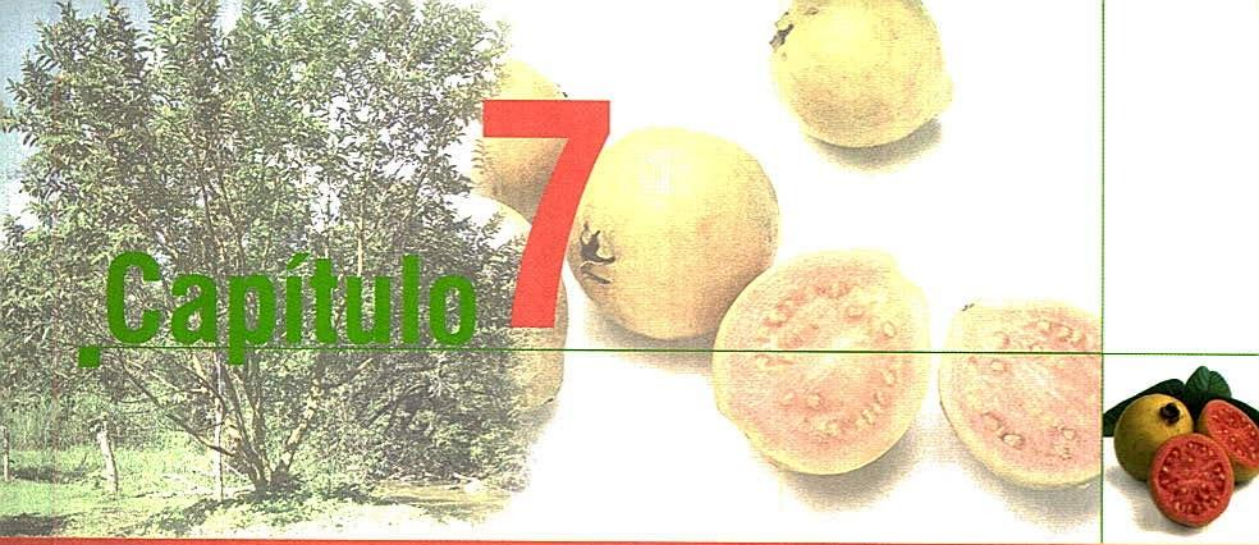


Reg. 60365

LA GUAYABA, FUENTE DE FENOLES CON ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE

Mauricio Espinal[1], Julio Olaya[1], Patricia Restrepo[1], Kelly Silva[1], Fabián Parada[1]

7.1. Antioxidantes y su aplicación

El estudio de la actividad antioxidante en frutas ha permitido asociar a los compuestos fenólicos y la vitamina C como los responsables de la protección contra las sustancias oxidantes. Un antioxidante es una sustancia que cuando está presente en concentraciones bajas, en comparación con la de la sustancia oxidable, retrasa o previene significativamente la oxidación de dicha sustancia (1).

Los antioxidantes son importantes en la prevención de enfermedades degenerativas como cáncer, enfermedades cardiovasculares y cerebrovasculares, debido a que neutralizan las especies reactivas de oxígeno (ROS) como el anión radical superóxido, el peróxido de hidrógeno y radicales hidroxilo, generando estructuras estables que evitan el deterioro de otras sustancias indispensables para el normal funcionamiento celular.

1 Departamento de Química, Universidad Nacional de Colombia.
* Correspondencia: lprestrepos@unal.edu.co

Aunque los compuestos fenólicos pueden ser consumidos en forma natural al ingerir los alimentos que los contienen, existe una tendencia de extraerlos de fuentes naturales para usarlos como aditivos en el fortalecimiento de un alimento procesado. Existen reportes en los que se ha investigado la actividad antioxidante de la guayaba a través de diferentes técnicas, indicando que esta fruta puede ser una buena fuente para la extracción de antioxidantes (1).

7.2. Compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos son sustancias orgánicas ampliamente distribuidas en el reino vegetal. Se sintetizan como metabolitos secundarios con funciones de defensa, y son en gran medida responsables de las propiedades del color, la astringencia y el *flavor* (sabor y aroma) de los vegetales. Se encuentran en verduras, frutas y en productos derivados como el vino o la cerveza. Todos tienen en su estructura uno o más anillos aromáticos con al menos un sustituyente hidroxilo (2). Su estructura química permite secuestrar radicales libres, debido a su facilidad para donar el átomo de hidrógeno desde el grupo hidroxilo aromático (3), como se muestra en la figura 7.1.

