

Ensayo de Investigación

Madera y corteza de tres especies de pino: evaluación de la actividad antioxidante, inhibición de la oxidación de lípidos y sustancias polifenólicas en dos extractos

Wood and bark from three pine species: evaluation of antioxidant activity, lipid oxidation inhibition, and polyphenolic substances in two extracts

Luis Fernando Pintor Ibarra¹, Cristóbal Noé Aguilar², María Guadalupe Argueta Solis¹,
Jorge E. Wong Paz², Romeo Rojas Molina², José Guadalupe Rutiaga Quiñones^{1*}

¹Facultad de Ingeniería en Tecnología de la Madera
Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo

²Departamento de Investigación en Alimentos
Facultad de Ciencias Químicas
Universidad Autónoma de Coahuila

Autor de correspondencia:
*jose.rutiaga@umich.mx

Recibido: 24-04-2023 Aceptado: 18-12-2023 (Artículo Arbitrado)

Resumen

La alta disponibilidad y el precio relativamente bajo de los residuos generados durante el procesamiento primario de la madera, incentivan la búsqueda de nuevas alternativas productivas, por ejemplo, como fuente de compuestos antioxidantes. En este trabajo se evaluaron los residuos de madera y corteza de *Pinus leiophylla*, *P. montezumae* y *P. pseudostrobus*. De estos materiales, se aislaron extractos metanólicos y acuosos, y en ellos se evaluó su actividad antioxidante mediante tres ensayos (DPPH, ABTS y LOI, por sus siglas en inglés). También se llevó a cabo un análisis cualitativo de los compuestos fenólicos mediante HPLC (por sus siglas en inglés). Los resultados obtenidos indicaron mayor rendimiento de extractos en corteza. En relación a los solventes, el mayor rendimiento se obtuvo con agua. En general, la mayor actividad antioxidante correspondió a los extractos de corteza, y los extractos metanólicos presentaron mejor actividad antioxidante. En relación a los métodos probados para evaluar la actividad antioxidante, en general, el ensayo de inhibición de la oxidación lipídica, presentó mayor actividad antioxidante. Mediante HPLC se detectaron cuatro importantes compuestos fenólicos con capacidad antioxidante (resorcinol, ácido clorogénico, ácido cumárico y catequina), y de estos compuestos los más frecuentes en los extractos fueron el resorcinol y el ácido cumárico.

Palabras clave: ABTS, DPPH, LOI, *Pinus* spp., residuos lignocelulósicos.

Abstract

The high availability and relatively low price of the residues generated during the primary processing of wood encourage the search for new productive alternatives, for example, as a source of antioxidant compounds. In this work, the wood and bark residues of *Pinus leiophylla*, *P. montezumae*, and *P. pseudostrobus* were evaluated. From these lignocellulosic materials, methanolic and aqueous extracts were isolated, and their antioxidant activity was evaluated using three assays (DPPH, ABTS and LOI). The results obtained indicated a higher yield of extracts in the bark. Related to solvents, the highest yield was obtained with water. In general, the highest antioxidant activity corresponded to the bark extracts, and the methanolic extracts presented better antioxidant activity. Related to the methods tested to evaluate the antioxidant activity, in general, the lipid oxidation inhibition assay presented higher antioxidant activity. Four important phenolic compounds with antioxidant capacity (resorcinol, chlorogenic acid, coumaric acid, and catechin) were detected by HPLC, and of these compounds the most frequent in the extracts were resorcinol and coumaric acid.

Keywords: ABTS, DPPH, LOI, *Pinus* spp., lignocellulosic waste.

Introducción

Información reciente indica que en México las especies del género *Pinus* son las que más aportan volumen de producción maderable, así, en el año 2018 la producción total nacional fue de 8.3 millones de metros cúbicos en rollo ($m^3 r$), y el género *Pinus* contribuyó con 5.9 millones de $m^3 r$ (70.5 %) (SEMARNAT, 2021), que derivó la producción de escuadría, chapa, triplay, celulósicos, durmientes y combustibles (leña y carbón) (SEMARNAT, 2021). Es conocido que el coeficiente de aserrío varía de 45 a 60 % (Nájera et al., 2012) y en general se estima que en el aprovechamiento primario de la madera el 50 % corresponden a residuos (Tauro, Serrano, Masera, 2018), principalmente en forma de aserrín, virutas, astillas y corteza, que en la mayoría de las veces no tienen uso comercial, salvo algunos usos locales como sustrato en viveros o huertas (Correa et al., 2013), y, además, causan problemas de contaminación y aumentan el riesgo de incendios (Fregoso et al., 2017).

En los últimos años los residuos forestales han sido motivo de diversos estudios debido a que son abundantes y de bajo o nulo valor económico (Correa et al., 2014; Fregoso et al., 2017), y pueden ser fuente de materias primas con diversas aplicaciones. Por ejemplo, se ha reportado que estos residuos contienen compuestos fenólicos antioxidantes con posibles aplicaciones farmacéuticas (Soto y Rosales, 2016; Ramos et al., 2022) o que pudieran ser usados en la generación de bioenergía (Rutiaga et al., 2020; Chávez et al., 2021; Martínez et al., 2022).

La alta disponibilidad y el precio bajo de estos subproductos incentiva la búsqueda de nuevas alternativas para su aprovechamiento integral (Fregoso et al., 2017), y una alternativa podría ser la obtención de compuestos antioxidantes. En este contexto, las plantas han sido empleadas desde la antigüedad como fuente de medicamentos, y se han usado para el tratamiento de una gran diversidad de enfermedades (Avelino et al., 2019). En esta búsqueda de compuestos bioactivos de las plantas, ya se han realizado algunas investigaciones sobre la capacidad antioxidante de los extractos derivados de cortezas de algunas especies de pinos, donde se ha concluido que son fuente importante de fenoles antioxidantes (Rosales et al., 2009; Soto y Rosales, 2016; Nisca et al., 2021; Ramos et al., 2022). Los fenoles son un grupo importan-

te de fitoquímicos antioxidantes, de gran importancia debido a sus actividades biológicas y eliminación de radicales libres, que juegan un papel importante en la salud humana (Soto y Rosales, 2016; Koleva et al., 2018; Shen et al., 2019). La extracción de estos polifenoles depende del disolvente que se utilice, y estas sustancias comúnmente se extraen con solventes de alta polaridad como alcoholes, agua o mezclas entre estos (Routray y Orsat, 2013; Wong et al. 2015; Tanase, Coşarca, Muntean, 2019). Sin embargo, para poder sugerir que las plantas sean utilizadas como fuente de compuestos bioactivos es necesario realizar estudios para determinar sus condiciones de uso (Wong et al. 2015).

