

Antocianinas totales, fenoles totales y actividad antioxidante en pulpas de frutas

Total anthocyanins and phenols and antioxidant activity in fruit pulps

Luis Francisco Márquez Villacorta¹, Frank Edwin Torres Infante¹,
Carla Consuelo Pretell Vásquez²

RESUMEN

En este trabajo se determinó el contenido de antocianinas totales, fenoles totales y actividad antioxidante en pulpas de frutas de la Región La Libertad y Cajamarca. Los resultados indicaron un contenido de antocianinas totales de 140,3 y 120,2 mg cianidina 3-glucósido/100 g muestra, para el pushgay y sauco, respectivamente. El contenido de fenoles totales fue de 464,4 y 427,7 mg de catecol/100 g muestra para la fresa y pushgay, respectivamente.

La actividad antioxidante obtenida a partir del radical ABTS fue directamente correlacionada con el contenido de antocianinas totales y fenoles totales, reportándose valores en el rango de 132,6 - 103,4 mg/100 g muestra y 24,1 - 16,7 μM TE/g muestra, para la actividad antioxidante equivalente en vitamina C y la actividad antioxidante equivalente al Trolox, respectivamente.

Palabras clave: Antocianinas, compuestos fenólicos, actividad antioxidante, pulpas de frutas.

ABSTRACT

In this research, total anthocyanins, total phenolics and antioxidant activity in La Libertad and Cajamarca fruits pulps were evaluated. The results indicated a total anthocyanins content of 140,3 and 120,2 mg cyanidin 3-glucoside/100 g of sample for pushgay and sauco, respectively. The total phenolics content was 464,4 and 427,7 mg de catechol/100 g of sample for strawberry and pushgay, respectively.

The antioxidant activity obtained from ABTS radical, was directly connected to total anthocyanins and total phenolics with values in the range of 132,6 - 103,4 mg/100 g of sample y 24,1 - 16,7 μM TE/g of sample for antioxidant activity equivalent of Vitamin C and antioxidant activity equivalent of Trolox, respectively.

Key words: Anthocyanins, phenolics compounds, antioxidant activity, fruits pulps.

¹ Ingeniero en Industrias Alimentarias. Profesor de la Escuela Profesional de Ingeniería en Industrias Alimentarias. UPAO.

² Ingeniera en Industrias Alimentarias. Egresada de la UPAO.

I. INTRODUCCIÓN

El elevado consumo de frutas y vegetales está asociado con la reducción del riesgo de diversas enfermedades crónicas tales como: el cáncer, afección cardiovascular, alteración coronaria, aterosclerosis y otros males relacionados a la edad. Las investigaciones concluyen que los principales compuestos con actividad antioxidante en las frutas y vegetales incluidos en la dieta son las vitaminas C, E, carotenos y otros fitoquímicos (compuestos no nutritivos) tales como los flavonoides, isoflavonas, antocianinas, ácidos fenólicos y catequinas (Kaur y Kapoor, 2002; Alasalvar y otros, 2005).

La actividad antioxidante de los compuestos fenólicos se debe principalmente a sus propiedades de óxido reducción que les permite actuar como agentes reductores mediante la donación de un hidrógeno, sustracción de oxígeno singleton y quelación de metales. Esto confiere a los compuestos fenólicos una gran capacidad de captar radicales libres causantes del estrés oxidativo (Kaur y Kapoor, 2002; Kuskoski y otros, 2005).

Las frutas fuertemente coloreadas con un alto nivel de antocianinas, tales como la grosella negra, baya de sauco y arándano poseen típicamente una alta capacidad antioxidante, la que es evaluada y correlacionada con el contenido total de compuestos fenólicos y de antocianinas (Kalt, 2005).

Cajamarca y muchos otros lugares del país, en su rica y variada geografía, cuenta con diversos pisos ecológicos en donde, desde tiempos pre-hispánicos, se desarrollan grandes cantidades de especies alimenticias desaprovechadas o subaprovechadas, muchas de ellas todavía sin la atención del hombre y las instituciones a pesar de sus posibilidades de alimentación, nutrición y salud, inclusive,

pueden constituirse en potenciales rubros de agroexportación no tradicional. En el caso de las frutas: saúco, tomatillo, zarzamora, poro poro, lanche y pushgay, entre otros (CIPCA, 2005). Adicionalmente en los valles de la costa de La Libertad existen frutas como la fresa, sandía y ciruela que pueden presentar un elevado potencial de actividad antioxidante debido a la coloración que presentan en sus pulpas (MINAG, 2006).

