



SECCIÓN ARTÍCULOS ORIGINALES
REVISTA CENTRO DE ESTUDIOS EN SALUD
Año 8 Vol 1 No.10 (Pags. 109 - 119)

ESTUDIO DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE Y EFICIENCIA ANTI-RADICAL *in-vitro* EN EXTRACTOS DE PULPA DE MOTILÓN DULCE (*Hyeronima macrocarpa*).

John Henry Villarreal L¹ Juan Pablo Jiménez M² Nelson Hurtado G³ Silvia Cruz S⁴

Fecha de recepción: Sep 29 - 08

Aceptado: Nov 07 - 08

RESUMEN

El fruto del motilón dulce (*Hyeronima macrocarpa*) tiene pulpa color morado debido a la presencia de antocianinas, una clase de pigmentos reconocidos por su capacidad para capturar radicales libres. Esta característica conllevó a la realización de un estudio de tipo experimental mediante pruebas *in-vitro* de actividad antioxidante a dos extractos de pulpa liofilizados: uno crudo (MPC) y otro enriquecido en polifenoles (MPX) por medio de extracción con solventes y cromatografía en columna. Con el catión radical 2,2 azinobis-(3-etilbenzotiazolin 6-ácido sulfónico) (ABTS^{*+}) se observó que el extracto MPX presentó una mayor actividad antioxidante respecto al MPC, mientras que las pruebas con el radical libre 2,2-Difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH^{*+}) permitieron observar que el MPC fue el de mayor eficiencia anti-radical. Además, se estudió el índice de fenoles totales (FT) y antocianos totales (AT) de los extractos, para relacionarlos con su respectiva actividad antioxidante y compararlos con frutos reconocidos por su valor alimenticio. La riqueza de estos índices en los extractos estudiados, permitió sugerir sobre la importancia que estos ejercen en la reducción del daño oxidativo a nivel celular; sin embargo, es necesario investigar en sistemas *in-vivo*, el efecto inhibitorio de los extractos.

Palabras clave: Antocianinas, radicales libres, actividad antioxidante, eficiencia anti-radical

-
- 1 Estudiante egresado del departamento de Química, Universidad de Nariño, Grupo de Investigación en Productos de Importancia Biológica (GIPIB), johnvillarreal18@hotmail.com
 - 2 Estudiante egresado del departamento de Química, Universidad de Nariño, GIPIB, naditacion@hotmail.com
 - 3 Docente tiempo completo, categoría asistente, Departamento de Química, Universidad de Nariño, director GIPIB, nhurtado@udenar.edu.co
 - 4 Docente tiempo completo, categoría asistente, Departamento de Química, Universidad de Nariño, directora GIPIB, silvacruz@udenar.edu.co

ABSTRACT

The fruit of the motilon tree (*Hyeronima macrocarpa*), has a purple colored pulp, because of the presence of anthocyanin pigments. These are a kind of pigments which are recognized by the capacity to capture free radicals. This characteristic lead to make an experimental study, by *in-vitro* tests, in antioxidant activity of two lyophilized extracts of pulp: one raw extract (MPC) and other enriched in polifenols (MPX) by solvent extraction and column chromatography. With the free radical 2,2 azinobis-(3-ethylbenzotiazolin-6-sulfonic acid) (ABTS^{*+}), it was observed more antioxidant activity of the MPX extract than the MPC extract. With the test that use the free radical 2,2-Difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH^{*}), was noticed that the MPC extract has major antiradical efficiency. Furthermore analysis of the fenolic (FT) and anthocyanin content (AT) of the extracts was made, allowing a relation between these parameters with the antioxidant activity and another between this fruit with other fruits well knows by its nutritional value. The richness of this parameters in the studied extracts, provide a suggestion about the important role that these extracts could play in the reduction of the cellular oxidative damage. However is needed to make *in-vivo* test of the inhibitory effect of the extract.

Keywords: Anthocyanin, free radicals, antioxidant activity, antiradical efficiency.

INTRODUCCIÓN

El gran interés en el estudio de las antocianinas, una clase de polifenoles de origen natural, radica en los reconocidos beneficios para la salud concedidos por este tipo de compuestos.⁽¹⁾ Estudios epidemiológicos sugieren que existe una relación entre el consumo de vinos ricos en antocianinas (polifenoles) y la prevención de enfermedades coronarias, lo que se conoce como la “paradoja francesa”.⁽²⁾ Posterior a este estudio, se han hecho diversas investigaciones respecto a los beneficios potenciales de estos compuestos a la salud humana, destacándose: la inhibición de oxidación de lipoproteínas y agregación plaquetaria,^(3,4,5,6) actividad anti-inflamatoria,⁽⁷⁾ prevención de la obesidad,⁽⁸⁾ actividad antitumoral,^(9,10,11,12,13,14) mejoramiento de la visión,⁽¹⁵⁾ control de diabetes,⁽¹⁶⁾ y

beneficios relacionados con los mecanismos antioxidantes.⁽¹⁷⁾ El objetivo de este estudio fue valorar a nivel *in-vitro*, la actividad antioxidante por dos métodos diferentes (ABTS y DPPH) y, determinar el contenido de polifenoles en extractos de la pulpa del fruto de motilón dulce (*Hyeronima macrocarpa*), el cual es un frutal andino que crece en las zonas altas del departamento de Nariño, cuyos frutos en estado maduro poseen una pulpa de color morado. Estudios preliminares de espectroscopía UV-vis y de las variaciones del color con el pH,^(18,19) permitieron determinar que el color característico de esta fruta se debe a la presencia de flavonoides tipo antocianina. Estos compuestos pueden actuar como antioxidantes, debido a que poseen un sistema electrónico π -conjugado, que permite una donación fácil de un electrón o del átomo de hidrógeno de su grupo hidroxilo a un radical.

