

Determinación de Actividad Antioxidante en Frutas Autóctonas Disponibles en los Principales Mercados de la Ciudad Capital de Guatemala

A. Barahona¹, P. Bolaños¹, P. Calderón¹, I. Ramírez¹, V. Matta², J. Salazar³, R. Velásquez⁴.

¹Estudiantes de la carrera de Química Biológica

³Departamento de Alimentos, Escuela de Nutrición, ²Departamentos de Citohistología y de Bioquímica, Escuela de Química Biológica Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad de San Carlos De Guatemala, Guatemala

En el presente estudio se determinó la actividad antioxidante en frutas autóctonas disponibles en los principales mercados de la ciudad capital de Guatemala durante los meses de julio y agosto. Las frutas analizadas fueron: cereza (*Prunus capuli Cav*), banano morado (*Mussa sp.*), mamey (*Mammea americana L*), pitaya (*Epiphyllum crenatum*), carambola, tuna (*Nopalea guatemalensis Rose*), anona (*Annona diversifolia Safford*) y guanaba (*Annona muricata L*). En los extractos metanólicos de cada fruta se midió la capacidad antioxidante total por el método de DPPH (difenilpicrilhidrazilo), expresada como IC₅₀, la cual varió entre 2.1 mg en la guanaba y 77.2 mg en el banano morado. El contenido de fenoles totales determinado por la reacción de Folia Ciocalteu varió de 17.0 Eq. Ac. Gálico/g en el banano morado a 408.6 Eq. Ac. gálico/g en la anona. La determinación de vitamina C se realizó por el método de HPLC (Cromatografía líquida de alta resolución) y se encontró valores que varían de 0.13 mg/g en el banano morado a 6.85 mg/g en la carambola. Estos datos demuestran que las frutas autóctonas son fuente de antioxidantes y que por lo tanto pueden ser consumidas como parte de una dieta rica en dichos compuestos.

Resumen

Actualmente algunas enfermedades degenerativas como el cáncer y la aterosclerosis, han sido asociadas con el efecto oxidativo ocasionado por la exposición prolongada a sustancias altamente energéticas conocidas como radicales libres (1-3). Estas especies son generadas como producto del metabolismo y tienen la característica de ser bastante reactivas e inestables debido a que en su estructura contienen uno o más electrones no apareados (1,4). Sistemas denominados antioxidantes tienen la capacidad de inhibir o retrasar el efecto oxidativo causado por los radicales libres, con lo que previenen el desarrollo de enfermedades degenerativas (5). El organismo humano cuenta de forma natural con enzimas que ejercen efectos antioxidantes. Sin embargo otras sustancias antioxidantes pueden obtenerse a través del consumo de alimentos como vegetales y frutas que han sido reportados como portadores de alfatocopherol, beta-caroteno y vitamina C, entre otros, cuya acción antioxidante ha sido comprobada (6).

Existe un amplio número de investigaciones que han determinado la composición química de ciertos grupos alimenticios entre los que se incluyen las frutas; sin embargo en Guatemala no se ha realizado ningún estudio similar por lo que se desconoce la totalidad de la composición de algunas frutas, incluyendo la capacidad antioxidante de las mismas.

Este estudio determinó la actividad antioxidante total en

algunas frutas autóctonas disponibles en los principales mercados de la ciudad capital a través de la medición de la capacidad antioxidante total, de fenoles totales y de vitamina C. De esta forma, se confirmó que las frutas estudiadas tienen antioxidantes y que el incluirlas en la dieta es importante y saludable, lo que permite dar las pautas para promover su mayor consumo, con el conocimiento de los beneficios que ello representa para la salud.

Materiales y Métodos

Muestra. Se escogieron de acuerdo a un estado de madurez apto para el consumo humano, las tres frutas autóctonas más abundantes en los mercados central y sur No. 2 en visitas realizadas semanalmente durante los meses de julio y agosto.

