

Comparación de la actividad antioxidante y cuantificación de polifenoles y flavonoides totales en algunos alimentos típicos mexicanos

ANA PAOLA GÓMEZ RAMÍREZ, SUSANA FERNÁNDEZ ROSAS, REGINA NOEMI LLANO TAMAYO, JUAN RODRIGO SALAZAR

Resumen— La presencia de flavonoides y polifenoles en distintos alimentos de origen vegetal es ubicua al ser producidos de manera natural por las plantas. En años recientes, estos compuestos han llamado la atención de científicos quienes han descubierto su capacidad antioxidante y han relacionado su consumo con la prevención o la mejoría en el estado de salud de personas que presentan patologías asociadas a la presencia de radicales libres. En México se consumen de forma cotidiana diversas frutas y verduras, además de diversos platillos preparados, pero solo de algunos de ellos se tienen antecedentes de su composición de compuestos fenólicos y de su capacidad antioxidante.

En este proyecto se prepararon extractos orgánicos de acetato de etilo y metanol, se evaluó la capacidad antioxidante y se cuantificó el contenido de flavonoides y polifenoles totales de cada extracto. Los resultados indican una alta actividad antioxidante en diversas especies de chiles como el piquín, pasilla, guajillo, igualmente altas concentraciones de polifenoles y flavonoides en muestras de epazote, perejil e igualmente algunos chiles. En conclusión, obtener una base de datos sobre el contenido fenólico algunos componentes de la dieta mexicana con el fin de poder mejorar la cultura alimentaria de la población.

I. INTRODUCCIÓN

México es un país que destaca a nivel mundial por diversos aspectos culturales, por ejemplo, su gastronomía. La gastronomía mexicana está reconocida por la UNESCO como patrimonio cultural de la humanidad (1). Desafortunadamente, también existen diversos aspectos negativos en el ámbito de la salud en los que México destaca, por ejemplo, la alta incidencia de afecciones de carácter crónico degenerativo y ser uno de los primeros lugares a nivel mundial en el índice de obesidad (2). Según la Secretaría de Salud, más del 50 % de la población mexicana muere a causa de enfermedades crónico-degenerativas como el cáncer, diabetes u otras patologías cardiovasculares (3). Este tipo de padecimientos están asociados con los radicales libres de oxígeno (ROS) y otras especies reactivas. Estas sustancias son producto de reacciones metabólicas como la respiración celular. La presencia de estas sustancias es normal en el organismo, sin

embargo, cuando la relación de ROS y los mecanismos antioxidantes endógenos (antioxidantes enzimáticos, vitaminas, hemoglobina, etc.) está en desequilibrio, se genera estrés oxidativo que está implicado en la génesis de las enfermedades crónico-degenerativas antes mencionadas (4).

Existe evidencia que demuestra que algunas especies químicas pueden fungir como antioxidantes complementarios a los ya presentes de manera natural en el organismo. Estas sustancias se conocen como fitoquímicos y están presentes en los vegetales que consumimos de forma habitual. Los fitoquímicos son moléculas producidas como metabolitos secundarios que dan color, olor y sabor a diferentes partes de la planta. Se ha comprobado inclusive en algunos estudios clínicos que el consumo de estas sustancias brinda beneficios a la salud, por ejemplo, la inhibición de la carcinogénesis (5), aumento de la capacidad antioxidante plasmática (6), aumento en los niveles plasmáticos de lipoproteínas de baja densidad (7), regulación en la homeostasis del colesterol (8) entre otros (9).

Los fitoquímicos se clasifican en distintos grupos y subgrupos como carotenos, fenoles, alcaloides, esteroides, etc. y su presencia es ubicua en los vegetales incluyendo aquellos que utilizamos como alimento, de hecho existen estudios en los cuales se ha determinado que la ingesta promedio de polifenoles en una dieta como la mediterránea es de 2 a 3 gramos al día, la cual incluye una gran cantidad de frutas y vegetales como jitomate, aceitunas, cebolla, ajo, puerro, col, manzana, higo, entre otros (10). A pesar de los pocos antecedentes en la literatura de la cantidad de polifenoles y capacidad antioxidante de la dieta mexicana, hay evidencia de que en México se consumen más de 800 mg diarios de polifenoles gracias al alto consumo de frutas y verduras; gracias a este consumo la dieta mexicana tiene un potencial antioxidante similar al de la dieta mediterránea (11).

Uno de los grupos más abundantes dentro de la categoría de fitoquímicos son los polifenoles. Presentan una amplia gama de estructuras químicas donde se incluyen distintas subcategorías como los flavonoides, taninos y ácidos fenólicos, así como otros subderivados de estos mismos (12). Los polifenoles constituyen uno de los grupos de metabolitos secundarios más vastos y variados en el reino vegetal de los cuales se han identificado más de 8000 (13). Estos presentan propiedades antioxidantes existen diferentes métodos analíticos para su detección y cuantificación (14).