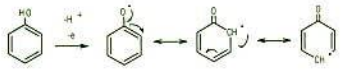


Figura 7.1. Esquema de donación de hidrógeno de compuestos fenólicos (1)

La actividad antioxidante de los compuestos fenólicos tiene interés desde el punto de vista tecnológico y nutricional (2). Así, los compuestos fenólicos intervienen como antioxidantes naturales de los alimentos, por lo que la obtención y preparación de alimentos con un alto contenido en estos compuestos, supone una disminución en la utilización de aditivos antioxidantes de origen sintético, a la vez que se obtienen alimentos más saludables, que incluso pueden llegar a clasificarse como alimentos funcionales.

Los compuestos fenólicos pueden clasificarse de acuerdo con su estructura química en:

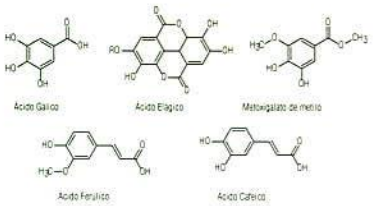


Figura 7.2. Ejemplos de estructuras de ácidos fenólicos

Ácidos fenólicos: Este grupo de compuestos se caracteriza por poseer en su estructura química el anillo aromático hidroxilado y un grupo carboxilo. Algunos de los ácidos fenólicos que tienen interés terapéutico se observan en la figura 7.2.

Flavonoides: Son metabolitos secundarios polifenólicos, ampliamente distribuidos en el reino vegetal en altos niveles en varias frutas, vegetales y bebidas. Algunos ejemplos se observan en la figura 7.3.

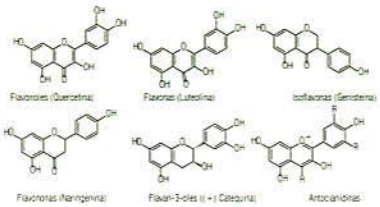


Figura 7.3. Ejemplos de flavonoides

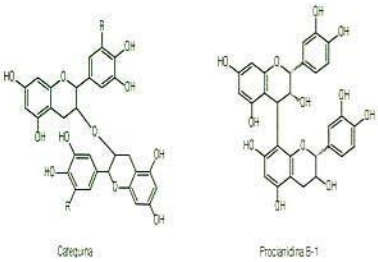


Figura 7.4. Ejemplos de estructuras de taninos

Taninos: Este tipo de compuestos se producen en el metabolismo normal de los vegetales, por lo que se consideran fisiológicos y se encuentran ampliamente distribuidos en el reino vegetal, debido a su alta estabilidad fisicoquímica. En la figura 7.4 se observan dos de los mas importantes ejemplos de este tipo de compuestos.

7.3. Contenido de fenoles y actividad antioxidante de frutos de guayaba

Con el fin de estudiar el contenido de fenoles en los cuatro materiales de guayaba, (Regional Roja, Regional Blanca, Guavatá Victoria y

Palmira ICA-1) en sus diferentes estados de madurez (verde, pintón, maduro y sobremaduro), se aplicó el esquema general mostrado en la figura 7.5.

La extracción de los compuestos fenólicos se realizó a partir de 1 g de la parte comestible del fruto de guayaba, el cual se sometió a reflujo a 50 °C durante 30 minutos con 20 mL de una solución de etanol al 50% en agua, seguido de cuatro lavados del residuo con 10 mL de acetona al 70% en agua (4). En los extractos obtenidos se cuantificaron los fenoles por el método de Folin Ciocalteu (5).

La actividad antioxidante se determinó por medio de cuatro métodos, a saber: ABTS (acido 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-sulfonico) y

