

Evaluación de fitoquímicos en el exocarpio (cáscara) de algunas frutas cultivadas en Venezuela

Evaluation of phytochemicals in the peel of some Venezuelan fruits

RINCÓN, ALICIA MARIELA^{1*}, TAPIA, MARÍA SOLEDAD², PADILLA, FANNY C¹.

Resumen

Los estudios nutricionales se han dirigido hacia la investigación del efecto protector y preventivo de los alimentos a ciertas enfermedades, tales como las cardiovasculares, algunos tipos de cáncer y otras enfermedades degenerativas, así como el envejecimiento. Esto se atribuye a que ciertos alimentos pueden suministrar una mezcla óptima de fitoquímicos tales como antioxidantes naturales, fibras y otros compuestos bioactivos. En este trabajo, las fracciones liofilizadas de cáscara de níspero (*Manilkara achras*), pomagás (*Syzygium malaccense*) y dos variedades de guayaba, rosada y blanca (*Psidium guajava*) y (*Psidium acutangulum*) se evaluaron en cuanto al contenido de polifenoles totales, capacidad antioxidante, fibra dietética y vitamina C. Los polifenoles totales se separaron mediante una extracción líquido-líquido, usando mezcla de solventes orgánicos y agua y cuantificados por el método de Folin-Ciocalteu, con ácido gálico como estándar; la capacidad antioxidante por el método del 2,2-difenil-1-picrylhydracyl (DPPH[•]), y el contenido de fibra dietética y vitamina C se determinaron por métodos oficiales AOAC. Las cáscaras mostraron altos valores de polifenoles extraíbles (43,74 – 77,9 g GAE/Kg) b.s., así como fibra dietética y vitamina C. El alto contenido de polifenoles se correlaciona con la capacidad antioxidante. Estos resultados sugieren que las fracciones de las cáscaras de frutas podrían ser utilizadas para obtener «fibra dietética antioxidante», un nuevo concepto que combina las propiedades de la fibra y compuestos bioactivos con capacidad antioxidante.

Palabras claves: cáscara de níspero (*Manilkara achras*), cáscara de pomagás (*Syzygium malaccense*), cáscara de guayaba (*Psidium guajava*) y (*Psidium acutangulum*), fitoquímicos, compuestos bioactivos, fibra dietética antioxidante.

Abstract

Nutritional studies have been focused on the protective and preventing effect of some vegetable foods on certain diseases such as cardiovascular, cancer, age related and degeneration diseases. These effects are attributed to the presence of phytochemicals such as antioxidants, fiber and other bioactives compounds. The objective of this work was evaluated the antioxidant capacity, total polyphenols, dietary fiber and vitamin C content in the freeze dried peel of *Manilkara achras*, *Syzygium malaccense*, *Psidium guajava* y *Psidium acutangulum*. Polyphenols were extracted from samples using aqueous-organic solvents by liquid-liquid extraction and were estimated by the Folin-Ciocalteu method. The antioxidant activity of polyphenol compounds was studied using the free radical DPPH[•] scavenging methods; and dietary fiber and vitamin C were assessed by the AOAC methods. Results showed average polyphenols content of 43.74-77.9 g GAE / Kg (d.w), high vitamin C and dietary fiber values. There is correlation between the antioxidant capacity and polyphenol content. These results indicate that the fruit peels could also be used to obtain antioxidant fiber, a new concept which combines in a single natural product the properties of dietary fiber and antioxidant compounds.

Keyword: *Manilkara achras* peel, *Syzygium malaccense* peel, *Psidium guajava* peel, *Psidium acutangulum* peel, phytochemical, bioactive compounds, antioxidant dietary fiber.

