



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO**  
**INSTITUTO DE CIENCIAS DE LA SALUD**  
**ÁREA ACADÉMICA DE NUTRICIÓN**

---

---

**Cuantificación de metabolitos secundarios y capacidad  
antioxidante en extractos de especies de *Acacia*  
(*Acacia schaffneri*, *laevigata* y *aculeaticarpa*).**

TESIS

Que para obtener el título de

Licenciada en Nutrición

PRESENTA

**P.L.N Ingrid Renata Santander Martínez**

No. Cuenta: 230911

Bajo la Dirección de:

**Dr. José de Jesús Manríquez Torres**

Profesor Investigador Universidad de Celaya Guanajuato

Codirector:

**Dr. Alberto Ortega Ariza**

Profesor Investigador Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo

**San Agustín, Tlaxiaca Hgo. Octubre de 2018**





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO  
INSTITUTO DE CIENCIAS DE LA SALUD  
ÁREA ACADÉMICA DE NUTRICIÓN



De acuerdo con el artículo 134 del Reglamento de Control Escolar vigente, el jurado de examen recepcional designado, autoriza para su impresión la Tesis titulada

**"Cuantificación de metabolitos secundarios y capacidad antioxidante en extractos de especies de *Acacia* (*Acacia schaffneri*, *laevigata* y *aculeaticarpa*)."**

Que para obtener el Título de Licenciada de Nutrición sustenta la Pasante

**C. Ingrid Renata Santander Martínez**

**ATENTAMENTE**  
**Pachuca, Hidalgo, 4 de octubre del 2018**  
**"Amor, Orden y Progreso"**

PRESIDENTE:	DRA. NELLY DEL SOCORRO CRUZ CANSINO
SECRETARIO:	DRA. DIANA PATRICIA OLIVO RAMÍREZ
PRIMER VOCAL:	DRA. ARACELI ORTIZ POLO
SEGUNDO VOCAL:	MTRO. TEODORO SUÁREZ DIÉGUEZ
TERCER VOCAL:	DR. JOSÉ DE JESÚS MANRÍQUEZ TORRES
PRIMER SUPLENTE:	DR. JOSÉ ALBERTO ARIZA ORTEGA
SEGUNDO SUPLENTE:	DR. MARCO AURELIO GONZÁLEZ UNZAGA

Esta tesis genero la siguiente participación en congreso:

“Identificación de metabolitos secundarios en extractos de especies de *Acacia* (*Acacia schaffneri* y *Acacia laevigata*) con capacidad antioxidante” Santander-Martínez Ingrid Renata, Manríquez-Torres José de Jesús. Torres- Valencia Jesús Martín. Comunicación en forma de cartel y oral, Presentada en el XXXIII Congreso Nacional AMMFEN ¿Somos lo que comemos? Celebrado en Mérida, Yucatán del 17 al 20 de abril del 2018. Obteniendo el 2do lugar en el concurso de carteles, categoría estudiantil.

## DEDICATORIA Y AGRADECIMIENTO

Este trabajo de investigación lo dedico con todo mi amor a mi mamá Margarita Martínez, mi papá Miguel Ángel Santander y a mi hermana Monthserrat Santander. Todas esas horas en el laboratorio repitiendo pruebas, buscando información, todo el esfuerzo y dedicación fue para ustedes y gracias de igual manera a ustedes, no desistí, ni renuncié ya que son mi motor y mi motivación. Gracias por su paciencia y por hacerme conocer lo orgullosos que están de mí. También es dedicada a toda mi familia, a mi tía Ali por su apoyo incondicional y a mi abuela Lupita; todo lo que he logrado y lo que aún me falta por lograr es únicamente para ti.

Gracias a mi director de tesis por su confianza, por creer en mí, por su apoyo y por los conocimientos que compartió conmigo. Gracias a cada uno de mis sinodales por lo aportado en esta investigación, por el tiempo que me regalaron al darme sus correcciones y hacerme saber cómo podría mejorar mi trabajo. Gracias a mis amigos que me acompañaron a Mérida y compartieron conmigo los nervios en el concurso y las lágrimas al saber que gane el segundo lugar, gracias infinitas a mi amiga Berenice García por hacer más amenas las horas en laboratorio y por toda la ayuda que me brindó al realizar esta tesis, gracias a mi amiga Deniss Báez, compañera de tantas experiencias buenas y malas en la carrera y servicio social.

Gracias a la vida por permitirme conocer gente increíble que me apoyó en este camino, por permitirme vivir esta experiencia, por descubrir que a pesar de las dificultades y las situaciones inesperadas que se llegan a presentar, todo puede ser posible creyendo y confiando en uno mismo.

“Hay que ser como un cactus –dijo la abuela-. Adaptarse a cualquier momento, tiempo y circunstancia. Ser fuerte, y aun así, nunca olvidarse de florecer”

## INDICE

1. Resumen.....	1
2. Introducción .....	3
3. Marco teórico .....	5
3.1 <i>Acacias</i> .....	5
3.1.1 <i>Acacia schaffneri</i> (Huizache chino).....	5
3.1.2 Taxonomía.....	5
3.1.3 Distribución de especies de <i>Acacia schaffneri</i> en México .....	6
3.1.4 Distribución de especies de <i>Acacia schaffneri</i> en Hidalgo.....	7
3.1.5 Usos etnofarmacológicos .....	8
3.1.6 <i>Acacia laevigata</i> (Mezquite) .....	8
3.1.7 Taxonomía.....	9
3.1.8 Distribución de especies de <i>Acacia laevigata</i> en México.....	10
3.1.9 Distribución de especies de <i>Acacia laevigata</i> en Hidalgo.....	10
3.1.10 Usos etnofarmacológicos .....	11
3.1.11 <i>Acacia aculeaticarpa</i> .....	11
3.1.12 Taxonomía.....	12
3.1.13 Distribución de especies de <i>Acacia aculeaticarpa</i> en México .....	12
3.1.14 Distribución de especies de <i>Acacia aculeaticarpa</i> en Hidalgo .....	13
3.1.15 Usos etnofarmacológicos .....	14
3.2 Especies reactivas de oxígeno (ERO) y radicales libres (RL).....	14
3.3 Estrés oxidativo y su relación con enfermedades de importancia nutricional .....	16
3.4 Antioxidantes .....	17
3.5 Sistema antioxidante .....	18
3.6 Metabolitos secundarios .....	19
3.6.1 Compuestos Fenólicos.....	20
3.6.2 Flavonoides .....	20
3.6.3 Taninos.....	22
3.6.4 Cumarinas .....	23
3.6.5 Ligninas.....	24
3.6.6 Glucósidos.....	26
4. Planteamiento del problema.....	29

5. Justificación .....	30
6. Objetivos .....	31
6.1 Objetivo general .....	31
6.2 Objetivos específicos. ....	31
7. Metodología .....	32
7.1 Diseño experimental.....	32
7.2 Muestras vegetales.....	32
7.3 Preparación de extractos .....	33
7.4 Cuantificación de metabolitos secundarios y pruebas de actividad antioxidante .....	34
7.4.1 Contenido de fenoles totales mediante Folin-Ciocalteu .....	34
7.4.2 Determinación de ácido L-ascórbico (AA).....	36
7.4.3 Ensayo de la actividad antioxidante por el método 1,1-difenil-2-picrilhidracil (DPPH*).....	37
7.4.4 Ensayo de la actividad antioxidante por el método de ácido 2,2'-azino-bis (3-etilbenzothiazolina-6-sulfónico) (ABTS <sup>•+</sup> ) .....	39
7.4.5 Ensayo FRAP (potencial reductor férrico).....	40
7.4.6 Actividad quelante .....	42
8. Análisis estadístico .....	43
9. Resultados y discusión.....	44
9.1 Rendimientos.....	44
9.2 Contenido de fenoles totales .....	45
9.3 Contenido de ácido L-ascórbico (AA) .....	47
9.4 Actividad antioxidante mediante el método DPPH* .....	48
9.5 Actividad antioxidante mediante el método ABTS <sup>•+</sup> .....	50
9.6 Poder reductor férrico FRAP .....	51
9.7 Actividad quelante.....	53
10. Conclusiones .....	55
11. Bibliografía .....	57
12. Anexos.....	68

## ÍNDICE DE FIGURAS

	Título	Pág.
<b>Figura 1.</b>	Uso de plantas medicinales desde las culturas antiguas como la maya, azteca y zapoteca	4
<b>Figura 2.</b>	Árbol de <i>Acacia schaffneri</i>	5
<b>Figura 3.</b>	Hojas bipinnado-compuestas de <i>Acacia schaffneri</i>	6
<b>Figura 4.</b>	Distribución de la especie <i>Acacia schaffneri</i> en México	7
<b>Figura 5.</b>	Distribución de la especie <i>Acacia schaffneri</i> en el estado de Hidalgo	7
<b>Figura 6.</b>	Árbol de <i>Acacia laevigata</i>	8
<b>Figura 7.</b>	Hojas compuestas de <i>Acacia laevigata</i>	9
<b>Figura 8.</b>	Distribución de la especie <i>Acacia laevigata</i> en México	10
<b>Figura 9.</b>	Distribución geográfica de <i>Acacia laevigata</i> en Hidalgo	10
<b>Figura 10.</b>	Espinas características de <i>Acacia aculeaticarpa</i>	11
<b>Figura 11.</b>	Hojas pareadas de <i>Acacia aculeaticarpa</i>	12
<b>Figura 12.</b>	Distribución de la especie <i>Acacia aculeaticarpa</i> en México	13
<b>Figura 13.</b>	Distribución de la especie <i>Acacia aculeaticarpa</i> en Hidalgo	13
<b>Figura 14.</b>	Generación de Radicales Libres (RL) por factores exógenos y su efecto en macromoléculas	15
<b>Figura 15.</b>	Posibles mecanismos del origen del estrés oxidativo. EO: Estrés Oxidativo. FRAP: Poder antioxidante del hierro. ROS: Especies reactivas de oxígeno. TA: Tejido adiposo. TAS: Capacidad antioxidante total del plasma	17
<b>Figura 16.</b>	Estructura química de diferentes polifenoles	20
<b>Figura 17.</b>	Quercetina, flavonoide aislado de las flores de <i>Acacia de Constantinopla</i>	21
<b>Figura 18.</b>	Estructura química del galato de etilo y ácido gálico de la	23

especie *Mimosa hamata Willd*

<b>Figura 19.</b>	Estructura química de una cumarina aislada de <i>Mimosa tenuiflora</i>	24
<b>Figura 20.</b>	Estructura convencional de una lignina	25
<b>Figura 21.</b>	Saponina triterpénica aislada de <i>Mimosa tenuiflora</i>	27
<b>Figura 22.</b>	Estructura de una digitalina, ejemplo de un glucósido cardíaco	27
<b>Figura 23.</b>	Reacción del reactivo de Folin-Ciocalteu	35
<b>Figura 24.</b>	Reacción entre ácido ascórbico y DCPI	36
<b>Figura 25.</b>	Reducción del DPPH <sup>•</sup> , convirtiéndose en una especie no radicalaria	38
<b>Figura 26.</b>	Reacción del ABTS <sup>•+</sup> en presencia de un antioxidante	39
<b>Figura 27.</b>	Reducción de ion férrico a ion ferroso	41
<b>Figura 28.</b>	Reacción general de actividad quelante	42
<b>Figura 29.</b>	Curva patrón de fenoles totales	68
<b>Figura 30.</b>	Curva patrón de ácido ascórbico	68
<b>Figura 31.</b>	Curva patrón de DPPH <sup>•</sup>	69
<b>Figura 32.</b>	Curva patrón de ABTS <sup>•+</sup>	69
<b>Figura 33.</b>	Curva patrón FRAP	70



## ÍNDICE DE TABLAS

	Título	Pág.
<b>Tabla 1.</b>	Rendimiento de las muestras extraídas de hoja de <i>A. schaffneri</i> , <i>A. laevigata</i> y <i>A. aculeaticarpa</i> con dos disolventes	44
<b>Tabla 2.</b>	Conteo de fenoles totales de los extractos de <i>A. laevigata</i> , <i>A. schaffneri</i> y <i>A. aculeaticarpa</i>	45
<b>Tabla 3.</b>	Contenido de ácido ascórbico de extractos de <i>A. schaffneri</i> , <i>A. laevigata</i> y <i>A. aculeaticarpa</i>	47
<b>Tabla 4.</b>	Contenido de antioxidantes y capacidad antioxidante de extractos de <i>A. schaffneri</i> , <i>A. laevigata</i> , y <i>A. aculeaticarpa</i>	49
<b>Tabla 5.</b>	Contenido de antioxidantes y capacidad antioxidante de extractos de <i>A. schaffneri</i> , <i>A. laevigata</i> , y <i>A. aculeaticarpa</i>	51
<b>Tabla 6.</b>	Potencial reductor férrico de los extractos de especies de <i>A. schaffneri</i> , <i>A. laevigata</i> y <i>A. aculeaticarpa</i>	52

## ÍNDICE DE DIAGRAMAS

	Título	Pág
<b>Diagrama 1.</b>	Principales defensas antioxidantes endógenas y exógenas. O <sub>2</sub> : Oxígeno, H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> : Peróxido de hidrógeno, RL: Radical Libre, Fe: Hierro, OH: Radical Hidroxilo	18
<b>Diagrama 2.</b>	Esquema metodológico de la investigación	32

## LISTA DE ABREVIATURAS

<b>A</b>	<i>Acacia</i>
<b>AA</b>	Ácido L-ascórbico
<b>AcOEt</b>	Acetato de etilo
<b>ABTS<sup>••</sup></b>	Ácido 2,2'-azino-bis (3-etilbenzothiazolina-6-sulphonico)
<b>CO<sub>2</sub></b>	Dióxido de carbono
<b>Cu<sup>+</sup></b>	Cobre
<b>HCN</b>	Cianuro de hidrógeno
<b>DCPI</b>	2,6-diclorofenolindofeno
<b>DMSO</b>	Dimetilsulfóxido
<b>DNA</b>	Ácido desoxirribonucleico
<b>DPPH<sup>•</sup></b>	1,1-difenil-2-picrilhidracil
<b>EAA/L</b>	Equivalentes de ácido ascórbico por Litro
<b>EAG/L</b>	Equivalentes de ácido Gálico por Litro
<b>ENT</b>	Enfermedades no transmisibles
<b>EO</b>	Estrés oxidativo
<b>EROs</b>	Especies reactivas de oxígeno
<b>ET/L</b>	Equivalentes de Trolox por Litro
<b>EFeSO<sub>4</sub>/L</b>	Equivalente de Sulfato Ferroso por Litro
<b>e<sup>-</sup></b>	Electrón
<b>Fe<sup>2+</sup></b>	Ion ferroso
<b>Fe<sup>3+</sup></b>	Ion férrico
<b>FeCl<sub>3</sub></b>	Cloruro férrico
<b>FRAP</b>	Ferric Reducing Antioxidant Power
<b><sup>•</sup>OH</b>	Hidroxilo
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	Peróxido de hidrógeno
<b>ICBI</b>	Instituto de Ciencias Básicas e Ingeniería
<b>mm</b>	Milímetros
<b>MeOH</b>	Metanol
<b>Nm</b>	Nanómetros

<b>ON</b>	Óxido nítrico
<b>OMS</b>	Organización Mundial de la Salud
<b>O<sub>2</sub></b>	Oxígeno molecular
<b>O<sub>2</sub><sup>•-</sup></b>	Súper oxido
<b>Ppm</b>	Partes por millón
<b>REDOX</b>	Oxidación-reducción
<b>RL</b>	Radical libre
<b>SPSS</b>	Statistical Packager for the Social Sciences
<b>TA</b>	Tejido Adiposo
<b>TAS</b>	Capacidad antioxidante total del plasma
<b><sup>1</sup>H</b>	Protón

## 1. Resumen

En los países subdesarrollados las personas dependen de la medicina natural para la atención primaria de salud, ya que se ha comprobado que los productos naturales contienen mezclas de micronutrientes, que pueden incluir ácidos grasos, alcaloides, polifenoles, glucósidos, taninos, etc., en donde el valor terapéutico de una planta es el resultado de los efectos sinérgicos de sus diversos metabolitos secundarios con actividad antioxidante. Una fuente importante de estos metabolitos en México y en particular en el estado de Hidalgo, son las especies pertenecientes al género *Acacia*, debido a que se han utilizado como medicina natural para el tratamiento de diversas afecciones. Sin embargo, por la ausencia de información etnobotánica, las especies de este género no han sido consideradas hasta el momento como una fuente de nutraceuticos importante. Es por ello que el objetivo de esta investigación fue cuantificar el contenido de fenoles y ácido ascórbico, así como evaluar la capacidad antioxidante de los extractos de acetato de etilo y metanol obtenidos de *Acacia schaffneri*, *Acacia laevigata* y *Acacia aculeaticarpa*, mediante los ensayos de Conteo de fenoles totales, Ácido ascórbico, DPPH<sup>•</sup>, ABTS<sup>•+</sup>, FRAP y Actividad quelante con el fin de reconocer su actividad antioxidante. Se observó en la especie *A. schaffneri* los valores más altos en las pruebas DPPH<sup>•</sup> (27050 µmol ET/L) en el extracto de acetato de etilo y ABTS<sup>•+</sup> (596.5 µmol ET/L) correspondiente al extracto metanólico. En cuanto a la especie *A. laevigata* se registraron los valores más altos en las pruebas Ac. Ascórbico (274.9 mg EAA/L) del extracto de acetato y actividad quelante con un 68.2% del mismo extracto. La especie *A. aculeaticarpa* mostró tener el mayor contenido de Fenoles (11499.9 mg EAG/L) del extracto metanólico y la mayor capacidad reductora del ion férrico (162 µmol ET/L) con el extracto de acetato. Los resultados obtenidos sugieren que las especies de estudio contienen metabolitos con una mayor actividad antioxidante en comparación con especies de su misma familia, tal es el caso de *A. caesia*, *A. sinuata*, *A. farneciana* y *A. nilotica*.

**Palabras clave:** Metabolitos secundarios, nutraceuticos, actividad antioxidante, *Acacia schaffneri*, *Acacia laevigata*, *Acacia aculeaticarpa*.

## Abstract

In underdeveloped countries people depend of natural medicine for primary health care, because it has been proven that natural products contain mixtures of micronutrients, which may include fatty acids, alkaloids, polyphenols, glycosides, tannins, etc., in where the therapeutic value of a plant is the result of the synergistic effects of various secondary metabolites with antioxidant activity. An important source of these metabolites in Mexico and in particular in the state of Hidalgo, are the species belonging to the genus *Acacia*, since they have been used as a natural medicine for the treatment of various diseases. Nevertheless, due to the lack of ethnobotanical information, species of this genus haven't been considered as an important source of nutraceuticals. That is why the aim of the research was to quantify the content of phenols and ascorbic acid, as well as to evaluate the antioxidant capacity of the ethyl acetate and methanol extracts obtained from *Acacia schaffneri*, *Acacia laevigata* and *Acacia aculeaticarpa*, through total phenol count, ascorbic acid, DPPH<sup>•</sup>, ABTS<sup>•+</sup>, FRAP and chelating activity assays in order to recognize its antioxidant activity. The highest values were observed in the *A. schaffneri* species in the DPPH tests (27050  $\mu\text{mol ET/L}$ ) in the ethyl acetate extract and ABTS<sup>•+</sup> (596.5  $\mu\text{mol ET/L}$ ) corresponding to the methanol extract. In the ascorbic acid test the highest values were reported for the species *A. laevigata*, (274.9 mg EAA/L) in the acetate extract and chelating activity with 68.2% of the same extract. The species *A. aculeaticarpa* showed to have the highest content of Phenols (11499.9 mg EAG/L) of the methanol extract and the greater reducing capacity of the ferric ion (162  $\mu\text{mol EFeSO}_4\text{/L}$ ) with the acetate extract. The results obtained suggest that the study species contain metabolites with a higher antioxidant activity compared to species from the same family, such as *A. caesia*, *A. sinuata*, *A. farneciana* and *A. nilotica*.

**Keywords:** Secondary metabolites, nutraceuticals, antioxidant activity, *Acacia schaffneri*, *Acacia laevigata* and *Acacia aculeaticarpa*.

## 2. Introducción

En la actualidad, un gran número de productos de la industria alimentaria, cosméticos, medicamentos, colorantes, resinas, gomas, potencializadores de sabor, aromas, antioxidantes, etc, utilizan sustancias extraídas de plantas. Esta realidad se basa en que de todas las estructuras químicas básicas conocidas al día de hoy por ser biológicamente activas, el 85% son de origen natural y solo el 15% provienen de la síntesis química de laboratorio (Cecchini & Ticli, 2016).

Hoy en día, podemos encontrar en la literatura un aproximado de 500,000 especies vegetales identificadas en el mundo, de las cuales únicamente el 10% son usadas con fines medicinales. México es uno de los países de América con mayor tradición ancestral y riqueza en el uso de la herbolaria medicinal, donde se registran poco más de 3,000 especies que se emplean en remedios naturales (Rodríguez, 2015).

Esto, debido a que el reino vegetal posee diversas especies de plantas que contienen sustancias de valor nutricional y un gran número de ellas son ensayadas constantemente. Para ubicar el contexto en el cual queda incluido el uso de plantas con fines terapéuticos debemos definir a la medicina tradicional como la suma total de los conocimientos, capacidades y prácticas basados en las teorías, creencias y experiencias propias de diferentes culturas, bien sean explicables o no, utilizadas para prevenir alguna afección, mantener y mejorar la salud, así como tratar enfermedades físicas y mentales (Gómez, 2012).

