



Evaluación de la actividad antioxidante de los extractos acuoso y metanólico de verdolaga (*Portulaca oleracea* L)

Franklin Pacheco-Coello ¹ .

¹Departamento de Ciencias Básicas, Laboratorio de Metales Pesados, Laboratorio de Biotecnología Agroindustrial del Instituto de Investigaciones Biomédicas (BIOMED) "Dr. Francisco J. Triana Alonso."

Correspondencia: Instituto de Medicina Tropical - Facultad de Medicina - Universidad Central de Venezuela.

Consignado el 17 de Agosto del 2021 a la Revista Vitae Academia Biomédica Digital.

RESUMEN

La *Portulaca oleracea* L., mejor conocida como verdolaga, es considerada por la Organización Mundial de Salud como una de las ocho plantas medicinales más importantes con un alto contenido de compuestos bioactivos (micronutrientes) y múltiples beneficios para la salud. El estudio tuvo como objetivos caracterizar y evaluar la capacidad antioxidante de un extracto acuoso obtenido de hojas de *P. oleracea*, con el fin estimular el uso de esta planta como alternativa para el consumo de micronutrientes con amplia actividad biológica. Se prepararon dos extractos (acuoso y metanólico) con hojas de *P. oleracea*, procediendo luego a la

determinación del contenido de compuestos fenólicos totales por el método colorimétrico Folin-Ciocalteu y flavonoides por el método de Marinova. Para la evaluación de la actividad antioxidante se empleó el método del radical libre 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) y ensayo del poder reductor férrico (FRAP). Los resultados arrojaron una concentración de fenólicos totales de $2,25 \pm 0,15$ mg de Equivalente a ácido gálico (EAG)/g material vegetal (MV) y de $1,21 \pm 0,09$ mg Equivalente a Catequinas (EC) / g MV para el extracto acuoso y $5,34 \pm 0,12$ mg de EAG / g MV y $3,05 \pm 0,02$ mg EC) / g MV para el extracto metanólico, con diferencia estadística entre ambos ($p < 0,05$). En relación a la actividad antioxidante el extracto metanólico mostró mayor actividad por ambos métodos respecto al extracto acuso. Estos resultados permiten establecer que *P. oleracea* podría emplearse como alternativas para incorporar a la dieta compuestos con fenólicos los cuales exhiben un alto potencial antioxidante. Sin embargo, es importante señalar que se debe promocionar el uso adecuado de esta planta medicinal, que, si bien es beneficiosa para la salud, su uso inadecuado podría originar efectos contrarios a los deseados.

PALABRAS CLAVE: *Portulaca oleracea*, flavonoides, micronutrientes, antioxidantes

SUMMARY

La *Portulaca oleracea* L., mejor conocida como verdolaga, es considerada por la Organización Mundial de Salud como una las ocho plantas medicinales más importantes con un alto contenido de compuestos bioactivos (micronutrientes) y múltiples beneficios para la salud. El estudio tuvo como objetivos caracterizar y evaluar la capacidad antioxidante de un extracto acuoso obtenido de hojas de *P. oleracea*, con el fin estimular el uso de esta planta como alternativa para el consumo de micronutrientes con amplia actividad biológica. Se prepararon dos extractos (acuoso y metanólico) con hojas de *P. oleracea*, procediendo luego a la determinación del contenido de compuestos fenólicos totales por el método colorimétrico Folin-Ciocalteu y flavonoides por el método de Marinova. Para la evaluación de la actividad antioxidante se empleó el método del radical libre 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) y ensayo del poder reductor férrico (FRAP). Los resultados arrojaron una concentración de fenólicos totales de $2,25 \pm 0,15$ mg de Equivalente a ácido gálico (EAG)/g material vegetal (MV) y de $1,21 \pm 0,09$ mg Equivalente a Catequinas (EC) / g MV para el extracto acuoso y $5,34 \pm 0,12$ mg de EAG / g MV y $3,05 \pm 0,02$ mg EC) / g MV para el extracto metanólico, con diferencia estadística entre ambos ($p < 0,05$). En relación a la actividad antioxidante el extracto metanólico mostró mayor actividad por ambos métodos respecto al extracto acuso. Estos resultados permiten establecer que *P. oleracea* podría emplearse como alternativas para incorporar a la dieta compuestos con fenólicos los cuales exhiben un alto potencial antioxidante. Sin embargo, es importante señalar que se debe promocionar el uso adecuado de esta planta medicinal, que, si bien es beneficiosa para la salud, su uso inadecuado podría originar efectos contrarios a los deseados.

