

DESARROLLO DE UN TÉ ANTIOXIDANTE E HIPOGLUCEMIANTE A PARTIR DEL *ALLOPHYLUS COMINIA* (L.) Sw.

*Ayalenis Boris-Garbey**, *Lorena Safonts-Grenier* y *Yudsimi Hernández-Oliva*

Empresa Genix-Labiofam. Ave 1ra esq. B, Inmobiliaria Siboney-Palco, La Habana, C.P. 10400, Cuba.

E-mail: desarrollo@genix.co.cu

RESUMEN

En este trabajo se realizó un estudio de secado para el procesamiento del material vegetal por tres métodos: a la sombra, al sol y por estufa. Se realizó la caracterización química por cromatografía líquida y espectrometría de masa. Se evaluaron los parámetros físico-químicos y microbiológicos; finalmente se realizó el estudio de estabilidad por el método de anaquel. El secado por estufa, obtuvo los mejores resultados, lográndose un peso constante promedio de 72,89 %. La caracterización química reveló que el producto es rico en metabolitos secundarios que le confieren poder antioxidante e hipoglucemiante, destacándose la presencia de flavonoides; se identificaron ácidos fenólicos, antocianidinas, coumarinas, triterpenos y saponinas. El té presentó una humedad entre 8 y 12 %, el contenido de cenizas ≤ 5 % y los resultados microbiológicos dieron conformes. El estudio de anaquel mostró una estabilidad de 12 meses almacenado a 30 ± 2 °C y 55 ± 5 % de humedad relativa.

Palabras clave: té, palo de caja, *Allophylus cominia*, antioxidante, hipoglucemiante.

ABSTRACT

Development of antioxidant and hypoglycemic tea from *Allophylus cominia* (L.) Sw

A drying study for the processing of the vegetal material was performed in this study. Three methods: in the shadow, to the sun and by stove were used. The chemical characterization was performed by liquid chromatography and mass spectrometry. Physico-chemical and microbiological parameters were evaluated. Finally, the stability study was completed by the shelf method. The best results were obtained by the stove drying method, achieving a constant weight with an average of 72.89 %. Compounds such as flavonoids, phenolic acid, anthocyanidin, coumarin, triterpene and saponin were revealed by chemical characterization; that confer an antioxidant and hypoglycemic power. The developed tea presented moisture content between 8 and 12 %, the ash content ≤ 5 % and the microbiological results were conformed. The shelf study showed that the tea stored at 30 ± 2 °C and to 55 ± 5 % moisture content was stable for 12 months.

Keywords: tea, palo de caja, *Allophylus cominia*, antioxidant, hypoglycemic.

INTRODUCCIÓN

En las últimas décadas las investigaciones en el campo de los alimentos han profundizado la búsqueda en identificar compuestos de origen natural, con propiedades capaces de contribuir al mejoramiento de la calidad de vida y disminuir el riesgo de contraer enfermedades crónicas relacionadas con el estrés oxidativo. Una de las plantas poco estudiadas y con tales bondades es el *Allophylus cominia* (L.) Sw., perteneciente a la familia Sapindácea y que comúnmente se le conoce como palo de caja. Es un árbol silvestre muy común en Cuba y en las islas del Caribe en terrenos de poca elevación, fal-das de las colinas calcáreas y orillas de arroyos y ríos.

***Ayalenis Boris Garbey:** *Ingeniera Química (ISPJAE, 2008). Es especialista de investigación y desarrollo de productos naturales. Investiga y elabora nuevos productos naturales, cosméticos o suplementos nutricionales hasta la obtención del registro sanitario. Perfecciona las formulaciones de productos naturales ya existentes en función de elevar la calidad de vida de los consumidores. Elabora protocolos de investigación, fichas técnicas, cartas tecnológicas de los productos en desarrollo. Realiza estudio de estabilidad y toxicológicos. Realiza escalado industrial de los nuevos productos desarrollados.*

Alcanza hasta 9 m de altura, presenta ramas densamente peloso-tomentosas, peciolo de 4 a 7,5 cm, flores blancas, fragantes de 1 mm de ancho, sépalos ciliados y fruto de color rojo o anaranjado y carnosos de 5 a 6 mm (1).