ANA PAOLA GÓMEZ RAMÍREZ, SUSANA FERNÁNDEZ ROSAS, REGINA NOEMI LLANO TAMAYO, JUAN RODRIGO SALAZAR*

Laboratorio multidisciplinario de investigación, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad La Salle, México. Av. Benjamín Franklin 45, Condesa, 06140 Ciudad de México, CDMX

juan.salazar@ulsa.mx

Por otro lado, los flavonoides son un grupo de compuestos de origen natural, que se caracterizan por estar formados de un sistema de dos anillos aromáticos que se une mediante tres carbonos los cuales forman un heterociclo con un oxígeno (15). Estos compuestos se localizan en diferentes estructuras de las plantas y tienen varias funciones, entre ellas como pigmentos entre otras. Por otro lado, se ha demostrado que presentan diferentes actividades biológicas *in vitro* e *in vivo* en diferentes modelos biológicos como antiinflamatorios, antimicrobianos, entre otras (16).

II. JUSTIFICACIÓN

Considerando la incidencia de enfermedades crónico-degenerativas en México como la obesidad y los antecedentes que relacionan la ingesta de alimentos ricos en polifenoles con la mejoría del estado de salud de quienes los consumen, se decidió estudiar la actividad antioxidante y cuantificar el contenido de polifenoles totales y flavonoides de extractos orgánicos obtenidos a partir de diferentes especies vegetales utilizados como alimentos en México.

III. OBJETIVOS

General. Comparar la actividad antioxidante de los extractos de distintos alimentos consumidos en México, así como cuantificar el contenido de polifenoles totales y flavonoides presentes en los alimentos.

Particulares

- Obtener los extractos de acetato de etilo y metanol de los distintos alimentos por el método de dispersión sólida de la matriz.
- Cuantificar la actividad antioxidante de los extractos de acetato de etilo y metanol por el método de DPPH.
- Cuantificar polifenoles totales de los extractos de acetato de etilo y metanol por el método de Folin-Ciocalteu.
- Cuantificar los flavonoides totales de los extractos de acetato de etilo y metanol por el método de tricloruro de aluminio.

IV. METODOLOGÍA

Selección de especies vegetales y alimentos

Se seleccionaron diferentes muestras según se indica en el cuadro I. Se incluyen alimentos de diferentes categorías, desde aquellos que son considerados verduras, chiles y otros alimentos procesados consumidos de forma común.

Extracción

Se utilizó la técnica de la dispersión de la matriz de la fase sólida (17) que consistió en lo siguiente: las muestras de vegetales y alimentos preparados se deshidrataron en una estufa de laboratorio a 50 °C por cinco horas (18). Después, un gramo de cada muestra se mezcló con un gramo de sílica gel (Sigma Aldrich). Las mezclas resultantes se colocaron individualmente en jeringas de cinco ml de capacidad (uso común, marca BD) y se realizó la extracción de cada una de ellas con tres ml de acetato de etilo (Sigma Aldrich). El extracto de cada muestra se recolectó individualmente en

frascos de vidrio pesados previamente. Utilizando la misma muestra dentro de cada jeringa, se realizó la extracción con tres ml de metanol (Sigma Aldrich), siguiendo el mismo procedimiento previo y colocando cada extracto de metanol en otro frasco limpio y pesado. Cada extracto obtenido se concentró, evaporando el disolvente a temperatura ambiente utilizando una bomba de vacío. Los extractos se mantuvieron en refrigeración a temperatura de 1°C hasta su uso, y para realizar los ensayos, cada extracto se resuspendió en 1 ml de etanol (Sigma Aldrich).

Todas las pruebas se realizaron por duplicado en microplacas para ELISA de 96 pozos (Costar de fondo plano). Las lecturas para la determinación de la capacidad antioxidante, cuantificación de polifenoles totales y de flavonoides se realizaron con un lector de placas para ELISA (Biotec, EPOCH), usando el software Gen 5 (Biotec).

CUADRO I
MUESTRAS RECOLECTADAS AGRUPADAS SEGÚN TIPO DE ALIMENTO

Verduras	Chiles	Alimentos procesados
Perejil	Ancho	Clavo
Cilantro	Habanero	Pimentón
Orégano	Pasilla	Tortilla de maíz amarillo
Epazote	Piquín	Amaranto Natural comercio
Calabaza	Chile de árbol	Chocolate "Mayordomo"
Pimiento Rojo	Chipotle	Mole rojo de Oaxaca
Ajo	Piquín	Miel de Maguey
Jitomate	Morita	Sal de gusano
Nopal	Bola	Mole comercial "Doña Mari"
	Guajillo	Frijol Peruano "Verde Valle"
	Serrano	Achiote "La Anita"
		Mezcla de Chiles en aceite "Yepato"
		Sal de gusano con chile

Evaluación de la capacidad antioxidante por el método de la reducción del radical DPPH.

Para evaluar la actividad antioxidante se usó el método de DPPH (19) con algunas modificaciones. El método evalúa la capacidad del extracto para reducir el radical DPPH (Sigma Aldrich). Para lo cual se colocaron por duplicado 50 µl de cada extracto en un pozo junto con 140 µl de solución de DPPH a 0.06 mg/ml, la placa se agitó suavemente por media hora a temperatura ambiente y protegida de la luz. Después del tiempo, se determinó la absorbancia de cada pozo a una longitud de 515 nm. Los resultados se expresan en porcentaje de reducción de DPPH. En dos pozos se colocaron 140 µl de solución de DPPH a 0.06 mg/ml y 50 µl de etanol para obtener la absorbancia nativa de la solución de DPPH. Se calculó el % de reducción de DPPH con la fórmula $\%DPPH_{red} = (ABS_{DPPH} - ABS_{muestra} / ABS_{DPPH}) \times 100$. Los resultados se expresan como la media aritmética del % de reducción de DPPH ± DE.