KEY WORDS: *Portulaca oleracea*, flavonoids, micronutrients, antioxidants

EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE LOS EXTRACTOS ACUOSO YMETANÓLICO DE VERDOLAGA (PORTULACA OLERACEA L)

INTRODUCCIÓN

La *Portulaca oleracea* L., conocida en diversas partes de Latinoamérica como verdolaga es una planta herbácea que puede alcanzar hasta unos 40 cm de altura, posee tallos lisos rojizos, que en su mayoría se extienden paralelos al suelo (1,2). Sus hojas son verdes alternadas presentes a lo largo del tallo y en su extremo, flores amarillas ubicadas en el centro del manojito de hojas del extremo. A la verdolaga se le han atribuido diversas propiedades o beneficios a la salud, entre los que destacan su efecto antiinflamatorio, antimicrobiano, anticancerígeno y antioxidante (3-5). En Venezuela *P. oleracea* la población la emplea como desparasitante, hipocolesterolémico, hemorroides, vermífugo y cicatrizante, sin embargo, el conocimiento de estas potencialidades es poco difundida considerándose en muchas ocasiones como maleza (6).

De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS), es catalogada como una de las plantas medicinales más importantes y de mayor distribución en el mundo (Europa Asia y Latinoamérica), con una variedad de constituyentes químicos, incluyendo flavonoides, alcaloides, polisacáridos, ácidos grasos, terpenoides, esteroides, proteínas, vitaminas y minerales (7). En relación a los compuestos fenólicos se tienen que estos son estructuras complejas (estructura básica C₆-C₃-C₆), y son los antioxidantes de mayor consumo en la dieta de humanos, con una alta implicación en la salud pública (8).

En tal sentido y conociendo la variedad de compuestos bioactivos que la verdolaga posee, el presente estudio tuvo como objetivo la determinación de los compuestos fenólicos totales, flavonoides y la evaluación de su actividad antioxidante en extractos acuoso y metanólico, con el propósito de estimular su adecuado.

MÉTODOS

Material vegetal

El material vegetal (hojas frescas) fueron obtenidas o recolectadas de tierras destinadas a la agricultura de yucas ubicadas en el sector "Fundo Coropo" del municipio "Francisco Linares Alcántara", estado Aragua.

Extracción

Para la obtención del extracto acuoso se procedió a pesar 5 g de material vegetal, colocándolos en un vaso precipitado de 400 mL con 200 mL de agua destilada a 100 °C durante 8 minutos, dejándolo en reposo por 24 horas. Por último, se procedió a filtrado empleando papel de filtro Whatman número 4 (7).

Para el extracto metanólico se pesaron 5 gramos de muestras, colocándolas en un vaso precipitado de 400 mL con 200 mL de metanol al 70 % (v/v). La muestra se dejó macerando durante 24 horas con agitación a 150 rpm a una temperatura de 25 °C. El filtrado se realizó a través de papel de filtro Whatman número 4 y el exceso del solvente utilizado se evaporó a presión reducida utilizando un rota evaporadora (7).

Cuantificación de compuestos fenólicos totales (polifenoles)

La determinación de fenoles se realizó por el método colorimétrico de Folin-Ciocalteu. A 50 µL de muestra fueron adicionados a 125 µL del reactivo de Folin, y 400 µL de carbonato de Sodio 7,1 % (p/v), completándose con agua destilada hasta 1000 µL. Seguidamente se prepararon 5 patrones de concentración de 50, 100, 150, 200 y 250 µg/mL, a partir de una solución patrón madre de Ácido Gálico (fenol) de concentración 500 µg/mL. Por último, realizó la lectura a 760 nm empleando el equipo de absorción molecular Génesis 20 (Thermo Scintific), y expresando los resultados como equivalente a ácido gálico (EAG)/g material vegetal (MV) (9).

Determinación de flavonoides

La determinación de flavonoides se realizó siguiendo el siguiente protocolo: 100 µL de muestra fueron mezclados con 30 µL de NaNO₂ al 5 % (p/v), 30 µL de AlCl₃ 10 % (p/v), 200 µL de NaOH a 1M y ajustados con agua destilada hasta un volumen final de 1000 µL, se realizó la lectura espectrofotométrica a 510 nm y se comparó con la curva patrón usando como estándar (+) catequina. Los resultados fueron expresados como mg de Catequina Equivalente (CE) / g de material vegetal (MV) (10).