¹ Unidad de Investigación Análisis de Alimentos. Facultad de Farmacia. Universidad Central de Venezuela

² Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos. UCV

* A quien debe dirigirse la correspondencia

Introducción

Estudios epidemiológicos indican que un consumo frecuente de frutas está asociado a un menor riesgo de infarto y cáncer (Beecher, 1999). Existe una evidencia cada vez más fuerte de que los alimentos contienen también sustancias fisiológicamente activas que cumplen, al igual que los nutrientes, una función que contribuye a reducir la incidencia de ciertas enfermedades y por tanto son necesarias para una vida saludable, dichas sustancias reciben el nombre de fitoquímicos (Beecher, 1999, Steinmetz y Potter, 1991). La mejor vía para entender los beneficios a la salud suministrados por alimentos vegetales y la base para la creación de alimentos funcionales, es la caracterización de sus constituyentes fisiológicamente activos, los fitoquímicos (Hasler y Blumberg, 1999). Sin embargo, los constituyentes específicos responsables de tales efectos positivos no están completamente elucidados. Entre los compuestos bioactivos se encuentran los polifenoles, constituyendo uno de los grupos de metabolitos más numerosos y ampliamente distribuidos en el reino vegetal y forman parte integral de la dieta animal y humana, que van desde simples moléculas fenólicas a compuestos altamente polimerizados como los taninos; la aparición de este complejo grupo de sustancias en alimentos vegetales es extremadamente variable (Bravo, 1998).

La fibra dietética, y más recientemente, los microconstituyentes presentes en frutas y vegetales, se consideran que juegan un rol significativo en la prevención de enfermedades crónicas y degenerativas. Se han realizado muchos estudios en animales o en humanos sobre la capacidad de las diferentes fibras alimentarias para reducir las concentraciones de colesterol en el plasma (Dillard y German, 2000).

El interés actual en la vitamina C se centra en su habilidad para actuar como antioxidante; el ascorbato es un donante de electrones (o agente reductor) en las reacciones químicas intra y extracelulares, por lo que el ascorbato podría desempeñar un papel esencial en la defensa frente a la oxidación celular (Economos y Clay, 1999). El níspero, pomagás y guayaba son frutas ampliamente consumidas en Venezuela, especialmente en forma fresca. Tales frutas podrían ser fuente potenciales de fitoquímicos con implicaciones favorables sobre la salud.

Considerando que las cáscaras de las frutas y vegetales contienen la mayor cantidad de compuestos bioactivos, entre los cuales están la fibra dietética, la vitamina C y los polifenoles, con efectos favorables a la salud, en este trabajo se evaluó el contenido de fibra dietética, vitamina C y polifenoles totales, así como la capacidad antioxidante de los extractos de las cáscaras de níspero (*Manilkara achras*), pomagás (*Syzygium malaccense*) y dos varie-

dades de guayaba, rosada y blanca (*Psidium guajava*) y (*Psidium acutangulum*) respectivamente.

Materiales y Métodos

Muestras: frutas de níspero (*M. achras*), pomagás (*S. malaccense*) y dos variedades de guayaba (*P. guajava*) y (*P. acutangulum*) fueron adquiridas en el mercado local (Quinta Crespo, Caracas) Las frutas tenían un grado de madurez adecuado (pulpa firme), sin daños visibles, al momento de ser procesadas.

La obtención de las harinas de las cáscaras de las frutas, se presenta en la figura 1.

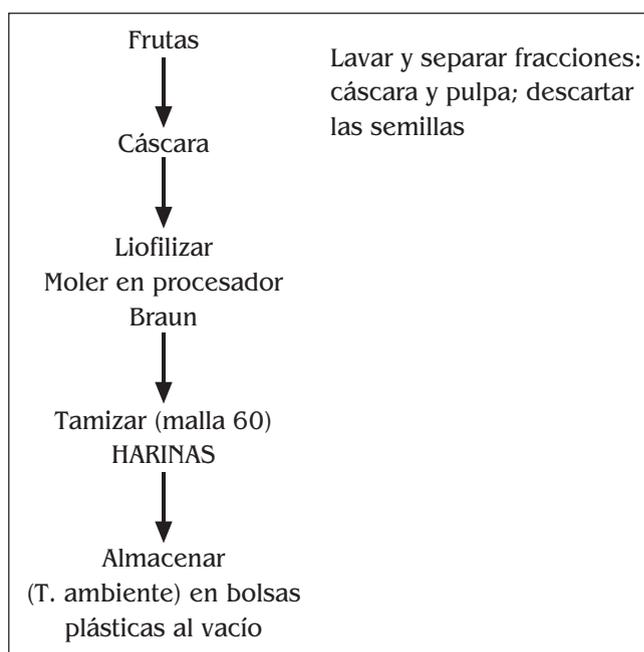


Figura 1

Esquema tecnológico para la obtención de harinas liofilizadas de cáscaras de níspero (*M. achras*), pomagás (*S. malaccense*) y dos variedades de guayaba (*P. guajava*) y (*P. acutangulum*)

