

**PROYECTO ESPECÍFICO**

Estrategias para la diferenciación de alimentos y el desarrollo de nuevos productos alimentarios

**PROYECTO INTEGRADOR** Optimización de calidad integral y otras estrategias de agregado de valor.

**ESTUDIO DE LA ACTIVIDAD BIOLÓGICA Y TOXICIDAD DE EXTRACTOS NATURALES OBTENIDOS A PARTIR DE ESPECIES VEGETALES SILVESTRES**

 O.B. Micheloni<sup>1</sup>, E. González<sup>1</sup>, B. Leclercq<sup>1</sup>, G. Rollandeli<sup>1</sup>, L. Oackley<sup>1</sup>, A.E. Farroni<sup>2</sup>
<sup>1</sup>Departamento de Ciencias Básicas. Universidad Nacional del Noroeste de la Provincia de Buenos Aires, Pergamino, Buenos Aires, Argentina.

<sup>2</sup>Laboratorio de Calidad de Alimentos, Suelos y Aguas, Estación Experimental Agropecuaria Pergamino (EEA Pergamino), Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Avenida Frondizi (ruta 32) km 4,5, 2700, Pergamino, Buenos Aires, Argentina.

 Correo electrónico: [farroni.abel@inta.gob.ar](mailto:farroni.abel@inta.gob.ar)
**RESUMEN**

El objetivo de este trabajo fue caracterizar extractos acuosos de especies vegetales silvestres en base a su capacidad antioxidante, inhibición del pardeamiento enzimático y citotoxicidad para evaluar su utilización como aditivos en matrices alimentarias. Además se comparó el calentamiento convencional con el asistido por microondas para realizar los extractos. Se eligieron 16 especies vegetales que tienen o tuvieron alguna utilización como alimento. El material recolectado se clasificó botánicamente, se secó y se molió. Se realizaron extractos acuosos que luego se filtraron y se midieron polifenoles totales por Folin-Ciocalteu, capacidad captadora de radicales libres por DPPH, capacidad de inhibición de la polifenoloxidasas de manzana y toxicidad utilizando el test de *Artemia Salina*. El proceso de extracción asistido por microondas fue más eficiente en la extracción de polifenoles y sencillo de aplicar usando equipo estándar y de bajo costo. El estudio preliminar de toxicidad mostró valores muy bajos para la mayoría de las especies. *Solidago chilensis*, *Lantana camara* y *Eryngium horridum* mostraron alto contenido de polifenoles y alta actividad captadora de radicales libres. *Urtica urens* mostró efecto inhibitorio sobre la PPO de manzana junto a una LC50 muy alta. Las especies estudiadas resultaron prometedoras para la búsqueda de compuestos antioxidantes como aditivos alimentarios, el uso de especies comestibles es un buen punto de partida para la selección. Se requieren estudios más profundos sobre la composición de estos extractos para identificar los metabolitos responsables de las características observadas.

**Palabras clave:** Extractos, pardeamiento, polifenoloxidasas, citotoxicidad, antioxidantes

**ABSTRACT**

The objective of this work was to characterize aqueous extracts obtained from wild vegetable species evaluating polyphenol content, antioxidant capacity, inhibition of polyphenol oxidase and cytotoxicity. Normal heating versus microwave assisted heating was also compared. The intended use of the extracts is as food additives. Sixteen wild species were selected taking into account its former use as food by some populations. All plants were dried, classified systematically and milled. Aqueous extracts were filtered; total polyphenols were measured using Folin-Ciocalteu method, free radical scavenging capacity was measured using DPPH, inhibition of apple polyphenol oxidase was measured and cytotoxicity was assessed by brine shrimp assay. Microwave assisted extractions was more efficient in polyphenol recovery besides it is simple and uses a standard home device. Most of the species studied showed low cytotoxic levels. *Solidago chilensis*, *Lantana camara* y *Eryngium horridum* showed high polyphenol content and free radical scavenging activity. *Urtica urens* inhibited apple PPO and had very low toxicity. The species used in this work are interesting as source of antioxidant compounds to use in food additives, the fact they were used as food was a good starting point due to its low toxicity. Future work is required to get deeper insights in the compounds responsible of the biological activity observed.