Método del radical libre 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH)

Para evaluar la actividad antioxidante se usó el método del radical libre 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) (Sigma Aldrich Co®) con una solución 100 µM de DPPH en metanol al 80 %, la cual permite observar una disminución de la absorbancia, debido a la cesión de un átomo de hidrógeno por parte de los compuestos antioxidantes presentes en los extractos. En una cubeta de vidrio se colocaron 100 µL de extracto y 2,9 mL de DPPH. La absorbancia se monitoreó cada 5 minutos por 30 minutos a una longitud de onda de 515 nm. La absorbancia de referencia (A₀) fue obtenida al sustituir el volumen de extracto por metanol al 80 %. El porcentaje de reducción de DPPH se obtuvo de la expresión: $DPPH (\%) = \frac{(A_0 - A_n)}{A_0} \cdot 100$, donde A₀ y A_n fueron las absorbancias de referencia y de la muestra, respectivamente (11).

Determinación de la capacidad antioxidante por el ensayo del poder reductor férrico (FRAP)

Este ensayo permite determinar la capacidad reductora de los extractos. Para esto 100 µL de cada extracto se mezcló con 3 mL de reactivo FRAP (300 mM de tampón de acetato de sodio y ácido acético, solución de diamonio-2, 4,6-tri (2-piridil)-s-triazina) de 10 mM y solución FeCl₃ 20 mM), en una relación de volumen de 10: 1: 1. Se dejó reposar a temperatura ambiente durante 4 minutos, para luego leer las absorbancias a 593 nm, empleando un espectrofotómetro UV/VIS Génesis 20 (Thermo Scintific). Se empleó FeSO₄ como estándar y los resultados se expresaron en µmol Fe⁺²/g MV (12).

Análisis estadístico.

Todas las determinaciones se realizaron por quintuplicados y se expresaron los valores como los promedios \pm desviación estándar (DE). Para la comparación de la concentración tanto de fenoles totales, flavonoides y actividad antioxidante se aplicó un análisis de varianza de dos vías con interacción (ANOVA), usando el programa Statistix 9.0 para Windows.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El análisis de los compuestos fenólicos totales y flavonoides arrojaron una mayor concentración en el extracto metanólico, con diferencia estadística significativa ($p < 0,05$), al compararlo con el extracto acuoso (tabla 1). Este resultado es congruente con lo reportado diversos estudios los cuales indican que el uso de metanol y su mezcla con agua en diferentes proporciones, condicionan el rendimiento de extracción de los compuestos fenólicos, resaltando además que dicho rendimiento dependerá de la cantidad y posición de sus grupos hidroxilo, del tamaño molecular, así como de factores como la temperatura, tiempo de contacto, tamaño de partícula entre otros ¹³⁻¹⁶. Si bien existen diferencias entre ambos extractos se observa que hay una cantidad considerable de compuestos fenólicos y flavonoides en el extracto acuso, la cual representa la principal forma de preparación por la población en general (6.)

Tabla 1. Fenólicos totales (mg EAG/g MV) y flavonoides (mg CE/g MV)

Vitae

Tabla 1. Fenólicos totales (mg EAG/g MV) y flavonoides (mg CE/g MV)

Compuestos	Extracto Acuoso Media \pm DE	Extracto Metanólico Media \pm DE	<i>p</i>
Fenólicos	2,25 \pm 0,15	5,34 \pm 0,12	0,032
Flavonoides	1,21 \pm 0,09	3.05 \pm 0,02	0,025

DE: desviación estándar *Significativo $p < 0,05$

Por otra parte, diversos estudios indican que, para evaluar la actividad antioxidante de cualquier tipo de extracto natural, es indispensable el empleo de dos o más métodos ^{17,18}. En este sentido, con el método FRAP se observó un mayor poder reductor en el extracto metanólico en comparación con el acuso; arrojando además diferencia estadística significativa ($p = 0,038$). En relación al método DPPH, el porcentaje de reducción fue de 94,3% para el metanolico y 65,3% para el acuso (tabla 2). Otro punto a destacar es que es el IC50(concentración a la cual se obtiene el 50 % de reducción del DPPH) del extracto metanólico fue inferir al acuoso, lo que indica un mayor poder antioxidante (11).

Tabla 2. Actividad antioxidante de los extractos

Extracto	FRAP $\text{Fe}^{+2} / \text{g MP}$	DPPH(IC_{50}) $\mu\text{g.mL}^{-1}$
Acuoso	$2,45 \pm 0,72$	$5,03 \pm 0,88$
Metanólico	$4,72.84 \pm 0,45$	$3,29 \pm 0,34$

Nota: Valores expresados como media y desviación estándar. IC_{50} , que representa la.

Numerosos estudios han resaltado la importancia de los compuestos fenólicos presentes en cualquier material vegetal como *P. oleracea*, indicando que estos contribuyen en la disminución del estrés oxidativo, por lo que el consumo de los compuestos fenólicos (figura 1) (19-21).