Cuantificación de Polifenoles totales por el método de Folin-Ciocalteu

Este experimento se realizó utilizando la metodología previamente descrita (20) con algunas modificaciones. Por duplicado, en un pozo de una placa para ELISA de 96 pozos se colocaron por separado 10 µl de cada extracto y se adicionaron 20 µl de reactivo de Folin-Ciocalteu (Sigma Aldrich) al 10% junto con 80 µl de Na₂CO₃ (Sigma Aldrich)

al 7.4%. Al concluir el llenado de los pozos, la placa se agitó por dos horas y se realizó la lectura de la absorbancia de las muestras a 760 nm. Usando la ecuación de la recta obtenida por la regresión lineal de la curva estándar de ácido gálico (ver Figura 1), en la que se obtuvo la absorbancia a 760 nm de concentraciones de 25, 100, 300, 400, 500, 600 y 700 µg/ml de ácido gálico, se obtuvieron los mg equivalentes de ácido gálico por g de extracto. Los resultados se expresan como la media aritmética \pm DE.

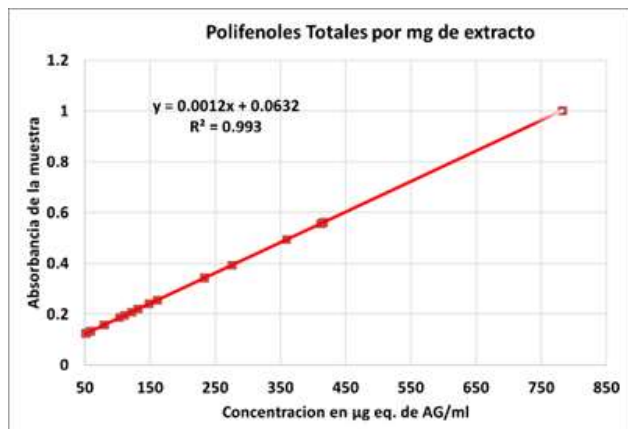


Figura 1. Resultados para curva standard usando ácido gálico, obtenida por programa Excel.

Cuantificación de flavonoides por el método de tricloruro de aluminio.

Para la determinación de la concentración de flavonoides, se utilizó la metodología previamente descrita (21) con algunas modificaciones. Brevemente, por duplicado en un pozo de una placa para ELISA de 96 pozos se colocaron por separado 75 µl de cada extracto seguido de 75 µl de NaNO₂ 6 mg/ml (Sigma Aldrich), 75 µl de AlCl₃ 22mg/ml (Sigma Aldrich) y 75 µl de NaOH 0.8 M (Sigma Aldrich). Una vez completado el llenado de pozos, la placa se agitó por dos horas. Al término del tiempo se realizó la lectura de la absorbancia de las muestras a 510 nm. Usando la ecuación de la recta obtenida de la regresión lineal (ver Figura 2) de los datos de la curva estándar preparada con quercetina (Sigma Aldrich) como flavonoide de referencia a las concentraciones de 0.320, 0.160, 0.080, 0.040, 0.020 mg/ml, se obtuvieron los mg equivalentes de quercetina por g de extracto. Los resultados se expresan como la media aritmética \pm DE.

Estadística.

Se utilizó el programa Infostat para realizar el análisis de la varianza usando una $p=0.05$. Los resultados estadísticamente significativos son aquellos con letras distintas en cada cuadro reportado. Por otro lado, se realizó una correlación de Pearson, entre los valores de actividad antioxidante con cada uno de los promedios de polifenoles y flavonoides.

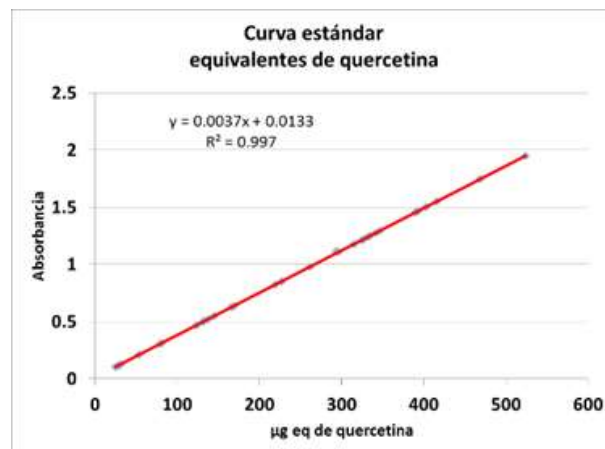


Figura 2. Resultados para curva standard usando quercetina, obtenida por programa Excel.

Correlación de Pearson: Coeficientes/probabilidades

	mgEAG/g	mgEQ/g	%reduccionDPPH
mgEAG/g	1.00	0.01	0.88
mgEQ/g	0.44	1.00	0.08
%reduccionDPPH	-0.03	-0.31	1.00

Figura 3. Resultados para prueba de Pearson.