EQUIPOS:

Espectrofotómetro uv/vis Génesis 5
Fibertec System E 1023. Módulo de filtración
Liofilizador Labconco, Freeze Dry Modelo LYPH-LOCK 12, temp (-47-488 °C); presión 250-350 x 10⁵ Mbar

Espectrofluorómetro Shimadzu RF-5301, personal fluorescence software, versión 1,2 para windows, 1995-1996.

Reactivos: todos los reactivos usados fueron grado analítico.

MÉTODOS

Extracción de polifenoles, usando mezcla de solventes: 0,8% HCl 2 N en Metanol/agua (50:50); acetona:agua (70:30)

Polifenoles totales: Método Folin-Ciocalteu, (Montreau F.R. 1972)

Actividad antioxidante: a los extractos obtenidos se les determinó la capacidad antioxidante mediante el método del radical DPPH' (Sánchez-Moreno y col., 1998). Fundamento: generación de radicales libres a partir de una solución metanólica de 2,2-difenil-1-picril-hidracil. En forma de radical, el DPPH' absorbe a 515 nm, absorbancia que disminuye por la presencia de otras especies radicales o por reducción con un agente oxidante. El parámetro EC_{50} , el cual refleja la concentración del extracto que atrapa en un 50% el radical libre DPPH', se expresó en términos de g de muestra equivalente por g de DPPH' en el medio de reacción. El tiempo (TEC_{50}) para alcanzar el estado de equilibrio a EC_{50} se calcula por regresión lineal. También se calculó la eficiencia antirradical (AE) mediante la ecuación:

$$AE = 1/EC_{50} \cdot TEC_{50}$$

Fibra dietética soluble e insoluble: método oficial (AOAC, 2000)

Vitamina C: método fluorométrico, (AOAC, 2000)

Análisis estadístico

Cada muestra se analizó por triplicado. Los resultados se expresan como valores promedio \pm la desviación estándar. La comparación de las medias se realizó por análisis de varianza (ANOVA), utilizando un nivel de significancia de $p < 0,05$. Los análisis de regresión lineal y ANOVA, se ejecutaron utilizando el programa estadístico Statgraphics Plus, versión 5.1, para windows 1.4, (1994-1995).

Resultados y discusión

POLIFENOLES TOTALES

Los resultados del contenido de compuestos fenólicos totales de las cáscaras en estudio se muestran en la Tabla 1. Todas las muestras presentaron altos valores de polifenoles totales. El estudio estadístico reveló que entre las cáscaras de níspero y pomagás no hubo diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$).

ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE

Los valores de EC_{50} se presentan en la Tabla 1. Todas las fracciones de cáscara de frutas estudiadas tuvieron

Tabla 1

Contenido de polifenoles totales extraíbles, expresados como equivalentes de ácido gálico, actividad de barrido del radical libre DPPH' en las fracciones de piel de níspero, pomagás y guayaba

Muestra	Polifenoles totales (g GAE/Kg)	DPPH'		
		EC_{50} (g mx, bs /g DPPH')	TEC_{50} (minutos)	EA ($1/EC_{50} \cdot TEC_{50}$)
Níspero (<i>M.achras</i>)	$45,17 \pm 0,097^a$	$6,41 \pm 0,181^a$	$41,51 \pm 0,56^a$	0,0033 ^a
Pomagás (<i>S.malaccense</i>)	$43,74 \pm 0,246^a$	$6,81 \pm 0,136^a$	$41,76 \pm 0,3^a$	0,0035 ^a
Guayaba rosada (<i>P. guajava</i>)	$58,7 \pm 0,32^b$	$1,92 \pm 0,245^b$	$38,45 \pm 0,42^b$	0,0140 ^b
Guayaba blanca (<i>P. acutangulum</i>)	$77,9 \pm 3,0^c$	$2,62 \pm 0,57^c$	$54,74 \pm 1,23^c$	0,010 ^c

Letras iguales en una misma columna indica que no existen diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$)

Cada valor es el promedio \pm desviación estándar, $n=5$.