El extracto acuoso de esta planta es rico en compuestos fenólicos con actividad hipoglucemiante e inhibe la acumulación de lípidos y la diferenciación adipogénica de pre-adipocitos. Disminuye la acumulación de triglicéridos y no presenta citotoxicidad (2).

Antiguamente se usaba sólo como remedio casero en baños y cocimiento contra los pujos y otros trastornos intestinales, pero desde hace pocos años adquirió gran estimación como remedio contra la diabetes, comprobándose inmediatamente después de su uso, la disminución del azúcar en la orina y aun la cura completa. El cocimiento de las ramas se emplea en la hemoptisis y la tuberculosis según se ha informado (3).

En caracterizaciones químicas realizadas a este extracto se ha detectado la presencia de grupos aminos libres, fenoles, taninos, leucoantocianidinas, saponinas, triterpenos y esteroides, siendo las hojas, la parte que presenta una mayor actividad biológica (4).

Los flavonoides se han explorado en cuanto a su posible uso para el tratamiento de la diabetes (5). En la actualidad se ha demostrado que estos polifenoles presentan actividad antioxidante, ya que son excelentes dadores de electrones o hidrógeno con la formación de radicales intermedios relativamente estables. Este comportamiento está relacionado con la capacidad de quelar metales, la inhibición de oxidasas y secuestradores de radicales libres. Por otra parte, se ha podido conocer que inhiben enzimas involucradas indirectamente con los procesos oxidativos, como la fosfolipasa, al mismo tiempo que estimulan otras con reconocidas propiedades antioxidantes como la catalasa y la superóxido dismutasa (6).

Debido a las valiosas propiedades que se le atribuyen a *Allophylus cominia* (L.) Sw. surge la iniciativa de desarrollar un té a partir de dicho material vegetal.

MATERIALES Y MÉTODOS

El material utilizado en la elaboración de este trabajo se identificó en el Jardín Botánico Nacional de Cuba con el No. de herbario HAJB 83165. La especie *Allophylus*

cominia se recolectó en el Valle Yumurí, Matanzas. A los ejemplares seleccionados se les separaron las hojas y ramas finas de forma manual utilizando tijeras de corte y antes de las 10:00 am. Se procesó la droga cruda antes de las 72 h con el fin de evitar contaminaciones por hongos indeseables.

Se evaluaron tres métodos de secado diferentes: a la sombra, al sol y a la estufa a 40 °C con recirculación de aire. Los tres métodos de secado se realizaron utilizando 90 g de la planta por cada réplica. Para los tres tipos de secado evaluados, se tomaron en consideración los siguientes parámetros: tiempo de obtención de peso constante durante el proceso y pérdida de peso como promedio de tres réplicas de la determinación para cada método.

Para el secado a la sombra y al sol, la droga cruda se extendió sobre bandejas esmaltadas cubiertas con papel de aluminio, removiéndose periódicamente el material, mientras que para el secado en estufa la droga se colocó esparcida directamente en bandejas esmaltadas y removidas cada cierto tiempo (2 h) durante el experimento.

El registro de la pérdida de peso durante el secado, se realizó con una frecuencia de 24 h entre una pesada y otra para los tres métodos hasta obtener un peso aproximadamente constante. El punto exacto del secado se determinó según la friabilidad y fractura de las partes vegetales.

Las plantas secadas por cada método, finalmente se trituraron en un molino de cuchillas, con un diámetro de poro de tamiz entre 3 y 5 µm.

Para la identificación de los componentes bioactivos del *Allophylus cominia* (L.) Sw. se realizó una extracción del material vegetal en metanol/agua con una proporción 2:1. Se tomaron 10 mL de la extracción y se filtró por filtros de jeringa de 0,45 µm de poliamida. Posteriormente el extracto se analizó mediante un sistema de HPLC analítico con detector de fotodiodos. Se utilizó una columna C₁₈ fase reversa, con una inyección de 20 µL y la elución se realizó a un flujo de 1 mL/min durante 60 min con un sistema de gradiente con las fases moles siguientes: gradiente lineal de disolvente: A (1 % de ácido fórmico) a 100 % de B (acetonitrilo).