Es así como, la herbolaria tradicional se basa en la preparación de infusiones, principalmente acuosas (tés) de las diversas partes anatómicas de plantas (tallos, corteza, hojas, flores, fruto, raíces) y básicamente siguen una línea de tradición cuyas raíces devienen de la antigüedad. En la Grecia antigua de Hipócrates, considerado el padre de la medicina y precursor de la Farmacopea, se establecieron las pautas para la correcta administración de las plantas medicinales. El primer escrito acerca de este tema, data del año 3,000 A. C.,

inclusive, los sumerios grabaron en tablillas de arcilla remedios herbolarios para la cura de diversos padecimientos (World Health Organization, 2013).

Las culturas antiguas como, la zapoteca, azteca y maya, tenían las experiencias y habilidades para utilizar a las plantas como remedios para numerosas enfermedades como se muestra en la figura 1, así como en importantes eventos culturales incluyendo ceremonias religiosas; sus prácticas y experiencias impulsaron el desarrollo de sofisticadas preparaciones. El conocimiento de los usos y propiedades de las plantas se conserva, principalmente por transmisión de boca en boca y en algunos documentos gráficos que fueron preservados como el Códice de la Cruz Badiano, el cual es un herbario Azteca del año 1552 (Ríos, Quijano, & Reyes, 2012).



**Figura 1.** Uso de plantas medicinales desde las culturas antiguas como la maya, azteca y zapoteca.

Por otra parte, es significativo destacar que la OMS (Organización Mundial de la Salud) reconoce la importancia que tienen las plantas medicinales para los sistemas sanitarios de muchos países en desarrollo, ya que dicha organización estima que cerca del 80% de la población en desarrollo optan por la medicina natural para la atención primaria de la salud, por lo que ha aumentado el interés de las plantas medicinales ya que sus extractos son una fuente activa de nuevos medicamentos (Vega-Menchaca *et al.*, 2013).



Como ya se ha mencionado, tradicionalmente las personas consumen remedios a base de plantas, aunque no conozcan sus componentes ni sus efectos específicos; no obstante, se reconoce que resultan “buenos para la salud”. Es el caso de las especies *Acacia schaffneri*, *Acacia laevigata* y *Acacia aculeaticarpa* en donde se utilizan la mayoría de las partes anatómicas de las especies como recursos terapéuticos por herbolarios de comunidades rurales, ya que por años se ha heredado la tradición de utilizar a las plantas como laboratorios naturales que proporcionan nutrientes necesarios para prevenir y tratar diversas afecciones (Yadav *et al.*, 2012).

### 3. Marco teórico

#### 3.1 Acacias

##### 3.1.1 *Acacia schaffneri* (Huizache chino)

El género *Acacia* pertenece a la familia Fabaceae, subfamilia Mimosoideae con más de 1300 especies, dicho género también es conocido como *Mimosa* por ser su sinónimo. *A. schaffneri* es conocida comúnmente como “huizachillo” o “huizache chino”, su nombre en náhuatl es hutzizachi, que significa “huele a miel” (figura 2). La madera es utilizada como leña y para la fabricación de artesanías, las especies ayudan a la conservación del suelo, recuperación de terrenos degradados, fijación de nitrógeno y control de la erosión debido a que sus raíces crecen extendidas lateral y superficialmente (Gantait *et al.*, 2016).



**Figura 2.** Árbol de *Acacia schaffneri*.

##### 3.1.2 Taxonomía

El árbol o arbusto llega a tener una altura de 3 a 4.5 m y es de crecimiento lento, lo que le da un gran potencial como planta de ornato. Presenta un tronco corto y delgado, con numerosos tallos y ramificado desde la base, en donde se

desarrollan las hojas, las cuales son compuestas, divididas doblemente (figura 3), de 2.5 a 5 cm de largo, espinas pareadas de 2 a 6 mm de largo, raramente abortivas. Inflorescencias dispuestas en cabezuelas esféricas, de 6 a 9 mm de diámetro, solitarias o en grupos de 2 a 5, en conjunto de 40 a 50 flores muy pequeñas de color amarillo o naranja, y suelen ser muy olorosas, encontrándose en floración de enero a mayo y con fructificación hasta septiembre. Su fruto es una vaina lineal, ligeramente aplanada, recta o ligeramente curvada de 7 a 15 cm de largo y de 5 a 8 mm de ancho que caen en época de sequía, valvas aterciopeladas y pulverulentas. Cada una tiene de 6 a 14 semillas, las cuales están adaptadas para permanecer en estado de latencia en el suelo por varios años (Estrada *et al.*, 2014).



**Figura 3.** Hojas bipinnado-compuestas de *Acacia schaffneri*.

### **3.1.3 Distribución de especies de *Acacia schaffneri* en México**

Es abundante principalmente en algunas nopaleras con *Stenocereus*, *Opuntia*, *Zaluzania*, *Yucca*, *Eysenhardtia*, y *Prosopis*, así como en ciertos pastizales, a menudo en vegetación secundaria y algunas veces entre cultivos. Su distribución es estrecha, desde el Sur de Texas, Baja California, Sonora, Chihuahua y Durango, pasando por los estados de Nuevo León, Tamaulipas y Coahuila, centro del país desde Hidalgo hasta el norte de Oaxaca como se muestra en la figura 4, los estados de Nuevo León y Tamaulipas cuentan con las elevaciones más bajas en la distribución mientras que los estados de altiplano cuentan con la distribución de la mayor elevación (Machuca *et al.*, 2017).

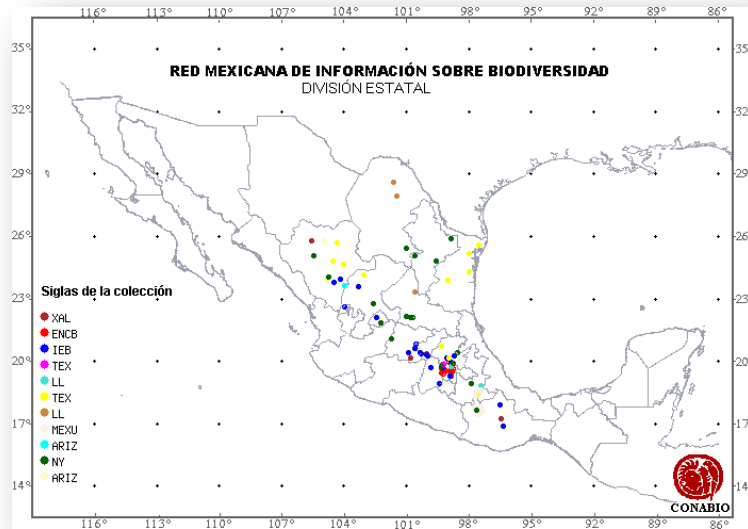


Figura 4. Distribución de la especie *Acacia schaffneri* en México (CONABIO, 2012).

### 3.1.4 Distribución de especies de *Acacia schaffneri* en Hidalgo

En el estado de Hidalgo se han reportado ejemplares de la especie en los municipios de Atotonilco el Grande, Tolcayuca, Ajacuba, Zapotlán de Juárez, Actopan, Zimapán y en un mayor número en el municipio de Zempoala como se muestra en la figura 5 (Machuca *et al.*,2017):

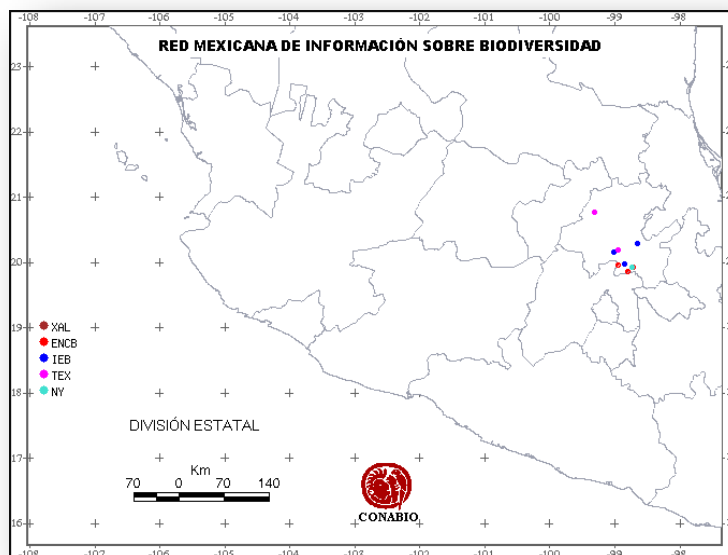


Figura 5. Distribución de la especie *Acacia schaffneri* en el estado de Hidalgo (CONABIO, 2012).

### 3.1.5 Usos etnofarmacológicos

Sirve como alimento para animales y todas sus partes tienen usos medicinales; un ejemplo es para la producción de goma arábiga, además de que las hojas se usan como condimento. En medicina tradicional, las hojas secas y pulverizadas, se aplican como vendaje en las heridas, es empleada para tratar úlceras gástricas, tomando infusiones de la corteza y/o planta; se utiliza para curar infecciones en la piel aplicando directamente la planta, o lavando con la infusión del fruto seco la parte afectada (Gantait *et al.*, 2016). Inclusive es utilizada para tratar fiebre tifoidea, hemorragias, problemas menstruales, artritis y dolores reumáticos, tónico digestivo, diarrea, irritación de mucosas, conjuntivitis y malaria. Aunque estos usos no cuentan con sustentos científicos (Gantait *et al.*, 2016).

Únicamente se han estudiado los extractos hexánicos y clorofórmicos de la parte aérea y raíz de la especie, en donde se determinó que el principio activo contenido en dichos extractos presentaba actividad biológica anticancerígena para cáncer de colon, pulmón y piel en donde se observó selectividad para los metabolitos encontrados. Así como un efecto antiinflamatorio, ya que, en esa misma investigación, se estudió la actividad antiinflamatoria de los metabolitos obtenidos, presentando un alto grado de actividad inhibitoria del proinflamatorio TNF- $\alpha$  (Manríquez, 2013).

### 3.1.6 *Acacia laevigata* (Mezquite)

*Acacia laevigata*, también conocida como el mezquite pertenece al género de las *Acacias* y es una planta silvestre de la familia Fabaceae (figura 6). Desde épocas remotas, el mezquite ha constituido un recurso valioso para los habitantes de zonas áridas, quienes encontraron en él múltiples beneficios, ya que todas las partes de la planta son susceptibles de ser utilizadas. Las flores del mezquite son frecuentadas por gran cantidad de avispas y



Figura 6. Árbol de *Acacia laevigata*.

abejas que producen miel de alta calidad (Villarea *et al.*, 2013).

Se sabe que algunos indígenas de Norte América las consumían como alimento y de su cocimiento se obtiene una melaza, debido al alto contenido de azúcares. El fruto tuvo un importante papel en la alimentación de algunos pueblos indígenas; los chichimecas hacían harina de los frutos secos con la que preparaban pasteles, ahora conocidos como mezquitamales; también elaboraban el mezquiatole (Rodríguez *et al.*, 2014).

### 3.1.7 Taxonomía

El mezquite es un arbusto o árbol de hasta 10 m de altura; su sistema radical puede alcanzar más de 50 m de profundidad y hasta 15 m en sus laterales; los tallos son de corteza oscura y ramas con abundantes espinas axilares o terminales, las ramas jóvenes se encuentran ligeramente marcadas con hendiduras, de color verde a café verdoso tostado, con espinas en pares y cada espina de hasta 3.5 cm de largo,



**Figura 7.** Hojas compuestas de *Acacia laevigata*.

gruesas en la base y agudas en la punta. Las hojas son compuestas (figura 7), con 12 a 15 pares de folíolos, de 5 a 10 mm de largo, esta especie suele perder sus hojas en época de secas. Las flores son de color amarillo, agrupadas en racimos, miden de 4 a 10 mm, son bisexuales, las cuales son perfumadas y florecen todo el año. Las vainas son de un color amarillo o de un rojo intenso que, por lo regular, son 13% proteínas y 35% sacarosa, pueden ser planas o cilíndricas en la madurez y contiene de 12 a 20 semillas (Valenzuela *et al.*, 2011).

### 3.1.8 Distribución de especies de *Acacia laevigata* en México

Dicha especie de estudio se desarrolla en regiones áridas y semiáridas, *A. laevigata*, ha sido localizado en el centro y sur de México como se muestra en la figura 8.

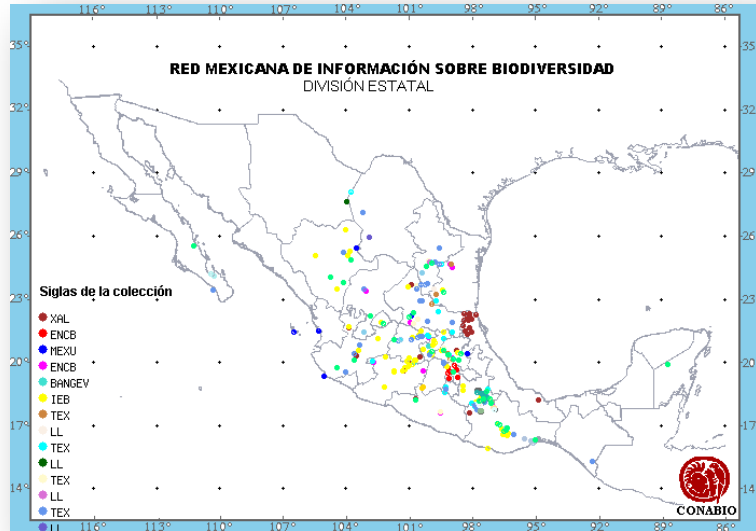


Figura 8. Distribución de la especie *Acacia laevigata* en México (CONABIO, 2012).

### 3.1.9 Distribución de especies de *Acacia laevigata* en Hidalgo

En el estado de Hidalgo se han reportado ejemplares en los municipios de Meztlán, Tezontepec de Aldama, Atotonilco el Grande, Atlapexco, Actopan, Tasquillo, San Agustín, Mezquititlán, Ajacuba, Ixmiquilpan, Pachuca de Soto, Zimapán y Tula de Allende como se muestra en la figura 9 (Torres *et al.*, 2012).

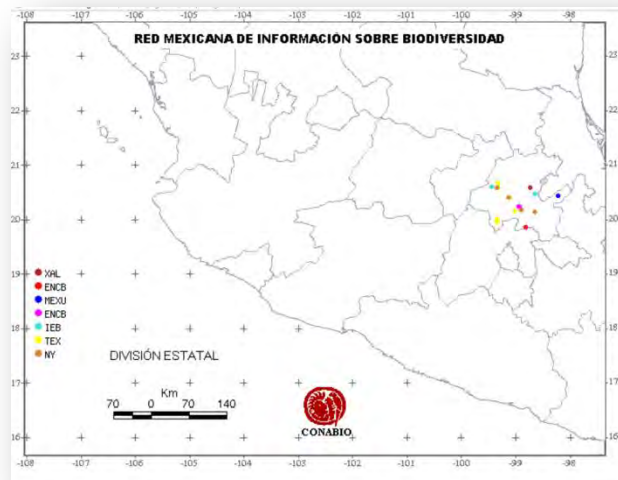


Figura 9. Distribución geográfica de *Acacia laevigata* en Hidalgo (CONABIO, 2012).

### 3.1.10 Usos etnofarmacológicos

La corteza de la raíz se ha utilizado en cocción para curar heridas; De la cocción de las hojas se obtiene bálsamo de mezquite, el cual se dice curativo para algunas enfermedades oculares. Con respecto a su potencial beneficio a la salud, se ha documentado la presencia de fenoles y actividad antioxidante en harinas de *Acacia laevigata* (Gallegos *et al.*, 2013). Las hojas frescas contienen 19% de proteínas y las vainas 16% de proteínas, es por ello que se ha utilizado para preparar una harina comestible muy nutritiva y sin toxicidad, capaz de estabilizar los niveles de glucosa en los diabéticos, además de contener calcio, magnesio, potasio, hierro y zinc (Rosas-López, 2015).

### 3.1.11 *Acacia aculeaticarpa*

Habitualmente esta especie es confundida con *Uncaria tomentosa* (Uña de gato) por la similitud de sus espinas. También es conocida como casirpi, espino, garabatillo, entre otros y sobretodo como *Mimosa aculeaticarpa*; *Mimosa* proviene del latín *mimus*, que significa imitador, mientras que *aculeaticarpa* se refiere a las espinas (figura 10). Presenta un potencial uso ornamental para la ciudad, en viviendas y en lugares abiertos, la madera es utilizada como leña, tiene una rápida reproducción en la madurez. Ayuda en la filtración de agua, retención del nitrógeno en suelos erosionados y secos, además de fijar CO<sub>2</sub>. Las semillas son dispersadas por aves, agua o viento, de noviembre a diciembre y floreciendo a mediados de época de lluvias. Crece en selvas bajas caducifolias y zonas perturbadas con cierto grado de recuperación (Pavón, Ballato-Santos y Pérez-Pérez, 2011).



**Figura 10.** Espinas características de *Acacia aculeaticarpa*

### 3.1.12 Taxonomía

Arbustos o árboles de 1 a 4 y hasta 9m de alto, las ramas jóvenes difusas, con puntos resinosos, las ramas maduras estriadas, pardo-grisáceas, armadas con aguijones infraestipulares, pareados, recurvados. Hojas con estípulas de 2-6 mm de largo, lineares a subuladas, los márgenes ciliados a lisos, los folíolos 10-20 pares por pinna, de 2-4 mm de largo, 0.7-1.5 mm de ancho como se muestra en la figura 11. Inflorescencias en



**Figura 11.** Hojas pareadas de *Acacia aculeaticarpa*.

capítulos de 1.0-1.5 cm de diámetro, globosos, con 40-50 flores, axilares, solitarios o dispuestos en fascículos de 2-5 o en ramas racemiformes terminales, flores bisexuales, con floración de julio a septiembre (Beutelspacher, 2017).

Legumbres desde 2 a 3.7 cm de largo, 4 a 6 mm de ancho, rectas a ligeramente curvadas, no comprimidas entre las semillas, las valvas enteras, glabras, con puntos resinosos rojizos. Semillas de 3 hasta 4.5 mm de largo, de 2 hasta 3.8 mm de ancho, de 0.8 hasta 2.2 mm de grosor, lenticulares, la testa pardo oscuro o pardo-rojiza, lisa o porosa, brillante, la línea fisural de 40-50% de extensión y con una fructificación de agosto a octubre (Beutelspacher, 2017).

### 3.1.13 Distribución de especies de *Acacia aculeaticarpa* en México

Es una especie endémica de México, tiene amplia distribución en el país, en el centro y norte, en la vertiente del Pacífico desde Colima hasta Oaxaca y en la vertiente del Golfo se encuentra únicamente en Tamaulipas y en cuatro municipios del centro de Veracruz. Se puede localizar también en Aguascalientes, Durango, Tlaxcala, Puebla, Querétaro e Hidalgo (figura 12). Encontrándose principalmente en zonas templadas, mientras que en otras partes del país crece también en regiones semiáridas (Martínez-Bernal & Grether, 2008).





Figura 12. Distribución de la especie *Acacia aculeaticarpa* en México.

### 3.1.14 Distribución de especies de *Acacia aculeaticarpa* en Hidalgo

En el estado de Hidalgo se han reportado ejemplares en los municipios de Zimapán, Ajacuba, Tezontepec de Aldama, Atotonilco el Grande, Atlapexco, Actopan, Tasquillo, San Agustín, Mezquititlán, Meztitlán, Ixmiquilpan, Pachuca de Soto y Tula de Allende como se muestra en la figura 13 (Torres *et al.*, 2012):

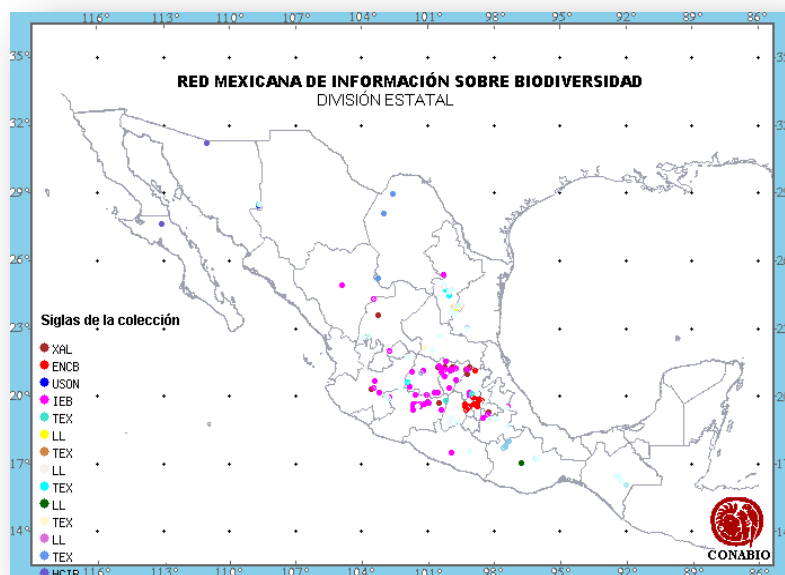


Figura 13. Distribución de la especie *Acacia aculeaticarpa* en Hidalgo.