**Keywords:** extracts, browning, polyphenoloxidase, cytotoxicity, antioxidants

**INTRODUCCIÓN**

Actualmente, muchas especies vegetales silvestres son utilizadas como alimentos (ensaladas, aderezos, sopas, cocciones, salsas y pickles) debido a su valor cultural y nutricional (1,2). Estas características las hacen interesantes como material de partida para la búsqueda de aditivos alimentarios. Estos tienen un nicho de aplicación importante en los alimentos mínimamente procesados debido a que los consumidores prefieren los aditivos naturales (3). En comparación con las especies cultivadas, las silvestres poseen la capacidad de generar mayor cantidad de metabolitos secundarios, lo cual las hace muy interesantes como fuente de nuevos compuestos (4). Los compuestos fenólicos naturales (fenoles, ácidos fenólicos, flavonoides, taninos y lignanos) tienen una amplia gama de propiedades fisiológicas y representan los metabolitos secundarios con mayor capacidad antioxidante en alimentos. Estos actúan a través de diferentes maneras, pueden depurar radicales libres y también son capaces de inhibir la peroxidación lipídica (5,6).

## PROYECTO ESPECÍFICO

Estrategias para la diferenciación de alimentos y el desarrollo de nuevos productos alimentarios

### PROYECTO INTEGRADOR Optimización de calidad integral y otras estrategias de agregado de valor.

Además, podrían actuar como quelantes de iones metálicos que inducen la oxidación (7). Estos iones se encuentran presentes en el sitio activo de la polifenoloxidasas de ocurrencia natural, la cual interviene en las reacciones de oxidación como el pardeamiento enzimático (8).

Las especies vegetales seleccionadas en este trabajo han sido utilizadas desde antaño en medicina popular o como alimentos por diferentes culturas. Esta apreciación podría utilizarse para definir un criterio de atoxicidad. Sin embargo, dada la complejidad química de los extractos se hace necesario ampliar el estudio de sus posibles efectos tóxicos. En este contexto el ensayo de toxicidad en *Artemia salina* ha sido ampliamente utilizado por diferentes grupos de investigación para detectar actividad citotóxica de extractos naturales con potencial interés como aditivo alimentario (9).

El objetivo de este trabajo fue caracterizar extractos acuosos de especies vegetales silvestres en base a su capacidad antioxidante, inhibición del pardeamiento enzimático y citotoxicidad para evaluar su utilización como aditivos en matrices alimentarias y comparar dos métodos de extracción, calentamiento tradicional a ebullición y asistido por microondas.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Reactivos

Los reactivos 2,2-difenil-1-picrilhidrazil, catecol y butilhidroxitolueno (BHT) fueron adquiridos en Sigma- Bs. As. -Argentina, el ácido ascórbico, etanol y el carbonato de sodio fueron adquiridos en Cicarrelli-Rosario-Argentina, el reactivo de Folin-Ciocalteu y el ácido gálico fueron adquiridos en Biopack- Bs. As. - Argentina. La sal de mar (red Sea), los huevos de *Artemia salina* y levadura fueron adquiridas en Pergamino, Pcia. de Bs. As. Todas las drogas utilizadas fueron de calidad analítica.

### Material vegetal

Se recolectaron 16 especies vegetales en Pergamino, provincia de Buenos Aires, Argentina. Para cada especie vegetal se recolectaron dos ejemplares. Además se confeccionó un voucher specimen, el cual fue depositado en el herbario de la Facultad de Ciencias Agrarias perteneciente a la Universidad Nacional de Rosario, ubicado en la localidad de Zavalla provincia de Santa Fe. Las especies recolectadas fueron: *Solanum sisymbriifolium* Lam. Var. *Sisymbriifolium* (SS), *Sida rhombifolia* L. (SR), *Oxalis articulata* (OA), *Lantana camara* L. (LC), *Commelina erecta* L. var. *erecta* (CE), *Matricaria recutita* L. (MR), *Xanthium spinosum* L. (XS), *Dipsacus fullonum* L. (DF), *Carduus acanthoides* L. (CA), *Setaria parviflora* (Poir.) Kerguelen var. *parviflora* (SP), *Solidago chilensis* (SC), *Nicotiana longiflora* (NL), *Urtica urens* (UU), *Lolium multiflorum* (LM), *Eryngium horridum* (EH) y *Sphaeralcea bonariensis* (Cav.) Griseb (SB).

### Preparación de extractos

El total del material vegetal recolectado (planta entera) se secó en estufa a 60 °C con circulación forzada y luego se molió en un molino tipo Wiley con malla de 2 mm y se mezcló de manera homogénea. Se utilizaron 1,5 g de material vegetal seco y pulverizado y 30 mL de H<sub>2</sub>O destilada. Los extractos se obtuvieron por calentamiento directo (EE) (10 minutos a 100 °C) y utilizando microondas (EM) (10 minutos 90W). Los extractos fueron filtrados y liofilizados. Para cada extracto se realizó una extracción con metanol, las soluciones resultantes fueron filtradas y concentradas a presión reducida. El rendimiento de los extractos se calculó como porcentaje en peso del extracto seco obtenido respecto de la masa del material vegetal de partida.