Existen muchos sistemas para evaluar la actividad antioxidante y se sabe que un solo ensayo puede sugerir información limitada sobre la capacidad antioxidante de los extraíbles de las plantas (Kalia et al., 2008; Wong et al., 2015; Benítez et al., 2020). En este sentido, el propósito de este estudio fue evaluar la capacidad antioxidante de los extractos metanólicos y acuosos obtenidos de residuos generados del procesamiento primario de la madera y de corteza de las especies de *Pinus leiophylla*, *P. montezumae* y *P. pseudostrobus*, usando tres métodos (DPPH, ABTS e inhibición de la oxidación de lípidos) e identificar los polifenoles de los extractos mediante HPLC.

Materiales y Métodos

Residuos lignocelulósicos. Los residuos de madera (aserrín, viruta) y corteza de *Pinus leiophylla*, *P. montezumae* y *P. pseudostrobus*, se colectaron por separado en el complejo industrial de la Comunidad Indígena Nuevo San Juan Parangaricutiro, Michoacán, México. Las muestras de madera y corteza de las tres especies de pino se secaron al aire libre bajo la sombra y después se molieron en un equipo Wiley. El material resultante se tamizó para obtener material de malla 40 ($425 \mu m$), que se almacenó en bolsas de plástico selladas, para su posterior análisis.

Productos químicos. Durante el proceso de extracción en equipo Soxhlet se utilizaron disolventes químicos con grado analítico, de J. T. Baker (México). Todos los reactivos utilizados para determinar la capacidad antioxidante y los estándares utilizados en el análisis por HPLC se obtuvieron de Sigma-Aldrich (México).

Obtención de extractos. Para aislar las sustancias extraíbles se realizó una extracción con equipo Soxhlet con metanol y enseguida se aplicó una extracción a reflujo con agua; en cada caso 6 h de extracción (Mejía y Rutiaga, 2008). Los solventes metanólicos se recuperaron en un evaporador rotatorio y para recuperar el agua se utilizó un liofilizador. Los extractos respectivos se almacenaron en un desecador hasta que el peso fue constante, después el rendimiento de extractos para cada solvente se calculó en porcentaje basado en harina de madera libre de humedad. En estos extractos se evaluó la capacidad antioxidante mediante los tres métodos que a continuación se describen. Todos los análisis se realizaron por triplicado y en los resultados se reporta el promedio y desviación estándar.

Actividad captadora de radicales libres (DPPH, 1,1-difenil-2-picril-hidrazilo). Se midió mediante un método colorimétrico modificado (Molyneux, 2004). El experimento se realizó de la siguiente manera: a la solución metanólica que contenía el radical libre DPPH (3.9 mL, 60 μ M) se añadió la muestra del respectivo extracto (0.1 mL) y se dejó reposar en la oscuridad durante 30 min a temperatura ambiente. A continuación, se midió la absorbancia a 517 nm utilizando un lector de microplacas con espectrofotómetro BioTek Instruments (Winooski, VT, EE.UU.) controlado con una interfaz de software de análisis de datos Gen5. La actividad captadora de radicales libres de los extractos se expresó como porcentaje de DPPH reducido y se calculó con la ecuación (1) (Martínez et al., 2012).

$$\text{Inhibición de DPPH (\%)} = \frac{C_{abs} - S_{abs}}{C_{abs}} \times 100 \quad (1)$$

Donde *Cabs* es la absorbancia del control y *Sabs* es la absorbancia de la muestra.

Actividad de eliminación de cationes radicales (ABTS, 2,2-azino-bis-3-etilbenzotiazolin-6-sulfonato). Esto se llevó a cabo añadiendo una solución de persulfato potásico (2.45 mL) y una solución acuosa de ABTS (7 mL) y se dejó reposar en la oscuridad a temperatura ambiente durante 12 h antes de su uso. Después de 12 h, la solución final se diluyó con etanol hasta una absorbancia de 0.70 ± 0.02 a 734 nm. En resumen, se mezcló el respectivo extracto (50 μ L) o el control

(50 μ L de agua) con solución de ABTS (1 mL) y se midió la absorbancia al cabo de 1 min utilizando un espectrofotómetro Varian (Cary-50-Bio, EE.UU.). La absorbancia de la muestra se comparó con la absorbancia del control. La capacidad antioxidante total se calculó como porcentaje de inhibición del radical ABTS con la ecuación (2) (Re et al., 1999).

$$\text{Inhibición de ABTS (\%)} = \frac{C_{abs} - S_{abs}}{C_{abs}} \times 100 \quad (2)$$

Donde *Cabs* es la absorbancia del control y *Sabs* es la absorbancia de la muestra.

Ensayo de inhibición de la oxidación lipídica (LOI). El potencial antioxidante de los extraíbles se obtuvo utilizando ácido linoleico para medir la actividad antioxidante en un medio lipídico similar al de los sistemas biológicos, de acuerdo a la metodología reportada por Martínez et al. (2012). En primer lugar, se preparó una solución de ácido linoleico añadiendo 0.56 g de ácido linoleico y 1.5 g de Tween 20 a 8 mL de etanol (96 %, v/v). A continuación, se mezcló el extracto vegetal con la solución de ácido linoleico (100 μ L) y tampón acetato (1.5 mL, 0.02 M, pH 4,0). Los controles se prepararon con 50 μ L de etanol. Las muestras se homogeneizaron en un equipo Vortex (S0200, Labnet International, Edison, EE.UU.), se sonicaron en un baño ultrasónico (Branson 251OR-MT, Boston, EE.UU.) durante 3 min y se incubaron a 37 °C durante 1 min. Después de este tiempo, se indujo la oxidación lipídica añadiendo 750 μ L de soluciones de FeCl₂ 50 M (0.099 4 g de FeCl₂ y 0.168 g de EDTA diluidos a 1 L con agua destilada) y se incubó la muestra durante 24 h a 37 °C. Durante este periodo se extrajeron dos alícuotas (250 μ L), a la primera hora y a las 24 h. Cada alícuota se procesó inmediatamente después de ser tomada de la siguiente manera: se añadió a la alícuota solución de NaOH (1 mL, 0.1 M, en etanol al 10 %, v/v) para detener el proceso de oxidación; a continuación, se diluyó la muestra con etanol (2.5 mL, 10 %, v/v). Posteriormente, se midió la absorbancia de las muestras a 232 nm. Se utilizó etanol (10 %, v/v) como blanco. El porcentaje de inhibición de la oxidación del ácido linoleico se calculó mediante la ecuación (3) (Martínez-Ávila et al., 2012).

