



UNIVERSIDAD MICHOACANA
DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO

FACULTAD DE INGENIERÍA
EN TECNOLOGÍA DE LA MADERA



TESIS

“CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE LOS EXTRACTOS DE MADERA Y CORTEZA DE TRES ESPECIES DE ENCINOS (*Quercus candicans*, *Q. laurina* y *Q. rugosa*.) DEL COMPLEJO INDUSTRIAL DE NUEVO SAN JUAN PARANGARICUTIRO, DEL ESTADO DE MICHOACÁN”

Para obtener el título de
INGENIERO EN TECNOLOGÍA DE LA MADERA

Presenta
MARÍA GUADALUPE ARGUETA SOLÍS

Director de tesis: Dr. José Guadalupe Rutiaga Quiñones

Director externo: Dr. Cristóbal Noé Aguilar

Morelia, Michoacán, México. Febrero, 2016.

“La buena madera no crece con facilidad. Cuanto más fuertes los vientos, más fuertes los arboles.”

Hoy... bendice los vientos que te fortalece.

DEDICATORIA:

A Dios.

Dios mío te quiero dar gracias por darme la fortaleza para afrontar el dolor más grande de mi vida, gracias por darme la fuerza y la voluntad para culminar esta etapa tan importante para mí y gracias por todas las personas que has puesto en mi camino por que todas ellas me han dado alguna lección de vida....

A mi familia.

Gracias por iluminar mi vida con su presencia, con sus alegrías, por la confianza, gracias porque a pesar de mis tropiezos, siempre mantuvieron su fe y amor en mí. No hay palabras para agradecer la familia que ustedes me han dado y, por ser inolvidables en mi vida. Gracias por que han sabido guiarme por los caminos de la vida, Wenceslao Argueta Araujo, Ofelia Solís Rosas, Oscar, Wenceslao y José Antonio Argueta Solís.

Unas gracias muy especiales a mi viejo, mi ángel guardián, a la estrella más grande y la que ahora ilumina más el cielo con su resplandor y él que siempre me cuida, mí papá Wenceslao Argueta Araujo que desde el cielo pone a las personas adecuadas en mi vida y en mi camino, gracias a él que siempre me motivo para seguir adelante. Este sueño realizado es por ti y para ti. Te amo papá.

A todas mis sobrinas por ser lo más bonito de la vida, con ellas he aprendido lo que es el amor, el cariño más sincero y puro que uno puede tener, gracias a ellas por su risas, travesuras por sus arranques de besos y abrazos inesperados por su alegría al verme llegar a casa, por quererme tanto aun que no lo merezca, las amo Perla de la Paz, Camila, María José y María Alejandra.

A Inocencio

Gracias a ti, por haber creído en mí, gracias porque a pesar de la distancia y pese a las circunstancias siempre estuviste conmigo y como siempre dijiste, lo que realmente vale la pena, cuesta y me ha costado mucho, entonces quiere decir que todo valió la pena.

A mis maestros.

Gracias a todos y cada uno de ellos, que en estas brechas por la vida, influyeron con sus lecciones, experiencias, consejos y motivaciones para formar en mi a un persona de bien.

AGRADECIMIENTOS:

A mi mamá Ofelia.

Gracias por confiar en mí, por saber respetar mis decisiones sean buenas o malas, de los errores uno aprende y tú me has dejado aprender de ellos, gracias por ser mi madre y mi mejor amiga por esos regaños y consejos que siempre son para ser mejor persona.

A mi papá Wenceslao.

A ti padre mío gracias por la vida que me diste, gracias por la persona que hiciste de mí. Recordar es volver a vivir y tú siempre estás en mi recuerdo.

A mis hermanos Oscar tu que con tus enojos y tu mal genio demuestra el amor, Wences gracias por ser como eres, reservado, pero siempre atento en todo y Toño gracias por tener ese corazón y por ser la alegría de la familia. Gracias a ustedes por el simple hecho de ser mis hermanos, por ser una parte de mi vida, por quererme como me quieren y por ser mis hermanos.

A Inocencio.

Gracias por sembrar tu confianza en mí, por apoyarme, alentar y engrandecer mis sueños, gracias por ser una parte importante de mi vida.

A mis maestros de Primaria.

Gracias a la Familia Silva Moreno por abrir las puertas de su hogar y dejarme permanecer ahí el tiempo que duro mi trabajo, gracias por todo el apoyo y ayuda que me brindaron. Los años pasan pero las amistades siempre prevalecen en el corazón.

A mi compañero.

Luis Fernando por la ayuda, compañía y empujones, tu ayuda fue fundamental y aun lo sigue siendo.

A mi director de tesis.

Al Dr. José Guadalupe Rutiaga Quiñones por la confianza, apoyo y comprensión durante la dirección de la presente tesis, también por su gran colaboración y tiempo dedicado pero sobre todo gracias por la paciencia que ha tenido para terminar el trabajo.

A mi director externo.

Al Dr. Cristóbal Noé y a su equipo de trabajo por el apoyo y colaboración para la realización de este trabajo.

A mi maestra Fabiola.

Gracias por el apoyo, ayuda, consejos y regaños, gracias por el espacio que le dio al ayudar de mi trabajo, y sobre todo, gracias por la amistad que ha nacido entre nosotras.

Ing. Ciro.

Muchas gracias por todos los consejos y los aportes para mi trabajo pero sobre todo gracias por la amistad que me ha brindado.

A mi mesa de sinodales.

M.C. Abril Munrro Rojas, M.C. Fabiola E. Pedraza Bucio, Ing. Ciro Hernández, Ing. Nicolás González Ortega, por sus comentarios, correcciones y sugerencias que contribuyeron a que realizara un mejor trabajo.

A la UMSNH.

Gracias por el tiempo compartido y a la Facultad de Ingeniería en Tecnología de la Madera por permitirme cursar esta carrera.

A la UA de C.

Un agradecimiento especial a la Facultad de Ciencias Químicas y en especial al Departamento de Investigación en Alimentos quien no nos limitó para la realización del trabajo así como a todos los que nos asesoraron para realizar los ensayos y pruebas del mismo. En general gracias al equipo de trabajo del DIA.

El trabajo de investigación titulado “CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE LOS EXTRACTOS DE MADERA Y CORTEZA DE TRES ESPECIES DE ENCINOS (*Quercus candicans*, *Q. laurina* y *Q. rugosa*.) DEL COMPLEJO INDUSTRIAL DE NUEVO SAN JUAN PARANGARICUTIRO, DEL ESTADO DE MICHOACÁN” se realizó en los laboratorios del departamento de investigación en alimentos de la facultad de ciencias químicas de la universidad autónoma de Coahuila. (Responsable técnico: Dr. José Guadalupe Rutiaga Quiñones)

“CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE LOS EXTRACTOS DE MADERA Y CORTEZA DE TRES ESPECIES DE ENCINOS (*Quercus candicans*, *Q. laurina* y *Q. rugosa*.) DEL COMPLEJO INDUSTRIAL DE NUEVO SAN JUAN PARANGARICUTIRO, DEL ESTADO DE MICHOACÁN”

ÍNDICE

	Página.
1. INTRODUCCIÓN	1
2. ANTECEDENTES	3
3. MARCO TEÓRICO	5
3.1. Aspectos generales de los antioxidantes	5
3.1.1. Fuentes de antioxidantes	5
3.1.2. Función de los antioxidantes	5
3.1.3. Antioxidantes en las plantas	6
3.1.4. Radicales libres	7
3.1.5. Producciones de radicales	7
3.1.6. Daño por los radicales libres	8
3.1.7. Eliminación de los radicales libres	8
3.1.8. Ambiente oxidante	8
3.1.9. Eficiencia de los antioxidantes naturales contra el estrés oxidativo	9
3.1.10. Radicales superóxido	9
3.1.11. Peróxido de hidrógeno	9
3.1.12. Radical hidroxilo	10
3.1.13. Hierbas medicinales y extractos de plantas	10
4. GENERALIDADES DE LAS ESPECIES	11
4.1. <i>Quercus candicans</i> Née	11
4.2. <i>Quercus laurina</i> Humb&Bonpl	13

4.3.	<i>Quercus rugosa</i> Née	15
5.	OBJETIVOS	18
5.1.	Objetivo General	18
5.2.	Objetivos Particulares	18
6.	METODOLOGÍA	19
6.1.	Trabajo de campo y habilitación del material	19
6.2.	Trabajo de laboratorio	20
6.3.	Obtención de extractos	21
6.4.	Actividad Antioxidante	23
6.4.1.	Prueba antioxidante DPPH	23
6.4.2.	Prueba antioxidante ABTS	24
6.4.3.	Peroxidación de lípidos	25
7.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	27
7.1.	Obtención de extractos	27
7.2.	Actividad Antioxidante	28
7.2.1.	Prueba antioxidante DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidracil)	28
7.2.2.	Prueba antioxidante ABTS, radical 2,2-azino bis- (3- etilbenzotiazolin-6-sulfonato)	29
7.2.3.	Inhibición de oxidación de lípidos	30
8.	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	32
9.	PERSPECTIVA DE INVESTIGACIÓN	33
10.	BIBLIOGRAFÍA	34

ANEXOS

ÍNDICE DE TABLAS

	Página
Tabla 1.- Procesos de producción, eliminación y disminución de especies activas de oxígeno en plantas.	6
Tabla 2.- Radicales libre comunes.	7
Tabla 3.- Porcentaje de extractos con solventes de polaridad creciente en las muestras de duramen, albura y corteza.	27
Tabla 4.- Porcentaje de actividad antioxidante en técnica DPPH para los extractos de las diferentes especies de <i>Quercus</i> , en sus diferentes zonas.	28
Tabla 5.- Porcentaje de actividad antioxidante en técnica ABTS para los extractos de las especies <i>Quercus</i> estudiadas.	29
Tabla 6.- Porcentaje de actividad antioxidante en la prueba de peroxidación de lípidos para los extractos de las especies de <i>Quercus</i> en sus diferentes zonas.	30

