

ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE Y CONTENIDO DE COMPUESTOS FENÓLICOS EN PULPAS DE FRUTAS TROPICALES FRESCAS MÍNIMAMENTE PROCESADAS (MPR).

ANTIOXIDANT ACTIVITY AND THE TOTAL PHENOLIC COMPOUNDS CONTENT IN FRESH TROPICAL FRUIT PULPS MINIMALLY PROCESSED (MPR).

Dra. Isabel J. García G., Ph.D
Universidad de La Habana, C. de la Habana, Cuba.

Dr. Víctor M. Huerta, Ph.D
Universidad Popular Autónoma del Estado de Puebla,
(UPAEP), Puebla, México.

RESUMEN

Las pulpas de frutas procesadas mínimamente y refrigeradas (MPR), es una posibilidad práctica de disponibilidad frente a la demanda creciente de los consumidores de adquirir productos frescos de alta calidad. El mango (*Manguifera indica* L), el mamey (*Pouteria sapota* L) y la piña (*Ananas comosus* L) fueron las frutas tropicales seleccionadas para su caracterización antioxidante. En estudios epidemiológicos se ha demostrado que el consumo elevado de frutas y verduras podrían proteger contra diversas enfermedades crónicas. Se determinó el poder antioxidante y el contenido de compuestos fenólicos totales de las tres frutas tropicales seleccionadas cultivadas en Cuba, de forma fresca y mínimamente procesadas (MPR). Se utilizaron solventes de diferentes solubilidades para la extracción y liberación de compuestos antioxidantes de las pulpas de las frutas y se evaluó su poder antioxidante (método ABTS) y contenido de compuestos fenólicos (Folin C.). El MPR fue un método eficaz y sencillo para preservar las propiedades antioxidantes y la frescura de pulpas de frutas tropicales durante seis meses.

PALABRAS CLAVES: Antioxidantes, compuestos fenólicos, frutas, procesamiento mínimo refrigerado.

ABSTRACTS

The fruit pulp minimally processed and refrigerated (MPR), is a practical possibility of addressing against the growing consumer demand of purchasing high quality fresh products. The mango (*Manguifera indicata* L), mamey (*P. sapota* L) and pineapple (*Ananas comosus* L) were chosen for their antioxidant characterization as tropical fruits. Epidemiological studies have shown that high consumption of fruits and vegetables may protect against various chronic diseases. The antioxidant power and the content of total phenolic compounds in the three selected tropical fruits grown in Cuba, in a fresh and minimally processed form (MPR) were determined. Solvents from different solubilities were used for extracting and releasing antioxidant compounds from the fruit pulp. Its antioxidant power (ABTS method) and phenolic content were evaluated. MPR was an effective simple method to preserve the antioxidant properties and freshness of tropical fruit pulps during six months.

KEY WORDS: Antioxidants, phenolic compounds, fruit, minimally processed & refrigerated.

INTRODUCCIÓN

Los compuestos fenólicos en los alimentos desde la década de los años 90 han provocado gran interés debido a la creciente evidencia de sus efectos beneficiosos sobre la salud humana. El interés se debe principalmente a estudios epidemiológicos (EE) que indican una asociación inversa entre la ingesta de alimentos ricos en estos compuestos y la incidencia de enfermedades, tales como enfermedades cardiovasculares, diabetes mellitus, y el cáncer dentro de las enfermedades crónicas no transmisibles ubicadas en las primeras causas de fallecimientos en adultos en el mundo. (Arts, 2005; Lambert y col, 2009).

El asesoramiento dietético actual para la conservación de la salud, sugiere un consumo óptimo de al menos 5 porciones de frutas y verduras todos los días, y cada porción con un mínimo de 80 gramos, donde un 25 por ciento de los vegetales debe ser procesado por cocción. (Dietary Guidelines for Americans, 2005). Las evidencias epidemiológicas que revelan el beneficio de consumir una dieta rica en alimentos que contienen polifenoles son numerosas. Por el contrario, el consumo individual de los mismos, no han resultado tan convincentes resultados, por lo que es más aconsejable recomendar se consuma tanta variedad de frutas y vegetales como sea posible.

Aunque gran parte de la evidencia sobre los efectos beneficiosos de los polifenoles de la dieta se deriva de experimentos realizados *in vitro* e *in vivo* en modelos animales, se han realizado mediante el uso de concentraciones mucho mayores que las usualmente contenidas en la dieta humana, el consumo frecuente y abundante de frutas si lo demuestran.

