detect the antibody (anti-human serum albumin, Anti-HSA) – antigen (human serum albumin, HAS) recognition reaction and monitored via change of light absorption when this binding event occurs.

Materials chemical

Hydrogen tetrachloroaurate ($\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$) and trisodium citrate dihydrate ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), Aminopropyltrimethoxysilane were purchased from Sigma-Aldrich, USA. Acetone, absolute ethanol, sulfuric acid (H_2SO_4 , 64 %) and hydrogen peroxide (H_2O_2) were purchased from Merck, Germany. Deionized (DI) water ($18.2 \text{ M}\Omega \cdot \text{cm}$) was used for preparation of solutions, synthesis and cleaning glass substrate. All the chemicals were used without further purification.

Preparation of colloidal gold nanoclusters

The colloidal gold nanoclusters were synthesized by the chemical reduction of corresponding metal ions [9].

In brief, an aqueous solution of $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (0.033 mmol in 25 mL water) was refluxed for 30 min in a 100 mL tree-necked round-bottom flask. A condenser was utilized to prevent the evaporation of the solvent. Next, aqueous $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (0.033 mmol in 1 mL) was injected into the solution and then refluxed for 60 min to produce the stable red-aqueous solution of gold nanocluster. The obtained colloidal solution showed a $\text{pH}=6.3$ and the resulting gold nanoclusters are coated with negatively charged citrate ions [10].

Substrate amine-functionalized glass substrate

The glass substrates ($2.5 \times 7.5 \text{ cm}$) were immersed in chromic acid boiled for 4 h. Then they were then left to cool at room temperature in the acidic solution overnight. They were thoroughly rinsed with distilled water and left to dry for 1 hr at 100°C . The substrates were then immersed in 1 % (v/v) solution of APTES for 24 h at room temperature. After soaking in APTES solutions, the substrates were rinsed with a copious amount of ethanol and DI water to remove any physisorbed molecules. The rinsed substrates were then treated ultrasonically in ethanol and left to dry for 1 h at 100°C for finally obtain amine-functionalized glass substrates.

Self-Assembly of colloidal gold nanoclusters

As-prepared glass substrates were immersed in the colloidal dispersion of gold nanoclusters for a time in the range 5 to 25 hrs at room temperature, formation of a layer of gold nanoclusters on glass substrates was finally obtained. The glass substrates were then removed and rinsed with DI water and left to dry for 10 min in an oven at 80°C .

3. Results and Discussion

A typical micrograph of the gold nanoclusters colloidal and its optical absorption spectrum are show in Figure 2. The size distribution of the metallic colloids is presented as the inset in Figure 2a. The absorption spectrum of the colloidal dispersion of metallic particles revealed a band with a peak near 525.1 nm (Figure 2b), which is attributed to the LSPR [11] band of monodispersed gold nanoclusters with size of 15.2 nm (Figure 2a).

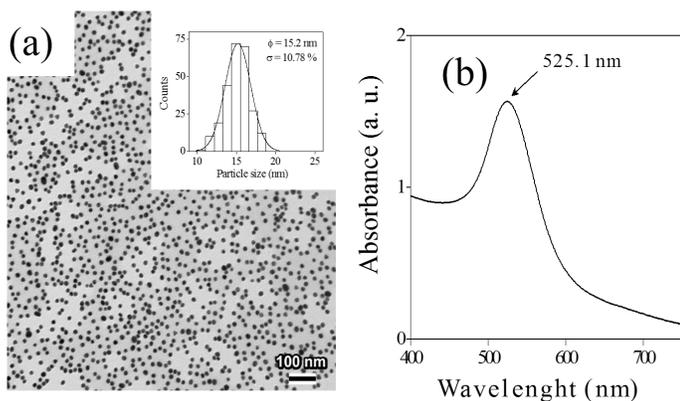


Figure 2. (a) A typical TEM micrograph of gold nanoclusters with size distribution, and (b) optical absorption spectrum of colloidal gold nanoclusters.

Figure 3, show the UV-Vis absorption spectra of the AFGS after immersion in the colloidal dispersion. Absorption spectral changes as a function of time of metallic colloidal were not observed, which indicated that the colloidal dispersion is stable over self-assembly time. However, after 25 hrs of immersion of the AFGS, the self-assembled on the glass substrates display a broadening of the band absorption and a shift about 65 nm towards the high wavelengths of the LSPR. The changes, with respect to the absorption spectra of the colloidal gold, it is result of the electromagnetic interaction between the gold nanoclusters on AFGS [8]. The presence of a single peak LSPR in the figure, suggest that gold nanoparticles tend to self-assembled on surface directly without forming aggregates, see Figure 4a. As the time immersion is incremented (25 hrs) and due to strong ionization of the amine (-NH₂) groups, it is more coverage of gold nanocluster on AFGS. A red-ruby color is observed in the nanoclusters – coated substrates (Figure 4b).

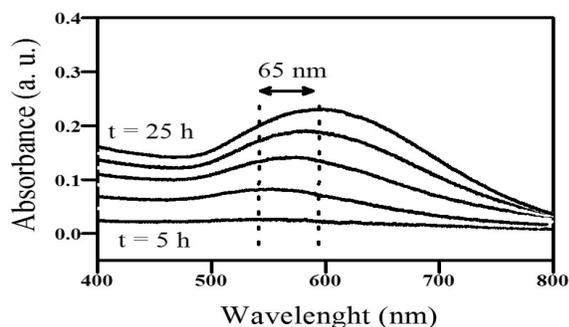


Figure 3. Optical absorption spectra of amine-functionalized glass substrate after 25 hrs of immersion in colloidal solution.

The process of self-assembly of the gold nanoclusters is characterized using the IR absorption spectra of the gold nanoclusters self-assembled on AFGS. In Figure 5, the IR absorption spectra of AFGS and after of

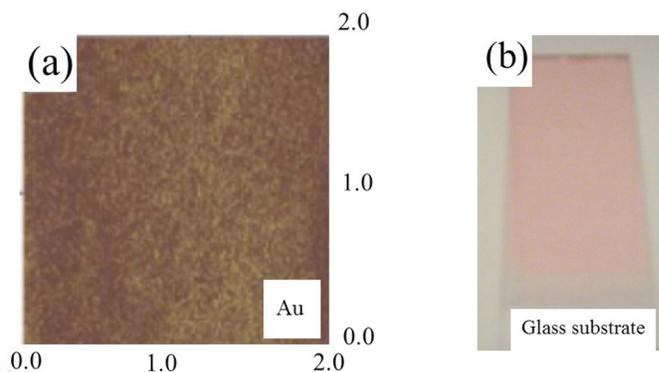


Figure 4. (a) AFM images of amine-functionalized glass substrates after self-assembly of gold nanoclusters for 25 hrs of immersion and (b) color of the amine-functionalized glass substrate after of immersed for 25 hrs in colloidal gold nanoclusters.

immersed for 25 hrs in the colloidal gold nanoclusters are shown. In the 3500-3200 cm⁻¹ spectral range, showed an absorption band at about 3332 cm⁻¹ for the AFGS, which corresponds to the antisymmetric vibration frequency on the -NH₂ as observed by other researchers [12]. This band disappears after immersion process for 25 hrs. The disappearance of the band indicates that all the -NH₂ groups on the AFGS are completely ionized to interact electrostatically with the citrate anions that exist on the gold nanoclusters.

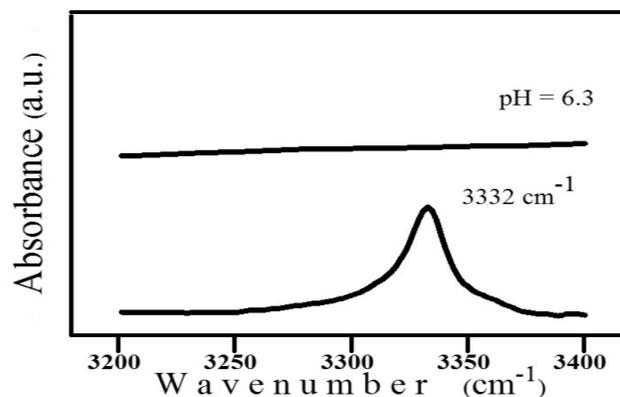


Figure 5. FTIR spectra of amine-functionalized glass substrate and after of immersed for 25 hrs in the colloidal gold nanoclusters.