Preparación de extractos. 10 gr. de fruta se extrajeron con 50 ml de metanol. Después de filtrar el residuo se extrajo repetidamente con alícuotas de 25 ml hasta obtener extractos incoloros. Todo el proceso fue llevado a cabo bajo atmósfera de nitrógeno y en la oscuridad. Al final de estas extracciones se midió el volumen total del extracto. Con este dato y con el de la determinación del peso seco de la fruta, se calculó la concentración de materia seca vegetal por volumen de extracto. De cada fruta se realizaron extractos por triplicado. Los extractos fueron almacenados bajo atmósfera de nitrógeno en frascos ámbar a temperatura de refrigeración.

Determinación de capacidad antioxidante total. 100 µl del extracto se mezclaron con 2.9 ml de 37.8 ppm de DPPH disueltos en una solución de metanol-buffer de acetatos 0.1 M pH 6 (1.9:1). La mezcla se dejó reaccionar 30 minutos en la oscuridad a temperatura ambiente. Se determinó la absorbancia a 517 nm al inicio y al final de la incubación. Se ajustó la concentración del extracto para calcular la cantidad de éste que causaba la disminución del 50% de la absorbancia. La determinación se realizó por triplicado.

Determinación de Fenoles. 50 µl de extracto se hicieron reaccionar entre 90 y 100°C por un minuto con 5.15 ml de reactivo de Folin diluido (1:12.9) con Na₂CO₃ (1.68% p/v). De igual forma se hizo reaccionar 100 µl de extracto con 5.10 ml de reactivo de Folin diluido (1:12.8) con Na₂CO₃ (1.70% p/v). Se determinó la absorbancia a 765 nm de la muestra enfriada a temperatura ambiente. La cantidad de fenoles totales se encontró utilizando una curva patrón de 5 a 100 equivalentes de ácido gálico analizada de la misma manera.

Determinación de vitamina C. La vitamina C se determinó inyectando 20 µl del extracto en un sistema de HPLC con las siguientes condiciones: columna nucleosil 100-5 µl C₁₈ 12.5 * 4 mm DI; fase móvil: buffer de fosfatos pH 3-metanol (95:5), flujo de 0.8 y longitud de onda de 265 nm. Para la medición de una curva patrón, se utilizaron soluciones patrón de ácido ascórbico a concentraciones desde 5 µl/ml hasta 50 µl/ml.

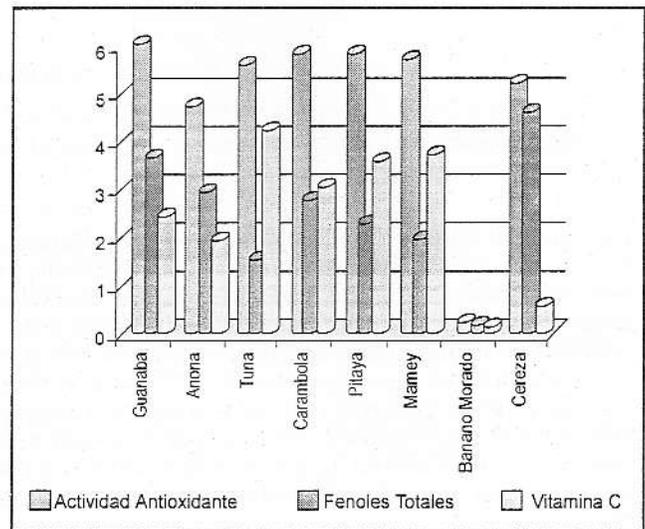
Tabla No. 1

Actividad antioxidante total y contenido de fenoles totales y vitamina C en algunas frutas autóctonas