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Localización de la comunidad.	19
Figura 2. Rodajas de las especies de estudio.	20
Figura 3. Árboles de las especies.	20
Figura 4. Equipo soxhlet para la extracción sucesiva.	21
Figura 5. a) Rotavapor; b) Matraz con solventes; c) Extractos obtenidos.	21
Figura 6. Diagrama de flujo para la obtención de extractos y actividad antioxidante.	22
Figura 7. Microplacas con el extracto metanólico y DPPH.	23
Figura 8. Pruebas antioxidantes ABTS.	24
Figura 9. Técnicas peroxidación de lípidos.	26

RESUMEN

Para este trabajo se estudió la capacidad antioxidante de los extractos de la madera y corteza de tres especies de encinos (*Quercus candicans*, *Q. laurina* y *Q. rugosa*). En estudios recientes revelan los problemas de salud asociados con la acumulación de radicales libres en el organismo, así como el uso de antioxidantes sintéticos en alimentos que conducen el deterioro y muerte celular, envejecimiento, enfermedades cardiovasculares, cataratas y algunos tipos de cáncer. Gran cantidad de antioxidantes naturales han sido extraídos de diferentes especies de plantas. Las especies maderables estudiadas se recolectaron en el complejo industrial de Nuevo San Juan Parangaricutiro, del Estado de Michoacán. Las Sustancias extraíbles se aislaron mediante extracción sucesiva en equipo Soxhlet con solventes de polaridad creciente: ciclohexano, acetona, metanol y finalmente con agua caliente bajo reflujo. Todos los extractos fueron evaluados cada uno por separado en diferentes técnicas antioxidantes como lo son DPPH y ABTS, también se realizó el ensayo de peroxidación de lípidos por medio del ácido linoleico. Se observó que los extractos de madera tienen buena actividad antioxidante, y pudieran ser una fuente de sustancias antioxidantes dentro de una amplia variedad de áreas así como alimentos y salud.

*Palabras clave: antioxidante, extractos, DPPH, ABTS, peroxidación.

ABSTRACT

For this work the antioxidant capacity of the extracts of the wood and bark of three species of oaks (*Quercus candicans*, *Q. laurina* and *Q. rugosa*) was studied. Recent studies reveal the health problems associated with the accumulation of free radicals in the body, and the use of synthetic antioxidants in food spoilage and leading cell death, aging, cardiovascular disease, cataracts and some cancers. Many natural antioxidants have been extracted from different plant species. Timber species studied were collected in the industrial complex of Nuevo San Juan Parangaricutiro, the State of Michoacán. Extractable substances were isolated by sequential Soxhlet extraction with solvents of increasing polarity: cyclohexane, acetone, methanol and finally with hot water under reflux. All extracts were tested each on separate techniques such as antioxidants DPPH and ABTS, also the lipid peroxidation test was performed by means of linoleic acid. It was observed that the wood extracts have good antioxidant activity, and could be a source of antioxidants in a wide variety of areas as well as food and health.

Key words: antioxidant, extracts, DPPH, ABTS, peroxidation.

1.- INTRODUCCIÓN

En los últimos años, se han llevado a cabo infinidad de estudios con respecto a la capacidad antioxidante y análisis químico de extractos de diversas plantas, frutas y verduras, y sus resultados han sido aprobados para fines de tratamientos medicinales durante décadas en diferentes partes del mundo. Esta actividad antioxidante de las plantas se debe a sus compuestos no nutricionales los cuales presentan una actividad biológica elevada, tales como polifenoles, vitaminas y minerales (Khalaf *et al.* 2008; Chemah *et al.* 2010). Entre los polifenoles que se han encontrado en vegetales estudiados destacan los flavonoides, isoflavonas, flavonas, quercitina, catequinas, isocatequinas y colorantes como batalinas e indicaxatina (Cai *et al.* 2010; Sumaya *et al.* 2011). La actividad antioxidante que se encuentra en plantas, frutas y vegetales es de suma importancia ya que puede ser de ayuda y bienestar para miles de personas que las consumen y combatir enfermedades que ocasionan los radicales libres (Aguirre *et al.* 2012).

La oxidación celular es promovida por los radicales libres, los cuales son moléculas o grupos de moléculas que tienen un electrón desapareado, por lo que son muy reactivos y capaces de favorecer una reacción en cadena, la cual se encarga de dañar el organismo, y esto ocasiona el desencadenamiento del fenómeno llamado estrés oxidativo, así mismo, tienden a aceptar un electrón de otros átomos con el fin de alcanzar su estabilidad electroquímica. El estrés oxidativo mencionado con anterioridad se asocia constantemente con las enfermedades de Alzheimer y cáncer, además de algunas enfermedades cardiovasculares, debido a mecanismos de peroxidación lipídica, daño al ADN y proteínas, por mencionar algunas (Butera *et al.* 2002; Nuengchamnong *et al.* 2004).

La capacidad antioxidante no solamente se ha detectado en compuestos presentes en frutas, verduras y ciertas partes de plantas menores, sino también en algunos árboles de encinos (Jung-il *et al.* 2008; Rocha *et al.* 2009) y coníferas

(Rosales *et al.* 2009). En este trabajo se determinó la capacidad antioxidante de diferentes extractos de madera y corteza de tres especies de encino: *Quercus candicans*, *Q. laurina* y *Q. rugosa* con el fin de encontrar fuentes alternativas y eficientes para el suministro de ingredientes alimenticios con esta propiedad biológica.

2.- ANTECEDENTES

En relación con la capacidad antioxidante de los extractos de la madera y corteza de encinos no se encontró mucha literatura, sólo algunos trabajos que a continuación se describen de diferentes especies de encinos a las aquí estudiadas, y que son de otras partes del árbol, como las hojas.

Jung-il *et al.* (2008) determinaron la capacidad antioxidante en madera de *Quercus salicina*. Todos los compuestos que fueron aislados mostraron actividad antioxidante mediante el ensayo de DPPH.

Rocha *et al.* (2009) evaluaron la actividad antioxidante en hojas de *Quercus resinosa*, a través de la inhibición de la degradación de desoxirribosa.

Yang-Qing *et al.* (2011) estudiaron actividad antioxidante de los compuestos químicos de las hojas de *Quercus macrocarpa*, también evaluaron la capacidad antioxidante de los compuestos por medio del ensayo de DPPH, en el que reflejan algunos flavonoides una fuerte actividad en la captación de radicales.

Otros trabajos encontrados de algunas otras especies maderables y de especies no maderables, pero que utilizaron las mismas técnicas que las aquí realizadas, se mencionan a continuación:

Zavala *et al.* (2006) estudiaron extractos acuosos de orégano (*Lippia graveolens* Kunt), en donde encontraron valores de la capacidad antioxidante de 357.15 ± 11.84 , 397.99 ± 22.02 y 406.96 ± 15.14 mg/ml, respectivamente.

González *et al.* (2007) evaluaron la capacidad antioxidante de flavonoides presentes en el tallo de orégano mexicano (*Lippia graveolens* HBK var. *berlandieri* Schauer).

Cardona y Mejía (2009) evaluaron el efecto antioxidante de aceites esenciales y extractos de: *Eugenia caryophyllata*, *Origanum vulgare* y *Thymus vulgaris*. Mostraron que estos aceites esenciales poseen una importante actividad antioxidante, en mayor grado para el clavo de olor, el cual gratamente mostró además actividad antimicrobiana, más efectiva que las sustancias control BHT y BHA, en productos cárnicos procesados, como el salami.

Ortiz *et al.* (2009) estudiaron el potencial antioxidante de hojas y corteza de *Bauhinia kalbreyeri* Harms, reportando a sus flavonoides como responsables de esta actividad.

Rosales *et al.* (2009) determinaron la capacidad antioxidante de extractos polifenólicos de cortezas de *Pinus cooperi*, *P. engelmannii*, *P. leiophylla* y *P. teocote*, reportando la concentración de fenoles totales, flavonoides y asimismo determinaron la actividad antioxidante de los extractos por la inhibición de la oxidación de lipoproteínas de baja densidad (LDL).

Martínez *et al.* (2011) estudiaron las propiedades físico-químicas de los residuos de uva y las condiciones para la producción de antioxidantes fenólicos. Además de los radicales libres de DPPH y ABTS, se midió la inhibición de la oxidación de lípidos de peroxidación con ácido linoléico de extractos a partir de residuos de uva fermentado y no fermentado. Ellos llegaron a la conclusión de que los residuos de uva son una fuente potencial de sustrato para la producción de compuestos antioxidantes en un sistema de fermentación en estado sólido.

Soto *et al.* (2012) evaluaron el extracto acuoso de orégano (*Lippia graveolens* HBK) del Norte de México y encontraron que tiene actividad antioxidante sin mostrar un efecto tóxico *in vitro* e *in vivo*. Sus resultados indican que el orégano presenta actividad antioxidante que se incrementa conforme aumentan las concentraciones del extracto. La mayor actividad antioxidante se tiene a 160 mg/mL.

3.- MARCO TEÓRICO

3.1.- Aspectos generales de los antioxidantes.

El término antioxidante significa que inhibe la oxidación perjudicial de otras sustancias químicas. Estas sustancias impiden que otras moléculas se unan al oxígeno, al reaccionar interactúan más rápido con los radicales libres, que son las moléculas culpables de dañar los tejidos, producen el envejecimiento y algunas enfermedades, son muy inestables y se pegan a otras robándoles energía y causando daños. Su acción la realizan tanto en medios hidrofílicos como hidrofóbicos. Actúan como eliminadores (Scavengers), con el objetivo de mantener el equilibrio pro oxidante/antioxidante a favor de este último (Venereo 2002).

