

Actividad Antioxidante de las fracciones Hidrofílicas y Lipofílicas de *Rubus idaeus* 'Autunm Bliss' (frambuesa) y *Rubus fruticosus* 'Jumbo' (mora)

Y.E. Rossi ^a, D. Maestri ^b y A.R. Lespinard ^a

^a Centro de Investigaciones y Transferencia (CIT Villa María), CONICET - Instituto de Ciencias Básicas y Aplicadas, Universidad Nacional de Villa María. ^b Instituto Multidisciplinario de Biología Vegetal (IMBIV). *yanirro@hotmail.com

RESUMEN:

Muchos de los beneficios del consumo de frutas como las frambuesas (*Rubus idaeus* 'Autunm Bliss') y las moras (*Rubus fruticosus* 'Jumbo') se deben a su riqueza en sustancias antioxidantes. Este trabajo tiene por objeto la evaluación de la capacidad antioxidante (CA) de las fracciones hidrofílicas y lipofílicas de dichas frutas provenientes de la región de Villa María (Argentina). La concentración de compuestos fenólicos (CCF) de los extractos se evaluó mediante el reactivo de Folin-Ciocalteu, y la capacidad antioxidante (CA) por medio de la reacción con el radical libre ABTS (2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolino 6-sulfonato). Los resultados indicaron una elevada CA para ambos frutos, siendo necesarios tiempos de reacción largos (mayores a 6 minutos) para evaluar la CA de los "berries" a través del radical ABTS.

ABSTRACT:

Many of benefits derived from consumption of raspberries (*Rubus idaeus* 'Autunm Bliss') and blackberries (*Rubus fruticosus* 'Jumbo') are due to their richness in antioxidant substances. This work was aimed to evaluate the antioxidant capacity (AC) of lipophilic and hydrophilic fractions of these fruits produced in Villa Maria, in central Argentina. The concentration of phenolic compounds was evaluated by means of Folin-Ciocalteu reactive, and the antioxidant capacity (AC) by means of the reaction with the free radical ABTS (2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid). Results indicated an elevated AC for both fruits. Reaction times longer than 6 minutes are needed to evaluate the AC of the "berries" through ABTS radical.

Keywords: "Berries", Antioxidant capacity, hydrophilic and lipophilic fractions.

Palabras clave: "Berries", Capacidad antioxidante, Fracciones hidrofílica y lipofílica.

Área: Nutrición-Nutracéutica

INTRODUCCIÓN

Las moras y frambuesas, más conocidas como "berries", son frutos ricos en compuestos fenólicos, entre ellos ácidos fenólicos, flavonoides y antocianinas (Sariburun, Şahin, Demir, Türkben, & Uylaşer, 2010). Dichos compuestos muestran una gran capacidad para captar radicales libres causantes del estrés oxidativo, otorgándoles propiedades biológicas como anticancerígenos, antiinflamatorios, antitrombóticos y antineurodegenerativos (Ding et al., 2006; Huang, Zhang, Liu, & Li, 2012; Kuskoski, Asuero, Troncoso, Mancini-Filho, & Fett, 2005; Vangdal & Sliemstad, 2006).

Existen diversos métodos para evaluar la capacidad antioxidante (CA); estos incluyen reacciones con radicales libres como DPPH o ABTS (Pisoschi &

Negulescu, 2012). Este trabajo tiene por objetivo determinar la concentración de sustancias fenólicas y la CA de las fracciones hidrofílicas y lipofílicas de dos frutos (frambuesa y mora) de producción y consumo crecientes. Asimismo, se discute la importancia de conocer la cinética de reacción del radical ABTS cuando se analizan muestras ricas en fenoles.

MATERIALES Y MÉTODOS:

Material vegetal

Frambuesas (*Rubus idaeus* variedad *Atunm Bliss*) y moras (*Rubus fruticosus* variedad *Jumbo*) provenientes de la región de Villa María (Argentina).

Extracción de antioxidantes lipofílicos

Muestras de 1g de frambuesa o mora se congelaron a -80°C , se molieron y se realizó la extracción de los antioxidantes con 5 ml de hexano: acetona: etanol (2:1:1). Se agitaron en vortex y se agregó 1 ml de agua (d). El sobrenadante se utilizó para determinar la capacidad antioxidante.