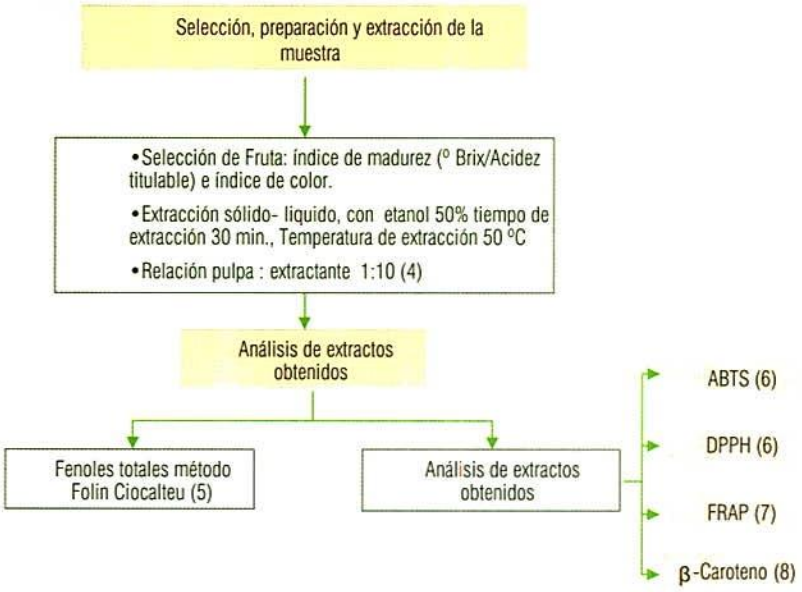


Figura 7.5. Metodología utilizada en la obtención de fenoles de guayaba y técnicas aplicadas para determinar la capacidad antioxidante

DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidracilo) (6) que miden la capacidad de los compuestos antioxidantes para atrapar radicales libres y por el método FRAP (poder reductor férrico), que mide el poder reductor del antioxidante (7), y el método de decoloración del β-caroteno que mide la capacidad antioxidante en las grasas (8).

A continuación se presentan los resultados obtenidos del contenido de fenoles y de la actividad antioxidante de los cuatro materiales de guayaba en sus diferentes estados de madurez.

Contenido de fenoles en guayaba: En guayaba Regional Blanca y Palmira ICA-1 maduras se encontró el mayor contenido de fenoles, sin diferencias significativas entre ellas; dicho contenido aumentó durante los estados de desarrollo hasta estado madura, para luego disminuir en la fruta sobremadura. En guayaba Regional Roja, el contenido de fenoles aumentó al pasar de verde a pintón y disminuyó de maduro a sobremaduro. Respecto a los diferentes estados de maduración, los materiales que presentaron mayor contenido de fenoles fueron: Regional Blanca en estado verde, Guavatá Victoria en pintón, Palmira ICA-1 en maduro y Regional Blanca en sobremaduro (Tabla 7.1).

Tabla 7.1. Contenido de fenoles en tres materiales de guayaba en diferente estado de madurez

	Contenido de fenoles libres (mg ácido gálico /100 g fruta total)			
	Verde	Pintona	Madura	Sobremadura
Regional Roja	130,4 ± 33[a]	248,53 ± 4,6[b]	248,26 ± 11,7[b]	188,45 ± 12,26[c]
Regional Blanca	198,62 ± 3,5[a]	230,87 ± 26,8[b]	300,67 ± 12,3[c]	254,08 ± 6,9[b]
Guavatá Victoria	no evaluado	292,78 ± 21,4[a]	281,34 ± 18[a]	217,65 ± 13,6[b]
Palmira ICA- 1	147,71± 6,53[c]	247,04 ± 18,22[b]	322,56 ± 12,65[a]	250,27 ± 7,38[b]

Letras diferentes señalan que existen diferencias significativas entre muestras

En general, se observa que para los materiales estudiados, el contenido de fenoles presenta tendencia a aumentar con la maduración de la

fruta, mientras que en el estado sobremaduro o fase de senescencia se nota una disminución en dicho contenido; este fenómeno podría explicarse por el alto metabolismo oxidativo que en la senescencia favorece la aparición de especies reactivas de oxigeno (ROS), donde los fenoles actúan como antioxidantes primarios produciéndose la disminución de las ROS.

Actividad antioxidante de guayaba: A los extractos de fenoles obtenidos a partir de la guayaba se les determinó su actividad antioxidante por cuatro métodos diferentes (bloqueo de radicales ABTS, DPPH, FRAP, decoloración de β-caroteno), con el fin de predecir su comportamiento ante las ROS.

Por el método de ABTS, se determinó que la guayaba Palmira ICA-1 presenta la mayor actividad antioxidante en todos los estados de maduración (Tabla 7.2). La guayaba Regional Blanca y Palmira ICA-1, en estado verde, no presentaron diferencias significativas entre sí. Para Palmira ICA-1, la actividad antioxidante aumentó hasta alcanzar la maduración; en Regional Blanca aumentó hasta el estado sobremaduro, mientras que en Regional Roja la actividad antioxidante presentó un máximo en estado pintón.