### **3.1.15 Usos etnofarmacológicos**

Además de sus usos como forraje y en la industria petrolera, es empleada la corteza para la medicina tradicional gracias a su gran contenido de taninos y aunque es poca la información que se tiene acerca de sus usos medicinales, es bien sabido que las especies del género *Acacia* han sido utilizadas como medicina natural ya por varias décadas para el tratamiento de infecciones en los ojos, dolores de cabeza, insomnio, diarrea, disentería, fiebre, hemorroides, dolores de hígado, dolores de riñón, tos y como cicatrizante en heridas. Es posible que estas y otras afecciones sean causada por Especies Reactivas de Oxígeno y Radicales libres (Cabrera, 2006).

### **3.2 Especies reactivas de oxígeno (ERO) y radicales libres (RL)**

El oxígeno molecular ( $O_2$ ), que se encuentra en el aire que respiramos, al ser utilizado por los organismos aerobios da lugar a la formación de las Especies Reactivas de Oxígeno (ERO) (Hansberg, 2002). Las ERO son producidas por organismos vivos como resultado del metabolismo celular normal. De bajas a moderadas concentraciones, funcionan en procesos celulares fisiológicos, pero en altas concentraciones, producen modificaciones adversas a los componentes celulares, tales como lípidos, proteínas y ácido desoxirribonucleico (ADN) (Birben *et al.*, 2012).

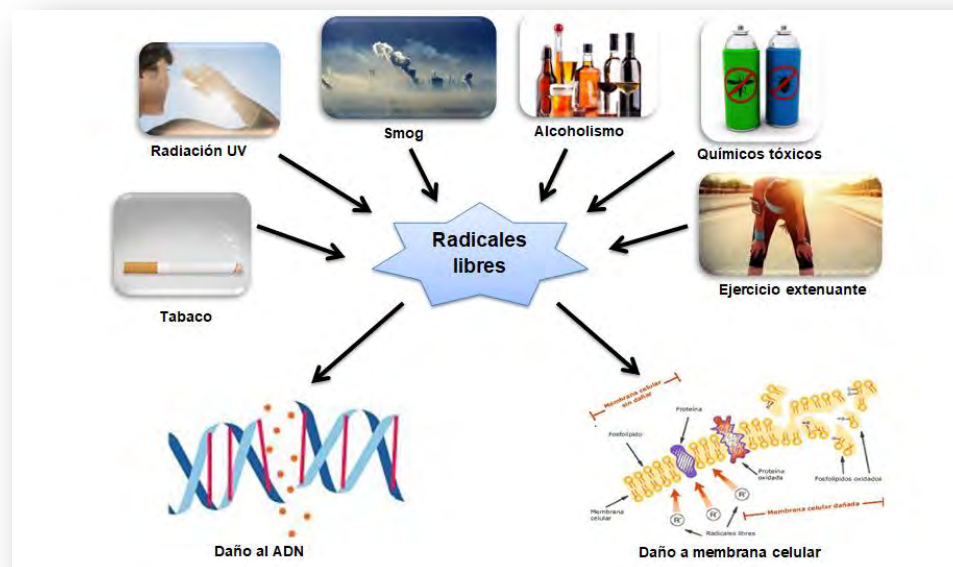
Las especies reactivas que dañan dichos componentes celulares son el súper oxido ( $O_2^{\cdot-}$ ), el peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ) y el radical Hidroxilo ( $\cdot OH$ ), y se forman cuando el  $O_2$  se reduce a través de los electrones que escapan de la cadena respiratoria, dando origen al  $O_2^{\cdot-}$ , el cual puede dismutar fácilmente y formar el  $H_2O_2$ , que en presencia de metales de transición como el hierro ( $Fe^{2+}$ ) y el cobre ( $Cu^+$ ), produce el  $\cdot OH$ , que es considerado la especie oxidante más dañina en los sistemas biológicos y el principal responsable del daño oxidativo (Cruz, González & Sánchez, 2013).

Por otra parte, las ERO incluyen a los radicales libres (RL), ya que son moléculas o átomos con uno o más electrones no apareados en su último orbital, esto quiere

decir que sus átomos carecen de un electrón ( $e^-$ ), convirtiéndolos en especies reactivas, ya que toman el  $e^-$  que les falta de una molécula vecina provocando así la oxidación de ésta última, que a su vez, al quedarse desapareada, se convierte en un RL con la capacidad de oxidar a otra molécula cercana, induciendo una reacción en cadena (Coronado *et al.*, 2015).

Los RL endógenos son producidos normalmente y continuamente en el metabolismo celular que se lleva a cabo en el organismo, y juegan un papel importante en la defensa de éste ayudando a combatir infecciones por bacterias y virus, el problema radica cuando los RL provienen de fuentes exógenas saturando la función natural del sistema antioxidante endógeno, resultando de esta manera en el establecimiento de estrés oxidativo (EO) (Dioses & Trillo, 2017).

Los RL exógenos que llegan a saturar a nuestro sistema antioxidante pueden provenir de alimentos ricos en grasas saturadas, alimentos procesados, y ricos en conservadores, también por el consumo excesivo de alcohol, la exposición a diversos químicos, o contaminantes del medio ambiente, agentes oxidantes que se encuentran en el humo del tabaco, herbicidas, smog, agua clorada, con presencia de metales pesados, radiaciones ionizantes, los rayos X y la luz UV y la exposición prolongada a temperaturas elevadas como se ilustra en la figura 14 (Dioses & Trillo, 2017).



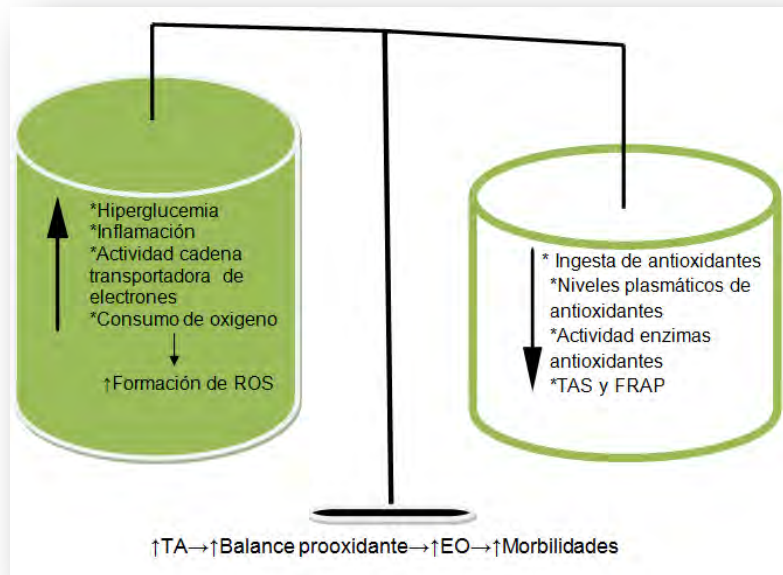
**Figura 14.** Generación de Radicales Libres (RL) por factores exógenos y su efecto en macromoléculas.

### **3.3 Estrés oxidativo y su relación con enfermedades de importancia nutricional**

El daño o estrés oxidativo se ha definido como la exposición de la materia viva a diversas fuentes que producen una ruptura del equilibrio que debe existir entre las sustancias o factores pro-oxidantes y los mecanismos antioxidantes encargados de eliminar dichas especies químicas, ya sea por un déficit de estas defensas o por un incremento exagerado de la producción de ERO, de esta manera se producen reacciones en cadena (Umesh & Vishwas, 2015).

Todo esto trae como consecuencia alteraciones de la relación estructura-función de cualquier sistema, órgano o grupo celular especializado, en donde el EO induce, en primer lugar, disfunción endotelial; esto es debido a que el óxido nítrico (NO) regula el tono vascular. Cuando existe un aumento del  $O_2^{\cdot-}$ , la biodisponibilidad del NO disminuye debido a que se produce una inactivación oxidativa del mismo en la pared vascular llevando a hipertensión. Asimismo, los RL oxidan las lipoproteínas LDL, propensas a ser fagocitadas por macrófagos convirtiéndolas en células espumosas llevando a la aterosclerosis. Por otra parte, el EO produce un aumento de la expresión de citoquinas proinflamatorias y disminución de la expresión de citoquinas antiinflamatorias en los tejidos (Mercado-Mercado *et al.*, 2013).

En el caso de la diabetes mellitus se produce la activación de la vía de los polioles por un aumento de glucosa en sangre, y, a su vez, contribuye a la generación de más RL y, por tanto, a acentuar aún más el desbalance redox, ocasionando un daño en las membranas celulares de las nefronas propiciando un fallo renal (Calderón *et al.*, 2013). Respecto al cáncer se ha señalado que si los RL afectan el DNA pueden ocurrir mutaciones que en su momento se transforman en células cancerosas y se produce EO como se muestra en la figura 15 (Storino *et al.*, 2014).



**Figura 15.** Posibles mecanismos del origen del estrés oxidativo. EO: Estrés Oxidativo. FRAP: Poder antioxidante del hierro. ROS: Especies reactivas de oxígeno. TA: Tejido adiposo. TAS: Capacidad antioxidante total del plasma.

Se ha demostrado una disminución en la incidencia de diferentes patologías con suplementos individuales de antioxidantes, por lo que se considera el tratamiento del EO el primer paso para el alcance de esta meta, la cual es la prevención y conservación de la salud. Inclusive, se han estudiado alrededor de 100 enfermedades y su relación con el desbalance del sistema oxidativo, en donde se demostró que los polifenoles son antioxidantes con acción vasodilatadora y vasoprotectores además de antitrombóticos y antiescleróticos. Estas investigaciones acerca del papel de los compuestos fenólicos como antioxidantes provenientes de productos naturales dan pie a una generación de alternativas nutricionales como es el caso de los nutraceuticos para reforzar el sistema antioxidante endógeno del organismo (Coronado *et al.*, 2015).

### 3.4 Antioxidantes

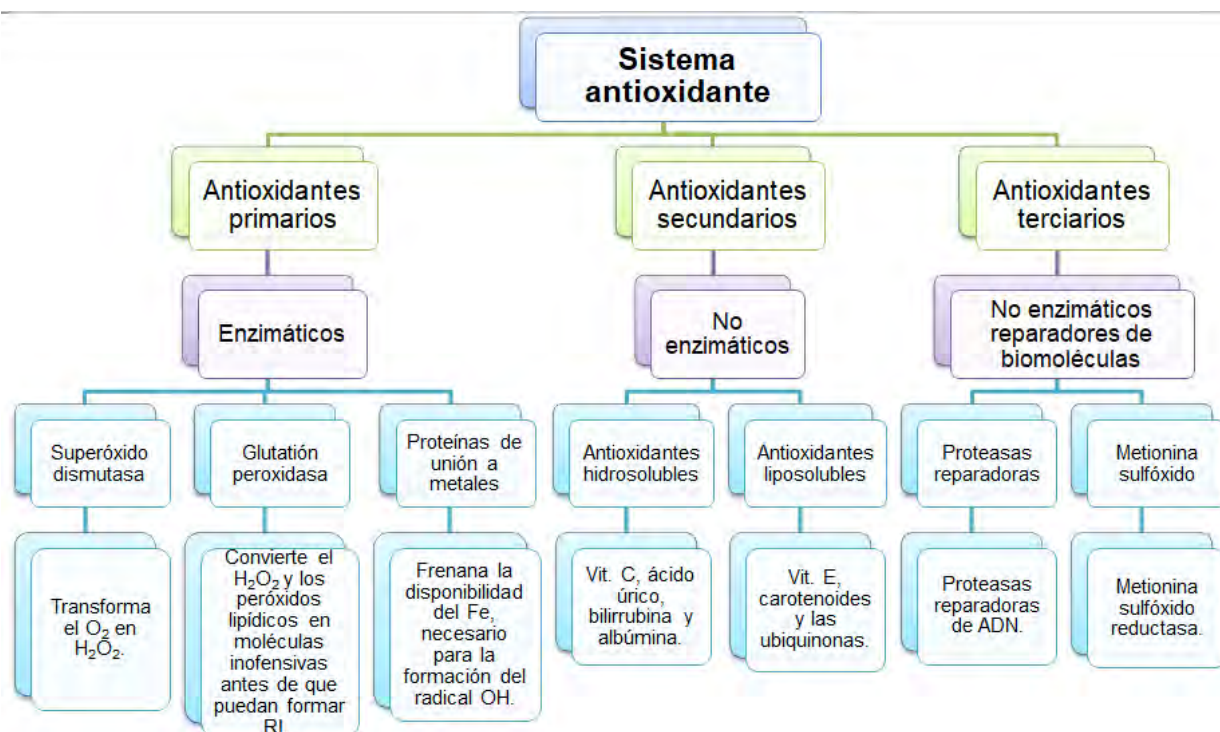
Se ha demostrado en la medicina natural, un amplio rango de efectos biológicos incluyendo funciones antibacteriales, antivirales, antiinflamatorias, antialérgicas, antitrombóticas y vasodilatadores, gracias a la acción de los antioxidantes naturales que se sintetizan en algunas plantas. De esta manera, diversas

afecciones que se tratan empíricamente con las especies de estudio pueden ser prevenidas y tratadas por moléculas antioxidantes (Barranco & Batista, 2013).

Un antioxidante es una molécula capaz de donar electrones para estabilizar átomos o moléculas desapareadas que, cuando está presente en una concentración inferior en comparación con la de un sustrato oxidable, es capaz de retrasar o prevenir la oxidación del sustrato y, de esta manera, prevenir la formación descontrolada de RL o inhibir una oxidación con estructuras biológicas (Quezada & Rivera, 2015).

### 3.5 Sistema antioxidante

Los antioxidantes pueden ser de tipo endógenos (sintetizados por el organismo) y exógenos (provenientes de fuentes externas como en la dieta), los cuales, dependiendo de su función se puede clasificar en primarios, secundarios y terciarios como se muestra en el esquema 1 (Zuluaga & Gaviria, 2012).



**Diagrama 1.** Principales defensas antioxidantes endógenas y exógenas. O<sub>2</sub>: Oxígeno, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>: Peróxido de hidrógeno, RL: Radical Libre, Fe: Hierro, OH: Radical Hidroxilo. (Zuluaga y Gaviria, 2012).

La defensa antioxidante, enzimática y no enzimática protege al organismo contra el daño oxidativo, pero no con el 100% de eficiencia. Por lo cual, se requiere la ingesta de antioxidantes exógenos cuyo papel es relevante dado que pueden formar parte de la dieta diaria (Calderón *et al.*, 2013). Recientemente se han realizado diversas investigaciones enfocadas al aislamiento e identificación de metabolitos secundarios con actividad antioxidante que se encuentran en las plantas, debido a que poseen efectos benéficos a la salud como antibacteriales, antivirales, antialérgicos, antiinflamatorios, anticancerígenos, inmunoestimulantes y antioxidante (Ferrazzano *et al.*, 2011).

### **3.6 Metabolitos secundarios**

Se ha encontrado que entre los constituyentes que les confieren propiedades curativas y nutricionales a las plantas se encuentran los llamados micronutrientes, metabolitos secundarios o productos naturales, provenientes del metabolismo secundario de las plantas. Éste se puede definir como la síntesis de una amplia variedad de moléculas orgánicas que no parecen tener una función directa en procesos fotosintéticos, respiratorios, asimilación de nutrientes, transporte de solutos o síntesis de proteínas, carbohidratos o lípidos. Sin embargo, presentan funciones ecológicas como atrayentes o repelentes de animales y algunos otros son pigmentos que proporcionan color a flores y frutos. (Peralta-Pérez *et al.*, 2012).

Los productos naturales obtenidos del metabolismo secundario se pueden agrupar en cuatro clases principales:

- Terpenos entre los que se encuentran hormonas, pigmentos o aceites.
- Compuestos Fenólicos como flavonoides, cumarinas, ligninas y taninos.
- Glucósidos en los cuales se destacan las saponinas, glucósidos cianógenos y glucosinolatos.
- Y por último tenemos al grupo de los Alcaloides (Ringuelet & Viña, 2013).

### 3.6.1 Compuestos Fenólicos

Los fenoles son compuestos químicos ampliamente distribuidos en vegetales y frutas, originando una de las clases más importantes de metabolitos secundarios en plantas, existen más de 8,000 compuestos fenólicos identificados (Zapata, Piedrahita & Rojano, 2014). En su mayoría derivados de la fenilalanina y en menor cantidad de la tirosina. Asimismo, una amplia variedad de estos compuestos presenta una estructura molecular caracterizada por la presencia de uno o varios anillos fenólicos (figura 16), estos compuestos se denominan polifenoles (Quiñones, 2012).

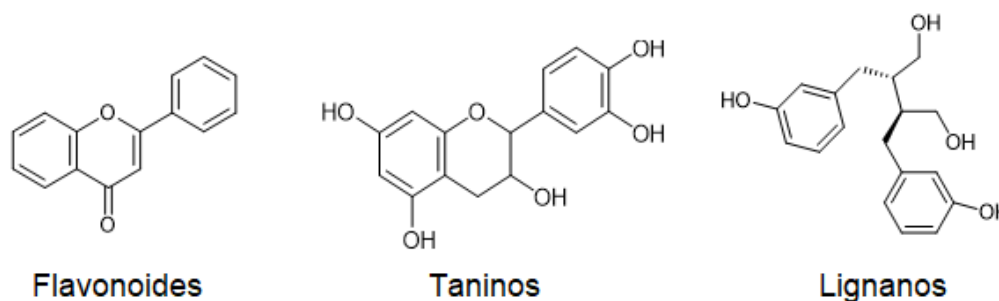


Figura 16. Estructura química de diferentes polifenoles.

### 3.6.2 Flavonoides

Uno de los metabolitos secundarios más importantes son los flavonoides, dada su actividad antioxidante ya que son uno de los grupos más numerosos y ampliamente distribuidos de constituyentes naturales. Los flavonoides son compuestos de bajo peso molecular que comparten un esqueleto común de difenilpiranos (C6-C3-C6), compuesto por dos anillos de fenilos (A y B) ligados a través de un anillo C de pirano (Cartaya, 2013).

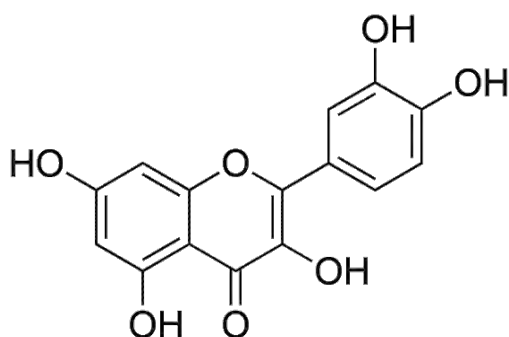
Algunos de estos compuestos pueden ser pigmentos naturales presentes en los vegetales los cuales protegen al organismo humano del daño producido por agentes oxidantes, como los rayos ultravioletas, contaminación ambiental, sustancias químicas presentes en los alimentos, etc. Ya que el organismo humano



no puede producir estas sustancias químicas protectoras, se deben obtener mediante la alimentación o en forma de suplementos, y representan componentes sustanciales de la parte no energética de la dieta humana. Lo que determina el carácter antioxidante o prooxidante es la estabilidad/labilidad redox del compuesto radical formado a partir del flavonoide original, las acciones prooxidantes sólo parecen producirse cuando las dosis de los flavonoides son demasiado altas (Soto, 2015).

La actividad antioxidante de los flavonoides resulta de una combinación de sus propiedades quelantes de hierro y secuestradoras de radicales libres, además de la inhibición de las oxidasas: lipooxigenasa, ciclooxigenasa, mieloperoxidasa y la xantina oxidasa; evitando así la formación de ERO y de hidroxiperóxidos orgánicos, aunado a esto, se ha observado que también inhiben enzimas involucradas indirectamente en los procesos oxidativos, como la fosfolipasa A<sub>2</sub>; al mismo tiempo que estimulan otras con reconocidas propiedades antioxidantes, como la catalasa y la superóxido dismutasa. Los flavonoides retiran oxígeno reactivo, especialmente en forma de aniones superóxidos, radicales hidroxilos, hidroperóxidos y peróxidos lipídicos (Koirala *et al.*, 2016).

De acuerdo con investigaciones consultadas, se han aislado diferentes tipos de flavonoides en especies de *Acacia*, por ejemplo, en *Acacia farneciana*, *Acacia tenuiflora* y *Acacia de Constantinopla* entre los que destacan las quercetinas e isoquercetrina como se muestra en la figura 17, en el que se ha comprobado su eficacia ansiolítica, actividad anticancerosa y antiinflamatoria (Accame, 2013).



**Figura 17.** Quercetina, flavonoide aislado de las flores de *Acacia de Constantinopla*.

### 3.6.3 Taninos

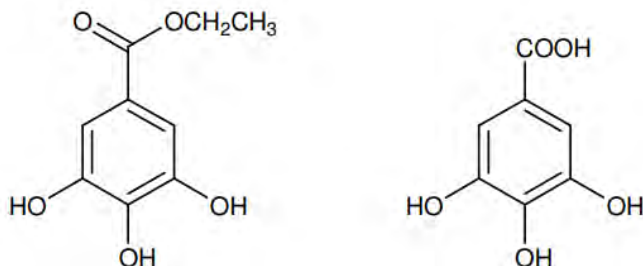
Dentro del grupo de los compuestos poli fenólicos se encuentran los taninos, un subgrupo de mayor tamaño, son metabolitos secundarios derivados de plantas que pueden ser ésteres de ácido gálico o sus derivados; son extraídos de plantas y algas, la mayor parte de estos se clasifican de acuerdo a su monómero base (ácido gálico, ácido elágico y floroglucinol), se ensamblan en estructuras poliméricas de alto peso molecular, con distinta capacidad de unión a proteínas u otras macromoléculas y susceptibilidad a la hidrólisis química o enzimática en condiciones *in vitro*, lo que determina su clasificación en taninos condensados, hidrolizables y complejos (Kasay, Huamán & Guerrero, 2013).