GAE: equivalentes de ácido gálico (estándar)

EC_{50} : Concentración del extracto de la muestra que «secuestra» el 50% del radical libre DPPH'

TEC_{50} : tiempo necesario (de equilibrio) para que el extracto de la muestra «secuestre» el 50% del radical libre DPPH'

EA: eficiencia antirradical, relaciona los parámetros EC_{50} y TEC_{50}

b.s.: base seca

mx: muestra

una alta actividad de barrido del radical libre DPPH', destacándose las muestras de cáscara de guayaba en sus dos variedades, que presentaron los valores menores de EC₅₀ y los mayores valores de compuestos fenólicos totales.

El análisis de regresión lineal entre los valores EC₅₀ de los diferentes extractos de las cáscaras de las frutas y el contenido de polifenoles totales mostró una correlación estadísticamente significativa ($p < 0,05$). La literatura muestra una correlación lineal entre la actividad antioxidante y los extractos polifenólicos en frutas y vegetales (Robards y col, 1999) y bebidas (Saint-Cricq de Gaulejac y col, 1999), pero no para las cáscaras de las frutas aquí estudiadas. Esta correlación sugiere que la contribución de los compuestos fenólicos en este modelo es alta.

Los valores EC₅₀, expresados en (g antioxidante/g DPPH'), de algunos estándares son los siguientes: ácido gálico: 0,026; ácido tánico: 0,059; ácido cafeico: 0,069; quercertina: 0,084 y DL- α -tocoferol: 0,201 (Sánchez-Moreno y col., 1998).

Al relacionar el valor de EC₅₀ de un antioxidante como el DL- α -tocoferol y los valores de EC₅₀ obtenidos en este estudio encontramos que un gramo de cáscara de níspero, un gramo de cáscara de pomagás y un gramo de cáscara de guayaba, en sus dos variedades (*P. guajava* y *P. acutangulum*) es equivalente al poder antioxidante de 31,35 mg, 29,51 mg, 104,1 mg y 76,72 mg de DL- α -tocoferol respectivamente. Las analogías de las diferentes muestras en estudio con otros antioxidantes se muestran en la Tabla 2.

FIBRA DIETÉTICA Y ÁCIDO ASCÓRBICO

En la Tabla 3 se muestran los valores obtenidos de fibra dietética en las fracciones liofilizadas de las cáscaras de níspero (*M. achras*), pomagás (*S. malaccense*) y dos variedades de guayaba (*P. guajava*) y (*P. acutangulum*).

Todas las muestras tuvieron un contenido de fibra dietética total por encima de los requerimientos diarios (20-40 g/ persona/ día) (INN, 2000), por lo que se puede inferir que estas frutas son una buena fuente de fibra dietética. La fracción principal encontrada en las harinas de las cáscaras de las frutas fue la fibra dietética insoluble, representando entre 96 y 98% de la fibra dietética total. Esto puede ser explicado por el alto contenido de celulosa en la pared celular en las cáscaras de las frutas, pues esta fracción está constituida principalmente por celulosa, hemicelulosa y lignina. Se conoce que el consumo de fibra dietética insoluble provoca en el organismo un aumento en el volumen y peso de la masa fecal, reduce la constipación y aumenta la eliminación de moléculas orgánicas, mutágenos y ácidos biliares por lo que se reduce el riesgo de cáncer de colon (López y col., 1997). En cuanto a la fibra dietética soluble, las muestras estudiadas tuvieron entre 2 y 4% de la fibra dietética total; la cantidad de fibra dietética soluble que aportan los residuos al organismo son fisiológicamente importantes ya que esta fracción es el sustrato mayoritario para la fermentación colónica (Gallaher y Schneeman, 1997) por lo que con su ingesta se logra una disminución en la concentración de colesterol y glucosa en sangre, un incremento en la eliminación de ácidos biliares y el crecimiento y proliferación de la flora colónica.