La elevada estabilidad del radical fenoxilo disminuye la capacidad de abstraer un átomo de hidrógeno de otra molécula y, de esta manera, el radical puede interrumpir el avance de la reacción en cadena. ⁽²⁰⁾

MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizó un estudio de tipo experimental y la recolección de los frutos de motilón se hizo en la reserva natural El Vicundo del municipio El Encano (Nariño); en total se recolectaron 7,2 kg del fruto, tomando muestras al azar en una hectárea de la reserva. Posteriormente, con el fin de tener una muestra representativa, se llevó a cabo un cuarteo, obteniéndose de esta manera, una muestra de 1,8 kg de fruto y de esta muestra se aisló manualmente la semilla y la cáscara del fruto, para tener un peso final de 469 g de pulpa, que fue el material de partida.

Obtención de los extractos.

La extracción de los polifenoles presentes en la pulpa del motilón, se realizó siguiendo la metodología de Pomar ⁽²¹⁾ con algunas modificaciones. La muestra se sometió a maceración con agua destilada-ácido acético 19:1 y posteriormente se concentró por medio de un rotoevaporador Heidolph a 35°C. Al extracto así obtenido se le denominó extracto crudo de motilón (MPC). Con el fin de eliminar otros compuestos que no eran de interés en esta investigación, se realizaron extracciones con *n*-hexano y acetato de etilo, solventes que disuelven compuestos lipofílicos y medianamente polares respectivamente. La fase acuosa resultante se pasó a través de una columna cromatográfica tipo resina (amberlita XAD-7, absorbente polimérico no iónico) con

el fin de remover azúcares, ácidos orgánicos y sales. Los compuestos retenidos se eluyeron * de la columna usando una mezcla de metanol-ácido acético en proporciones 19:1 y posteriormente se concentraron al vacío para obtener el extracto denominado extracto rico en polifenoles (MPX). Los extractos se liofilizaron en los laboratorios de la Universidad Nacional de Colombia-Bogotá.

Determinación de fenoles totales (FT).

Para la determinación de fenoles totales se utilizó el método de Folin-Ciocalteu, que tuvo su origen en un trabajo publicado por Amerine y Ough; ⁽²²⁾ el método utilizado en la actualidad es el de la Association of Official Analytical Chemists (AOAC). ⁽²³⁾ El análisis se basa en la reducción de los fenoles totales por una mezcla de ácidos fosfotúngstico y fosfomolibdico, lo que produce a una mezcla de los óxidos de tungsteno (W_8O_{23}) y de óxido de molibdeno (Mo_8O_{23}), de color azul. Esta coloración produce un espectro de absorción con una $\lambda_{max} = 765$ nm, proporcional al contenido de compuestos fenólicos. Por tanto, a partir del dato de absorbancia y mediante el uso de una curva de calibración hecha con anterioridad, puede conocerse la cantidad de fenoles totales presentes en la muestra, expresados en mg/L de ácido gálico.

Determinación de antocianinas monoméricas totales (polifenoles)

El contenido de antocianinas monoméricas en los extractos MPC y MPX, se determinó por espectroscopía Uv-vis con el método del pH diferencial. Se utilizaron dos soluciones buffer: cloruro de potasio 0.025 M pH 1 y acetato de sodio 0,4 M pH 4,5. Se tomó 0,2 ml de una muestra diluida con el factor de dilución adecuado y se adicionaron 1,8 mL del correspondiente buffer.

* Eluir: acción que denota la utilización de una fase móvil cromatográfica, para transportar solutos a través de una fase estacionaria.

Después de 15 minutos se midió la absorbancia a λ_{\max} y 700 nm de cada solución, utilizando como blanco agua destilada. La metodología se realizó por triplicado y los resultados se expresaron en mg de cianidina-3-glucósido/100 g de extracto liofilizado. Las expresiones usadas fueron las siguientes:⁽²⁴⁾

$$A = (A_{\lambda_{\max-\text{vis}}} - A_{700})_{\text{pH } 1.0} - (A_{\lambda_{\max-\text{vis}}} - A_{700})_{\text{pH } 4.5}$$

$$\text{Pigmentos antociánicos monoméricos (mg/L)} = (A \times \text{PM} \times \text{DF} \times 1000) / (\epsilon \times 1).$$

Donde: A: Absorbancia de la muestra diluida, PM: peso molecular de la cianidina-3-glucósido (449,2 g/mol); FD: factor de dilución; ϵ : absortividad molar de la cianidina-3-glucósido (29600).

Determinación de la actividad antioxidante (Método ABTS^{*+}).

Con este método se estudió la actividad antioxidante de soluciones p/v de MPC (0,25%) y MPX (0,05%). Las soluciones se prepararon usando ácido clorhídrico 0.1%, en metanol. El análisis está basado en la habilidad del antioxidante para capturar el catión radical ABTS^{*+}, ensayo que se llevó a cabo de acuerdo al método de Miller y Rice-Evans.⁽²⁵⁾ El catión radical ABTS es un cromóforo con una absorción característica de 734 nm y se produce por la reacción entre ABTS^{*+} (7 mM) en agua y persulfato de potasio (2,45 mM), manteniendo la solución en la oscuridad a temperatura ambiente por 12 horas. La solución de trabajo se ajustó a una absorbancia de 0.7 ± 0.2 y se prepararon soluciones patrón de Trolox (antioxidante sintético de referencia) a concentraciones de 0.5; 1; 1.5; 2 y 2.5 mM.