$$\text{Inhibición de la oxidación lipídica (\%)} = \frac{A - B}{A} \times 100 \quad (3)$$

Donde *A* es la diferencia entre la absorbancia de la muestra de control a las 24 h y 1 h de tiempo de incubación, y *B* es la diferencia entre la absorbancia de cada muestra de extracto después de 24 h y 1 h de tiempo de incubación.

Análisis mediante Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC). La caracterización de los extractos metanólicos y acuosos de madera y corteza de las tres especies de pino utilizadas en este estudio se realizó según el método publicado por Ruiz et al. (2011). Los análisis se llevaron a cabo utilizando un sistema Varian Pro-Star 330 y un detector DAD (01283, VARIAN, USA). Las muestras (10 μ L diluidas a 1000 ppm en agua Milli-Q®) se inyectaron en una columna Varian Pursuit XRs C18 (150 \times 4.6 mm). La fase A fue metanol de grado HPLC al 100 %, la fase B fue acetonitrilo y la fase C fue ácido acético al 3 %, a un caudal de 1 mL min⁻¹ a una longitud de onda de 280 nm. La elución se inició a 100 % C durante 1 minuto, luego se cambió a 3 % B y 97 % C; y en el minuto 3 después de iniciada la elución, se cambió a 10 % B y 90 % C. En el minuto 8 el eluyente cambió a 20 % B y 80 %; en el minuto 13, 30 % B y 70 % C; en el minuto 18, 50 % B y 50 % C terminando con 100 % B en el minuto 25. El extracto resultante se comparó finalmente con un volumen de inyección de 10 mL de muestra y se utilizaron los siguientes estándares de ácido cinámico, ácido clorogénico, ácido cumárico, ácido hidroxicinámico, catequina, ácido gálico, galato de metilo, quercetina, pirogalol y resorcinol.

Resultados y discusión

Contenido de extractos. Los resultados del proceso de extracción sucesiva usando metanol y agua apare-

cen en la Figura 1. Se observa que las cortezas de los tres pinos presentaron mayor rendimiento en comparación con las maderas, lo que coincide con lo reportado por Argueta et al. (2018). Por otro lado, Tanase et al. (2019) dan a conocer que la corteza es una fuente importante de compuestos fenólicos con potencial biológico. En cuanto a los solventes utilizados, con el agua se obtuvieron mayores rendimientos (Figura 1), lo que coincide con Ramos et al. (2013), quienes mencionan que los disolventes polares logran mayor extracción, ya que las sustancias polifenólicas comúnmente se extraen con solventes de alta polaridad, como alcoholes y agua (Wong et al., 2015; Becerril et al., 2021; Ramos et al., 2022). En la literatura, se ha registrado que los compuestos fenólicos muestran una alta actividad antioxidante (Wong et al., 2015; Parola et al., 2021), en particular, los polifenoles de alto peso molecular pueden ser los principales contribuyentes a una alta capacidad antioxidante, en comparación con los de bajo peso molecular (Landete, 2011; Hernández et al., 2018). Con respecto a los rendimientos de extraíbles de las maderas de los tres pinos, los valores encontrados son comparables con los rangos de 0.5 a 1.7 % (extraídos con metanol) y de 1.4 a 4.0 % (extraídos con agua), reportados para algunas maderas del género *Pinus* (Bernabé, Ávila, Rutiaga, 2013; Chávez et al., 2021; Martínez et al., 2022).

Actividad captadora de radicales libres DPPH. La capacidad de los extractos de las muestras estudiadas para capturar el radical DPPH se muestra en la Tabla 1. En las tres especies de pino, se encontró que los residuos de sus cortezas tienen mayor reducción oxidante en comparación con las maderas. En cuanto a los solventes utilizados, se observó mayor actividad

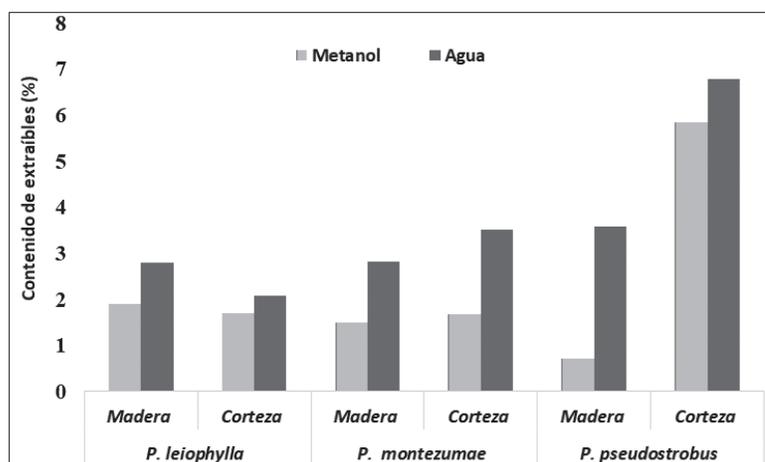


Figura 1. Rendimiento de los extractos metanólicos y acuosos en los residuos lignocelulósicos (%).

Fuente: Elaboración propia.

Tabla 1. Actividad antioxidante DPPH, ABTS y LOI de los extractos metanólicos y acuosos de madera y corteza de las tres especies de pino (%).