V. RESULTADOS

Extracciones

Se obtuvieron los extractos de acetato de etilo y de metanol de cada vegetal o alimento procesado, algunos fueron de colores vivos e intensos como fue en el caso de la mayoría de los chiles, algunos moles y hiervas como el epazote y el perejil. También hubo algunos completamente incoloros como fue en el caso de la tortilla. En algunos casos como fue con los moles y ciertos chiles como el chile pasilla y el chile ancho, se observaron pequeñas gotas aceitosas las cuales se lograron disolver en etanol; con el chocolate, después de un tiempo en reposo se formaron algunos solidos de color blanquecino, los cuales fueron filtrados para proceder a realizar los ensayos.

Evaluación de la capacidad antioxidante.

El DPPH en solución en etanol da un color morado intenso. Según la capacidad antioxidante de cada extracto fueron los cambios observados en los pozos de placa para ELISA. Los colores observados (ver Figura 4) van desde transparentes, hasta tonalidades de morado.



Figura 4. Resultados de prueba con DPPH.

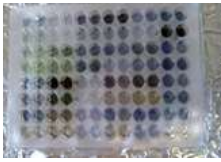


Figura 5. Placa de ELISA para cuantificación de polifenoles totales por método de Folin.



Figura 6. Placa de ELISA para cuantificación de flavonoides por método de tricloruro de aluminio

A continuación, se muestran los resultados de la capacidad antioxidante de cada extracto de cada alimento en el cuadro II. Los resultados se muestran como porcentaje de reducción de DPPH. Los alimentos con mayor actividad en el extracto de metanol no siempre fueron altos en actividad en el extracto de acetato y viceversa. Se observó un amplio rango de valores, para acetato los valores van desde no detectado, hasta 100%, en metanol van desde 3% de reducción hasta un 100%.

CUADRO II
RESULTADOS PARA PRUEBA DE ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE EN
EXTRACTOS DE ACETATO DE ETILO Y DE METANOL. LOS
RESULTADOS SE ENVUESTRAN COMO PORCENTAJE DE
REDUCCIÓN DE DPPH

Especie	% de reducción de DPPH en extractos de acetato	% de reducción de DPPH en extractos de metanol
Perejil	87.82	28.50
Cilantro	14.85	22.61
Orégano	100	10.28
Tomate	5.77	21.55
Nopal	89.38	23.11
Espinaca	100	11.13
Calabaza	0.94	10.28
Tomillo	ND	44.57
Ancho	100	23.32
Habanero	100	10.77
Pasilla	100	23.39
Piquin	100	10.14
Chile de árbol	11.79	10.14
Chipotle	16.03	20.70
Amaranto	ND	9.43
Fenigrama	9.19	10.21
Morita	100	22.33
Bola	54.62	20.88
Guajillo	100	11.62
Ajo	ND	43.39
Serrano	100	10.77
Miel	13.33	20.21
Sal de guano	ND	19.86
Mole comercial	100	10.02
Piñón	100	11.97
Chocolate	59.42	20.98
Mole rojo	70.78	10.36
Achote	ND	100
Pimentón	ND	100
Sal de guano con chile	44.10	23.36
Clavo	79.23	20.55
Mezcla de chiles en aceite	ND	13.91

ND. No detectado.

Cuantificación de polifenoles totales por método Folin-Ciocalteu

El resultado de la reacción de Folin-Ciocalteu es un cambio de coloración en tonos de azul, dependiendo de la concentración de polifenoles es la intensidad del color azul (ver figura 5). El resultado obtenido para los diferentes extractos es una placa con una gran variedad de tonalidades de azul. Se observaron diferencias entre los resultados de los extractos de acetato de etilo y de metanol sin importar que fuera la misma especie, los valores van desde 7 hasta 473 mg eq de ácido gálico por g de extracto.

A continuación, se muestra el cuadro III con los resultados para ambos disolventes. Los resultados se muestran como mg equivalentes de ácido gálico por gramo de extracto \pm desviación estándar.

Cuantificación de flavonoides por método de tricloruro de aluminio

En los resultados de la placa para el método de tricloruro de aluminio se observaron coloraciones naranjas y amarillas (ver figura 6), esto en los extractos que contenían mayor cantidad de flavonoides.

A continuación, se muestra el cuadro IV con los resultados de la cuantificación de flavonoides en las muestras de alimentos.

VI. ANÁLISIS DE RESULTADOS

Se trabajaron 34 muestras de vegetales y alimentos preparados de distinta naturaleza, los resultados fueron variados entre si debido a la amplia gama de muestras usadas.

De cada muestra de vegetales y alimentos se realizaron dos extracciones, una con acetato de etilo y otra con metanol, con el propósito de aislar moléculas de distintas polaridades, moléculas de mediana polaridad extraídas con acetato de etilo, y moléculas más polares extraídas con metanol. Se estudió una amplia variedad de alimentos de muy diversa naturaleza buscando determinar la capacidad antioxidante de cada alimento por medio de la reducción del radical libre DPPH y la concentración de polifenoles y flavonoides presentes en cada alimento. Todos los experimentos se realizaron en microescala, buscando disminuir el uso de reactivos, y disminuir la generación de residuos.