Para la caracterización de los componentes presentes en el extracto de la planta se realizó el análisis mediante un sistema de cromatografía líquida de alta resolución

1200 Agilent Technologies, Palo Alto, CA con una columna Zorbax Eclipse Plus C₁₈ 4,6 mm A-150 mm, un caudal de 0,5 mL/min y un volumen de inyección de 10 µL (7). El sistema de cromatografía fue acoplado a un espectrómetro de masas con ionización por *electrospray* y analizador de trampa de iones HPLC-ESI-IT-MS/MS (Bruker Daltonic, Alemania), equipado con una interfaz de *electrospray* ortogonal ESI, modelo G1607A (Agilent Technologies, Palo Alto, EE.UU.) que operó en modo negativo y positivo de ionización. La identificación de los compuestos se realizó mediante la comparación de los tiempos de retención y los espectros de masas obtenidos por ESI-IT-MS/MS con los de patrones.

Para la determinación de cenizas totales se empleó un horno mufla, una balanza técnica monoplato y una plancha de calentamiento. La determinación se realizó según NRSP 312 (8).

Para la determinación de fenoles se tomaron 2 mL de cada muestra y se le añadieron 50 mL de agua destilada. Se filtró y posteriormente se añadió 1 mL de filtrado a un matraz aforado de 25 mL, se adicionaron 5 mL de agua destilada, 1 mL de acetato de sodio al 25 %; 0,5 mL de la solución 1 y 1 mL de carbonato de sodio al 10 %. Se obtuvo la lectura en el espectrofotómetro a 550 nm (9).

En la determinación de humedad se utilizó una termobalanza Sartorius MA 150 (Alemania). Cada muestra se determinó por triplicado. Se tomaron 3 g del producto de cada lote, se colocaron en el plato de la balanza previamente tarado y se obtuvo el valor de la humedad cuando alcanzó el valor de peso constante. El análisis se realizó según NRSP 312 (8).

Los análisis microbiológicos se realizaron según NC 585:2015(10). Estos fueron: microorganismos a 30 °C: <10³ UFC/g, coliformes: <10² UFC/g, determinación de hongos y levaduras: <10 UFC/mL y número de *Staphylococcus aureus*: <10² UFC/g.

El estudio de estabilidad del material vegetal se realizó según el método de anaquel, almacenado en bolsas de polietileno de baja densidad a temperatura ambiente (30 ± 2 °C y 55 ± 5 % de humedad relativa) durante 12 meses.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La Tabla 1 resume los resultados del estudio de secado de cada método. El secado a la sombra fue el que permitió perder menos agua en la planta y el mayor tiempo para lograr un peso aproximadamente constante.

Se consideró que en este caso incidió en los valores obtenidos la alta humedad relativa existente en esos días.

Este hecho también influyó en el secado al sol que como promedio se obtuvo un porcentaje de pérdida superior al método de sombra, pero un número de días relativamente alto.

En ambos experimentos las plantas no fracturaban después del secado, lo cual es un índice de la alta retención de agua que aún tenía el material vegetal.

En el secado acelerado en la estufa, se obtuvieron mejores resultados, pues solo en tres días se obtuvo un peso constante promedio de 72,89 % en peso de agua, la planta fracturaba manualmente, siendo este un índice de la eficacia del secado. Se concluyó que el secado en la estufa fue el mejor de los tres métodos evaluados.

En el análisis de los polifenoles presentes en el extracto de *A. cominia* se observó la presencia de diversos compuestos que en su mayoría eluyeron a tiempos cortos (inferiores a 20 min). Una vez optimizado el método mediante la modificación del gradiente de HPLC se obtuvo una mejor separación de los picos (Fig. 1). Dadas las características espectrales observadas, se dedujo que se trataba de flavonoles, flavonas, ácidos fenólicos y ácidos orgánicos.

Tabla 1. Evaluación de los métodos de secado del *Allophylus cominia*

Método de secado	Pérdida de agua (%)	Tiempo de secado (d)
Sombra	58,53	9
Sol	64,33	7
Estufa	72,89	3