Actividad antioxidante		<i>P. leiophylla</i>		<i>P. montezumae</i>		<i>P. pseudostrobus</i>	
		Madera	Corteza	Madera	Corteza	Madera	Corteza
DPPH	Metanol	34.2 ± 0.1	67.5 ± 0.9	22.8 ± 0.2	54.2 ± 2.5	*	24.1 ± 2.5
	Agua	21.3 ± 0.8	29.4 ± 0.1	4.4 ± 1.1	*	*	66.4 ± 0.9
ABTS	Metanol	31.1 ± 0.3	50.2 ± 1.6	22.02 ± 1.3	45.5 ± 0.8	21.3 ± 0.9	25.1 ± 2.0
	Agua	5.01 ± 0.4	1.9 ± 0.1	*	*	*	18.9 ± 0.1
LOI	Metanol	27.5 ± 0.6	71.2 ± 1.1	35.5 ± 0.5	34.9 ± 2.6	94.8 ± 0.5	*
	Agua	34.8 ± 1.9	68.1 ± 1.6	49.9 ± 0.2	44.5 ± 1.9	72.4 ± 0.3	44.2 ± 0.9

* = ausencia de actividad antioxidante.

Fuente: Elaboración propia.

en los extractos metanólicos en comparación con los acuosos. Otros autores también han encontrado mejor actividad antioxidante mediante los ensayos de DPPH y ABTS en extractos obtenidos con alcohol (Rosales, Pérez, Ponce, 2006; Soto y Rosales, 2016; Ramos et al., 2022). En particular en las cortezas, el extracto metanólico de *P. leiophylla* (67.5 %) y acuoso de *P. pseudostrobus* (66.4 %), resultaron con mayor actividad DPPH, en comparación con el valor de 57.7 % obtenido en el extracto metanólico de la corteza de *Pinus sylvestris* (Nisca et al., 2021). Otro estudio da a conocer un valor de 63.58 % de actividad DPPH de un extracto obtenido con solución hidroetanólica (80:20, v/v) de corteza de *Pinus durangensis* (Soto y Rosales, 2016).

Actividad de eliminación de cationes radicales ABTS.

Los extractos metanólicos presentaron mayor actividad antioxidante, tanto en madera como en corteza de las tres especies de pino estudiadas (Tabla 1). En particular, el extracto metanólico de la corteza de *P. leiophylla* (50.2 %) mostró la mayor actividad ABTS. Otros estudios con corteza reportan 56.53 % de actividad ABTS en extracto de acetona-agua 70:30, v/v) de *P. leiophylla* (Rosales et al., 2009) y una actividad ABTS de 67.73 % en extracto de *P. durangensis* obtenido con solución hidroetanólica (80:20, v/v) (Soto y Rosales, 2016). Es conocido que los compuestos fenólicos presentes en los extractos son responsables de la actividad antioxidante en las plantas, y estas sustancias varían según la especie, el solvente utilizado, el tejido vegetal, los factores ambientales como la temperatura, el estrés hídrico, además de otras condiciones como cantidad y posición de sus grupos hidroxilo, tamaño de partícula, relación masa-solvente, tamaño molecular, entre otros (Sáenz et al., 2010; Soto y Rosales, 2016; Hernández et al. 2018). Esto

podría estar relacionado con las diferencias encontradas en la actividad de la eliminación de radicales libres entre los residuos lignocelulósicos y solventes utilizados en este trabajo.

Ensayo de inhibición de la oxidación lipídica (LOI).

La Tabla 1 muestra la actividad de inhibición de los extraíbles frente a la peroxidación del ácido linoleico provocada por FeCl₂ como iniciador oxidante. En general, los extractos metanólicos y acuosos de madera y corteza de las tres especies de pino, inhibieron la peroxidación del ácido linoleico, esta misma tendencia fue reportada por Argueta et al. (2018), quienes utilizaron esta misma técnica con extractos metanólicos y acuosos de madera y corteza de tres especies de encino. Los valores de actividad antioxidante por el ensayo LOI fueron en general más altos que los obtenidos por los ensayos DPPH y ABTS, esta tendencia coincide con estudios reportados por Wong et al. (2015) en plantas de clima semiárido. En este contexto Huang et al. (2005) infieren que el uso de ácido linoleico, como fuente de lípidos, simula la actividad antioxidante de una forma más cercana a lo que sucede en un sistema biológico. En esta investigación se encontraron relativamente altos valores de inhibición de lípidos, por lo tanto, la actividad antioxidante de los extractos pudiera atribuirse al alto contenido de potentes polifenoles (Wong et al., 2015; Castro et al., 2017; Argueta et al., 2018).

Análisis mediante Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC).

En los extractos de los subproductos de la madera y corteza de las tres especies de pino fue posible detectar cuatro importantes fenoles con capacidad antioxidante (Tabla 2). Los compuestos identificados más frecuentes en la mayoría de las muestras fueron el resorcinol y el ácido cumárico.

El resorcinol es un compuesto fenólico soluble

en sustancias de polaridad alta, como los alcoholes y el agua (Suresh, Srivasta, Mishra, 2012; Yang et al., 2022), ha sido usado ampliamente como antioxidante (Dellinger et al., 2001) y posee otras propiedades como antiinflamatorio, estrogénico, inhibición enzimática, antitumoral antimicrobiana, antialérgica, vascular y anticancerígena (Pereira et al., 2009; Kolbe et al., 2013; Lee et al., 2021). En este trabajo, el fenol se identificó frecuentemente en las muestras de corteza, y concretamente se detectó en los extractos metanólicos (EMC-*Pl*, EMC-*Pm*) y acuosos (EAC-*Pl*, EAC-*Pm*) en *P. leiophylla* y *P. montezumae*; también se identificó en el extracto metanólico (EMM-*Pm*) de la madera de *P. montezumae* (Tabla 2). Se ha reportado que esta sustancia se ha utilizado como intermediario químico para la síntesis de productos farmacéuticos y en la producción de tintes, plastificantes, absorbente de UV en resinas, también como ingrediente para ayudar a tratar afecciones como el acné (Pereira et al., 2009; Ruiz et al., 2011; Suresh et al., 2012; Kolbe et al., 2013).