Al comparar los resultados de las tres pruebas, de forma general pudimos observar cómo aquellos con mayor actividad antioxidante y cantidad de mg equivalentes de polifenoles fueron las diversas especies de chiles, algunas hierbas o alimentos que contenían estos en su elaboración. Esta relación entre la cantidad de polifenoles y la actividad antioxidante se comprobó con la prueba de Pearson que muestra un 88% de correlación. No obstante, los flavonoides mostraron solo un 8%, lo que indica que no existen correlación entre la cantidad de flavonoides y la actividad antioxidante, por lo que es probable que la actividad antioxidante se deba a la presencia en conjunto de polifenoles y de otro tipo de moléculas que tienen mayor impacto en la actividad antioxidante aunado a que el método de tricloruro no cuantifica a todos los flavonoides. El chile Ancho, Pasilla, Habanero, Serrano, Morita, Pasilla y Guajillo, presentaron altos niveles de

capacidad antioxidante en ambos disolventes siendo de 100% en su mayoría, estos mismos mostraron tener una alta concentración de polifenoles, en especial el piquín (345mg), chipotle (311 mg), habanero (203 mg), ancho (108 mg) y pasilla (102 mg) datos que están en concordancia con lo reportado con anterioridad (11). El potencial antioxidante de los chiles coincide con datos previos del alto contenido de flavonoides de estas especies. Dentro de los flavonoides de mayor incidencia en chiles está la quercetina, cianidina, catequina, epicatequina, luteolina, entre otros. Sin embargo, es conocido que la capacidad antioxidante de los chiles, no sólo de debe a flavonoides, igualmente se debe a compuestos de tipo capsaicinoides, abundantes en los chiles (22), las cuales no fueron cuantificadas en este estudio.

CUADRO III
RESULTADOS PARA CUANTIFICACIÓN DE POLIFENOLES
USANDO EL MÉTODO DE FOLIN

Especie	mgGAIH ₂ /g en extracto de acetato de etilo 95:5 D.E.	Prueba de ANOVA	mgGAIH ₂ /g en extracto de acetato de etilo 95:5 D.E.	Prueba de Tukey
Perejil	58.70 ± 0.40	100%	140.01 ± 0.58	100%
Cilantro	18.61 ± 0.15	100%	71.80 ± 0.08	100%
Orégano	473.89 ± 0.11	100%	91.87 ± 0.05	A
Albahaca	100.08 ± 0.08	100%	40.89 ± 0.19	100%
Nopal	324.01 ± 0.08	100%	134.70 ± 0.08	A
Epazote	948.81 ± 0.08	100%	196.99 ± 0.08	A
Calabaza	11.88 ± 0.14	100%	13.77 ± 0.11	100%
Tortilla	2.89 ± 0.04	100%	18.77 ± 0.11	100%
Ancho	52.13 ± 0.05	100%	108.38 ± 1.39	100%
Habanero	50.89 ± 0.03	100%	203.01 ± 0.79	100%
Pasilla	58.02 ± 0.11	100%	102.58 ± 0.13	100%
Piquín	345.33 ± 0.79	100%	95.58 ± 0.51	A
Chile de árbol	248.28 ± 0.08	100%	41.87 ± 0.08	A
Chipotle	311.89 ± 0.14	100%	113.88 ± 0.08	100%
Anacardo	10.51 ± 0.11	100%	12.17 ± 0.08	100%
Pimentón	41.94 ± 0.08	100%	187.30 ± 1.39	100%
Morita	147.00 ± 0.33	100%	28.59 ± 0.04	100%
Bola	24.81 ± 0.06	100%	17.13 ± 0.38	100%
Guajillo	413.31 ± 0.01	100%	4.88 ± 0.08	100%
Ajo	108.51 ± 0.07	100%	7.88 ± 0.11	100%
Serrano	28.39 ± 0.11	100%	87.39 ± 0.11	100%
Miel	15.50 ± 0.04	100%	4.81 ± 0.18	100%
Sal de gusano	5.22 ± 0.04	100%	48.54 ± 0.10	100%
Mole comercial	108.80 ± 0.34	100%	21.58 ± 0.14	100%
Frijol	18.23 ± 0.17	100%	78.84 ± 0.71	100%
Chocolote	4.01 ± 0.01	100%	30.39 ± 1.18	100%
Mole rojo	68.58 ± 0.28	100%	222.85 ± 4.58	100%
Alchifón	18.50 ± 0.01	100%	298.51 ± 1.54	100%
Pimentón	182.45 ± 0.43	100%	64.64 ± 0.13	100%
Sal de gusano con Chile	89.42 ± 0.01	100%	238.00 ± 0.33	100%
Clavo	45.20 ± 0.11	100%	78.01 ± 0.86	100%
Muestra de chiles en aceite	368.18 ± 0.38	100%	210.39 ± 0.41	100%

Según investigaciones previas el chile habanero posee altos niveles de quercetina y epicatequina, de igual forma el chile piquín (23), dato que coincide con los resultados experimentales puesto que el piquín fue de los más altos en polifenoles. El chile chipotle mostro alta concentración de polifenoles, pero una baja actividad antioxidante, esto puede deberse a que, aunque posee una cantidad considerable de estas moléculas, al compararlo con otras muestras estas sean más antioxidantes por la presencia de otras moléculas con mayores propiedades antiradicalaria como capsaicinoides. Basándonos en investigaciones previas, los derivados de capsaicinas son abundantes en chiles, especialmente el chile guajillo, ancho, piquín y morita que, si se compara con los resultados (24), fueron los más altos en la prueba con DPPH. Esto demuestra cómo los polifenoles a pesar de ser importantes antioxidantes no son los únicos ni los más potentes.

