

# Actividad antioxidante y contenido de polifenoles en frutos de tujíro (*Solanum sessiliflorum* Dunal) provenientes del Amazonas venezolano

## Antioxidant activity and polyphenols content of tupi-ro fruits (*Solanum sessiliflorum* Dunal) from Venezuelan Amazonas

ALICIA M RINCÓN<sup>1\*</sup>, DATZUBI GONZÁLEZ<sup>2</sup>, LIZET BOU RACHED<sup>1</sup>,  
UNAI EMALDI<sup>2</sup> Y FANNY C PADILLA<sup>1</sup>

### Resumen

Se determinó el contenido total de compuestos fenólicos y la actividad antioxidante en muestras de tres variedades de frutos de tujíro, *Solanum sessiliflorum* Dunal, provenientes del Amazonas venezolano. Se evaluaron por separado, las pulpas contentivas de piel y las semillas de cada una de las tres variedades. Se realizó una extracción sólido-líquido con una mezcla de solventes para evaluar los polifenoles totales y la actividad antioxidante. El contenido de polifenoles totales, evaluados por el método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu, de las semillas de las tres variedades estuvo en el orden de 557 a 788 mg equivalentes de ácido gálico (EAG)/100 g de muestra seca y las pulpas entre 1031 a 1392 mg equivalentes de ácido gálico (EAG)/100 g de muestra seca. Todos los extractos mostraron una buena capacidad antioxidante utilizando el método del radical DPPH• (1,1-difenil-2-picril-hidracil). Hubo una buena correlación entre el contenido de polifenoles y la actividad antioxidante ( $r=0,9156$ ). Los frutos de *Solanum sessiliflorum* Dunal, podrían constituir en una fuente promisoría para obtención de alimentos funcionales, con beneficios terapéuticos en la prevención de enfermedades asociadas al estrés oxidativo.

**Palabras clave:** Actividad antioxidante, polifenoles, *Solanum sessiliflorum* Dunal.

### Summary

The total phenol content of three varieties tupi-ro Amazonian Venezuelan fruits, *Solanum sessiliflorum* Dunal, and their related antioxidant activities were determined. The pulp with peel and seed fractions was evaluated. Total phenols and antioxidant activity were evaluated on extracts prepared by a solid-liquid extraction with a mixture of organic solvents. Total phenols content in seeds ranged from 557 to 788 mg gallic acid equivalents (GAE)/100 g dried weight while the pulps range from 1031 to 1392 mg gallic acid equivalents (GAE)/100 dried weight using Folin-Ciocalteu method. All the extracts showed high values of antioxidant activity with DPPH• radical (1,1-diphenyl-2-picryl-hydracyl). These values correlated with total phenol content ( $r=0,9156$ ). The high antioxidant activity presented by all extracts suggests that the tupi-ro fruit represent promising plant sources for functional foods with health benefits in the prevention of diseases associated with oxidative stress.

**Key words:** Antioxidant activity, polyphenoles, *Solanum sessiliflorum* Dunal.

### Introducción

Estudios epidemiológicos y clínicos han mostrado una asociación positiva entre la ingesta de frutas y vegetales y una reducción de enfermedades cardiovasculares, algunos tipos de cáncer y otras enfer-

medades degenerativas (Hu, 2003; Riboli y Norat, 2003). Generalmente se asume que los principales constituyentes de la dieta que contribuyen a estos efectos protectores, son los componentes antioxidantes. Se ha reportado que los polifenoles, por ejemplo,

<sup>1\*</sup> Unidad de Investigación Análisis de Alimentos, Facultad de Farmacia, Universidad Central de Venezuela. Autor para la correspondencia. email:rinconam@gmail.com

<sup>2</sup> Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos. Facultad de Ciencias. Universidad Central de Venezuela.

los flavonoides, actuando solos o junto a otros antioxidantes presentes en frutas y vegetales, son candidatos potenciales en disminuir las enfermedades cardiovasculares (Huxley y Neil, 2003, Joshipura y col., 2001). Los efectos protectores pueden ser atribuidos a sus propiedades como barredores de los radicales libres, compuestos donadores de hidrógeno, atenuadores de oxígeno singlete y/o quelantes de iones metálicos (Ikram y col., 2009).

