

## Efecto de la radiación gamma en la actividad antioxidante del aceite de higuera: Reporte preliminar

Fabio Espichán<sup>1</sup>, Arthur Alvarez<sup>1</sup>, Johan Vela<sup>2</sup>, Kety León<sup>3</sup>, Julio Santiago<sup>1,3,\*</sup>

<sup>1</sup> Facultad de Química e Ing. Química, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Av. Venezuela S/N, Lima 1, Perú

<sup>2</sup> Facultad de Ing. de Industrias Alimentarias, Universidad Nacional Agraria de la Selva, Universitaria Km 1,5, Tingo María, Perú

<sup>3</sup> Dirección de Investigación y Desarrollo, Instituto Peruano de Energía Nuclear, Av. Canadá 1470, Lima 41, Perú

### Resumen

Se ha estudiado el efecto de la radiación gamma en la actividad antioxidante del aceite de ricino, *Ricinus communis L.*, por el método del DPPH. El IC<sub>50</sub> es de 0,28 µL/mL, lo que indica que el aceite contiene compuestos con una gran capacidad para neutralizar al radical libre del DPPH. La actividad antioxidante no varía mucho cuando el aceite es irradiado hasta 20 kGy, excepto a 15 kGy en la que se observó una disminución del 6 %. Si el aceite es obtenido a partir de semillas irradiadas, la actividad tampoco varía mucho hasta 3 kGy, sin embargo a 5 kGy hay una disminución del 20 %.

### Abstract

The effect of gamma radiation in the antioxidant activity of castor oil, *Ricinus communis L.*, has been studied by the DPPH method. The IC<sub>50</sub> of the oil is 0,28 µL/mL, which indicates that this oil contains compounds with the ability to neutralize DPPH radicals. The antioxidant activity does not vary too much when the oil is irradiated up to 20 kGy, except for 15 kGy where it decreased 6 %. If the oil was obtained from irradiated seeds, the activity does not vary too much up to 3 kGy. However, for 5 kGy it was observed a reduction of 20 %.

### 1. Introducción

La higuera, *Ricinus communis*, es una planta que pertenece a la familia de las *Eurphorbiaceae* y cuyo cultivo se extiende en casi todo el mundo. Los mayores exportadores de aceite de ricino son la India, China y Brasil. El aceite de ricino tiene una gran demanda pues es utilizado como aditivo de tintas, pinturas y barnices, también en la formulación de lubricantes, aceite de motores y en la preparación de detergentes sintéticos biodegradables que producen poca espuma [1].

El principal componente del aceite de ricino es el ácido ricinoleico (89 %), que posee un doble enlace, un grupo hidroxilo y un grupo carboxílico [2]. Estos grupos funcionales son fácilmente funcionalizados y permite obtener una serie de derivados de interés industrial.

El aceite de ricino no es comestible pues contiene la ricina (de naturaleza proteica) [3,4] y la ricinina (alcaloide) que producen trastornos biológicos al ser ingeridos [5]. Sin

embargo, el aceite de ricino es incluido en formulaciones tópicas para el tratamiento de del cabello [6], quemaduras [7,8] y de desórdenes oncológicos [9]. Además, el ácido ricinoleico exhibe un efecto antiinflamatorio y analgésico importante [10].

En el IPEN estamos desarrollando materiales para el tratamiento de quemaduras o lesiones a la piel. Hidrogeles de PVA-quitano, entrecruzados por radiación gamma conteniendo extractos de sangre de grado (*Croton lechleri*) presentaron actividad contra *S. aureus* y buenas propiedades cicatrizantes en quemaduras provocadas en conejos y en cortes en ratones [11-13].

En la búsqueda de nuevos aditivos naturales con propiedades biológicas para introducirlos en nuestros hidrogeles, hemos empezado el estudio del aceite de higuera por las propiedades mencionadas anteriormente. En este artículo presentamos nuestros resultados

\* Correspondencia autor: jsantiago@ipen.gob.pe

preliminares sobre el efecto de la radiación gamma en las propiedades antioxidantes del aceite de higuera. Este estudio preliminar es importante, debido a que muchas de las propiedades biológicas de los productos naturales, están relacionadas con su actividad antioxidante [14].

## 2. Experimental

### 2.1 Generalidades

Las semillas de higuera proceden de la región de La Libertad. El aceite de higuera (ricino) fue obtenido en una farmacia local. El DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidracilo) procede de Sigma-Aldrich y el etanol (99,9%) utilizado fue de grado HPLC. Se utilizó un espectrofotómetro UV-visible de Thermo Scientific, modelo Helios gamma. El irradiador gamma fue de marca Nordion, modelo Gammacell 220, con una fuente de cobalto-60.