### Determinación de polifenoles totales

El contenido de fenoles totales se determinó utilizando la técnica de Folin-Ciocalteu y ácido gálico como estándar. A 2,4 mL de solución acuosa de extracto (0,83 mg/mL) se agregó 0,20 mL de reactivo de Folin. Luego de 5 minutos se agregó 2,4 mL de carbonato de sodio al 10%. La mezcla se mantuvo en la oscuridad durante 30 minutos y se registró la absorbancia a 760 nm usando un espectrofotómetro Lambda 25 (Perkin Elmer, Norwalk, CT, USA) (10). Para cada muestra se realizó un blanco sin el agregado de reactivo de Folin. El contenido de fenoles totales fue calculado realizando una curva de calibración con ácido gálico como estándar. Los resultados se expresaron como ppm de ácido gálico por g de extracto.

### Determinación de actividad captadora de radicales libres

La capacidad captadora de radicales libres fue determinada de acuerdo al método reportado por Ghasemzadeh y col. (11) con algunas modificaciones. Brevemente, se utilizó una solución formada por 985 µL de solución de DPPH (3%) en etanol y 15 µL de extracto a una concentración de 70 µg/mL para todas las especies. Se incubó durante 30 minutos a 37 °C. Posteriormente se registró la absorbancia a 518 nm. La actividad antirradicalaria (AA%) fue determinada de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$AA\% = 100 - ((\text{Abs. Muestra} - \text{Abs. Blanco}) / \text{Abs Control} * 100)$$

Donde Abs. Muestra contenía 985 µL de DPPH 3% y 15 µL de extracto, Abs. Blanco contenía 15 µL de extracto y 985 µL de etanol y Abs Control contenía 15 µL de etanol y 985 µL de DPPH (3%). Todas las determinaciones fueron realizadas por duplicado y los resultados promediados.

### Inhibición de polifenoloxidasas

La enzima PPO se extrajo a partir de manzanas de variedad *red delicious*. Partes iguales en peso de manzana y buffer fosfato 50 mM (pH 6,8) se homogeneizaron con una procesadora de alimentos durante 3 minutos en presencia de poli-PVP. El homogenizado se filtró

## PROYECTO ESPECÍFICO

Estrategias para la diferenciación de alimentos y el desarrollo de nuevos productos alimentarios

### PROYECTO INTEGRADOR Optimización de calidad integral y otras estrategias de agregado de valor.

repetitivamente utilizando un paño de tela hasta obtener un líquido límpido. El líquido obtenido se centrifugó 20 minutos a 4 °C a una velocidad de 12000 x g. El sobrenadante se utilizó para el ensayo.

Para cuantificar el efecto inhibitorio de los extractos analizados se utilizó el índice de actividad enzimática relativa residual (REA) el cual representa la actividad residual de la enzima, luego de adicionar los distintos inhibidores, con respecto a la enzima sin inhibir (12). La mezcla de reacción conteniendo 100 uL de sobrenadante y 1900 uL de buffer, se incubó en presencia del posible inhibidor a 25 °C durante 5 minutos. Luego se disparó la reacción agregando 1 mL de catecol 0,2 M y se registró la absorbancia a 420 nm de forma continua durante 2 minutos a la misma temperatura. Se restó el color del extracto utilizando una mezcla de reacción en las mismas concentraciones pero sin el agregado de PPO.

#### Ensayo de letalidad de *Artemia salina*.

Para obtener las larvas de *Artemia salina* se agregaron 100 mg de huevos por cada litro de solución de sal de marina (3,8%) en agua bidestilada previamente oxigenada, los huevos se incubaron 48 h bajo luz artificial.

En tubos de ensayo se adicionaron 10 larvas y se completó a 5 mL con solución salina y a cada tubo de agregaron 40 uL de cada extracto redisueltos en agua de tal manera que la concentración final fue 600, 300, 150, 75, 33,5 y 12,25 ug/mL. Posteriormente se agregó a cada tubo una gota de levadura a 0,6 mg/mL. Como blanco se utilizó una solución de sal de marina sin el agregado de extracto y como control positivo una solución de dicromato. Todos los ensayos se realizaron por quintuplicado. Los resultados obtenidos se procesaron en un ordenador transformando los porcentajes de mortalidad en PROBIT, los cuales se utilizaron para efectuar una regresión lineal que permitió calcular la LC50 de los extractos que se define como la concentración que mató el 50% de las larvas (13).

## ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

Se realizó la prueba de t de Student para muestras apareadas para determinar las diferencias entre los métodos de extracción. Se utilizó el software InfoStat versión 2012. Grupo InfoStat. FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Rendimiento de extracción

Se analizaron los rendimientos de extracción de los EE y EM. En términos generales las EE mostraron porcentajes de extracción mayores que los EM. Los EE de las especies *Carduus acanthoides*, *Dipsacus fullonum*, *Matricaria recutita*, *Xanthium spinosum*, *Lantana camara* y *Solidago chilensis* mostraron los mayores rendimientos con valores de 12,04%, 10,22%, 10,12%, 13,82%, 14,07% y 17,07 respectivamente. mientras que los EM de las especies *Matricaria recutita*, *Xanthium spinosum*, *Dipsacus fullonum* y *Solidago chilensis* mostraron valores de 10,58%, 10,59%, 9,13% y 14,87 respectivamente. Las especies *Matricaria recutita* y *Solidago chilensis* mostraron importantes rendimientos en ambos procesos extractivos. Los extractos de *Sida rhombifolia* y *Sphaeralcea bonariensis* tanto a ebullición como en microondas gelificaron luego del proceso de calentamiento, ambas especies pertenecen a la familia MALVACEAE. Por lo tanto, estas especies fueron desestimadas en las posteriores determinaciones.

### Contenido de polifenoles y actividad antirradicalaria

En la Tabla 1 se muestra el contenido de polifenoles totales expresados como equivalentes de ácido gálico y la actividad antirradicalaria medida por captación de DPPH de los extractos acuosos realizados utilizando los dos tipos de calentamiento. El proceso utilizando microondas presentó un promedio mayor de polifenoles para las especies estudiadas ( $p < 0.05$ ). Los compuestos fenólicos son considerados como los compuestos fitoquímicos de mayor actividad biológica (14). Giovanelli, G., & Buratti, S. (15) reportaron que las especies silvestres contiene entre dos y tres veces más polifenoles que las especies cultivadas. *Lantana camara*, *Solidago chilensis* y *Eryngium horridum* presentaron el mayor contenido de polifenoles para ambos tipos de extracciones. *Lantana camara* es utilizada como hierba medicinal en la medicina folklórica (16) y como alimento en otras regiones del planeta (17, 2). Se han reportado diferentes polifenoles de esta especie los cuales contienen en su estructura base una flavona y antraquinona (16). La infusión de *Solidago chilensis* posee usos medicinales (18) y se ha reportado actividad inhibidora de acetilcolinesterasa (19). Además sus principales metabolitos secundarios son los aceites esenciales, diterpenoides y flavonoides, siendo la quercetrina el principal constituyente (20). Se ha reportado que las especies del género *Eryngium* contienen saponinas, flavonoides, aceite esencial, glucósidos monoterpénicos y ácidos fenólicos (21). Marčetić y col. (22) ha reportado el principal flavonoide es apigenina. Además, los extractos clorofórmicos de estas especies mostraron actividad antimicrobiana (23).

**PROYECTO ESPECÍFICO**

Estrategias para la diferenciación de alimentos y el desarrollo de nuevos productos alimentarios.

**PROYECTO INTEGRADOR** Optimización de calidad integral y otras estrategias de agregado de valor.

Tabla 1. Contenido de polifenoles totales para los extractos obtenidos por ebullición (EE) y microondas (EM) expresada como equivalente de ácido gálico en mg/g de extracto seco (media±DE).

Especie	polifenoles totales (EM)	polifenoles totales (EE)
<i>Oxalis articulata</i>	22,3±0,7	18,3±0,6
<i>Carduus acanthoides</i>	40±1	36±1
<i>Solanum sisimbriflorum</i>	39±1	33,9±0,9
<i>Setaria parviflora</i>	22,6±0,6	16,9±0,5
<i>Commelina erecta</i>	34±1	27±0,8
<i>Dispsacus fullonum</i>	37±1	27±0,9
<i>Matricaria recutita</i>	33±1	14,4±0,5
<i>Xantium spinosum</i>	53±2	30,1±0,9
<i>Lantana camara</i>	120±4	70±2
<i>Solidago chilensis</i>	150±4	155±2
<i>Nicotiana longuiflora</i>	96±3	98±1
<i>Urtica urens</i>	27,1±0,7	52±1
<i>Lolium multiflorum</i>	42±1	39±2
<i>Eryngium horridum</i>	133±4	122±2
<i>Sida rhombifolia</i>	s/d	s/d
<i>Sphaeralcea bonariensis</i>	s/d	s/d

En la Tabla 2 se detallan los resultados de actividad antirradicalaria medida como porcentaje utilizando el ensayo de DPPH. Para esta propiedad no se encontró diferencia significativa entre los dos métodos de extracción. Las especies *Lantana camara*, *Carduus acanthoides*, *Solidago chilensis*, *Eryngium horridum* y *Commelina erecta* se destacaron de las demás por su alto valor de actividad antirradicalaria. Sin embargo los EE de la *Lantana camara*, *Eryngium horridum* y *Solidago chilensis* mostraron valores elevados de AA% (78.04, 67.00 y 49.00 %) respectivamente y los EM de *Solidago chilensis*, *Lantana camara*, *Eryngium horridum* y mostraron valores de AA% (98.00, 85.00 y 64.00 %) respectivamente. Por lo tanto no se puede mencionar cual proceso extractivo favoreció la actividad antirradicalaria.