A pesar de que al cuantificar flavonoides algunos chiles destacaron como: pasilla (60 mg), chipotle (35.29) y habanero (131 mg), no fueron los más altos en actividad antioxidante, lo que refuerza la idea de la existencia en las muestras analizadas de otros antioxidantes de naturaleza distinta a los flavonoides que pudieran ser más eficaces que estos. Una posible mejora a la metodología sería complementar con la cuantificación de compuestos capsaicinoides, carotenoides entre otros (25).

CUADRO IV
RESULTADOS PARA CUANTIFICACIÓN DE FLAVONOIDES
USANDO EL MÉTODO DE TRICLORURO DE ALUMINIO

Especie	mgFCI ₂ /g en extracto de acetato de etilo 95:5 D.E.	Prueba de ANOVA	mgFCI ₂ /g en extracto de acetato de etilo 95:5 D.E.	Prueba de ANOVA
Perejil	7.80 ± 0.00	100%	104.38 ± 0.03	A
Cilantro	6.53 ± 0.01	100%	57.99 ± 0.02	B
Orégano	17.05 ± 0.06	100%	9.22 ± 0.11	DEFGH
Albahaca	22.56 ± 0.00	100%	14.10 ± 0.02	DEFGH
Nopal	3.39 ± 0.00	100%	5.34 ± 0.02	FGH
Epazote	65.56 ± 0.00	100%	27.73 ± 0.07	BCD
Calabaza	10.48 ± 0.00	100%	13.87 ± 0.01	CDEF
Tortilla	36.93 ± 0.00	100%	12.80 ± 0.03	DEFG
Ancho	1.01 ± 0.01	100%	8.51 ± 0.10	FGH
Habanero	36.19 ± 0.00	100%	151.65 ± 0.01	A
Pasilla	2.54 ± 0.00	100%	60.30 ± 0.00	B
Piquín	2.01 ± 0.00	100%	7.11 ± 0.03	DEFGH
Chile de árbol	±	100%	±	DEFGH
Chipotle	15.52 ± 0.01	100%	18.98 ± 0.00	100%
Epazote	0.36 ± 0.00	100%	35.29 ± 0.02	BCD
Anacardo	176.53 ± 0.00	100%	50.41 ± 0.00	BC
Pimentón	21.94 ± 0.00	100%	48.05 ± 0.01	A
Morita	77.32 ± 0.00	100%	6.96 ± 0.04	CDEFG
Bola	11.88 ± 0.00	100%	6.50 ± 0.07	GH
Guajillo	106.64 ± 0.00	100%	3.42 ± 0.05	GH
Ajo	61.81 ± 0.00	100%	2.89 ± 0.01	GH
Serrano	1.44 ± 0.00	100%	6.87 ± 0.06	FGH
Miel	6.07 ± 0.01	100%	3.75 ± 0.01	GH
Sal de gusano	±	100%	±	CDH
Mole comercial	2.80 ± 0.00	100%	27.97 ± 0.02	100%
Frijol	±	100%	±	FGH
Chocolote	51.05 ± 0.00	100%	3.64 ± 0.04	100%
Mole rojo	1.73 ± 0.00	100%	13.94 ± 0.02	DEFGH
Alchifón	3.41 ± 0.04	100%	0.52 ± 0.02	100%
Pimentón	39.49 ± 0.11	100%	30.43 ± 0.01	CDEF
Alchifón	11.31 ± 0.18	100%	29.24 ± 0.00	CDEF
Pimentón	78.66 ± 0.24	100%	6.52 ± 0.01	FGH
Sal de gusano con Chile	±	100%	±	GH
Clavo	26.81 ± 0.01	100%	2.32 ± 0.01	100%
Muestra de chiles en aceite	27.14 ± 0.06	100%	44.01 ± 0.04	BC
Muestra de chiles en aceite	±	100%	±	GH
Muestra de chiles en aceite	1.43 ± 0.03	100%	151.37 ± 0.05	100%

En cuanto a los vegetales evaluados, el perejil (67%), la calabaza (52%), el orégano (100%) y epazote (100%) fueron los que mostraron los resultados más altos en actividad antioxidante. Se conoce que los polifenoles son producidos por las plantas y son responsables entre otras cosas de la coloración, sabor, olor, etc. Característicos de estos vegetales. Estos vegetales se distinguen por ser especies que aportan sabores muy particulares a la gastronomía mexicana. De algunos de estos como el perejil, epazote y orégano se han aislado distintos ácidos fenólicos (26). En este estudio, el perejil (104 mg) es rico en flavonoides, mientras que el epazote a pesar de tener alto contenido de polifenoles (348 mg), es bajo en flavonoides (63 mg), lo cual es similar a lo encontrado previamente (27).