El ácido clorogénico es conocido como un poderoso compuesto antioxidante (Kamiyama et al., 2015; Chaves y Esquivel, 2019) y también se le han atribuido propiedades anticancerígenas hipoglicemiantes, antivirales, hepatoprotectoras y nutraceuticas, entre otras (Marín y Puerta, 2008; Chaves y Esquivel, 2019). Este compuesto se detectó en las cortezas de *P. montezumae* (EAC-*Pm*) y de *P. pseudostrobus* (EMC-*Pp*), aislado con agua y metanol, respectivamente (Tabla 2). En otros estudios sobre especies de pinos, también se ha identificado este ácido en extractos acuosos y metanólicos de frutos de *P. sylvestris* (Keriere et al., 2023).

El ácido cumárico se encontró en extractos metanólicos de la madera de los tres pinos (EMM-*Pl*, EMM-*Pm*, EMM-*Pp*) y en las cortezas de *P. leiophylla* (EMC-*Pl*) y de *P. pseudostrobus* (EMC-*Pp*) (Tabla 2). De acuerdo a diversas investigaciones (Pereira et al., 2009; Enkhtaivan et al., 2015; Zhao et al., 2016; Amalan et al., 2016; Pei et al., 2016; Pawar y Dasgupta, 2018), el ácido cumárico ha demostrado poseer fuertes propiedades antioxidantes, y otros beneficios farmacológicos como antivirales, antimicrobianas, antiinflamatorios, anticáncer, antidiabético, antihiperlipidémico.

En relación a la catequina se ha demostrado previamente que es un potente antioxidante (Bae et al.,

2020; Munteanu y Apetrei, 2022), además de poseer otros efectos positivos como agente antiinflamatorio, antimicrobiano, antiviral, anticancerígeno y puede prevenir patologías como la diabetes (Bhardwaj, Khanna, Balakumar, 2014; Huang et al., 2015; Bae et al., 2020; Fu et al., 2021). Este polifenol fue encontrado en el extracto de la corteza de *P. pseudostrobus* (EMC-*Pp*) (Tabla 2). Otra investigación realizada en corteza de *P. leiophylla* indica que fue extraído con acetona acuosa al 70 % v/v (Rosales et al., 2009).

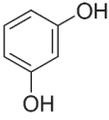
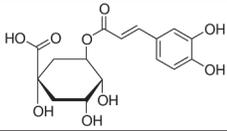
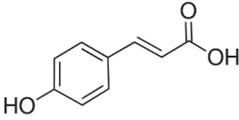
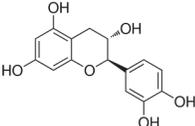
Conclusiones

En la presente investigación se usaron residuos lignocelulósicos (madera y corteza) de tres especies de pino; de estos materiales se obtuvieron extractos metanólicos y acuosos y se evaluó su actividad antioxidante mediante tres métodos. Se encontró mayor rendimiento de extractos en la corteza, y con agua se obtuvieron los mayores rendimientos. En general, la mayor actividad antioxidante la mostraron los extractos de la corteza, y los extractos metanólicos presentaron mejor actividad antioxidante. En cuanto a los métodos probados, en general el ensayo de inhibición de la oxidación lipídica, presentó mayor actividad antioxidante. Mediante HPLC fue posible detectar cuatro importantes compuestos fenólicos con capacidad antioxidante (resorcinol, ácido clorogénico, ácido cumárico y catequina), y de estos compuestos los más frecuentes en los extractos fueron el resorcinol y el ácido cumárico. En resumen, los extractos, principalmente de las cortezas de las tres especies de pino estudiadas, pudieran tener potencial para utilizarse como fuente de compuestos fenólicos en la industria farmacéutica con modesta actividad antioxidante, sin embargo, sería necesario profundizar en estudiar las mejores condiciones de uso.

Agradecimientos

Luis Fernando Pintor-Ibarra agradece la hospitalidad a la familia Silva-Guerrero durante su estancia de investigación; asimismo al Departamento de Investigación en Alimentos de la Facultad de Química de la Universidad Autónoma de Coahuila. Los autores agradecen al CONAHCYT el apoyo al proyecto CB-166444, y también a la Comunidad Indígena de Nuevo San Juan Parangaricutiro en el estado de Michoacán, por la donación de los residuos lignocelulósicos.

Tabla 2. Compuestos fenólicos detectados mediante HPLC en los extractos metanólicos y acuosos de madera y corteza de las tres especies de pino.

Extractos	Compuestos fenólicos	Estructura	Tiempo de retención (min)
EMC-Pl EAC-Pl EMM-Pm EMC-Pm EAC-Pm	Resorcinol		9.8
EAC-Pm EMC-Pp	Ácido clorogénico		11.25
EMM-Pl EMC-Pl EMM-Pm EMM-Pp EMC-Pp	Ácido coumarico		15.08
EMC-Pp	Catequina		15.66

EMC-Pl = extracto metanólico de la corteza de *P. leiophylla*;
EAC-Pl = extracto acuoso de la corteza de *P. leiophylla*;
EMM-Pm = extracto metanólico de la madera de *P. montezumae*;
EMC-Pm = extracto metanólico de la corteza de *P. montezumae*;
EAC-Pm = extracto acuoso de la corteza de *P. montezumae*;
EMC-Pp = extracto metanólico de corteza de *P. pseudostrabus*;
EMM-Pl = extracto metanólico de la madera de *P. leiophylla*;
EMM-Pp = extracto metanólico de la madera de *P. pseudostrabus*.
Fuente: Elaboración propia.

Referencias

Amalan, V., Vijayakumar, N., Indumathi, D., and Ramakrishnan, A. (2016). Antidiabetic and antihyperlipidemic activity of p-coumaric acid in diabetic rats, role of pancreatic GLUT 2: In vivo approach. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 84:230-236. doi.org/10.1016/j.biopha.2016.09.039

Argueta-Solís, M. G., Aguilar, C. N., Pintor-Ibarra, L. F., Chávez-González, M., Rojas-Molina, R., Wong-Paz, J. E., Pedraza-Bucio, F. E., y Rutiaga-Quñones, J. G. (2018). Inhibición de la oxidación de lípidos y constituyentes fenólicos relacionados en la madera y la corteza de tres especies de encino (*Quercus candicans*, *Q. laurina* y *Q. rugosa*). *Agrociencia*. 52(5):757-766.

