

CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE UNA BIOPELÍCULA CON EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE PROPÓLEO ROJO CUBANO

Liliam Chang-Bravo^{1}, Mirian Martino², Jose L. Rodríguez-Sánchez¹, Odaidys Marante-Maldonado¹ y
Mario Fajardo-Cárdenas³*

¹*Instituto de Investigaciones para la Industria Alimenticia, Carretera al Guatao, km 3 1/2, La Habana,
C.P. 19 200, Cuba.*

²*Centro de Investigación y Desarrollo de Alimentos, CIDCA, La Plata, C.P. 19 000, Argentina.*

³*Centro de Investigaciones Apícolas, C.P. 19 190, La Habana, Cuba.*

E-mail: liliam@iia.edu.cu

RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue medir la capacidad antioxidante por el método de capacidad férrica de reducción del plasma, (FRAP), de una película base almidón con extracto de propóleo rojo cubano y evaluar su efectividad como envase activo a partir de la determinación del grado de inhibición de la oxidación lipídica en un sistema modelo cubierta con la película. Se obtuvo una capacidad antioxidante de 319,9 $\mu\text{M}/100$ g expresado como oxidación del ión ferroso y 21 % de inhibición de la oxidación lipídica de la película en el modelo evaluado.

Palabras clave: biopelículas, propóleo rojo, capacidad antioxidante.

ABSTRACT

Antioxidant capacity of hydroalcoholic extract of red Cuban propolis biofilms

The objective of this work was measure the antioxidant capacity of corn starch film contained red cuban propolis extract by the FRAP method and its effectiveness like active packaging starting from the determination of the grade of inhibition of the oxidation lipídica in a model system covered with the film. The antioxidant capacity obtained was 319.9 $\mu\text{M}/100$ g expressed as ion ferric oxidation and 21% of lipid oxidation inhibition.

Key words: biofilms, red propolis, antioxidant capacity.

INTRODUCCIÓN

El propóleo es una mezcla resinosa aromática y compleja, con una variable apariencia física elaborado por las abejas, *Apis mellifera*, a partir de exudados de diversas plantas (1, 2) y es conocido por sus propiedades biológicas, antibacterianas, antifúngicas, antioxidantes y antivirales (3). En muchos países se utiliza además como aditivo por sus propiedades antioxidantes. Unas gotas de solución de propóleo incluidas en productos envasados o en alimentos frescos, pueden prolongar entre dos y tres veces su vida útil, lo que se ha comprobado en trabajos realizados

***Liliam María Chang Bravo:** Ingeniera Química en Alimentos (ISPJAE, 1992). Investigador Auxiliar. Máster en Ciencias y Tecnologías Alimentarias (IFAL, 2001). Actualmente trabaja en el Departamento de Envasados. Sus principales líneas de trabajo son: evaluación de materiales y tecnologías de envasado de alimentos en envases de papel y cartón, interacciones envase-producto, durabilidad de alimentos envasados, envasado en atmósfera modificada como tecnología de conservación y desarrollo de envases activos.

con pescados congelados, grasas y aceites, ron y bebidas alcohólicas, y podrían extenderse a otra clase de alimentos tales como carne vacuna, cordero, cerdo, pollo, fruta, etc. (4-7).

En Cuba ha cobrado auge su empleo por sus reconocidas propiedades medicinales, siendo este uno de los productos naturales más activos que se insertan en las investigaciones al respecto. El país cuenta con más de 51 % de flora endémica que puede proporcionarle una composición química peculiar a los propóleos nativos y justificar su variabilidad en diferentes zonas del país (8-13).

Los estudios actuales relacionados con el envasado activo están encaminados hacia la caracterización de nuevas películas basadas en hidrocoloides de fuentes no convencionales y hacia la determinación de la capacidad que estas poseen para liberar compuestos con funciones preestablecidas. Así mismo, deben evaluarse las interacciones y estabilidad que puedan ofrecer dichas matrices (14-17).

Recientemente se ha desarrollado una película activa base almidón, con la incorporación de propóleo rojo cubano y una formulación cuyas propiedades funcionales son coincidentes con las de películas semejantes reportadas (15-18).