Para la reacción se tomó 1 mL de la solución de trabajo y se agregó 20 μL de la solución a estudiar.

El porcentaje de inhibición se calculó para cada concentración como función de la absorbancia del blanco a 734 nm. Los resultados obtenidos se expresaron en: Capacidad antioxidante equivalente al trolox (TEAC), que se define como el número de milimoles de Trolox que tienen el mismo porcentaje de inhibición que un gramo de muestra y cuyos valores se presentaron en μmol de trolox/100 g de extracto liofilizado. La funcionalidad del método se verificó con un patrón de ácido ascórbico 1 mM y todo el análisis fue realizado por triplicado.

Determinación de la eficiencia anti-radical (Método DPPH^{*})

Con este método publicado por Brand y Williams⁽²⁶⁾ se estudió la eficiencia anti-radical a soluciones de los extractos MPC y MPX. Para ello se prepararon soluciones de DPPH^{*} a concentraciones de 2,5; 5,0 7,5 $\times 10^{-3}$ mM; 1,0 y 2,5 $\times 10^{-2}$ mM, realizando con ellas una curva de calibración de absorbancia contra concentración de DPPH^{*} a una longitud de onda de 515 nm, usando metanol como blanco. Para la reacción, se tomaron 3,9 mL de solución de DPPH^{*} 7,56 $\times 10^{-2}$ mM, se midió su absorbancia a 515 nm y posteriormente se adicionó 0.1 mL de la solución a analizar, registrando la disminución de absorbancia hasta la estabilización de la solución.

El proceso se repitió con 3 soluciones en diferentes concentraciones para cada extracto y registrando los tiempos finales de reacción, sujetos a la naturaleza de las muestras. La funcionalidad del método se verificó con patrones de ácido ascórbico y ácido gálico. Con los datos obtenidos se realizaron las siguientes gráficas: a) Absorbancia vs [DPPH^{*}]; b) [DPPH^{*}] vs tiempo; c) % [DPPH^{*}]_{Remanente} vs tiempo del estado estacionario; d) % [DPPH^{*}]_{Remanente} vs

[Antioxidante] a tiempo t; e) % de Inhibición vs tiempo. El porcentaje de inhibición se calculó con la siguiente expresión: ⁽²⁷⁾

$$\% \text{ de inhibición} = \frac{(\text{Absorbancia}_0 - \text{Absorbancia}_t)}{\text{Absorbancia}_0} \times 100.$$

El $\%[\text{DPPH}^*]_{\text{Remanente}}$ se calculó utilizando la siguiente expresión: ⁽²⁸⁾ $\%[\text{DPPH}^*]_{\text{Remanente}} = \frac{[\text{DPPH}^*]_t}{[\text{DPPH}^*]_{t=0}}$. Por medio de las gráficas c y d se calculó el EC_{50} (concentración de antioxidante necesaria para disminuir la $[\text{DPPH}^*]_{\text{Remanente}}$ al 50%) y el $T_{\text{EC}50}$ (tiempo en el que se obtiene el EC_{50}). Estos parámetros son de interés en la obtención de la eficiencia anti-radical (EA), de acuerdo a la siguiente expresión: ⁽²⁹⁾ $EA = 1/(\text{EC}_{50} \cdot T_{\text{EC}50})$

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La tabla 1 muestra el índice de fenoles totales (FT), antocianos totales (AT), actividad antioxidante (TEAC) y las relaciones de estos parámetros en los extractos estudiados. La curva promedio de ácido gálico, utilizada en la determinación de fenoles totales, respondió a la siguiente expresión: $y = 0,0013x + 0,0034$ ($R^2 = 0,9927$).

El extracto de pulpa crudo (MPC), presentó un contenido de fenoles totales igual a $3895,4 \pm 30,8$ mg de ácido gálico /100 g de extracto, mientras que en el extracto retenido en Amberlita XAD-7 (MPX) fue de $35508,1 \pm 358,5$ mg de ácido gálico / 100 g de extracto, incrementándose su contenido en aproximadamente 10 veces con respecto al extracto MPC. Acorde a estos resultados, fue además evidente que en el extracto MPX el contenido no solo de antocianinas monoméricas totales, sino también la capacidad para capturar el radical ABTS, fueron mayores a los valores

encontrados en el extracto MPC. Esto evidencia una buena eficiencia del proceso de separación cromatográfica y una clara relación entre el contenido de antocianinas (polifenoles) con la capacidad antioxidante del extracto. La curva promedio de trolox utilizada en la expresión del la actividad antioxidante en TEAC, obedeció a la siguiente expresión: $y = -0,4245x + 0,95$ ($R^2 = 0,9992$).