Por otro lado, las verduras que mostraron mayor porcentaje de reducción de DPPH son el nopal (90%) y el pimiento (100%). El nopal con alto contenido de polifenoles (324 mg) dio un bajo contenido de flavonoides (3.4 mg). Esto se puede deber a que la mayoría de sus componentes antioxidantes son ácidos fenólicos distintos a los flavonoides, de hecho, se conoce que es rico en beta-carotenos que se conocen por sus

propiedades antioxidantes. De igual forma pasa con el pimiento (167 mg), alto en beta-carotenos, y algunas vitaminas como la C es posible que estas vitaminas no se hayan podido aislar puesto que son solubles en agua, sin embargo, el porcentaje de actividad antioxidante del pimiento es alto probablemente por la presencia en los extractos, de algunos de sus componentes de tipo carotenoide como luteína y zeaxantina.

Se esperaba que el jitomate (41%) diera una actividad antioxidante mayor, sin embargo, la naturaleza de sus componentes (licopeno) es hidrofóbica, lo más probable es que este compuesto no se pudiera extraer bajo las condiciones empleadas.

De forma muy particular, el chocolate mostro alta actividad antioxidante (61%), pero su contenido de flavonoides es de los más bajos (0.52 mg). Según datos previos (16) esto se puede explicar a que, aunque poseen grandes cantidades de polifenoles, estos son de una naturaleza química distinta a los flavonoides.

Vale la pena resaltar que el Achiote, pimentón, el mole rojo y la sal de gusano una alta actividad antioxidante (100%), así como valores significativos en polifenoles (296, 182, 222 y 236 mg respectivamente) y flavonoides (29, 48, 51, 27 mg respectivamente). Estos resultados son especialmente importantes ya que nos muestran cómo en la gastronomía mexicana, se pueden conjuntar las propiedades de diferentes ingredientes, logrando resultados excepcionales no sólo en sabor, igual en especies químicas con propiedades antioxidantes. El achiote aparte de diversas especias, contiene chile habanero, clavo, cilantro, orégano, tomate que son unas de las especies que se estudiaron de forma aislada, mientras que el mole rojo puede contener chile mulato, chile pasilla, chipotle, jitomates, perejil, aparte de otras especies de las cuales igual se saben sus propiedades antioxidantes, aunque en muestras comerciales es común el uso de conservadores como el ácido cítrico que pudiera interferir en los ensayos (28). Asimismo, en la sal de gusano, la muestra con chile tiene más del cuádruple de capacidad antioxidante (100%) que la muestra de sal sin chile (19 %), lo que demuestra que el aumento en la actividad se debe a la presencia del chile habanero.

VI. CONCLUSIONES

Gracias a la metodología utilizada se pudieron cuantificar los polifenoles y flavonoides en los distintos alimentos, así como conocer su capacidad antioxidante

El análisis de la capacidad de antioxidante, la cuantificación de los polifenoles totales y los flavonoides nos permite tener una base de datos para iniciar otro estudio que incluya un mayor número de alimentos y con ello contribuir al conocimiento de las características antioxidantes y de composición de polifenoles de la dieta del mexicano. Comprobamos que los chiles son importantes alimentos antioxidantes, de igual forma conocimos las características de

algunas hierbas usadas comúnmente en la cocina mexicana como perejil, epazote y cilantro.

Con este estudio, contribuimos para resaltar la riqueza antioxidante de la dieta tradicional de nuestro país, demostrando que la gastronomía mexicana no sólo sobresale por su riqueza cultural, sino también por las propiedades benéficas que poseen diversos alimentos presentes en la cocina mexicana.

