

Compuestos bioactivos y actividad antioxidante en tres estados de madurez de *Myrtillocactus geometrizans* provenientes del Valle del Mezquital, Hidalgo

López-Palestina, C.U.^a, Aguirre-Mancilla, C.L.^a, Ramírez-Pimentel, J. G.^a, Raya-Pérez, J. R.^a, Santiago-Saenz, Y.O.^b, Gutiérrez-Tlahque, J.^c, Hernández-Fuentes, A. D.^{b*}

^aTecnológico Nacional de México-Instituto Tecnológico de Roque, km. 8 Carretera Celaya-Juventino Rosas, C.P. 38110. Celaya, Guanajuato, México.

^bInstituto de Ciencias Agropecuarias, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Av. Universidad Km. 1, Rancho Universitario, C.P. 43600, Tulancingo, Hidalgo. *hfad@hotmail.com

^cTecnológico Nacional de México-Instituto Tecnológico de Zitácuaro, Av. Tecnológico No. 186 Manzanillos, C.P. 61534, H. Zitácuaro. Michoacán.

RESUMEN:

Myrtillocactus geometrizans, produce un fruto comúnmente conocido como garambullo el cual es muy apreciado por los consumidores locales donde se produce, debido a sus cualidades nutritivas y organolépticas. Sin embargo aun es limitada la información de los compuestos bioactivos y actividad antioxidante que presentan. Por ello se determinó el contenido de betalaínas, ácido ascórbico, fenoles totales y flavonoides en tres diferentes estados de madurez (inmaduro, maduro y sobremaduro) en frutos de garambullo procedentes del Valle del Mezquital Hidalgo. Además, se evaluó la actividad antioxidante *in vitro* mediante el ensayo de ABTS. La mayor actividad antioxidante la presentaron los frutos inmaduros (27.35 mM ET/Kg de peso fresco) atribuida principalmente a la elevada concentración de fenoles totales, flavonoides y ácido ascórbico que presentaron los frutos. Los frutos sobremaduros presentaron la mayor concentración de betalaínas totales (168.84 mg/kg), a estos pigmentos se les atribuyó que la actividad antioxidante en frutos sobremaduros no presentaron diferencias significativas en comparación con frutos maduros. Debido a la elevada concentración de compuestos bioactivos y buena actividad antioxidante que presentan los frutos de garambullo del Valle del Mezquital, se les puede considerar una buena fuente de propiedades nutricionales y funcionales.

ABSTRACT:

Myrtillocactus geometrizans produces a fruit commonly known as garambullo which is very appreciated by the local consumers where it is produced, due to its nutritive and organoleptic qualities. However, the information on the bioactive compounds and their antioxidant activity is scarce. Therefore, the content of betalains, ascorbic acid, total phenols and flavonoids was determined in three maturity different stages (immature, mature and over ripe) in fruits of garambullo from the Valle del Mezquital Hidalgo. Also *in vitro* antioxidant activity was evaluated by the ABTS assay. The highest antioxidant activity was observed in the immature fruits (27.35 mM TE / kg of fresh weight) due to the high concentration of total phenols, flavonoids and ascorbic acid presented. The over-ripe fruits presented the highest concentration of total betalains (168.84 mg / kg). The presence of these pigments probably explain that the antioxidant activity in over ripe fruits not showing significant differences compared to ripe fruits. Due to the high concentration of bioactive compounds and good antioxidant activity that the fruits of garambullo from the Mezquital Valley present, they can be considered a good source of nutritional and functional properties.

Palabras clave: Garambullo, compuestos bioactivos, actividad antioxidante

Área: Frutas y hortalizas

INTRODUCCIÓN

Myrtillocactus geometrizans es un cactus que se incluyen dentro de las especies endémicas de México y que están bien adaptadas a las regiones áridas y semiáridas del país. La fruta comestible de esta especie es comúnmente conocida como garambullo, es globular, con un diámetro que alcanza 1.5 cm. La pulpa presenta una consistencia gelatinosa, de color que va de rojo a morado intenso (Guzmán-Maldonado *et al.*, 2010; Hernández-López *et al.*, 2008). La época de producción de este fruto va de junio a septiembre y la fruta se puede encontrar en todos los mercados públicos en los estados donde crece. El fruto se consume fresco o procesado en diferentes formas como

mermeladas o jaleas y es muy apreciado por sus características organolépticas (Hernández-López *et al.*, 2008; Herrera-Hernández, Guevara-Lara, Reynoso-Camacho, & Guzmán-Maldonado, 2011). No obstante, aún es limitada la literatura que existe sobre las propiedades fisicoquímicas y antioxidantes de la fruta (Guzmán-Maldonado *et al.*, 2010). Sin embargo, de la información que existe relacionada con los frutos de garambullo se menciona que son ricos en fotoquímicos tales como compuestos fenólicos, vitamina C y betalainas, los cuales le confieren al fruto buenas propiedades funcionales (Guzmán-Maldonado *et al.*, 2010; Herrera-Hernández *et al.*, 2011; Santiago-Mora *et al.*, 2017).