Avelino-Flores, M. C. G., Bibbins-Martínez, M. D., Vallejo-Ruiz, V., and Reyes-Leyva, J. (2019). In vitro evaluation of cytotoxic and antitumor activity of medicinal plants recommended in Cuetzalan del Progreso, Puebla, Mexico. *Polibotánica*. 47(24):113-135. doi.org/10.18387/polibotanica.47.9

Bae, J., Kim, N., Shin, Y., Kim, S. Y., and Kim, Y. J. (2020). Activity of catechins and their applications. *Biomedical Dermatology*. 4:1-10. doi.org/10.1186/s41702-020-0057-8

Becerril-Sánchez, A. L., Quintero-Salazar, B., Dublán-García, O., and Escalona-Buendía, H. B. (2021). Phenolic compounds in honey and their relationship with antioxidant activity, botanical origin, and color. *Antioxidants*. 10(11):1700. doi.org/10.3390/antiox10111700

Benítez-Estrada, A., Villanueva-Sánchez, J., González-Rosendo, G., Alcántar-Rodríguez, V. E., Puga-Díaz, R., and Quintero-Gutiérrez, A. G. (2020). Determinación de la capacidad antioxidante total de alimentos y plasma humano por fotoquimioluminiscencia: Correlación con ensayos fluorométricos (ORAC) y espectrofotométricos (FRAP). *TIP. Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*. 23:1-9. doi.org/10.22201/fesz.23958723e.2020.0.244

Bernabé-Santiago, R., Ávila-Calderón, L. E. A., y Rutiaga-Quñones, J. G. (2013). Componentes químicos de la madera de cinco especies de pino del municipio de Morelia, Michoacán. *Madera y Bosques*. 19(2):21-35. doi.org/10.21829/myb.2013.192338

Bhardwaj, P., Khanna, D., and Balakumar, P. (2014). Catechin averts experimental diabetes mellitus-induced vascular endothelial structural and functional abnormalities. *Cardiovascular Toxicology*. 14:41-51. doi.org/10.1007/s12012-013-9226-y

Castro-López, C., Ventura-Sobrevilla, J. M., González-Hernández, M. D., Rojas, R., Ascacio-Valdés, J. A., Aguilar, C. N., and Martínez-Ávila, G. C. G. (2017). Impact of extraction techniques on antioxidant capacities and phytochemical composition of polyphenol-rich extracts. *Food Chemistry*. 237:1139-1148. doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.06.032

Correa-Méndez, F., Carrillo-Parra, A., Rutiaga-Quñones, J. G., González-Rodríguez, H., Jurado-Ybarra, E., y Garza-Ocañas, F. (2013). Humedad, ceniza e inorgánicos en corteza industrial de tres pinos para bioenergía. *Revista Forestal Baracoa*. 32(2):77-83.

Correa-Méndez, F., Carrillo-Parra, A., Rutiaga-Quñones, J. G., Márquez-Montesino, F., González-Rodríguez, H., Jurado-Ybarra, E., y Garza-Ocañas, F. (2014). Contenido de humedad y sustancias inorgánicas en subproductos maderables de pino para su uso en pélets y briquetas. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente*. 20(1):77-88. doi.org/10.5154/r.rchscfa.2013.04.012

Chaves-Ulate, E., and Esquivel-Rodríguez, P. (2019). Ácidos clorogénicos presentes en el café: capacidad antimicrobiana y antioxidante. *Agronomía Mesoamericana*. 30(1):299-311. doi.org/10.15517/am.v30i1.32974

Chávez-Rosales, J. S., Pintor-Ibarra, L. F., González-Ortega, N., Orihuela-Equihua, R., Ruiz-Aquino, F., Luján-Álvarez, C., and Rutiaga-Quñones, J. G. (2021). Basic chemical composition of *Pinus* spp. sawdust from five regions of Mexico, for bioenergetic purposes. *BioResources*. 16(1):816-824. doi: 10.15376/biores.16.1.816-824