3.1.1.- Fuente de antioxidantes

Los antioxidantes se encuentran en la dieta, principalmente en los alimentos vegetales, lo que explica la acción saludable de las frutas, legumbres, hortalizas y cereales integrales, así como algunos alimentos que son ricos en estas sustancias como las granadas, arándanos, chocolate negro, té verde, café etc. (Heber y Bowerman 2001). Algunos antioxidantes son utilizados como aditivos conservantes en los alimentos.

3.1.2.- Función de los antioxidantes

Básicamente los antioxidantes son enzimas que se mueven alrededor de las células del cuerpo en busca de los radicales libres. Cada vez que se encuentra con alguno de los radicales libres en el cuerpo, lo capturan y lo neutralizan. En este proceso de neutralización de los radicales libres, los antioxidantes no causaran daño a sí mismos. Después de neutralizar el radical libre, el antioxidante elimina el radical de la circulación. La respiración en presencia de oxígeno es esencial en la vida celular de nuestro organismo, pero como consecuencia de la misma se producen estos radicales libres, que ocasionan a lo largo de la vida efectos negativos para la salud a través de su capacidad de alterar el ADN (los genes), las proteínas y los lípidos o grasas (Benavides *et al.* 2009).

3.1.3.- Antioxidantes en las plantas

Los antioxidantes y su función química es donar un reductor a los compuestos oxidantes que dañan a los componentes celulares. El producto final de la reacción de disolución energética antioxidante-oxidante son comunes el O_2 y el H_2O , seguidos por liberación de calor. Los compuestos oxidantes más predominantes en las células vegetales se originan de la activación de la molécula de dioxígeno (O_2), lo que abre paso a especies químicas parcialmente reducidas, como el oxígeno singlete O_2^1 y el radical superóxido (O_2^-), que constituyen las especies ROS (activas o reactivas de oxígeno) primarias (Benavides *et al.* 2009).

Las especies reactivas de oxígeno, en palabras extensas, son producto de reacciones del metabolismo energético como la fotosíntesis, la respiración y la foto-respiración (Tabla 1). Otras reacciones de síntesis de especies reactivas de oxígeno más específicas y sujetas a control celular sobrevienen por la acción de enzimas como la oxidasa, amino oxidasas y peroxidasas de la pared celular (Mittler 2002). Los primeros sistemas de la extinción de especies reactivas de oxígeno en las plantas se componen de las enzimas antioxidantes superóxido dismutasa (SOD), ascorbato peroxidasa (APX) y catalasa (CAT), así como la actividad de quelatación y secuestro de iones de metales, con las cuales disipan o previene la acumulación de radicales hidroxilo, resultantes de reacciones Haber-Weiss o reacciones Fentón.

Tabla 1. Procesos de producción, eliminación y disminución de especies activas de oxígeno en plantas (Mullineaux y Karpinski (2002), modificado por Mittler (2002)).

Mecanismo/Producción	Localización
O_2^- en fotosíntesis (transporte de electrones y PSI y PSII)	Cloroplasto
O_2^- en respiración (transporte de electrones)	Mitocondria
H_2O_2 por la glicolato oxidasa	Peroxisoma

O_2^1 por clorofila excitada	Cloroplasto
O_2^- por la NADPH oxidasa	Membrana plasmática
H_2O_2 por la β -oxidación de ácidos grasos	Peroxisoma
H_2O_2 por la oxalato oxidasa	Apoplasto
O_2^- por la xantina oxidasa	Peroxisoma
H_2O_2 y O_2^- por peroxidasas, Mn^{2+} y NADH	Pared celular

PSI: Potosistema I

PSII: Potosistema II

NADPH oxidasa: enzima de fuente endógena de ROS

NADH: coenzima nicotin adenin dinucleótido (abreviado NADH en su forma reducida)

3.1.4.- Radicales libres

Un *Radical Libre* es una molécula independiente, pero a la que le falta un electrón, haciéndola altamente inestable. Es por ello que en cuanto se tropieza con otra molécula estable, tiende a “apropiarse” de un electrón para ser estable. Pero, un radical libre no es malo; actúa como actuaría un imán en presencia de hierro: atrae, pero sin emoción ni deseo. Técnicamente se dice que es una molécula con un electrón desapareado y por ello con gran poder reactivo (Maldonado *et al.* 2010).

3.1.5.- Producción de radicales

Un Radical libre se produce ante la presencia de determinadas reacciones químicas (Tabla 2). En nuestro caso, muchos de ellos los creamos nosotros mismos cuando respiramos (nuestra respiración no es más que un aprovechamiento del oxígeno para transformarlo en última instancia en energía). Otros provienen de productos tóxicos (Maldonado *et al.* 2010).

Tabla. 2.- Radicales libres comunes (Ramírez y Echeverri, 2007).

Fórmula	Nombre del radical
HO·	Hidroxilo

HO ₂ ·	Hidroperóxilo
O ₂ ·	Superóxido
RO·	Alcóxilo
ROO·	Peróxilo
NO·	Óxido nítrico

3.1.6.- Daño por los radicales libres

Una parte de los Radicales Libres se autodestruyen, puesto que tienen una vida breve, pero muchos otros encuentran el electrón que necesitan para ser más estables químicamente hablando. No sería cosa mala de no ser porque normalmente ese electrón lo obtienen casi siempre del ADN de nuestras propias células, muriendo ésta en pocos días. Esto ocurre constantemente en nuestro cuerpo y ni nos enteramos. A eso se le llama envejecimiento (Maldonado *et al.* 2010).

3.1.7.- Eliminación de radicales libres

Un Radical no se elimina, si no que se le puede neutralizar. Es entonces cuando entran en juego los antioxidantes, puesto que éstos le pueden aportar el electrón que los hace estables, acabando con su reactividad (Maldonado *et al.* 2010).

3.1.8.- Ambiente oxidante.

La aparición de oxígeno (fotosíntesis) en la biosfera permitió la evolución de organismos cada vez más eficaces en la utilización de la energía química de los carbohidratos pero el oxígeno era, a su vez, tóxico para la mayoría de estos organismos. Los seres vivos hemos desarrollado una serie de mecanismos de defensa contra la oxidación química y las radiaciones. Los sistemas de defensa antioxidante mantienen el organismo sano en un estado de equilibrio redox. En tal caso, agentes antioxidantes exógenos deberían ayudar al organismo a protegerse o a vivir por más tiempo (Franco y Moure 2010).

3.1.9.- Eficiencia de los antioxidantes naturales contra el estrés oxidativo.

Se entiende normalmente por antioxidantes naturales ciertos productos naturales presentes en vegetales y que con mayor o menor frecuencia ingerimos en la dieta. Entre ellos se encuentran los polifenoles (captadores de radicales libres, p.e. catequinas del té, proantocianidinas de la uva) y los carotenos (p.e. licopeno del tomate). Curiosamente, los polifenoles pueden también ser prooxidantes. Es interesante remarcar que esta actividad antioxidante podría ser, paradójicamente, la verdadera actividad antioxidante, porque un cierto estímulo oxidante pone en marcha los mecanismos de defensa antioxidante (Halliwell 2006; Linnane *et al.* 2007). Si bien no hay aún evidencia de que alguna familia de antioxidantes naturales (p.e. polifenoles) pueda hacer aumentar la esperanza de vida en humanos, cada vez parece más claro que un estilo de vida que combine dieta adecuada (con ingestión de frutas y verduras en abundancia), ejercicio moderado y ausencia de estrés psicológico está relacionado con una baja incidencia de enfermedades como el cáncer y los trastornos neurodegenerativos (Wilcox *et al.* 2006).

3.1.10.- Radical superóxido

El radical superóxido resulta de la captación de un electrón por parte de la molécula de oxígeno. A su vez, la reacción entre dos radicales superóxido con dos protones y catalizada por la superóxido dismutasa (SOD) da lugar a agua oxigenada. Si el pH disminuye, se puede formar el radical perhidroxilo (Hardisson 2006).

3.1.11.- Peróxido de hidrogeno

El peróxido de hidrogeno o agua oxigenada es un potente oxidante de los sistemas biológicos, que actúa sobre macromoléculas orgánicas disueltas en agua. Se difunde pasivamente a través de las membranas celulares y se convierte en un oxidante citotóxico. Como se ha visto en el apartado anterior, puede formarse en la reacción entre dos radicales superóxido catalizada por la superóxido dismutasa (Hardisson 2006).

3.1.12.- Radical hidroxilo

Es el radical más oxidante. La principal fuente de radicales HO· es la denominada reacción de HABER-WEISS (Hardisson 2006).

3.1.13.- Hierbas medicinales y extractos de plantas

Hay algunas plantas que contienen compuestos con efectos beneficiosos para la protección frente a la toxicidad inducida por micotoxinas. Actúan como antioxidantes, *scavengers* de radicales libres e inhibiendo la peroxidación lipídica.

Entre ellas destacan:

- *Cassia senna*: La administración de un extracto de etanol de un concentrado de *C. senna* inhibe el efecto mutagénico de la AFB1 (Aflotoxina B1) (Al-Dakan *et al.* 1995).
- Nuez de anacardo: El extracto de nuez de anacardo es efectivo en reducir el hepatocarcinoma inducido por AFB1(Aflotoxina B1) (Premalatha y Sachdanandam 1999).
- Hojas de pimienta: La administración de extracto de metanol de hojas de pimienta disminuye el efecto genotóxico de AFB1(Aflotoxina B1) (Hashim *et al.* 1994).
- La administración de un extracto del fruto de *Schisandra chinensis* proporciona una acción hepatoprotectora contra AFB1 (Aflotoxina B1) por la estimulación del sistema hepático antioxidante y de detoxificación (Ip *et al.* 1996).

Finalmente, es importante tener en cuenta que en algunos casos los posibles agentes protectores también son una vía potencial de intoxicación. Este es el caso del café, té, uvas y hierbas medicinales. De hecho, se debe tener precaución en la promoción de la acción antimicotóxica de las sustancias discutidas anteriormente, ya que algunas de ellas pueden ser carcinogénicas y/o tener propiedades tóxicas a dosis concretas y en determinadas circunstancias.

