

Evaluación de la actividad antioxidante de las pulpas de *Rubus glaucus* B, *Vaccinium floribundum* K y *Beta vulgaris* L

Evaluation of the antioxidant activity of pulps from *Rubus glaucus* B., *Vaccinium floribundum* K. and *Beta vulgaris* L.

Miladys Esther Torrenegra Alarcón,^{I-II} Oscar Luis Villalobos Lagares,^I Ernesto Alfonso Castellar Abello,^I Glicerio León Méndez,^{II-III} Clemente Granados Conde,^I Nerlis Paola Pajaro,^{IV} Melissa Soledad Caro Soto^{II-III}

^IUniversidad de Cartagena. Colombia.

^{II}Grupo de Investigación de Biotecnología e Innovación (GIBEI). Cartagena. Colombia.

^{III}Grupo de Investigación en Tecnología Farmacéutica, Cosmética y de Alimentos (GITFCA). Colombia.

^{IV}Universidad de Sucre. Colombia.

RESUMEN

Introducción: actualmente se ha demostrado una relación entre el consumo de alimentos con altos niveles de compuestos antioxidantes, los cuales están directamente asociados con la prevención de enfermedades.

Objetivos: evaluar la actividad antioxidante de las pulpas *Rubus glaucus* B, *Vaccinium floribundum* K y *Beta vulgaris* L.

Métodos: *Rubus glaucus* Benth variedad Castilla, *Vaccinium floribundum* K y *Beta vulgaris* L fueron adquiridas en un mercado local de la ciudad de Cartagena, Bolívar (10°25'25"N 75°31'31"O). La pulpa se obtuvo a partir del fruto (mora y agraz) y raíz (remolacha); y le se determinó pH, Brix, acidez titulable, índice de madurez, humedad, ceniza, grasa, proteínas, fibra cruda, carbohidratos y la actividad antioxidante fue determinada mediante la técnica de actividad antiradicalaria por el método DPPH, asimismo el contenido de fenoles totales se realizó por el método colorimétrico Folin-Ciocalteu.

Resultados: los sólidos solubles totales oscilaron entre 5,94 - 10,91 Brix, pH 2,9 - 5,96, ceniza 0,407 - 1,05 g/100 g, humedad 87,263 - 83,95 g/100 g, proteína 0,624 - 1,59 g/100 g, grasa 0,12 - 0,62 g/100 g, fibra cruda 2,107 - 3,637 g/100 g, carbohidratos 10,01 - 14,446 g/100 g para las pulpas de mora, agraz y remolacha.

Los resultados de la prueba de actividad antioxidante presentaron valores de IC₅₀ mediante la técnica de DPPH• en el rango de 53,33 - 141,88 µg/mL, lo cual está directamente relacionado con el contenido en fenoles.

Conclusiones: por lo tanto, la pulpa de *Rubus glaucus* Benth variedad Castilla, *Vaccinium floribundum* K y *Beta vulgaris* L, son considerados como promisorios para diseñar productos nutracéuticos por su elevada actividad antioxidante.

Palabras clave: *Rubus glaucus* B; *Vaccinium floribundum* K; *Beta vulgaris* L; actividad antioxidante; pulpa.

ABSTRACT

Introduction: A direct relationship has been proved to exist between consumption of foodstuffs with a high content of antioxidant compounds and disease prevention.

Objectives: Evaluate the antioxidant activity of pulps from *Rubus glaucus* B., *Vaccinium floribundum* K. and *Beta vulgaris* L.

Methods: *Rubus glaucus* Benth variety Castile, *Vaccinium floribundum* K. and *Beta vulgaris* L. were acquired at a local marketplace in the city of Cartagena, Bolívar (10°25'25"N 75°31'31"W). The pulp was obtained from fruits (Andean raspberry and Andean blueberry) and roots (beet). Determination was conducted of its pH, Brix, titratable acidity, maturation index, humidity, ash, fat, proteins, crude fiber, carbohydrates, and antioxidant activity using the technique of anti-radical activity by the DPPH method. Content of total phenols was determined by the Folin-Ciocaltey colorimetric method.