**Tabla 2.** Actividad antirradicalaria para los extractos obtenidos por ebullición (EE) y microondas (EM) expresada como % de desaparición de DPPH para una concentración de extracto de 70 µg/mL (media±DE).

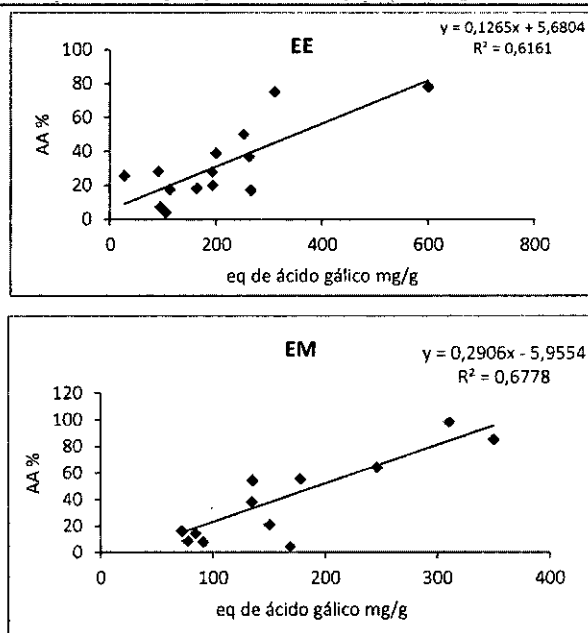
Especie	AA% (EM)	AA% (EE)
<i>Oxalis Articulata</i>	7,8±0,4	28±1
<i>Carduus acanthoides</i>	55±3	39±2
<i>Solanum sisimbriflorum</i>	4,6±0,2	19,8±0,9
<i>Setaria parviflora</i>	14,2±0,7	17,4±0,8
<i>Commelina erecta</i>	54±3	26±1
<i>Dispsacus fullorum</i>	27±1	33±2
<i>Matricaria recutita</i>	16,0±0,8	18,2±0,9
<i>Xanthium spinosum</i>	21±1	37±2
<i>Lantana camara</i>	85±4	78±4
<i>Solidago chilensis</i>	98±5	49±2
<i>Nicotiana longuiflora</i>	29±1	28±2
<i>Urtica urens</i>	1,40±0,07	4±0,3
<i>Lolium multiflorum</i>	8,6±0,4	7±1
<i>Eryngium horridum</i>	64±3	67±2
<i>Sida rhombifolia</i>	s/d	s/d
<i>Sphaeralcea bonariensis</i>	s/d	s/d

Además, para las especie más activas en cada proceso extractivo, se determinaron la concentración necesaria para producir la captación del 50% del radical DPPH a la concentración de trabajo (AA50%) (Tabla 3). *Solidago chilensis* (EM) y *Lantana camara* (EE) mostraron una AA50% de 0.031 y 0.030 mg/ml respectivamente. Como control positivo se utilizó BHT y ácido ascórbico siendo los valores de AA50% 1,53 mg/ml y 0,053 mg/ml respectivamente. Se ha reportado alto contenido de actividad antioxidante en infusiones y extractos hidroalcohólicos de *Solidago chilensis* y este efecto ha sido atribuido a la su alto contenido de flavonoides principalmente quercetina (24).

**Tabla 3.** Actividad antirradicalaria medida como la concentración necesaria para captar el 50% del DPPH para los extractos de *Lantana cámara* y *Solidago chilensis* comparado con antioxidantes conocidos.

muestras	AA50% (mg/ml)
<i>Lantana camara</i> (EE)	0,030±0,003
<i>Solidago chilensis</i> (EM)	0,031±0,002
ácido ascórbico	0,053±0,004
BHT	1,53±0,06

El análisis de la relación entre el contenido de fenoles y la capacidad antioxidante para todos los extractos se muestra en la Figura 1. Se observó una relación positiva a para EE ( $R^2=0,6161$ ) fundamentalmente promovido por el extracto de *Lantana camara*, el cual presentó altos valores para polifenoles y para AA. Para EM el  $R^2$  fue de 0,6778. Estas correlaciones pueden alejarse de la linealidad porque el método de Folin-Ciocalteu es específico para compuestos fenólicos, y la actividad antioxidante también puede ser exhibida por compuestos no fenólicos (25-26). La relación entre el contenido de fenoles y la capacidad captadora de radicales en ambos procesos de extracción sugiere que entre el 61,61% y 67,78 % de la actividad evaluada para las especies vegetales estudiadas resulta de la contribución de los compuestos fenólicos de ocurrencia natural.