4. GENERALIDADES DE LAS ESPECIES.

A continuación se presentan las características generales de las especies de *Quercus* que en este trabajo se estudiaron:

4.1 *Quercus candicans* Née (Bello 1987).

Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Orden	Fagales
Familia	Fagaceae
Género	<i>Quercus</i>
Epíteto específico	<i>Candicans</i>
Especie	<i>Quercus candicans</i> Née
Origen	México

Quercus candicans Née también es conocido con los nombres comunes que a continuación se mencionan: encina, hoja ancha, encino de asta, encino cenizo, encino papatla, encino blanco, encino aguacatillo, encino rosillo, ahuamextli, roble, bellotero, corturapi y orupcu.

Área de distribución: en México es los estados de Durango, Sinaloa, Nayarit, Jalisco, Colima, Guanajuato, Hidalgo, Veracruz, Michoacán, Estado de México, Morelos, Guerrero, Puebla, Oaxaca, San Luis Potosí y Sonora. También se le puede encontrar en Guatemala. En Michoacán sólo se le encuentra en la parte noroeste y este de la Depresión del Río Lerma, en la parte central, suroeste y este de la Cordillera Neovolcánica y parte oeste de la Sierra Madre del Sur.

El *Q. candicans* puede alcanzar de 8 a 30 m de alto, con un d.a.p. (Diámetro a la altura del pecho) de hasta 1 m normalmente de 20-80 cm, tronco cilíndrico, circular en corte transversal, copa en forma de domo, ramificación simpódica en la parte superior del árbol, ramas en disposición horizontal y difusa. El tronco es muy rugoso, aunque en los ejemplares jóvenes suele ser liso (Lesur 2011).

Madera: sin olor ni sabor, lustre bajo, textura áspera y grano ligeramente entrecruzado, es dura y pesada, presenta 0.78 de gravedad específica.

Duramen: de color café grisáceo oscuro, con figura notablemente jaspeada debido a los grandes radios.

Albura: de color amarillo grisáceo muy claro.

La corteza externa es fisurada, de color café negruzco, con placas alargadas de alrededor de 10 cm de largo y 2 cm de ancho.

Hojas: jóvenes por el envés con abundante y fino tomento, el haz con tomento estrellado muy disperso; las hojas maduras de consistencia coriácea verde y lustrosa en el haz, con un denso tomento blanco en el envés, elíptico-lanceoladas, elíptico-oblancoeladas, obovadas u ovadas de 9-26 cm de largo por 3.5-14 cm de ancho, ápice de redondeado a agudo y aristado, base subcordada, truncada o angosta, márgenes aristado-dentados de 6-18 a cada lado, con 8 o 12 pares de nervios laterales, peciolo moreno de 0.7-5 cm de largo. Existe un contraste entre las hojas jóvenes que son rojas y las hojas maduras de color verde oscuro (Lesur 2011).

Flores: los peciolo de 3-20 mm de largo y de 0.5-1.5 mm de ancho; amentos masculinos laxos, periantos de 2.5-3 mm de diámetro, pilosos en la parte externa y en el lugar de inserción de los estambres, anteras exsertas de 1.5 mm de largo apendiculadas, filamentos de 2.5 mm de largo, las flores tiernas del *Q. candicans* son rojas; conforme maduran se van volviendo verdes (Lesur 2011).

Frutos: son bianuales y generalmente en pares sobre un corto pedúnculo de 0.4-1.2 cm de largo, involucro hemisférico generalmente de 10-23 mm de diámetro por 7-18 mm de alto, escamas grandes y delgadas, bellota ovoide de color café, de 20-24 mm de largo por 19 mm de ancho.

Usos: el *Q. candicans* uso regional, como leña, postes para cerca, mangos y cabos para herramienta e implementos agrícolas, horcones, rayos de carreta, redilas para camiones, cajas de empaque y el fruto como alimentación.

Otros usos conocidos: se emplea para carbón, durmientes, fabricación de muebles finos, artículos torneados, revestimiento y decoración de interiores, carrocerías, embarcaciones y carpintería en general. Se recomienda para muebles y gabinetes de alta calidad ebanística con capa fina, pisos, marcos para puertas y ventanas, cofres.

4.2 *Quercus laurina* Humb & Bonpl. (Bello 1987).

Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Orden	Fagales
Familia	Fagaceae
Género	<i>Quercus</i>
Epíteto específico	<i>Laurina</i>
Especie	<i>Quercus laurina</i> Humb & Bonpl.
Origen	México

Q. laurina también recibe los nombres comunes de: Encino laurelillo, encino prieto, encino colorado, encino blanco, encino chilillo, encino uricua, atlualpitzahual, encino roble, encino xicatahua, tesmolera, encino hoja angosta, huitzalacate.

Área de distribución: en México en los estados de Colima, Guanajuato, Michoacán, Hidalgo, Puebla, Morelos, Distrito Federal, Guerrero, Jalisco, Estado de México, Nayarit, Oaxaca y Sinaloa.

En Michoacán se presenta a lo largo de la Cordillera Neovolcánica y pequeños manchones en la parte sur de la Depresión del Río Lerma, así como en la parte central y oeste de la Sierra Madre de Sur.

Es un árbol que crece de 10-40 m de alto, con un d.a.p (Diámetro a la altura del pecho) de 15-100 cm, su tronco es cónico circular en corte transversal, copa casquete esférico, con su ramificación monopódica con ramas en disposición semiascendente y difusa. La copa es cónica irregular (Lesur 2011).

Ramillas: de 2-4 mm de grueso, con mayor frecuencia de 4 mm, con tomento amarillo cuando son jóvenes, en la madurez son de color café oscuro y con pocas lenticelas amarillentas; yemas ovoides, agudas, glabras, cafés rojizas, de 2.4 mm de largo; estípulas oblanceoladas subuladas, escamosas, color café rojizo, pubescentes, de 3-4 mm de largo.

Madera: no presenta olor ni sabor, posee lustre bajo, textura áspera y grano entrecruzado, es dura y pesada, presentando 0.82 de gravedad específica.

Duramen de color café grisáceo oscuro.

La albura es de color blanco amarillento.

Corteza: es fisurada a escamosa, de color café grisáceo, formada por piezas irregulares alargadas de 1 a 2 cm de ancho, con fisuras longitudinales profundas algo anchas y fisuras transversales apenas marcadas que dejan piezas más pequeñas de alrededor de 2 cm de lado; en el interior la corteza es de hasta 12 mm de grosor y textura algo fibrosa; con un sabor ligeramente astringente.

Hojas: son apicales, cuando son jóvenes están cubiertas por pelos simples, rojizos, con pubescencia, dispersas y pelos estrellados; sus hojas maduras son coriáceas y rígidas, de verdes a ligeramente cafés regularmente mas pálidas que el haz, lustrosas y por lo general lampiño (Lesur 2011), de elíptico-oblanceoladas a lanceoladas, de 3.3-14.5 cm de largo por 1-5 cm de ancho.

Flores: son peciolos de 0.8-3.6 cm de largo, con abundante tomento amarillo.

Frutos: son bianuales, solitarios o en pares, sobre un corto pedúnculo, de 3-8 mm de largo, involucro hemisférico de 10-17 mm de diámetro por 7-10 mm de alto, escamas leñosas, de canescentes a casi glabras, bellota corta, ovoide, de 15-20 mm de largo por 15-17 mm de ancho.

Uso: se emplea regionalmente en la elaboración de bancos, muebles rusticos, cabos de herramienta, vigas de construcción, postes para cerca, leña, arados, redilas y vaquetas para tambor.

Otros usos: fabricación de carbón, papel krafft y chapa. Se propone ser usada para parquet, duelas, interiores, madera de arados, traviesas de ferrocarril, durmientes, chapa para muebles de tipo colonial, cofres, baúles, lambrín, puertas, ventanas y libreros.

4.3 *Quercus rugosa* Née (Bello 1987).

Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Orden	Fagales
Familia	Fagaceae
Género	<i>Quercus</i>
Epíteto específico	<i>Rugosa</i>
Especie	<i>Quercus rugosa</i> Née
Origen	México

Q. rugosa también recibe los nombres comunes de: Encino roble, encino avellano, encino prieto, encino de miel, encino negro, sharari, tocu, encino quiebra hacha, encino cuero, encino de asta, encino hoja rasca, encino quebracho.

Área de distribución: en México se le encuentra en los estados de Sonora, Aguascalientes, Chiapas, Chihuahua, Coahuila, Michoacán, Colima, Distrito Federal, Durango, Guanajuato, Hidalgo, Jalisco, Estado de México, Morelos, Oaxaca, Puebla, Querétaro, San Luis Potosí, Veracruz y Zacatecas.

Abundantemente hay en el centro del país, donde forma extensos bosques a una altitud que varía de los 1800 a 2800 msnm.

En Michoacán tiene una propagación más o menos continua en la Cordillera Neovolcánica así como en regiones montañosas.

También se encuentra en los Estados Unidos de América, desde Arizona.

La altura del árbol va de los 3-25 m, presenta un tronco con un d.a.p (Diámetro a la altura del pecho) de 10-80 cm o más, el tronco tiene fisuras profundas café oscura. Tiene una copa amplia y redonda, que proporciona una sombra densa (Lesur 2011).

El ramaje: es tomentoso y sus ramillas de 3-6 mm de grueso, tomentulosas al principio, después casi glabras de color café grisáceo; estipulas lineares u oblanceoladas, de 6-7 mm de largo, escariosas y pilosas.

Madera: presenta diferencia de color entre la albura y el duramen.

La albura presenta un color castaño muy pálido.

El duramen es de color castaño amarillento.

Corteza: con apariencia escamosa, textura fibrosa, con fisuras profundas, la corteza presenta un color café oscuro a grisaseo, escamosa y muy atomentada cuando joven, con un sabor ligeramente astringente y amargo.