Por otro lado, no hay indicadores comerciales para las etapas de maduración del garambullo y los criterios para la cosecha se basan en la experiencia de los recolectores locales. Es una práctica común recolectar frutos maduros (morados) y sobremaduros (morado intenso) para ser comercializados, mientras que los frutos inmaduros (rojo) se dejan madurar en la planta (Guzmán-Maldonado *et al.*, 2010; Herrera-Hernández *et al.*, 2011). Por lo que se desconoce si el criterio de los recolectores locales para la cosecha se relaciona con una mayor o menor concentración de los compuestos bioactivos. Por otra parte, se sabe que en los frutos presentan variaciones en su contenido y composición química y que esta relacionando, con la variedad, grado de madurez, además que se ve afectado por la ubicación geográfica donde se producen (Guevara & Alvarado, 2014; Guzmán-Maldonado *et al.*, 2010). Por todo lo anterior el objetivo del presente trabajo fue evaluar el contenido de compuestos bioactivos y actividad antioxidante que se presentan en tres diferentes estados de madurez en frutos de garambullo provenientes del Valle del Mezquital, Hidalgo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal

Se recolectaron frutos de garambullo en el municipio de Tetepango, Hidalgo, México durante la etapa de producción en el mes de julio en 2017. Las frutas fueron seleccionadas según el criterio de los consumidores locales en tres estados de madurez: inmaduro (rojo), maduro (morado) y sobremaduro (morado intenso), posteriormente se almacenaron en cajas con hielo para disminuir la tasa de respiración durante el transporte. Los frutos fueron lavadas y desinfectadas con una suspensión de plata coloidal (0.35% p/v). Las muestras fueron ultracongeladas a -70°C (Ultracongelador THERMO SCIENTIFIC 303, EUA) donde se almacenaron hasta su utilización. Después los frutos ultracongelados se sometieron a un proceso de liofilización (Liofilizadora Model 79480 LABCONCO, Missouri, EUA) y reducción de tamaño en un molino de cuchillas (RTSCH GM 200, Alemania) a 9000 rpm con un periodo de tiempo de 50 s hasta obtener un polvo fino de 150 micras. Posteriormente se realizaron las evaluaciones correspondientes.

Contenido de betalainas

La concentración de betalainas se determinó espectrofotométricamente de acuerdo con Kugler *et al.*, (2007), con modificaciones. Se tomaron 0.1 g de frutos liofilizados los cuales se mezclaron con 10 mL de metanol al 20% (v/v). Las muestras se agitaron en un vórtex durante 30 s y se centrifugó a $10000 \times g$ durante 10 minutos a 5°C (centrífuga Thermo Scientific, Mod. ST 16R, Alemania). De los sobrenadantes se midió la absorbancia a 537, 476 y 600 nm (Espectrofotómetro modelo 6715 UV/Vis, Jenway, Techne Inc. EE.UU.). El contenido de betalainas totales (TBC) se calculó mediante la ecuación: $\text{TBC} [\text{mg} / \text{L}] = [(A \times \text{DF} \times \text{MW} \times 1000 / \lambda \times l)$, donde A es el valor de la absorbancia, DF es el factor de dilución y l es la longitud de la celda (1 cm). Para la cuantificación de betacianinas y betaxantinas, se utilizaron los pesos moleculares (MW) y los coeficientes de extinción molar (ϵ) de betanina (MW = 550 g / mol; $\epsilon = 60\,000 \text{ L} / \text{mol cm}$ en H_2O ; absorción máxima = 537 nm) e indicaxantina (MW = 308 g / mol; $\epsilon = 48\,000 \text{ L} / \text{mol cm}$ en H_2O ; máximo de absorción = 476 nm).