Nombre Común/Nombre Científico de la Fruta	Actividad antioxidante Total IC 50(mg)	Fenoles totales (Eq. Ac. Gal(g))	vitamina C (mg/g)
Cereza (n=1) <i>Prunus capuli Cav.</i>	13.4 ± 3.4	241.1 ± 42.7	0.72 ± 0.5
Banano Morado (n=1) <i>Musa sp.</i>	77.2 ± 13.3	17.0 ± 7.0	0.13 *
Mamey (n=2) <i>Mammea americana L.</i>	6.0 ± 1.6	65.9 ± 15.7	1.74 ± 0.7
Pitaya (n=2) <i>Epiphyllum crenatum</i>	4.6 ± 1.7	43.2 ± 23.9	0.89 ± 0.2
Carambola (n=2)	6.5 ± 3.3	332.6 ± 136.2	6.85 ± 0.5
Tuna (n=2) <i>Nopalea guatemalensis Rose</i>	8.9 ± 0.5	34.3 ± 4.2	1.53 ± 0.0
Anona (n=1) <i>Annona diversifolia Safford</i>	21.5 ± 4.2	408.6 ± 61.6	4.79 *
Guanaba (n=1) <i>Annona muricata L.</i>	2.1 ± 0.8	108.1 ± 36.3	1.31 *

*No se indica valor de desviación estándar debido a que solamente se realizó una medición.

Gráfica No. 1
Actividad antioxidante relativa en frutas autóctonas



Resultados

En la tabla No. 1 se presentan los promedios de la actividad antioxidante total, del contenido de fenoles totales y del contenido de vitamina C obtenido en las frutas autóctonas incluidas en el estudio. La fruta que posee mayor actividad antioxidante total es la guanaba (2.1 mg). El mayor contenido de fenoles totales se obtuvo en la anona (408.6 Eq. Ac. gálico/g) y el mayor contenido de vitamina C lo presentó la carambola (6.85 mg/g).

En la gráfica No. 1 se presenta la actividad antioxidante relativa de las muestras analizadas. Se aprecian las proporciones del contenido de fenoles totales y vitamina C con relación a la actividad antioxidante de cada fruta. Se observa que la actividad antioxidante está determinada por el contenido de fenoles totales en frutas como la cereza y la guanaba y que, contrario a esto, la actividad antioxidante de la tuna y el mamey esta mayormente determinada por el contenido de vitamina C.

Se calcularon los intervalos de confianza de la actividad antioxidante total y del contenido de fenoles totales en cada fruta. Los valores obtenidos se presentan en la tabla No. 2. Se puede apreciar que en la medición de la actividad antioxidante total, el intervalo de confianza más estrecho es el obtenido en el análisis de la tuna. En la medición del contenido de fenoles totales, la tuna presentó los intervalos de confianza menos amplios.

Tabla No 2

Intervalos de confianza de la actividad antioxidante total y del contenido de fenoles totales en frutas autóctonas.

Nombre común/Nombre científico de la fruta	Actividad Antioxidante Total (IC50 mg)	Fenoles Total (Eq Acido Gálico/g)
Cereza <i>Prunus capuli Cay.</i>	9.9 - 17.2	192.2 - 289.4
Banano Morado <i>Mussa sp.</i>	62.1 - 92.2	9.1 - 25.0
Mamey <i>Mammea americana L.</i>	4.8 - 7.2	53.3 - 78.5
Pitaya <i>Epiphyllum crenatum</i>	3.3 - 6.0	24.1 - 62.3
Carambola	3.9 - 9.1	223.6 - 441.6
Tuna <i>Nopalea guatemalensis Rose</i>	8.5 - 9.3	30.9 - 37.7
Anona <i>Annona diversifolia Safford</i>	16.7 - 26.2	338.9 - 478.3
Guanaba <i>Annona muricata L.</i>	1.2 - 3.1	67.0 - 149.2

Fuente: Datos obtenidos en esta investigación

Discusión

En el presente estudio se midió la actividad antioxidante total de algunas frutas autóctonas. Se estableció que todas las frutas analizadas presentan actividad antioxidante.