Tabla 7.2. Medida de la actividad antioxidante-bloqueo de radicales ABTS

	Medición actividad antioxidante (µmol trolox/g fruta)			
	Verde	Pintona	Madura	Sobremadura
Regional Roja	10,23±0,17 [a]	21,19±0,81 [b]	15,71±0,29 [c]	14,45±0,22 [c]
Regional Blanca	17,82±0,50 [a]	19,90±0,98 [a]	23,10±0,33 [b]	25,56±0,69 [b]
Guavatá Victoria	no evaluado	22,59±0,38 [a]	22,76±1,07 [a]	17,56±0,50 [b]
Palmira ICA -1	17,42±1,33 [c]	33,27±3,49 [b]	48,57±4,79 [a]	37,05±5,09 [b]

letras diferentes señalan que existen diferencias significativas entre muestras

Mediante el ensayo de DPPH se observó que a medida que la fruta madura se presenta una mayor capacidad de bloqueo de radicales libres; en guayabas Regional Roja y Guavatá Victoria, dicho máximo se dio en estado pintón, mientras que en Regional Blanca y Palmira ICA-1, éste se dio en estado maduro. En general, Regional Blanca presentó la mayor actividad antioxidante (Tabla 7.3).

Tabla 7.3. Medida de la actividad antioxidante-ensayo DPPH

	Medición actividad antioxidante (µmol trolox/g fruta)			
	Verde	Pintona	Madura	Sobremadura
Regional Roja	4,53±0,25[a]	18,37±0,14[b]	15,88±0,30[bc]	12,31±0,31[c]
Regional Blanca	14,60±0,42[a]	17,53±0,76[b]	20,20±0,68[c]	19,43±0,22[bc]
Guavatá Victoria	no evaluado	19,83±0,46[a]	18,43±0,26[a]	15,61±0,54[b]
Palmira ICA -1	2,04±0,36[c]	3,77±0,36[b]	5,93±0,49[a]	2,86±0,51[b]

Letras diferentes señalan que existen diferencias significativas entre muestras

Por el método de FRAP se determinó que las guayabas Regional Blanca sobremadura y Guavatá Victoria pintona tenían la mayor actividad antioxidante. Para la Regional Blanca, dicha actividad aumentó hasta el estado sobremaduro, mientras que para la Palmira ICA-1, ésta aumentó hasta el estado maduro. Por su parte, la Regional Roja presentó un máximo en estado pintón y la Guavatá Victoria, un mínimo en estado maduro (Tabla 7.4).

Tabla 7.4. Medida de la capacidad antioxidante-ensayo FRAP

	Medición actividad antioxidante (µmol trolox/g fruta)			
	Verde	Pintona	Madura	Sobremadura
Regional Roja	12,58±0,15[a]	39,94±0,16[b]	32,41±0,13[c]	27,71±0,15[c]
Regional Blanca	32,57±0,99[a]	35,42±0,68[a]	40,22±0,28[b]	42,82±0,008[b]
Guavatá Victoria	no evaluado	42,53±0,19[a]	36,64±0,11[b]	37,13±2,69[b]
Palmira ICA -1	23,23±1,18[c]	25,93±1,74[b]	36,09±1,83[a]	25,91±0,91[b]

Letras diferentes señalan que existen diferencias significativas entre muestras

Respecto a la decoloración del β-caroteno, los materiales Regional Roja, Regional Blanca y Guavatá Victoria presentaron niveles de actividad antioxidante similares, destacándose la variedad Regional Blanca en estados pintón y maduro, seguida por la Guavatá Victoria sobremadura y la Regional Roja pintona (Tabla 7.5).