El interés por el rol de los antioxidantes en la salud humana promueve la realización de investigaciones en los campos de la horticultura, la ciencia de alimentos y la nutrición, para determinar, la actividad antioxidante de las antocianinas, fenoles, carotenoides y vitaminas antioxidantes de frutas y hortalizas (Alasalvar y otros, 2005).

El presente trabajo de investigación tiene como objetivo, determinar el contenido de antocianinas totales, fenoles totales y actividad antioxidante en pulpas de frutas de la Región La Libertad y Cajamarca.

II. MATERIAL Y MÉTODOS

Lugar de ejecución

Las pruebas experimentales y análisis fueron realizados en los laboratorios de Ingeniería en Industrias Alimentarias y Biología de la Universidad Privada Antenor Orrego de Trujillo.

Materias primas

Se usó sauco (*Sambucus peruviana*) y pushgay (*Pernettya prostrata*) del distrito de Matara, región Cajamarca; fresa (*Fragaria vesca*) del distrito de Menocucho, región La Libertad; ciruela (*Spondias purpurea*) y sandía (*Citrullus vulgaris*) del distrito de Virú, región La Libertad.



(a)



(b)

Figura 1. Bayas de sauco (a) y pushgay (b).

Reactivos

Se emplearon: Trolox (ácido 6-hidroxi-2, 5, 7, 8 - tetrametilcromo - 2 - ácido carboxílico, 97%); y ácido ascórbico (Sigma-Aldrich Chemical Co., Gillingham, Dorset, UK) como antioxidante de referencia. ABTS (ácido 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolin)-6-sulfónico) de Sigma-Aldrich (Dorset, UK). Persulfato de potasio, carbonato de sodio, catecol y el reactivo de Folin-Ciocalteu; de Merck Co. (Darmstadt, Germany).

Obtención de las pulpas de frutas

Las frutas que fueron seleccionadas no mostraron daño físico, químico o biológico, fueron lavadas con agua (50 ppm de hipoclorito de sodio) para eliminar impurezas y disminuir la carga microbiana; a continuación fueron escaldadas con vapor de agua a 90 °C por un tiempo entre 1-3 minutos, a fin de inactivar enzimas causantes del deterioro, tales como la polifenoloxidasas y peroxidasa. Se continuó con un enfriado hasta temperatura ambiente, para luego realizar un licuado y tamizado con una malla N° 30 (425 µm) para obtener las pulpas de frutas. Finalmente, éstas fueron envasadas en bolsas de polietileno y almacenadas en una congeladora a -22 °C hasta su evaluación.

Técnicas analíticas

A. Determinación de sólidos solubles

Según lo recomendado por la AOAC (1997), se utilizó un refractómetro calibrado a 20 °C.

B. Determinación del pH

Según lo recomendado por la AOAC (1997), se utilizó un potenciómetro digital calibrado a 20 °C.

C. Determinación del contenido de antocianinas totales (AT)

Según lo descrito por Kuskoski y otros (2005), el cual se describe a continuación.

Método por diferencia de pH

La extracción de las antocianinas se realiza colocando 10 g de pulpa congelada con 40 mL de etanol grado alimentario al 80% acidificado con HCl 0,1 M (pH 2), bajo agitación magnética a sombra durante 2 horas. Los extractos son centrifugados a 4200 rpm por 15 minutos y separados los sobrenadantes.

Se utiliza dos sistemas tampón: ácido clorhídrico/ cloruro de potasio de pH 1,0 (0,025 M) y ácido acético/ acetato sódico de pH 4,5 (0,4 M). A 0,2 mL de una muestra diluida (para conseguir una absorbancia en el rango de

0,1-1,2 a 510 nm), se añadió 1,8 mL de la correspondiente disolución tampón y se mide la absorbancia en un Espectrofotómetro Génesis-6 (Thermo Spectronic, Rochester, USA) frente a un blanco a 510 y 700 nm. Se calcula la absorbancia final a partir de:

$$A = (A_{510\text{ nm}} - A_{700\text{ nm}})_{\text{pH } 1,0} - (A_{510\text{ nm}} - A_{700\text{ nm}})_{\text{pH } 4,5}$$

La concentración de pigmentos monoméricos en el extracto se expresa en cianidina 3-glucósido.

$$\text{Antocianinas monoméricas (mg/100 g)} = \frac{A \times \text{PM} \times \text{FD} \times 100}{X \times 1}$$

A : absorbancia

PM: peso molecular

FD: Factor de dilución

: absortividad molar

La concentración final de antocianinas (mg/100 g muestra) se calcula en base al volumen de extracto y peso de muestra. Se expresa en cianidina 3-glucósido (PM: 449,2 y : 26900).