Los taninos condensados son polímeros de unidades de flavonoides unidas por enlaces C-C, los cuales no pueden ser hidrolizados, pero sí oxidados por un ácido fuerte para rendir antocianidinas. Los taninos hidrolizables son polímeros heterogéneos que contienen ácidos fenólicos, sobre todo ácido gálico y azúcares simples; son más pequeños que los condensados y se hidrolizan más fácilmente (Carn, 2012; Larrosa *et al.*, 2012).

La presencia de taninos además de su participación como agente antioxidante, ha demostrado efecto antimicrobiano, también contribuye con la mejora en la vida de anaquel de productos manufacturados entre otros beneficios (Carn, 2012). Generalmente son toxinas debido a su capacidad de unirse a proteínas, sin embargo, los taninos del vino tinto tienen efecto benéfico en la salud humana al bloquear la formación de endotelina-1, una molécula señal que provoca vasoconstricción, también actúan como repelentes alimenticios de muchos animales que evitan, en el caso de los mamíferos, plantas o partes de plantas que contienen altas concentraciones de taninos (Larrosa *et al.*, 2012).

De la especie *Mimosa hamata Willd*, se logró aislar y purificar el galato de etilo y el ácido gálico (figura 18) del extracto metanólico de la parte aérea y gracias a los estudios realizados por Hussain *et al.*, (2013). Se comprobó que estos compuestos presentaban actividad antimicrobiana contra *Salmonella typhosa*,

*Eschereachi coli*, entre otros. Además de presentar actividad antiinflamatoria y actividad antioxidante (Cabrera, 2006).



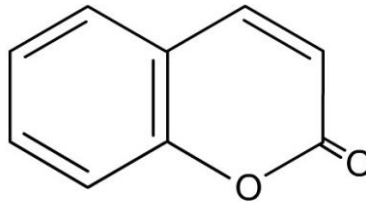
**Figura 18.** Estructura química del galato de etilo y ácido gálico de la especie *Mimosa hamata Willd.*

### 3.6.4 Cumarinas

Las cumarinas, conocidas también como benzopironas, pertenecen a una amplia familia de lactonas, las cuales se han identificado más de 1,500 en más de 800 especies de plantas, encontrándose principalmente en raíces, frutos, flores y en las hojas. Debido a la gran variedad estructural de estas moléculas se ha suscitado un interés alto gracias a sus propiedades farmacológicas como antimicrobianas, antiinflamatorias, antiespasmódicas, antivirales, antioxidantes e inhibidoras de enzimas, asociadas a su anillo de fenil que presentan (Peñarrieta *et al.*, 2014). Existen además, derivados tricíclicos o tetracíclicos de cumarinas que se comportan como intercalantes del ADN y, por lo cual, tienen interés antitumoral. Por otra parte, en la industria alimentaria juegan un papel importante en la estabilidad y conservación de frutas y verduras (Herrera-Fuentes *et al.*, 2017).

Se han encontrado un significativo número de cumarinas (figura 19) sobre todo en la corteza del árbol de la especie *Mimosa tenuiflora*, mejor conocido como el tepezcohuite o el árbol de la piel. En el que se ha validado su uso para el tratamiento de algunas lesiones cutáneas desde hace mucho tiempo, ya que

ayuda a calmar el dolor y a una rápida cicatrización, gracias a su acción antiinflamatoria y antioxidante (Moctezuma *et al.*, 2015).



**Figura 19.** Estructura química de una cumarina aislada de *Mimosa tenuiflora*.

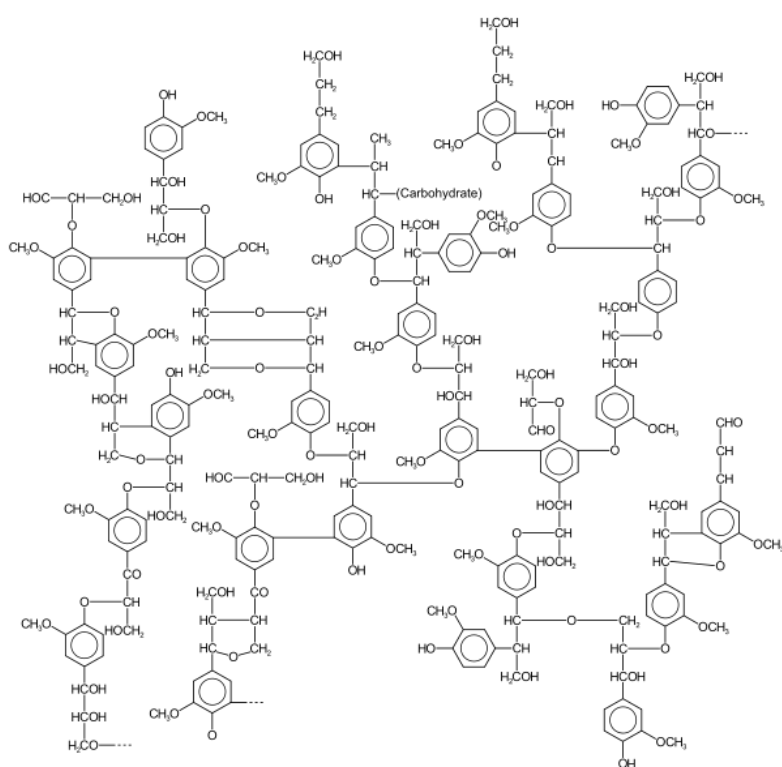
### 3.6.5 Ligninas

La lignina es uno de los biopolímeros, de carácter aromático, que se encuentra con más abundancia en las plantas, después de la celulosa, es la sustancia orgánica más abundante y junto con la celulosa y la hemicelulosa conforma la pared celular de la misma en una disposición regulada a nivel nano-estructural, dando como resultado redes de lignina-hidratos de carbono (Chávez-Sifontes & Domine, 2013) Podemos encontrarla en la pared celular de varios tejidos de soporte y de transporte, en traqueidas, escleridas, floema y en los vasos de la xilema. Inicialmente se deposita en la pared secundaria para fortalecer los tallos y tejidos vasculares permitiendo así el crecimiento vertical y la conducción de agua y minerales a través de la xilema (Lagunes-Fortiz & Zavaleta-Mejia, 2015).

Se forma a partir de tres derivados fenilpropanoides: los alcoholes coniferílico, cumarílico y sinapílico, de manera que cada uno de ellos puede formar numerosos enlaces y ramificaciones haciendo que cada lignina pueda ser única. Además, la lignina tiene función protectora ya que su resistencia mecánica evita que las plantas sean consumidas por los animales y, además, su naturaleza química hace que sea difícil digerirla por los herbívoros. (Chávez-Sifontes & Domine, 2013).

La multifuncionalidad química de la lignina imparte a ésta propiedades muy variadas, la cual se usa para el tratamiento de trastornos digestivos, suprime la

proliferación del hepatoma y su hepatocarcinogenesis, así como un efecto protector de las células del hígado contra lesiones por antibióticos, aunado a esto se presentan funciones antivirales, antimicrobianas y se ha logrado demostrar que produce un potencial efecto anticancerígeno (Vilcanqui-Pérez & Vélchez-Perales, 2017). En las especies *Acacia decurrens* y *Acacia melanoxylon* se han podido aislar ligninas (figura 20) de la parte aérea y de la corteza de los árboles de mencionadas especies (Solorza, 2012).



**Figura 20.** Estructura convencional de una lignina.

Los polifenoles han demostrado ser uno de los grupos más importantes de antioxidantes naturales y agentes quimioprotectores encontrados en plantas, en este sentido México es un país con una gran riqueza biológica, diversidad de ecosistemas y variabilidad genética debido a su topografía y variaciones climáticas (CONABIO, 2012), de esta manera las plantas han sido y seguirán siendo una posible alternativa para la búsqueda de nuevas estructuras químicas que sirvan de

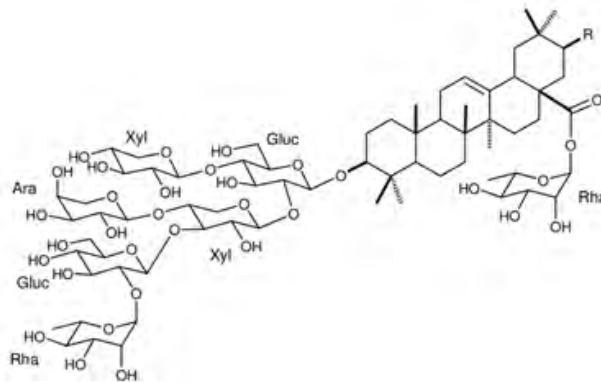
base en el desarrollo de nuevos productos naturales respecto a su posible valor preventivo y curativo (Pisoschi & Pop, 2015).

### 3.6.6 Glucósidos

Los glucósidos son metabolitos vegetales de gran importancia. Su nombre hace referencia al enlace glucosídico que se forma cuando una molécula de azúcar se condensa con otra que contiene un grupo hidroxilo. Existen tres grupos de glucósidos de particular interés: saponinas, glucósidos cardíacos y glucósidos cianogénicos. Una cuarta familia, los glucosinolatos, se incluyen en este grupo debido a su estructura similar a los glucósidos (Arrázola, Grané & López-Higuera, 2014).

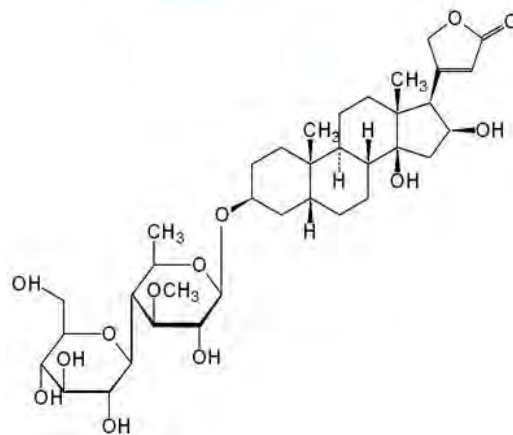
Las saponinas se encuentran como glucósidos esteroideos, glucósidos esteroideos alcaloides o bien glucósidos triterpenos. Son por tanto triterpenoides o esteroides que contienen una o más moléculas de azúcar en su estructura. Se pueden presentar como agliconas, es decir, sin el azúcar (el terpeno sin el azúcar, por ejemplo), en cuyo caso se denominan sapogeninas. La adición de un grupo hidrofílico (azúcar) a un terpenoide hidrofóbico da lugar a las propiedades surfactantes o detergentes similares al jabón que presentan las saponinas (Valdés *et al.*, 2015).

Un estudio sobre la investigación del efecto del extracto etanólico de *Mimosa pudica* en Lima, encontró que esta planta presenta, entre otros metabolitos secundarios, saponinas, al igual que en la especie *Mimosa albida Humb. & Bonpl. Ex Willd.*, en el que se comprobó en ratones que su extracto acuoso de la planta presentaba una actividad antinociceptiva para diversos tipos de dolor (Quezada y Rivera, 2015). Además, en la especie *Mimosa tenuiflora* se ha logrado aislar saponinas triterpénicas (figura 21) capaces de estimular la proliferación de timocitos y esplenocitos de ratones *in vivo*. Otras funciones reconocidas para las saponinas son como diuréticos, antimicrobiano, antioxidante, hemático, antimicótico, entre otros (Flores, Huamán & Tomás, 2013).



**Figura 21.** Saponina triterpénica aislada de *Mimosa tenuiflora*.

Los glucósidos cardíacos o cardiotónicos son semejantes a las saponinas esteroideas, tienen también propiedades detergentes, pero su estructura contiene una lactona. Son un grupo de metabolitos naturales formados por una o varias unidades de azúcar y un núcleo esteroideo unido a un anillo lactónico insaturado. Se encuentran de forma natural en forma de glucósidos o de agliconas. Quizá el más conocido sea la digitoxina, o su análogo digoxina (figura 22), aislada de *Mimosa tenuiflora*, pero en la actualidad más conocida de *Digitalis purpurea* y comúnmente son utilizados como medicamento en pacientes con insuficiencia cardíaca congestiva, con el fin de incrementar la fuerza de contracción del corazón (Abrego & Honles, 2012).



**Figura 22.** Estructura de una digitalina, ejemplo de un glucósido cardíaco.

Los glucósidos cianogénicos son compuestos nitrogenados, que no son tóxicos por sí mismos, pero se degradan cuando la planta es aplastada liberando sustancias volátiles tóxicas como cianuro de hidrógeno (HCN). Un ejemplo es la amigdalina que se encuentra en las semillas de almendra, albaricoque, cereza o melocotón. Los glucósidos cianogénicos normalmente no se degradan cuando la planta está intacta y presentan un papel protector en algunas especies frente a herbívoros (Jaramillo *et al.*, 2016).

El cianuro de hidrógeno es una toxina de acción rápida que inhibe metaloproteínas como el citocromo oxidasa, enzima clave en la respiración mitocondrial. Sin embargo, algunos herbívoros llegan a adaptarse a alimentarse de plantas cianogénicas y tolerar dosis más altas de HCN. Los tubérculos de mandioca o yuca, muy ricos en carbohidratos, contienen altos niveles de glucósidos cianogénicos y forman parte de la dieta de muchos países tropicales. Aunque el procesamiento tradicional de estos tubérculos elimina gran parte de los glucósidos cianogénicos, la detoxificación no es completa dando lugar a efectos nocivos en las poblaciones consumidoras (Arrázola, Grané, & Dicenta, 2014).



#### 4. Planteamiento del problema

Investigaciones han demostrado la importancia de las terapias antioxidantes para la prevención de enfermedades de importancia nutricional, tales como diabetes mellitus, hipertensión, aterosclerosis o Alzheimer, gracias a que pueden neutralizar radicales libres y de esta manera disminuir el estrés oxidativo que desencadena dichas afecciones.

Sin embargo, los ensayos de productos naturales con actividad antioxidante que surgen de la medicina natural o práctica etno-médica son aún insuficientes. Asimismo, la evidencia científica de la capacidad antioxidante de las especies de estudio que validen su uso preventivo y curativo no ha sido documentada. En la actualidad únicamente se han descrito la presencia de propiedades antioxidantes en especies de la misma familia, tal es el caso de *Acacia púdica*, *Acacia albida*, o *Acacia tenuiflora*.

Las especies de interés (*A. schaffneri*, *A. laevigata* y *A. aculeaticarpa*) han sido consumidas empíricamente en forma de infusiones preparadas con las hojas de la planta para tratar dolores de estómago, diarreas, infecciones oculares, o se aplica directamente la hoja para la cicatrización de heridas, dolores de cabeza, entre otros. Sin embargo, en la actualidad no se conoce evidencia científica de las propiedades o metabolitos secundarios que puedan contener dichas especies. Por lo cual, la presente investigación se centró en la cuantificación de metabolitos secundarios, así como en la actividad antioxidante de los extractos etanólicos y metanólicos a especies mencionadas, encontradas en el estado de Hidalgo.

## 5. Justificación

Adicional a los efectos de los procesos bioquímicos naturales a los que día a día es sometido el organismo, en la actualidad la población se encuentra expuesta a condiciones exógenas tales como la contaminación ambiental, luz ultravioleta, humo de tabaco, ingesta de alcohol, estrés, actividad física extenuante, una alimentación rica en ácidos grasos *trans*, azúcares refinados, metales pesados, etc., y pobre en frutas y verduras con alto contenido en antioxidantes; desencadenando, de esta manera, una producción de ERO que saturan el funcionamiento de los sistemas enzimáticos antioxidantes endógenos capaces de metabolizar los RL, causando un daño significativo en las biomoléculas del organismo. Por tal causa, es fundamental el descubrimiento de nuevos productos con actividad antioxidante, alternativas naturales que sean eficaces para la prevención de enfermedades causadas por el EO.

Se han reportado en investigaciones de especies del género *Acacia*, como *A. tenuiflora*, *A. pudica*, *A. albida*, *A. pigrase*, *A. cochliacantha* y *A. schaffneri*, resultados que confirman la presencia de metabolitos secundarios tales como flavonoides, terpenos, taninos, saponinas, glucosidos y alcaloides responsables de actividades biológicas como antioxidantes, cicatrizante, protección endotelial, hipolipemiente, efectos antinociceptivos, antiinflamatoria y antitumoral, respectivamente.

Es por ello que esta investigación fue encaminada a la identificación de actividad antioxidante, debido al uso medicinal y nutricional que ya se les dan de manera empírica a las especies de estudio. De esta manera contribuir a la obtención de nuevos productos con propiedades antioxidantes, que puedan ser utilizados más adelante en la elaboración de nutracéuticos que puedan prevenir la aparición y agravamiento de enfermedades, especialmente aquellas relacionadas con la producción de especies reactivas de oxígeno y estrés oxidativo.

## 6. Objetivos

### 6.1 Objetivo general

Cuantificar los metabolitos secundarios, así como evaluar la actividad antioxidante de los extractos obtenidos de *Acacia schaffneri* (huizache chino), *Acacia laevigata* (mezquite) y *Acacia aculeaticarpa* (garabatillo) para conocer su actividad antioxidante, a través de métodos espectrofotométricos.

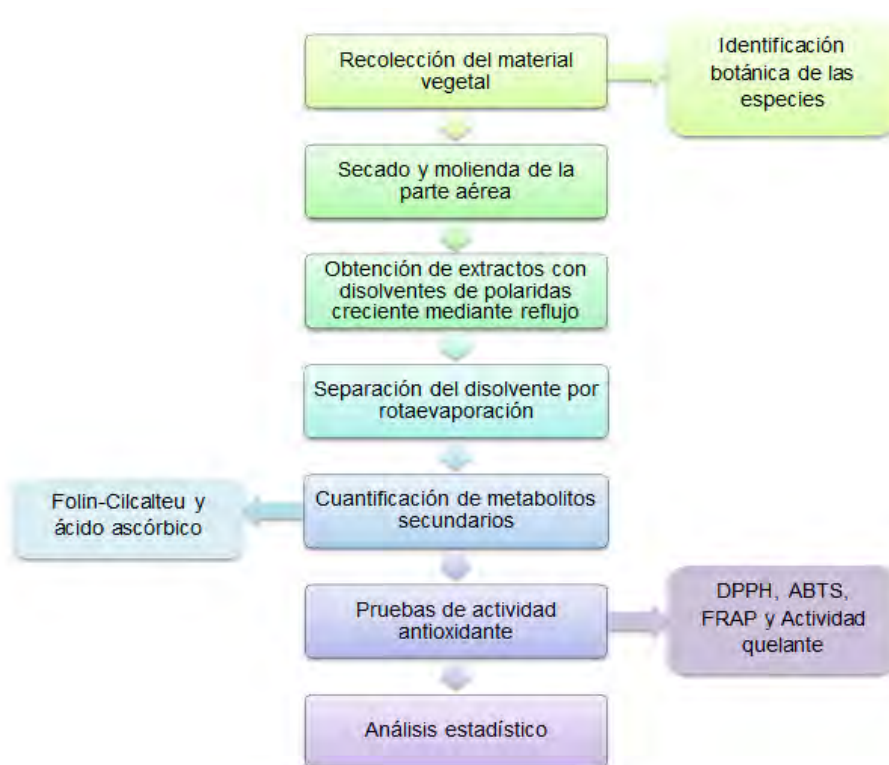
### 6.2 Objetivos específicos.

- Obtener de extractos de las especies de estudio, utilizando disolventes de polaridad creciente (hexano, acetato de etilo y metanol).
- Cuantificar los metabolitos presentes en los extractos de las especies de estudio mediante pruebas de fenoles totales y ácido ascórbico.
- Evaluar la actividad antioxidante de los extractos obtenidos de *A.schafneri*, *A.laevigata* y *A. aculeaticarpa*, por medio de pruebas de actividad antioxidante (ABTS, DPPH y FRAP).
- Evaluar la capacidad de los extractos obtenidos para secuestrar metales pesados y formar complejos con iones de metales pesados, por medio de la técnica de actividad quelante.

## 7. Metodología

### 7.1 Diseño experimental

La metodología empleada para el desarrollo de la investigación se muestra en el diagrama 2 y contempla la colecta de las especies vegetales, su clasificación botánica, el secado, separación y molienda de sus partes aéreas, extracción de metabolitos secundarios con solventes de diferentes polaridades, así como los métodos empleados para cuantificar los metabolitos secundarios y determinar la actividad antioxidante de los extractos.



**Diagrama 2.** Esquema metodológico de la investigación.

### 7.2 Muestras vegetales

Las especies de estudio (*A. schaffneri*, *A. laevigata* y *A. aculeaticarpa*) fueron colectadas en el estado de Hidalgo, en la carretera Actopan, se colectó una cantidad generosa de cada especie que incluyeron ramas y hojas las cuales

fueron llevadas al Instituto de Ciencias Básicas e Ingeniería (ICBI), en dónde de acuerdo a sus características morfológicas se confirmó el género y especie de las plantas gracias a la identificación botánica del M. en C. Manuel González Ledesma, profesor investigador titular A del Área Académica de Biología.