Extracción de antioxidantes hidrofílicos

Muestras de 1g de frambuesa o mora se congelaron a -80°C , se molieron y se realizó la extracción de los antioxidantes con 5 ml de etanol. Se agitaron en vortex y luego se centrifugó a $5.500 \times g$ por 20 min. a 4°C . El sobrenadante se utilizó para determinar la capacidad antioxidante.

Concentración de compuestos fenólicos (CCF)

A 1000 μl de H_2O (d) se agregó la cantidad necesaria de muestra o solución estándar del patrón (100 μl), según lo necesario para alcanzar una absorbancia final cercana a 0,3-0,5. Luego se agregaron 50 μl de reactivo de Folin-Ciocalteu diluido 1:1 con H_2O (d), 100 μl de Na_2CO_3 20 % P/V en NaOH 0,1 N y se llevó a volumen final de 2500 μl con H_2O (d). Se dejó reaccionar 90 min a temperatura ambiente y en oscuridad para luego leer la absorbancia a 760 nm.

La curva estándar fue preparada usando diferentes concentraciones de quercetina. Los resultados se expresaron como mg de compuestos fenólicos por 100 g de fruto fresco.

Evaluación de la capacidad antioxidante (CA)

*ABTS: A 1 mL de solución del radical ABTS (7 mM de ABTS con 2,45 mM $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$, absorbancia 0,700 \pm 0,05 a 734 nm) se le adicionan 100 μL del extracto obtenido anteriormente. La curva estándar fue preparada usando diferentes concentraciones de Trolox. Los resultados se expresaron como mg de Trolox por Kg de fruto fresco. Los tratamientos fueron realizados por duplicado. En el caso de la evaluación de la cinética, se evaluó el consumo del radical a diferentes tiempos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En los extractos obtenidos a partir de frambuesa, las CCF fueron 25,2 mg/100 g (fracción lipofílica) y 89,8 mg/100 g de fruto (fracción hidrofílica). Las correspondientes CA fueron 51,5 mg/100 g y 24 mg/100 g de frutos,

respectivamente. En las muestras de mora, se obtuvieron CCF de 23,9 y 106,2 mg/100 g fruto, y CA de 50,7 y 34,0 mg/100 g de fruto, para las fracciones lipofílica e hidrofílica, respectivamente (Tabla 1). No se observaron diferencias significativas entre los materiales (mora, frambuesa) en la CCF de cada una de las fracciones (lipofílica, hidrofílica) estudiadas. La CCF es mayor (aproximadamente 3 ó 4 órdenes de magnitud) en la fracción hidrofílica.

En relación a los ensayos de actividad antioxidante mediante el radical ABTS, se puede observar que las lecturas realizadas a tiempos de reacción menores a 6 minutos (como los habitualmente registrados en la bibliografía) pueden subestimar la cuantificación de la CA (entre 11 y 24,4 % de acuerdo a los datos obtenidos en este trabajo)(figuras 1-4). Estos resultados indican la importancia de evaluar la cinética de la reacción a los fines de obtener valores precisos y reproducibles, sobre todo en materiales con alto contenido de sustancias fenólicas.

Tabla I. Concentración de compuestos fenólicos (CCF) y capacidad antioxidante (CA) de las fracciones hidrofílicas y lipofílicas de frambuesa y mora.						
	Fracción lipofílica		Fracción hidrofílica		Total	
	CCF ^a	ABTS ^b	CCF ^a	ABTS ^b	CCF ^a	ABTS ^b
Mora	23,9 ± 1,6 ^c	50,7 ± 1,1 ^c	106,2 ± 4,0 ^c	34,0 ± 1,4 ^c	130,1 ± 4,2 ^c	84,7 ± 3,6 ^c
Frambuesa	25,2 ± 2,1 ^c	51,5 ± 0,9 ^c	89,8 ± 3,3 ^c	24,0 ± 1,2 ^c	115,0 ± 5,5 ^c	75,5 ± 2,6 ^c

^a Concentración de compuestos fenólicos (mg/100 g fruto); ^b capacidad antioxidante (ABTS, mg equivalentes de Trolox/100 g de fruto).
^c Media (n=3) ± error estándar.