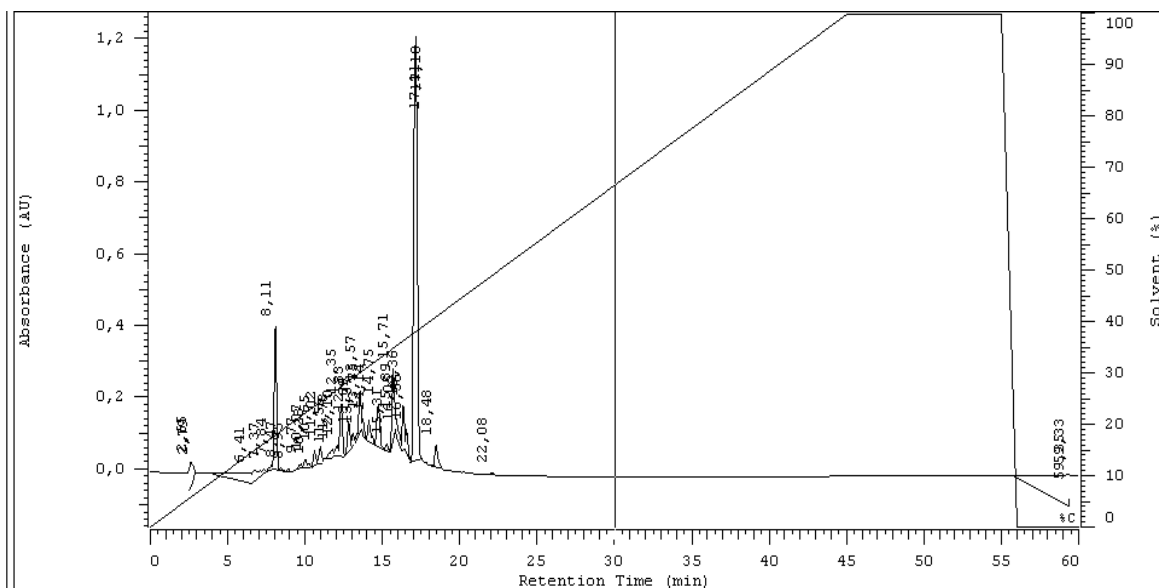


Fig. 1. Cromatograma a 280 nm de la separación de los componentes del extracto de *Allophylus cominia*.

Según los resultados reflejados en la Tabla 2 se concluyó que el extracto de *A. cominia* presenta una amplia gama de metabolitos secundarios, siendo los flavonoides los de mayor proporción en el extracto, responsables del poder antioxidante e hipoglucemiante.

El producto almacenado a temperatura ambiente se mantuvo estable. Las Tablas 3 y 4 muestran los resultados químico-físicos y microbiológicos de las muestras almacenadas durante 12 meses. Se observó que durante el estudio todos los parámetros se encontraron dentro de los intervalos establecidos para cada análisis.

Tabla 2. Datos espectrales del *Allophylus cominia* mediante HPLC-ESI-IT-MS/MS en modo de ionización negativa

[M-H] ⁻	Fragmentos generados (MS/MS)	Compuesto asignado	Grupo funcional
534	191	Ginsenosido Re (saponina)	Saponina triterpeno
169	125-123	Ácido gálico	Ácido hidroxibenzoico
451	405	Procianidina	Flavonoide
323	167	Rafinosa	Oligosacárido
169	167	Ácido gálico	Ácido hidroxibenzoico
315	153-225-109	Isoramnetina	Flavonol
167	152	Catequina	Flavanol
165	150	Calistefina	Antocianinas
433	271-356-173	Quercetina	Flavonol
179	135-177-89	Ácido cafeico	Ácido hidroxicinámico
197	182-153	Ácido siríngico	Ácido hidroxibenzoico
451	289-405-167	Procianidina B1	Flavonoide
163	119-161	Ácido cumárico	Ácido hidroxicinámico
465	303-445-183	Cianidina-3-glucósido	Antocianina
627	267-465	Cianidina-3,5-di-O-glucósido	Antocianina
207	192	Isofraxidina	Cumarina
191	176	Escopoletina	Cumarina
353	173-135	Ácido 4-O-Cafeoilquínico	Ácido ciclohexanocarboxílico

Tabla 2. Cont.