La medición de la vitamina C por el método de HPLC presentó la dificultad de que el extracto de la fruta se preparó con metanol. Esto ocasionó la poca resolución y la gran amplitud presentadas por los picos de las muestras. A manera de disminuir el efecto causado por el metanol, se inyectó metanol puro de manera que se pudiera restar el pico de este, del presentado por el extracto. Con base en esto, los resultados se consideran de carácter preliminar.

La actividad antioxidante total se midió como IC_{50} , es decir, la cantidad de sustancia, expresada en miligramos, que se necesita para reducir en un 50% la absorbancia de una solución de $50\mu\text{M}$ de DPPH.

La relación entre el IC_{50} y la actividad antioxidante total es inversamente proporcional, lo cual significa que una sustancia posee mayor actividad antioxidante cuando requiere menor cantidad de miligramos para reducir el DPPH.

De acuerdo a los valores presentados en la Tabla No. 2, se establece que las frutas que poseen mayor actividad antioxidante son la guanaba (2.1 mg) y la pitaya (4.6 mg); mientras que el banano morado presentó la menor actividad antioxidante de todas las frutas analizadas (77.2 mg). En la tabla No. 2 se encuentra el contenido de fenoles totales de las distintas frutas, expresado en Eq Ac. gálico/mg. Los valores indican que las frutas autóctonas con mayor cantidad de estos compuestos son la anona (408.6) y la carambola (332.6). Contrario a éstas, el banano morado (17.0) y la tuna (31.3) cuentan con un menor contenido de fenoles totales.

Los compuestos fenólicos juegan un papel importante en la pigmentación de los alimentos vegetales y frutales por su contenido de antocianinas, flavononas y flavonoides. Debido a esto se relaciona de forma directamente proporcional el color de un alimento con la cantidad de fenoles totales y la actividad antioxidante del mismo (6). Sin embargo, en este estudio se observó que la actividad antioxidante de las frutas analizadas no depende directamente del color, pues las frutas de color más intenso no presentaron una actividad antioxidante mayor que las frutas de colores menos intensos. Esto se ve reflejado en la alta actividad que posee la guanaba (2.1 mg), en comparación con la tuna, la cual posee una actividad antioxidante menor (8.9 mg) aún cuando su color es más fuerte que el de aquella.

El mismo caso se da en cuanto al contenido de fenoles totales. Se demostró que la tuna, con un color corinto intenso, contiene 34.3 Eq Ac. gálico/mg, mientras que la anona, de color blanco, contiene un valor alto de 408.6 Eq Ac. gálico/mg.

Estudios varios han determinado los principales compuestos fenólicos presentes en frutas. El ácido p-cumárico es un componente importante en los cítricos y la piña. Las moras, las frambuesas y las grosellas tienen un contenido alto de ácidos hidroxicinámicos, no así de ácidos hidroxibenzoicos (6). De esta manera se infiere que las frutas analizadas pueden incluir en su contenido de fenoles totales uno o más de los compuestos fenólicos identificados en otras frutas (6).

En la tabla No. 2 se aprecia el contenido de vitamina C en las frutas analizadas. Los valores obtenidos indican que la carambola es la fruta con el mayor contenido de vitamina C (6.85 mg/g) y que la fruta con menor contenido es el banano morado (0.13 mg/g).

En la gráfica se compara la actividad antioxidante total y el aporte debido a la cantidad de fenoles totales y de vitamina C. El tamaño de las barras del contenido de fenoles totales y de vitamina C se ajustó para permitir una comparación entre ellas debido a que cada uno de ellos se encuentra reportado en distintas dimensionales, lo cual no hace posible su comparación directa.