**Figura 1.** Relación entre la actividad antirradicalaria y el contenido de polifenoles para los extractos a ebullición (EE) obtenidos por calentamiento en microondas (EM)

**Ensayo de inhibición de PPO**

Solo *Urtica urens* y *Solidago chilensis* mostraron un efecto inhibitorio de la PPO de manzana con valores de REA de 31% y 85% respectivamente, a una concentración de 3,1 mg/ml. El extracto acuoso de *Urtica urens* mostró una menor cantidad de polifenoles y AA% comparado con *Solidago chilensis*. Desde este punto de vista podría pensarse que la capacidad inhibitoria de la PPO del extracto de *Urtica urens* está mediada por compuestos solubles en agua diferentes de los polifenoles, más aun teniendo en cuenta que para esta especie las extracciones con metanol o etanol rinden mayores cantidades de polifenoles que las acuosas (27). Para ahondar en este tema se necesitaría ampliar el estudio utilizando diferentes solventes de extracción.

**Ensayo de letalidad de *Artemia salina*.**

El ensayo de letalidad de *Artemia salina* es considerado como una herramienta útil para la evaluación preliminar de la toxicidad de extractos vegetales dado que se correlaciona razonablemente bien con la propiedad citotóxica (28) y con los test en animales de laboratorio como ratas o ratones (29). Se utilizó como control positivo una solución de dicromato el cual mostró una LC50 de 16.6 µg/mL, resultado similar al reportado por Molinas-Salinas y Said-Fernández (30) (12,6 µg/ml.). A partir de los resultados obtenidos se realizó una clasificación según el criterio establecido por Sanabria-Galindo (31) el cual utiliza categorías de toxicidad que van de nula a alta Tabla 3.

**Tabla 3.** Valores de de LC50 en *Artemia salina* para los extractos acuosos estudiados

Especie	LC50 (µg/ml)	Toxicidad
<i>Carduus acanthoides</i>	87	moderada
<i>Allium cepa</i>	120	moderada
<i>Allium sativum</i>	128	moderada
<i>Nicotiana longiflora</i>	209	moderada
<i>Solidago chilensis</i>	524	baja
<i>Lolium multiflorum</i>	758	baja
<i>Urtica urens</i>	3236	nula
<i>Oxalis articulata</i>	1011	nula
<i>Erygium horridum</i>	ND	nula

Debido a la dificultad de establecer un criterio de toxicidad con validez amplia se decidió realizar el mismo estudio con extractos de especies comestibles de manera de comparar los valores de LC50 con extractos que se consideran seguros. Los valores de LC50 obtenidos para ajo (*Allium cepa*) y cebolla (*Allium sativum*) fueron de 120,2 y 128,8 µg/mL respectivamente. Gyawali R., (32) reportó resultados en el mismo orden de magnitud para *Allium sativum* (172.48 µg/mL). En esta comparación solo *Carduus acanthoides* presentó una toxicidad mayor que un extracto acuoso de ajo o cebolla.

*Solidago chilensis* y *Eryngium horridum* mostraron la mayor cantidad de fenoles y presentaron baja y nula toxicidad. Otros estudios también han encontrado que las plantas con altos contenidos de polifenoles presentan baja toxicidad en comparación con otros metabolitos secundarios (33).

## CONCLUSIONES

El estudio de especies silvestres locales se presenta como una alternativa interesante para la búsqueda de nuevos compuestos con actividad antioxidante.

El proceso de extracción asistido por microondas demostró ser más eficiente en la extracción de polifenoles y no se observó diferencia respecto de la actividad. La extracción utilizando calentamiento por microondas es muy sencilla de aplicar. El equipo de extracción utilizado fue de tipo estándar y de bajo costo y los extractos obtenidos fueron más fáciles de filtrar lo que lo hace una técnica interesante para obtener extractos naturales.

El estudio preliminar de toxicidad utilizando *Artemia salina* mostró valores muy bajos para la mayoría de las especies indicando que el uso de especies comestibles es un buen punto de partida para la selección.