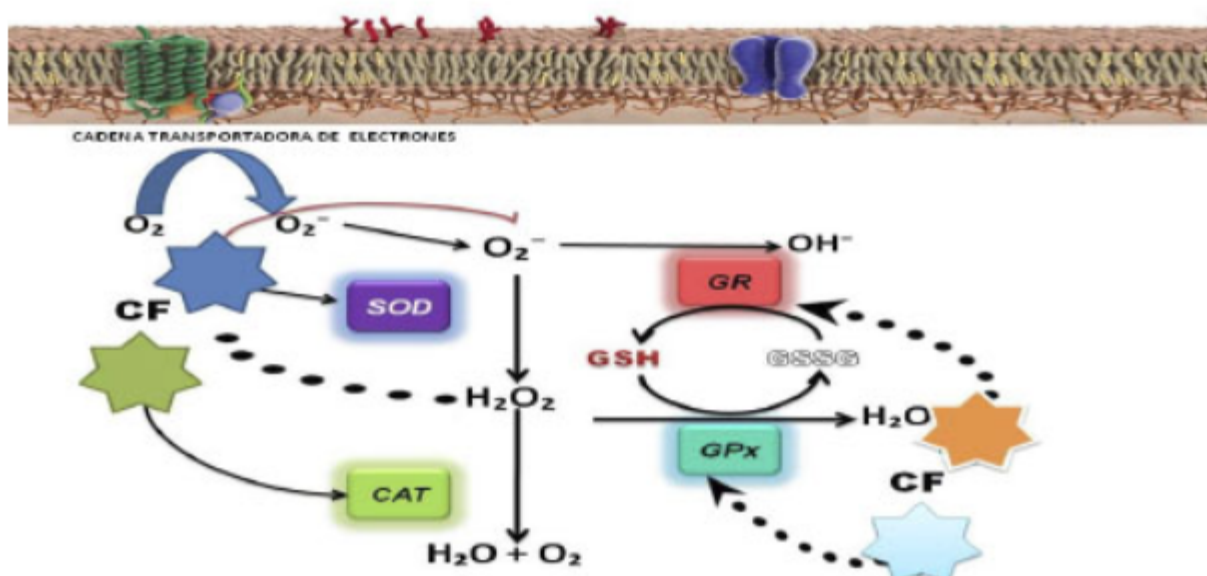


Figura 1. Mecanismo de acción del efecto antioxidante de los compuestos fenólicos propuesto por Pacheco *et al.*, 2020. Estrellas de colores representan los compuestos fenólicos (CF) presentes en el extracto, Catalasa (CAT), Superóxido dismutasa (SOD), Glutatión reductasa (GR).

Los hallazgos de la actividad antioxidante de las hojas de *P. oleracea*, también coinciden con lo hallado por investigadores del Instituto de Botánica del Nordeste, de la Universidad Nacional, Corrientes, Argentina, cuyo estudio consintió en evaluar la actividad antioxidante en extractos hidroalcohólicos de las partes aéreas de *P. oleracea*, entre ellas las hojas;

concluyendo que la misma posee propiedades antioxidantes que la convierten en una fuente promisoría con potencial medicinal ²².