Puesto que los compuestos fenólicos en fuentes dietéticas exhiben potentes propiedades de atrapamiento de radicales, se pensaba que su función principal era su papel antioxidante (AO) participando en la protección contra la peroxidación lipídica. Sin embargo, en la última década, el modo de acción de estos compuestos han resultado ser más complejo y amplio de lo que originalmente se esperaba. (Halliwell, 2005)

Los polifenoles podrían ejercer otros efectos biológicos específicos. Ellos pueden inhibir la proliferación de células carcinogénicas y participar en la absorción de colesterol (Noratto, et al., 2009), modular diferentes enzimas incluyendo la telomerasa ciclooxigenasa y la lipoxigenasa, e

interactuar en varias vías de transducción de señales. (Rosenblat y Aviram, 2009).

Para establecer una prueba concluyente de la efectividad de los polifenoles en la prevención de enfermedades y la mejora de la salud humana, es esencial determinar la distribución de estos compuestos en nuestra dieta, la estimación de su contenido en cada comida, e identificar cuáles de los cientos de polifenoles existentes son probables de proporcionar los mejores efectos beneficiosos en el contexto de la nutrición preventiva. Finalmente, es necesario conocer la biodisponibilidad de los polifenoles y sus metabolitos, para evaluar su actividad biológica en los tejidos diana. (Porrini y Riso, 2008).

Las investigaciones realizadas con grupos de voluntarios con alta (500g) y baja (100g) ingesta de frutas y verduras muestran una variación significativa en el consumo de vitaminas y carotenoides antioxidantes en ambos grupos, así como las diferencias en los niveles sanguíneos de los diferentes tipos de carotenoides, folatos y homocisteína (Broekmans, et al., 2000).

Los flavonoides son compuestos polifenólicos presentes en frutas y verduras, algunos de ellos, tales como kaemferol, quercetina, mericetina y catequinas ha sido demostrado que tiene actividad antioxidante como propiedades antiinflamatorias, antialérgicas, anticancerígenas y antihemorrágica, aunque mucho se ha discutido sobre la biodisponibilidad de estos compuestos. (Wiseman, 1999). Muchos de estos fenoles se han demostrado de ser antioxidantes más potentes que las vitaminas C, E y beta carotenos a través de un modelo basado en la oxidación de LDL. (Vinson, et al., 1995).

Los métodos para medir la actividad antioxidante total proporcionan una idea más completa de esta propiedad en los productos alimenticios, ya que detectan la acción antioxidante de las sustancias que poseen tal propiedad y tiene en cuenta su interrelación y sinergismo. Además se hace posible conocer el potencial antioxidante de las sustancias sin conocer su identidad y concentración, como diversos compuestos fenólicos (Miller y Rice Evans, 1996).

Se encontró una correlación significativa entre la actividad antioxidante total por el método ABTS y el contenido en fenoles totales en alimentos de origen vegetal (García, et al., 2000; Vinson 1998), lo que justifica en muchos casos la influencia de los compuestos,

fenólicos como antioxidantes en frutas.

En el presente trabajo se evaluó el estado antioxidante de tres frutas tropicales (mango, mamey y piña) y el contenido de fenoles totales, tanto en pulpas de frutas frescas como mínimamente procesadas y refrigeradas (MPR). Las determinaciones se realizaron por extracción de compuestos fenólicos con metanol/acetona respectivamente. Determinaciones en frutas MPR se realizaron después de tres y seis meses de conservación con buenos resultados.

MATERIALES Y MÉTODOS

Preparación de la muestra.

Extracción de compuestos antioxidantes de frutas frescas.

Las frutas tropicales seleccionadas fueron mango (*Mangifera indica* L), mamey (*Pouteria sapota* L) y piña (*Ananas comosus* L). El mango recibió un breve tratamiento térmico a 65° C durante 1 min por ser una fruta más sensible a la contaminación por microorganismo. Se seleccionaron frutas frescas y en estación en dos mercados diferentes, se beneficiaron a través de lavado, desinfección, pelado y cortado. Porciones de 300-500 mg se pesaron y se mezclaron con metanol / HCl 1,2 M al 50% para la extracción de antioxidantes.

Las suspensiones se homogenizaron en un Politron a 16000 rpm, dos veces durante 15 segundos manteniendo las muestras en hielo por un minuto, se centrifugaron a 12000 rpm por 5 min para obtener el sobrenadante, que se conservó a -20° C hasta su análisis antes de una semana.

Extracción de compuestos fenólicos.