Results: Total soluble solids ranged between 5.94 - 10.91 Brix, pH 2.9 - 5.96, ash 0.407 - 1.05 g / 100 g, humidity 87.263 - 83.95 g / 100 g, protein 0.624 - 1.59 g / 100 g, fat 0.12 - 0.62 g / 100 g, crude fiber 2.107 - 3.637 g / 100 g, carbohydrates 10.01 - 14.446 g / 100 g for pulps from Andean raspberry, Andean blueberry and beet. Antioxidant activity testing using the DPPH• technique obtained IC₅₀ values of 53.33 - 141.88 µg/ml, directly proportional to phenol content.

Conclusions: It is therefore concluded that pulp from *Rubus glaucus* Benth variety Castile, *Vaccinium floribundum* K. and *Beta vulgaris* L., is considered to be promising for the design of nutraceutical products due to its antioxidant activity.

Keywords: *Rubus glaucus* B.; *Vaccinium floribundum* K.; *Beta vulgaris* L.; antioxidant activity; pulp.

INTRODUCCIÓN

Actualmente se ha demostrado una relación entre el consumo de alimentos con altos niveles de compuestos antioxidantes, principalmente flavonoides, antocianinas y betainas, los cuales están directamente asociados con la prevención de enfermedades cardiovasculares, envejecimiento prematuro, carcinogénesis, aterosclerosis.¹⁻³

Entre estos compuestos, las antocianinas son pigmentos naturales que se clasifican dentro del grupo de los flavonoides. Estos compuestos polifenólicos son solubles en agua, lo cual facilita su incorporación en una gran variedad de sistemas alimenticios acuosos.⁴ En las fuentes habituales de antioxidantes de la dieta, las frutas rojas y bayas son de mucha importancia al ser ricas en compuestos fenólicos, principalmente flavonoides, los cuales se caracterizan por su actividad anticarcinogénica, antiinflamatoria, antiaterogénica, antimicrobiana y antioxidante.¹

Dentro de las frutas que contienen un alto contenido de antocianinas se destacan *Rubus glaucus* B (mora), *Vaccinium floribundum* K (agraz) y *Beta vulgaris* L (remolacha), las cuales son cultivos importantes en Colombia, siendo comercialmente producidos en una amplia gama de regiones.

En tal sentido, la presente investigación tiene como objetivo evaluar la actividad antioxidante de las frutas *R. glaucus*, *V. floribundum* y *B. vulgaris*.

MÉTODOS

Se utilizaron plantas de *R. glaucus* variedad Castilla, *V. floribundum* y *B. vulgaris*, adquiridas en un mercado local de la ciudad de Cartagena, Bolívar (10°25'25"N 75°31'31"O). El material vegetal fue identificado en el Herbario Regional Catatumbo-Sarare (HECASE) de la Universidad de Pamplona (Colombia), registro nacional de colecciones biológicas. Los números de colección de dichas plantas fueron: Torrenegra M. N°01, N°02 y N°03 para *R. glaucus*, *V. floribundum*, y *B. vulgaris* respectivamente.

Las plantas de las tres especies se seleccionaron teniendo en cuenta que estuvieran libres de daños externos y presentaran madurez comercial; se lavaron y escaldaron a 90°C por cinco min. Las pulpas se obtuvieron mediante refinadora de malla 1.5 mm de abertura; se empacaron en bolsas herméticas y posteriormente se refrigeraron a una temperatura de 4 °C.⁵

El contenido de humedad se determinó según el método AOAC 930.15/90; el pH según el método AOAC 981.12/90 con un potenciómetro por inmersión del electrodo en la muestra, previa calibración con soluciones tampón de pH 2, 4, 7 y 10 a 25 °C; sólidos solubles según método AOAC 932.12/90 con un refractómetro digital HANNA, USA; la acidez se determinó por el método AOAC 942.05/90 por titulación con NaOH y se expresó como g/100 g de ácido cítrico para el agraz, ácido oxálico para la remolacha y ácido málico para la mora en 100 g de muestra.⁶