Además de los bien conocidos efectos terapéuticos que poseen los compuestos antioxidantes, especialmente los polifenoles, y más específicamente, los flavonoides y ácidos fenólicos, presentes en las frutas y vegetales, también se ha incrementado el interés en la sustitución de los antioxidantes sintéticos por los antioxidantes naturales, debido a que éstos últimos no tienen los problemas de toxicidad ni reacciones secundarias y colaterales que presentan los primeros (Velioglu y col., 1998; Fukushima y Tsuda, 1985; Stone y col., 2003). Algunas industrias, como las relacionadas con la producción de aditivos, cosméticos y farmacéuticas, han dedicado sus esfuerzos en la preparación de compuestos bioactivos a partir de productos naturales, por extracción y purificación de los mismos. Los compuestos antioxidantes pueden barrer los radicales libres e incrementar la vida útil, retardando los procesos de peroxidación lipídica, que son responsables del deterioro de los productos alimenticios durante el procesamiento y almacenamiento (Halliwell, 1997; Halliwell y Gutteridge, 1999). Por ello se hace necesario identificar fuentes naturales y seguras de alimentos antioxidantes, así como de antioxidantes naturales de origen vegetal.

La región de Amazonas es depositaria de importantes recursos naturales. Desde tiempos remotos, se han utilizado fuentes vegetales para la alimentación y con fines terapéuticos. El norte de la selva Amazonia (Ecuador, Colombia, Perú, Venezuela) presenta una gran diversidad de especies autóctonas, las cuales son utilizadas por las comunidades indígenas (Vandebroeky col., 2004). En este sentido, entre las especies de plantas útiles con potencial terapéutico y nutricional, se destaca *Solanum sessiliflorum* Dunal, conocida comúnmente como túpico y perteneciente a la familia Solanaceae. Los frutos de *Solanum sessiliflorum*, además de ser utilizados en la alimentación autóctona y tradicional de los habitantes de la región del Amazonas (Salick, 1988), se les atribuyen propiedades hipoglicemiantes, además de disminuir la concentración de lípidos y triglicéridos en sangre (Pardo, 1994), así como para el tratamiento de mordeduras de serpientes, picaduras de alacrán, infecciones de la piel y antihipertensivo (Lizcano y col., 2010).

En vista de las cualidades terapéuticas atribuidas a los frutos de *Solanum sessiliflorum* Dunal, y la poca o inexistente información del contenido compuestos fenólicos y de la capacidad antioxidante de los frutos cultivados en la región del Amazonas venezolano, el objetivo del presente estudio fue determinar el contenido de polifenoles totales y la actividad antioxidante de tres variedades de frutos de *Solanum sessiliflorum* Dunal.

## Materiales y métodos

### MUESTRAS

Se emplearon tres variedades de frutos de túpico, cultivados en la zona del Río Sipapo por comunidades de la etnia Piaroa y adquiridos por la Fundación para el Desarrollo de las Ciencias Físicas, Matemáticas y Naturales (FUDECI) en la ciudad de Puerto Ayacucho, estado Amazonas. Las variedades fueron denominadas como «perita», «manzano» y «piquito», de acuerdo a la forma presentada por los frutos y parámetros físicos determinados (peso, dimensiones y proporción pulpa/semilla) (González y Emaldi, 2005).

Los frutos de cada una de las tres variedades se limpiaron con agua y se secaron con una toalla. Se separó la pulpa de la semilla de cada una de las variedades. La piel no se separó de la pulpa, por encontrarse muy adherida. Las semillas y las pulpas de cada una de las variedades fueron deshidratadas en una estufa al aire a la temperatura de 45°C, hasta sequedad. Posteriormente, cada una de las fracciones de semillas y pulpas se molieron, se pasaron por tamiz No. 60 y se guardaron en envases de vidrio, a temperatura ambiente, para los análisis posteriores.