Para obtener los compuestos fenólicos sin presencia de vitaminas termo sensibles y mayor variedad y concentración según su solubilidad se mantuvo una porción de las suspensiones de frutas a 90° C durante 2 horas con agitación esporádica, luego se centrifugó el homogenado a 12000 rpm por 5 min y el sobrenadante fue conservado a -20° C. El precipitado se resuspendió en acetona y se centrifugó nuevamente, posteriormente los sobrenadantes se mezclaron a partes iguales, (Vinson, et al., 1998). Todos los extractos se realizaron por duplicado.

Proceso Mínimo Refrigerado (MPR) en pulpas de frutas.

Las frutas seleccionadas por su perfecto estado y grado de maduración fueron lavadas y desinfectadas con solución

de peroxiacético 200 ppm y peladas.

Los trozos de frutas se mezclaron para una proporción de 30% w/w de sacarosa y fueron empacadas en bolsas de plástico desinfectados con ácido peroxiacético 200 ppm, en atmósfera de aire y se mantuvieron a 4 ° C.

MÉTODOS

Análisis de fenoles totales.

La cantidad de fenoles totales en pulpas de frutas tropicales se determinó empleando reactivo de Folin-Ciocalteu de acuerdo con los métodos de Liu et al., 2001, utilizando ácido fenólico como estándar, 200 µl de muestra fueron empleadas para el ensayo con 1,0 ml. de reactivo de Folin-Ciocalteu's y 0,8 ml. de Na₂CO₃ (7,5%). La absorbancia se midió a 765 nm. usando un espectrofotómetro Thermo Electron Corporation. Después de incubar a 30° C durante 1,5 h. Los resultados se expresaron como miligramos de equivalente de ácido fenólico (PAE) por gramo de peso fresco de la fruta. Se empleó para la determinación de la actividad antioxidante total el Kit de estado antioxidante (TAS) espectrofotométrico comercializado por Randox Laboratorios Ltd. (Pat 2250819) basado en el método del ABTS generador de radicales y efecto antioxidante es medido por la disminución de la velocidad de su formación en un tiempo final de 3 min. Usando Trolox como estándar (Miller y Rice Evans, 1996).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los alimentos de origen vegetal son fuentes importantes de diferentes compuestos con actividad antioxidante, sus reacciones principales están descritas a través de mecanismos de atrapamiento de radicales libres y en numerosos casos provocan la inhibición de la peroxidación lipídica en diferentes modelos (Wang, et al., 1996).

La Tabla 1 muestra la actividad antioxidante total y el contenido de compuestos fenólicos de frutas frescas. El Mamey mostró el más alto potencial antioxidante, así como el valor más alto de compuestos fenólicos, el mango presentó un alto valor TAS con un contenido de fenoles totales menos elevado en relación al mamey, estas diferencias de comportamiento pueden deberse a la interacción de las sustancias antioxidantes, siendo la piña la que presentó los valores de capacidad antioxidante menor en comparación con el resto de las frutas estudiadas.

En la tabla 2, se muestran los resultados de poder antioxidante donde las muestras de extracción de sustancias fenólicas empleadas abarca una gama más amplia de estos compuestos teniendo en cuenta

sus solubilidades al ser extraídos a través de dos solventes (metanol y acetona), que permiten la presencia de sustancias de solubilidad intermedia y apolar, características de la mayoría de los polifenoles.

Tabla 1: Estatus Antioxidante Total (TAS) y concentración de Fenoles Totales de frutas tropicales.

FRU-TAS	TAS (Estado antioxidante Total) mN de eq de Trolox/g (p.h)	Fenoles Totales Mg de (eq AF)/g (p.h)
Mango	15.34 (\pm 1.04)	3.308 (\pm 0.9)
Mamey	18.20 (\pm 1.07)	6.704 (\pm 1.3)
Piña	10.91 (\pm 1.03)	1.632 (\pm 0.8)

Fuente: Elaboración propia

Tabla 2: Concentración de Fenoles Totales y Estatus Antioxidante Total (TAS) de frutas tropicales procesadas por MPR

FRUTAS	Fenoles Totales Mg de (eq AF) /g (p.h)	Estatus antioxidante total (TAS) nM de eq de Trolox /g (p.h)		
		Tiempo Inicial	3 meses	6 meses
Tiempo de conservación				
Mango	3.308 (\pm 0.8)	23.42 (\pm 1.28)	23.56 (\pm 1.31)	22.55 (\pm 1.48)
Mamey	5.387 (\pm 0.9)	18.14 (\pm 1.25)	17.03 (\pm 1.22)	17,6 (\pm 1.34)
Piña	0.514 (\pm 1.1)	17.42 (\pm 1.28)	18.84 (\pm 1.30)	17.69 (\pm 1.21)

Fuente: Elaboración propia

En la mezcla de polifenoles se observó un aumento de la actividad antioxidante en el mango y la piña, esto podría estar relacionado posiblemente de los compuestos no polares extraídos, tales como diferentes carotenoides y algún porcentaje de vitamina E remanentes después de la exposición de las muestras a la temperatura de 90° C y la posible interrelación entre los compuestos antioxidantes presentes.