Hojas: muy gruesas al madurar, rígidas y coriáceas, frecuentemente cóncavas por el envés, muy rugosas, con el haz lustrado y sin vellosidad; el envés es color ambar rojizo (Lesur 2011). Obovadas, de elíptico-obovadas a casi suborbiculares, de 4-17 cm de largo por 1.8-10 cm de ancho.

Flores: presenta peciolos pubescentes de 3-13 mm de largo; 2-12 flores femeninas en un pedúnculo largo y delgado de 6-7.5 cm de largo.

Fruto: es anual y son solitarios o en grupos de 2-3, involucros de 12-17 mm de diámetro por 7-9 mm de alto, bellota ovoide de 16-25 mm de largo por 9-14 mm de diámetro, con frecuencia angosta o puntiaguda (Lesur 2011).

Usos: del *Q. rugosa* son de forma regional como leña, carbón, postes para cerca, cabos para herramientas y elaboración de café con la bellota.

5. OBJETIVOS

5.1 Objetivo General

Determinar la capacidad antioxidante de los extractos de madera y corteza de tres especies de encinos (*Quercus candicans*, *Q. laurina* y *Q. rugosa*.)

5.2 Objetivos Particulares

- Aislar las sustancias extraíbles, mediante extracción con solventes de polaridad creciente (ciclohexano, acetona, metanol y agua caliente)

- Determinar la capacidad antioxidante de los extractos aislados mediante las pruebas DPPH y ABTS, así como peroxidación de lípidos.

6.- METODOLOGÍA

6.1.- Trabajo de campo y habilitación del material

El material se recolectó en la Comunidad Indígena de Nuevo San Juan Parangaricutiro (Fig. 1). Esta comunidad cuenta con una superficie de 18,138 hectáreas, que representa el 78% del Municipio de Nuevo San Juan Parangaricutiro, Michoacán. Su localización geográfica se encuentra entre los paralelos 19° 21'00" y 19° 34'45" de latitud Norte; así como en los meridianos 102° 08' 15" y 102° 17' 30" de longitud Oeste, con respecto al meridiano de Greenwich. (www.comunidadindigena.com.mx). Se tomaron muestras de madera (duramen, albura y corteza) derivados del aprovechamiento forestal.

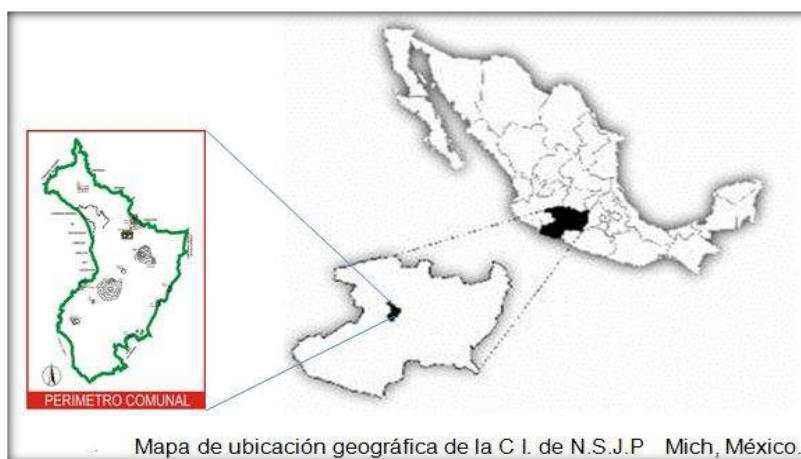


Figura 1. Localización del área de estudio.

El bosque de esta Comunidad Indígena es clasificado como “bosque de pino-encino” donde existen las siguientes categorías generales de vegetación:

- A) Bosque de *Pinus pseudostrobus* y *P. montezumae* con *Abies religiosa*, *Quercus candicans*, *Q. laurina*, *Q. rugosa* y *Alnus spp.* en los sitios de mayor altitud, correspondientes a faldas y cimas de conos cineríticos.
- B) Bosque de *Pinus pseudostrobus* con *P. leiophylla*, *Quercus rugosa*, *Q. crassipes* y *Q. laurina* correspondientes a alturas medias y sitios relativamente más húmedos.

C) Bosque de *Pinus leiophylla* y *P. michoacana* con *Quercus obtusata*, *Q. castanea* y *Q. rugosa*, correspondientes a alturas medias y sitios relativamente más secos.

Para el presente estudio se seleccionaron las especies de *Quercus candicans* Née, *Q. laurina* Humb. & Bonpl. y *Q. rugosa* Née (Figuras 2 y 3), y complementa otros trabajos realizados con madera y corteza del fuste y de ramas de coníferas de la misma Comunidad Indígena (*Abies religiosa* (Kunth) Cham. Et Sch., *Pinus leiophylla* Sch. Et Cham, *P. pseudostrobus* L. y *P. montezumae* Lamb.).



Figura 2. Rodajas de las especies de estudio; a) *Quercus candicans* Née, b) *Q. laurina* Humb. & Bonpl.; c) *Q. rugosa* Née

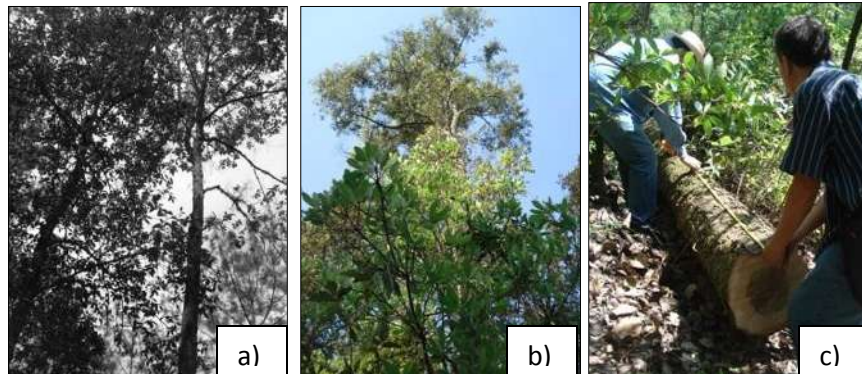


Figura 3. Árboles de las especies; a) *Quercus candicans* Née, b) *Q. laurina* Humb. & Bonpl.; c) *Q. rugosa* Née

6.2.- Trabajo de laboratorio

Las muestras (duramen, albura y corteza) de las tres especies de encinos, se secaron al aire libre. Posteriormente el material se molió en un molino Wiley de

acuerdo a la norma T-257 (TAPPI, 2000) obteniendo harina de madera, la cual fue cribada en diferentes mallas 20, 40 y 60, utilizando la de malla 40 (420 μ), retenida en la malla 60.

6.3.- Obtención de extractos

La cantidad de sustancias extraíbles se obtuvieron mediante extracción sucesiva en equipo Soxhlet (Fig. 4) con solventes de polaridad creciente: ciclohexano, acetona, metanol y finalmente con agua caliente bajo reflujo. Con un periodo de duración de 6 horas; Los solventes fueron recuperados mediante un rotavapor (Fig. 5) a vacío para obtener así el extracto de cada secuencia.



Figura 4. Equipo Soxhlet para la extracción sucesiva.



Figura 5. a) Rotavapor; b) Matraz con solventes, c) Extractos obtenidos

En la Figura 6, se aprecia el diagrama de flujo de la realización del trabajo.

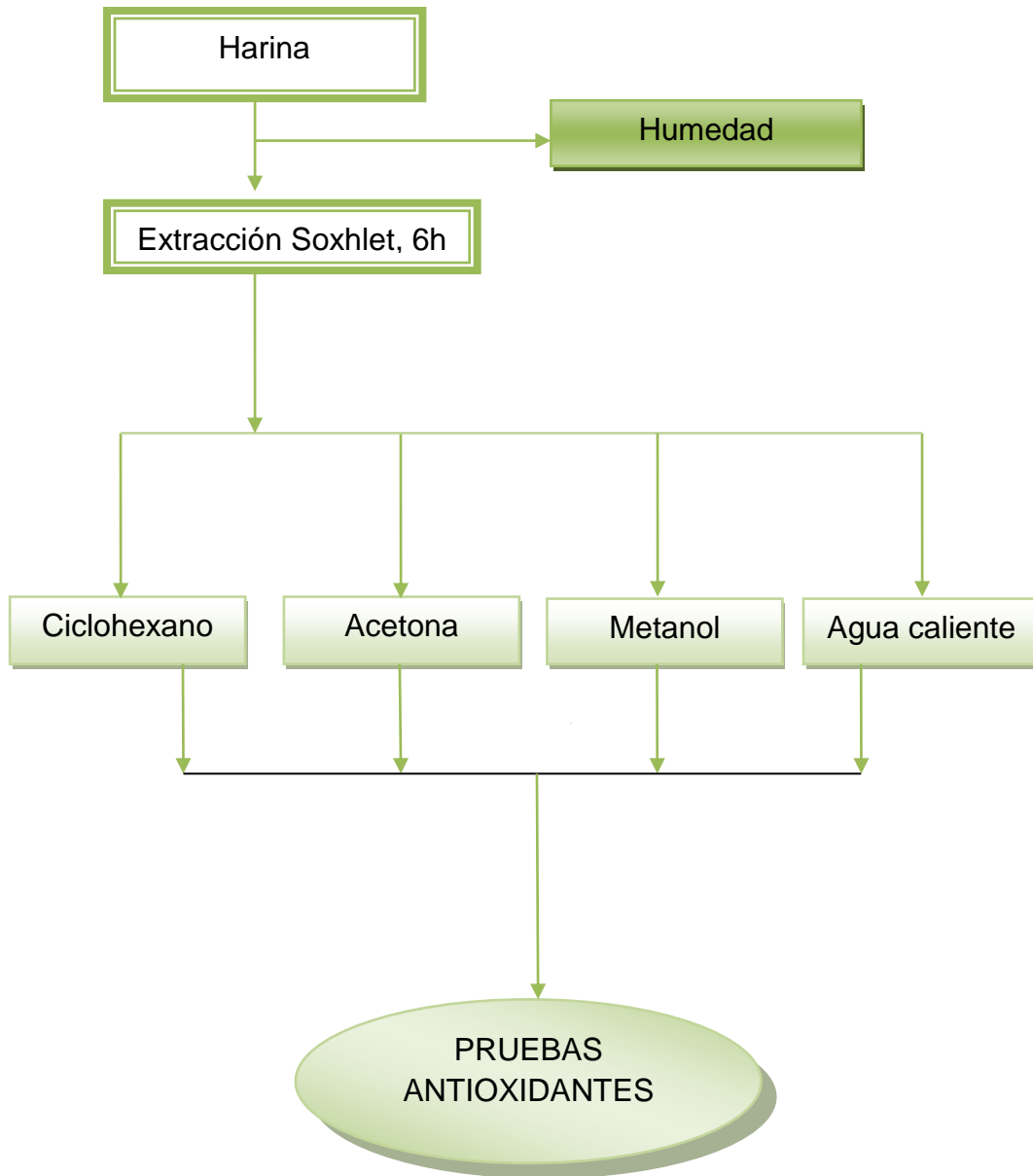


Figura 6. Diagrama de flujo para la obtención de extractos y actividad antioxidante.