Ácido ascórbico

La determinación del ácido ascórbico se realizó con el método modificado de Dürüst *et al.*, (1997). Se pesó 0.1 g de muestra a la que se le adicionaron 10 mL de solución de ácido metafosfórico a 3 % (v/v). Las muestras se agitaron en un vórtex durante 30 s y se centrifugó a $10000 \times g$ durante 10 minutos a 5°C . Del sobrenadante se tomaron 2 mL a los cuales se le adicionaron 2 mL del sistema amortiguador para pH = 4 (ácido acético glacial: acetato de sodio a 5 % (p/v, 1:1), 3 mL del dicloroindofenol y 15 mL de xileno, posteriormente se agitó

vigorosamente. Se leyó la absorbancia en el espectrofotómetro (Espectrofotómetro modelo 6715 UV/Vis, Jenway, Techne Inc. EE.UU.) a 520 nm. Los resultados fueron expresados en mg de ácido ascórbico por kg de peso fresco (PF).

Preparación de extractos de metanol

Se pesaron 0,1 g de muestra y se disolvieron en 10 ml de metanol (80% v / v). Las muestras se agitaron en un vórtex durante 30 s y se centrifugó a 10000 ×g durante 10 minutos a 5°. Los sobrenadantes se recolectaron para determinar el contenido de fenoles totales, flavonoides y actividad antioxidante.

Fenoles totales y flavonoides

Los fenoles totales se determinaron espectrofotométricamente con el reactivo de Folin-Ciocalteu siguiendo el método de Singleton y Rossi, (1965), para ello se tomaron 0.5 mL del sobrenadante metanólico y se le añadió 0.5 mL de Folin diluido al 50% con agua destilada, 1.5 mL de una solución de carbonato de sodio al 2% y 2.5 mL de H₂O destilada, transcurridos 60 min se midió la absorbancia a 725 nm. El ácido gálico fue usado para elaborar una curva de calibración estándar. Los resultados fueron expresados como mg equivalentes de ácido gálico (EAG)/Kg peso fresco. Los flavonoides se determinaron siguiendo el método descrito por Rosales *et al.* (2011). Los resultados se reportan como mg equivalentes de quercetina (EQ)/Kg de peso fresco.

Actividad antioxidante

La actividad antioxidante se determinó de acuerdo al método propuesto por Re *et al.* (1999). Para ello se obtuvo el radical ABTS^{•+} mediante la reacción de ABTS (7 mM) con persulfato potásico (2,45 mM) incubados a temperatura ambiente ($\pm 25^{\circ}\text{C}$) y en la oscuridad durante 16 h. Una vez formado el radical ABTS^{•+} se diluyó con etanol hasta obtener un valor de absorbancia de 0.700 (± 0.1) a 734 nm. Las muestras se pusieron a reaccionar con el ABTS^{•+} diluido durante 6 min e inmediatamente se midió su absorbancia a 734 nm. Los resultados fueron expresados en mmol equivalentes de Trolox (ET) por kg de peso fresco.

Análisis estadístico

Los datos obtenidos de todos los análisis fueron expresados como la media \pm la desviación estándar. Los valores se sometieron a un análisis de varianza (ANOVA) y una prueba de comparaciones múltiples de medias de Tukey con una $p \leq 0.05$. Para todos los análisis se utilizó el programa SAS System for Windows versión 9.4.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Betalainas totales

En la figura 1 se muestra el contenido de betalainas totales en frutos de garambullo en tres diferentes estados de madurez. Se observa que los frutos sobremaduros, es decir, aquellos que presentaban una coloración morado intensa presentaron de manera significativa ($p \leq 0.05$) una mayor cantidad de betalainas totales. El contenido de betalainas totales en frutos inmaduros (coloración roja) fue de 103.08 ± 2.3 mg/kg de peso fresco (PF), incrementando un 63.08% en frutos sobremaduros. Este comportamiento es similar a lo reportado por Correa-Betanzo *et al.* (2011) y Herrera-Hernández *et al.*, (2011), quienes encontraron una mayor concentración de estos pigmentos en frutos de garambullo maduros. El aumento de la concentración de estos pigmentos se puede atribuir un efecto de concentración por la pérdida de agua en postcosecha (Ramírez-Ramos *et al.*, 2015). Además de su síntesis durante la senescencia como respuesta a efecto del estrés oxidativo de los frutos (Stintzing & Carle, 2004).