The process of self-assembly of the gold nanoclusters on the amine-functionalized glass substrate is shown in Figure 6. As pH=6.3 all the -NH₂ groups are expected to be fully ionized and that the gold nanoclusters are coated with negatively charged citrate ions, then it is expected that there is a strong electrostatic interaction between the -NH₃⁺ groups and citrate anions. So, the self-assembly of gold nanoclusters on the amine surface is performed, causing the formation of films of gold nanocluster on the AFGS.

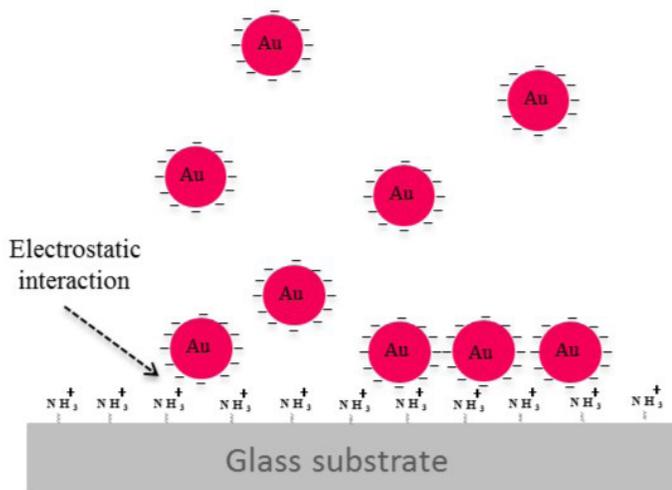


Figure 6. Schematic illustration of proposed self-assembly mechanism of gold nanoclusters on amine-functionalized glass substrate.

To demonstrate the biosensing ability of the self-assembled gold nanoclusters glass substrate, anti-HAS was directly adsorbed onto self-assembled gold nanoclusters on glass substrate. The experimental conditions of the antibody-antigen recognition reaction were performed according to the procedure described in the Ref. [13]. The antibody-antigen recognition reaction is corroborated as a change in the interband absorption at λ 280 nm (an increase in absorbance of 86 %) and as a shift to higher wavelength (from 580.1 to 584.0 nm) in the LSPR frequency. An increase is also noted of 5 % in the LSPR absorption to λ 584. Details of these results will be published in future reports.

5. Conclusions

By using electrostatic interaction between the ionized amine group of amine-functionalized glass substrate and the citrate anions, we could self-assemble gold nanoclusters on amine-functionalized glass substrate. By adjusting the immersion time, the amount of self-assembled in the amine-functionalized glass substrate could be controlled. The self-assembled gold nanoclusters were biofunctionalized and utilized as biosensor based on light absorption.

References

[1] P. H. Abelson, *Science* 271, 11 (1996).

[2] J. I. Bauman, *Science* 271, 889 (1996).

[3] A. P. F. Turner, *Science* 290, 1315-1317, (2000).

[4] L. Dykman, N. Khlebtsov, *Chem. Soc. Rev.* 41, 2256-2282, (2011).

[5] A. Chen, S. Chatterjee, *Chem. Soc. Rev.* 42, 5425-5438, (2012).

[6] J. C. Huie, *Smart Mater. Struct.* 12, 264-271, (2003).

[7] B. A. Grzybowski, C. E. Wilmer, J. Kim, K. P. Browne, K. J. M. Bishop, *Soft Matter*. 5, 1110-1128. (2009).

[8] F. Frederix, J. M. Friedt, K-H. Choi, W. Laureyn, A. Campitelli, D. Mondelaers, G. Maes, G. Borghs, *Anal. Chem.* 75, 6894-6900. (2003).

[9] J. Turkevitch, P. C. Stevenson, J. Hillier, *Discuss. Faraday Soc.* 11, 55-75. (1951).

[10] N. G. Bastús, J. Comenge, V. Puntès, *Langmuir*, 27, 11098-11105, (2011).

[11] P. K. Jain, K. S. Lee, I. H. El-Sayed, M. A. El-Sayed, *J. Phys. Chem. B*, 110, 7238-7248, (2006).

[12] P. Ganguly, D. V. Paranjape, M. Sastry, *J. Am. Chem. Soc.* 115, 793-794 (1993).

[13] F. Frederix, K. Bonroy, W. Laureyn, G. Reekmans, A. Campitelli, W. Dehaen, G. Maes, *Langmuir*. 9, 4351-4357, (2003).



ENSILADO DE MAGUEY, UNA ALTERNATIVA PARA LA ALIMENTACIÓN ANIMAL EN ZONAS ÁRIDAS Y SEMIÁRIDAS.

*Rigoberto Castro Rivera¹, Gisela Aguilar Benítez², María Myrna Solís Oba¹.

¹Instituto Politécnico Nacional, CIBA Tlaxcala. ²Instituto de Investigación de Zonas Desérticas, Universidad Autónoma de San Luís Potosí.

*Autor y correo de correspondencia: rcastror@ipn.mx

Resumen

El maguey ha tenido muchos usos desde tiempos prehispánicos, y México es el centro de origen de estos vegetales y desde que se ha desarrollado la ganadería esté ha sido utilizado como alimento emergente en épocas de estiaje. Ensilar el maguey, permite reducir los contenidos de saponinas, conservarlo en el tiempo e incrementa la apetencia en los animales. El presente trabajo tiene como objetivo, presentar el resumen de la información publicada en artículos científicos sobre el valor nutritivo del maguey en la alimentación de rumiantes. Los valores de proteína, materia seca, fibra detergente neutro y saponinas, son los parámetros que se analizaron con la finalidad de conocer cuál es el comportamiento de esta especie con respecto a estos valores. La conclusión es que aún no se tiene bien definido los valores absolutos de los parámetros nutrimentales porque estos son afectados por múltiples variables y se debe continuar con los estudios en magueyes.

Palabras clave: Maguey, Ensilado, Alimento de ganado

Abstract

The maguey has had many uses since prehistoric times, Mexico is considered the center of origin of these species and since livestock is produced has been used as an emerging food in times of drought. The Maguey silage reduces content of saponins, keep in time and increases appetite in livestock. The aim of this paper is to present a summary of the information published in scientific journals about the nutritional value of maguey as ruminant feed. The values of protein, dry yield, neutral detergent fiber and saponins are the parameters that were analyzed in order to know what is the behavior of maguey on these values. The conclusion is that it does not have clearly defined the absolute values of the nutritional parameters because these are affected by multiple variables and should continue with studies in maguey.

Key words: "Maguey", silage, and livestock food.

Introducción

Las zonas áridas y semiáridas ocupan más del 40% de la superficie terrestre de México, donde las condiciones ambientales no permiten el desarrollo de sistemas de producción pecuarios de alto potencial (1, 2). La productividad de los sistemas animal se ve afectada fuertemente por las condiciones climáticas presentes en las zonas, la errática precipitación, variaciones extremas de la temperatura y la baja fertilidad de los suelos son ejemplos que podemos citar, los cuales son determinantes para la producción de forraje y por ende en la alimentación del ganado que se produce en estas regiones (1, 3).

En las zonas áridas y semiáridas predomina el sistema de producción de bovinos para carne en agostaderos, enfocado a la producción y venta de becerros al destete para exportación, en pie o para la finalización en corrales de engorda o en praderas (4); también definido como sistema de producción vaca-becerro (5).

Este tipo de ganadería consta de un hato base formado por vacas de diferentes edades, las cuales producen becerros que son vendidos al destete, aproximadamente a los 6 a 7 meses de edad (6).

El principal inconveniente de este sistema, es la dependencia de la precipitación, la cual determina la producción del forraje espontáneo, el cual constituye prácticamente la totalidad del alimento que se le proporciona al ganado. Esto es crítico, ya que las condiciones climatológicas no tienen un patrón de distribución establecido anualmente, y además se pueden presentar sequías que llegan a colapsar el sistema por completo (6).