Los contenidos de fibra cruda, cenizas, grasa, carbohidratos y proteína se determinaron según la metodología descrita Morillas y Delgado.⁷

Determinación de fenoles totales

El contenido de fenoles totales se determinó por el método colorimétrico de Folin-Ciocalteu, se utilizó como reactivo una mezcla de ácidos fosfotungstácico y fosfomolibdídico en medio básico, que se reducen al oxidar los compuestos fenólicos, originando óxidos azules de wolframio (W_8O_{23}) y molibdeno (Mo_8O_{23}). Se construyó una curva patrón usando como estándar ácido gálico entre 50-500 $\mu\text{g/mL}$. Se diluyó el extracto correspondiente a una concentración en la cual el contenido de fenoles se encontrará dentro del intervalo de la curva patrón. Los resultados se expresaron como

mg de ácido gálico/250 mL de muestra. Las lecturas de las absorbancias se realizaron a 760 nm en un espectrofotómetro UV visible Thermo Scientific™ GENESYS 10S.⁸⁻¹⁰

Método del radical DPPH •

La actividad captadora de radicales libres DPPH• se determinó empleando el método descrito por Silva *et al.* con algunas modificaciones.^{11,12} 75 µL de muestra fueron adicionados a 150 µL de una solución metanólica de DPPH• (100 µg/mL) y se incubó a temperatura ambiente durante 30 min, luego de los cuales se determinó espectrofotométricamente la desaparición del radical DPPH• a 550 nm en lector de microplacas Multiskan Ex (Thermoscientific). Se utilizó ácido ascórbico como control positivo de captación de los radicales DPPH• (25 µg/mL). La IC₅₀ se determinó evaluando varias concentraciones seriadas de la muestra mediante análisis de regresión lineal. Los resultados se expresaron como la media ± el error estándar de la media (ESM) del porcentaje de captación del radical DPPH• relativo al grupo control. Se calculó el porcentaje de inhibición (% Inh) usando la siguiente ecuación:

$$\% \text{ Inhibición} = \frac{(A_0 - A_f)}{A_0} * 100$$

Donde:

A₀ y A_f: son los valores de absorbancia del blanco (solución de DPPH en alcohol) y la muestra (solución de DPPH más antioxidante disueltos en etanol), respectivamente.

Análisis Estadístico

Los resultados correspondientes a tres ensayos independientes se expresaron como el promedio ± ESM. Para la organización de los datos se empleó la hoja de cálculo MS Excel 2010, y para los análisis estadísticos el paquete GraphPad Prism V5.00 para Windows.

RESULTADOS

La tabla presenta las propiedades fisicoquímicas y bromatológicas de las pulpas de *R. glaucus*, *V. floribundum* y *B. vulgaris*.

Es importante resaltar también que, el método de Folin-Ciocalteu para la determinación de fenoles totales, no evalúa solo compuestos fenólicos, sino que determina simultáneamente otros compuestos reducidos; tampoco estima alguna posible interferencia por la presencia de otros compuestos químicos presentes en la muestra como azúcares o ácido ascórbico.⁷

La actividad antioxidante se evaluó mediante el método DPPH. Los resultados se expresan como actividad antiradicalaria o IC₅₀, la cual está definida como la concentración inhibitoria del 50 % del reactivo inicial (DPPH). Existe una relación inversamente proporcional que indica que a mayor IC₅₀ menor actividad antiradicalaria.¹³