- Dellinger, B., Pryor, W. A., Cueto, R., Squadrito, G. L., Hegde, V., and Deutsch, W. A. (2001). Role of free radicals in the toxicity of air-borne fine particulate matter. *Chemical Research in Toxicology*. 14(10):1371-1377. doi.org/10.1021/tx010050x
- Enkhtaivan, G., John, K. M., Ayyanar, M., Sekar, T., Jin, K. J., and Kim, D. H. (2015). Anti-influenza (H1N1) potential of leaf and stem bark extracts of selected medicinal plants of South India. *Saudi Journal of Biological Sciences*. 22(5):532-538. doi: 10.1016/j.sjbs.2015.01.011
- Fregoso-Madueño, J. N., Goche-Télles, J. R., Rutiaga-Quiñones, J. G., González-Laredo, R. F., Bocanegra-Salazar, M., and Chávez-Simental, J. A. (2017). Alternative uses of sawmill industry waste. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente*. 23(2):243-260. doi: 10.5154/r.rchscfa.2016.06.040
- Fu, Y., You, Z., Xiao, A., and Liu, L. (2021). Magnetic molecularly imprinting polymers, reduced graphene oxide, and zeolitic imidazolate frameworks modified electrochemical sensor for the selective and sensitive detection of catechin. *Microchimica Acta*. 188:1-9. doi: doi.org/10.1007/s00604-021-04724-1
- Hernández-Rosas, N. A., García-Zebadúa, J. C., Hernández-Delgado, N., Torres-Castillo, S., Figueroa-Arredondo, P., and Mora-Escobedo, R. (2018). Polyphenols profile, antioxidant capacity, and in vitro cytotoxic effect on human cancer cell lines of a hydroalcoholic extract from *Calendula officinalis* L. petals. *TIP. Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*. 21:54-64. doi.org/10.22201/tesz.23958723e.2018.0.150
- Huang, D., Ou, B., and Prior, R. L. (2005). The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 53(6):1841-1856. doi.org/10.1021/jf030723c
- Huang, D., Jiang, Y., Chen, W., Yao, F., Huang, G., and Sun, L. (2015). Evaluation of hypoglycemic effects of polyphenols and extracts from *Penthorum chinense*. *Journal of Ethnopharmacology*. 163:256-263. doi: 10.1016/j.jep.2015.01.014
- Kalia, K., Sharma, K., Singh, H. P., and Singh, B. (2008). Effects of extraction methods on phenolic contents and antioxidant activity in aerial parts of *Potentilla atrosanguinea* Lodd. and quantification of its phenolic constituents by RP-HPLC. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 56(21):10129-10134. doi.org/10.1021/jf802188b
- Kamiyama, M., Moon, J. K., Jang, H. W., and Shibamoto, T. (2015). Role of degradation products of chlorogenic acid in the antioxidant activity of roasted coffee. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 63(7):1996-2005. doi.org/10.1021/jf5060563
- Keriene, I., Šauliene, I., Šukiene, L., Judžentienė, A., Ligor, M., and Buszewski, B. (2023). Patterns of Phenolic Compounds in Betula and Pinus Pollen. *Plants*. 12(2):356. doi.org/10.3390/plants12020356
- Kolbe, L., Mann, T., Gerwat, W., Batzer, J., Ahlheit, S., Scherner, C., Wenck H, and Stäb, F. (2013). 4-n-butylresorcinol, a highly effective tyrosinase inhibitor for the topical treatment of hyperpigmentation. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*. 27:19-23. doi.org/10.1111/jdv.12051
- Koleva, L., Angelova, S., Dettori, M. A., Fabbri, D., Delogu, G., and Kancheva, V. D. (2018). Antioxidant activity of 3-hydroxyphenol, 2,2'-biphenol, 4,4'-biphenol and 2,2',6,6'-biphenyltetrol: theoretical and experimental studies. *Bulgarian Chemical Communications*. 50(Special issue C):247-253
- Landete, J. M. (2011). Ellagitannins, ellagic acid and their derived metabolites: A review about source, metabolism, functions and health. *Food Research International*. 44(5):1150-1160. doi.org/10.1016/j.foodres.2011.04.027
- Lee, S. E., Kwon, K., Oh, S. W., Park, S. J., Yu, E., Kim, H., Yang S., Park, J. Y., Chung Woo-Jae., Cho, J. Y. and Lee, J. (2021). Mechanisms of resorcinol antagonism of benzo [a] pyrene-induced damage to human keratinocytes. *Biomolecules & Therapeutics*. 29(2):227. doi.org/10.4062/biomolther.2020.083
- Marín, C., y Puerta, G. I. (2008). Contenido de ácidos clorogénicos en granos de coffee arabica lyc canephora según el desarrollo del fruto. *Cenicafé*. 59(1):7-28.
- Martínez-Ávila, G. C., Aguilera-Carbó, A. F., Rodríguez-Herrera, R., and Aguilar, C. N. (2012). Fungal enhancement of the antioxidant properties of grape waste. *Annals of Microbiology*. 62(3):923-930. doi.org/10.1007/s13213-011-0329-z
- Martínez-Gómez, O., Pintor-Ibarra, L. F., Rutiaga-Quiñones, J. G., and Corona-Terán, J. (2022). Chemical Composition and Energy Evaluation of *Abies* spp. and *Pinus* spp. Sawdust Collected as a Byproduct of the Primary Wood Sawing. *South-east Eur for*. 13(2):89-96. doi.org/10.15177/seeefor.22-08
- Mejía-Díaz, L. A., and Rutiaga-Quiñones, J. G. (2008). Chemical composition of *Schinus molle* L. wood and kraft pulping process. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*. 7(2):145-149.
- Molyneux, P. (2004). The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin J. Sci. Technol*. 26(2):211-219.
- Munteanu, I. G., and Apetrei, C. (2022). Assessment of the Antioxidant Activity of Catechin in Nutraceuticals: Comparison between a Newly Developed Electrochemical Method and Spectrophotometric Methods. *International Journal of Molecular Sciences*. 23(15):8110. doi.org/10.3390/ijms23158110
- Nájera-Luna, J. A., Adame-Villanueva, G. H., Méndez-González, J., Vargas-Larreta, B., Cruz-Cobos, F., Hernández, F. J., y Aguirre-Calderón, C. G. (2012). Rendimiento de la madera aserrada en dos aserraderos privados de El Salto, Durango México. *Investigación y Ciencia*. 55:11-23.
- Nisca, A., Stefanescu, R., Stegarus, D. I., Mare, A. D., Farczadi, L., and Tanase, C. (2021). Comparative study regarding the chemical composition and biological activity of pine (*Pinus nigra* and *P. sylvestris*) bark extracts. *Antioxidants*. 10(2):327. doi.org/10.3390/antiox10020327
- Parola-Contreras, I., Guevara-González, R. G., Feregrino-Pérez, A. A., Reynoso-Camacho, R., Pérez-Ramírez, I. F., Ocampo-Velázquez, R. V., Rojas- Molina, A., Luna-Vazquez, F., and Tovar-Pérez, E. G. (2021). Phenolic compounds and antioxidant activity of methanolic extracts from leaves and flowers of chilcuague (*Heliopsis longipes*, Asteraceae). *Botanical Sciences*. 99(1):149-160. doi.org/10.17129/botsci.2671
- Pawar, S. S., and Dasgupta, D. (2018). Quantification of phenolic content from stem-bark and root of *Hugonia mystax* Linn. using RP-HPLC. *Journal of King Saud University-Science*. 30(3):293-300. doi.org/10.1016/j.jksus.2016.09.002