Los sistemas de producción pecuarios se desarrollan principalmente en agostaderos degradados, por ello, lo mejor es manejar la cobertura vegetal espontánea y aprovecharla mediante el pastoreo racional del ganado (7). La vegetación que se desarrolla en los agostaderos de estas zonas incluye matorrales y zacatales que albergan una alta proporción de especies endémicas,

las cuales han sido la base de la alimentación del ganado, que a la vez provocan la sucesión de especies, que también desarrollan matorrales con una rica diversidad, pero que a su vez no permiten el desarrollo de sistemas de producción pecuarios de alto potencial productivo (1, 2, 3). Sin embargo, los recursos forrajeros de estas zonas no satisfacen los requerimientos fisiológicos y nutrimentales de los animales, sino al contrario, la baja disponibilidad y el bajo valor nutritivo provoca escasez de alimento, lo que trae como consecuencia el debilitamiento y muerte de ganado por inanición y falta de nutrientes para la sobrevivencia (8, 9, 10, 11).



La producción de especies vegetales (forrajes) destinados a la alimentación animal no es una actividad arraigada en las zonas áridas y semiáridas, los sistemas de producción y explotación animal son del tipo extensiva, lo que ha provocado pérdida y alteraciones en los patrones de distribución de la vegetación, logrando con ello la desaparición de especies deseables (gramíneas) y la proliferación de especies

indeseables para la alimentación animal (11, 12, 13).

La vegetación de estos sitios varía en cantidad y calidad según la época del año y más aún entre años; derivado de esto, los animales se enfrentan a deficiencias nutricionales, sobre todo en el periodo seco del año y durante las sequías; como consecuencia de ello, el común denominador son los bajos indicadores de producción de los hatos (6).

En la zonas áridas y semiáridas existen especies vegetales que se adaptan a este tipo de condiciones y que pueden ser utilizadas para alimentar el ganado. Los magueyes son un ejemplo de estas plantas adaptadas, pero el problema es que tienen muy bajo valor nutritivo y compuestos anti nutricionales como las saponinas que limitan su consumo (2).

Los magueyes son un alimento disponible en la mayor parte del año, para los seres humanos, fauna silvestre y animales de interés zootécnico, pero su consumo varía dependiendo de la especie, madurez, parte de la planta, cantidad de compuestos anti nutricionales (saponinas), procesamiento previo (ensilado o fresco), de los hábitos de alimentación de los animales y la época del año, siendo en los meses de mayor temperatura y escasez de forraje, cuando el consumo se incrementa (14, 15, 16). Es por ello que el presente documento tiene como objetivo exponer la información generada sobre el uso y valor nutritivo del maguey y del proceso de ensilado del mismo, en la alimentación del ganado.

Usos del Maguey

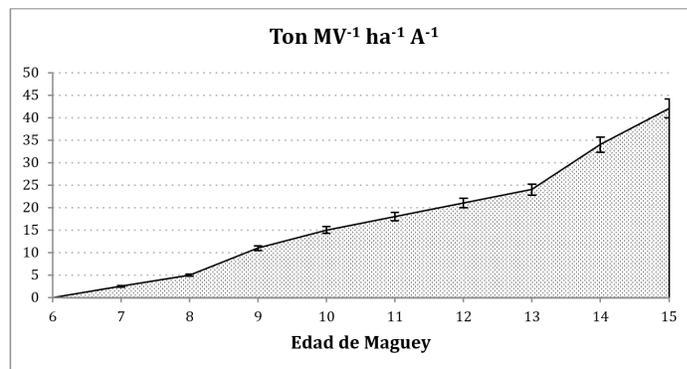
Los magueyes han sido utilizados principalmente para la producción de aguardientes (mezcal, bacanora, tequila, sotol, etc.); así mismo, están ligados con la conservación de suelos, la producción de insectos comestibles (escámole, gusano rojo y blanco), elaboración de alimentos para el consumo humano (como jarabes, fructanos, mixiotes, barbacoa, golosinas (base de las hojas y quiote), industria textil, en la alimentación animal (forraje), en la medicina tradicional e industria farmacéutica, y en la elaboración de bio-energéticos (17, 18, 19, 20, 21, 22, 23).

Desafortunadamente las poblaciones de maguey en México han sido afectadas por la destrucción de su hábitat como resultado de las actividades humanas, como la urbanización, agricultura, pastoreo de ganado, construcción de caminos y presas, producción de productos secundarios como la colección de plántulas y ejemplares adultos para la decoración de espacios (20, 24, 25).

Maguey como forraje

El suministrar maguey como alimento o forraje para los animales, no es una actividad reciente, desde que existe la ganadería en el país, en lugares donde se cultiva y existe de manera natural esta especie vegetal, se ha proporcionado como alimento emergente en la época de estiaje, incluso los mismos animales ramonean a los magueyes cuando están en la etapa de formación del meristemo de floración, el cual es conocido por los productores como capado de vaca (17, 26). Así mismo, es común encontrar literatura que recomienda o menciona al maguey como alimento para el ganado (23, 25, 26, 27, 28, 29). Sin embargo, no se presentan los parámetros nutricionales del mismo. En un folleto

técnico publicado por El INIFAP San Luís Potosí (30) se menciona que el aprovechamiento del maguey debe ser después de 5 años de haberse establecido el cultivo (Figura 1), en la época seca, y se deben cortar de 4 a 6 pencas inferiores por planta, sin llegar a dañar la piña del maguey (tallo).



Fuente: INIFAP San Luís Potosí, 2015.

Figura 1. Rendimiento de materia verde de maguey a diferentes edades de crecimiento.

Otros autores (31) mencionan que el maguey (*Agave spp*) tiene mayor valor nutritivo que el rastrojo de maíz, la paja de avena y el nopal; asimismo, el maguey cubre los requerimientos diarios de minerales (Ca, P, Mg, Bo, Fe, Zn, Cu y Se) de una vaca en producción de leche. Por otra parte (32), se han evaluado diferentes proporciones de inflorescencia (100, 75, 50 y 25%) de maguey cenizo (*Agave scabra*), en sustitución de alfalfa que representaba el 30% de total en la dieta de cabras, basada en granos de maíz y harina de soya, y encontraron que los parámetros nutricionales del maguey fueron: Digestibilidad de la materia orgánica, 439 g kg⁻¹, proteína cruda, 115 g kg⁻¹, y energía metabolizable, 6.29 MJ kg⁻¹ MS, y concluyeron que la conversión alimenticia no se afecta ($P > 0.05$) por la sustitución de la inflorescencia de maguey, teniendo el potencial de reemplazar parcialmente a la alfalfa en dietas para cabras en confinamiento.

La industria tequilera y mezcalera, son los procesos que más maguey usa en la elaboración de las bebidas, aprovechando solo el tallo y la parte basal de las hojas de la planta (Piña), dejando en campo el resto (Pencas), y posterior al prensado del maguey cocido se desecha el bagazo; el cual, por lo general es un subproducto que no se utiliza, sin embargo, ambos subproductos pueden ser destinados a la alimentación animal.

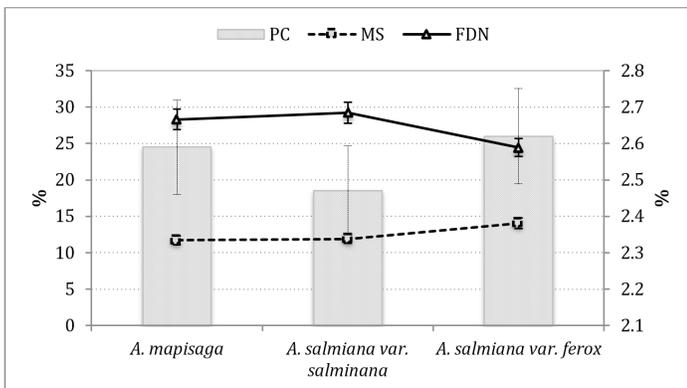
En otro estudio reportaron (33) que el bagazo de maguey (subproducto de la destilación), tiene un valor nutritivo similar al de la paja de trigo, por lo que puede ser incluido en la dieta de los rumiantes, y recomienda que para incrementar la digestibilidad (36 – 54%) debe adicionarse al bagazo fresco, hidróxido de calcio (CaOH), mejorando con ello el aporte de calcio en la ración.

Factores que influyen en el valor nutritivo del Maguey

A pesar de que el INIFAP y otros autores recomiendan el uso de maguey como forraje, existe poca información sobre curvas de crecimiento y su relación con el valor nutritivo, es por ello que a continuación se discuten algunos factores que influyen en los parámetros nutricionales y que son importantes para la elaboración de dietas, donde el componente principal sea el maguey como reemplazo de la fibra.