Tres especies presentaron simultáneamente alto contenido de polifenoles y alta actividad captadora de radicales libres (*Solidago chilensis*, *Lantana camara* y *Eryngium horridum*). *Urtica urens* mostró efecto inhibitorio sobre la PPO de manzana junto a una LC<sub>50</sub> muy alta lo que lo hace prometedor como aditivo antipardeamiento y alienta futuras investigaciones.

Si bien se encontró que las especies que presentaron mayor contenido de polifenoles y mayor actividad antirradicalaria fueron las que mostraron menores LC50, la alta inhibición de la PPO de manzana por *Urtica urens* (clasificada como toxicidad nula) por un lado y la muy baja citotoxicidad de *Eryngium horridum* (alta AA% y contenido de polifenoles), por otro indican que no siempre la toxicidad y la bioactividad están acopladas. Se requieren estudios más profundos sobre la composición de estos extractos para identificar los metabolitos responsables de las características observadas.

## REFERENCIAS

1. Mac Artain, P., Gill, C. I., Brooks M., Campbell R., Rowland I. R. (2007). Nutritional value of edible seaweeds. *Nutrition reviews* 65 (12): 535-543.
2. Rapoport, E., Marzocca, A., Drausal. B.S. (2009). Malezas comestibles del Cono Sur y otras partes del planeta. Editorial: Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. Buenos Aires, Argentina
3. Jang, M.S., Sanada, A., Ushio, H., Tanaka, M., Ohshima, T. (2002). Inhibitory effects of 'enokitake' mushroom extracts on polyphenol oxidase and prevention of apple browning. *LWT-Food Science and Technology* 35: 697-702.
4. Schmeda-Hirschmann, G., Feresin, G., Tapia, A., Hilgert, N., Theoduloz, C. (2005). Proximate composition and free radical scavenging activity of edible fruits from the Argentinian Yungas. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 85 (8): 1357-1364
5. Parr. A.J., Bolwell, G.P. (2000). Phenols in the plant and in man. The potential for possible nutritional enhancement of the diet by modifying the phenols content or profile. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 80(7): 985-1012.
6. Taviano, M.F., Marino, A., Trovato, A., Bellinghieri, V., Melchini, A., Dugo, P., De Pasquale, R. (2013). *Juniperus oxycedrus* L. subsp. *oxycedrus* and *Juniperus oxycedrus* L. subsp. *macrocarpa* (Sibth. & Sm.) Ball. "berries" from Turkey: Comparative evaluation of phenolic profile, antioxidant, cytotoxic and antimicrobial activities. *Food and chemical toxicology* 58: 22-29.
7. Han, H., Baik, B.K. (2008). Antioxidant activity and phenolic content of lentils (*Lens culinaris*), chickpeas (*Cicer arietinum* L.), peas (*Pisum sativum* L.) and soybeans (*Glycine max*), and their quantitative changes during processing. *International journal of food science & technology* 43 (11): 1971-1978.
8. Mayer, A.M. (2006). Polyphenol oxidases in plants and fungi: going places? A review. *Phytochemistry* 67 (21): 2318-2331.
9. Altunkaya, A., Hedegaard, R., Harholt, J., Brimer, L., Gökmen, V., Skibsted, L.H. (2013). Palatability and chemical safety of apple juice fortified with pomegranate peel extract. *Food and function* 4 (10): 1468-1473.
10. Blainski, A., Lopes, G.C., De Mello, J.C.P. (2013). Application and analysis of the folin ciocalteu method for the determination of the total phenolic content from *Limonium brasiliense* L. *Molecules* 18(6): 6852-6865.
11. Ghasemzadeh, A., Jaafar, H.Z., Rahmat, A. (2010). Antioxidant activities, total phenolics and flavonoids content in two varieties of Malaysia young ginger (*Zingiber officinale* Roscoe). *Molecules* 15(6): 4324-4333.
12. Roldan, E., Sanchez-Moreno, C., de Ancos, B., Cano, M.P. Characterisation of onion *Allium cepa* (L.) by-products as food ingredients with antioxidant and antibrowning properties. (2008). *Food Chemistry*, 108: 907-916.
13. Finney, D. J. (1971). Probit analysis. Cambridge: Cambridge University Press.