Tabla. Propiedades fisicoquímicas y bromatológicas de las pulpas

Parámetro	<i>R. glaucus</i>	<i>V. floribundum</i>	<i>B. vulgaris</i>
Humedad (g/100 g)	87,263 ± 0,10	83,95 ± 0,05	87,22 ± 0,10
pH	2,90 ± 0,02	3,48 ± 0,01	5,96 ± 0,15
Acidez (g/100 g)	2,717 ± 0,05*	1,07 ± 0,2**	0,172 ± 0,10***
Sólidos solubles (g/100 g)	5,94 ± 0,01	10,91 ± 0,01	6,42 ± 0,07
Ceniza (g/100 g)	0,547 ± 0,01	0,407 ± 0,11	1,05 ± 0,10
Proteína (g/100 g)	1,202 ± 0,11	0,624 ± 0,15	1,59 ± 0,10
Fibra cruda (g/100 g)	3,637 ± 0,10	2,107 ± 0,10	2,77 ± 0,10
Carbohidratos (g/100 g)	10,365 ± 0,05	14,446 ± 0,08	10,01 ± 0,10
Grasas (g/100 g)	0,62 ± 0,05	0,57 ± 0,05	0,12 ± 0,01
Fenoles totales (mg AG/100 mg pulpa)	118,29 ± 0,26	608,05 ± 0,53	147,07 ± 0,22
DPPH* IC ₅₀ (mg/mL)	79,16 ± 0,02	53,33 ± 1,52	141,88 ± 0,18

* Acidez de la Mora expresado en g/100 g de ácido Málico.

** Acidez del agraz expresado en g/100 g de ácido cítrico.

*** Acidez de la remolacha expresado en g/100 g de ácido oxálico.

Los resultados de la actividad captadora de radicales de la mora, el agraz y la remolacha mostraron diferencias con un nivel de significancia de $p < 0,05$, siendo los valores $79,16 \pm 0,02$, $53,33 \pm 1,52$ y $141,88 \pm 0,18$ mg/mL respectivamente (tabla).

DISCUSIÓN

El contenido de agua en los alimentos naturales varía entre un 60 % y 95 %, encontrándose en forma de agua libre y agua ligada, representando un importante factor que afecta de modo significativo características específicas del producto como apariencia, textura, color, crecimiento microbiano, entre otros.¹⁴

Bernal *et al.*,¹⁵ evaluaron las propiedades bioactivas de *R. glaucus* y *V. floribundum* durante sus procesos de transformación, encontrando porcentajes de humedad del 87,3 % y 84,1 % para *R. glaucus* y *V. floribundum* respectivamente. De igual manera Espinosa,¹⁶ encontró valores para la remolacha de 87,2 %, siendo muy similares al reportado en esta investigación.

Los valores de pH de las pulpas se encuentran dentro del rango de la mayoría de las frutas tropicales (2,6-5,8).¹⁴ Desde el punto de vista tecnológico, el pH es un parámetro fisicoquímico importante en el control del desarrollo de poblaciones de microorganismos, responsable de la actividad de sistemas enzimáticos, en el proceso de clarificación de jugos y bebidas, en la estabilidad de los mismos y de otros productos elaborados a partir de frutas; así como en la producción de jalea y mermelada cuya firmeza, color y sabor están determinados por la concentración de iones hidrógenos.^{14,15,17}

El valor de sólidos solubles totales encontrados para la pulpa de *R. glaucus* de 5,94, fue inferior al reportado por Montoya *et al.*,¹⁸ igualmente está por debajo del límite inferior de los establecidos por Camacho,¹⁹ que son entre 6 y 9.

El contenido de carbohidratos totales es muy variable entre frutas y vegetales, encontrándose en frutas entre el 1 al 8 %. Así, en las frutas el contenido de azúcares aumenta con la maduración.

Con respecto al contenido de lípidos, estos fueron muy bajos como en la mayoría de las frutas, comprendido principalmente por acilglicéridos, glicolípidos, fosfolípidos, carotenoides, triterpenoides y ceras.⁷

Montoya *et al.*,¹⁸ investigaron los cambios en la actividad antioxidante de *V. floribundum* durante su desarrollo y maduración, encontrando que el contenido de fenoles totales puede variar desde 100 a 5000 mg AG/100g de fruta fresca, lo anterior se debe a los factores ambientales, genéticos, composición del suelo, incluso a la cantidad de luz solar que recibe la planta.