CONCLUSIONES

El estudio muestra que *Portulaca olerace*, posee una cantidad significativa de compuestos fenólicos y flavonoides, con un alto potencial antioxidante. Si bien la población consume esta planta en forma de infusiones (extracto acuso), los resultados obtenidos con el extracto metanólico son un aporte importante que sirve de guía u orientación para los investigadores en fitoquímica y bioquímica farmacológica.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Guzmán-Heras Le, García-Mir V, Cues Danin A, Baker, Herbert G. *Portulaca oleracea* subsp. *granulatostellulata* (poelln.) danin & h.g. baker. Israel J. Bot. 1978; 189-194.
2. Doña I, Blanca-López N, Torres MJ, García-Campos J, García-Núñez I, Gómez F, et. al. Drug hypersensitivity reactions: response patterns, drug involved, and temporal variations in a large series of patients. J Investig Allergol Clin Immunol. 2012; 22(5):363-371.
3. Iranshahy M, Javadi B, Iranshahi M, Jahanbakhsh SP, Mahyari S, Hassani FV, et al. A review of traditional uses, phytochemistry and pharmacology of *Portulaca oleracea* L. J Ethnopharmacol. 2017; 205:158-172.
4. Costello R, David T, Jani M. Impact of adverse events associated with medications in the treatment and prevention of rheumatoid arthritis. Clin. Er. 2019; 41(7): 1376-1396.
5. Guzmán L, García V, Cuesta O, Gladys-Rubio G, Jaramillo-Jaramillo GC, Japón R. composición química y actividad antiinflamatoria de extracto de partes aéreas de *Portulaca oleracea* (verdolaga). Rev. Cuba. Farm. 2017; 51(1):132-134.
6. Meléndez M, Alvarado S, Ligia Castro L. Identificación y conocimiento de las plantas medicinales expeditas en los mercados principal y libre de Maracay, estado Aragua, Venezuela. Rev. Fac. Agron. 2012; 38(2): 64-70
7. Alam M.A, Juraimi A.S, Rafii M.Y, Abdul-Hamid A, FAslani F, Hasan M.M, et. al. Evaluation of antioxidant compounds, antioxidant activities, and mineral composition of 13 collected purslane (*Portulaca oleracea* L.). Biomed. Res. Int. 2014; 29(2):243-256.
8. Gradinaru G, Biliaderis Cg, Kallithraka S, Kefalas P, Garcia-Viguera C. Thermal stability of *hibiscus sabdariffa* L. anthocyanins in solution and in solid state: effects of copigmentation and glass transition. Food Chem. 2003; 83(3): 423-436.
9. Singleton VL, Rossi JA. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. Am J Enol Vitic. 1965; 16 (3): 144-158.
10. Marinova D, Ribarova F, Atanassova M. total phenolics and total flavonoids in bulgarian fruits and vegetables. J Chem Technol Metall. 2005; 40(3): 255-260.
11. Soler-Rivas C, Espín J, Wichers H. An easy and fast test to compare total free radical scavenger capacity of foodstuffs. Photochem. Ana. 2000; 11(1): 330-338.

12. Benzie I.F.F, Strain J.J. The ferric reducing ability of plasma (frap) as a measure of "antioxidant power": the frap assay. *Ana Biochem.*1996; 239(1): 70-76.
13. Aspé E, Fernández K. Comparison of phenolic extracts obtained of pinus radiata bark from pulp and paper industry and sawmill industry. *Ciencia y Tecnología.* 2011; 13(3):243-252.
14. Gironi F, Piemonte V. Temperature and solvent effects on polyphenol extraction process from chestnut tree wood. *Chem Eng Res and Des.*2011; 89:857-862.
15. Amyrgialaki E, Makris D.P, Mauromoustakos A, Kefalas P. Optimisation of the extraction of pomegranate (*Punica granatum*) husk phenolics using water/ethanol solvent systems and response surface methodology. *Indus Crops and Products.* 2014; 59:216-222.
16. Capriotti A.L, Cavaliere C, Crescenzi C, Foglia P, Nescatelli R, Samperi R, et al. Comparison of extraction methods for the identification and quantification of polyphenols in virgin olive oil by ultra-hplc-qtof mass spectrometry. *Wood Chem.* 2014; 158:392-400.
17. Fu L, Xu B.T, Xu X.R, Gan R.Y, Zhang Y, Xia E.Q, et. al. Antioxidant capacities and total phenolic contents of 62 fruits, *Food Chem.* 2011; 129(1): 345-350.
18. Gan R.Y, Li H.B, Gunaratne A, Sui Z.Q, Corke H. Effects of fermented edible seeds and their products on human health: bioactive components and bioactivities. *Food Scientific.*2017; 16: 489-531.
19. Ramirez-Rodrigues M, Plaza M, Azeredo A, Balaban M, Marshall R. Physicochemical and phytochemical properties of cold and hot water extraction from *Hibiscus sabdariffa*. *J. Food Sci.* 2011; 76(3): 428-435.
20. Ramirez-Azuaje D, Pinto-Catari I, Peraza-Marrero M, Orosco-Vargas C, Pacheco-Coello F. *Hibiscus sabdariffa* L. Una comparación de compuestos fenólicos totales y flavonoides en cálices y hoja. *VITAE.* 2018; 76: 1-5.
21. Pacheco Coello F, Orosco-Vargas C, Peraza-Marrero M, Pinto-Catari I, Ramirez-Azuaje D. Effect of an extract of *hibiscus sabdariffa* L., on oxidative stress induced in *saccharomyces cerevisiae*. *Ciencia, Ambiente. Clima.* 2020; 3(1): 41-46.
22. Gruszycki M.R, Valenzuela G.M, Báez M, Leguiza PD, Gruszycki A.E, Alba D.A. Evaluación de la actividad antioxidante en extractos hidroalcohólicos de *Portulaca ole- racea* L. *Rev. Colomb. Cienc. Quím. Farm.* 2019; 48(2): 425-435.