Tabla 1. Contenido de FT, AT TEAC de los extractos obtenidos a partir de la pulpa de *Hyeronima macrocarpa*, 2007.

| Extracto | FT ^(a) | AT ^(b) | TEAC ^(c) |
|-------------------------|-------------------|-------------------|---------------------|
| MPC | 3895,40 | 2407,00 | 24,50 |
| δ ^(d) | 30,80 | 17,90 | 0,20 |
| CV ^(e) | 0,79 | 0,74 | 0,82 |
| MPX | 35508,10 | 8638,90 | 172,90 |
| δ | 358,50 | 40,80 | 0,50 |
| CV | 1,01 | 0,47 | 0,29 |

a: mg de ácido gálico/100 g de extracto; b: mg de cianidina-3-glucósido/ 100 g de extracto; c: μmol de trolox/100g de extracto d: Desviación estándar; e: Coeficiente de variación

En la tabla 2 se presentan los resultados del ensayo DPPH* sobre los patrones y extractos MPC y MPX. El parámetro EC_{50} se calculó mediante la relación exponencial establecida con los datos de la gráfica de $\%[\text{DPPH}^*]_{\text{Remanente}}$ vs concentración de antioxidante, mientras que el parámetro $T_{\text{EC}50}$ se obtuvo por las relaciones lineales encontradas a partir de la gráfica de $\%[\text{DPPH}^*]_{\text{Remanente}}$ con respecto al tiempo de reacción.

En el gráfico 1 se evidencian estas relaciones para el patrón ácido ascórbico.

Gráfico 1. Curvas para determinar el EC_{50} y el T_{EC50} del ácido ascórbico

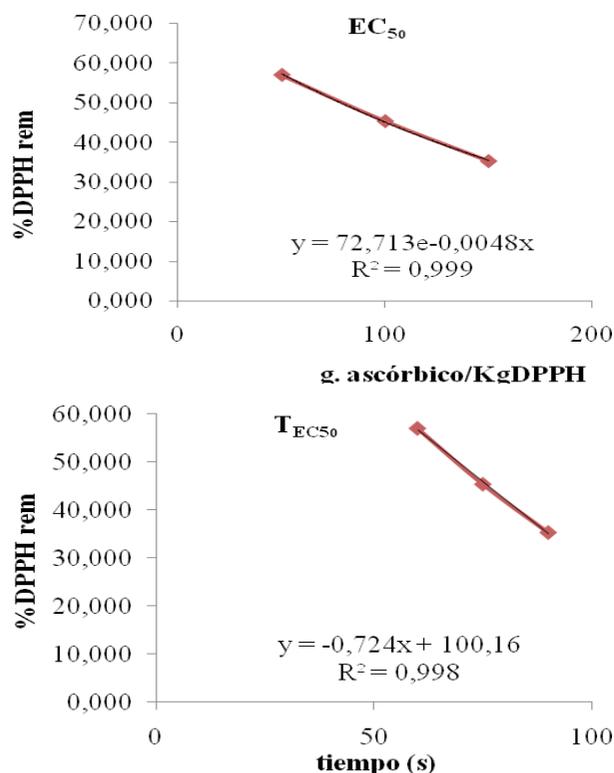


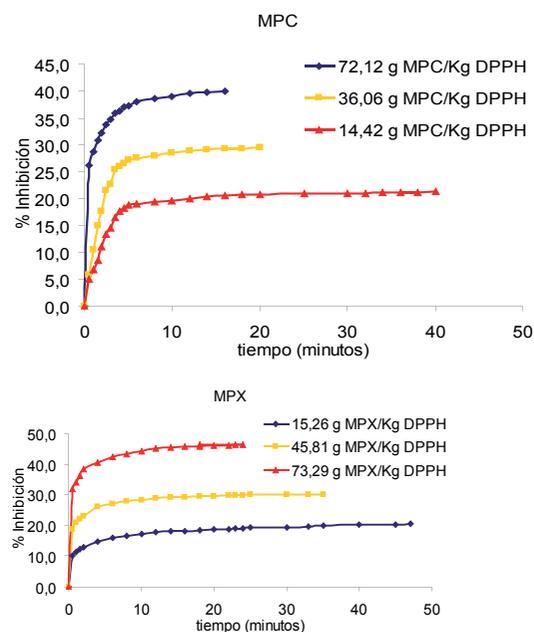
Tabla 2. Comparación de la eficiencia anti-radical de los extractos MPC, MPX y los patrones de ácido ascórbico y gálico

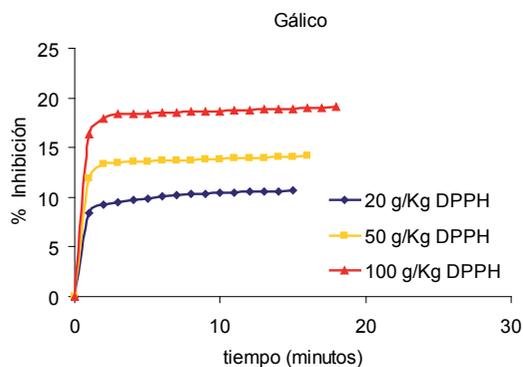
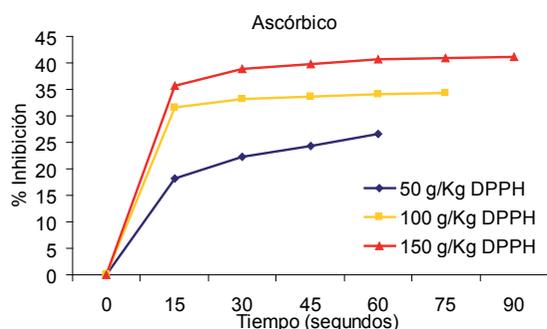
| Muestra | Conc. ^(a) | %[DPPH*] Remanente | Tiempo (min) | EC_{50} | T_{EC50} (min) | EA x 10 ³ | EA x 10 ³ |
|-----------------|----------------------|--------------------|--------------|-----------|------------------|----------------------|----------------------|
| MPC | 72,12 | 26,9 | 16,00 | 29,0 | 31,0 | 1,1 | - |
| | 36,06 | 45,8 | 25,00 | | | | |
| | 14,42 | 60,9 | 40,00 | | | | |
| MPX | 73,29 | 23,9 | 25,00 | 36,2 | 37,3 | 0,7 | - |
| | 45,81 | 50,4 | 35,00 | | | | |
| | 15,26 | 66,5 | 47,00 | | | | |
| Ácido ascórbico | 50,00 | 56,98 | 1,00 | 78,0 | 1,2 | 11,1 | 11,4 |
| | 100,00 | 45,34 | 1,25 | | | | |
| | 150,00 | 35,26 | 1,50 | | | | |
| Ácido gálico | 20,00 | 52,30 | 15,00 | 25,9 | 15,1 | 2,6 | 2,6 |
| | 50,00 | 36,81 | 16,00 | | | | |
| | 100,00 | 14,73 | 18,00 | | | | |