Dentro de los compuestos de origen fenólico soluble en disolventes no polares, se encuentra la quercetina, lo que podría estar presente en mayor proporción en el mango cuyo valor de TAS es de 4,28 mM de Trolox, siendo esta sustancias uno de los compuestos con más altos valores reportados por el kit Randox para los compuestos presentes en los alimentos (McCusker y FitzGerald, 1996).

El valor de la actividad antioxidante total del mango podría ser debido al hecho de que fue la única fruta que recibió un tratamiento térmico para garantizar su conservación, este proceso pudo contribuir a una ligera liberación de compuestos antioxidantes desde el interior de las células por ruptura de la pared celular.

Los componentes antioxidantes de mamey parecen concentrarse principalmente en componentes de naturaleza polar de solubilidad intermedia. En extracciones de esta naturaleza se han reportado sustancias fenólicas tales como hidroxiquinona, 1,2,3-trihidroxitolueno,

ningingina, Itaxifolin y kaempferol, soluble en etanol con valores de TAS en un intervalo de 1 a 3.38 mM de Trolox reportado por McCusker y FitzGerald, 1996.

Es muy importante la información sobre la potencialidad antioxidante total en los alimentos de acuerdo con su solubilidad con el propósito de la elaboración de platos, combinando variables físicas como la temperatura y químicas como la solubilidad para propiciar la exposición de las sustancias antioxidantes incluidos los métodos de preparación donde puede primar los aceites, las sustancias ácidas como las del limón y vinagre o simplemente el agua, con estos propósitos.

La disponibilidad de los carotenoides como su ubicación intracelular es un factor importante para decidir la forma de elaboración del alimento usando o no el calor para romper las células vegetales.

La homogeneización mecánica y el tratamiento de calor aumentan la disponibilidad de estos compuestos carotenoides en los vegetales en seis veces su posibilidad de exposición, mientras que el contenido de grasa puede mejorar su absorción en dependencia de las características físico-químicas de los mismos, la cual oscila entre 3 a 5g por comida. (Van het Holf, et al., 2000).

Ferro-Luzzi, et al., en 1998 demostró la sinergia potencial entre diferentes componentes

antioxidantes, basado en un modelo peroxidación del ácido linoleico donde probó los efectos inhibitorios a la oxidación por la mezcla del ácido ascórbico y el ácido caféico así como con alfa tocoferol y quercetina.

El MPR fue un método de conservación efectiva para mantener la actividad antioxidante de las frutas evaluadas al menos durante seis meses, (fig. 2). Se obtuvieron resultados similares cuando las muestras se mantuvieron congeladas (-18° C).

No existió una relación proporcional entre la actividad antioxidante de los frutos evaluados y el contenido de fenoles totales, este comportamiento podría ser muy dependiente de las posibilidades de exposición de cada tipo de antioxidante y probablemente la posible interacción entre las relaciones que se establecen que permiten en algunos

casos el sinergismo, de ahí la importancia de una dieta con alto consumo de frutas y verduras frescas cocidas o no en proporciones definidas, así como en las diferentes preparaciones culinarias que se elaboran.

CONCLUSIONES

La actividad antioxidante total del mamey parece estar basada principalmente en compuestos fenólicos de solubilidad intermedia. Mientras que en el caso del mango y la piña pueda ser debido a la contribución de compuestos de diferentes tipos de solubilidades. La actividad antioxidante de las frutas estudiadas pudiera estar en general muy dependiente de la interacción de los componentes liberados durante la extracción que presentan estas propiedades. El método de conservación por MPR permitió conservar las frutas por 6 meses sin que perdieran sus propiedades antioxidantes.