Especie

Se ha mencionado que el maguey es susceptible de aprovechamiento, ya que existen más de 300 especies del género *Agave* (17), sin embargo, no hay información suficiente de artículos publicados en revistas científicas, de ahí la importancia de continuar estudiando que contienen las diferentes especies de *Agave*. Al respecto (34) han reportado, que los valores nutricionales de *Agave salmiana* var. *salmiana*, *Agave salmiana* Var. *ferox* y *Agave mapisaga* (Figura 2) a edades de 8 años, presentan valores similares ($P > 0.05$) en el contenido de proteína cruda (PC) (2.56% en promedio), y difieren en el rendimiento de la materia seca ($P < 0.05$).

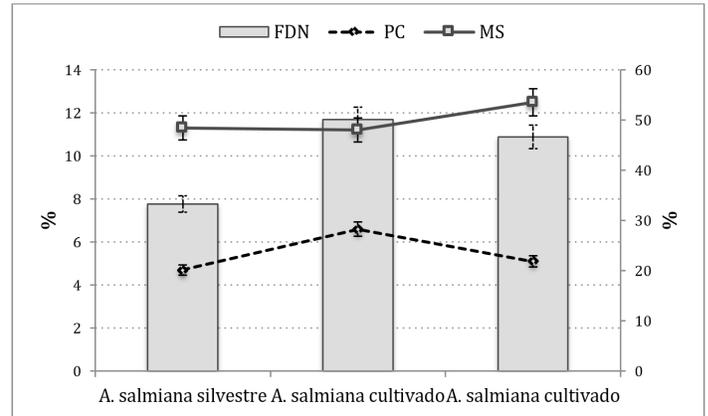


Fuente: Mata et al. (2011).

Figura 2. Composición química (%) de diferentes especies de *Agave* a la misma edad de crecimiento (8 años).

Los valores de PC son bajos en comparación con los reportado en otra investigación(3), quienes mencionan

valores de 4.7 a 6.6% de PC (Figura 3) en *A. salmiana* silvestre y cultivado, respectivamente; sin embargo, estos autores no mencionan la edad de los magueyes evaluados, y solo describen que fueron tomados al azar, asimismo, han justificado (34) que la discrepancia de los resultados puede deberse a factores como la época y lugar de colecta de las muestras, además, del estado fisiológico de la planta.

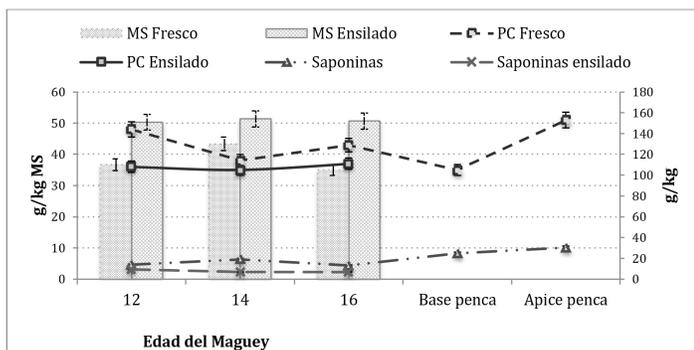


Fuente: Baraza et al. (2008)

Figura 3. Composición química (%) de *Agave salmiana* silvestre y cultivados.

Edad de la planta

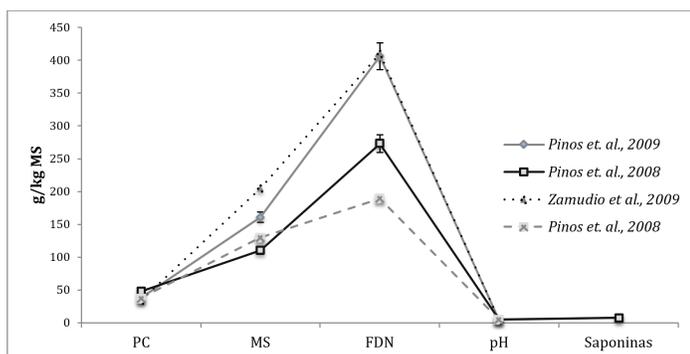
A pesar de ser una variable importante en los valores nutricionales, la edad cronológica de la planta es la más incierta, puesto que los magueyes dependen de diversos factores ambientales como la humedad, temperatura y nutrientes, así como la pendiente y competencia interespecífica (17). Realmente no se puede definir con la exactitud la edad en los magueyes, ya que, en sus comunidades, se pueden observar individuos de varios tamaños y proporciones, y es común encontrar individuos pequeños con el meristemo floral e individuos de mayor dimensión que aún no presentan esta etapa de madurez, ya que el crecimiento y desarrollo del maguey está en función de muchas variables ambientales y no tanto por la edad (17). Al respecto (35) han reportado el valor nutritivo del *Agave salmiana* a diferentes edades, 12, 14 y 16 años (Figura 4), y reportaron que la madurez afecta estadísticamente los valores de materia seca, materia orgánica, fibra detergente neutro, cenizas, carbohidratos solubles, saponinas y el porcentaje de PC, la cual registró diferencias ($P < 0.05$), siendo superior en 26% el maguey de 12 años (48 g kg⁻¹ MS) con respecto al de 14, y 11% al de 16 años de edad.



Fuente: Pinos-Rodríguez et al. (2008)

Figura 4. Composición química promedio de pencas frescas y ensiladas a diferentes edades, sección y procesamiento previo (ensilado).

Sin embargo, se ha reportado (14) que el maguey a la edad de 12 años su valor de PC fue de 38 g kg⁻¹ MS, similar al de 14 años reportado en el trabajo anterior (35). Por consiguiente, los valores reportados para las diferentes edades son diferentes aún reportados por el mismo autor en diferentes trabajos. Asimismo, en otras investigaciones (36) (Figura 5), mencionan que los valores reportados en maguey de 14 años de edad, respecto a PC y saponinas son similares, mientras que los valores de FDN y MS son diferentes ($P > 0.05$).



Línea punteada (14 años), línea sólida (12 años).

Figura 5. Composición química de Agave salmiana a la misma edad.

Procesamiento previo (ensilado)

Está documentado que el pH es un excelente indicador de la calidad del proceso de ensilaje de los forrajes, y de manera general se considera que valores inferiores a 4.5 son parámetros de un excelente ensilado. El pH del maguey fresco oscila alrededor de 3.5 a 6 (2, 34, 36), es por ello que el proceso de fermentación anaeróbica, es muy corto cuando el maguey se mezcla con otros ingredientes para ser ensilado. En trabajos al respecto (14, 35), reportan que los valores de pH se reducen aún más cuando el maguey es ensilado, favoreciendo su calidad. Sin embargo, los valores de proteína cruda son contrastantes, ya que en el primer trabajo (14), indican

que los valores se reducen hasta un 25%, mientras que en el segundo (35) estos parámetros se incrementan a un 40% (Figura 6).

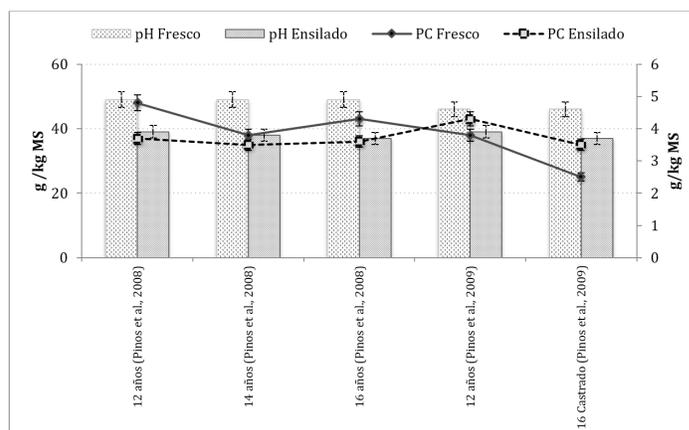


Figura 6. Porcentaje de proteína cruda en maguey de diferentes edades, frescos y ensilados.