207	192	3,4- Ácido dimetoxicinámico	Ácido fenólico
577	425-289-451	Dímero de catequina	Procianidina
866	695-577-287	Procianidina C1	Procianidina
521	359	Iridina	Isoflavona
505	307-163-427	Quercetina 3-(6-O-acetil-β-glucósido)	Flavonol
465	241-465	Cianidina-3-glucósido	Antocianina
468	467	Nodakenina	Cumarina
729	407-559-441	Procianidina dimérica	Procianidina
1018	729	Glucogalina procianidina trimérica	Procianidina
479	317	Miricetina-3-Galactósido	Flavonol

Tabla 3. Resultados físico-químicos de los lotes en estudio de estabilidad

Tiempo (mes)	Lote	Fenoles (%)	Humedad (%)	Cenizas (%)
0	1506005	3,8	8,4	2,2
	1506006	3,6	8,8	2,3
	1506007	2,4	9,0	2,9
3	1506005	3,7	8,6	2,2
	1506006	3,5	9,2	2,3
	1506007	3,3	8,3	2,9
6	1506005	3,6	9,0	2,3
	1506006	3,5	9,5	2,4
	1506007	3,1	9,6	3,0
9	1506005	3,4	9,2	2,4
	1506006	2,9	10,0	2,4
	1506007	2,9	10,2	3,1
12	1506005	2,8	9,5	2,5
	1506006	3,0	10,1	2,5
	1506007	2,9	10,5	3,1

Tabla 4. Resultados microbiológicos de los lotes en estudio de estabilidad

Tiempo (mes)	Lote	Coliformes <math><10^3\text{UFC/g}</math>	Hongos y levaduras <math><10\text{ UFC/mL}</math>	<i>Salmonella</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Staphylococcus aureus</i>
0	1506005	<math><10</math>	<math><6</math>	Ausencia
	1506006	<math><10</math>	<math><8</math>	Ausencia
	1506007	<math><10</math>	<math><7</math>	Ausencia
3	1506005	<math><10</math>	<math><6</math>	Ausencia
	1506006	<math><10</math>	<math><5</math>	Ausencia
	1506007	<math><10</math>	<math><6</math>	Ausencia
6	1506005	<math><10</math>	<math><5</math>	Ausencia
	1506006	<math><10</math>	<math><9</math>	Ausencia
	1506007	<math><10</math>	<math><6</math>	Ausencia

Tabla 4. Cont.

9	1506005	<10	<5	Ausencia
	1506006	<10	<7	Ausencia
	1506007	<10	<8	Ausencia
12	1506005	<10	<5	Ausencia
	1506006	<10	<7	Ausencia
	1506007	<10	<8	Ausencia

CONCLUSIONES

Se obtuvo un té a partir del extracto de *Allophylus cominia* del cual se pudo comprobar mediante una caracterización química del extracto que el producto presenta metabolitos secundarios que le confieren actividad antioxidante e hipoglucemiante, destacándose en un mayor porcentaje la presencia de flavonoides. Se establecieron los parámetros de calidad del producto y el estudio de estabilidad demostró que es estable por 12 meses en bolsas de polietileno de baja densidad, almacenado a 30 ± 2 C y 55 ± 5 % de humedad relativa.

REFERENCIAS

1. Delgado, F. y Sotolongo, O. *Plantas Medicinales, Aromáticas, Venenosas y de otros Usos de la Provincia de Pinar del Río*. Tomo I. Pinar del Río: Academia de Ciencias de Cuba; 1986.
2. Green, H y Kehinde, O. *Cell* 5:19-27, 1975.
3. Martínez, S. J.; González, J. M. y Culebras, M. J. *Nutr. Hosp.* 17:271-278, 2002.
4. Veliz, T.; Valls, J.; Sánchez, L. M.; Noa, M. y Marrero, E. *Herbal Pharmacotherapy* 5:31-38, 2005.
5. Agostini, L.; Morón, M.; Ramón, A.; Ayala, A. *Arch. Latinoam. Nutr.* 54(1):89-92, 2004.
6. Pérez, G. *Rev. Cub. Invest. Bioméd.* 22:48-57, 2003.
7. Rodríguez-Medina, I. C.; Beltrán-Debón, R.; Micol, V.; Alonso-Villaverde, C.; Joven, J.; Menéndez, J. A.; Segura-Carretero, A. y Fernández-Gutiérrez, A. *J. Sep. Sci.* 32:3441-3348, 2009.
8. NRSP 312:91. *Medicamentos de origen vegetal. Extractos fluidos y Tinturas. Métodos de ensayo*. Cuba, 1991.
9. PNO 7-20-011. *Determinación de Fenoles Método Carbonatos*. Cuba, 2017.
10. NC 585:2015. *Contaminantes microbiológicos en alimentos-Requisitos sanitarios*. Cuba.