Desde el punto de vista funcional, la fracción soluble determina la solubilidad, hinchamiento, capacidad de retención de agua y viscosidad de la fibra, factores determinantes cuando se realiza la incorporación en un alimento, debido a que estas propiedades son las que determinan el grado máximo de añadido.

La cáscara de guayaba en sus dos variedades rosada y blanca, tiene un mayor contenido de fibra dietética total en comparación con las otras cáscaras de frutas estudiadas. Las cáscaras de las otras frutas también poseen un contenido de fibra total adecuado, por lo que sería factible en el enriquecimiento de productos alimenticios.

Tabla 2
Antioxidante (mg) que se corresponden con un gramo de muestra

Muestra: (1 g) de cáscara de:	Estándar antioxidante (mg)				
	Ácido gálico	Ácido tánico	Ácido cafeico	Quercertina	DL- α -tocoferol
Níspero	4,05	9,20	10,76	13,10	31,35
Pomagás	3,81	8,66	10,13	12,33	29,51
Guayaba rosada	13,54	30,13	35,34	43,75	104,7
Guayaba blanca	9,92	22,52	26,33	32,06	76,12

El análisis estadístico reflejó que hubo diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) en los parámetros de fibra dietética soluble, fibra dietética insoluble y fibra dietética total.

En la Tabla 3 se muestran los valores obtenidos de ácido ascórbico en las muestras de las cáscaras de níspero (*M. achras*), pomagás (*S. malaccense*) y las dos variedades de guayaba (*P. guajava*) y (*P. acutangulum*).

La vitamina C es un componente nutricional de importancia porque interviene en los procesos bioquímicos y metabólicos del organismo tales como la protección contra infecciones y enfermedades, la síntesis de colágeno, además de poseer propiedades antioxidantes por lo que retarda el deterioro y la rancidez. Al realizar el análisis estadístico (ANOVA) en la determinación del contenido de vitamina C para cada una de las muestras, se encontró que existen diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) entre todos los valores experimentales obtenidos. Las cáscaras de guayaba variedad rosada, mostraron los valores más elevados de vitamina C. Aun cuando los valores de vitamina C en los frutos completos reportados en la Tabla de Composición de Alimentos (INN 2001) son mayores que los obtenidos en este estudio, podríamos señalar que las cáscaras de las frutas podrían constituirse en una fuente aprovechable de tal vitamina.

Conclusiones

Las fracciones de cáscara de níspero (*M. achras*), pomagás (*S. malaccense*) y guayaba en sus dos variedades (*P. guajava*) y (*P. acutangulum*) presentaron niveles elevados de compuestos fenólicos, fibra dietética total y valores aceptables de vitamina C. Existe una correlación estadísticamente significativa entre el contenido de

polifenoles totales y la capacidad antioxidante. Los fitoquímicos o compuestos bioactivos (polifenoles, fibra dietética y ácido ascórbico) contribuyen significativamente a la alta capacidad antioxidante de las cáscaras de las frutas. Dado que las cáscaras de los frutos aquí analizados son fuente de fibra dietética y están asociadas con antioxidantes naturales como polifenoles y ácido ascórbico, podrían ser calificadas como alimentos funcionales pudiéndose constituir en suplementos alimenticios y ser comercialmente explotados. Sería altamente recomendable identificar los compuestos fenólicos de las cáscaras de las frutas en estudio.

Agradecimientos

Al Instituto de Investigaciones Farmacéuticas de la Facultad de Farmacia, UCV, proyecto IIF-2000. Las autoras agradecen a la Lic. Patricia Carrillo por su ayuda en la realización de los análisis de actividad antioxidante.