a: g de antioxidante/Kg de DPPH

Al evaluar el porcentaje de inhibición del patrón de ácido ascórbico, se observó que en su concentración mayor (150 g/kg DPPH), no solo el menor % de DPPH* remanente (35,26%) permanece en solución, sino que además, tarda más tiempo en alcanzar el estado estacionario (1,5 minutos). Igual comportamiento se observó para el ácido gálico; por tanto, los dos patrones se caracterizan porque en el rango de concentraciones estudiadas, a mayor concentración de antioxidante, menor es el % [DPPH*] remanente, es decir, aumentan su capacidad de inhibición radical, aunque tardan más tiempo en reaccionar (gráfico 2). En los extractos de motilón MPC y MPX, se observó un comportamiento similar, es decir, a mayor concentración de antioxidante, menor es el % [DPPH*] remanente, sin embargo, al aumentar la concentración de cada solución, el tiempo de reacción disminuye. (gráfico 2) Esto indica que el comportamiento de los antioxidantes y los extractos frente al tiempo, no siguen un modelo matemático generalizado. (31)

Gráfico 2. % de inhibición radical respecto al tiempo a diferentes concentraciones de ácido ascórbico, gálico, MPC y MPX





Los patrones de ácido ascórbico y gálico, muestran una mayor eficiencia anti-radical (EA) y mayor reactividad expresada por T_{EC50} (tiempo necesario para alcanzar el estado estacionario a la concentración correspondiente a EC_{50}) respecto a los extractos MPC y MPX (tabla 2), sin embargo, en los dos extractos las concentraciones necesarias para reducir la concentración del radical DPPH en un 50% (EC_{50}), son menores al EC_{50} del ácido ascórbico, indicando que este último posee menor capacidad para reducir el radical DPPH (EC_{50}). Se debe aclarar que el EC_{50} (concentración de antioxidante necesaria para reducir la concentración de DPPH en un 50%) ampliamente usado para medir el poder antioxidante, no tiene en cuenta el comportamiento cinético de la captura radical de este tipo de compuestos, comprobándose así que el parámetro EA es más discriminatorio en el estudio de antioxidantes. Observando los datos

EA para los extractos MPC y MPX, es evidente que el extracto MPC (extracto sin pasar por XAD-7) posee la mayor eficiencia antirradical, resultado que puede estar relacionado con la presencia de otros tipos de ácidos, como el ácido ascórbico, no eluidos en la cromatografía en columna, que aportan a su actividad antioxidante, lo cual puede estar relacionado a un efecto de sinergia en el extracto. ^(32, 33)

Considerando el contenido fenólico de la pulpa de motilón y su actividad antioxidante, es interesante comparar sus características respecto a otras pulpas de frutos conocidos. La tabla 3 presenta los resultados del estudio del contenido fenólico, antociánico y capacidad antioxidante por el método ABTS (TEAC) de la pulpa del motilón y de las pulpas de varios frutos estudiados por Kuskoski ⁽³⁴⁾ con metodologías iguales y condiciones similares a las de este estudio.

Tabla 3. Comparación de FT, AT y TEAC de varios frutos

| FRUTA | FT ^(a) ± δ ^(b) | AT ^(c) ± δ | TEAC ^(d) ± δ |
|----------|---|------------------------------|--------------------------------|
| Maracuyá | 20 ± 2,6 | No detectado | 2,7 ± 0,1 |
| Piña | 21,7 ± 4,5 | No detectado | 3,4 ± 0,3 |
| Guayaba | 83 ± 1,3 | 2,7 ± 0,2 | 8,2 ± 0,4 |
| Uva | 117,1 ± 0,6 | 30,9 ± 0,1 | 9,2 ± 0,2 |
| Mora | 118,9 ± 2,1 | 41,8 ± 1,8 | 7,1 ± 0,2 |
| Fresa | 132,1 ± 3,8 | 23,7 ± 1,8 | 12 ± 0,3 |
| Mango | 544,9 ± 7,3 | No detectado | 13,2 ± 0,3 |
| Motilón | 625,09 ± 4,9 | 386,25 ± 2,9 | 39,314 ± 0,3 |

a: mg de ácido gálico/100 g de pulpa; b: Desviación estándar; c: mg de cianidina-3-glucósido/ 100 g de pulpa; d: μ mol de trolox/g de pulpa