### EXTRACCIÓN DE LOS COMPUESTOS FENÓLICOS

Se realizó una extracción sólido-líquido, de acuerdo a la metodología previamente descrita (Jiménez-Escrib y col., 2001; Rincón y col., 2003; Rincón y col., 2005; Padilla y col., 2008a). Los extractos de las semillas y pulpas contentivas de piel, de las tres variedades fueron utilizados para la determinación de los compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante. Todos los reactivos utilizados fueron de grado analítico y las mediciones se realizaron por triplicado. Para la determinación de los valores de absorbancia, se utilizó un espectrofotómetro Shimadzu UV/Vis UV-1700, Kyoto, Japan.

### CONTENIDO DE POLIFENOLES TOTALES

El contenido de polifenoles totales fue determinado utilizando el método de Folin-Ciocalteu (Singleton y col., 1999), modificado ligeramente por Dewanto y

col., (2002). La cantidad de polifenoles totales se expresó como gramos equivalentes a ácido gálico por 100 gramos de muestra seca (gramo GAE/100 g de muestra seca). El rango de la curva de calibración de ácido gálico fue de 100 a 500 ppm.

#### ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE

##### Ensayo del barrido del radical DPPH•

Se evaluó espectrofotométricamente la actividad del barrido del radical libre DPPH• (1,1-difenil-2-picryl-hidracil, hidrato, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO) por los extractos de las muestras de pulpa y semillas de los frutos de las tres variedades de *Solanum sessiliflorum* Dunal. El radical libre DPPH• posee una absorción característica a 515 nm (color violeta), la cual decrece significativamente cuando está expuesto a la acción de barrido por parte de un extracto rico en compuestos fenólicos antioxidantes- por suministro de átomos de hidrógeno o por donación de electrones. Una disminución en la absorbancia, a 515 nm, indica un alto barrido del radical por parte del extracto. El barrido de los radicales libres es uno de los mecanismos conocidos mediante el cual los antioxidantes inhiben la oxidación de los lípidos. El ensayo permite evaluar en forma rápida la actividad antioxidante *in vitro* de compuestos específicos o extractos. La capacidad antirradical de los extractos de las muestras de pulpa con piel y semillas de las tres variedades de túpiro estudiadas se determinaron tomando 0,025 mL de los

extractos adecuadamente diluidos y añadiéndoles 0,975 mL de solución de DPPH• (60 µM en MeOH), midiéndose la absorbancia a tiempo inicial y a intervalos de tiempo, a 515 nm, hasta que la reacción alcanzara el equilibrio (Jiménez-Escrib y col., 2002). La cantidad de antioxidante requerido para ocasionar un 50% de inhibición (actividad antioxidante) se expresó como EC<sub>50</sub> (g muestra/g DPPH•); se calculó el TEC<sub>50</sub>, tiempo necesario para alcanzar el estado de equilibrio a la concentración correspondiente a EC<sub>50</sub>. La eficiencia antirradical (EA) se calculó de acuerdo a la relación  $EA = 1 / EC_{50} \times TEC_{50}$  (Sánchez-Moreno y col., 1998).

#### ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los resultados se expresaron como el promedio  $\pm$  desviación estándar (DE). El programa estadístico Statgraphics, versión plus 5, fue utilizado para el análisis de los datos (análisis de regresión lineal para la determinación de los valores de EC<sub>50</sub> y TEC<sub>50</sub>, ANOVA y prueba t- student, con un nivel de significancia  $p < 0,05$ ).

#### Resultados y discusión

El contenido de polifenoles en las muestras de semillas y pulpa contentiva de piel, de las tres variedades de túpiro se presentan en la Tabla I. Los compuestos fenólicos son importantes constituyentes de las plantas y su habilidad de barrer los radicales libres se atribuye a los grupos hidroxilos que ellos poseen (Hatano

Tabla I

#### Contenido de polifenoles (g-EAG/100 g muestra seca), EC<sub>50</sub> (g/g DPPH•), TEC<sub>50</sub> y Eficiencia antirradical (EA) en frutos de *Solanum sessiliflorum* Dunal