- Pei, K., Ou, J., Huang, J., and Ou, S. (2016). p-Coumaric acid and its conjugates: dietary sources, pharmacokinetic properties and biological activities. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 96(9):2952-2962. doi.org/10.1002/jsfa.7578
- Pereira, D. M., Valentão, P., Pereira, J. A., and Andrade, P. B. (2009). Phenolics: From chemistry to biology. *Molecules*. 14(6):2202-2211. doi.org/10.3390/molecules14062202
- Ramos, P. A., Pereira, C., Gomes, A. P., Neto, R. T., Almeida, A., Santos, S. A., Silva A. M. S., and Silvestre, A. J. (2022). Chemical Characterisation, Antioxidant and Antibacterial Activities of *Pinus pinaster* Ait. and *Pinus pinea* L. Bark Polar Extracts: Prospecting Forestry By-Products as Renewable Sources of Bioactive Compounds. *Applied Sciences*. 12(2):784. doi.org/10.3390/app12020784
- Ramos, V., Bocalandro, C., Riquelme, S., Sanhueza, V., Aspé, E., Roedel, M., and Fernández, K. (2013). Effect of the bench scale extraction conditions on *Pinus radiata* bark extract yield, antioxidant properties and composition. *Maderas. Ciencia y Tecnología*. 15(1):31-44. doi.org/10.4067/S0718-221X2013005000003
- Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., and Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*. 26(9-10):1231-1237. doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00315-3
- Rosales-Castro, M., Pérez-López, M. E., and Ponce-Rodríguez, M. D. C. (2006). Propiedades antirradicales libres y antibacterianas de extractos de corteza de pino. *Madera y Bosques*. 12(1):37-49. doi.org/10.21829/myb.2006.1211249
- Rosales-Castro, M., González-Laredom R. F., Rocha-Guzmán, N. E., Gallegos-Infante, J. A., Peralta-Cruz, J., and Karchesy, J. J. (2009). Evaluación química y capacidad antioxidante de extractos polifenólicos de cortezas de *Pinus cooperi*, *P. engelmannii*, *P. leiophylla* y *P. teocote*. *Madera y Bosques*. 15:87-105. doi.org/10.21829/myb.2009.1531187
- Routray, W., Orsat, V. (2013). Preparative Extraction and Separation of Phenolic Compounds. In: Ramawat, K., Mérillon, JM. (eds) Natural Products. Springer, Berlin, Heidelberg. doi.org/10.1007/978-3-642-22144-6_55
- Ruiz-Martínez, J., Ascacio, J. A., Rodríguez, R., Morales, D., and Aguilar, C. N. (2011). Phytochemical screening of extracts from some Mexican plants used in traditional medicine. *Journal of Medicinal Plants Research*. 5(13):2791-2797. doi: 10.5897/JMPR.9001010
- Rutiaga-Quiñones, J. G., Pintor-Ibarra, L. F., Orihuela-Equihua, R., González-Ortega, N., Ramírez-Ramírez, M. A., Carrillo-Parra, A., Noel Carrillo-Ávila, Navarrete-García, M. A., Ruiz-Aquino, F., Rangel-Méndez, J. R. Hernández-Solís, J. J., and Lujan-Álvarez, C. (2020). Characterization of Mexican waste biomass relative to energy generation. *BioResources*. 15(4):8529. doi:10.15376/biores.15.4.8529-8553
- Sáenz-Esqueda, M. Á., Rosales-Castro, M., Rocha-Guzmán, N. E., Gallegos-Infante, J. A., and González-Laredo, R. F. (2010). Contenido fenólico y acción antioxidante de extractos de acículas de *Pinus cooperi*, *P. durangensis*, *P. engelmannii* y *P. teocote*. *Madera y Bosques*. 16(3):37-48. doi.org/10.21829/myb.2010.1631165
- SEMARNAT (2021). "Anuario estadístico de la producción forestal 2018" Anuarios Estadísticos Forestales. Recuperado de <https://dsiappsdev.semarnat.gob.mx/datos/portal/publicaciones/2021/2018.pdf>
- Shen, Y., Song, X., Li, L., Sun, J., Jaiswal, Y., Huang, J., Liu, C., Yang, W., Williams, L., Zhang, H., and Guan, Y. (2019). Protective effects of p-coumaric acid against oxidant and hyperlipidemia-an in vitro and in vivo evaluation. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 111:579-587. doi.org/10.1016/j.biopha.2018.12.074
- Soto-García, M., and Rosales-Castro, M. (2016). Efecto del solvente y de la relación masa/solvente, sobre la extracción de compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante de extractos de corteza de *Pinus durangensis* y *Quercus sideroxylla*. *Maderas. Ciencia y Tecnología*. 18(4):701-714. doi.org/10.4067/S0718-221X2016005000061
- Suresh, S., Srivastava, V. C., and Mishra, I. M. (2012). Adsorption of catechol, resorcinol, hydroquinone, and their derivatives: a review. *International Journal of Energy and Environmental Engineering*. 3:1-19. doi: 10.1186/2251-6832-3-32
- Tanase, C., Cosarca, S., and Muntean, D. L. (2019). A critical review of phenolic compounds extracted from the bark of woody vascular plants and their potential biological activity. *Molecules*. 24(6):1182. doi.org/10.3390/molecules24061182
- Tauro, R., Serrano-Medrano, M., and Masera, O. (2018). Solid biofuels in Mexico: a sustainable alternative to satisfy the increasing demand for heat and power. *Clean Technologies and Environmental Policy*. 20(7):1527-1539. doi: 10.1007/s10098-018-1529-z
- Wong-Paz, J. E., Contreras-Esquivel, J. C., Rodríguez-Herrera, R., Carrillo-Inungaray, M. L., López, L. I., Nevárez-Moorillón, G. V., and Aguilar, C. N. (2015). Total phenolic content, *in vitro* antioxidant activity and chemical composition of plant extracts from semiarid Mexican region. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*. 8(2):104-111. doi.org/10.1016/S1995-7645(14)60299-6
- Yang, H., Gladich, I., Boucly, A., Artiglia, L., and Ammann, M. (2022). Orcinol and resorcinol induce local ordering of water molecules near the liquid-vapor interface. *Environmental Science: Atmospheres*. 2(6):1277-1291. doi:10.1039/D2EA00015F
- Zhao, Y., Liu, J., Liu, C., Zeng, X., Li, X., and Zhao, J. (2016). Anti-inflammatory effects of p-coumaric acid in LPS-stimulated RAW264. 7 cells: Involvement of NF-κB and MAPKs pathways. *J. Med. Chem*. 6:327-330. doi: 10.4172/2161-0444.1000365