El contenido de compuestos fenólicos en *B. vulgaris* fue de $147,07 \pm 0,22$ mg AG/100 mg, resultado similar a lo encontrado por Morillas y Delgado,⁷ e inferior al reportado por Zapata *et al.*²⁰

R. glaucus presentó un contenido de fenoles de $118,29 \pm 0,26$ mg AG/100 g de fruta fresca, resultado similar a lo encontrado por Kuskoski *et al.*,²¹ e inferior al encontrado por Zapata *et al.*,²⁰ las diferencias encontradas con el último estudio, se puede atribuir al tipo de proceso de la pulpa, debido a que, al analizar muestras liofilizadas, existe una mayor concentración de componentes en la fruta debido a la pérdida de agua.

La actividad antioxidante determinada por el método DPPH fue elevada para las tres pulpas, debido a que sus composiciones presentan altos niveles de antocianos, los cuales están relacionados directamente con un intenso color.¹⁵ No obstante, los resultados son similares a los reportados por Gaviria *et al.*,²² Garzón *et al.*,²³ para *V. floribundum* (61,4 y 45,5 mg/mL respectivamente). Dentro de las tres pulpas evaluadas, *B. vulgaris* presentó los valores de actividad antioxidante más bajos, siendo este resultado similar a lo encontrado por Morillas y Delgado.⁷

Por lo tanto, las pulpas de *Rubus glaucus* Benth variedad Castilla, *Vaccinium floribundum* K y *Beta vulgaris* L. var. *crassa*, son considerados como promisorios para diseñar productos nutracéuticos por su elevada actividad antioxidante.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a las Universidades de Cartagena y Sucre, asimismo al SENA por facilitar espacio, recursos y tiempo de los investigadores.

CONFLICTOS DE INTERESES

Los autores declaran que no existen conflictos de intereses.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Pennington J, Fisher R. Food component profiles for fruit and vegetable subgroups. *Journal composition and analysis*. 2010;23:411-8.

2. Carvajal LM, El Hadi Y, Cartagena R, Peláez C, Gaviria CA, Rojano BA. Capacidad antioxidante de dos variedades de *Fragaria x ananassa* (Weston) Duchesne (fresa) sometidas a variaciones en la nutrición vegetal. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*. 2012;17(1):37-53.
3. Sisein EA. Biochemistry of free radicals and antioxidants. *Sch Acad J Biosci*. 2014;2(2):110-8.
4. Silveira MB, Monereo S, Molina B. Functional Foods and Optimum Nutrition: A Way or Away?. *Rev Esp Salud Pública*. 2003;77(3):317-31.
5. Morón FJ, Déborah P, Nodarse M. Valoración de la evidencia científica para recomendar *Annona muricata* L. (guanábana) como tratamiento o prevención del cáncer. *Rev Cubana Plant Medicinales*. 2010;15(3):169-81.
6. AOAC. Official methods of analysis William Horwitz. Washington D.C: Association of Analytical Chemists. 1990.
7. Morillas-Ruiz JM, Delgado-Alarcón JM. Análisis nutricional de alimentos vegetales con diferentes orígenes: Evaluación de capacidad antioxidante y compuestos fenólicos totales. *Nutr. clín. diet. hosp*. 2012;32(2):8-20.
8. Singleton VL, Orthofer R, Lamuela-Raventos RM. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin Ciocalteu Reagent. *Methods Enzymol*. 1999;299:152-78.
9. Rojano BA, Vahos ICZ, Arbeláez AFA, Martínez AJM, Correa FBC, Carvajal LG. Polifenoles y actividad antioxidante del fruto liofilizado de palma naidi (*açaí colombiano*) (*Euterpe oleracea* Mart). *Rev Fac Nal Agr. Medellín*. 2011;64:6213-20.
10. Vásquez A, Cala M, Miranda I, Tafurt G, Martínez J, Stashenko E. Actividad antioxidante y contenido total de fenoles de los extractos etanólicos de *Salvia aratocensis*, *Salvia Sochensis*, *Bidens reptans* y *Montanoa ovalifolia*. *Scientia Technica*. 2007;13(33):205-7.
11. León G, Torrenegra M, Osorio M, Gil J. Extracción, caracterización y actividad antioxidante del aceite esencial de *Plectranthus amboinicus* L. *Rev Cubana Farmacia*. 2015;49(4):708-18.
12. Silva B, Andrade P, Valentao P, Ferreres F, Seabra R., Ferreira M. Quince (*Cydonia oblonga* Miller) Fruit (Pulp, Peel, and Seed) and Jam: Antioxidant Activity. *J. Agric. Food Chem*. 2004;52:4705-12.
13. Tovar J. Determinación de la actividad antioxidante por DPPH y ABTS de 30 plantas recolectadas en la ecoregion cafetera. [Tesis de pregrado]. Pereira; Universidad Tecnológica de Pereira; 2013. Disponible en: <http://repositorio.utp.edu.co/dspace/bitstream/11059/3636/1/54763T736.pdf>
14. Ramírez R, Arenas L, Acosta K, Yamarte M, Sandoval L. Efecto del escaldado sobre la calidad nutricional de pulpa de Guanábana (*Annona muricata* L.). *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*. 2012;13(1):48-57.