### **7.3 Preparación de extractos**

Las especies fueron deshidratadas en el almacén de productos naturales del ICBI, a temperatura ambiente, sin presencia de luz y libre de humedad, contaminación física, química o biológica durante 3 meses, transcurrido ese tiempo se prosiguió a la molienda únicamente de la parte aérea de las plantas con ayuda de un molino de discos (MDP-60, Penangos, Colombia), esto para que el disolvente pudiera tener mayor contacto con todas las partes anatómicas de las especies. La materia vegetal molida se pesó en una balanza de precisión cuyo peso de 2 kg iniciales se registró para calcular el rendimiento final.

Las muestras vegetales fueron colocadas en un matraz de bola de capacidad de 5L, para ser extraídas utilizando una técnica experimental de laboratorio conocida como reflujo, a una temperatura ligeramente superior al punto de ebullición del disolvente. La extracción de los metabolitos secundarios de las plantas de estudio se realizó mediante el método utilizado por Méndez y colaboradores, (2014), de extracción sucesiva o extracción secuenciada con disolventes de polaridad creciente (hexano, acetato de etilo y metanol), por separado durante 12 horas cada uno, ya que siguiendo dicha metodología aumenta tanto la actividad antioxidante como la cantidad de fenoles totales.

El disolvente hexano solamente se utilizó para separar aquellos metabolitos secundarios liposolubles, debido a que ya existen estudios en los cuáles se evaluó la actividad antioxidante en extractos hexánicos y clorofórmicos de la especie *A. schaffneri* (Manríquez, 2013), por lo cual únicamente para la cuantificación de metabolitos secundarios y actividad antioxidante se utilizaron las muestras obtenidas con acetato de etilo y metanol de las tres plantas.

Seguido de la filtración se procedió a separar el disolvente en un rotavapor a temperatura de 50°C, para evitar una oxidación o hidrolisis de los metabolitos secundarios presentes. Los extractos obtenidos se colocaron en viales color ámbar para evitar su oxidación por la filtración de luz, forrados con papel aluminio y rotulados con su correspondiente nombre de especie, disolvente utilizado y peso final de la muestra, almacenados en el refrigerador a una temperatura menor de 4 °C hasta su uso.

Se prepararon los extractos vegetales para la cuantificación de fenoles y ácido ascórbico y para las pruebas antioxidantes a una concentración de 10 mg/mL siguiendo la metodología empleada por Moya, (2017) con ligeras modificaciones. Por cada extracto de planta se separaron en diferentes viales 200 mg y se agregaron 20 mL del disolvente que fue utilizado para su extracción, igualmente fueron forrados con papel aluminio y rotulados con su correspondiente nombre de especie y disolvente utilizado, almacenados en el refrigerador a una temperatura menor de 4 °C hasta su uso.

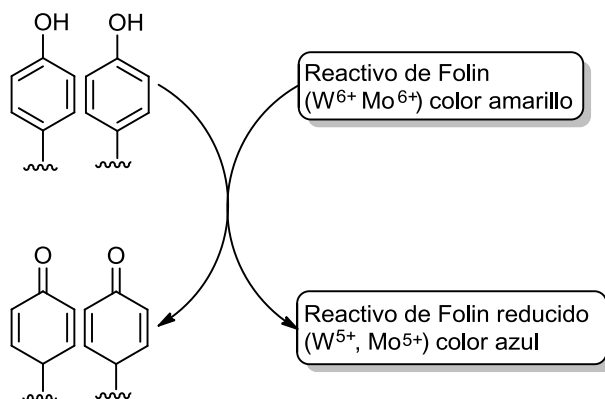
#### **7.4 Cuantificación de metabolitos secundarios y pruebas de actividad antioxidante**

Las técnicas empleados para la cuantificación de los metabolitos secundarios fueron conteo fenoles totales y ácido L-ascórbico. Adicionalmente se utilizaron los métodos 1,1-difenil-2 picrilhidracil (DPPH<sup>\*</sup>), ácido 2,2'-azino-bis (3-etilbenzothiazolina-6-sulphonico) (ABTS<sup>\*\*</sup>), Ferric Reducing Antioxidant Power) FRAP, y actividad quelante para determinar la actividad antioxidante de las muestras.

##### **7.4.1 Contenido de fenoles totales mediante Folin-Ciocalteu**

El método espectrofotométrico desarrollado por Folin y Ciocalteu, para la determinación de fenoles totales, se fundamenta en su carácter reductor y es uno de los más empleados debido a que es una determinación cuantitativa (Kuskoski *et al.*, 2005). El reactivo de Folin-Ciocalteu contiene molibdato y tungstato sódico, que reaccionan con cualquier tipo de fenol, formando complejos fosfomolibdico-

fosfotúngstico, la transferencia de electrones a pH básico reduce los complejos fosfomolibdico-fosfotúngstico en óxidos, cromógenos de color azul intenso, de tungsteno ( $W_8O_{23}$ ) y molibdeno ( $Mo_8O_{23}$ ), siendo proporcional este color al número de grupos hidroxilo de la molécula (figura 23) (Gutiérrez *et al.*, 2008). El método propuesto por Gutiérrez *et al.*, (2008) es el empleado en este estudio pero con ligeras modificaciones, utilizando ácido gálico como material de referencia.



**Figura 23.** Reacción del reactivo de Folin-Ciocalteu.

Se prepararon las siguientes soluciones en matraces aforados: carbonato de sodio al 7.5%, diluyendo 7.5 g del reactivo en 100 mL de agua destilada, la solución de ácido gálico fue preparada diluyendo 7.5 mg del reactivo en 25 mL de agua destilada y finalmente el reactivo de Folin-Ciocalteu se diluyó en agua destilada 1:10 (10 mL/100 mL).

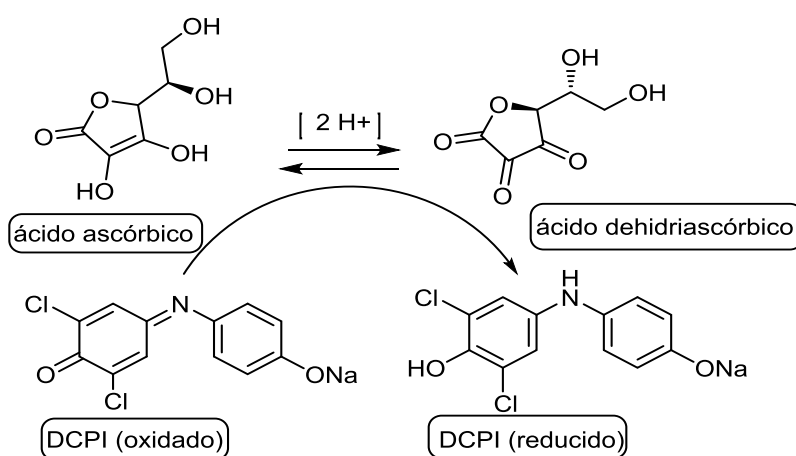
Se realizó una curva de calibración (anexo 1) de ácido gálico a las siguientes concentraciones: 0, 100, 200 y 300 mg/L (Ácido gálico/agua desionizada). Por cada una de las 4 concentraciones se vaciaron 100  $\mu$ L con ayuda de una micropipeta eppendorf en 3 viales eppendorf diferentes, a cada uno se le adicionó 500 $\mu$ L del reactivo Folin más 400  $\mu$ L de carbonato de sodio, se agitaron con un vortex y las muestras se dejaron reposar durante 30 minutos. Transcurrido ese tiempo se vaciaron 200  $\mu$ L de cada vial en 4 pozos de una microplaca, cuidando que no les diera la luz, la absorbancia se midió en un lector de microplacas (Power Wave XS [BioTek]. Software KC Junior, USA) a 765 nm utilizando agua destilada como blanco de referencia.

Ya con los valores de la curva listos se continuó con las diluciones de las muestras de cada especie con agua desionizada, se tomaron 100  $\mu\text{L}$  de cada uno de las diluciones y se vaciaron con ayuda de una micropipeta eppendorf en 3 viales eppendorf diferentes, a cada uno se le adicionó 500 $\mu\text{L}$  del reactivo Folin más 400  $\mu\text{L}$  de carbonado de sodio y se agitaron con un vortex. La absorbancia se midió en un lector de microplacas (Power Wave XS [BioTek]. Software KC Junior, USA) a 765 nm utilizando agua destilada como blanco de referencia y los resultados se expresan en mg Equivalentes de Ácido gálico por litro (mg EAG/L).

#### 7.4.2 Determinación de ácido L-ascórbico (AA)

El ácido L-Ascórbico, un eliminador de radicales libres y oxidantes, se encuentra en frutas y verduras tales como cítricos melones, tomates, etc. Su determinación cuantitativa es especialmente importante en la producción de vino, cerveza, leche y refrescos, donde puede ser un indicador de la calidad (Dürüst *et al.*, 1997).

La determinación de vitamina C se realizó de acuerdo al método descrito por Dürüst *et al.*, (1997). El cual utiliza el reactivo 2,6-diclorofenolindofenol (DCPI) que tiene una coloración azul-violeta y al reaccionar con el AA ocurre una decoloración a rosa tenue o incoloro (figura 24).



**Figura 24.** Reacción entre ácido ascórbico y DCPI.

Se prepararon las siguientes soluciones en matraces aforados: 3 mg del reactivo DCPI en 250 mL de agua, 1 g de ácido oxálico en 250 mL de agua, 2.5 mg de

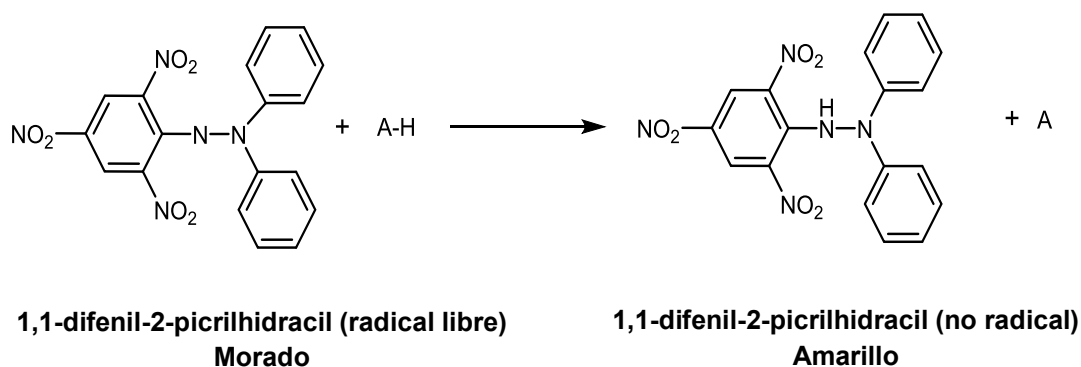


ácido ascórbico en 50 mL de ácido oxálico y para el amortiguador se utilizó 3 g de acetato de Na por cada 10 mL de ácido acético glacial más 7 mL de agua destilada. Se realizó una curva patrón de ácido ascórbico (anexo 2) a las siguientes concentraciones: 0, 10, 20, 30, 40 y 50 mg/L (Ácido ascórbico/ácido oxálico). De cada una de las 6 concentraciones se tomaron 100 µL con ayuda de una micropipeta eppendorf y se vaciaron en 3 viales eppendorf diferentes, a cada uno se le adicionó 100 µL de amortiguador más 800 µL de DCPI, se agitaron con un vortex y se vaciaron 200 µL de cada vial en 3 pozos de una microplaca cuidando que no les diera la luz y se midió la absorbancia a 520nm en un lector de microplacas (Power Wave XS [BioTek]. Software KC Junior, USA), utilizando ácido oxálico al 0.4% como blanco.

Una vez listos los valores de la curva, se prosiguió a realizar las diluciones de las muestras con ácido oxálico. Se tomaron 100 µL de cada una de las diluciones y se vaciaron en 3 viales eppendorf diferentes con ayuda de una micropipeta eppendorf y a cada uno se les agrego 100 µL de amortiguador y 800 µL de DCPI, se agitaron con un vortex y se vaciaron 200 µL de cada vial en 3 pozos de una microplaca y se leyeron las absorbancias a 520nm en un lector de microplacas (Power Wave XS [BioTek]. Software KC Junior, USA), utilizando ácido oxálico al 0.4% como blanco, los resultados se expresaron como miligramos equivalentes de ácido ascórbico por litro (mg EAA/L).

#### **7.4.3 Ensayo de la actividad antioxidante por el método 1,1-difenil-2-picrilhidracil (DPPH<sup>•</sup>)**

El ensayo de DPPH<sup>•</sup> es utilizado en la evaluación del potencial de captación de radicales libres de una molécula antioxidante. Este ensayo se basa en el principio de que el DPPH<sup>•</sup> al aceptar un átomo de hidrógeno (H) de la molécula antioxidante, resulta una reducción del DPPH<sup>•</sup> a DPPH<sup>2</sup> (figura 25), en el cual se presentan cambios de color púrpura a amarillo (Sharma & K., 2008).



**Figura 25.** Reducción del DPPH<sup>•</sup>, convirtiéndose en una especie no radicalaria.

Para este estudio se preparó en un matraz aforado la solución del radical libre 2,2-difenil-1-picrilhidracil (DPPH<sup>•</sup>), se pesaron 7.4 mg del reactivo y se diluyeron en 100 mL de etanol grado analítico, posteriormente se transfirieron a un vaso de precipitado cubierto con papel aluminio para evitar su rápida degradación. Se utilizó Trolox como antioxidante de referencia, se adicionó en un matraz aforado 3.75 mg del reactivo y se diluyeron en 50 mL de etanol grado analítico, posteriormente se colocó en un vaso de precipitado.

Se realizó una curva estándar (anexo 3) del antioxidante de referencia, Trolox, en concentraciones de 0, 50, 100, 200 y 300  $\mu\text{mol ET/L}$  (Trolox/etanol). De cada una de las 5 diluciones se vaciaron 100  $\mu\text{L}$  con ayuda de una micropipeta eppendorf en 3 viales eppendorf diferentes, a cada uno se les adicionó 500  $\mu\text{L}$  del radical DPPH<sup>•</sup>, se agitaron con un vortex y se dejaron reposar durante 60 minutos. Una vez transcurrido el tiempo se vaciaron 200  $\mu\text{L}$  de cada vial en 3 pozos de una microplaca, se midió la absorbancia a 520 nm en un lector de microplacas (Power Wave XS [BioTek]. Software KC Junior, USA) utilizando etanol como blanco de referencia.

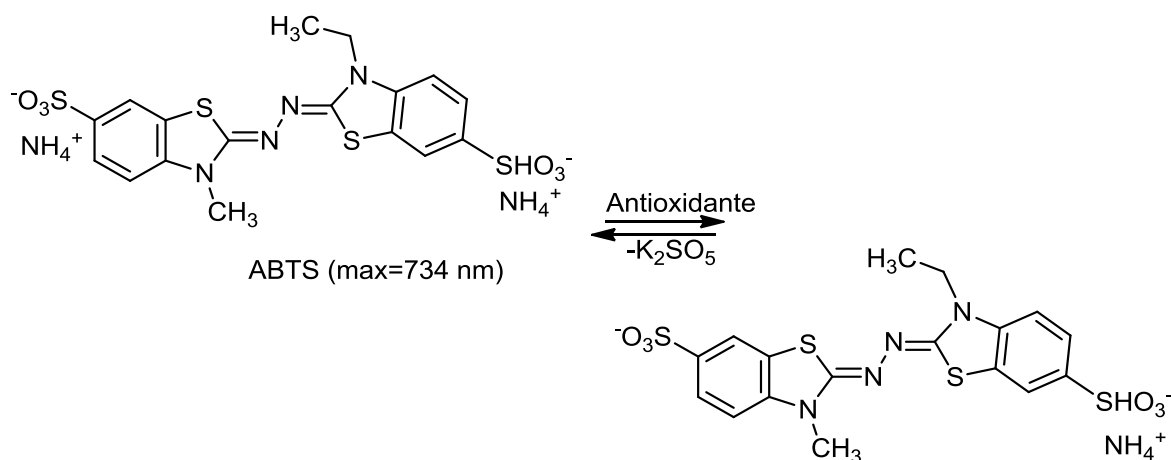
Una vez lista la curva, se realizaron las de diluciones de las muestras con agua desionizada, se vaciaron 100  $\mu\text{L}$  con ayuda de una micropipeta eppendorf en 3 viales eppendorf diferentes, se le agregó a cada uno 500  $\mu\text{L}$  del radical DPPH<sup>•</sup>, se agitaron con un vortex y se dejaron reposar las muestras 1 hora, después de este

tiempo se vaciaron 200µL en 3 pozos de una microplaca y las absorbancias se leyeron a 520 nm en un lector de microplacas (Power Wave XS [BioTek]. Software KC Junior, USA) utilizando etanol como blanco de referencia, los resultados fueron expresados en µmol Equivalentes de Trolox por litro (µmol ET/L) (Sharma *et al.*, 2008).

#### 7.4.4 Ensayo de la actividad antioxidante por el método de ácido 2,2'-azino-bis (3-etilbenzothiazolina-6-sulfónico) (ABTS<sup>•+</sup>)

El radical ABTS<sup>•+</sup> puede ser disuelto en solución acuosa y en medios orgánicos, en los que la actividad antioxidante se puede medir debido a la naturaleza hidrófila y lipófila de los compuestos en las muestras; mientras que el DPPH<sup>•</sup> solo puede disolverse en medio orgánico, lo cual es una limitación importante al interpretar el papel de los antioxidantes hidrófilos por no disolverse en medios acuosos (Kuskoski *et al.*, 2005).

La generación del catión ABTS<sup>•+</sup>, implica la producción directa del cromóforo ABTS<sup>•+</sup> verde-azul a través de la reacción entre ABTS<sup>•+</sup> y el persulfato de potasio (K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub>). La adición de los antioxidantes al radical pre-formado lo reduce a ABTS<sup>•+</sup> (figura 26) (Zulueta *et al.*, 2008).



**Figura 26.** Reacción del ABTS<sup>•+</sup> en presencia de un antioxidante.

El radical ABTS<sup>•+</sup>, se preparó 16 horas antes de realizar el ensayo. Se pesaron 76.8 mg del reactivo ABTS<sup>•+</sup> y se adicionaron 20 mL de agua destilada. De igual

manera se obtuvo la solución de persulfato de potasio, diluyendo 6.6 mg del reactivo en 10 mL de agua destilada. Ambas soluciones se homogeneizaron y la mezcla se dejó reposar 16 horas en un vaso de precipitado con papel aluminio y a temperatura ambiente. Después de obtener el concentrado del radical, se diluyó la solución de ABTS<sup>•+</sup> en etanol absoluto hasta obtener una absorbancia inicial de  $0.7 \pm (0.01)$  a 754 nm en un lector de microplacas (Power Wave XS [BioTek]. Software KC Junior, USA).

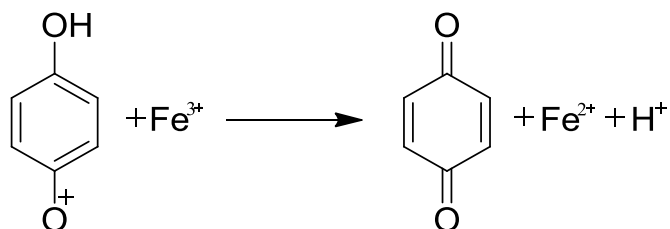
Se realizó una curva estándar (anexo 4) utilizando Trolox como antioxidante de referencia, con concentraciones de 0, 5, 10, 20, 30, 40, y 50  $\mu\text{mol/L}$  (Trolox/agua desionizada). De cada una de las 7 diluciones se vaciaron 20  $\mu\text{L}$  con ayuda de una micropipeta eppendorf en 3 viales eppendorf diferentes, a cada uno se les adicionó 980  $\mu\text{L}$  del radical ABTS<sup>•+</sup>, se agitaron con un vortex y se dejaron reposar durante 7 minutos. Una vez transcurrido el tiempo se vaciaron 200  $\mu\text{L}$  de cada vial en 4 pozos de una microplaca, se leyó la absorbancia a 754 nm en un lector de microplacas (Power Wave XS [BioTek]. Software KC Junior, USA) utilizando agua destilada como blanco de referencia.

Una vez lista la curva estándar, se realizaron las diluciones de los extractos con agua desionizada, se tomaron 20  $\mu\text{L}$  de cada una de las diluciones y se vaciaron con ayuda de una micropipeta eppendorf en 3 viales eppendorf diferentes, a cada uno se le agregó 980  $\mu\text{L}$  del radical ABTS<sup>•+</sup>, se agitaron con un vortex y se dejaron reposar 7 minutos. Se leyó la absorbancia a 754 nm en un lector de microplacas (Power Wave XS [BioTek]. Software KC Junior, USA), utilizando agua destilada como blanco de referencia, los resultados fueron expresados en  $\mu\text{mol}$  Equivalentes de Trolox por litro ( $\mu\text{mol ET/L}$ ).