### 2.2 Acondicionamiento del aceite de higuera

Las semillas de higuera, irradiadas a 3 y 5 kGy, fueron molidas y mezcladas con etanol para extraer el aceite. Luego de evaporar el etanol al vacío, se obtuvo un aceite transparente e incoloro. De otro lado, aceite de ricino comercial fue irradiado a 3, 5, 10, 15 y 20 kGy.

### 2.3 Medida de la actividad antioxidante

Estas medidas se realizaron por analogía a la literatura [15, 16].

Con ambos tipos de aceite se prepararon soluciones etanólicas, tomando 0,8; 0,6; 0,4 y 0,2 mL de aceite y completando a un mL con el solvente. Luego, 100  $\mu$ L de estas soluciones se mezclaron con 900  $\mu$ L de una solución etanólica de DPPH 100  $\mu$ M. Se midió la absorbancia de estas soluciones en un espectrofotómetro UV-visible. Las lecturas se registraron a 515 nm cada 30 segundos durante 20 minutos. Se utilizó etanol como blanco. Todos los experimentos se realizaron por triplicado.

El porcentaje de inhibición del radical DPPH, PI se determinó a partir de la siguiente fórmula, donde  $A_{(DPPH)}$  es la absorbancia de la solución inicial del DPPH,  $A_{(muestra)}$  es la absorbancia de la solución inicial de DPPH a

la que se le ha agregado una cierta cantidad de la muestra a estudiar. Esta última lectura se tomó luego de esperar 20 minutos.

$$PI = [A_{(DPPH)} - A_{(muestra)}] / A_{(DPPH)} * 100$$

Igualmente se determinó el  $IC_{50}$ , que es la cantidad de muestra necesaria para inhibir al 50% la concentración de los radicales del DPPH. Para esto se graficó la absorbancia remanente de la solución de DPPH mezclada con las diferentes cantidades de aceite,  $A_{(muestra)}$ , en función de la concentración del aceite, siendo  $A_{(DPPH)}$  equivalente al 100%.

## 3. Resultados y Discusión

La determinación de la actividad antioxidante de una muestra se basa en la neutralización de los radicales DPPH (Figura 1), en función de la concentración de dicha muestra. Compuestos con habilidad de donar un átomo de hidrógeno o un electrón, como los compuestos polifenólicos, pueden neutralizar estos radicales. La reacción es fácilmente monitoreada por espectroscopía UV-visible, ya que la solución del radical DPPH es de color violeta y presenta su absorbancia máxima entre 515-517 nm, mientras que la forma reducida es de color amarillo. Conforme los radicales de DPPH van siendo neutralizados, la absorbancia de la solución inicial va disminuyendo en intensidad en función a la cantidad de muestra adicionada [15-17].

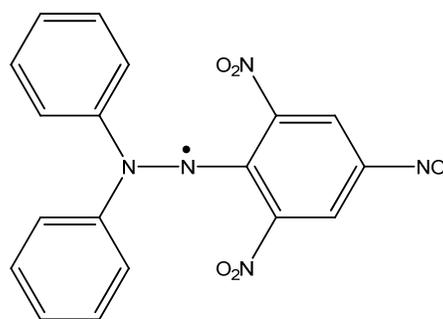


Figura 1. Estructura del radical DPPH.

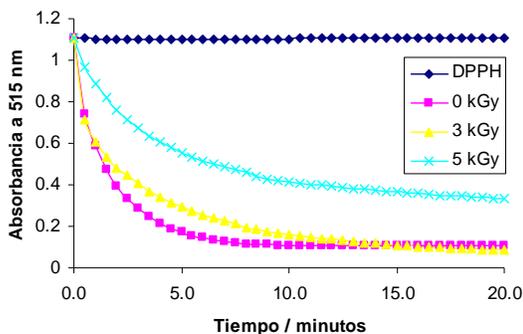
La Tabla 1 muestra los valores obtenidos para el porcentaje de inhibición del DPPH e  $IC_{50}$  de las diferentes muestras de aceite obtenidos a partir de las semillas irradiadas, con una concentración de 0,6 mL de aceite en un mL de solución. El PI y el  $IC_{50}$  obtenidos son semejantes para las muestras irradiadas hasta

3 kGy. A partir de 5 kGy se advierte un descenso en el valor del porcentaje de actividad antioxidante y, consecuentemente, un incremento del IC<sub>50</sub>.

**Tabla 1.** Porcentaje de Inhibición de DPPH e IC<sub>50</sub> del aceite de higuera, obtenido a partir de semillas irradiadas a diferentes dosis de radiación gamma.