La pulpa de motilón, tiene un contenido fenólico superior al de los demás frutos. (gráfico 3) Las pulpas más cercanas son el mango y la fresa, que difieren en 80,2 y 492,99 mg de ácido gálico / 100 gramos de pulpa respectivamente. La uva y

la mora, frutos ampliamente estudiados por su importante contenido fenólico, ^(35,36,37,38) tienen aproximadamente 5 veces menor contenido de fenoles totales que el motilón, caracterizado por tener $386,25 \pm 2,9$ mg de cianidina-3-glucósido/ 100 g de pulpa, indicando una amplia ventaja sobre los demás frutos en contenido de antocianinas monoméricas totales. (gráfico 4) Las pulpas de mora y fresa además de tener menor cantidad de antocianinas que el motilón (41,8 y 23,7 mg de cianidina-3-glucósido/ 100 g de pulpa respectivamente), son en realidad el fruto entero sin las semillas, mientras que la pulpa de motilón fue separada de la semilla y la cáscara (de color morado); por tanto el aporte antociánico de la cáscara podría aumentar significativamente el contenido de estos metabolitos.

El alto contenido de antocianinas totales de la pulpa de motilón esta acorde a su notable capacidad para capturar radicales libres al presentar el valor más elevado de TEAC que los otros frutos. (gráfico 5) La pulpa de mango ($13,2 \pm 0,3$ TEAC) es la más cercana al motilón y, pese a su gran contenido de fenoles totales, tiene una cantidad despreciable de antocianinas, limitando mucho su capacidad de captura radical, la cual respecto al motilón tiene un valor de TEAC aproximadamente 3 veces menor. Estos resultados muestran que la pulpa del fruto de motilón, es una gran alternativa para ser incluida en la dieta alimenticia, teniendo en cuenta que gran parte de los polifenoles presentes en este fruto son pigmentos tipo antocianina, cuyos beneficios como antioxidantes pueden influir positivamente en la salud humana.

No obstante el estudio *in-vitro* debe complementarse con análisis *in-vivo* ^(39, 40, 41) para tener mejores aproximaciones sobre el posible comportamiento antioxidante del motilón en el ser humano.

Gráfico 3. Comparación entre el índice de fenoles totales de la pulpa de *Hyeronima macrocarpa* y el de otros frutos

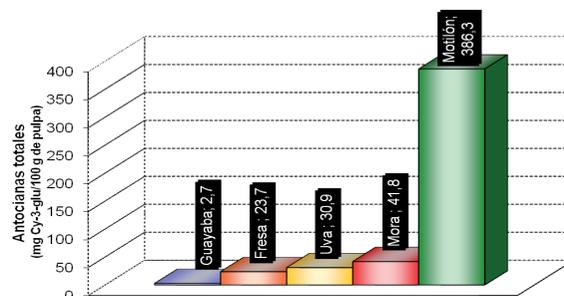


Gráfico 4. Comparación entre el contenido de antocianos totales de la pulpa de *Hyeronima macrocarpa* y el de otros frutos

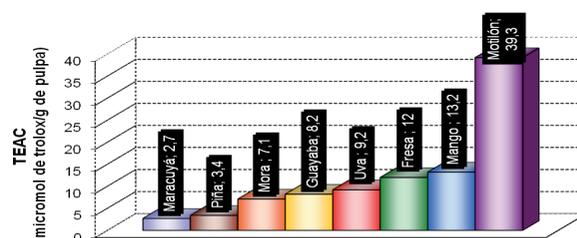
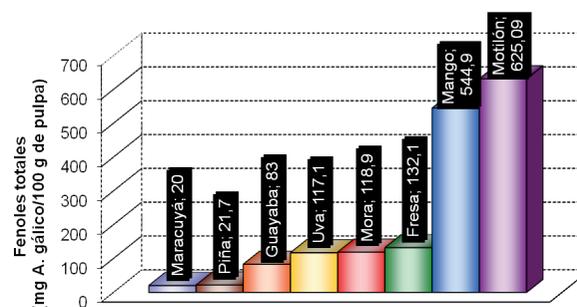


Gráfico 5. Comparación de la actividad antioxidante en TEAC de varios frutos



CONCLUSIONES

El estudio de la capacidad antioxidante *in-vitro* en los extractos de pulpa de motilón, indicó que el extracto rico en polifenoles MPX tiene mayor capacidad de captura radical (TEAC) que el extracto crudo MPC. Sin embargo en términos

de eficiencia anti-radical, el extracto MPC mostró una ligera ventaja sobre el MPX, debida posiblemente a la presencia de compuestos antioxidantes (como el ácido ascórbico), que pueden aumentar la EA. Además, se observó que los extractos estudiados tienen menor EC_{50} que el ácido ascórbico, lo cual se traduce en mayor capacidad para capturar radicales libres, pese a su menor reactividad ($> T_{EC50}$).

Al comparar la pulpa del motilón dulce con otras fuentes alimenticias reconocidas por su valor nutritivo, se demostró las grandes cualidades que ésta presenta respecto al contenido fenólico, antociánico y actividad antioxidante. Los datos obtenidos bajo las mismas condiciones de análisis superan a los datos obtenidos en otras pulpas de frutos. Teniendo en cuenta la relación que existe entre el contenido de polifenoles con la capacidad para capturar radicales libres, la pulpa de motilón es un alimento que puede contribuir a la salud humana.