Ácido ascórbico

El contenido de ácido ascórbico en frutos de garambullo disminuyó durante la maduración (figura 1). Se encontró una concentración máxima de este compuesto en frutos inmaduros de 381.63 ± 15.23 mg por Kg de peso fresco. La concentración de ácido ascórbico se redujo en 15.46% en frutos maduros, mientras que en frutos sobremaduros se redujo hasta 91.2%. Estos resultados concuerdan con Herrera-Hernández *et al.* (2011) quienes encontraron una reducción en el contenido de ácido ascórbico durante la maduración de los frutos en un intervalo de 14.5% y

68.5%. Por otra parte los resultados encontrados en este estudio son similares a los reportados en la literatura (Herrera-Hernández *et al.*, 2011; Santiago-Mora *et al.*, 2017). De acuerdo a los resultados encontrados se puede mencionar que el contenido de ácido ascórbico que presentan los frutos de garambullo procedentes del Valle del Mezquital del estado de Hidalgo es mayor a los que presentan frutos colectados en los estados de Guanajuato y Querétaro (Guzmán-Maldonado *et al.*, 2010). Por lo que estos frutos son una valiosa fuente de ácido ascórbico para los consumidores locales. De acuerdo a García-Gabarra, (2006) la ingesta diaria de vitamina C en adultos es de 60 mg por día, por lo que un consumo de 100g de frutos de garambullo en estado maduro pueden contribuir con un 54.35% de la ingesta diaria recomendada.

Fenoles totales y flavonoides

El contenido de fenoles totales y flavonoides fue significativamente mayor en frutos en estado inmaduro que en frutos maduros y sobremaduros. Los valores máximos encontrados fueron 11909.40 ± 129.02 mg EAG y 6683.92 ± 13.24 mg EQ para fenoles totales y flavonoides respectivamente por cada kg de peso fresco. La concentración de compuestos fenólicos y su comportamiento durante la maduración de los frutos encontrados en este trabajo son similares a lo reportado por Correa-Betanzo *et al.* (2011) y Herrera-Hernández *et al.* (2011), quienes mencionan que la reducción en el contenido de polifenoles puede estar asociada a los cambios internos de la fruta durante el proceso de maduración que promueven la polifenol oxidasa (PPO) y otras enzimas catabólicas. Dichos autores también mencionan que, a pesar de la drástica reducción de los compuestos fenólicos durante la maduración, siguen siendo una excelente fuente de estos compuestos comparado con frutas de consumo común, tales como las fresas, frambuesa, ciruela, uva y arándano también reconocidas por su alto contenido de compuestos fenólicos. Por otro lado, los frutos de garambullo que se producen en el Valle del Mezquital, Hidalgo, sobresalen en el contenido de fenoles totales comparado con los frutos que provienen de los estados de Guanajuato y Querétaro de acuerdo a lo reportado por Guzmán-Maldonado *et al.* (2010).

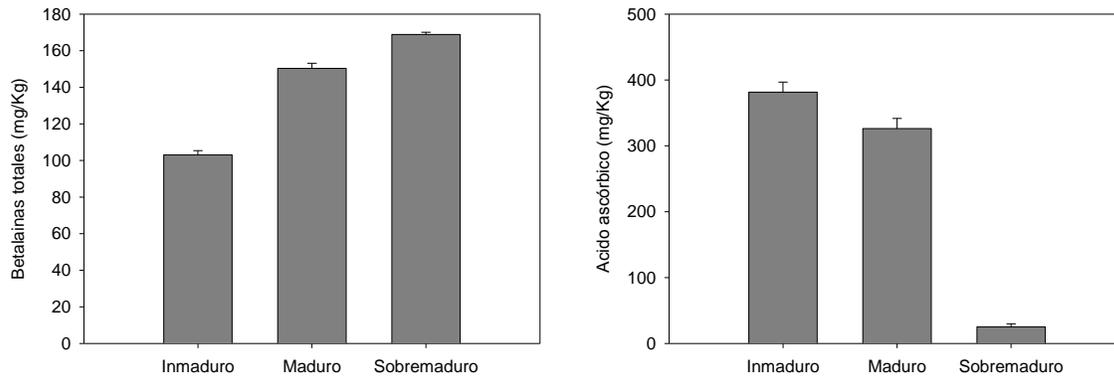


Figura 1. Contenido de betalainas totales y ácido ascórbico en frutos de garambullo en tres estados de madurez.