D. Determinación del contenido de fenoles totales (FT)

Según lo descrito por Kaur y Kapoor (2002), el cual se describe a continuación.

En 40 mL de etanol grado alimentario al 80%, 10 g de muestra es homogenizado por 2 horas bajo sombra en un cuarto a temperatura ambiente, y centrifugados a 4200 rpm por 15 minutos y el sobrenadante es guardado. El residuo fue re-extraído 2 veces con etanol acuoso al 80% y los sobrenadantes son luego combinados y evaporados hasta sequedad en un cuarto a temperatura ambiente. Los residuos son disueltos en 5 mL de agua destilada. Se diluye 100 L de este extracto en 3 mL de agua destilada y luego 0,5 mL del reactivo de Folin-Ciocalteu son adicionados. Después de 3 minutos, se adicionan 2 mL de carbonato de sodio al 20% y los contenidos son mezclados vigorosamente. La absorbancia del color desarrollado después de 60 minutos es medida en un Espectrofotómetro Génesis-6 (Thermo Spectronic, Rochester, USA) a 650 nm, usando catecol como estándar. Los resultados son expresados como mg catecol/ 100 g de muestra.

E. Determinación de la actividad antioxidante

Según la metodología desarrollada por Re y otros (1999) y descrita por Kuskoski y otros (2005).

Método ABTS

El radical ABTS•+ se obtiene tras la reacción de ABTS (7 mM) con persulfato de potasio (2,45 mM, con-

centración final) incubados a temperatura ambiente (± 25 °C) y en la oscuridad durante 16 h. Una vez formado el radical ABTS•+ se diluye con etanol hasta obtener un valor de absorbancia comprendido entre 0,70 ($\pm 0,1$) a 754 nm (longitud de onda de máxima absorción). Las muestras filtradas (antocianinas) se diluyen con etanol hasta que se produce una inhibición del 20 al 80%, en comparación con la absorbancia del blanco, tras añadir 20 μ L de la muestra. A 980 μ L de dilución del radical ABTS•+ así generado se le determina la absorbancia a 754nm y 30 °C en un Espectrofotómetro Génesis-6 (Thermo Spectronic, Rochester, USA), luego se añade 20 μ L de la muestra (dilución de antocianinas) y se mide de nuevo la absorbancia a 754nm pasado 1 minuto. El antioxidante sintético de referencia, Trolox, se ensaya a una concentración de 0-15 μ M (concentración final) en etanol, en las mismas condiciones, lo que se hace también con ácido ascórbico (0-20 mg/100 mL). Los resultados se expresan en TEAC (actividad antioxidante equivalente a Trolox) y en VCEAC (actividad antioxidante equivalente a vitamina C), en este último caso por tratarse de alimentos.

Análisis estadístico

La determinación de antocianinas totales y fenoles totales se realizaron por triplicado. Los resultados obtenidos fueron analizados en las medidas estadísticas descriptivas de la media y la desviación estándar con la ayuda del MS-EXCEL 2007.

III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En los Cuadros 1 y 2 se presentan las medidas estadísticas descriptivas de la media y la desviación estándar del contenido de antocianinas y fenoles totales en las pulpas de frutas; cuyos valores variaron debido a factores genéticos, ambientales, grado de madurez y condiciones de manejo postcosecha de cada cultivo (Kalt, 2005).

Los bajos valores de la desviación estándar, demuestran que existió una baja dispersión en la determinación de los datos, lo cual valida las técnicas de análisis utilizadas.

El contenido de sólidos solubles, pH, antocianinas totales y fenoles totales en las pulpas de frutas se muestran en el Cuadro 3.