Estos resultados sugieren que los extractos aislados del motilón dulce, pueden jugar un papel importante en la reducción del daño oxidativo a nivel celular; sin embargo, no hay evidencia de que éstos polifenoles, ingeridos en la dieta, puedan afectar significativamente el estatus antioxidante del organismo, haciéndose necesario por tanto investigar en sistemas *in vivo* el efecto inhibitorio de estos extractos, contra el daño oxidativo.

Se debe destacar que el estudio de la actividad antioxidante de los extractos de polifenoles aislados del fruto de motilón se realizó con soluciones acuosas y alcohólicas, por tanto no es posible generalizar conclusiones en otro tipo de matrices, solo con base en los ensayos realizados y se debe considerar que en modelos lipídicos

los radicales reactivos pueden ser diferentes: peroxilo, alcoxilo, hidroxilo, etc.

Los procedimientos utilizados para aislar la fracción de polifenoles (MPX) del fruto de motilón fueron eficientes y se comprobaron al medir el contenido de fenoles totales (FT) por el método de Folin-Ciocalteu. El mayor contenido de polifenoles del extracto de pulpa de motilón (MPX) tuvo una marcada incidencia en su capacidad antioxidante *in-vitro*; fue evidente en este extracto una mayor capacidad para capturar el radical ABTS, sin embargo la eficiencia anti-radical del extracto MPC fue ligeramente mayor a la del extracto MPX, demostrando que el método DPPH, que tiene en cuenta la cinética de reacción, es de gran importancia en estudios de capacidad antioxidante en extractos con estas características.

REFERENCIAS

1. Giusti, M.M.; Wrolstad, R.E. Acylated anthocyanins from edible sources and their applications in food systems. *Biochem. Eng. J* 2003; 14, 217-225.
2. Renaud, S.; De Lorgeril, M. Wine, alcohol, platelets, and the French paradox for coronary heart disease. *Lancet* 1992; 339, 1523-1526.
3. Whitehead, T. P.; Robinson, D.; Allaway, S.; Syms, J.; Hale, A. Effect of red wine ingestion on the antioxidant capacity of serum. *Clin. Chem* 1995; 41 (1). 32-35.
4. Tsuda, T.; Shigu, K.; Ohhim, K.; Kuwakishi, S.; Osuwu, T. Inhibition of lipid peroxidation and the active oxygen radical scavenging effect of anthocyanin pigments isolated from phaseoks vulgaris L. *Biochem. Pharmacol* 1996; 52. 1033-1039.
5. Ramirez-Tortosa, C.; Andersen, Ø.M.; Gardner, P.T.; Morrice, P.C.; Wood, S.G.;

- Duthie, S.J.; Collins, A.R.; Duthie, G.G. Anthocyanin-rich extract decreases indices of lipid peroxidation and DNA damage in vitamin E-depleted rats. *Free Radical Bio. Med* 2001; 31 (9). 1033–1037.
6. Kay, C.D.; Holub, B.J. The effect of wild blueberry (*Vaccinium angustifolium*) consumption on postprandial serum antioxidant status in human subjects. *Br. J. Nutr* 2002; 88 (4). 389-398.
 7. Wang, H.; Nair, M.G.; Strasburg, G.M.; Chang, Y.; Booren, A.M.; Gray, J.I.; DeWitt, D.L. Antioxidant and antiinflammatory activities of anthocyanins and their aglycon, cyanidin, from tart cherries. *J. Nat. Prod* 1999; 62. 294-296
 8. Tsuda, T.; Shigu, K.; Ohhim, K.; Kuwakishi, S.; Osuwu, T. Inhibition of lipid peroxidation and the active oxygen radical scavenging effect of anthocyanin pigments isolated from phaseoks vulgaris L. *Biochem. Pharmacol* 1996; 52. 1033-1039.
 9. Koide, T.; Hashimoto, Y.; Kamei, H.; Kojima, T.; Hasegawa, M.; Terabe, K. Antitumor effect of anthocyanin fractions extracted from red soybeans and red beans in vitro and in vivo. *Cancer Biother Radiopharm* 1997; 12 (4). 277-80.
 10. Kamei, H.; Hashimoto, Y.; Koide, T.; Kojima, T.; Hasegawa, M. Anti-tumor effect of methanol extracts from red and white wines. *Cancer Biother Radiopharm* 1998; 13(6). 447-452.
 11. Hagiwaraa, A.; Miyashitaa, K.; Nakanishia, T.; Sanoa, M.; Tamanoa, S.; Kadotaa, T.; Kodac, T.; Nakamurac, M.; Imaidab, K.; Itod, N.; Shirai, T. Pronounced inhibition by a natural anthocyanin, purple corn color, of 2-amino-1-methyl-6- phenylimidazo[4,5-b] pyridine (PhIP)- associated colorectal carcinogenesis in male F344 rats pretreated with 1,2-dimethylhydrazine. *Cancer Letters* 2001; 171. 17-25.
 12. Harris, G. K.; Gupta, A.; Nines, R. G.; Kresty, L. A.; Habib, S. G.; Frankel, W. L.; LaPerle, K.; Gallaher, D. D.; Schwartz, S. J.; Stoner, G. D. Effects of lyophilized black raspberries on azoxymethane-induced colon cancer and 8- hydroxy-2-deoxyguanosine levels in the Fischer 344 rat. *Nutr. Cancer* 2001; 40(2). 125–133.
 13. Malik, M.; Zhao, C.; Schoene, N.; Guisti, M.M.; Moyer, M.P.; Magnuson, B.A. Anthocyanin-rich extract from aronia meloncarpa e. induces a cell cycle block in colon cancer but not normal colonic cells. *Nutrition and Cancer* 2003; 46 (2). 186–196.
 14. Nakaishi, H.; Matsumoto, H.; Tominaga, S.; Hirayama, M. Effects of blackcurrant anthocyanoside intake on dark adaptation and VDT work-induced transient refractive alternation in healthy humans. *Altern. Med. Rev* 2000; 5. 553-562.
 15. Jankowski, A.; Jankowska, B.; Niedworok, J. The effect of anthocyanin dye from grapes on experimental diabetes. *Folia Med Cracov* 2000; 41. 5–15.
 16. Kong, J.-M.; Chia, L.-S.; Goh, N.-K.; Chia, T.F.; Brouillard, R. Analysis and biological activities of anthocyanins. *Phytochemistry* 2003; 64. 923-933.
 17. Kuhnau, J. The flavonoids. A class of semi-essential food components: their role in human nutrition. *World Rev. Nutr. Diet* 1976; 24. 117-191.
 18. Harborne J., Williams, C., Anthocyanins and other flavonoids, plant science laboratories, reading university, United Kingdom 1994; p 641.
 19. Cabrita L., Analysis and stability of anthocyanins. [dissertation].university of bergen, department of chemistry, Bergen; 1999.
 20. Miller, N.; Rice-Evans, C. The relative contribution of ascorbic acid a phenolic