Dosis (kGy)	Porcentaje de actividad antioxidante	IC <sub>50</sub>
0	89,97±0,06	0,24±0,003
3	91,91±0,19	0,26±0,003
5	72,29±1,28	0,40±0,008

Por otro lado, la neutralización de los radicales del DPPH es más rápida en el caso del aceite de ricino proveniente de semillas no irradiadas. En la Figura 2 se observa que el tiempo para obtener la absorbancia estacionaria es de 10 minutos para este aceite, mientras que para las otras muestras es de aproximadamente 20 minutos. El mayor tiempo que demora la muestra de aceite proveniente de semillas irradiadas a 5 kGy en secuestrar a los radicales libres DPPH podría explicarse por la presencia, en el aceite, de sustancias con menor actividad antioxidante. La liberación de estas sustancias de la pulpa durante la extracción del aceite con etanol habría sido facilitada por la irradiación de las semillas a 5 kGy. Esto también explicaría el mayor valor de IC<sub>50</sub> para esta muestra.



**Figura 2.** Cinética de Inhibición del radical DPPH con aceite de higuera obtenido a partir de semillas irradiadas.

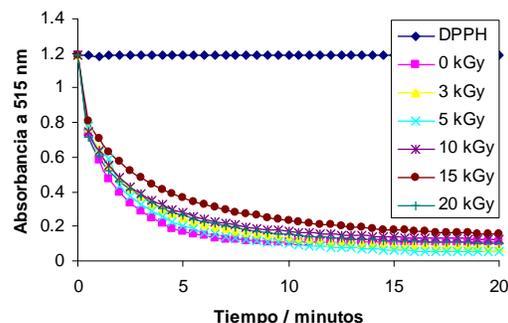
En el caso de los aceites irradiados, los datos obtenidos para el PI e IC<sub>50</sub>, para la misma concentración de aceite (0,6 mL de aceite en un mL de solución.), no han variado significativamente. El IC<sub>50</sub> se mantiene entre 0,26 y 0,29 mL de aceite por 0,9 mL de

DPPH. Estos valores son ligeramente mayores a los valores obtenidos con el aceite obtenido a partir de las semillas irradiadas.

**Tabla 2.** Porcentaje de Inhibición de DPPH y IC<sub>50</sub> del aceite de higuera, obtenido en una farmacia local, irradiado a diferentes dosis de radiación gamma.

Dosis (kGy)	Porcentaje de actividad antioxidante	IC <sub>50</sub>
0	93,47±0,64	0,28±0,00
3	90,57±1,40	0,29±0,002
5	95,38±0,09	0,28±0,003
10	89,46±0,08	0,26±0,004
15	85,72±0,09	0,27±0,005
20	91,39±0,08	0,28±0,006

La cinética de neutralización de los radicales DPPH con los aceites irradiados, Figura 3, sigue la misma tendencia que en el caso anterior. El aceite que no fue irradiado presenta una mayor velocidad de neutralización de los radicales del DPPH, obteniendo su nivel estacionario al cabo de 10 minutos, Figura 3. En todos los otros casos, la situación es muy similar, obteniéndose el nivel estacionario después de 20 minutos.



**Figura 3.** Cinética de Inhibición del radical DPPH con aceite de higuera irradiados a diferentes dosis.

La mayor capacidad para neutralizar los radicales DPPH del aceite de ricino obtenido a partir de las semillas irradiadas puede ser explicada por la forma en que se recuperó el aceite, extracción con etanol de la molienda de las semillas. Esta última manipulación podría haber extraído una cantidad adicional de polifenoles. En cambio el aceite de ricino comercial fue obtenido por prensado en frío.

Estudios de la actividad antioxidante de extractos metanólicos de hojas [18] y raíces [19] del *Ricinus communis L.* mostraron que estos extractos tienen una buena capacidad para neutralizar radicales del DPPH. Esta actividad es atribuida a la presencia de flavonoides y alcaloides en estos extractos [20]. Es lógico pensar que estos compuestos se encuentran igualmente presentes en el aceite. Faltan más experimentos para confirmar esta hipótesis.

De una manera general, la radiación gamma puede incrementar o disminuir la actividad antioxidante de extractos naturales. Por ejemplo, se ha reportado que extractos de hoja de té verde irradiados (10 y 20 kGy) incrementan significativamente su habilidad para neutralizar los radicales del DPPH [21]. En contraste, la irradiación de extractos metanólicos de pimienta negra provocó una disminución de la actividad antioxidante [22].

#### 4. Conclusiones

La actividad antioxidante del aceite de ricino no varía mucho en función a la dosis de radiación gamma aplicada. A 15 kGy hay una disminución del 6 %. En cambio, cuando el aceite es obtenido a partir de las semillas irradiadas se obtiene una disminución significativa (20 %) a partir de 5 kGy.

Falta realizar más experimentos para confirmar estas tendencias.

#### 5. Agradecimientos

Al Lic. J. Vargas e Ing. M. Linares por el servicio de irradiación gamma brindado.