Cuadro 1
MEDIA Y DESVIACIÓN ESTÁNDAR DEL CONTENIDO DE
ANTOCIANINAS TOTALES EN LAS PULPAS DE FRUTAS

Repetición	AT (mg cianidina 3-glucósido/100 g muestra)			
	sauco	pushgay	fresa	sandía
1	112,6	142,2	11,5	0,7
2	127,8	138,3	8,5	0,2
3	120,3	140,5	13,2	0,4
Media	120,2	140,3	11,1	0,4
D. Estándar	7,6	2,0	2,4	0,3

Cuadro 2
MEDIA Y DESVIACIÓN ESTÁNDAR DEL CONTENIDO DE
FENOLES TOTALES EN LAS PULPAS DE FRUTAS

Repetición	FT (mg catecol/100 g muestra)				
	sauco	pushgay	fresa	sandía	ciruela
1	185,2	433,6	473,2	10,6	161,3
2	174,1	423,8	461,6	7,2	153,2
3	176,6	425,6	458,4	8,5	158,1
Media	178,6	427,7	464,4	8,8	157,5
D. Estándar	5,8	5,2	7,8	1,7	4,1

Cuadro 3
CONTENIDO DE SÓLIDOS SOLUBLES, pH, ANTOCIANINAS TOTALES (AT)
Y FENOLES TOTALES (FT) EN LAS PULPAS DE FRUTAS

Muestra	Sólidos solubles (° Brix)	pH	Antocianinas totales (mg/100 g)	Fenoles totales (mg/100 g)
sauco	7,0	4,1	120,2	196,5
pushgay	12,6	3,0	140,3	427,7
fresa	6,6	3,3	11,1	464,4
sandía	8,0	5,3	0,4	8,8
ciruela	18,0	3,7	nd*	157,5

* nd: no detectada

Cuadro 4
ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE EN LAS PULPAS DE FRUTAS EXPRESADAS EN
EQUIVALENTES DE VITAMINA C (VCEAC) O EQUIVALENTES A TROLOX (TEAC)

Muestra	Actividad antioxidante ABTS	
	VCEAC ^a	TEAC ^b
sauco	112,1	22,5
pushgay	103,4	16,7
fresa	132,6	24,1
sandía	nd	8,3
ciruela	124,0	23,4

a: actividad antioxidante equivalente en vitamina C (mg/100 g muestra).

b: actividad antioxidante equivalente al Trolox (mM TE/g muestra).

Las pulpas de pushgay y sauco presentaron los mayores contenidos de antocianinas totales, la fresa en grado menor, mientras que en la sandía casi no hubo presencia.

Se han reportado valores en un rango de 125,62 - 133,33 mg cianidina 3-glucósido/100 g muestra en 7 cultivos de Mora (Viera, 2006) y un contenido de 99,9 mg cianidina 3-glucósido/100 g muestra en frutos de arándanos de arbusto alto (Skrede y otros, 2000). También valores de 67,1, 54,9 y 46,7 mg cianidina 3-glucósido/100 g muestra para frutos de cereza, frambuesa y ciruela, respectivamente (Kim y Padilla, 2004).

La variación en el contenido de antocianinas totales en las frutas es explicable en el sentido de que la maduración de las frutas está típicamente acompañada por cambios sustanciales en el perfil de compuestos fenólicos antioxidantes. Por ejemplo, los cambios en el color de las frutas durante la maduración incrementan el contenido de antocianinas. La relación entre la madurez de la fruta, contenido de fenoles y capacidad antioxidante difiere entre los cultivos de frutas (Kalt, 2005). Los resultados

obtenidos confirman que el color intenso del pushgay y sauco se relacionan con los altos contenidos de antocianinas totales (140,3 y 120,2 mg cianidina 3-glucósido/100 g muestra).

Las antocianinas han demostrado tener la capacidad de reparar y proteger la integridad de ADN, reducir el estrés oxidativo y mejorar la función cognitiva del cerebro humano. Pruebas realizadas in vivo con extractos de semillas de arándano silvestre, arándano rojo-agrio, sauco y frambuesa demostraron un significativo poder anti-angiogénico y anti-carcinogénico, es decir, la habilidad de reducir la formación de várices y tumores, respectivamente (Bagchi y otros, 2004).

Los contenidos totales de flavonoides, antocianinas y compuestos fenólicos no flavonoides se obtuvieron al determinar los fenoles totales, estos en las frutas suelen determinarse en ácido gálico, pero también pueden ser expresados en otros compuestos fenólicos como es el caso del catecol, tal como se realizó en esta investigación y se muestra en el Cuadro 3.

Las pulpas de fresa y pushgay mostraron niveles de fenoles totales de 464,4 y 427,7 mg de catecol/100 g muestra, respectivamente. Estos valores son ligeramente inferiores a los reportados por Kuskoski y otros (2005), para acerola y mango (580,1 y 544,9 mg de ácido gálico/100 g muestra, respectivamente). Además los valores de 398,5, 341,5 y 334,2 mg ácido gálico /100 g muestra, han sido reportados para frutos de cereza, frambuesa y ciruela, respectivamente (Kim y Padilla, 2004).