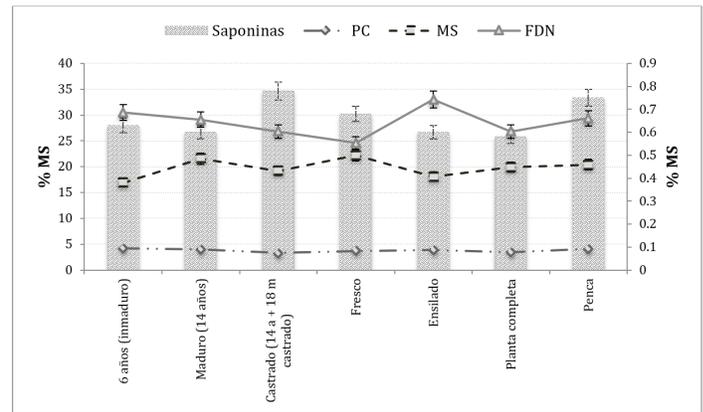
Factores anti-nutricionales (saponinas)

Si bien es cierto que las plantas desarrollan mecanismos de defensa en contra la herbivoría (37, 38, 39), el maguey al crecer en ambientes hostiles no es exento de ello, pues desarrolla desde metabolitos secundarios en toda la planta como las saponinas. Las saponinas son compuestos antipáticos; es decir, que un extremo de su molécula posee una parte hidrofílica constituida por unidades de monosacáridos que son solubles en agua y parte lipofílica o esteroidal llamada sapogenina, esto le permite que sean solubles en medios acuosos y no acuosos como las paredes celulares. Además, las especies del género Agave se caracterizan por desarrollar cristales de oxalato de calcio en el parénquima, este tipo de micro cristales en forma bi puntiaguda conocidos como rafidios del tipo III (39), tienen dos funciones, son reguladores del calcio en la planta y sirven como mecanismos de defensa contra la herbivoría (39, 40, 41). Por su tamaño y forma bi puntiaguda, su efecto “venenoso” es debido al pinchazo mecánico de las células que favorece la inyección de metabolitos secundarios, que para el caso de los magueyes son saponinas. Algunos autores (41, 42, 43) señalan a las especies del género Agave como tóxicas para el ganado debido a la presencia de cristales (oxalatos de calcio), otros únicamente le atribuyen su efecto escozor o irritante al tacto por la presencia de saponinas (44).

Sin embargo, sólo se ha considerado a las saponinas como compuestos antinutricionales y se ha dejado de lado la monitorización conjunta tanto de los oxalatos de calcio y las saponinas durante los procesos, ya que el efecto de escozor es debido a la coexistencia de ambos en los magueyes. El jugo crudo “guishes” de penca al entrar en contacto con la piel o cualquier parte del cuerpo indican incisiones lo que favorece la acción de las saponinas en las células, y esto

provoca la sensación de escozor del área de contacto, ardor en la boca y garganta, induciendo la inflamación y obstrucción del tracto digestivo de los animales, a la que pueden causar trastornos digestivos severos, dificultad para respirar y de ingerir más alimentos, sin embargo, las saponinas como tal son benéficas al ser antibióticos naturales, por lo tanto, se podría especular que los oxalatos de calcio son los agentes antinutricionales del maguey (40, 41, 42). Al respecto en otras investigaciones (35) al evaluar el contenido de saponinas de magueyes de diferentes edades y secciones de la hoja (Figura 7), reportaron que existen diferencias ($P < 0.001$) entre los magueyes reportando valores de 7.5 a 11.1 g kg MS, y en la sección de la hoja registrando más en la parte apical que en la base (10.1 y 8.2 g kg MS, respectivamente). Sin embargo, cuando el maguey es ensilado, los contenidos de saponinas se reducen ($P < 0.05$), desde un 16 hasta un 61% (maguey de 16 años), dependiendo la edad del maguey, asimismo, se ha reportado (14) que en magueyes jóvenes (12 años) la reducción fue del 38%, mientras que en los de mayor edad (16 años) la reducción fue de sólo el 20%, no coincidiendo con lo reportado anteriormente.

En los estadios juveniles del maguey el contenido de saponinas es más elevado con respecto a las etapas maduras de crecimiento (17) lo que coincide con los datos reportados (2) para ensilados de maguey inmaduro de *Agave salmiana*, el contenido es superior al encontrado en silos elaborados con maguey de 12 y 16 años de edad, sin embargo, la baja disponibilidad relativa de saponinas que se encuentran en diferentes ensilados de maguey es baja, menor a 1% en base a la MS y reduciendo su contenido al final del proceso de ensilaje, tal vez los cambios inducidos durante el proceso (2). Cabe señalar que el método de análisis utilizado en esta investigación (2), se basa en la descomposición de la saponina para cuantificar el cromóforo esteroidal; es decir, la saponina que pierde su actividad al estar separada del azúcar, sin embargo, lo reporta como saponina.

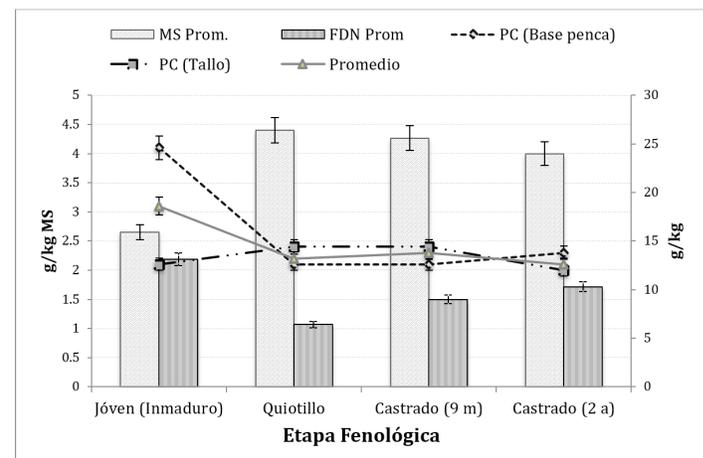


Fuente: Pinos-Rodríguez et al. (2008)

Figura 7. Composición química (%) de *Agave salmiana* a diferente edad, etapa fisiológica, procesamiento previo y sección de la planta.

Etapas fenológicas

Como se ha mencionado anteriormente calcular o acertar la edad del maguey es un proceso complicado, pero existe la ventaja de que sus etapas fenológicas están bien identificadas (17), desde que es joven, Quiotillo (etapa cuando el maguey pasa de la etapa de crecimiento vegetativo al reproductivo), y adulto (presenta el meristemo floral). Al respecto (15) se hicieron evaluación de los parámetros nutritivos de *Agave salmiana* a diferentes etapas fisiológicas (Figura 8), y reportaron que el contenido de proteína cruda de la base de la penca y promedio registró el mayor valor ($P < 0.05$) cuando el maguey es joven y el más bajo de la PC del tallo, junto al maguey de 2 años de castrado; mientras que en otras etapas (quiotillo y castrado de 9 meses y 2 años) no se registraron diferencias en los valores PC ($P > 0.05$). Sin embargo, la fase de quiotillo fue superior en el rendimiento de materia seca y el más bajo en la fibra detergente neutro ($P < 0.05$), con respecto a las otras etapas, siendo en términos prácticos el que más rinde y el más digestible.



Fuente: Pinos-Rodríguez et al. (2006).

Figura 8. Composición química de *Agave salmiana* en diferentes etapas fenológicas.

Por lo anterior, es recomendable que si se planea hacer un aprovechamiento del maguey debe ser en esta etapa fenológica, ya que ésta a su vez está relacionada con la calidad del mezcal, ya que es esta etapa cuando el maguey tiene el mayor contenido de azúcares destinados para la elaboración de bebidas fermentadas, y por lo tanto, si se desea aprovechar el subproducto (pencas) de este proceso, podemos tener una certeza en los valores nutricionales de las hojas de maguey(45).

Conclusiones

El valor nutritivo del maguey está determinado, por la especie, edad, etapa fenológica, procesamiento previo y la parte de la planta a utilizar.

Determinar la edad del maguey en campo es complicado, por lo tanto, la etapa fenológica de quiotillo, es una alternativa práctica de manejo para la utilización de esta especie como alimento para el ganado.