#### 6. Bibliografía

[1] Ogunniyi D. Castor oil: A vital industrial raw material. *Bioresource Technology* 2006; 97: 1086–1091.

[2] Sreenivasan B, Kamath N, Kane J. Studies on Castor Oil. I. Fatty Acid Composition of Castor Oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 1956; 33(2): 61-66.

[3] Brinkworth C, Pigott E, Bourne D. Detection of Intact Ricin in Crude and Purified Extracts from Castor Beans Using Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization Mass Spectrometry. *Analytical Chemistry*. 2009; 8: 1529–1535.

[4] Audi J, Belson M, Patel M, Schier J, Osterloh J. Ricin Poisoning: A Comprehensive Review. *Journal of the American Medical Association*. 2005; 294(18): 2342-2351.

[5] Darby S, Miller M, Allen R. Forensic determination of ricin and the alkaloid marker ricinine from castor bean extracts. *Journal of Forensic Science*. 2001; 46(5):1033-42.

[6] Olguin M. Hair growth stimulant. United States Patent 6365199. 2002. Disponible en URL: <http://www.freepatentsonline.com/6365199.html?query=6365199&stemming=on>

[7] Carson S, Wiggins C, Overall K, Hebert J. Using a Castor Oil-Balsam of Peru-Trypsin Ointment to Assist in Healing Skin Graft Donor Sites. *Ostomy Wound Management*. 2008; 49(6): Disponible en URL: <http://www.o-wm.com/article/1759>

[8] Lapointe J. Burn treatment formulation and method of treating burns invention. US patent 20070003632. 2007. Disponible en URL:

<http://www.freepatentsonline.com/y2007/0003632.html?query=20070003632&stemming=on>

[9] Nyman D, Campbell K, Hersh E, Long K, Richardson K, Trieu V, Desai N, Hawkins M, Von Hoff D. Phase I and Pharmacokinetics Trial of ABI-007, a Novel Nanoparticle Formulation of Paclitaxel in Patients With Advanced Nonhematologic Malignancies. *Journal of Clinical Oncology*, 2005; 23(31): 7785-7793.

[10] Vieira C, Evangelista S, Cirillo R, Lippi A, Maggi C, Manzini S. Effect of ricinoleic acid in acute and subchronic experimental models of inflammation. *Mediators of Inflammation*, 2000; 9, 223–228.

[11] Carhuapoma W, Santiago J. Preparación de hidrogeles de quitosano-PVA por radiación gamma. *Revista de la Sociedad Química del Perú*. 2005; 71: 185-192.

[12] Carhuapoma W, Santiago J. Caracterización de hidrogeles de quitosano-alcohol polivinílico obtenidos por radiación gamma. *Revista Iberoamericana de Polímeros*. 2006; 6: 333-346.

- [13] Rojas N, León K, Villacaqui E, Santiago J. Tratamiento de quemaduras con películas de quitosano-alcohol polivinílico conteniendo sangre de grado: Reporte preliminar. Instituto Peruano de Energía Nuclear. Informe Científico Tecnológico 2007. Lima: Perú; 2008. p. 211-215.
- [14] Liao H, Banbury L, Leach D. Antioxidant activity of 45 Chinese herbs and the relationship with their TCM characteristics. Evidence-based Complementary and alternative medicine. 2007; 1-6. Disponible en URL: <http://ecam.oxfordjournals.org/cgi/reprint/ncm054v1>
- [15] Brand-Williams W, Berset C. Kinetics and Mechanisms of Antioxidant Activity using the DPPH• Free Radical Method. LWT Food Science & Technology., 1997; 30:609–615.
- [16] Brand-Williams W, Cuvelier M, C. Berset. Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. LWT Food Science & Technology, 1995; 28:25-30.
- [17] Molyneux P. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. Songklanakarin Journal of Science and Technology 2004; 26(2), 211-219.
- [18] Ilavarasan R, Mallika M, Venkataraman S. Anti-inflammatory and free radical scavenging activity of *Ricinus communis* root extract. Journal of Ethnopharmacology 2006; 103:478–480.
- [19] Singh P, Ambika, Chauhan S. Activity guided isolation of antioxidants from the leaves of *Ricinus communis* L. Food Chemistry 2009; 114:1069–1072.
- [20] Kang S, Cordell G, Soejarto D, Fong H. Alkaloids and Flavonoids from *Ricinus communis*. Journal of Natural Products. 1985; 48(1):155–156.
- [21] Jo C, Son J, Lee H, Byun M. Irradiation application for color removal and purification of green tea leaves extract. Radiation Physics and Chemistry. 2003; 66: 179–184.
- [22] Suhaj M, Rácová J, Polovka M, Brezová V. Effect of  $\gamma$ -irradiation on antioxidant activity of black pepper (*Piper nigrum* L.). Food Chemistry. 2006; 97:696–704.