#### **7.4.5 Ensayo FRAP (potencial reductor férrico)**

En este método se determina la capacidad antioxidante de forma indirecta. Se basa en el poder que tiene una sustancia antioxidante para reducir el  $\text{Fe}_3^+$  a  $\text{Fe}_2^+$  que es menos oxidante. El complejo férrico-2,4,6-tripiridil-s-triazina (TPTZ) incoloro es reducido al complejo ferroso coloreado. Se trata de un método

espectrofotométrico ya que se mide la absorbancia del  $Fe_2^+$ . Así, cuanto más antioxidante es la sustancia objeto de estudio, mayor es la reducción y mayor la concentración de  $Fe_2^+$  y más alta la señal de absorbancia (figura 27) (Benzie & Strain, 1996).



**Figura 27.** Reducción de ion férrico a ion ferroso.

Se prepararon las siguientes soluciones: ácido clorhídrico (HCl) 40mM. Se diluyeron 535  $\mu$ L de HCl (37%) en 100 mL de agua destilada. Para la solución TPTZ 10 mM. Se pesó 312.33 $\mu$ g del reactivo TPTZ para ser disuelto en un matraz de 10 ml con HCl 40 mM. En cuanto a la solución  $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ , se disolvió 135.2 $\mu$ g de  $FeCl_3 \cdot 6H_2O$  en 25 ml de agua destilada.

Para el tampón acetato 0,3 mM pH 3,6, para 250 mL, se disolvió 6.1  $\mu$ g de acetato sódico (NaAc) en 200 mL de agua destilada y se ajustó el pH a 3,6 utilizando HCl 40mM, y se completó hasta los 250 mL con agua destilada. Por ultimo para la solución de trabajo diario FRAP: se mezcló 2,5 mL de solución TPTZ con 2,5 mL de solución  $FeCl_3 \cdot 6H_2O$  20 mM y 25 mL de tampón acetato. Esta preparación se mantuvo durante todo el proceso en un baño María a 37°C.

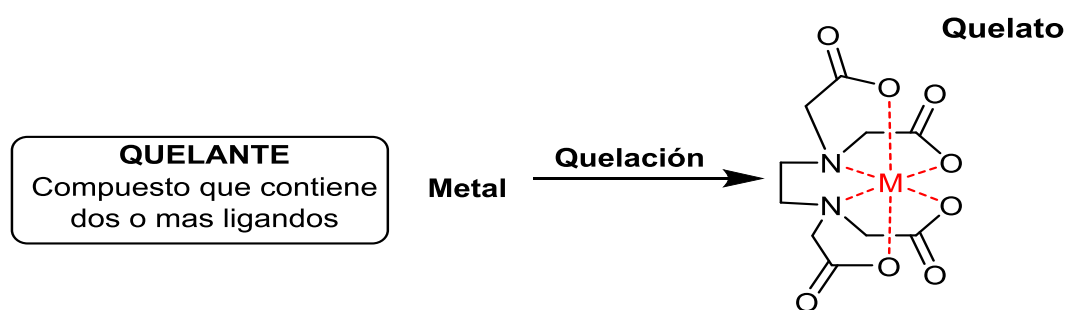
Se realizó una curva estándar (anexo 5) utilizando Sulfato Ferroso como sustancia reductora de referencia, con concentraciones de 0, 10, 20, 30, 40 y 50  $\mu$ L (Sulfato ferroso/agua desionizada). De cada uno de las 6 diluciones se vaciaron 30  $\mu$ L con ayuda de una micropipeta eppendorf en 3 viales eppendorf diferentes y a cada uno se le adicionó 90  $\mu$ L de agua destilada más 900  $\mu$ L de FRAP, se agitaron con un vortex y se incubaron a 37°C durante 10 minutos. Transcurrido ese tiempo se vaciaron 200  $\mu$ L de cada vial a 3 pozos de una microplaca, la absorbancia se leyó

a 593 nm en un lector de microplacas (Power Wave XS [BioTek]. Software KC Junior, USA) utilizando agua destilada como blanco.

Una vez obtenidos los valores de la curva patrón, se prosiguió a realizar las diluciones de las muestras con agua desionizada, de cada una de las diluciones se vaciaron con ayuda de una micropipeta eppendorf 30  $\mu\text{L}$  en 3 viales eppendorf diferentes y se agregaron 90  $\mu\text{L}$  de agua destilada más 900  $\mu\text{L}$  de FRAP, se agitaron con un vortex y se incubaron a 37°C durante 10 minutos. Transcurrido ese tiempo se vaciaron 200  $\mu\text{L}$  en 3 pozos de una microplaca para medir la absorbancia en un lector de microplacas (Power Wave XS [BioTek]. Software KC Junior, USA) a 593nm utilizando agua destilada como blanco, los resultados fueron expresados como  $\mu\text{mol}$  Equivalentes de Sulfato Ferroso por litro ( $\mu\text{mol}$  EFeSO<sub>4</sub>/L).

#### 7.4.6 Actividad quelante

Se utilizó el método reportado por Guicin *et al.*, (2003), el cual se basa en la reacción de la molécula quelante de referencia con el ion ferroso ( $\text{Fe}^{2+}$ ), posteriormente el ion ferroso que no fue quelado o secuestrado reacciona con la ferrozina generando color, el cual es medido espectrofotométricamente a una longitud de onda de 562 nm (figura 28).



**Figura 28.** Reacción general de actividad quelante. Complejo metal ligando

Para este ensayo no se realiza una curva estándar, pero si se realiza la comprobación del reactivo antioxidante de referencia EDTA.

Se realizaron las diluciones de las muestras con agua desionizada, posteriormente se agregó a cada vial 50 µL de una solución de cloruro férrico II tetrahidratado y 450 µL de metanol, se agitó en vortex dejando en reposo por 5 min a temperatura ambiente. Posteriormente se adicionaron 400 µL de ferrozina, se agitaron en vortex y se dejaron en reposo por 10 min a temperatura ambiente, transcurrido ese tiempo se vació 200 µL de cada dilución con ayuda de una micropipeta eppendorf en 3 pozos de una microplaca, se realizó la lectura de absorbancia a 562 nm en un lector de microplacas (Power Wave XS [BioTek]. Software KC Junior, USA) utilizando agua destilada como blanco.

Como agente quelante de referencia se empleó EDTA y como blanco de referencia se utilizó agua desionizada. Los resultados se expresaron en % de actividad quelante de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de Actividad quelante} = ((A_0 - A_1) / A_0) * 100$$

Dónde:

$A_0$  = Absorbancia de la muestra control

$A_1$  = Absorbancia de la muestra problema

## 8. Análisis estadístico

Todos los valores se obtuvieron por triplicado y los resultados fueron expresados como la media de los ensayos por triplicado  $\pm$  su desviación estándar. El análisis estadístico se obtuvo mediante un análisis de varianza de una vía (ANOVA) y una prueba de rango múltiple de Duncan (DMRT) para comparaciones múltiples a través del software estadístico Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) para WinTM versión 15.0. Un valor  $p < 0.05$  fue considerado estadísticamente significativo.

## 9. Resultados y discusión

### 9.1 Rendimientos

Como se mencionó en la metodología únicamente se consideraron los extractos de acetato de etilo y metanol para la cuantificación de los metabolitos secundarios y actividad antioxidante de las especies de estudio, en donde los rendimientos de cada una con su respectivo disolvente se observan en la tabla 1 reportándose el mayor rendimiento para el extracto de metanol de *A. schaffneri* con 3.6%.

**Tabla 1.** Rendimiento de las muestras extraídas de hoja de *A. schaffneri*, *A. laevigata* y *A. aculeaticarpa* con dos disolventes.

Disolvente	Peso de hojas secas (g)	Peso seco de la muestra (g)	Rendimiento (%)
<i>Acacia schaffneri</i>			
Acetato de Etilo	2000	34.97	1.7
Metanol	2000	71.53	3.6
<i>Acacia laevigata</i>			
Acetato de Etilo	2000	6	0.3
Metanol	2000	40.15	2
<i>Acacia aculeaticarpa</i>			
Acetato de Etilo	2000	4.73	0.2
Metanol	2000	36.38	2

AcOEt: Acetato de Etilo, MeOH: Metanol, g: Gramos, %: Porcentaje.

Investigaciones realizadas por Chang y colaboradores (2013), mencionan que existen familias de metabolitos secundarios constituidos por taninos gálicos, taninos catéquicos, taninos rojos, alcaloides, aminas cuaternarias, antocianinas, cumarinas, flavonoides, chalconas, esteroides triterpenos y antraquinonas presentes en extractos alcohólicos utilizando disolventes como éter, etanol y acetato de etilo o en extractos acuosos utilizando disolventes como Dimetilsulfóxido (DMSO) y metanol, en donde se pueden encontrar metabolitos secundarios como polisacáridos, amidas, saponinas, mucilagos, taninos gálicos, taninos, catéquicos, flavonoides glucósilados, compuestos reductores y alcaloides.



De acuerdo con lo anterior mencionado, se podría presuponer que en estas especies de estudio existe una mayor cantidad de los metabolitos pertenecientes a la familia de extractos acuosos, por lo cual, fue mayor el rendimiento mediante el extracto con metanol (Aguirre, Arróliga & Dalie, 2013). Estos resultados se confirman con la gran cantidad de taninos y flavonoides glucósilados que se han aislado de diversas especies de la misma familia, tales como *Mimosa hamata Willd*, *Mimosa tenuiflora*, *Acacia farneciana*, *Acacia tenuiflora*, *Acacia de Constantinopla*, entre otras (Hissain *et al.*, 2013).

## 9.2 Contenido de fenoles totales

Esta reacción es característica para compuestos que tienen un grupo hidroxilo unido a un anillo de benceno (Martínez, Segovia & López, 2015). Si bien, este ensayo no es específico para grupos particulares de compuestos fenólicos, pero sirve para cuantificar la concentración total de grupos hidroxilo fenólicos en el extracto vegetal de interés (Morillas-Ruiz & Delgado-Alarcón, 2012).

El contenido de fenoles totales obtenidos de los extractos de las plantas de estudio se muestra en la tabla 2, en la que se registró para el extracto de metanol de la especie *A. aculeaticarpa* el resultado más alto significativamente (11,499.9 mg EAG/L), seguido del extracto de acetato de etilo de la misma especie (6,583.3 mg EAG/L) y el valor más bajo corresponde al extracto de acetato de etilo de *A. laevigata* (2,705.5 mg EAG/L).

**Tabla 2.** Conteo de fenoles totales de los extractos de *A. laevigata*, *A. schaffneri* y *A. aculeaticarpa*.

Extractos	Valores
AcOEt <i>A. schaffneri</i>	3122.4±30.6 <sup>d</sup>
MeOH <i>A. schaffneri</i>	2947.5±47.5 <sup>e</sup>
AcOEt <i>A. laevigata</i>	2705.5±33.3 <sup>f</sup>
MeOH <i>A. laevigata</i>	3249.9±21.2 <sup>c</sup>
AcOEt <i>A. aculeaticarpa</i>	6583.3±150.4 <sup>b</sup>
MeOH <i>A. aculeaticarpa</i>	11499.9±106.3 <sup>a</sup>

Diferentes letras superíndices indican que existe diferencia significativas ( $p < 0.05$ ) entre cada extracto.  
AcOEt: Acetato de Etilo, MeOH: Metanol, EAG: Equivalentes de ácido gálico

De acuerdo con Cartaya, (2013), los compuestos fenólicos que poseen un gran número de grupos hidroxilos insustituídos o que normalmente se encuentran combinados con glucosa, galactosa, arabinosa, ramosa, o xilosa, son considerados compuestos polares, por lo que son moderadamente solubles en solventes como: etanol, metanol, butanol, acetona, DMSO y agua. Es por ello que el resultado más alto para esta prueba corresponde al extracto metanólico.

Por otra parte, en una investigación realizada por Rivera, *et al.*, (2016), en la que se cuantificó el contenido de fenoles en las vainas de *A. laevigata*, obtuvieron valores muy bajos en comparación a los reportados en esta investigación; 53.0 mg EAG/L correspondiente al extracto etanólico y 6.2 mg EAG/L para el extracto acuoso. Dichos valores tan inferiores se deben a que, de las partes anatómicas de las plantas, la mayor concentración de compuestos fenólicos se encuentra en las hojas, ya que juegan un papel importante en el crecimiento y reproducción de las plantas, así como en procesos de defensa contra agentes patógenos, depredadores, radiación ultravioleta, etc. (Martínez, Segovia & López, 2015).

Tradicionalmente los compuestos fenólicos se han considerado como sustancias antinutritivas, debido al efecto adverso de uno de sus componentes principales, los taninos, en la digestibilidad de proteínas e inhibición de la absorción del ion  $Fe^{3+}$  (Garrido, Ortiz & Pozo, 2013). Sin embargo, actualmente existe gran interés en estos compuestos debido a la gran variedad de actividades biológicas que presentan, considerándose uno de los compuestos fitoquímicos alimentarios más importantes por su contribución al mantenimiento de la salud. Inclusive, existen numerosos estudios que proporcionan datos que apoyan la correlación negativa entre la ingestión de compuestos fenólicos y el riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares, cáncer, Alzheimer, cataratas y otras disfunciones relacionadas con el envejecimiento (Martínez, Segovia & López, 2015).

### 9.3 Contenido de ácido L-ascórbico (AA)

Las plantas superiores tienen un alto contenido de antioxidantes, como la vitamina C, la cual presenta una excelente acción reductora y es capaz de regenerar a la vitamina E, disminuyendo así la peroxidación lipídica (Mora-Herrera *et al.*, 2011).

Utilizando la metodología indicada por Dürüst *et al.*, (1997), fueron evaluados los extractos de acetato de etilo y metanol obteniéndose valores de 35.71, 53, 93.39, 234.8 y 274.9 mg EAA/L respectivamente para cada muestra (Tabla 3), siendo el más alto ( $p < 0.05$ ) para el extracto de metanol de la especie *A. laevigata* (274.9 mg EAA/L) y no se detectó esta vitamina hidrosoluble para la especie *A. aculeaticarpa* del extracto de acetato de etilo. Por otra parte, no se observaron diferencias significativas entre los extractos de acetato de etilo de *A. schaffneri* (35.71 mg EAA/L) y el extracto de metanol de *A. aculeaticarpa* (53 mg EAA/L), mostrando también los valores más bajos.

**Tabla 3.** Contenido de ácido ascórbico (mg EAA/L) de extractos de *A. schaffneri*, *A. laevigata* y *A. aculeaticarpa*

Extractos	Valores
AcOEt <i>A. schaffneri</i>	35.71±22.6 <sup>d</sup>
MeOH <i>A. schaffneri</i>	93.39±15.1 <sup>c</sup>
AcOEt <i>A. laevigata</i>	234.8±22.4 <sup>b</sup>
MeOH <i>A. laevigata</i>	274.9±14.5 <sup>a</sup>
AcOEt <i>A. aculeaticarpa</i>	ND
MeOH <i>A. aculeaticarpa</i>	53±10.0 <sup>d</sup>

Diferentes letras superíndices indican que existe diferencia significativas ( $p < 0.05$ ) entre cada extracto. AcOEt: Acetato de Etilo, MeOH: Metanol, EAA: Equivalentes de ácido ascórbico, ND: No se detectó.

Los resultados obtenidos en esta investigación fueron comparados con los reportados por Subhaswaraj, *et al.*, (2017), en el que el extracto metanólico de la parte aérea de la especie *A. nilotica* presentó valores de 152.79 mg EAA/L, en un promedio, similar a los obtenidos en esta investigación. Las reacciones de oxidación de la vitamina C se aceleran por el calor, sustancias alcalinas, la acción de la luz y la presencia de algunos metales como el cobre o el hierro (Astiasarán *et al.*, 2003); dado a que los extractos fueron obtenidos mediante reflujo; técnica

experimental de laboratorio que involucra una temperatura superior a la del ambiente, pero menor a la del punto de fusión de los disolventes, es posible que el contenido de ácido ascórbico se haya perdido durante el proceso de extracción, ya que dicha vitamina es termolábil y se pierde con temperaturas altas, esto podría explicar por qué el contenido de ácido ascórbico en el extracto de acetato de etilo de *A. aculeaticarpa* fue nulo.

La vitamina C ejerce un papel muy importante en la nutrición, debido a que el ser humano no puede sintetizar a este antioxidante no enzimático, y necesariamente debe ingerirlo en su dieta ya que en deficiencia se presenta el escorbuto y un sistema inmunológico deficiente (Molinedo y Carrilo, 2014), sin embargo en altas dosis, puede actuar como un agente prooxidante, especialmente cuando está en presencia de elevadas cantidades de metales de transición, generando radicales hidroxilo (Castro *et al.*, 2013).

#### **9.4 Actividad antioxidante mediante el método DPPH\***

La actividad de neutralización de radicales libres se ha utilizado ampliamente para evaluar la actividad antioxidante de extractos de plantas y alimentos (Mercado-Mercado *et al.*, 2013). Este ensayo determina la concentración inicial de DPPH\* y la concentración final una vez que se ha añadido el posible antioxidante (Kandhasamy, Jince & Sellamuthu, 2013).

De acuerdo con los resultados obtenidos, se observa que existe diferencia significativa de la capacidad antioxidante entre las muestras, encontrando que el valor más elevado significativamente corresponde al extracto de acetato de etilo de la especie *A. schaffneri* (27,050  $\mu\text{mol ET/L}$ ), seguido por el extracto de metanol de *A. aculeaticarpa* (15,368.7  $\mu\text{mol ET/L}$ ) y no encontrándose diferencias significativas entre el extracto de metanol de la especie *A. schaffneri* (4675  $\mu\text{mol ET/L}$ ), y los extractos de metanol (4001.5  $\mu\text{mol ET/L}$ ) y acetato de etilo (3,947.5  $\mu\text{mol ET/L}$ ) de la especie *A. laevigata*, observándose los valores más bajos para estos tres últimos como se muestra en la tabla 4.

**Tabla 4.** Valores de actividad antioxidantes por DPPH ( $\mu\text{molET/L}$ ) de extractos de *A. schaffneri*, *A.laevigata*, y *A. aculeaticarpa*.

Extractos	Valores
AcOEt <i>A. schaffneri</i>	27050 $\pm$ 2429.7 <sup>a</sup>
MeOH <i>A. schaffneri</i>	4675 $\pm$ 255.1 <sup>d</sup>
AcOEt <i>A. laevigata</i>	3947.5 $\pm$ 817.5 <sup>d</sup>
MeOH <i>A.laevigata</i>	4001.5 $\pm$ 383 <sup>d</sup>
AcOEt <i>A. aculeaticarpa</i>	8150 $\pm$ 282.9 <sup>c</sup>
MeOH <i>A. aculeaticarpa</i>	15368.7 $\pm$ 541.2 <sup>b</sup>

Diferentes letras superíndices indican que existe diferencia significativas ( $p < 0.05$ ) entre cada extracto.

AcOEt: Acetato de Etilo, MeOH: Metanol, ET: Equivalentes de trolox.

El ensayo DPPH\* tiene una mayor afinidad al interpretar el papel de aquellos antioxidantes de naturaleza liposoluble, ya que no puede disolverse en medios acuosos (Pyrzynska & Pękal, 2013), siguiendo esta premisa se puede explicar por qué el extracto con acetato de etilo de *A. schaffneri* obtuvo el valor más alto, debido a que el disolvente extrajo, entre otros, los metabolitos secundarios de polaridad intermedia con actividad antioxidante, lo cual se refleja en la absorbancia de DPPH\*.

Si bien, las especies de estudio no han tenido investigaciones previas acerca de sus beneficios para la salud, se han encontrado en especies de la misma familia metabolitos secundarios responsables de su actividad biológica, es el caso de *Mimosa tenuiflora* en la que se han aislado cumarinas con capacidad antioxidante de la corteza del árbol (Moctezuma *et al.*, 2015). Se han aislado flavonoides de diversas especies tales como *Acacia farneciana*, *Acacia tenuiflora* y *Acacia de Constantinopla*, en el que se ha comprobado que presentan actividad anticancerígena y antioxidante (Accame, 2013). Igualmente se han aislado taninos de la parte aérea de la especie *Mimosa hamata Willd*, los cuales se les comprobó que presentaban actividad antiinflamatoria y antioxidante (Cabrera, 2006). Mismos metabolitos secundarios con polaridad intermedia pueden ser los responsables del valor registrado en el extracto de acetato de etilo de *A. schaffneri*.

En un estudio llevado a cabo por Thambiraj, *et al.*, (2012), se determinó, mediante el ensayo DPPH<sup>•</sup>, el potencial antioxidante *in vitro* del extracto de metanol de la planta *Acacia caesia* (L.) Wild, obteniendo un resultado menor (109 µmol ET/L) a la presente investigación. De igual manera, en un estudio realizado por Anand, *et al.*, (2014), se evaluó la actividad *in vitro* del extracto de metanol de la parte aérea de *Acacia sinuata* obteniendo 76.12 µmol ET/L. Estos resultados indican que las especies de estudio mostraron una mayor capacidad antioxidante con el ensayo DPPH<sup>•</sup> que otras especies de su misma familia, lo cual es un hallazgo muy importante dado que las especies recolectadas en el estado de Hidalgo, poseen una mayor actividad antioxidante, lo que resulta en un beneficio para la salud de la población.

### **9.5 Actividad antioxidante mediante el método ABTS<sup>•+</sup>**

La prueba ABTS<sup>•+</sup> ha sido la técnica más empleada en estos estudios de actividad antioxidante de extractos, debido a su rapidez y precisión. Además, el radical ABTS<sup>•+</sup> puede disolverse en solución acuosa y en medios orgánicos, por lo que es posible medir la actividad antioxidante de aquellos compuestos polares y no polares (Dawidowicz & Olszowy, 2013).