Se debe continuar con los trabajos de investigación que permitan obtener valores del valor nutritivo y el comportamiento de los compuestos anti nutricionales de más especies de forraje (magueyes), como los que se utilizan para la elaboración de mezcal, ya que se genera una cantidad considerable de material vegetal que no se aprovecha para la alimentación animal.

Literatura citada.

1. Murillo A. B., Troyo D. E., García H. J. L. (Eds). 2003. El Nopal, Alternativa para la agricultura de zonas áridas en el siglo XXI. Editorial. Centro de Investigaciones Biológicas de Noreste, S. C. La Paz, B. C. S. México. 293 p.
2. Pinos-Rodríguez. J. M., Zamudio M., Gonzales S. S., Mendoza G. D., Bárcena R., Ortega M. E., Miranda L. A. 2009. Effect of maturity and ensiling of Agave salmiana on nutrimental quality for lambs. An. Feed Sci. and Tech. 152: 298-306.
3. Baraza E., Ángeles S., García Á., Valiente B. A. 2008. Nuevos recursos naturales como complemento

de la dieta de caprinos durante la época seca, en el Valle de Tehuacán, México. Interciencia Vol. 33 No. 12, 891-896.

4. García, E. R. 2006. Factores nutricionales y de manejo que afectan la eficiencia productiva de vacas Charolais y Hereford en agostadero. Tesis doctoral. Subdirección de Posgrado, Programa de Zootecnia, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Saltillo, Coah. México. 113 pp.

5. Carpenter, B. B. 1998. Beef cattle reproduction in the south Texas region of Tamaulipas Biotic Province. En: Memorias Taller de ganadería de bovinos de carne del noreste de México y sur de Texas. Unidad Académica Multidisciplinaria Agronomía y Ciencias. UAT. Ciudad Victoria, Tamaulipas, México. pp 145-152.

6. Aguirre, R. J. R. 1982. Sobre los problemas de las comunidades rurales del altiplano potosino-zacatecano. Documento de Trabajo. Núm. 7. Centro Regional para Estudios de Zonas Áridas y Semiáridas, Colegio de Postgraduados. Salinas de Hidalgo, San Luis Potosí. México. 5 p.

7. Holechek, J. L., R. D. Pieper and C. H. Herbel.

2011. Range management, principles and practices. 6th ed. Prentice Hall. Upper Saddle River, New Jersey. USA. 444 pp.

8. Murillo Amador B., Troyo Diéguez E., Nieto Garibay A., Aguilar García M., 2002. El Nopal, cultivo forrajero sostenible para el Noreste de México. Editorial. Centro de Investigaciones Biológicas de Noreste, S. C. La Paz, B. C. S. México.

9. Azócar P. C. 22/01/2004. Prickly pear (Opuntia ficus-indica) utilization as a feed for ruminants. Universidad de Chile. <http://www.ag.arizona.edu/OALS/oals/proj/linkages/cactus/feed.html>

10. Anaya G. M. 08/01/2004. Ancient and contemporary water catchment system in Mexico. http://www.ircsa.org/pdf/02_04.pdf



11. Reyes H., H; M. Aguilar R.; J. R. Aguirre R.; I. R. Trejo V. 2005. Estrategias de producción agropecuaria y uso de suelo en el área del proyecto Pujal-Coy, San Luis Potosí, México. *Revista del Colegio de San Luis. Vetas* 7(19): 77-96.
12. Pinos-Rodríguez, J M; García-López, J C; Aguirre-Rivera, J R; Reyes-Hernández, H. 2013. Participatory cartography in a traditional goat production system of a smallholder community in northern México. *Trop. and Subtrop. Agroec.* Vol. 16 (2), 215-222.
13. López R. G., 2003. El nopal y el Venado cola Blanca. *Boletín electrónico*, Año 2, Número 8, Enero 2003. http://www.dumac.org/dumac/habitat/esp/mundodumac/boletin8/el_nopal.htm
14. Pinos-Rodríguez. J. M., Gonzales M. S., Badillo B., García L. J. C., Aguirre R. J. R., Infante S. 2008. Chemical composition and ruminal in vitro degradation of fresh or silage or Agave salmiana Otto ex. Salm Dick. *J. Appl. Anim. Res.* 33: 45-48.
15. Pinos-Rodríguez J. M., Aguirre R. J. R., García L. M. T., Rivera M. M. T., González M. S., López A. S., Chávez V. D. 2006. Use of "Maguey" (Agave salmiana Otto ex. Salm-Dick) as forage for ewes. *J. Appl. Anim. Res.* 30: 101-107.
16. Ober H. K., Steidl R. J. 2004. Foraging rates of *Leptonycteris curasoae* vary With characteristics of *Agave palmeri*. *The Southwestern Nat.* 49(1): 68-74.
17. Aguirre R. J. R., Charcas S. H., Flores F. J. L. 2001. EL maguey mezcalero potosino. COPOCYT, UASLP. San Luis Potosí. 87 p.
18. Martínez-Aguilar J. F., Peña-Álvarez A. 2009. Characterization of five Agave plants used to produce mezcal through their simple lipid composition analysis by gas chromatography. *J. Agric. Food Chem.* 57: 1933-1939.
19. Chávez-Guerrero L., Hinojosa M. 2010. Bagasse from the mezcal industry as an alternative renewable energy produced in arid lands. *Fuel* (89) 4049-4052.
20. Martínez S. M., Mata G. R., Morales N. C., Valdez C. R. 2012. Agave salmiana plant communities in central Mexico as affected by commercial use. *Environ. Manag.* 49:55-63.
21. García-Moya E., Romero-Manzanares A., Nobel P. S. 2011. Highlights for Agave productivity. *GCB Bioenergy* 3, 4-14, doi: 10.1111/j-1757-1707.2010.01078.x
22. Davis S. C., Dohleman F. G., Long S. P. 2011. The global potential for Agave as a biofuel feedstock. *GCB Bioenergy* 3, 68-78, doi: 10.1111/j.1757-1707.2010.01077.x
23. Yang L., Lu M., Carl S., Mayer J. A., Cushman J. C., Tian E., Lin H. 2015. Biomass characterization of Agave and Opuntia as potencial biofuel feedstocks. *Biomass and bioenergy* 76 : 43-53.
24. Martínez-Salvador M., Valdez-Cepeda R., Arias H. R., Beltrán-Morales L. F., Murillo-Amador B., Troyo-Diéguez E., Ortega-Rubio A. 2005. Distribution and density of maguey plants in the arid Zacatecas Plateau, Mexico. *J. of arid environm.* 61 : 525-534.
25. Martínez-Salvador M., Beltrán-Morales L., Valdez-Cepeda R., Troyo-Dieguez E., Murillo-B. A., Jiménez G. J., Ortega-Rubio A. 2007. Assessment of sustainability performance on the utilization of agave (Agave salmiana ssp crassispina) in Zacatecas, México. *Int. J. of Sust. Develop. and Word Eco.* 14: 1-10.
26. Meredith P. M., Charles M. P., Matthew I. P., Illsley C. 2011. Effect of hábitat and grazing on the regeneration of wild Agave cupreata in Guerrero, México. *Forest Ecol. Manag.* 262: 1443-1451.
27. Negesse T., Makkar H. P. S., Becker K. 2009. Nutritive value of some non-conventional feed resources of Ethiopia determined by chemical analyses and an in vitro gas method. *An. Feed Sc. Tech.* 154: 204-217.
28. García-Herrera, E. J., Méndez-Gallegos S. de J, Talavera-Magaña D. 2010. El genero Agave spp. en México: Principales usos de importancia socioeconómica y agroecológica. *RESPYN. Revista Pública y Nutrición, Edición especial No.5* pp 109-129.
29. Aguilar J. B., Enríquez V. J. R., Rodríguez-Ortíz G., Granados S. D., Martínez C. B. 2014. El estado actual de Agave salmiana y A. mapisaga del Valle de México. *Rev. Mex. Agroeco.* Vol. 1(2): 106-120-93, 2014.
30. INIFAP San Luis Potosí. 2015. Tecnología de producción para el establecimiento y manejo de maguey en el altiplano de San Luis Potosí. *Tecnología No. 31.* <http://189.204.16.158/campopotosino/index.php/noticias/noticias-campo-potosino/15-servicios-al-productor/33-paquetes-tecnologicos2>