MUESTRA <i>Solanum sessiliflorum</i> Dunal. "TÚPIRO"	POLIFENOLES (g-EAG/100 g mx) $\pm$ DE	EC <sub>50</sub> g/g DPPH	TEC <sub>50</sub> (min)	EA (1/EC <sub>50</sub> .TEC <sub>50</sub> )
Perita semilla	0,578 $\pm$ 0,05a	5,49	13,48	0,0014
Manzano semilla	0,557 $\pm$ 0,11a	5,26	12,99	0,0015
Piquito semilla	0,788 $\pm$ 0,28b	3,59	14,37	0,020
Perita pulpa	1,031 $\pm$ 0,09c	2,97	13,53	0,025
Manzano pulpa	1,032 $\pm$ 0,04c	3,01	18,38	0,018
Piquito Pulpa	1,392 $\pm$ 0,09d	2,20	15,12	0,030

EAG: Equivalentes a ácido gálico; EC<sub>50</sub> concentración extracto que atrapa el 50% de radical DPPH•, TEC<sub>50</sub> tiempo necesario para alcanzar el estado de equilibrio a la concentración correspondiente a EC<sub>50</sub>; EA Eficiencia antirradical DE: desviación estándar; todos los análisis se realizaron por triplicado. Letras iguales en una misma columna, denota que no existen diferencias estadísticamente significativas.  $p < 0,05$ .

y col., 1989). Todas las pulpas presentaron un contenido de polifenoles que van desde 1,031 hasta 1,392 g equivalentes a ácido gálico (EAG)/100 g de muestra seca. Las semillas de todas las variedades presentaron un contenido menor de compuestos fenólicos (0,557 hasta 0,788 g equivalentes a ácido gálico (EAG)/100 g de muestra seca). Probablemente la diferencia puede deberse a que la piel de los frutos pudo contribuir al contenido total de polifenoles de la pulpa. Es importante indicar que los valores obtenidos en este estudio son mucho más elevados que los reportados por Lizcano y col. (2010) (96 mg/100 g) para los mismos frutos de tujíro y para plantas medicinales provenientes del Amazonas venezolano (Padilla y col., 2008a), pero menores a los obtenidos en otras fuentes de alimentos (Jiménez-Escrib y col., 2001; Rincón y col., 2003; Rincón y col., 2005; Padilla y col., 2008b). En el caso de los frutos de tujíro, la diferencia podría ser atribuida a los métodos de extracción utilizados. Lizcano y col., 2009, señalaron que la extracción de los compuestos fenólicos la realizaron en agua caliente, mientras que en este estudio se utilizaron para la extracción una mezcla de solventes: metanol:agua (50:50) acidificada al 8% y acetona:agua (70:30), lo cual permite extraer eficientemente los compuestos antioxidantes, por el uso de solventes con diferentes polaridades y solventes acidificados (Awika y col., 2005; Pérez-Jiménez y col., 2008). Por otra parte, Lapornik y col. (2004) reportaron que los extractos metanólicos y etanólicos de frutos de grosella y de uvas presentaron el doble del contenido de polifenoles que los extractos acuosos.

Hubo una elevada correlación lineal entre la actividad antioxidante y el contenido de polifenoles en las muestras estudiadas ( $r=0,9156$ ). En general, la literatura señala una correlación lineal entre la actividad antioxidante y los extractos polifenólicos en frutas (Vasco y col., 2008; Ramful, 2010).

Todas las pulpas presentaron valores mayores de eficiencia antirradical que las semillas, a excepción de las semillas de la variedad piquito, cuyo valor de eficiencia antirradical fue comparable a las pulpas estudiadas (Tabla I). Algunos autores señalan que las fracciones de semillas y de piel de algunos frutos presentan mayor actividad antioxidante que las pulpas (Bagchi y col., 2000; Singh y col., 2002; Guo y col., 2003).

Los valores de  $EC_{50}$  encontrados en este estudio son mucho más bajos que los reportados por Vasco y col. (2008) para frutas provenientes del Ecuador, lo cual representa una ventaja, ya que se requieren cantidades mucho menores para atrapar los radicales generados por un gramo de DPPH•.