Las tres plantas mostraron tener capacidad antioxidante como se muestra en la tabla 5, sin embargo, el extracto metanólico de la especie *A. schaffneri* se observa significativamente con mayor actividad (596.5 µmol ET/L) en comparación con los demás extractos, seguida del extracto de acetato de etilo de *A. schaffneri* (397.8 µmol ET/L) y el valor más bajo ( $p \leq 0.05$ ) correspondieron a los extractos de acetato de etilo de *A. laevigata* (194.5 µmol ET/L) y acetato de etilo de *A. acualeticarpa* (62.6 µmol ET/L).

**Tabla 5.** Valores de actividad antioxidante por ABTS ( $\mu\text{mol ET/L}$ ) de extractos de *A. schaffneri*, *A.laevigata*, y *A. aculeaticarpa*.

Extractos	Valores
AcOEt <i>A. schaffneri</i>	$397.8 \pm 1.7^b$
MeOH <i>A. schaffneri</i>	$596.5 \pm 2.8^a$
AcOEt <i>A. laevigata</i>	$194.5 \pm 27.2^d$
MeOH <i>A.laevigata</i>	$236.3 \pm 7^c$
AcOEt <i>A. aculeaticarpa</i>	$62.6 \pm 22.4^e$
MeOH <i>A. aculeaticarpa</i>	$191.7 \pm 4.7^d$

Diferentes letras superíndice indican que existe diferencia significativas ( $p < 0.05$ ) entre cada extracto. AcOEt: Acetato de etilo, MeOH: Metanol, ET: Equivalentes de trolox.

De acuerdo con los datos obtenidos en una investigación realizada por Delgadillo *et al.*, (2015), en donde evaluaron la actividad antioxidante de los extractos metanólicos de las vainas de *A. schaffneri* ( $10.85 \mu\text{mol ET/L}$ ) y *A. farneciana* ( $10.47 \mu\text{mol ET/L}$ ) obtuvieron datos inferiores a los de esta investigación. Dichos resultados demuestran que los extractos de las especies de estudio tienen la capacidad de donar electrones y, por lo tanto, pueden neutralizar a los radicales libres impidiendo el proceso de oxidación, así como, retrasar o prevenir el estrés oxidativo, el cual conlleva a disfunciones fisiológicas y con ello a enfermedades crónicas de importancia nutricional (Sánchez-Valle & Méndez-Sánchez, 2018).

### 9.6 Poder reductor férrico FRAP

El ensayo de FRAP se basa en la capacidad de los compuestos antioxidantes presentes en las muestras de donar electrones para reducir especies oxidantes, en este caso para reducir el ion férrico ( $\text{Fe}^{3+}$ ) acomplejado con 2,4,6-tri(2-piridil)-s-riazina (TPTZ), de color amarillo, a su forma ferrosa ( $\text{Fe}^{2+}$ ) de color azul (Zapata, Cortes & Rojano, 2013).

Los datos sobre el potencial reductor férrico de los extractos de especies de Acacia presentados en la Tabla 6, indican que el extracto de metanol de *A. aculeaticarpa* dio como resultado la actividad más alta de FRAP ( $161.4 \mu\text{mol Fe(II)/L}$ ) seguido del extracto de acetato de etilo de *A. schaffneri* ( $139.6 \mu\text{mol}$

Efe(II)/L) y el valor más bajo corresponde al extracto de metanol de la especie *A. laevigata* (31 µmol Efe(II)/L).

**Tabla 6.** Potencial reductor férrico (µmol Efe(II)/L ) de los extractos de especies de *A. schaffneri*, *A. laevigata* y *A. aculeaticarpa*.

Extractos	Valores
AcOEt <i>A. schaffneri</i>	139.6±2.7 <sup>b</sup>
MeOH <i>A. schaffneri</i>	97.3±1.4 <sup>c</sup>
AcOEt <i>A. laevigata</i>	49.1±2.1 <sup>d</sup>
MeOH <i>A. laevigata</i>	31±5.5 <sup>f</sup>
AcOEt <i>A. aculeaticarpa</i>	36.4±3.0 <sup>e</sup>
MeOH <i>A. aculeaticarpa</i>	161.4±3.1 <sup>a</sup>

Diferentes letras superíndice indican que existe diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) entre cada extracto. AcOEt: Acetato de Etilo, MeOH: Metanol, Efe (II)/L: Equivalente de sulfato ferroso.

Las seis muestras tuvieron la capacidad de reducir el ion férrico a ion ferroso, en un estudio realizado por Bilal *et al.*, (2017) siguiendo con esta metodología, los extractos metanólicos de las hojas (335 µmol Efe (II)/L), vainas (316 µmol µmol Efe(II)/L) y corteza (273 µmol Efe(II)/L) de *A. nilotica* obtuvieron valores más altos en comparación a los del presente estudio. Asimismo, al comparar con los resultados reportados por Zia-UI-Haq *et al.*, (2013), en el que los valores de las hojas (233.17 µmol Efe(II)/L), vainas (254.42 µmol Efe(II)/L) y semillas (178.14 µmol µmol Efe(II)/L) del extracto de metanol de *A. leucophloea Roxb* estos presentaron una mayor capacidad reductora.

De acuerdo con Carvajal *et al.*, (2011), además de los compuestos fenólicos presentes en los vegetales, se pueden encontrar otros metabolitos que también reducen el  $Fe^{3+}$ , como el ácido ascórbico, ácido cítrico, ácido fólico, vitamina A, fructosa entre otros e indica que la presencia de estos metabolitos secundarios en las plantas dependerá de los factores exógenos a los que hayan estado sometidas las especies, como radiación UV o plagas, esto quiere decir que a mayor estrés oxidativo que sufren las plantas, mayor será la concentración de antioxidantes, debido a ello, la capacidad FRAP fue diferente entre las especies de estudio y



especies de su misma familia ya que cada una experimenta factores ambientales distintos.

La capacidad redox que presentan las especies de estudio y especies de la misma familia es de suma importancia nutricional, ya que la absorción tanto del  $\text{Fe}^{3+}$  como del  $\text{Fe}^{2+}$  tiene lugar principalmente en el intestino delgado, concretamente en el duodeno y yeyuno proximal. La biodisponibilidad del hierro ingerido para la absorción dependerá principalmente de su naturaleza química, debido a que el  $\text{Fe}^{3+}$  es insoluble a un pH >3, este debe ser reducido o quelado para estar disponible durante la absorción ya que el  $\text{Fe}^{2+}$  permanece soluble a un pH 7 (Tostado-Madrid *et al.*, 2015).

### **9.7 Actividad quelante**

La actividad quelante refiere a la capacidad de un compuesto para donar dos o más ligandos y así formar complejos con iones metálicos (González, 2016). En esta prueba, únicamente la especie *A. laevigata* resultó poseer actividad quelante (68%) con el extracto de acetato de etilo. Esto nos demuestra que, en dicho ensayo, el extracto de acetato de etilo de *A. laevigata* fue el único en poseer metabolitos secundarios capaces de donar más de 2 electrones para formar complejos quelantes con el ion ferroso (Sowndhararajan, Joseph y Manian, 2013).

Se comparó el resultado obtenido en esta investigación con el reportado por Makanjuola, (2017), en el cual estudiaron la actividad quelante del extracto de acetato de etilo de las hojas de la especie *Camellia sinensis*, planta utilizada para el té verde, en la cual obtuvieron un valor ligeramente mayor al reportado en esta investigación 77.72%. Se realizó la comparación con una planta de diferente familia, ya que en especies de *Acacia* no se encontraron estudios previos.

Nutricionalmente hablando es de suma importancia que los iones de metales de transición como hierro, cobre, cromo, cobalto, selenio y otros, se encuentren en el organismo quelados ya que libremente experimentan reacciones redox y poseen la capacidad de producir radicales tales como el anión superóxido y óxido nítrico en sistemas biológicos, además de que un exceso de la presencia de estos iones

en un sistema biológico podrían catalizar las reacciones de tipo Haber-Weiss y Fenton, dando como resultado la generación de radicales hidroxilo (altamente lesivo para la célula) (Diaz-Urbe, Vallejo, Reales, & Correa, 2015).

Sin embargo, estos iones de metales de transición podrían formar quelatos con los antioxidantes presentes en *A. laevigata*, lo que daría como resultado la supresión de la generación de radicales hidroxilos y la inhibición de los procesos de peroxidación de las moléculas biológicas, daños en el ADN, modificación de proteínas y lipoproteínas lo cual se asocia con enfermedades como Parkinson, Alzheimer u otras degenerativas del sistema neurológico (Jomova & Valko, 2011).

## 10. Conclusiones

- El extracto de metanol de la especie *A. aculeaticarpa* reportó la mayor cantidad de compuestos fenólicos (11,499.9 mg EAG/L) ya que anatómicamente en las hojas se concentra una alta concentración del metabolito secundario por las funciones que ejerce en este sitio.
- La mayor concentración de AA estuvo presente en ambos extractos de *A. laevigata* (234.8 y 274.9 mg EAA/L) en comparación a los extractos de estudio y a una especie de su misma familia (*A. nilotica*).
- Los metabolitos secundarios presentes en *A. schaffneri* mostraron tener la mayor capacidad de donar electrones y por lo tanto, pudieron neutralizar los radicales libres en las pruebas antioxidantes DPPH<sup>•</sup> (27,050 μmol ET/L) y ABTS<sup>•+</sup> (596.5 μmol ET/L), en comparación con las demás especies de estudio, así como en especies de su misma familia.
- La mayor capacidad reductora del ion férrico se reportó para el extracto de metanol de la especie *A. aculeaticarpa* (162 EFeSO<sub>4</sub>/L), la cual podría servir como nutracéutico potencial cuando se ingiera junto con alimentos que contengan ion férrico para una mejor biodisponibilidad.
- A pesar de que únicamente la muestra de acetato de etilo de la especie *A. laevigata* mostró tener capacidad quelante (68%), se refiere como una buena actividad en comparación a la planta medicinal del té verde *Camellia sinensis* (77.72%), esto se podría relacionar con los resultados de la concentración de AA de la misma especie de estudio, capas de quelar metales de transición.
- Las concentraciones de los metabolitos secundarios antioxidantes son muy variables, ya que como sucede para cualquier producto o subproducto de origen natural, su concentración dependerá de la especie, de los factores fisicoquímicos y medioambientales a los que se haya expuesto, del lugar donde se encuentre, e incluso su nivel de madurez.
- Las especies de estudio se reportan con un alto contenido de compuestos fenólicos y ácido ascórbico, así como una buena capacidad para neutralizar radicales libres y formar quelatos con metales de transición. Sin embargo,

el perfil de estas plantas no ha sido objeto de estudio completo. Por lo tanto, se recomienda en posteriores investigaciones continuar con estudios farmacológicos y clínicos, con el fin de sugerir aplicaciones y/o recomendaciones específicas.

## 11. Bibliografía

Abrego, C., Honles, J. (2012). *Identificación, cuantificación y determinación de la actividad citotóxica de los glicósidos cardiotónicos procedentes de las raíces y flores de Plumería rubra (flor de mayo), Stemmadenia donnell-smithii (cojon de puerco) y Thevetia ahouia (cojon de costa de hojas largas) de la familia Apocynaceae* (Tesis de licenciatura). Universidad de el Salvador Facultad de Química y Farmacia, San Salvador, El Salvador.

Accame, M. (2013). Otras plantas medicinales para alteraciones del sueño, ansiedad y depresión (I): Bacopa, Albizia, Centella. *PAM.*, 37(365), 690-695.

Aguirre, A., Arróliga, M., Dalie, M. (2013). *Evaluación de la actividad antioxidante en 18 especies vegetales a través del ensayo DPPH recolectadas en el departamento de Matagalpa durante el periodo marzo-agosto 2013.* (Tesis de Doctorado). Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua, Facultad de Ciencias Químicas.

Anand, S., Mohan, G. (2014). Actividad antioxidante, fenol y contenido de flavonoides de *Acacia sinuata (Lourr)*, *Merr. Biosci. Discov.*, 5, 24-27.

Arrázola, G., Grané, N., Dicenta, F. (2014). Importancia de los glucósidos cianogénicos en el sabor de frutos de almendros (*Prunus dulcis* Miller) y su incidencia en la agroindustria. *Rev. Colomb. Cienc. Hortic.*, 8, 57-66.

Astiasaran, I., Lasheras, B., Ariño, A., Martínez, A. (2003). *Alimentos y nutrición en la práctica sanitaria*. España: Díaz de Santos.

Barranco, L. Batista, I. (2013). Contribución social de la Medicina Tradicional y Natural en la salud pública cubana. *Rev. Hum. Med.*, 13(3), 713-727.

Benzie, I., Strain, J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power: the FRAP assay. *Rev. Analyt. Biochem.*, vol. 239(2), 70-76.

Beutelspacher, C. (2017). *Uncaria tomentosa* (Willd.) DC.(Rubiaceae) y las falsas "uña de gato" en México. *Lacandonia*, 9(2), 21-31.

Cabrera, C. (2006). *Estudio químico de las hojas y tallos de Mimosa acuelaticarpa var. Biuncifera (Benth.) Barnett.* (Tesis de licenciatura). Instituto de Ciencias Básicas e Ingenierías, Centro de Investigaciones Químicas, Pachuca de Soto, Hidalgo.

Calderón, J., Muñoz, E., Quintanar, M. (2013). Estrés oxidativo y diabetes mellitus. *REB.*, vol. 32(2), 53-66.

Carn, F., Guyot, A., Baron, S., Pérez, J., Buhler, E., Zanchi, D. (2012). Structural properties of colloidal complexes between condensed tannins and polysaccharide hyaluronan. *Biomacromolecules*, 13(3), 751–75.

Cartaya, O. (2013). Reseña bibliográfica flavonoides: características químicas y aplicaciones. *Cultivos tropicales*, 22(2), 5-14.

Carvajal, L., Turbay, S., Rojano, B., Álvarez, L., Restrepo, S., Álvarez, J., Bonilla, K., Ochoa, C. Sánchez, N. (2011). Some *Passiflora* species and their antioxidant capacity. *Rev. Cubana Plant. Med.*, 16(4), 354-363.

Castro J., Gutiérrez, F., Acuña, C., Cerdeira, L., Tapullima, A., Cobos, M., Sixto, A. (2013). Variación del contenido de vitamina C y antocianinas en *Myrciaria dubia*" camu camu". *Rev. Soc. Quím. Perú*, 79(4), 319-330.

Cecchini, T., Ticli, B. (2016). *El libro de las hierbas medicinales.* Parkstone International.

Chang, L., Rosabal, Y., Morales, J. (2013). Composición fitoquímica de los tallos y hojas de la especie *Solanum nigrum* L. que crece en Cuba. *Rev. Cubana Plant. Med*, 18, 10-16.

Chávez-Sifontes, M., Domine, M. (2013) Lignin, structure and applications: depolymerization methods for obtaining aromatic derivatives of industrial interest. *Av. Cien. Ing.*, 4(4), 15-46.

CONABIO. Recuperado el 18 de 08 de 2017, de CONABIO.

CONABIO. Recuperado el 18 de 09 de 2017, de CONABIO.

Coronado, M., Vega y León, S., Gutiérrez, R., Vázquez, M., Radilla, C. (2015). Antioxidantes: perspectiva actual para la salud humana. *Rev. chil. nutr.*, 42(2), 206-212.

Cruz, R., González, J., Sánchez, P. (2013). Functional properties and health benefits of lycopene. *Nutr. Hosp.* 28, 6-15.

Dawidowicz, A., Olszowy, M. (2013). The importance of solvent type in estimating antioxidant properties of phenolic compounds by ABTS assay. *Eur. Food Res. Technol.*, 236 (6), 1099-1105.

Delgadillo, C., Cuchillo, M., Espinosa, J., Medina, O., Molina, E., Diaz, M., Alvarez, M., Ledesma, J. Pedraza, J. (2015). Antioxidant activity and protection against oxidative-induced damage of *Acacia shaffneri* and *Acacia farnesiana* pods extracts: *in vitro* and *in vivo* assays. *BMC medicina complementaria y alternativa*, 15(435), 1-8.

Díaz-Uribe, C., Vallejo, W., Reales, Y., Correa, P. (2015). Phenol photodegradation by Haber-Weiss process under visible light on copper (II) tetracarboxyphenyl porphyrin supported on titanium dioxide. *Prospectiva*, 13(2), 47-53.

Dioses, S., Trillo, J. (2017). *Eficacia de los suplementos antioxidantes para la prevención de cáncer* (Tesis de pregrado). Universidad privada Norbert Wiener, Lima, Perú.

Dürüst, N., Sümengen, D., Dürüst, Y. (1997). Ascorbic acid and element contents of foods of trabzon (Turkey). *J. Agri. Food Chem.*, 2085-2087.

Estrada, E., Delgado, A., Villareal, J. (2014). Leguminosas de Nuevo León, México: *Acacia Miller*. México, D.F.: Universidad Nacional Autónoma de México.

Ferrazzano, G., Roberto, L., Amato, I., Cantile, T., Sangianantoni, G., Ingenito, A. (2011). Antimicrobial properties of green tea extract against cariogenic microflora: an in vivo study. *J. Med. Food*, 14,907–911.

Flores, T., Huamán, J., Tomás, G. (2013). Estudio comparativo de tres metodologías cuantitativas de extracción de saponinas de la *Melisa officinalis* “toronjil”. *Rev.Per. Quím. Ing. Quím.* 16(2), 47-51.

Gallegos, J., Rocha, N., González, R., García, M. (2013). Thermal processing effect on the antioxidant capacity of pinole from mesquite pods (*Prosopis laevigata*) *CyTA - Journal of Food*, vol. 11(2), 162-170.

Gantait, S., Kundu, S., Kanti, P. (2016). *Acacia*: An exclusive survey on in vitro propagation. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 1, 1-15.

Garrido, G., Ortiz, M., Pozo, P. (2013). Total phenols and flavonoids and antioxidant activity of *Lampaya medicinalis* F. *Phil.* leaf extracts. *JPRes*, 1, 30-38.

Gómez, R. (2012). Plantas medicinales en una aldea del estado de tabasco, México. *Rev. Fitotec. Mex.*, vol. 35, 43-49.

González, H. (2016). *Estudio de la capacidad antioxidante de la tuna Opuntia Streptacantha y Opuntia robusta en la intoxicación aguda de acetaminofén.* (Tesis de Doctorado). Universidad Autónoma de Aguascalientes.

González, L. (2015). *Composición fenólica y actividad antioxidante de las hojas de Mosiera crenulata* (Tesis de doctorado). Universidad Central “Marta Abreu” de Las Villas. Facultad de Química Farmacia, Santa Clara, Cuba.



Guicin, I., Buyukokuroglu, M., Kufrevioglu, O. (2003). Metal chelating and hydrogen peroxide scavenging effects of melatonin. *J. Pineal Res.*, 34(4), 278-281.

Gutiérrez, D., Ortíz, C., Mendoza, A. (2008). Medición de fenoles y actividad antioxidante en malezas usadas para alimentación animal. *Simposio de Metrología*, 108-112.

Hansberg, W. (2002). Biología de las especies de oxígeno reactivas, *Mensaje Bioquímico*, 26,19-54.

Herrera Fuentes, I., Ponce, Q., Lisseth, K. (2017). *Determinación de taninos y cumarinas presente en la planta tres filos (baccharis genistelloides) en la Parroquia Mariscal Sucre Cantón Milagro* (Doctoral dissertation, Universidad de Guayaquil. Facultad de Ciencias Químicas).

Herrera-Fuentes, I., Quimis-Ponce, K., Sorroza-Rojas, N., García-Larreta, F., Mariscal-Santi, W., Mariscal-García, R. (2017). Determinación de Taninos y Cumarinas presente en la planta tres filos. *Pol. Con.*, 2(7), 500-522.

Jaramillo, C., Espinoza, A., D'Armas, H., Troccoli, L., De Astudillo, L. (2016). Concentrations of alkaloids, cyanogenic glycosides, polyphenols and saponins in selected medicinal plants from Ecuador and their relationship with acute toxicity against *Artemia salina*. *Rev. Biol. Trop.*, 64(3), 1171-1184.

Kandhasamy, S., Jince, M., Sellamuthu, M. (2013). Antioxidant and Free Radical Scavenging Activities of Indian Acacias: *Acacia Leucophloea* (Roxb.) Willd., *Acacia Ferruginea* Dc., *Acacia Dealbata* Link. and *Acacia Pennata* (L.) Willd. *Rev. Int. Alim. Prop.*, 16(8), 1717-1729.

Kasay, M., Huamán, J., Guerrero, M. (2013). Estudio cualitativo y cuantitativo de taninos de la *Oenothera rosea* L'her. ex aiton. *Rev. Per. Quím. Ing. Quí.*, 16, 13-19.

Koirala, N., Huy, N., Prasad, G., Van, D. Kyung, J. (2016). Methylation of flavonoids: Chemical structures, bioactivities, progress and perspectives for biotechnological production. *EMT*, 86,103-116.

Kuskoski, M., Asuero, A., Troncoso, A., Mancino-Filho, J., Feet, R. (2005). Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. *Cienc. Tecnol. Aliment.*, 25(4), 723-732.