El objetivo de este trabajo fue medir la capacidad antioxidante por el método de capacidad del plasma de reducción férrica (FRAP), de una película base almidón con extractos de propóleo rojo cubano y evaluar su efectividad a partir de la determinación del grado de inhibición de la oxidación lipídica en carne molida de cerdo refrigerada, cubierta con la película por el método del ácido tiobarbitúrico.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se empleó un extracto hidroalcohólico con 17,12 % de sólidos, elaborado por el Centro de Investigaciones Apícolas, a partir de extracto blando de propóleo rojo obtenido de la especie *Dalbergia ecastophyllum* (*Leguminosae*) comúnmente llamada tabú, correspondiente a diferentes épocas de recolección.

Se determinó el contenido total de fenoles del extracto empleado y de las películas obtenidas por el método de *Folin-Ciocalteu* (19). Este último a partir de la ex-

tracción de 1 g de película en 20 mL de una solución de etanol/agua (50/50 m/m) bajo agitación de 200 min⁻¹ por 2 h. Se empleó una curva de calibración para ácido gálico como estándar.

Se evaluó la estabilidad en el tiempo del contenido de fenoles, por tres meses de conservación de la película a temperatura ambiente. A los resultados se les determinaron los estadígrafos media y desviación típica.

La determinación de la capacidad antioxidante por el método FRAP, se hizo por medio de una curva de calibración a diferentes concentraciones de catión ferroso (20). En un tubo de 10 mL se adicionaron 50 µL de la muestra (extracción en la película a partir de 1 g de la misma en 20 mL de solución 50/50 m/m etanol/agua) y se adicionaron 1,5 mL de reactivo FRAP. Se atemperó a 37 °C durante 30 min y se leyó la absorbancia a 593 nm.

Para evaluar la inhibición lipídica, se prepararon muestras de 50 g de carne molida por una placa de 8 mm en forma de círculos de 55 mm de diámetro. No se consideró la condimentación para evitar la posible interferencia de la acción de los condimentos en el retardo de la oxidación. Se colocaron las muestras en baño de agua hasta alcanzar 70 °C en su interior y garantizar el retardo del probable deterioro microbiológico antes de la oxidación, luego se recubrieron con cera dejando expuesta solo la superficie exterior de una de las caras, para limitar la oxidación de la muestra por otras áreas que no fuera la superficie externa y se colocaron en la parte superior de una placa Petri estéril, empleada como soporte de las muestras, se cubrieron con una película de 90 mm de diámetro base almidón con extractos de propóleo rojo cubano, de forma que ajustara totalmente a la placa y se almacenaron entre 6 y 7 °C (condiciones de refrigeración que favorecen la aparición del fenómeno a evaluar).

En cada experimento se tomaron dos muestras control sin contacto con la película y dos en contacto, para ambos casos se seccionó una lasca superficial de 2 mm de espesor (considerando que la acción de inhibición lipídica es fundamentalmente superficial). Estas se trituraron, homogenizaron y se formaron porciones de 10 g por separado para realizar la determinación por la cuantificación de las sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico, (TBA). La frecuencia de muestreo fue diaria hasta los tres días

y luego se alargó hasta los días 10 y 20, en función del comportamiento mostrado por la película (liberación lenta).

Para determinar la inhibición lipídica por el método de TBA, los 10 g de muestra se homogeneizaron con 50mL de agua destilada a la que se la añadieron previamente 100 µL de BHT (protección a la oxidación propia del procedimiento analítico) y luego 50 mL de solución de HCL 0,4 N. Esta mezcla se trasvasó a un matraz de destilación. El destilado se enrasó con agua destilada, en un matraz aforado de 50 mL. Se trasvasaron 5 mL a un tubo de ensayo de 10 mL y 5 mL de la solución 0,20 mol/L de TBA, se introdujo en un baño a 80 °C durante 90 min y finalmente se midió la absorbancia a 532 nm (21).

El porcentaje de inhibición se calculó de la siguiente forma:

Donde:

$$\%Inhibición = 100 - (Abs_{mp} / Abs_{msp}) \times 100$$

Abs_{mp} absorbancia medida de la muestra con película

Abs_{msp} absorbancia medida de la muestra sin película (control).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La Fig. 1 muestra el contenido total de fenoles, posibles responsables de la capacidad antioxidante de la película con el extracto, donde se aprecia una tendencia a la estabilidad de los valores en el tiempo.