El sauco y ciruela denotaron valores entre 196,5 y 157,5 mg de catecol/100 g muestra, respectivamente, mientras que en la sandía casi no hubo presencia.

Los resultados obtenidos en la determinación de la actividad antioxidante a partir del radical ABTS en las pulpas de frutas expresadas en equivalentes de Vitamina C (VCEAC) o equivalentes a Trolox (TEAC) se muestran en el Cuadro 4.

Los valores de actividad antioxidante obtenidos a partir del radical ABTS para las pulpas de frutas evaluadas fueron elevados, a excepción de la sandía. Se encontró valores en el rango de 132,6 - 103,4 mg/ 100 g muestra y 24,1 - 16,7 μ M TE/g muestra, para el VCEAC y TEAC, respectivamente.

Valores similares fueron reportados por Kuskoski y otros (2005), para la actividad antioxidante de acaí, uva y mora con 163,4, 161,5 y 125,8 mg/ 100 g muestra; 9,1, 8,5 y 6,4 μ M TE/g muestra, para el VCEAC y TEAC, respectivamente. Estos valores sólo son superados por la actividad antioxidante de la acerola con 1198,9 mg/ 100 g muestra y 66,5 μ M TE/g muestra, para el VCEAC y TEAC, consecutivamente.

Cabe mencionar que la actividad antioxidante de un alimento no viene dada sólo por la suma de la capacidad antioxidante de sus componentes, sino también del microambiente donde se encuentran los compuestos (Kuskoski y otros, 2005). La determinación de la actividad antioxidante expresada en ácido ascórbico, se justifica en comparación con el Trolox que es un antioxidante sintético muy empleado en diversas investigaciones, pues la vitamina C es un nutriente que se encuentra en la dieta diaria al estar presente en muchos alimentos especialmente las frutas.

IV. CONCLUSIONES

Las pulpas de frutas procedentes de la región La Libertad y Cajamarca presentaron elevados valores de actividad antioxidante obtenidos a partir del radical ABTS, a excepción de la sandía. Existió una correlación directa entre los valores de antocianinas totales y fenoles totales con la actividad antioxidante en las pulpas de frutas.

Los resultados obtenidos permiten recomendar al pushgay, sauco, fresa y ciruela como frutas promisorias para una producción dirigida a contar con volúmenes comerciales para la industria, debido a su elevado contenido de compuestos benéficos para la salud, lo cual mejoraría la calidad de vida de los pequeños agricultores en las regiones de La Libertad y Cajamarca.

V. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alasalvar C, Al-Farsi M, y Shahidi F. 2005. Compositional characteristics and antioxidant components of cherry laurel varieties and pekmez. *Journal of food science* 70: 47-52.
- AOAC. 1997. *Official Methods of Analysis of the Official Agricultural Chemist*. 17th Edition. USA.
- Bagchi D, Sen CK, Bagchi M y Atalay M. 2004. *Biochemistry Moscow* (69).
- CIPCA. Centro de investigación y promoción del campesinado. Disponible en <http://www.cipca.pe/cipca/webir/articuloscajamarca/articulo23.htm>.
- Kalt W. 2005. Effects of production and processing factors on major fruit and vegetable antioxidants. *Journal of food science* 70: 11-19.
- Kaur C, y Kapoor H. 2002. Antioxidant activity and total phenolic content of some asian vegetables. *International journal of food science and technology* 37:153-161.
- Kim D, y Padilla O. 2004. Jam processing effect on phenolics and antioxidant capacity in anthocyanin-rich fruits: cherry, plum and raspberry. *Journal of food science* 69: 395-400.
- Kuskoski E, Asuero A, Troncoso A, Marcini F, y Fett R. 2005. Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. *Ciencia y Tecnología de Alimentos* 25: 726-732.
- MINAG. Ministerio de Agricultura. Cultivo de Saúco. Disponible en http://www.minag.gob.pe/rrnn_saucos.html. Fecha de Búsqueda: Agosto, 2006.
- Skrede G, Wrolstad R, y Durst R. 2000. Changes in anthocyanins and polyphenolics during juice processing of highbush blueberries. *Journal of food science* 65: 357-364.
- Viera R. 2006. Caracterização do suco de amora-preta elaborado em extrator caseiro. *Ciencia y tecnología de alimentos* 26:303-308.