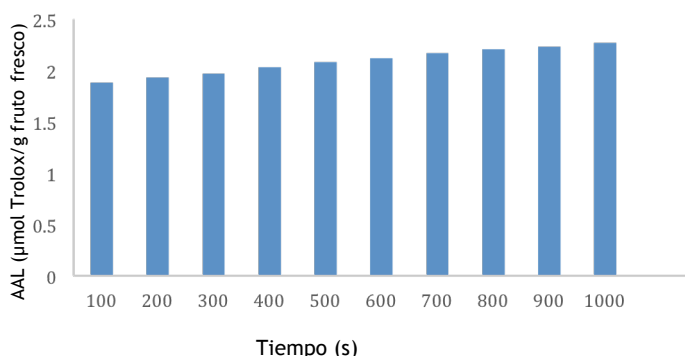


Figura 1a Variación de la AAL (µmol Trolox/g fruto fresco) de Mora en el tiempo (segundos).

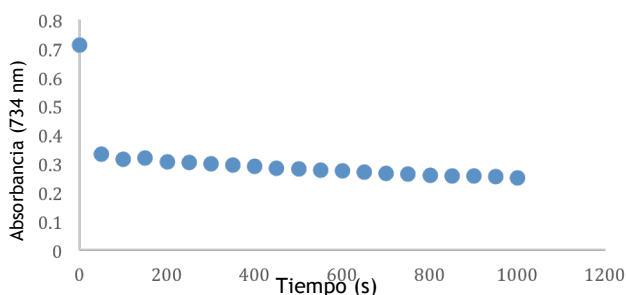


Figura 1b Variación de la AAL (absorbancia 734 nm) de Mora en el tiempo (segundos).

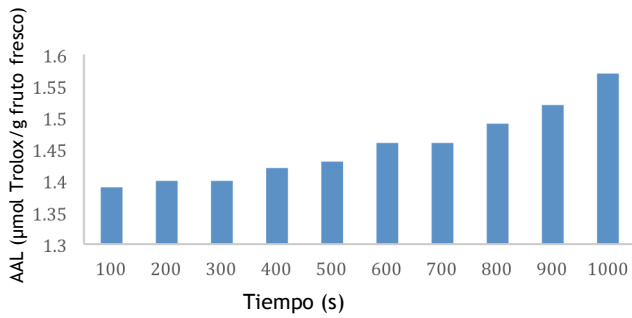


Figura 2a Variación de la AAH (μmol Trolox/g fruto fresco) de Mora en el tiempo (segundos).

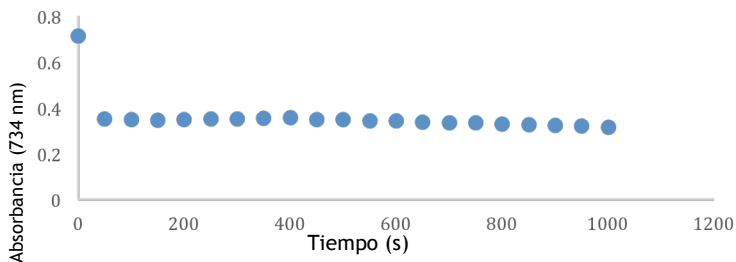


Figura 2b Variación de la AAH (absorbancia 734 nm) de Mora en el tiempo (segundos).

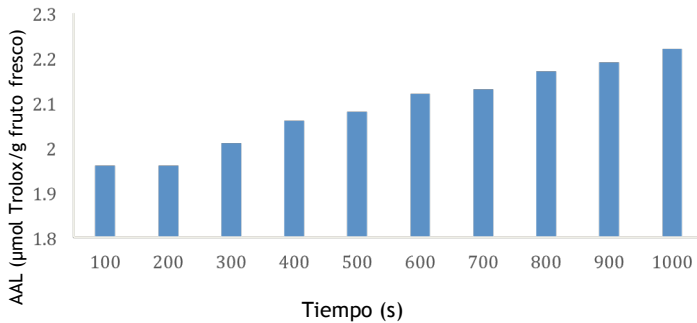


Figura 3a Variación de la AAL (μmol Trolox/g fruto fresco) de Frambuesa en el tiempo (segundos).