- antioxidants to the total antioxidant activity of orange and apple fruit juices and blackcurrant drink. *Food Chemistry* 1997; 60. 331-337.
21. Pomar F., Novo M., Masa A., Varietal differences among the anthocyanin profiles of 50 red table grape cultivars studied by high performance liquid chromatography, *Journal of Chromatography Article* 1094. 2005; p 34-41
 22. Amerine, M.A.; Ough, C.S. *Análisis de vinos y mostos*. Ed. Acribia, Zaragoza; 1976.
 23. AOAC. *Official methods of analysis (15th E.d)*. Association of Official Analytical Chemists, Arling Virginia, USA; 1990.
 24. Giusti M., Wrolstad R., Characterization and measurement of anthocyanins by uv-visible spectroscopy, *current protocols in food analytical chemistry*; 2001.
 25. Kuskoski M., Asuero A., Actividad antioxidante de pigmentos antocianicos. *Cienc. Tecnol. Aliment, Campinas* 24(4) 2004; p 691-693.
 26. Brand, Willams W., Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *lebensm wiss technol*; 1995.
 27. Sanchez C., Larrauri J., A procedure to measure the antirradical efficiency of polyphenols, instituto del frio, departamento de metabolismo y nutricion, consejo superior de investigaciones científicas, en *Journal of science food agriculture*. UK; 1998.
 28. Brand, Willams W., Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *lebensm wiss technol*; 1995.
 29. Sanchez C., Larrauri J., A procedure to measure the antirradical efficiency of polyphenols, instituto del frio, departamento de metabolismo y nutricion, consejo superior de investigaciones científicas, en *Journal of science food agriculture*. UK; 1998.
 30. Ibid.
 31. Ibidem
 32. Tafurt G., Martínez J., Stashenko E., Evaluación de la actividad antioxidante de aceites esenciales en emulsiones degradadas por radiación ultravioleta, *revista colombiana de química*, volumen 34, no. 1; 2005.
 33. Pineda D., Salucci m., Lázaro R., Capacidad antioxidante y potencial de sinergismo entre los principales constituyentes antioxidantes de algunos alimentos, *Rev cubana aliment nutr* 199; 13(2). 1104-111
 34. Kuskoski M., Asuero A., Aplicación de diversos métodos químicos para determinar la actividad antioxidante en pulpa de frutos, en *Cience Technology Aliments, Campinas* 2005; 25(4): 726-732.
 35. Netzel M, Strass G, Kaul C, Irmgard B, Helmut D, Roland B, In vivo antioxidative capacity of a composite berry juice, *Food Research International* 35. 2002; 213-216
 36. Juskiewicz, J.; Zdunczyk, Z.; Wroblewska, M.; Oszmianski, J.; Hernández, T. The response of rats to feeding with diets containing grapefruit flavonoid extract. *Food Research International* 2002; 35: 201-205.
 37. Butler, LG. Protein polyphenols interaction: nutritional aspects. En *Proceedings of grape polyphenol* 1992; Vol. 16. part II, pp. 11-18
 38. Effects of resveratrol, a natural polyphenolic compound found in grapes. *J. Nutr.* 2002; 132 (7), 2076-2081.
 39. Wang, J.; Mazza, G. Inhibitory effect of anthocyanins and other phenolic compounds of nitric oxide production in LPS/IFN- γ -activated RAW 264.7 macrophages. *J. Agric. Food Chem* 2002; 50. 850-857.
 40. Netzel, M.; Strass, G.; Kaul, C.; Bitsch, I.; Dietrich, H.; Bitsch, R. In vivo antioxidative capacity of a composite berry juice. *Food Res. Int* 2002; 35. 213-216.
 41. Morimitsu, Y.; Kubota, K.; Tashiro, T.; Hashizume, E.; Kamiyo, T.; Osawa, T. Inhibitory effect of anthocyanins and colored rice on diabetic cataract formation in the rat lenses. *ICS* 2002; 1245. 503-508.