6.4. Actividad Antioxidante.

6.4.1. Prueba antioxidante DPPH.

Se determinó mediante la metodología de Molyneux (2004), en donde el radical 2, 2 difenil-1-picril-hidracil (DPPH) que posee coloración morada, pierde la coloración cuando encuentra un H⁺ con el cual complementa su estructura. El cambio de coloración es lo que permite cuantificar el poder antioxidante de la sustancia colocada como muestra.

Se preparó el radical en solución metanólica a una concentración de 60 µM, se determina la longitud de onda de absorbancia del radical, mediante un barrido en el rango visible, se empleó un blanco de lectura con metanol y como absorbancia control la de solución DPPH-metanol. Se añadió a la cubeta de reacción 2900 µL de solución metanólica de DPPH y 100 mL de la muestra cuantificándose el cambio de absorbancia de manera cinética. Los extractos metanólicos se colocaron en microplacas (Fig. 7), posteriormente se les adicionó el reactivo 2, 2 difenil-1-picril-hidracil (DPPH) y se dejaron en un lugar oscuro durante un lapso de treinta minutos. En algunas muestras se necesitó hacer diluciones de la muestra, ya que la reacción de neutralización del radical fue lenta, se definió el tiempo en el cual el valor de la absorbancia permaneció constante.

Se calculó la capacidad secuestrante de radicales de los extractos metanólicos de acuerdo a la siguiente expresión:

$$\% \text{ reducción de DPPH} = (A_c - A_m)/A_c * 100$$

Donde:

A_c = es la absorbancia control (DPPH-metanol) y

A_m = es la absorbancia de la muestra.



Figura 7. Prueba antioxidante DPPH

6.4.2. Prueba antioxidante ABTS.

Su determinación se basó en la metodología propuesta por Re *et al.* (1999). En donde el radical 2, 2-azino bis-(3-etilbenzotiazolin-6-sufonato) (ABTS) posee coloración azul, cuando encuentra un H⁺ con el cual complementa su estructura pierde su coloración. El cambio de coloración es lo que permite cuantificar el poder antioxidante de la sustancia colocada como muestra, para la formación del radical ABTS, es necesaria la presencia de persulfato de potasio. Se preparó la solución de ABTS 7 mM y se mezcla con una solución de K₂S₂O₈ hasta que éste último obtenga una concentración de 2.45 mM, ambas soluciones en agua, se dejaron reposar en oscuridad por un lapso de tiempo de 12 horas a temperatura ambiente. Se utilizó etanol como blanco de lectura y ABTS-etanol como absorbancia control, se introdujeron los extractos en una celdilla (Fig. 8) con el reactivo ABTS calibrado, con un software Cary Win UV en un espectrofotómetro marca Varian, la longitud de onda para determinar absorbancia fue de 734 nm.

Para reportar los resultados se empleó el porcentaje de reducción del radical que calculado con la siguiente expresión:

$$\% \text{ reducción de ABTS} = (A_c - A_m) / A_c * 100$$

Donde:

A_c = es la absorbancia control (ABTS-etanol)

A_m = es la absorbancia de la muestra.



Figura 8. Prueba antioxidante ABTS.

6.4.3. Peroxidación de lípidos.

Este ensayo se llevó a cabo siguiendo el método descrito por Martínez *et al.* (2011). Utilizando una solución de ácido linoléico como fuente de lípidos. Se preparó diluyendo 0.56 g de ácido linoleico y 1.5 g de Tween 20 en 8 mL de etanol al 96 %. Cada extracto de la maderas de *Quercus candicans*, *Q. laurina* y *Q. rugosa* (50 μ L) se mezcló con 100 μ L de solución de ácido linoleico y 1.5 mL de buffer acetato al 0.02 M con pH 4.0. Los controles contenían 50 μ L de agua destilada. Todas las muestras se homogeneizaron en un vórtice (Labnet Internacional, Edison, NJ) y se sonicó en un baño de ultrasónico (Bransonic 2510R-MTH; Branson, Danbury, CT) durante 3 minutos. Las muestras obtenidas se incubaron a 37 °C, después de 1 minuto, se añadieron 750 mL de solución $FeCl_2$ (0.0994 g $FeCl_2$ y 0.168 g de EDTA diluidos en 1 L de agua destilada), para inducir la oxidación del ácido linoléico. Después de los tiempos de incubación (1 y 24 horas), 1 mL de NaOH 0.1 M en etanol al 10 % se añadieron a 250 mL en la mezcla para detener el proceso de oxidación; después de mezclar, se añadieron 2.5 mL de etanol al 10 % y se leyó la absorbancia a 232 nm frente a un blanco de etanol al 10 % (Figura 9).

El porcentaje de actividad antioxidante se calculó de acuerdo con la ecuación:

$$\% \text{ reducción de Peroxidación de lípidos} = (A_c - A_m)/A_c * 100$$

Donde:

A_c = es la absorbancia control (Peroxidación-metanol)

A_m = es la absorbancia de la muestra



Figura 9. Técnica Peroxidación de lípidos

7.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN

7.1. Obtención de extractos

Los valores promedio de la extracción secuencial con los diferentes solventes de polaridad ascendente, se muestran en la Tabla 3, en donde se aprecia las diferencias que existen entre las diferentes especies, así como en las zonas del árbol; este comportamiento podría estar relacionado con las condiciones climáticas, así como con la genética propia de las especies.

Tabla 3. Porcentaje de extractos con solventes de polaridad creciente en las muestras de duramen, albura y corteza

EXTRACTO	MUESTRA	<i>Q. candicans</i>	<i>Q. laurina</i>	<i>Q. rugosa</i>
Ciclohexano	Duramen	0.42 ± 0.04	0.56 ± 0.13	0.53 ± 0.01
	Albura	0.29 ± 0.12	0.53 ± 0.24	0.17 ± 0.02
	Corteza	0.26 ± 0.15	0.60 ± 0.02	2.02 ± 0.18
Acetona	Duramen	1.68 ± 0.07	4.08 ± 0.51	7.65 ± 1.61
	Albura	4.81 ± 1.49	3.17 ± 0.57	3.81 ± 0.25
	Corteza	3.87 ± 1.17	3.52 ± 0.30	4.93 ± 0.19
Metanol	Duramen	4.56 ± 1.28	5.22 ± 2.63	5.47 ± 0.31
	Albura	2.24 ± 0.04	4.49 ± 2.15	2.62 ± 0.07
	Corteza	6.16 ± 0.03	5.80 ± 1.38	6.90 ± 1.60
Agua caliente a reflujo	Duramen	2.84 ± 0.01	1.91 ± 0.00	4.37 ± 0.07
	Albura	1.38 ± 0.00	1.58 ± 0.01	2.33 ± 0.02
	Corteza	2.71 ± 0.00	2.62 ± 0.02	5.78 ± 0.13

La mayor solubilidad se presenta principalmente con metanol en la corteza de las tres especies en estudio, siendo mayor para *Q. rugosa* con 6.90%, y la menor para *Q. laurina* con 5.80%; siguiéndole las extracciones con acetona, en donde el duramen de *Q. rugosa* reportó un porcentaje más alto con 7.65% y el más bajo *Q. candicans* con 1.68%, en cuanto al agua caliente a reflujo los mayores porcentajes los arrojó la corteza de *Q. rugosa*, y la menor la corteza de *Q. laurina* con 5.78% y 2.62%, respectivamente: El solvente que más bajos porcentajes tuvo fue el ciclohexano; teniendo su valor más alto la corteza de *Q. rugosa* (2.02%) y el más bajo *Q. candicans* (0.26%). De acuerdo con Herrera (2013) y Cárdenas (2014), los valores reportados coinciden con los mencionados para las mismas especies en

estudio. Fengel y Wegener (1983) reportan que los valores de las cortezas suelen ser mucho mayor a los valores de la madera, ya que existe más cantidad de extractos en la corteza, y no sólo depende de los solventes utilizados, sino también de la misma especie; como lo deja de manifiesto los resultados encontrados en las especies de estudio, además de la influencia de factores ambientales y genéticos, la edad del árbol, las condiciones climáticas, los nutrientes disponibles y la época de corte (Hillis 1971).

7.2. Actividad Antioxidante.

Para determinar la actividad antioxidante de los extractos obtenidos de los extractos de las diferentes especies se evaluaron por los métodos DPPH y ABTS, evaluándose también la oxidación de lípidos, obteniendo los siguientes resultados.

7.2.1. Prueba antioxidante DPPH (2,2- difenil-1-picril-hidracil)

En la Tabla 4 se pueden observar los resultados de la capacidad de los extractos de las diferentes especies y en sus distintas zonas a la captura del radical DPPH, encontrándose que sólo los extractos metanólicos presentaron este tipo de actividad, y por ello solamente estos resultados se dan a continuación.