El contenido de fenoles totales expresado como ácido gálico para la película en estudio fue de 17,73 a 18,24 mg/g película. Para la actividad antioxidante, descrita como la capacidad para inhibir la acumulación de especies oxidativas, así como radicales libres, el valor obtenido de los análisis fue de 319,9 (S=1,2) µM/100 g expresado como oxidación del ión ferroso.

El propóleo contiene una amplia variedad de compuestos fenólicos, principalmente flavonoides. Las variaciones en el contenido de fenoles pueden atribuirse a diferentes causas. No existe un procedimiento único para evaluar la capacidad antioxidante y las correlaciones entre el contenido de fenoles totales y la determinación de capacidad antioxidante, no son completamente lineales porque el método de *Folin-Ciocalteu* permite cuantificar solo compuestos fenólicos y la actividad antioxidante también puede ser exhibida por compuestos no fenólicos. Es posible que se presenten interacciones antagonistas o sinérgicas entre los compuestos fenólicos y otros metabolitos que pueden afectar la actividad antioxidante (22).

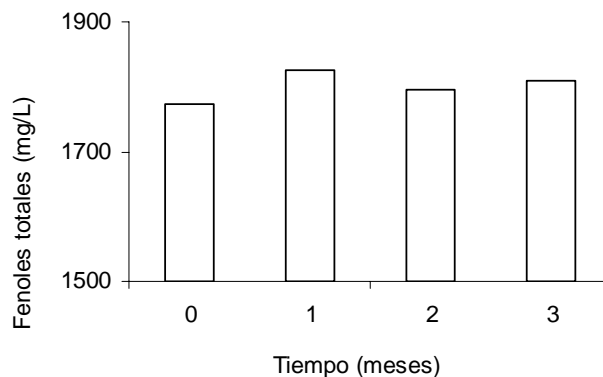


Fig. 1. Fenoles totales en una película base almidón con extractos de propóleo, almacenada a temperatura ambiente.

Altos valores de contenido de fenoles representan una actividad antioxidante superior; indicando mayor capacidad para captar radicales libres mediante transferencia de hidrógeno y para reducir Fe^{3+} a Fe^{2+} (23).

La Tabla 1 muestra el grado de inhibición obtenido, donde se aprecia que ocurrió la inhibición, con una tendencia al incremento en el tiempo, hasta el lógico agotamiento de los activos o compuestos antioxidantes presentes.

Tabla 1. Evaluación del porcentaje de inhibición lipídica de la película

Tiempo (días)	0	1	2	3	10	20
Inhibición (%)	0	1	4	9	25	13

A partir del contacto inicial la diferencia es poco notable, haciéndose más evidente del tercer día al décimo y a partir de este disminuye la inhibición. En trabajos anteriores donde se caracterizó la estructura de la película por difracción de rayos, espectrometría infrarroja y microscopía óptica (13), se determinó que el extracto de propóleo incluido en la formulación no reaccionaba químicamente con otros componentes de la matriz, solo se mantenía atrapado en la estructura; por tanto, es de esperar que la desorción a la carne no sea instantáneamente, sino de modo más lento, como es característico además en este tipo de películas. De igual modo influye la naturaleza sólida de la matriz evaluada (carne) que hace más lenta la difusión del principio activo. La presencia de humedad en exceso, propia de la composición de la carne, es quien estimula la liberación al penetrar en la matriz de la película. Según los mecanismos de oxidación de los lípidos, lo que se produce con el empleo de los antioxidantes naturales clasificados como antioxidantes de tipo primario, es un retardo en

la velocidad de propagación de la oxidación, por la acción de estos sobre determinados radicales (23-25), de modo que aún cuando las evaluaciones reflejan valores de oxidación, hay diferencias en los valores de las muestras cubiertas con películas, por la acción del propóleo como principio activo contenido en la película y dicha acción se produce en el tiempo.

CONCLUSIONES

Los resultados mostraron una tendencia a la inhibición lipídica de la película en carne molida, más perceptible entre el tercer y el décimo día, equivalente a 25 %. El contenido total de fenoles se mantuvo estable en los tres meses evaluados, por lo que se mantiene la capacidad antioxidante de la película, la cual medida por FRAP fue de 319,9 μ M/100 g expresado como oxidación del ión ferroso.