Lagunes-Fortiz, E., Zavaleta-Mejia, E. (2015). Role of Lignin in the Plant-Sedentary Endoparasitic Nematodes Interaction. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 34, 43-63.

Larrosa, M., Tomás-Babaran, F., Espin, J. (2012). The dietary hydrolysable tannin punicalagin releases ellagic acid that induces apoptosis in human colon adenocarcinoma Caco-2 cells by using the mitochondrial pathway. *J. Nutr. Biochem*, 17(9), 611-625.

Machuca-Veñazco, R., Borja, A., Corona-Ambriz, A., Zaragoza-Hernández, I., Arreola-Avila, J., Jiménez-Machorro, J. (2017). Xilotecnia of the wood of *Acacia schaffneri* from the State of Hidalgo, México. *Maderas, Cienc. Tecnol.*, 19(3), 293-308.

Makanjuola, S. (2017). Influence of particle size and extraction solvent on antioxidant properties of extracts of tea, ginger, and tea-ginger blend. *Food science & nutrition*, 5(6), 1179-1185.

Manríquez, J. (2013). Principios activos anticancerígenos y antiinflamatorios de *Acacia schaffneri*. Recuperado de la base de datos de la UAEH.

Martínez, E., Segovia, I., López, A. (2015). Determinación de polifenoles totales por el método de Folin-Ciocalteu.

Martínez-Bernal, A., Grether, R. (2008). Leguminosae I. Mimosoideae: Mimosa. Fascículo 147.

Méndez, S., Ettiene, G., Raga, J., Pérez-Pérez, E. (2014). Optimización de un método de extracción para fenoles y flavonoides totales en pulpa de mango (*Mangifera indica* L.) asistida por ultrasonido. *Rev. Fac. Agron, (Supl 1)*, 776-784.

Mercado-Mercado, G., Carrillo, R., Wall-Medrano, A., López, J., Álvarez-Parrilla, E. (2013). Compuestos polifenólicos y capacidad antioxidante de especias típicas consumidas en México. *Nutri. Hosp.*, 28, 36-46.

Moctezuma, M., Clapera, M., Cardenas, J. Acosta, I. (2015). Efecto del tepescohuite (*Mimosa tenuiflora* poir) sobre el crecimiento de algunas especies de hongos. *Tlatemoani*, 18, 120-131.

Mollinedo, M., Carrillo, K. (2014). Absorción, excreción y metabolismo de las vitaminas hidrosolubles. *Rev. Act. Clín. Med.*, 4, 2146-2150.

Mora-Herrera, M., Peralta-Velázquez, J., López-Delgado, H., García-Velasco, R., González-Díaz, J. (2011). Efecto del ácido ascórbico sobre crecimiento, pigmentos fotosintéticos y actividad peroxidasa en plantas de crisantemo. *Rev. Chapingo Ser. Hortic.*, 17(2), 73-81.

Morillas-Ruiz, J., Delgado-Alarcón, J. (2012). Análisis nutricional de alimentos vegetales con diferentes orígenes: Evaluación de capacidad antioxidante y compuestos fenólicos totales. *Nutr. clín. diet. hosp*, 32(2), 8-20.

Moya, E. (2017). *Evaluación de la actividad antioxidante, antiinflamatoria y citotóxica in vitro de los extractos vegetales de Marco (Ambrosia arborescens) y Quishuar (Buddleja incana)*. (Tesis de pregrado). Universidad Técnica de Ambato, Ambato, Ecuador.

Ordóñez-Santos, L., Ospina, M., y Rodríguez, D. (2013). Cinética de degradación térmica de vitamina C en frutos de guayaba (*Psidium guajava* L.). *Revista Lasallista de Investigación*, 10(2), 44-51.

- Pavón, N., Ballato-Santos, J., Pérez-Pérez, C. (2011). Germinación y establecimiento de *Mimosa aculeaticarpa* var. *biuncifera* (Fabaceae-Mimosoideae). *Rev. Mex. Biodiv.*, 82(2), 653-661.
- Peñarrieta, M., Tejeda, L., Mollinedo, P., Vila, J., Bravo, J. (2014). Phenolic compound in food. *Rev. Bol. Quím.*, 31(2), 68-81.
- Peralta-Pérez, M., Volke-Sepúlveda, T. (2012). La defensa antioxidante en las plantas: Una herramienta clave para la fitorremediación. *Rev. Mex. Ing. Quím.*, 11, 75-88.
- Pisoschi, A., Pop, A. (2015). The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: a review. *Europ. J. Med. Chem.*, 11(3), 55-74.
- Pyrzyska, K., Pękal, A. (2013). Application of free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) to estimate the antioxidant capacity of food samples. *Analytical Methods*, 5(17), 4288 - 4295.
- Quezada, M. Rivera, M. (2015). Determinación de fitoconstituyentes de la raíz y hojas de *Mimosa albida* procedentes de Conache–La Libertad.
- Quiñones, M. (2012). Los polifenoles, compuestos de origen natural con efectos saludables sobre el sistema cardiovascular. *Nutr. Hosp.*, 76-89.
- Ringuelet, J., Viña, S. (2013). *Productos naturales vegetales*. Editorial de la Universidad Nacional de La Plata (EDULP): Buenos Aires, Argentina.
- Ríos, T., Quijano, L., Reyes, R. (2012). Algunas reflexiones actuales sobre la herbolaria prehispánica desde el punto de vista químico. *Rev. Latinoamer. Quím.* 40(2), 41-63.
- Rivera, V. Sánchez, A. (2016). Actividad antioxidante de extractos etanólicos y acuosos de vaina de mezquite (*Prosopis velutina*) con potencial de aditivo alimentario. *Tlamati Sabiduria*, 7(2), 1-9.

Rodríguez, E., Rojo, G., Ramírez, B., Martínez, R., Cong, M., Medina, S., Piña, H., (2014). Análisis técnico del árbol del mezquite (*Prosopis laevigata* Humb. & Bonpl. ex Willd.) en México. *Ra Ximhai*, 10 (3), 173-193.

Rodriguez, L. (2015). Etnobotánica maya: Algunas plantas de uso medicinal en estomatología. *Rev. ADM*, 72, 21-25.

Rosas-López, R. (2015). Contribución al conocimiento etnofarmacobiológico de plantas medicinales de la región Cañada, Oaxaca. *Revista Iberoamericana de Producción Académica y Gestión Educativa*. 1, 1-18.

Sánchez-Valle, V., Méndez-Sánchez, N. (2013). Estrés Oxidativo, antioxidante y enfermedad. *Rev. Invest. Méd. Sur Mex.*, 20(3), 161-168.

Santizo, I. (2004). *Identificación de familias de metabolitos secundarios en Myrica cerifera*. (Tesis de pregrado). Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala.

Sharma, A., Del Carmen Flores-Vallejo R., Cardoso-Taketa A., Villareal M. (2016). Antibacterial activities of medicinal plants used in Mexican traditional medicine. *J. Ethnoph.*, 204, 1-66.

Solorza, J. (2012). Evaluation of regeneration of *Acacia decurrens*, *Acacia melanoxydon* and *Ulex europaeus* in areas in process of ecological restoration. *Luna Azul*, 34, 66-80.

Soto, M. (2015). Estudio fitoquímico y cuantificación de flavonoides totales de las hojas de *Piper Peltatum* L. y *Piper aduncum* L. procedentes de la región amazonas. *In Crescendo*, 6, 33-43.

Sowndhararajan, K., Joseph, J., Manian, S. (2013). Antioxidant and Free Radical Scavenging Activities of Indian Acacias: *Acacia Leucophloea* (Roxb.) Willd., *Acacia Ferruginea* Dc., *Acacia Dealbata* Link. and *Acacia Pennata* (L.) Willd. *Revista internacional de propiedades de alimentos*, 16(8), 1717-1729.

Storino, M., Contreras, M., Rojano, J., Serrano, R. Nouel, A. (2014). Complicaciones de la diabetes y su asociación con el estrés oxidativo: un viaje hacia el daño endotelial. *Rev. Colomb. Cardiol.*, 6,392-398.

Thambiraj, J., Paulsamy, S. (2012). *In vitro* antioxidant potential of methanol extract of the medicinal plant, *Acacia caesia* (L.) Willd. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicin*, 2(2), 732-S736.

Torres, L., Carpinteyro-Urban, S., Vaca, M. (2012). Use of *Prosopis laevigata* Seed Gum and *Opuntia ficus-indica* Mucilage for the Treatment of Municipal Wastewaters by Coagulation-Flocculation. *Natural Resources*, 3(2),35-41.

Tostado-Madrid, T., Benítez-Ruiz, I., Pinzón-Navarro, A., Bautista-Silva, M., Ramírez-Mayans, J. (2015). Actualidades de las características del hierro y su uso en pediatría. *Acta pediátr. Méx.*, 36(3), 189-200.

Umesh, J., Vishwas, B. (2015). Wines from fruits other than grapes: Current status and future prospectus. *Food Bioscience*, 9, 80-96.

Valdés, L., Santos, B., Olivet, E., Paredes, L., Blanco, Y., Otero, A., Sierra, G. (2015). Determinación de saponinas y otros metabolitos secundarios en extractos acuosos de *Sapindus saponaria* L. (jaboncillo). *Rev. Cubana Plant. Med.*, 20, 106-116.

Valenzuela-Nuñez, L., Trucíos-Caciano, R., Ríos-Saucedo, J., Flores, A., Gonzáles-Barrios, J. (2011). Caracterización dasométrica y delimitación de rodales de mezquite (*prosopis*) en el estado de Coahuila. *Revista Chapingo serie ciencias forestales y del ambiente*, 17, 87-96.

Vega-Menchaca, M., Verde-Star, J., Oranday-Cárdenas, A., Morales-Rubio, M., Núñez-González, M., Rivera-Guillén, M., Serrano-Gallardo, L., Rivas-Morales, C. (2013). Actividad antibacteriana y citotóxica de *Leucophyllum frutescens* (Berl) I.M. Johnst del Norte de México contra *Staphylococcus aureus* de aislados clínicos. *Rev. Mex. Cienc. Farm.*, 44(2), 24-30.

Vilcanqui-Pérez, F., Vílchez-Perales, C. (2017). Fibra dietaria: nuevas definiciones, propiedades funcionales y beneficios para la salud. Revisión. *ALAN*, 67(2), 146-156.

Villareal, J., Rocha, A., Cárdenas-Ávila, M., Moreno, S., González, M., Vargas, V. (2013). Caracterización morfológica, viabilidad y germinación de semillas de mezquite y huizache en el noreste de México. *Phyton (Buenos Aires)*, 82(2), 169-174.

World Health Organization (WHO). (2013). Estrategia de la OMS sobre medicina tradicional 2014-2023. *Genebra: World Health Organization*.

Yadav, R., Rajvaidhya, S., Samnani, A., 2012. Review on antioxidants activity and its evaluation. *World J. Pharm. Res.* 1(2), 41–58.

Zapata, K., Cortes, F., Rojano, B. (2013). Polifenoles y actividad antioxidante del fruto de Guayaba Agria (*Psidium araca*). *Inf. Technol.*, 24(5), 103-112.

Zapata, S., Piedrahita, A., Rojano, B. (2014). Capacidad atrapadora de radicales oxígeno (ORAC) y fenoles totales de frutas y hortalizas de Colombia. *Persp. Nutr. Hum.*, 16, 25-36

Zia-UI-Haq, M., Cavar, S., Qayum, M., Khan, I., Ahmad, S. (2013). Chemical composition and antioxidant potential of *Acacia leucophloea* Roxb. *Acta Botanica Croatica*, 72, 133-144.

Zulueta, A., Esteve, M., y Frígola, A. (2009). ORAC and TEAC assays comparison to measure the antioxidant capacity of food products. *Food Chemistry*, 310-316.

Zuluaga, A., Gaviria, D. (2012). Una mirada al estrés oxidativo en la célula. *Revista Médica de Risaralda*, 18(2), 145-154.

## 12. Anexos

### Anexo 1. Curva patrón de Fenoles

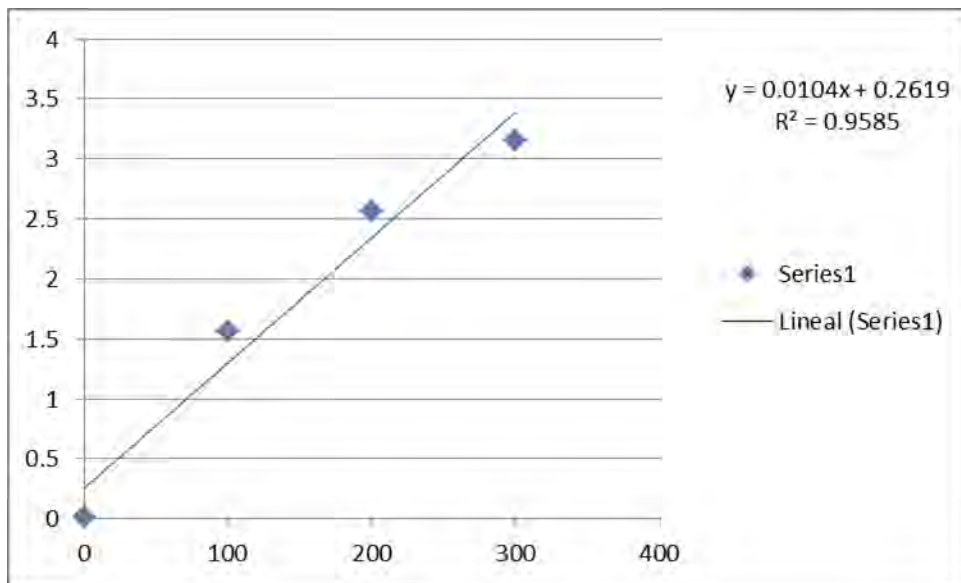


Figura 29. Curva patrón de fenoles totales

### Anexo 2. Curva patrón de ácido ascórbico

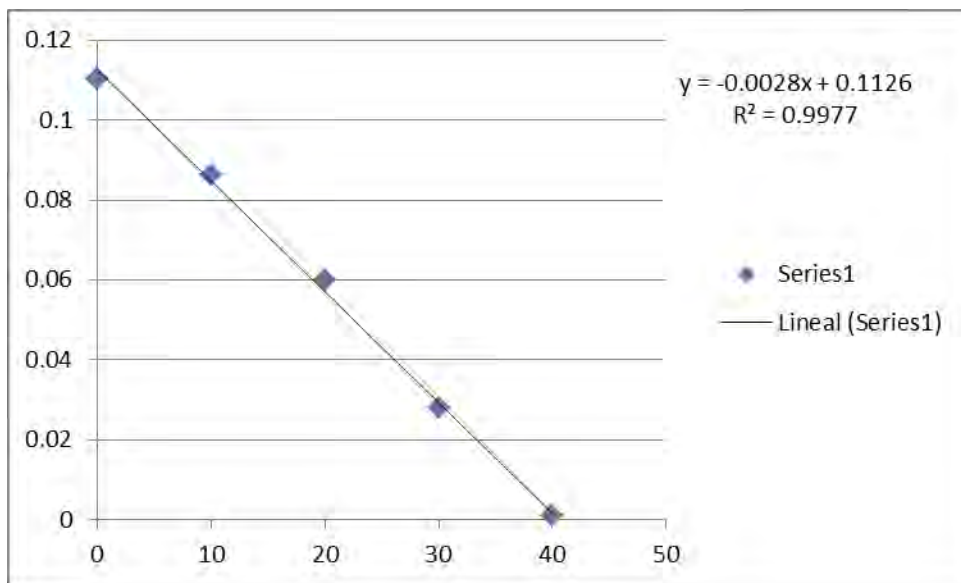


Figura 30. Curva patrón de ácido ascórbico



### Anexo 3. Curva patrón de DPPH

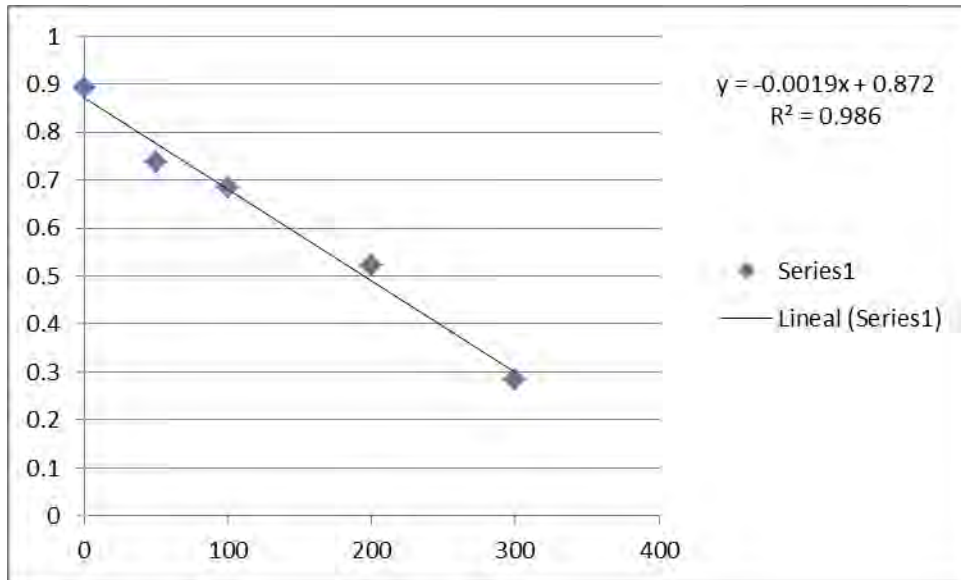


Figura 31. Curva patrón de DPPH•

### Anexo 4. Curva patrón de ABTS

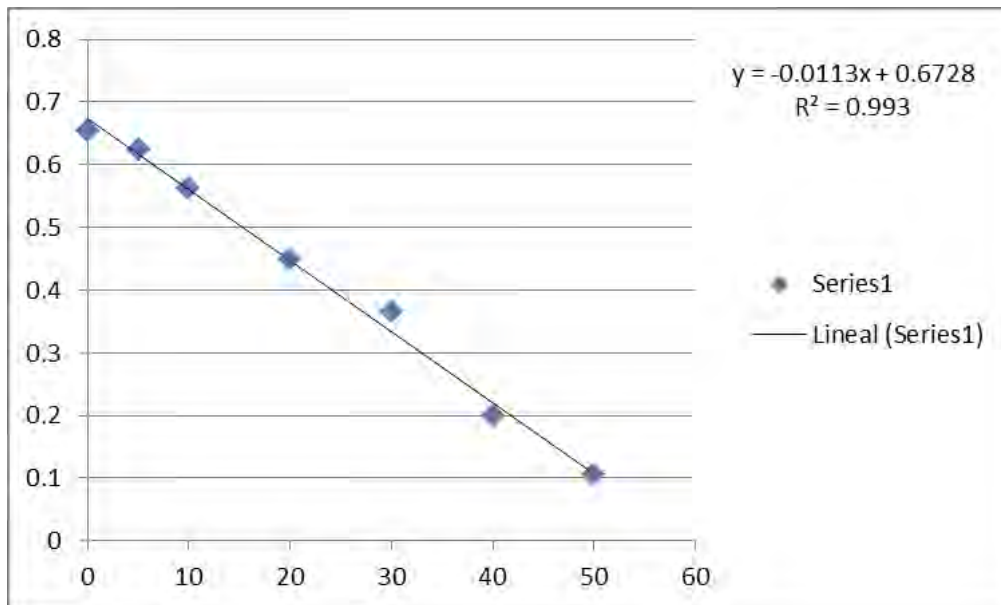


Figura 32. Curva patrón de ABTS\*\*

## Anexo 5. Curva FRAP

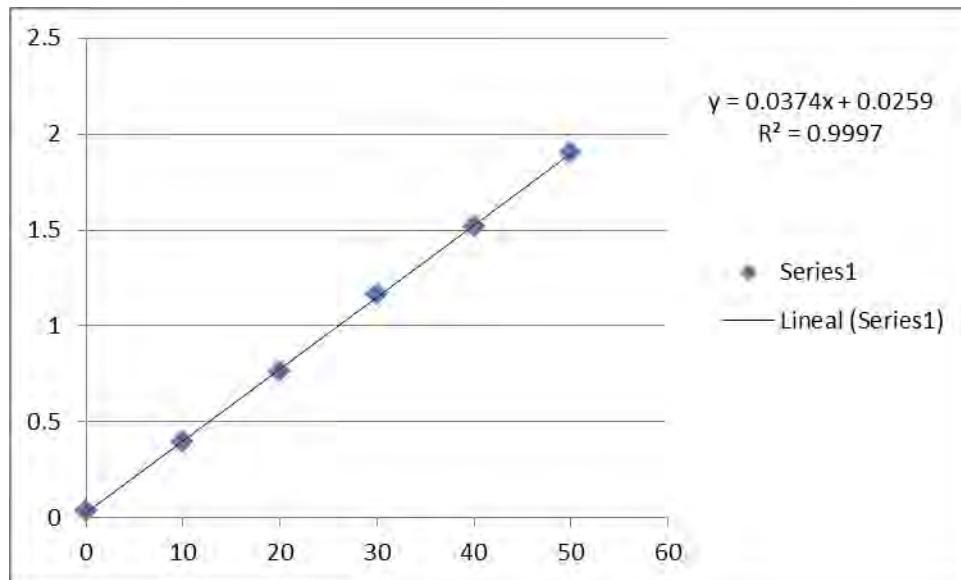


Figura 33. Curva patrón de FRAP