**PROYECTO INTEGRADOR Optimización de calidad integral y otras estrategias de agregado de valor.**

14. Yang, J., Meyers, K.J., Vander Heide, J., Liu, R.H. (2004). Varietal differences in phenolic content and antioxidant and antiproliferative activities of onions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52: 6787–6793.
15. Giovanelli, G., Buratti, S. (2009). Comparison of polyphenolic composition and antioxidant activity of wild Italian blueberries and some cultivated varieties. *Food Chemistry* 112(4): 903-908.
16. Ghisalberti, E.L. (2000). *Lantana camara* L. (verbenaceae). *Fitoterapia* 71(5): 467-486.
17. Bucciarelli, A., Minetti, A., Mileczakowsky, C., Skliar, M. (2010). Evaluation of gastroprotective activity and acute toxicity of *Solidago chilensis* Meyen (Asteraceae). *Pharmaceutical biology* 48 (9): 1025-1030.
18. Carpinella, M.C., Andrione, D.G., Ruiz, G., Palacios, S.M. (2010). Screening for acetylcholinesterase inhibitory activity in plant extracts from Argentina. *Phytotherapy Research* 24 (2): 259-263.
19. Valverde-Soares, S.S., Azevedo-Silva, R.C., Tomassini, T.C.B. (2009). Utilização de CLAF, como paradigma na obtenção e controle do diterpenosolidagenona a partir de inflorescências de *Solidago chilensis* Meyen (arnica brasileira). *Revista Brasileira de Farmacognosia* 90(3): 196.
20. Dağar, A., Türker, M., Zabarar, D., Konczak, I. (2014). Phenolic composition, antioxidant and enzyme inhibitory activities of *Eryngium borinquense* leaf. *Plant foods for human nutrition* 69 (1): 30-36.
21. Marčetić, M.D., Petrović, S.D., Milenković, M.T., Niketić, M.S. (2014). Composition, antimicrobial and antioxidant activity of the extracts of *Eryngium palmatum* Pančić and Vis. (Apiaceae). *Central European Journal of Biology* 9(2): 149-155.
22. Erdem, S.A., Nabavi, S.F., Orhan, I.E., Daglia, M., Izadi, M., Nabavi, S.M. (2015). Blessings in disguise: a review of phytochemical composition and antimicrobial activity of plants belonging to the genus *Eryngium*. *DARU Journal of Pharmaceutical Sciences*, 23 (1): 53.
23. Roman Junior, W. A., Piato, A. L., Conterato, G. M., Wildner, S. M., Marcon, M., Mocelin, R & Santos, C. A. (2015). Hypolipidemic effects of *Solidago chilensis* hydroalcoholic extract and its major isolated constituent quercetin in cholesterol-fed rats. *Pharmaceutical biology* 53 (10): 1488-1495.
24. Mac Donald-Wicks, L.K., Wood, L.G., Garg, M.L. (2006). Methodology for the determination of biological antioxidant capacity in vitro: a review. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 86(13): 2046-2056.
25. Asami, D.K., Hong, Y.J., Barrett, D.M., Mitchell, A.E. (2003). Comparison of the total phenolic and ascorbic acid content of freeze-dried and air-dried marionberry, strawberry, and corn grown using conventional, organic, and sustainable agricultural practices. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51(5): 1237-1241.
26. Maaroufi, L., Hossain, M.S., Tahri, W., Landoulsi, A. (2017). New insights of Nettle (*Urtica urens*): Antioxidant and antimicrobial activities. *Journal of Medicinal Plants Research* 11(4): 73-86.
27. dos Santos Júnior, H.M., Oliveira, D.F., de Carvalho, D.A., Pinto, J.M.A., Campos, V.A.C., Mourão, A.R.B., Costa-Lotufo, L.V. (2010). Evaluation of native and exotic Brazilian plants for anticancer activity. *Journal of Natural Medicines* 64 (2): 231-238.
28. Naidu, J.R., Ismail, R., Sasidharan, S. (2014). Acute oral toxicity and brine shrimp lethality of methanol extract of *Mentha spicata* L (Lamiaceae). *Tropical Journal of Pharmaceutical Research* 13 (1): 101-107.
29. Molina-Salinas, G.M., Said-Fernández, S. (2006). A modified microplate cytotoxicity assay with brine shrimp larvae (*Artemia salina*). *Pharmacology on line* 3: 633-638.
30. Sanabria-Galindo, A., López S.I., Gualdrón, R. (1997). Estudio fitoquímico preliminar y letalidad sobre *Artemia salina* de plantas colombianas. *Revista Colombiana de Ciencias Químico-Farmacéuticas* 26 (1): 15-19.
31. Gyawali, R. (2011). Comparative Study of Antibacterial and Cytotoxic Activity of Two Nepalese Medicinal Plants-*Allium wallichii* Kunth and *Allium sativum* L. *International Journal of Pharmaceutical & Biological Archive*, 2(5): 1539-1543.
32. James, O., Nnacheta, O.P., Ameh, O. (2008). Polyphenol contents, cytotoxicity and antioxidant activities of some selected Nigerian vegetable foods. *International Journal of Chemical Sciences*, 6: 1714-1725.