REFERENCIAS

1. Peña, R. *Cienc. Inv. Agr.* 35(1): 17-26, 2008.
2. Banskota, A. H.; Tezuka, Y. y Kadota, S. *Phytother Res.* 15(7): 561-571, 2001.
3. Kooa, H.; Gomes, B. P.; Rosalena, P. L.; Ambrosanoa, G.; Parkb, Y. K. y Curya, J.Á. *Arch. Oral Biol.* 45 (2): 141-148, 2000.
4. Cerezal, P.; Ponce, J. y Quilobrán, C. *Aplicaciones de propóleo como preservante natural en la conservación de pulpa de manzana por factores combinados.* Universidad de Antofagasta, Chile, 2008.
5. Vargas, R. *Capacidad antioxidante y antimicrobiana de los propóleos en hamburguesas de bovino (tesis de Maestría en Ciencias, Centro de Coordinación de Tecnologías de Alimentos de Origen Animal (CTAOA), Hermosillo, Sonora) México, 2011.*
6. Isla, M. I.; Nieva Moreno, M. I.; Sampeiro, A. R. y Valtuone, M. A. J. *Ethnopharmacol.* 76: 165-170, 2001.
7. Quintero, C. J.; Falguera, V. y Muñoz, H. A. *Revista Tumbaga* (5): 93-118, 2010.
8. Álvarez, J. D.; Granadillo, J. y Tabio, C. *Cienc. Tecnol. Aplicada* (5): 51, 1989.
9. Cuesta-Rubio, O. *Estudio químico de los propóleos cubanos (tesis en opción al título de Doctor en Ciencias Farmacéuticas, Instituto de Farmacia y Alimentos, Universidad de La Habana) 2001.*

10. Marrero, Y. Composición química de propóleos rojos cubanos (tesis en opción al título de Doctor en Ciencias Farmacéuticas, Instituto de Farmacia y Alimentos. Universidad de La Habana) 2005.
11. Campo, F. M. Estudio químico de propóleos rojos cubanos (tesis en opción al título de Doctor en Ciencias Farmacéuticas. Instituto de Farmacia y Alimentos, Universidad de La Habana) 2007.
12. Lecaro, G. A. Estudio químico de una muestra de propóleo (tesis en opción al título de Máster en Química Farmacéutica, Instituto de Farmacia y Alimentos. Universidad de La Habana) 2008.
13. Quijije, A. Estudio físico-químico y microbiológico de la formulación propolis (tesis en opción al título de Máster en Química Farmacéutica. Instituto de Farmacia y Alimentos. Universidad de La Habana) 2008.
14. Cha, D. S. y Chinnan, M. S. Crit. Rev. Food Sci. Nutr. (44): 223-37, 2004.
15. Weber, G. H.; Haugard, V.; Festersen, R. y Bertelsen, M. Food Addit. Contam. 19 (Supplement): 172-177, 2002.
16. Tharanathan, R. N. Trends Food Sci. Technol. (14): 71-78, 2003.
17. Lopez-Rubio, A.; Gavara, R. y Lagaron, J. M. Trends Food Sci. Technol. 17(10): 567-75, 2006.
18. Chang, L.; Martino, M. y Rodríguez, J. Influencia de la incorporación de extracto de propóleo rojo cubano en las propiedades funcionales de una película base almidón. II Jornadas Internacionales sobre avances en la tecnología de películas y coberturas funcionales en alimentos, Buenos Aires, 17-18 de mayo, 2010,
19. Slinkard, K. y Singlenton, V. L. J. Am. End. Viticul 28: 49-55, 1997.
20. Benzie, I. F.; Strain, J. J. Anal. Biochem 239: 70-76, 1996.
21. Rhee, K. J. Food Sci. 43 (6): 1776-1778, 1978.
22. Palomino, L. R.; García, C. M.; Gil, J. H.; Rojano, B. A. y Durango, D. L. Revista de la Facultad de Química Farmacéutica, Buenos Aires, 16 (3): 388-395, 2009.
23. Ladikos, D. y Lougovois, V. Food Chem. 35: 295-314, 1990.
24. MacDonald-Wicks, L. K.; Wood, L. G. y Garg, M. L. J. Food Sci. Agric. 86(13): 2046-2056, 2006.
25. Amarowicz, R. y Pegg, R. B. J. Food Lipids 12: 344-358, 2005.