15. Bernal L, Melo L, Díaz C. Evaluation of the antioxidant properties and aromatic profile during maturation of the blackberry (*Rubus Glaucus* Benth) and the bilberry (*Vaccinium Meridionale* Swartz). *Revista Facultad Nacional de Agronomía*. 2014;67(1):7209-18.
16. Espinosa J. Estudio de la sustitución parcial de mora por remolacha (*Beta vulgaris* var. conditiva) en la elaboración de mermelada de mora para la industria pastelera. [Tesis de pregrado]. Quito; Escuela Politécnica Nacional; 2008. Disponible en: <http://bibdigital.epn.edu.ec/bitstream/15000/1674/1/CD-1927.pdf>
17. Moo-Huchin VM, Moo-Huchin MI, Estrada-León RJ, Cuevas-Glory L, Estrada-Mota IA, Ortiz-Vázquez E *et al.* Antioxidant compounds, antioxidant activity and phenolic content in peel from three tropical fruits from Yucatan, Mexico. *Food Chemistry*. 2015;166:17-22.
18. Montoya G, Londoño G, Márquez C. Licor de mora de castilla (*Rubus glaucus* Benth) con diferentes porcentajes de pulpa. *Rev Fac Nal Agr. Medellín*. 2005; 58,(2):2963-73.
19. Camacho G. Obtención y conservación de pulpas. Santafé de Bogotá. Universidad Nacional de Colombia, ICTA-SENA. 1995:129.
20. Zapata K, Cortes FB, Rojano BA. Polifenoles y Actividad Antioxidante del Fruto de Guayaba Agria (*Psidium araca*). *Información Tecnológica*. 2013;24(5):103-12.
21. Kuskoski M, Asuero A, Troncoso A, Mancini-Filho J, Fett R. Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. *Ciencia e Tecnologia de Alimentos*. 2005;25(4):726-32.
22. Rojano A, Gaviria CA, Ochoa CI, Sánchez N, Medina C, Lobo M *et al.* Propiedades antioxidantes de los frutos de agraz o mortiño (*Vaccinium meridionale* Swartz). En: *Perspectivas del cultivo de agraz o mortiño en la zona altoandina de Colombia*. Bogotá, Colombia, Gente Nueva Editorial. 2009:95-112.
23. Garzón GA, Narváez CE, Riedl KM, Schwartz SJ. Chemical composition, anthocyanins, non-anthocyanin phenolics and antioxidant activity of wild bilberry (*Vaccinium meridionale* Swartz) from Colombia. *Food Chemistry*. 2010;122(4):980-6.

Recibido: 13 de junio de 2016.

Aprobado: 11 de noviembre de 2016.

Miladys Esther Torrenegra Alarcón. Universidad de Cartagena. Colombia. Correo electrónico: mtorrenegraa@sena.edu.co