Sánchez-Moreno y col. (1998) determinaron los valores de  $EC_{50}$  de algunos estándares antioxidantes, entre los que tenemos el correspondiente a ácido gálico (0,026 g/g DPPH•). Al relacionar este valor de  $EC_{50}$ , con el valor  $EC_{50}$  obtenido para la pulpa de tujíro de piquito (2,20 g/g DPPH•), encontramos que un gramo de pulpa del fruto de *Solanum*, variedad piquito, es equivalente al poder antioxidante de 11,81 mg de ácido gálico.

## Conclusiones

Los frutos de *Solanum sessiliflorum* Dunal mostraron una elevada actividad antioxidante, por lo que podrían constituir una fuente promisoriosa para la obtención de alimentos funcionales, con beneficios terapéuticos en la prevención de enfermedades asociadas al estrés oxidativo. Se hace necesario ampliar las investigaciones en la evaluación de otros compuestos bioactivos, tales como vitaminas y fibra, que pudiesen contribuir a los beneficios antes señalados.

## Referencias bibliográficas

- Awika SM, Rooney, LW, Waniska RD. 2005. Anthocyanins from black sorghum and their antioxidant properties. *Food Chem* 90(1-2): 293-301.
- Bagchi D, Bagchi M, Stohs SJ, Ray SD, Sen CK, Preuss HG. 2000. Free radicals and grape seed proanthocyanidin extract: importance in human health and disease prevention. *Toxicology* 148(2):187-189.
- Dewanto V, Wu X, Adom KK, Liu RH. 2002. Thermal processing enhances the nutritional value of tomatoes by increasing total antioxidant activity. *J Agric Food Chem* 50:3010-3014.
- Fukushima NS, Tsuda H. 1985. Carcinogenicity and modification of the carcinogenic response by BHA, BHT and other antioxidants. *Crit Rev in Toxic* 15:109-150.
- González D. 2005. Aprovechamiento del Tujíro (*Solanum sessiliflorum* Dunal) como materia prima para la Elaboración de Mermeladas y Extracción de Pectina. Tutor: MSc. Unai Emaldi Pimentel. Trabajo de Grado (Maestría Ciencia y Tecnología de Alimentos), Postgrado Interfacultades en Ciencia y Tecnología de Alimentos, UCV, pp.170.
- Guo Ch, Yang J, Wei J, Li Y, Xu J, Jiang Y. 2003. Antioxidant activities of peel, pulp and seed fractions of common fruits as determined by FRAP assay. *Nutr Res* 23: 1719-1726.
- Halliwell B. 1997. Antioxidants in human health and disease. *Ann Rev in Toxic* 15:109-150.
- Halliwell B, Gutteridge JMC. 1999. Free radicals in biology and medicine. United Kingdom: Oxfors University Press.
- Hatano T, Miyatake H, Natsume M, Osakabe N, Takizawa T, Ito H, Yoshida T. 2002. Proanthocyanidin glycosides and