31. Silos-Espino H., Tovar-Robles C. L., González-Cortés N., Méndez-Gallegos S. J., Rossel-Kipping D. 2011. Estudio integral del maguey (*Agave salmiana*) propagación y valor nutricional. *RESPYN Revista Salud Publica y Nutrición*, edición especial No. 5: 75-82.
32. Mellado M., García J. E., Pittroff W. 2008. Rough Agave flowers as a potential feed resource for growing goats. *Rang. Eco. and Manag.* Vol. 61. (6) : 640-646.
33. Ramírez-Cortina C. R., Alonso-Gutiérrez M. S., Rigal L. 2012. Valorización de residuos agroindustriales del tequila para alimentación de rumiantes. *RCHSCFA. Revista Chapingo serie ciencias forestales y del ambiente.* 2012, pp. 449-457, doi:10.5154/r.rchscfa.2011.08.059.
34. Mata-E. M. A., Torres-C. M. G., Hernández-I. G., Cobos-P. M. A., Rodríguez-S. G., Luevano-L. A., Guzmán-G. D. R., Gámez-A. M. M. 2011. Degradación in vitro de *Agave mapisaga*, *Agave salmiana* var. *salmiana* y *Agave salmiana* var. *ferox*. *Revista Chapingo serie Zonas áridas.* 10:123-129.
35. Pinos-Rodríguez. J. M., Zamudio M., Gonzales S. S. 2008. The effect of plant age on the chemical composition of fresh and ensiled *Agave salmiana* leaves. *South Afr. J. of Anim. Sci.* 38 (1): 43-50.
36. Zamudio D. M., Pinos-Rodríguez J. M., González S. S., Robinson P. H., García J. C., Montañez O. 2009. Effects of *Agave salmiana* Otto Ex Salm-Dyck silage as forage on ruminal fermentation and growth in goats. *An. Feed Sc. and Tech.* 148 : 1-11.
37. Briske D. D. 1998. Strategies of plant survival in grazed systems: A functional interpretation. En: *The ecology and management of grazing systems.* Eds. J. Hodgson & Illius, A. W. CAB International, Wallingford. U. K.
38. Hernández S. R., Lugo C. E. C., Díaz J. L., Villanueva S. 2005. Extracción y cuantificación indirecta de las saponinas de *Agave lechuguilla* Torrey. *E-Gnosis [online].* Vol. 3, art. 11.
39. Raman V., Horner H. T., Khan I. A. 2014. New and unusual forms of calcium oxalate raphide crystals in the plant kingdom. *J. Plant. Res.* 127:721-730.
40. Webb, M. A. 1999. Cell-mediated crystallization of calcium oxalate in plants. *The Plant Cell.* 11:751-761 Mata-E. M. A., Torres-C. M. G., Hernández-I. G., Cobos-P. M. A., Rodríguez-S. G., Luevano-L. A., Guzmán-G. D. R., Gámez-A. M. M. 2011. Degradación in vitro de *Agave mapisaga*, *Agave salmiana* var. *salmiana* y *Agave salmiana* var. *ferox*. *Revista Chapingo serie Zonas áridas.* 10:123-129.
41. Jáuregui Z., D.; A. Moreno C. 2004. La biomineralización del oxalato de calcio en platas: retos y potencial. *Rev. de Educ. Bioquímica.* 23(1):18-23.
42. Ricks M R., Vogel P. S., Elston D. M., Hivnor C. 1999. Purpuric agave dermatitis. *J Am. Acad. Dermatol.* 40:356-8.
43. Salinas N. L., Ogura T., Soffuchi L. 2001. Irritant contact dermatitis caused by needle-like calcium oxalate crystals, raphides, in *Agave tequilana* among workers in tequila distilleries and agave plantations. *Contac Dermatit.* 44:94-6.
44. Nobel, P. S. 1998. *Los incomparables agaves y cactus.* 1ª edición. Trillas. México. 211 p.
45. Gódinez H. C. I. 2012. Caracterización y eficiencia de la fermentación en la elaboración de mezcal potosino. Tesis de Maestría, Programa multidisciplinario de posgrados en ciencias ambientales. Universidad Autónoma de San Luís Potosí. S.L.P. México.



EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE ALGUNAS PLANTAS MEDICINALES COMUNES POR EL MÉTODO COLORIMÉTRICO DPPH

J. E. Cruz-Espinoza, O. Zaca-Moran, G. Muñoz-Hernández, A. Orduña-Díaz, V.L. Gayou, R. Delgado-Macuil and M. Rojas-López*
Instituto Politécnico Nacional. CIBA-Tlaxcala
*Email:marlonrl@yahoo.com.mx

Resumen

Se aplicó el método DPPH para la determinar la actividad antioxidante de extractos metanólicos de siete plantas medicinales comunes (*Laurus nobilis*, *Persea americana*, *Origanum vulgare*, *Mentha spicata*, *Mentha piperita*, *Sambucus nigra* y *Moringa oleifera*). Tomando ventaja de la capacidad que poseen los extractos de estas plantas para neutralizar radicales DPPH, se determinó, mediante absorbancia a 517 nm, el porcentaje de inhibición de los extractos de cada planta para neutralizar a este radical. Finalmente mediante la estimación experimental del parámetro IC50 para cada extracto, se determinó que *Laurus nobilis* y *Origanum vulgare* presentaron la mayor actividad antioxidante del grupo de extractos analizados. El uso de este método colorimétrico constituye una herramienta muy útil en la determinación de la actividad antioxidante de extractos de plantas con propiedades benéficas para la salud.

Palabras clave: actividad antioxidante, DPPH, métodos colorimétricos, IC50

Abstract

The DPPH method was applied to determine the antioxidant activity of methanolic extracts obtained from seven common medicinal plants (*Laurus nobilis*, *Persea americana*, *Origanum vulgare*, *Mentha spicata*, *Mentha piperita*, *Sambucus nigra* y *Moringa oleifera*). Taking advantage of the capacity that plant extracts possess to neutralize DPPH radicals, it was determined the percentage of inhibition that plant extracts exhibit against the DPPH radical by using the absorbance at 517 nm. Finally, from the experimental determination of the parameter IC50 for each extract, the highest antioxidant activity was observed in *Laurus nobilis* and *Origanum vulgare* species. The use of this colorimetric method constitutes a useful tool for determining the antioxidant activity from extracts of plants with beneficial health properties.

Keywords: Antioxidant activity, DPPH, colorimetric methods, IC50

Introducción

En el proceso de envejecimiento celular intervienen varios factores fisiológicos, genéticos y ambientales. No obstante, en años recientes el interés por los radicales libres y su relación con el envejecimiento celular ha ido en aumento (1). Los radicales libres son especies químicas, atómicas o moleculares que contienen un electrón sin aparear en su orbital más externo. Esta característica de los radicales libres los convierte en agentes inestables y altamente reactivos, provocando alteraciones en las estructuras biológicas fundamentales como lípidos de membrana, ácidos nucleicos y proteínas. En consecuencia, el estado oxidativo de las células aumenta, el cual está directamente relacionado con el envejecimiento celular y algunos procesos fisiopatológicos como enfermedades cardiovasculares (2), neurodegenerativas (3) cataratas (4) y algunos tipos de cáncer (5).

El consumo de plantas medicinales en forma de infusión o extracto constituye una vía para neutralizar el estado oxidante ocasionado en parte por el estilo de vida que el ser humano tiene actualmente. Debido a que productos naturales provenientes de las plantas han mostrado efecto o actividad antioxidante, la terapia antioxidante basada en el consumo de infusiones o extractos de plantas medicinales representa una alternativa económica para el tratamiento de enfermedades relacionadas con el estrés oxidativo. Uno de los métodos más utilizados para la determinación de la actividad antioxidante está basado en la estabilidad del radical 1, 1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH). Cuando una solución de DPPH entra en contacto con una sustancia que puede donar un átomo de hidrógeno u otra especie de radical (R), se genera la forma reducida DPPH-H o DPPH-R. La producción de la forma reducida DPPH-H ó DPPH-R se caracteriza por la pérdida de color de violeta a amarillo, y en consecuencia una pérdida de absorción óptica de este radical en 517 nm. La pérdida de intensidad de absorción óptica es proporcional a la cantidad de radicales libres capturados. A esta propiedad que exhiben algunos extractos se le conoce como actividad antioxidante.