BIBLIOGRAFÍA

- Broekmans, W.M.R., Klöpping-Ketelaars, I.A.A., Schuurman C.R., Verhagen H., van den Berg H, Kok F.J and van Poppel G. (2000). Fruits and Vegetables Increase Plasma Carotenoids and Vitamins and Decrease Homocysteine in Humans. *J. Of Nutrition*. Vol.130, N 6:1578.
- Dietary Guidelines for Americans 2005; US Department of Agriculture (USDA): Washington, DC, USA.
- Ferro-Luzzi, A, Salucci, M, Lázaro, R. (1998). Natural antioxidants and anticarcinogenes in nutrition health and disease. Ed Kumpulainen J.T. and Salonen. J.T. Cambridge. U.K.
- García, I., Fleites, P., Verdura, T., Ledesma, L. y Pérez-Cristía, R. (2000). Cantidad y Calidad antioxidante de Alimentos de origen vegetal consumidos en Cuba. *Revista Alimentaria*. N315: 103-108.
- Halliwell, B.; Rafter, J.; Jenner, A. (2005). Health promotion by flavonoids, tocopherols, tocotrienols, and other phenols: Direct or indirect effects? Antioxidant or not? *Am. J. Clin Nutrition*, 81, 2685-276S.
- Lambert, J.D.; Hong, J.; Yang, G.Y; Liao, J.; Yang, C.S. (2005). Inhibition of carcinogenesis by polyphenols: Evidence from laboratory investigations. *Am. J. Clin. Nutr.*, 81, 284S-291S.
- Mc.Cusker, C.A y FitzGerald, S.P. (1996). Measurement of total antioxidant status in beverages using a rapid automated method. *Laboratorios Randox Ltd., Ardmore, Diamond Road, Crumlin, Co. Antrim, United Kingdom, BT29 4QY.*
- Liu M, Li XQ, Weber C, Lee CY, Brown J, Liu RH. (2001). Antioxidant and antiproliferative activities of raspberries. *Journal of Agricultura Food and Chemical* 2001; 50:2926-2930.
- Miller, N. J., Rice-Evans CA. (1996). Spectrophotometric determination of antioxidant activity. *Redox Report*. 2(3): 161- 171.
- Noratto, G.; Porter, W.; Byrne, D.; Cisneros-Zevallos, L. (2009). Identifying peach and plum polyphenols with chemopreventive potential against estrogen - independent breast cancer cells. *J. Agric. Food Chem*, 57, 5219-5126.

BIBLIOGRAFÍA

- Patent UK 2250819. Determinación del Estado Antioxidante Total. Randox. Arts, I.C.; Hollman, P.C. (2005). Polyphenols and disease risk in epidemiologic studies. *Am. J. Clin. Nutr.*, 81, 3175-3255.
- Porrini, M.; Riso, P. (2008). Factors influencing the bioavailability of antioxidants in foods: A critical appraisal. *Nutr. Metab. Cardiovasc Dis*, 18, 647-650.
- Rosenblat, M; Aviram, M. (2009). Paraoxonases role in the prevention of cardiovascular diseases. *Biofactors*, 35, 98-104.
- Van het Hof, K.H., West C.E., Weststrate J.A. and Hautvast J.G. (2000). Dietary Factors That Affect the Bioavailability of Carotenoids. *J. Of Nutrition*.Vol.130.N 3: 503.
- Vinson, J.A., Hao, J, Su X. Y, Zobek, L. (1998). Phenol Antioxidant Quantity and Quality on Foods: Vegetables. *J. of Agric. and Food Chem.* V. 46, No 9: 3630-3634.
- Vinson, J.A., Dabbagh Y.A., Serry M, Jang, J. (1995). Plant flavonoids, especially tea flavonols, are powerful antioxidants using an in vitro oxidation model for heart disease. *J. Agric. Food chem.* 43: 2800-2802.
- Wang, H., Cao, G.Y., Prior, R.L. (1996). Total antioxidant Capacity of fruits. *J Agric. And Food Chemistry*. Vol. 44 No 3: 701-705.
- Willett, C.W. (1994). Diet and health: what I should eat? *Science*.264: 532-537.
- Wiseman, H. (1999). The bioavailability of non nutrient plant factors: dietary flavonoids and phyto-estrogens. *Proc. Nutr. Soc.* 58 (1): 139-146.



Dra. Isabel Josefa García García, Ph.D.

- *Facultad de Farmacia y Alimentos (IFAL) de la Universidad de La Habana (UH). Cuba*
- *Doctora en Ciencia de los Alimentos. Cuba (2001).*

Email: isabel.garciag@ug.edu.ec

Dr. Víctor M. Huerta, Ph.D.

- *Doctor en Tecnología de Alimentos. Universidad Popular Autónoma del Estado de Puebla, (UPAEP), Puebla, México.*

Email: huertavm@yahoo.com