Tabla 4.- Porcentaje de actividad antioxidante en técnica DPPH para los extractos de las diferentes especies de *Quercus*, en sus diferentes zonas.

Porcentaje de actividad antioxidante DPPH		
Zona	Muestra	Extracto Metanólico
Corteza	<i>Q. candicans</i>	25.31 ± 0.40
	<i>Q. rugosa</i>	64.26 ± 0.47
	<i>Q. laurina</i>	26.51 ± 0.78
Duramen	<i>Q. candicans</i>	62.65 ± 1.13
	<i>Q. rugosa</i>	61.85 ± 1.17
	<i>Q. laurina</i>	69.88 ± 0.88
Albura	<i>Q. candicans</i>	39.36 ± 0.55
	<i>Q. rugosa</i>	63.05 ± 0.42
	<i>Q. laurina</i>	28.11 ± 0.59

Los valores más altos de actividad antioxidante se encontraron en el duramen, de las tres especies de *Quercus* estudiadas, donde *Q. laurina* presenta el valor más alto con 69.88%, y *Q. rugosa* con 61.85% siendo el más bajo. Se observa que la especie de *Q. rugosa* tiene porcentajes muy equilibrados en sus tres zonas, por lo que se puede expresar que las especies de estudio cuentan con una actividad antioxidante significativa. Jung-il *et al.* (2008) encontró que los compuestos que fueron aislados de *Quercus salicina* presentaron actividad en los radicales libres con actividad significativa, como lo demostró el ensayo de DPPH. Asimismo, en su estudio reveló los componentes eficaces contenidos en el tallo de *Quercus salicina*, así como los compuestos obtenidos que pueden contribuir para el desarrollo de fármacos antioxidantes.

7.2.2. Prueba antioxidante ABTS, radical 2,2-azino bis- (3-etilbenzotiazolin-6-sulfonato).

Los porcentajes promedio de la actividad antioxidante ABTS de las especies maderables en estudio se presentan en la Tabla 5, cuya mayor actividad antioxidante fue en los extractos metanólicos y son los datos que se reportan en el presente trabajo.

Tabla 5.- Porcentaje de actividad antioxidante en técnica de ABTS para los extractos de las especies de encino estudiadas.

Porcentaje de actividad antioxidante ABTS		
Zona	Muestra	Extracto Metanólico
Corteza	<i>Q. candicans</i>	61.57 ± 0.94
	<i>Q. rugosa</i>	76.95 ± 0.56
	<i>Q. laurina</i>	61.18 ± 1.46
Duramen	<i>Q. candicans</i>	73.04 ± 1.51
	<i>Q. rugosa</i>	83.02 ± 1.26
	<i>Q. laurina</i>	75.89 ± 1.60
Albura	<i>Q. candicans</i>	52.34 ± 1.57
	<i>Q. rugosa</i>	78.22 ± 0.39
	<i>Q. laurina</i>	64.37 ± 0.82

Como se puede observar, los valores obtenidos de las tres especies de *Quercus* estudiadas y de sus tres zonas son muy altos en comparación con los obtenidos en el ensayo DPPH antes mencionado. Teniendo el valor más alto en la captura del radical ABTS el duramen de las tres especies, con el valor más elevado en *Q. rugosa* (83.02%) y el más bajo para *Q. candicans* (73.04%), observando que al igual que en la técnica DPPH, presenta los valores más altos en las tres zonas del árbol. Wang *et al.* (1998) encontraron que algunos compuestos que tienen ABTS con mayor actividad captadora no mostraron actividad de captación de DPPH.

7.2.3. Inhibición de oxidación de lípidos.

Se presenta en la Tabla 6 el porcentaje de la actividad antioxidante en la prueba de Peroxidación de lípidos, de las especies de *Quercus* estudiadas con los extractos obtenidos de las secuencias de extracciones con solventes de polaridad ascendente, (ciclohexano, acetona, metanol y agua caliente a reflujo), en cada una de las zonas de los árboles analizados.

Tabla 6.- Porcentaje de actividad antioxidante en la prueba de Peroxidación de lípidos para los extractos de las especies de encinos estudiadas.

Peroxidación de Lípidos (%)			
Corteza			
Extracto	<i>Q. candicans</i>	<i>Q. rugosa</i>	<i>Q. laurina</i>
Ciclohexano	72.85 ± 8.70	88.65 ± 13.52	63.15 ± 15.77
Acetona	58.23 ± 15.16	32.73 ± 29.98	53.62 ± 3.72
Metanol	48.01 ± 8.03	68.91 ± 4.05	89.92 ± 4.72
Acuosos	82.01 ± 24.58	87.17 ± 9.95	67.05 ± 23.34
Duramen			
Ciclohexano	70.35 ± 30.93	92.12 ± 25.29	94.12 ± 22.58
Acetona	61.65 ± 1.65	38.72 ± 9.93	63.81 ± 11.17
Metanol	50.69 ± 15.52	74.76 ± 15.89	72.33 ± 3.38
Acuosos	68.30 ± 8.28	68.30 ± 28.80	87.67 ± 17.71
Albura			
Ciclohexano	93.28 ± 3.51	94.09 ± 4.13	74.99 ± 33.90
Acetona	68.37 ± 11.01	40.13 ± 18.63	52.53 ± 27.20
Metanol	68.36 ± 5.75	94.09 ± 1.50	42.54 ± 10.52
Acuosos	53.96 ± 2.38	73.05 ± 32.22	60.39 ± 26.76

En forma general los porcentajes más bajos en la inhibición de oxidación de lípidos en las tres especies y zonas estudiadas fue para los extractos obtenidos con acetona, siendo los más bajos para *Q. rugosa* en corteza de 32.73%, para duramen de 38.72% y para albura de 40.13%, mientras que los extractos acetónicos que presentaron valores más altos fue para *Q. candicans*, el cual tiene un porcentaje en corteza de 58.23%, en duramen de 61.65% y en albura de 68.37%. Los valores más altos se encontraron en los extractos ciclohexánicos en las zonas de las tres especies analizadas, siendo los valores más altos para *Q. rugosa* el cual en corteza presenta una inhibición de lípidos de 88.65%, en duramen de 92.12% y en albura de 94.09%. La especie con los porcentajes más bajos con este mismo extracto fue para *Q. laurina* quien tiene los siguientes porcentajes de 63.15% para corteza, 94.12% para duramen y de 74.99% para albura. Podemos observar que por medio de este ensayo de Inhibición de Oxidación de lípidos, todos los extractos ciclohexánicos, acetónicos, metanólicos y acuosos presentaron actividad antioxidante. De acuerdo con Huang *et al.* (2005) y con Martínez *et al.* (2011), quienes deducen que el uso de ácido linoleico como una fuente de lípidos en el ensayo simula el LOI (perdida de ignición) lípidos presentes en un sistema alimentario, los valores obtenidos en esta investigación son potencialmente fuente de antioxidantes. Cuando un antioxidante está presente, la acumulación de peróxido de lípidos tiene que ser menos hasta que los compuestos antioxidantes presentes en las muestras puedan utilizarse (Huang *et al.* 2005). Podemos suponer que los compuestos fenólicos, tales como contenido de ácido gálico, en la muestras analizadas son capaces de resistir el ácido linoleico así como a la peroxidación bajo las condiciones de prueba (Cardona y Mejía 2009).

8.- CONCLUSIONES

En la obtención de extractos, la mayor solubilidad se presentó en la corteza de las tres especies de encino con metanol, mientras que la solubilidad más baja se presentó con el ciclohexano.

Para las pruebas de actividad antioxidante, con la técnica DPPH, los valores más altos se detectaron en el duramen de las tres especies de encino, con los extractos metánolicos, siendo mayor en *Q. laurina* y más bajo en *Q. rugosa*, pero en general la especie de *Q. rugosa* presenta porcentajes equilibrados en sus tres zonas por lo que se considera una buena actividad antioxidante.

Para la técnica ABTS, los valores mayores se detectaron en los extractos metánolicos de las tres zonas, de las tres especies de encino, principalmente en el duramen, asimismo se pudo observar que en comparación con la técnica DPPH los resultados son mayores.

En la pruebas de DPPH y ABTS, se descubrió que los extractos ciclohexánicos y acetónicos no son viables ya que provocan la corrosión en las micro-celdillas y en la celdilla.

Los resultados de la técnica de inhibición de lípidos presentaron los valores más altos para los extractos con ciclohexano en las tres especies y en las tres zonas estudiadas, se observa que en este ensayo todos los extractos (ciclohexano, acetona, metanol y agua caliente) presentaron actividad antioxidante.

Se observó que los extractos de madera tienen buena actividad antioxidante y pudieran ser una fuente de sustancias antioxidantes.

9.- PERSPECTIVA DE INVESTIGACIÓN

Entre las perspectivas futuras sobre la **Capacidad antioxidante de los extractos de madera y corteza de tres especies de encinos (*Quercus candicans*, *Q. laurina* y *Q. rugosa*)**, se considera llevar a cabo una investigación sobre las propiedades antioxidantes de los extractos ciclohexánicos, acetonicos, metanólicos y acuosos. Se ha reportado en diversos estudios los problemas de la salud asociados con la acumulación de radicales libres en el organismo que causan enfermedades tales como: el deterioro y muerte celular, envejecimiento, enfermedades cardiovasculares, cataratas y algunos tipos de cáncer entre otras. Existen una gran cantidad de antioxidantes naturales que han sido extraídos de diferentes tipos de plantas, frutos, flores, hojas, raíces, maderas y cortezas. Las especies maderables que hemos estudiado, así como la obtención de cada uno de sus extraíbles con muy buena actividad antioxidante, pudieran ser una fuente importante de sustancias antioxidantes dentro de la amplia variedad de áreas multidisciplinarias que engloban tanto alimentos como salud.