En este trabajo se utilizó el método DPPH para determinar la actividad antioxidante de extractos metanólicos de nueve especies de plantas comunes de uso medicinal. Estas especies comunes poseen propiedades nutraceuticas, profilácticas y terapéuticas, las cuales ayudan en el tratamiento de diversas

afecciones como espasmos y dolores estomacales, dolores musculares y de cabeza y otros, mediante sus propiedades antiespasmódicas y anti-inflamatorias. El uso y aplicación de métodos de referencia confiables para la cuantificación de componentes antioxidantes es necesario para diseñar herramientas para el estudio de plantas y sus posibles usos terapéuticos.

Desarrollo del tema

Se seleccionaron 7 plantas de uso medicinal común (*Laurus nobilis*, *Persea americana*, *Origanum vulgare*, *Mentha spicata*, *Mentha piperita*, *Sambucus nigra* y *Moringa oleifera*) para evaluar su actividad antioxidante. Las hojas de estas plantas se dejaron secar durante varios días y una vez secas se molieron en mortero, para posteriormente obtener extractos. Para la extracción se agregaron 0.5 g de planta molida en 25 ml de metanol al 80%, y se sonicó durante 25 min. Posteriormente se centrifugó la solución a 4000 rpm durante 15 min a 4 °C y se recuperó el sobrenadante. Para determinar la actividad antioxidante (método DPPH) se diluyó varias veces cada extracto, desde el 100 al 10% y se mezclaron 20 μ l de cada dilución con 200 μ l de una solución stock del radical DPPH a 0.31 mM. Después de 30 min se midió la absorbancia UV-visible de cada reacción incluyendo el DPPH solo como control. La Figura 1 muestra los espectros UV-visible de la reacción del extracto de *Origanum vulgare*-DPPH obtenidos después de 30 min de reacción. Se puede observar la presencia de una banda intensa en 517 nm asociada a la absorción del radical DPPH. Sin embargo, cuando el radical DPPH reacciona durante 30 min con el extracto antioxidante, se observa una disminución de su intensidad conforme aumenta la concentración del extracto.

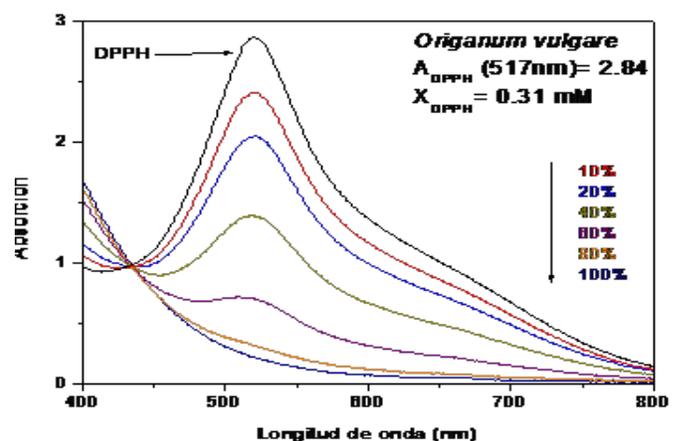


Figura 1. Espectros UV-visible de la reacción extracto de *Origanum vulgare*-DPPH obtenidos después de 30 min.

La actividad antioxidante representa la inhibición de la cantidad de radical DPPH que es neutralizado por el extracto; y por lo tanto, se expresa en términos de las intensidades de absorción del control (A_{DPPH}) y del extracto (A_{Extr}) de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$\%Inhibicion = \%I = 100 * \left[\frac{A_{DPPH} - A_{Extr}}{A_{DPPH}} \right]$$

La Figura 2 muestra el porcentaje de inhibición del mismo extracto de *Origanum vulgare* y su dependencia funcional con la concentración del extracto. Los símbolos representan los datos experimentales de la Fig. 1, mientras que la línea continua representa un ajuste matemático modelado con la ecuación:

$$Y = a(1 - e^{-xb})$$

Donde $Y = \%Inhibición$, a y b son parámetros de ajuste y $x = IC_{50}$, propiedad que representa la concentración de compuestos antioxidantes que es capaz de inhibir el 50% del radical DPPH.

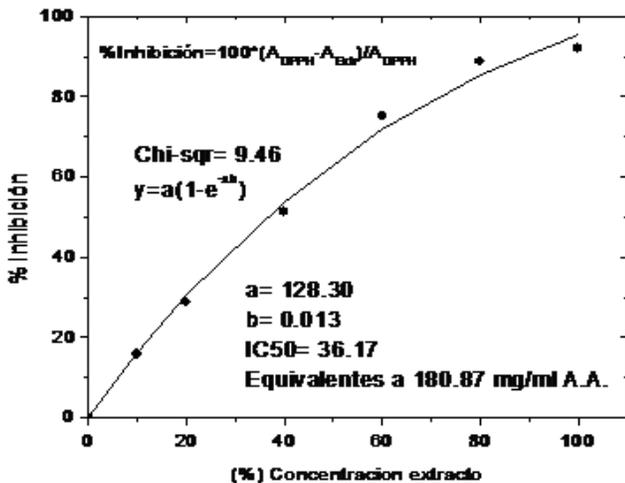


Figura 2. Porcentaje de inhibición del radical DPPH por el extracto metanólico de *Origanum vulgare*.

Finalmente, la Tabla I muestra los parámetros de ajuste a y b , así como los valores de concentración inhibitoria media (IC_{50}) expresados en $\mu g/ml$ de ácido ascórbico. El ácido ascórbico se utiliza comúnmente como un compuesto antioxidante de referencia. La Tabla I muestra que los extractos de *Laurus nobilis* y de *Origanum vulgare* poseen la mayor actividad antioxidante del grupo de extractos analizados en este trabajo. No obstante, los resultados del análisis de actividad antioxidante indican que todos los extractos

fueron capaces de atrapar radicales DPPH dependiendo de su concentración.

Tabla I. Parámetros de ajuste a y b , y valores de IC_{50} determinados para cada uno de los extractos metanólicos analizados.

Extracto	a	b	IC_{50} ($\mu g/ml$ de ácido ascórbico)
<i>Persea americana</i>	104.4437	0.0152	213.74
<i>Mentha spicata</i>	835.6495	0.0006	474.60
<i>Laurus nobilis</i>	111.1819	0.0168	177.24
<i>Mentha piperita</i>	111.4835	0.0123	240.54
<i>Moringa oleifera</i>	50.2430	0.0137	1944.27
<i>Origanum vulgare</i>	128.3061	0.0136	180.87
<i>Sambucus nigra</i>	70.1572	0.0064	972.83
Ácido ascórbico	239.0516	0.0040	291.86

El método colorimétrico utilizado en este trabajo es altamente práctico y conveniente para determinar las propiedades antioxidantes de las plantas y alimentos con propiedades benéficas para la salud humana.

Referencias

- 1). Finkel T, Holbrook NJ. Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. *Nature* 2000; 408: 239-247.
- 2). Abe J, Berk BC. Reactive oxygen species as mediators of signal transduction in cardiovascular disease. *Trends Cardiovasc Med* 1998; 8:59-64.
- 3). Lafon-Cazal M, Pietri S, Culcasi M, Bockaert J. NMDA-dependent superoxide production and neurotoxicity. *Nature* 1993; 364: 535-537.
- 4). Rozanowska, M. Blue light-induced reactivity of retinal age pigment. In vitro generation of oxygen-reactive species. *J Biol Chem* 1995; 270: 18825-18830.
- 5). Klauning JE, Xu Y, Bachowski S, Ketcham CA, Isenberg JS, Kolaja KL. Oxidative stress in non genotoxic carcinogenesis. *Toxicology letters* 1995; 82-83:683-691.

Agradecimientos

Este trabajo se realizó con apoyo de Proyecto SIP multidisciplinario 20160500 y 20160501 del Instituto Politécnico Nacional.



INVESTIGACIÓN +

POSGRADOS

- Maestría en Biotecnología Aplicada
- Maestría en Biotecnología Productiva
- Doctorado en Biotecnología Aplicada
- Doctorado en Biotecnología Productiva

Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada
Ex-Hacienda San Juan Molino Carretera Estatal
Tecuexcomac - Tepetitla K. 1.5, Tlaxcala, C.P. 90700, México