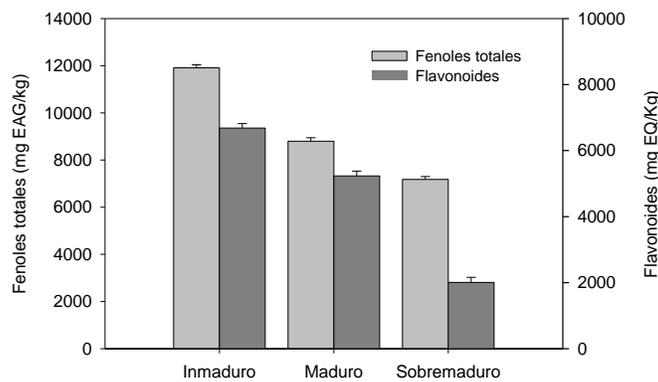


Figura 2. Contenido de fenoles totales y flavonoides en frutos de garambullo en tres estados de madurez.

Actividad antioxidante

La evaluación de la actividad antioxidante *in vitro* de los frutos de garambullo en tres estados de maduración se realizó mediante el ensayo de ABTS. En la figura 3 se observa que los frutos presentaron una mayor actividad antioxidante en estado inmaduro (27.35 ± 15.23 mM ET/Kg de peso fresco), mientras que en los estados de maduración maduro y sobremaduro se presenta una disminución de aproximadamente el 50% sin que se presenten diferencias significativas ($p \leq 0.05$) entre ellos. Los valores de actividad antioxidante son similares a los presentados por Guzmán-Maldonado *et al.* (2010), quienes reportan una actividad antioxidante en un intervalo de 12.0 a 33.0 mmol ET/kg de PF. Por su parte Herrera-Hernández *et al.* (2011), menciona que la actividad antioxidante en frutos de garambullo se reduce entre 45.3% y 72.9% durante la maduración de los frutos.

Se ha reportado en la literatura que los compuestos fenólicos, el ácido ascórbico y las betalainas tienen la capacidad de contrarrestar, reducir y reparar el daño resultante del estrés oxidativo derivado de su elevada capacidad antioxidante (García-Cruz *et al.*, 2016; Mditshwa *et al.*, 2017; Stintzing & Carle, 2004). Esto explica el comportamiento de la actividad antioxidante de los frutos, pues la elevada capacidad antioxidante que presentan los frutos en estado inmaduro se puede atribuir a la presencia de los fenoles totales, flavonoides y ácido ascórbico principalmente. Por otro lado, a pesar de la reducción de los compuestos fenólicos y ácido ascórbico en frutos sobremaduros, la actividad antioxidante se conserva debido a la presencia de las betalainas, pues estos pigmentos se incrementaron durante la maduración de los frutos. Por lo que la actividad antioxidante en los frutos sobremaduros se puede atribuir en mayor medida a las betalainas que a los fenoles totales y flavonoides. Por lo que la elevada actividad antioxidante que presentan los frutos de garambullo es el reflejo de la concentración de compuestos bioactivos. Se ha informado que las betalainas, el ácido ascórbico y compuestos fenólicos tienen propiedades beneficiosas para la salud, como antiinflamatorios, anticlastogénicos y anticancerígenos (García-Cruz *et al.*, 2016; Mditshwa *et al.*, 2017; Stintzing & Carle, 2004). Por ello se recomienda su consumo de esta fruta en fresco como una fuente valiosa de compuestos antioxidantes.

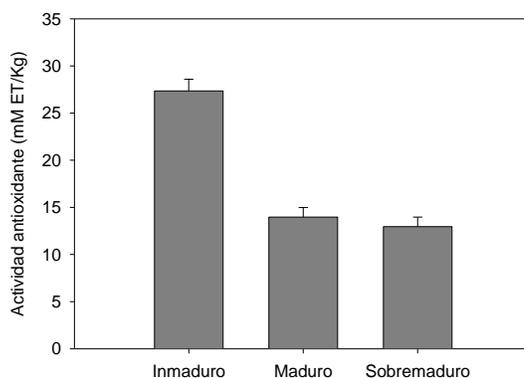


Figura 3. Actividad antioxidante en frutos de garambullo en tres estados de madurez.

CONCLUSIÓN

Los frutos de garambullo provenientes del Valle del Mezquital, Hidalgo, demostraron ser una buena fuente de compuestos bioactivos que le confieren al fruto una elevada actividad antioxidante respecto a frutos consumidos comúnmente. Los frutos presentaron una mayor actividad antioxidante en estado inmaduro atribuido a la concentración de los compuestos fenólicos y ácido ascórbico. Mientras que la actividad antioxidante de los frutos inmaduros y sobremaduros se atribuye principalmente a una mayor concentración de betalainas, pigmentos que le confieren al fruto una coloración morado intenso en este estado de madurez. Por lo que el fruto de garambullo en cualquier estado de maduración tiene potencial para obtener productos industrializados de alta calidad nutricional y funcional. Mientras que su consumo en estado maduro puede proporcionar beneficios nutricionales y a la salud de los consumidores.