Esta gráfica permite establecer que la actividad antioxidante no depende directamente de la cantidad de fenoles totales ni del

contenido de vitamina C en todas las frutas. Esto difiere con lo indicado por Standley L. *et al*, en un estudio en que se estableció que el contenido fenólico en extractos de té correlaciona con los efectos antioxidantes presentados por éstos (7). De igual forma, Caballeros K, determinó que extractos vegetales con mayor actividad antioxidante total son ricos en compuestos polifenólicos (8).

Se puede observar que la contribución del contenido de fenoles totales y de vitamina C en la actividad antioxidante total es muy variable en todas las frutas. Se debe aclarar que esta comparación se hace únicamente con base en los dos parámetros medidos y que la actividad antioxidante puede estar representada por una serie de compuestos que no fueron medidos en el presente estudio.

Los intervalos de confianza calculados para cada fruta fueron en algunos casos muy amplios, esto puede explicarse por el hecho de que el análisis se realizó en distintas frutas de la misma especie. En esta variabilidad entran en juego factores que el investigador no puede controlar citándose por ejemplo la madurez, el tamaño y las condiciones bajo las cuales es producida la fruta. Se debe considerar además, que en el caso de la cereza, cuya unidad es de tamaño pequeño, se tomó más de una de ellas para realizar las mediciones, por lo que los valores calculados corresponden a una muestra representada por varias unidades.

Las determinaciones efectuadas se consideran confiables al comprobar que es posible efectuar la medición de actividad antioxidante y fenoles totales a diversos sustratos bajo las condiciones indicadas por Caballeros K., en el trabajo sobre la optimización de los métodos utilizados en esta investigación (8).

En conclusión, todas las frutas autóctonas analizadas presentan actividad antioxidante, determinada por la reducción espectrofotométrica de la absorbancia del DPPH. Se determinó un valor mínimo de contenido de fenoles totales es de 17.0 Eq. Ácido gálico/g correspondiente al banano morado y un valor máximo de 408.6 Eq. Ácido gálico/g correspondiente a la anona. El contenido de vitamina C se determinó en frutas autóctonas, encontrándose un valor mínimo de 0.13 mg/g en el banano morado y un valor máximo de 6.85 mg/g en la carambola.

Referencias

1. Elliot J. Application of Antioxidant Vitamins in Foods and Beverages. *Food Technology*, 1999;53:46-48.
2. Matsingou T., Kapsokfalou M., Salipoglou A. *In Vitro* Antioxidant Activity of Black Tea and Mediterranean Herb Infusions Toward Iron Under Simulated Gastrointestinal Conditions. *J. Food Sci.* 2000;65: 1060-1065.
3. Yamaguchi F., *et al* Free Radical Scavenging Activity and Antiulcer Activity of Garcinol From *Garcinia indica* Fruit Rind. *J. Agric. Food Chem* 2000;48:2320-2325.
4. Halliwell B. Antioxidantes. 636-642. (En: Elihard E., Ziegler E., Fuer L. Conocimientos Actuales sobre Nutrición. 7 ed. México: Instituto Internacional de Ciencias de la Vida, 1996. XV+73 lp).
5. Yen G, Chen H, Peng H. Antioxidant and Pro-Oxidant Effects of Various Tea Extracts. *J. Agric. Food Chem.* 1997;45:30-34.
6. Martínez I, Periago M, Rose G. Significado Nutricional de los Compuestos Fenólicos de la Dieta. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición.* 2000;50:5-15.
7. Standley L, *et al*. Influence of Processing Stage on Antimutagenic and Antioxidant Potentials of Rooibos Tea. *J. Agric. Food Chem.* 2001;49:114-117.
8. Caballeros, K. Optimización de dos Métodos para el Tamizaje de la Actividad Antioxidante de Extractos Vegetales. Guatemala: Universidad de San Carlos, (Tesis de Graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia)2001. 54 p. (pp 1, 38, 43)

Agradecimientos

Esta investigación fue financiada por el Departamento de Bioquímica de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia.

Agradecemos la colaboración y el apoyo a la Licenciada Kenia Caballeros.