10.- BIBLIOGRAFÍA

- Aguirre J, Zugasti C, Belmares C, Aguilar C, Garza T (2012). Actividad antioxidante de algunas plantas tropicales, subtropicales y semidesérticas. *Revista Científica de la Universidad Autónoma de Coahuila*. 4(7): 1-6.
- Al-Dakan AA, Al-Tuffail M, Hannan MA (1995). Antioxidantes naturales. Aspectos saludables, toxicológicos y aplicaciones industriales. Bloque II. Aspectos toxicológicos. Micotoxinas, estrés oxidativo y antioxidantes. *Pharmacol Toxicol*, 77, 288-292.
- Bello GMA (1987). Los encinos (*Quercus*) del Estado de Michoacán México. *Collection Etudes Mesoamericaines Serie II-9*: 9-97.
- Benavides MA, Ramírez H, Robledo TV, Fuentes LLO (2009). Antioxidantes en las plantas: algunos factores edáficos y ambientales que los modifican. En: Benavides M. A. (Compilador). *Temas Modernos de Nutrición Vegetal*, A.C., pp. 13-26. Sociedad Mexicana de la Ciencia del Suelo, A.C. Texcoco, México. ISBN 978-607-95106-2-6.
- Butera D, Tesoriere L, Di GF, Bongiorno A, Allegra M, Pintaudi AM, Kohen R, Livera MA (2002). Antioxidant Activities of Sicilian Prickly pear (*Opuntia ficus-indica*) Fruit Extracts and Reducing Properties of its Betalainas: Betanina e Indicaxantina. *J. Agric. Food Chem*. 50: 6895-6901.
- Cai W, Gu X, Tang J (2010). Extraction, purification and characterization of the flavonoids from *Opuntia milpa alta* Skin. *Czech J. FoodSci*. 28: 108-116.
- Cárdenas GMA (2014), Composición química de las ramas de seis especies de latifoliadas de la Comunidad Indígena de Nuevo San Juan Parangaricutiro, Michoacán. Tesis de Licenciatura, Facultad de Ingeniería en Tecnología de la Madera, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Morelia, Michoacán. P.p. 34.
- Cardona LE, Mejía LF (2009). Evaluación del efecto antioxidante de aceites esenciales y extractos de *Eugenia caryophyllata*, *Origanum vulgare* y *Thymus vulgaris*. *Biosalud*. 8: 58 – 70.
- Chemah TC, Aminah A, Noriham A, Wan Aida WM (2010). Determination of pitaya seeds as a natural antioxidant and source of essential fatty acids. *International Food Research Journal*. 17: 1003-1010.

- Fengel D, Wegener G. (1983). Wood: chemistry, ultrastructure, reactions. Walter de Gruyter. Berlin.
- Franco R, Moure V. (2010). Antioxidantes naturales. Aspectos saludables toxicológicos y aplicaciones industriales, Junta de Galicia. Santiago de Compostela. ISBN 978-84-453-4963-2.
- González MC, Soto M, Kite G, Martínez M (2007). Actividad antioxidante de flavonoides del tallo de orégano mexicano (*Lippia graveolens* HBK VAS. Berlandieri Schauer). Fototec. Mex. 30: 43-9.
- Halliwell B (2006). Antioxidantes naturales. Aspectos saludables, toxicológicos y aplicaciones industriales. Bloque I. Aspectos saludables. ¿Pueden los antioxidantes naturales alargar la vida? 141, (2), 312-322.
- Hardisson A, González DM, Revert C (2006). En: Camean, A. M., Repetto, M. ed. Toxicología alimentaria. Dias de Santos. Madrid, 593-608
- Hashim S, Aboobaker VS, Madhubala R (1994). Antioxidantes naturales. Aspectos saludables, toxicológicos y aplicaciones industriales. Bloque II. Aspectos toxicológicos. Micotoxinas, estrés oxidativo y antioxidantes. *Nutr. Cancer*, 21, 169-175.
- Heber D, Bowerman S (2001). Applying science to changing dietary patterns. *J Nutr.* 131:3078S-3081S.
- Hillis WE (1971). Distribution Properties and Formation of Some Wood Stability Wood Sc. Technol. 5: 272-289
- Herrera AC (2013). Determinación de la densidad en madera, poder calorífico y composición química en corteza y madera de seis especies de latifoliadas. Tesis Maestría. Facultad de Ingeniería en Tecnología de la Madera. UMSNH. México 147p.
- Huang D, Ou B, Prior R (2005). The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Agricultural and Food Chemistry.* 53: 1841-1856
- Ip SP, Mak DH, Li PC (1996). Antioxidantes naturales. Aspectos saludables, toxicológicos y aplicaciones industriales. Bloque II. Aspectos toxicológicos. Micotoxinas, estrés oxidativo y antioxidantes. *Toxicol*, 78, 413-416.
- Jung IK, Ho HK, Sungun K, Kyoung TL, In HH, Wan KW (2008) Antioxidative Compounds from *Quercus salicina* Blume Stem. *Arch Pharm Res.* 31(3): 274-278.

- Khalaf NA, Shakya AK, Al OA, El AZ, Farah H (2008). Antioxidant Activity Of Some Common Plants. *Turk J. Biol.* 32: 51-55.
- Lesur L. (2011). Árboles de México. Ed. Trillas. Primera edición. México. 368.
- Linnane AW, Kios M, Vitetta L (2007). Antioxidantes naturales. Aspectos saludables, toxicológicos y aplicaciones industriales. Bloque I. Aspectos saludables. ¿Pueden los antioxidantes naturales alargar la vida? *Biogerontology*, 8, (5), 445-467.
- Maldonado S, Nahúm JV, Guapillo V, Ceballos R, Méndez B (2010). Radicales libres y su papel en las enfermedades crónico-degenerativas, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Veracruzana.
- Martínez GC, Aguilera AF, Rodríguez R & Aguilar CN (2011). Fungal enhancement of the antioxidant properties of grape waste. *Ann Microbiol.* Springer-Verlag and the University of Milan.
- Mittler R (2002). Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends Plant Sci.* 7:405-410.
- Molyneux P (2004). The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin J. Sci. Technol.* 26(2): 211-219.
- Mullineaux P, Karpinski S (2002). Signal transduction in response to excess light: getting out of the chloroplast. *Curr. Opin. Plant Biol.* 5:43-48.
- Nuengchamnong N, Hermans LA, Ingkaninan K (2004). Separation and detection of the antioxidant flavonoids, rutin and quercetin, using HPLC coupled on-line with colorimetric detection of antioxidant activity. *NaresuanUniversityJournal.* 12(2): 25-37.
- Ortiz HF, Sánchez WF, Méndez J, Murillo E (2009). Potencial antioxidante de hojas y corteza de *Bauhinia kalbreyeri* Harms, reportando a sus flavonoides como responsables de esta actividad. *Act. Acad. Colomb. Cienc.* 33(127): 183-191.
- Premalatha B, Sachdanandam P (1999). Antioxidantes naturales. Aspectos saludables, toxicológicos y aplicaciones industriales. Bloque II. Aspectos toxicológicos. Micotoxinas, estrés oxidativo y antioxidantes. *J. Ethnopharmacol.* 66, 131-139.

- Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C (1999) Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology & Medicine* 26 (9/10): 1231–1237.
- Rocha GNE, Gallegos IJA, González LRF, Reynoso CR, Ramos GM, García GT, Rodríguez MME, Guzmán MSH, Medina TL, Lujan GBA (2009). Antioxidant activity and genotoxic effect on HeLa cells of phenolic compounds from infusions of *Quercus resinosa* leaves. *Food Chemistry*.115: 1320–1325.
- Rosales CM, González LRF, Rocha GNE, Gallegos IJA, Peralta CJ, Karchesy JJ (2009). Evaluación química y capacidad antioxidante de extractos polifenólicos de cortezas de *Pinus cooperi*, *P. engelmannii*, *P. leiophylla* y *P. teocote*. *Madera y Bosques*.15 (3): 87-105.
- Soto DA, García GR, Ramírez CY, Morán MJ, Serrano GLB (2012). El extracto acuoso de orégano (*Lippia graveolens* HBK) del norte de México tiene actividad antioxidante sin mostrar un efecto tóxico in vitro e in vivo. *Int. J. Morphol.* 30(3): 937-944
- Sumaya MMT, Cruz JS, Madrigal SE, García PJD, Cariño CR, Cruz CN, Valadez VC, Martínez CL, Alanís GE (2011). Betalain, Acid Ascorbic, Phenolic Contents and Antioxidant Properties of Purple, Red, Yellow and White Cactus Pears. *Int. J. Sci.* 12: 6452-6469.
- TAPPI (2000) Test Methods TAPPI Press. Atlanta.
- Venereo GJR (2002). Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes. *Rev Cubana Med Milit.* 31(2):126-33.
- Wang H, Li J, Rangarajan M, Shao Y, Huang T, Ho C (1998). Compuestos Fenólicos antioxidantes de sage (*Salvia officinalis*). *Diario de Agricultura y Química de Alimentos*, 46: 4869-4873.
- Willcox D, Willcox B, Todoriki H (2006). *Biogerontology*, 7, (3), 173-177.
- Yang QH, Zhan YM, Jian Z, Bao ZD, Bing HY (2011). Antioxidant activity of chemical constituents from the leaves of *Quercus macrocarpa*. *Chemistry of natural Compounds*, Vol. 47, No. 3. China.
- Zavala NJ, Loarca PG, García GT (2006). Evolución del contenido fenólico, capacidad antioxidante y actividad citotóxica sobre células CaCo-2 del extracto acuoso de orégano (*Lippia graveolens* Kunth). 2º Congreso Nacional de Química Médica. Querétaro, México, 4 al 8 de septiembre.

Hemerografía de Internet:

- Localización de la comunidad de San Juan Nuevo Parangaricutiro.
www.comunidadindigena.com.mx (visitada el día 19 de marzo del 2013).