BIBLIOGRAFÍA

- Correa-Betanzo, J., Jacob, J. K., Perez-Perez, C., & Paliyath, G. (2011). Effect of a sodium caseinate edible coating on berry cactus fruit (*Myrtillocactus geometrizans*) phytochemicals. *Food Research International*, 44(7), 1897–1904.
- Dürüst, N., Sümengen, D., & Dürüst, Y. (1997). Ascorbic acid and element contents of food of trabzon (Turkey). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 8561(96), 2085–2087.
- García-Cruz, L., Valle-Guadarrama, S., Salinas-Moreno, Y., & Luna-Morales, C. del C. (2016). Postharvest quality, soluble phenols, betalains content, and antioxidant activity of *Stenocereus pruinosus* and *Stenocereus stellatus* fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 111, 69–76.
- García Gabarra, A. (2006). Ingesta de nutrientes: Conceptos y recomendaciones internacionales (2 a parte). *Nutrición Hospitalaria*, 21(4), 437–447.
- Guevara, L., & Alvarado, D. (2014). Importancia, contribución y estabilidad de antioxidantes en frutos y productos de tomate. *Avances De Investigacion Agropecuaria*, 18(1), 51–66.
- Guzmán-Maldonado, S. H., Herrera-Hernández, G., Hernández-López, D., Reynoso-Camacho, R., Guzmán-Tovar, A., Vaillant, F., & Brat, P. (2010). Physicochemical, nutritional and functional characteristics of two underutilised fruit cactus species (*Myrtillocactus*) produced in central Mexico. *Food Chemistry*, 121(2), 381–386.
- Hernández-López, D., Vaillant, F., Reynoso-Camacho, R., & Guzman-Maldonado, S.-H. (2008). *Myrtillocactus* (cactaceae): botanical, agronomic, physicochemical and chemical characteristics of fruits. *Fruits*, 63(5), 269–276.
- Herrera-Hernández, M. G., Guevara-Lara, F., Reynoso-Camacho, R., & Guzmán-Maldonado, S. H. (2011). Effects of maturity stage and storage on cactus berry (*Myrtillocactus geometrizans*) phenolics, vitamin C, betalains and their antioxidant properties. *Food Chemistry*, 129(4), 1744–1750.
- Kugler, F., Stintzing, F. C., & Carle, R. (2007). Characterisation of betalain patterns of differently coloured inflorescences from *Gomphrena globosa* L. and *Bougainvillea* sp. by HPLC-DAD-ESI-MSn. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 387(2), 637–648.
- Mditshwa, A., Samukelo, L., Zera, S., & Linus, U. (2017). Scientia Horticulturae Postharvest factors affecting vitamin C content of citrus fruits : A review. *Scientia Horticulturae*, 218, 95–104.
- Ramírez-Ramos, M., García-Mateos, M. del R., Corrales-García, J., Ybarra-Moncada, C., & Castillo-González, A. M. (2015). Compuestos antioxidantes en variedades pigmentadas de tuna (*opuntia* sp.). *Revista Fitotecnia Mexicana*, 38(4), 349–357.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant Activity Applying an Improved ABTS Radical cation decolorization assay, 26(98), 1231–1237.
- Rosales, M. A., Cervilla, L. M., Sánchez-Rodríguez, E., Rubio-Wilhelmi, M. del M., Blasco, B., Ríos, J. J., & Ruiz, J. M. (2011). The effect of environmental conditions on nutritional quality of cherry tomato fruits: Evaluation of two experimental Mediterranean greenhouses. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 91(1), 152–162.
- Santiago-Mora, P. D., Cardador-Martinez, A., Tellez-Perez, C., Montejano-Gaitan, J. G., & Martin del Campo, S. T. (2017). In-Vitro Antioxidant Capacity and Bioactive Compounds Preservation Post-Drying on Berrycacti (*Myrtillocactus geometrizans*). *Journal of Food Research*, 6(4), 121.
- Singleton, V. L., & Rossi, J. A. (1965). Colorimetric of total phenolic whit phosphomolybdc-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144–158.
- Stintzing, F. C., & Carle, R. (2004). Functional properties of anthocyanins and betalains in plants, food, and in human nutrition. *Trends in Food Science and Technology*, 15(1), 19–38.