Referencias Bibliográficas

- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. (2000). *Official Methods Of Analysis*. The Association Of Official Analytical Chemists, Inc, Arlington, Virginia
- BEECHER G.R. (1999). Phytonutrient Rol in Metabolism: Effects on Resistance to Degenerative Processes. *Nutr. Rev.* 57, S3-S6
- BRAVO, L. (1998). Polyphenols: Chemistry, Dietary Sources, Metabolism and Nutritional Significance. *Nutr. Rev.* 56(11):317-333
- DILLARD, C. and GERMAN, B. (2000). Review: Phytochemicals: Nutraceuticals and Human Health. *J. Sci. Food Agric.* 80: 1744-1756
- ECONOMOS, C. and CLAY, W. (1999). Nutritional Benefits of Citrus Fruits. *Food Nutr and Agric* 24:11-18

Tabla 3

Fibra dietética soluble, insoluble y total (g/100 g) y vitamina C (mg/100 g) en los extractos de cáscara de níspero, pomagás y guayaba

Muestra: Cáscaras de	Fibra dietética (g/100 g b.s)			Vitamina C (mg/100 g)
	FDS	FDI	FDT	
Níspero	0,391 ± 0,002 ^a	24,53 ± 0,021 ^a	24,92	9,77 ± 4,17 ^a
Pomagás	0,331 ± 0,014 ^b	20,39 ± 0,046 ^b	20,72	4,47 ± 5,54 ^b
Guayaba rosada	1,83 ± 0,27 ^c	46,72 ± 2,16 ^c	48,55	28,17 ± 2,18 ^c
Guayaba blanca	1,53 ± 0,17 ^d	39,19 ± 0,97 ^d	40,86	27,39 ± 2,4 ^d

FDS: fibra dietética soluble; FDI: fibra dietética insoluble; FDT: fibra dietética total

Los valores son el promedio ± desviación estándar (n=3).

Letras diferentes en una misma columna expresa diferencias estadísticamente significativas.

- GALLAHER, D.D; SCHNEEMAN B.O. (1997). Fibra Alimentaria. En: Ekhard, E., Ziegler, L.; Filer J.R. *Conocimientos Actuales sobre Nutrición*. 7 ed. OPS. Cap. 9.
- HASLER, C.M. and BLUMBERG, J.F. (1999). Symposium on phytochemicals: Biochemistry and Physiology. *J. Nutr.* 129(3): 756S-757S.
- INN «INSTITUTO NACIONAL DE NUTRICIÓN». (2000). Valores de Referencia de Energía y Nutrientes para la Población Venezolana. Publicación N° 53. *Serie Cuadernos Azules*. Caracas Venezuela, pp. 36
- INN «INSTITUTO NACIONAL DE NUTRICIÓN». (2001). Tabla de Composición de Alimentos para Uso Práctico. Publicación N° 54. *Serie Cuadernos Azules*. Caracas Venezuela, pp. 58-61.
- LÓPEZ, G.; ROS, G.; RINCÓN, F.; PIRIAGO, M.; MARTÍNEZ, C.; ORTOÑO, J. (1997). Propiedades Funcionales de la Fibra Dietética. Mecanismos de Acción en el Tracto Intestinal. *Arch Latinoam Nutr.* 47 (3):203-206.
- MONTREAU F.R. (1972). Sur le Dosage des Composés Phénoliques Totaux Dans les Vins par la Methode Folin- Ciocalteu. *Connaiss Vigne Vin*, 24, 397-404.
- ROBARDS, K.; PRENZELER, P.D.; TUCKER, G.; SWATSITANG, P.; GLOVER, W. (1999). Phenolic Compounds and Their Role in Oxidative Processes in Fruits. *Food Chem.* 66, 401-436.
- SAINT-CRICQ DE GAULEJAC, N.; GLORIES, Y.; VIVAS, N. (1999). Free Radical Scavenging Effect of Anthocyanins in Red Wines. *Food Res. Inter.*, 32, 327-333.
- SÁNCHEZ-MORENO, C.; LARRAURI, J. A.; SAURA-CALIXTO, F. (1998). A Procedure to Measure the Antiradical Efficiency of Polyphenols. *J. Sci. Food Agric.*, 76, 270-276.
- STEINMETZ, K AND POTTER, J. (1991). Vegetables, Fruit, and Cancer. I. Epidemiology. *Cancer Causes Control* 2:325-327.