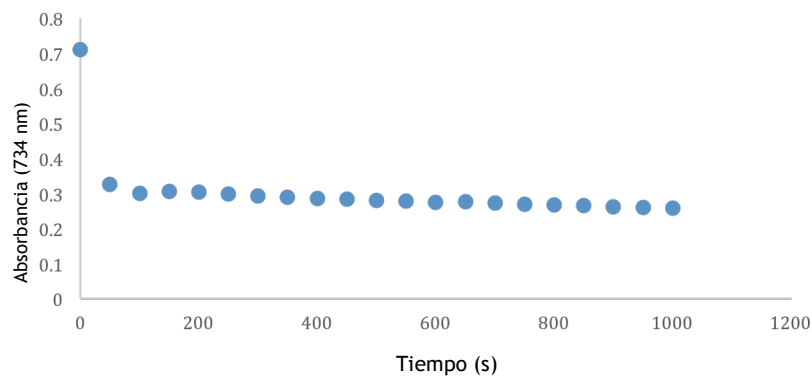


Figura 3b Variación de la AAL (absorbancia 734 nm) de Mora en el tiempo (segundos).

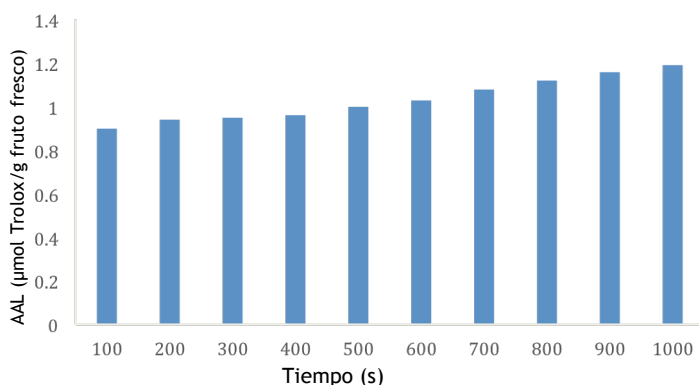


Figura 4a Variación de la AAH (μmol Trolox/g fruto fresco) de Frambuesa en el tiempo (segundos).

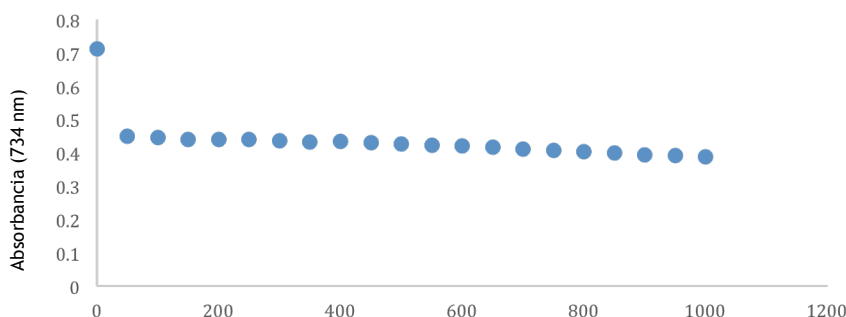


Figura 4b Variación de la AAH (absorbancia 734 nm) de Frambuesa en el tiempo (segundos).

BIBLIOGRAFÍA

- Ding, M., Feng, R., Wang, S. Y., Bowman, L., Lu, Y., Qian, Y., ... Shi, X. 2006. Cyanidin-3-glucoside, a natural product derived from blackberry, exhibits chemopreventive and chemotherapeutic activity. *Journal of Biological Chemistry*, 281(25), 17359–17368.
- Huang, W., Zhang, H., Liu, W., & Li, C. 2012. Survey of antioxidant capacity and phenolic composition of blueberry, blackberry, and strawberry in Nanjing. *Journal of Zhejiang University. Science. B*, 13(2), 94–102.
- Kuskoski, E. M., Asuero, A. G., Troncoso, A. M., Mancini-Filho, J., & Fett, R. 2005. Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. *Ciência E Tecnologia de Alimentos*, 25(4), 726–732.
- Pisoschi, A. M., & Negulescu, G. P. 2012. Methods for Total Antioxidant Activity Determination: A Review. *Biochemistry & Analytical Biochemistry*, 01(01), 1–10.
- Sariburun, E., Şahin, S., Demir, C., Türkben, C., & Uylaşer, V. 2010. Phenolic content and antioxidant activity of raspberry and blackberry cultivars. *Journal of Food Science*, 75(4), 328–335.
- Vangdal, E., & Sliestad, R. 2006. Methods to determine antioxidative capacity in fruit. *Journal of Fruit and Ornamental Plant Research*, 14(2), 1–9.