- related polyphenols from cacao liquor and their antioxidant effects. *Phytochem* 59:749-758.
- Hu FB. 2003. Plant-based foods and prevention of cardiovascular disease: an overview. *Amer J Clin Nutr* 78: 544S-551S.
- Huxley RR, Neil HA. 2003. The relation between dietary flavonol intake and coronary heart disease mortality: a meta-analysis of prospective cohort studies. *Eur J of Clin Nutr* 57: 904-908.
- Ikram EHK, Eng KH, Jalil AMM, Ismail A, Idris S, Azlan A, Nazri HSM, Diton NAM, Mokhtar RAM. 2009. Antioxidant capacity and total phenolic content of Malaysian underutilized fruits. *J Food Comp and Anal* 22: 388-393.
- Jiménez-Escrig A, Rincón M, Pulido R, Saura-Calixto F. 2001. Guava fruit (*Psidium guajava* L.) as a new source of antioxidant dietary fiber. *J Agric Food Chem* 49(11): 5489-93.
- Joshiyura KJ, Hu FB, Manson JE, Stampfer MJ, Rimm EB, Speizer FE, Colditz G, Ascherio A, Rosner B, Spiegelman D, Willett WC. 2001. The effect of fruit and vegetable intake on risk of coronary heart disease. *Ann Int Med* 134: (12) 1106-1114.
- Lapornik B, Prosek M, Golc Wondra A. 2004. Comparison of extracts prepared from plant by products using different solvents and extraction time. *J Food Eng Art* in press.
- Lizcano L, Bakkali F, Ruiz-Larrea MB, Ruiz-Sanz JI. 2010. Antioxidant activity and polyphenol content of aqueous extracts from Colombian Amazonian plants with medicinal use. *Food Chem* 119:1566-1570.
- Padilla FC, Rincón AM, Bou Rached L, Suárez A. 2008a. *Prostium neglectum*, *Podocalyx loranthoides*, and *Brosimum utile* source of flavonoids and other phenolic compounds with antioxidant activity. *Rev Fac Farm. UCV* 71:8-14.
- Padilla FC, Rincón AM, Bou-Rached L. 2008b. Contenido de polifenoles y actividad antioxidante de varias semillas y nueces. *Arch Latinoamer Nutr* 58:303-308.
- Pardo M. 1994. Efecto de *Solanum sessiliflorum* Dunal sobre el metabolismo lipídico y de la glucosa. *Ciencia e Investigación VII* (2). *Fac Farm Bioquím UNSM. Univ Particular Norbert Wiener*. 43-48.
- Pérez-Jiménez J, Arranz S, Tabernero M, Díaz-Rubio ME, Serrano J, Goñi I, Saura-Calixto F. 2008. *Food Res Intern* 4: 274-285.
- Ramful D, Bahorun T, Bourdon E, Tarnus E, Aruoma O. 2010. Bioactive phenolics and antioxidant propensity of flavado extracts of Mauritian citrus fruits: Potential prophylactic ingredients for functional foods application. *Toxicology* 278(1):75-87.
- Riboli E, Norat T. 2003. Epidemiologic evidence of the protective effect of fruit and vegetables on cancer risk. *Amer J Clin Nutr* 78: (3) 559S-569S.
- Rincón AM, Padilla F, Tapia MS. 2003. Evaluación de fitoquímicos en el exocarpo (cáscara) de algunas frutas cultivadas en Venezuela. *Rev Fac Far, UCV*. 66(2): 73-78.
- Rincón AM, Vásquez M, Padilla F. 2005. Composición química y compuestos bioactivos de cáscaras de naranja (*Citrus sinensis*), mandarina (*Citrus reticulata*) y toronja (*Citrus paradisi*) cultivadas en Venezuela. *Arch Latinoamer Nutr* 55 (3):305-310.
- Salick J. 1988. Cocona (*Solanum sessiliflorum* Dunal). Production, nutrition and breeding potentials of de peach tomato, and underexploited crop of the Peruvian Tropics. USAID/Perú, Lima. pp. 18.
- Sánchez-Moreno C, Larrauri JA, Saura-Calixto F. 1998. Free radical scavenging capacity of selected red, rose, and white wines. *J Sci Food Agric* 79: 1301-1304.
- Singh RP, Murthy KNC, Jayaprakasha GK. 2002. Studies on the antioxidant activity of pomegranate peel and seed extract using *in vitro* models. *J Agric Food Chem* 50: 81-86.
- Singleton VL, Orthofer R, Lamuela-Raventos RM. 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of the Folin-Ciocalteu reagent. *Meth Enzymol* 299:152-178.
- Stone, WL, Leclair I, Ponder T, Bagss G, Barret-Reis B. 2003. Infants discriminate between natural and synthetic vitamin E. *Amer J Clin Nutr* 77: 899-906.
- Vandebroek, I, Van DP, Van PL, Arrazola S, De KN. 2004. A comparison of traditional healers' medicinal plant knowledge in the Bolivian Andes and Amazon. *Social Sci and Medic* 59:837-849.
- Velioglu YS, Mazza G, Gao L, Oomah BD. 1998. Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables, and grain products. *Journal Agric Food Chem* 46: 4113-4117.