REFERENCIAS

1. Iturriaga J. Cocina mexicana patrimonio cultural de la humanidad. RSC Adv. 2015;5(70):56–56.
2. Birben E, Sahiner UM, Sackesen C, Erzurum S, Kalayci O. Oxidative Stress and Antioxidant Defense. World Allergy Organ J [Internet]. 2012 Jan 13;5(1):9–19. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3488923/>
3. Rello M. México, 2o país del mundo con mayor riesgo cardiovascular. México, 2o país del mundo con mayor riesgo cardiovascular. 2017.
4. Ramarathnam N, Osawa T. The contribution of plant food antioxidants to human health. 1994;(1985):75–82.
5. Alexandra R. Epidemiologic evidence for n-carotene and cancer. 2018;62(April).
6. van Poppel G, Goldbohm RA. Epidemiologic evidence for beta-carotene and cancer prevention. Am J Clin Nutr [Internet]. 1995 Dec 1;62(6):1393S–1402S. Available from: <http://dx.doi.org/10.1093/ajcn/62.6.1393S>
7. Lobo V, Patil A, Phatak A, Chandra N. Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. Pharmacogn Rev [Internet]. 2010 Mar 4;4(8):118–26. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3249911/>
8. Tsao R. Chemistry and Biochemistry of Dietary Polyphenols. Nutrients [Internet]. 2010 Dec 10;2(12):1231–46. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3257627/>
9. Martí R, Roselló S, Cebolla-Cornejo J. Tomato as a Source of Carotenoids and Polyphenols Targeted to Cancer Prevention. Cancers (Basel). 2016;8(6).
10. Hervert-Hernández D, García OP, Rosado JL, Goñi I. The contribution of fruits and vegetables to dietary intake of polyphenols and antioxidant capacity in a Mexican rural diet: Importance of fruit and vegetable variety. Food Res Int [Internet]. 2011;44(5):1182–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2010.09.021>
11. Zamora-Ros R, Biessy C, Rothwell JA, Monge A, Lajous M, Scalbert A, et al. Dietary polyphenol intake and their major food sources in the Mexican Teachers' Cohort. Br J Nutr. 2018;1–8.
12. Lewandowska U, Szweczyk K, Hrabec E, Janecka A, Gorlach S. Overview of Metabolism and Bioavailability Enhancement of Polyphenols. J Agric Food Chem [Internet]. 2013 Dec 18;61(50):12183–99. Available from: <https://doi.org/10.1021/jf404439b>
13. Espinosa-Alonso LG, Lygin A, Widholm JM, Valverde ME, Paredes-Lopez O. Polyphenols in Wild and Weedy Mexican Common Beans (*Phaseolus vulgaris* L.). J Agric Food Chem [Internet]. 2006 Jun 1;54(12):4436–44. Available from: <https://doi.org/10.1021/jf060185e>
14. Terao J. Dietary flavonoids as antioxidants. Forum Nutr. 2009;61:87–94.
15. Panche AN, Diwan AD, Chandra SR. Flavonoids: an overview. J Nutr Sci [Internet]. 2016 Dec 29;5:e47. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5465813/>
16. Wang HC, Brumaghim JL. Polyphenol compounds as antioxidants for disease prevention: Reactive oxygen species scavenging, enzyme regulation, and metal chelation mechanisms in E. coli and human cells. ACS Symp Ser. 2011;1083:99–175.
17. Bogialli S, Di Corcia A. Matrix solid-phase dispersion as a valuable tool for extracting contaminants from foodstuffs. J Biochem Biophys Methods [Internet]. 2007;70(2):163–79. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0165022X06001916>
18. Sun HN, Mu TH, Xi LS. Effect of pH, heat, and light treatments on the antioxidant activity of sweet potato leaf polyphenols. Int J Food Prop [Internet]. 2017;20(2):318–32. Available from: <http://dx.doi.org/10.1080/10942912.2016.1160410>
19. Kedare SB, Singh RP. Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay. J Food Sci Technol [Internet]. 2011 Aug 25;48(4):412–22. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3551182/>
20. Waterborg JH, Blainski A, Lopes GC, De Mello JCP. Application and analysis of the folin ciocalteu method for the determination of the total phenolic content from limonium brasiliense L. Protein Protoc Handbook, [Internet]. 2013;18(6):6852–65. Available from: <http://link.springer.com/10.1385/1-59259-169-8:7>
21. Pękala A, Pырzyska K. Evaluation of Aluminium Complexation Reaction for Flavonoid Content Assay. Food Anal Methods [Internet]. 2014;7(9):1776–82. Available from: <https://doi.org/10.1007/s12161-014-9814-x>
22. Mercado-Mercado G, Carrillo L de la R, Wall-Medrano A, Díaz JAL, Álvarez-Parrilla E. Compuestos polifenólicos y capacidad antioxidante de especias típicas consumidas en México. Nutr Hosp. 2013;28(1):36–46.
23. Vera-Guzmán AM, Aquino-Bolaños EN, Heredia-García E, Carrillo-Rodríguez JC, Hernández-Delgado S, Chávez-Servia JL. Flavonoid and Capsaicinoid Contents and Consumption of Mexican Chili Pepper (*Capsicum annuum* L.) Landraces. Flavonoids - From Biosynth to Hum Heal [Internet]. 2017; Available from: <http://www.intechopen.com/books/flavonoids-from-biosynthesis-to-human-health/flavonoid-and-capsaicinoid-contents-and-consumption-of-mexican-chili-pepper-capsicum-annuum-l-landra>
24. Usman MG, Rafii MY, Ismail MR, Malek MA, Latif MA. Capsaicin and dihydrocapsaicin determination in chili pepper genotypes using ultra-fast liquid chromatography. Molecules. 2014;19(5):6474–88.
25. Wang Y, Xia Y, Wang J, Luo F, Huang Y. Capsaicinoids in chili pepper (*Capsicum annuum* L.) powder as affected by heating and storage methods. Trans ASABE. 2009;52(6):2007–10.
26. Grünhage D. Free radical scavenging abilities of flavonoids as mechanism of protection against mutagenicity induced by tert-butyl hydroperoxide or cumene hydroperoxide in *Salmonella typhimurium*. 2003; Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1383571803001141>
27. Silva-Rocha WP, de Azevedo MF, Ferreira MRA, da Silva J de F, Svidzinski TIE, Milan EP, et al. Effect of the Ethyl Acetate Fraction of *Eugenia uniflora* on Proteins Global Expression during Morphogenesis in *Candida albicans*. Front Microbiol [Internet]. 2017 Sep 26;8:1788. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5622941/>
28. Villegas CE. ¿Sabes cuántos tipos de moles hay en México? 2015.
29. Pazinato C, Malta LG, Pastore GM, Maria Netto F. Antioxidant capacity of amaranth products: effects of thermal and enzymatic treatments. Vol. 33, Food Science and Technology. sciELO; 2013. p. 485–93.