Tabla 7.5. Medida de la capacidad antioxidante-decoloración del β-caroteno

	Medición actividad antioxidante (µmol trolox/g fruta)			
	Verde	Pintona	Madura	Sobremadura
Regional Roja	41,78+/-1,2 [a]	47,02+/-3,2 [b]	43,76+/-0,5 [a]	44,49+/-2,1 [a]
Regional Blanca	40,83+/-0,83 [a]	47,81+/-0,9 [b]	47,72+/-0,96 [b]	43,75+/-0,62 [a]
Guavatá Victoria	no evaluado	41,14+/-1,1 [a]	36,37+/-0,65 [b]	47,43+/-0,39 [c]
Palmira ICA -1	9,28±0,78 [c]	10,13±1,62 [b]	13,06±1,06 [a]	10,13±1,62 [b]

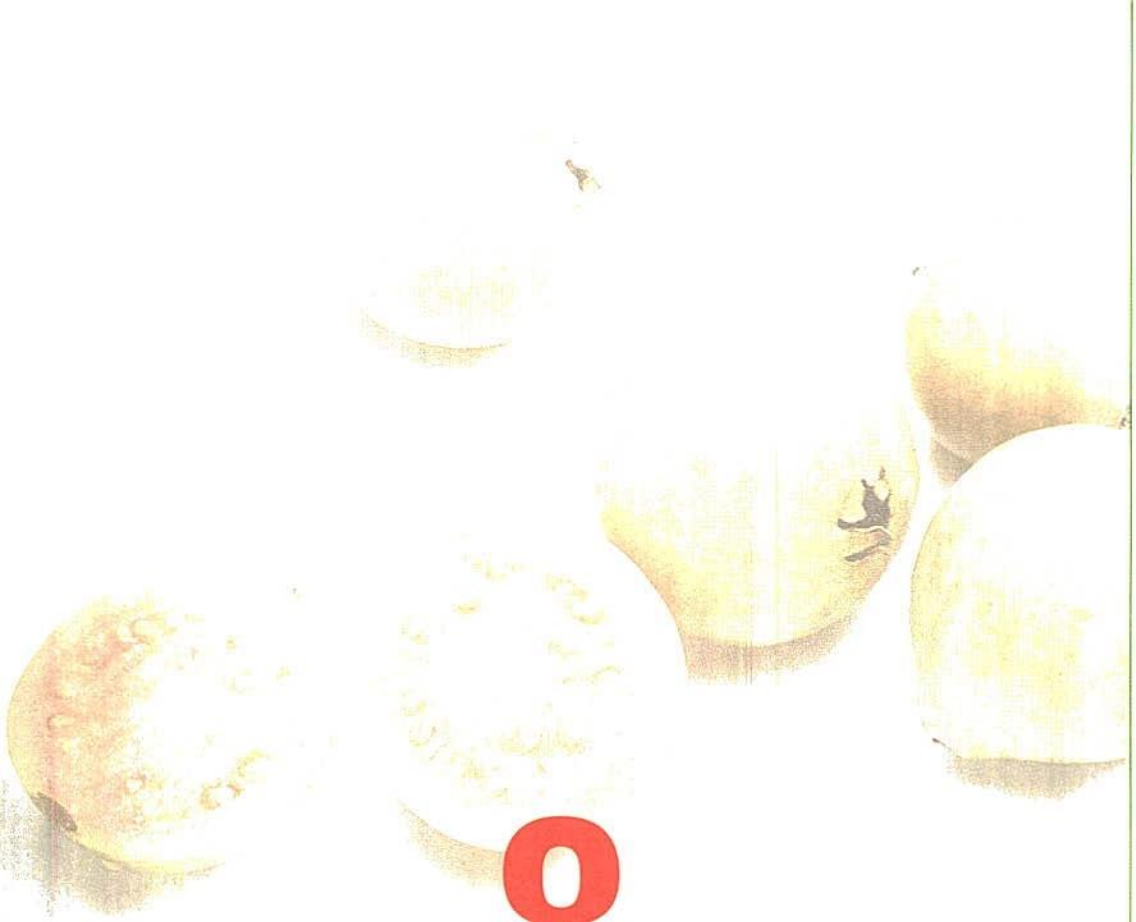
Letras diferentes señalan que existen diferencias significativas entre muestras

Los materiales de guayaba estudiados presentaron altos contenidos de fenoles libres comparativamente con los reportados en otras frutas tropicales, tales como el lulo (91 mg de ácido gálico/100 g de fruta) y el maracuyá (20 mg ácido gálico/100 g de fruta). Por otra parte, la guayaba muestra niveles intermedios de capacidad antioxidante por DPPH, respecto a los de mora (41 µmol trolox/g fruta) y maracuyá (1 µmol trolox/g fruta) (1).

Los resultados encontrados muestran que todos los materiales de guayaba en estado maduro poseen una buena capacidad antioxidante, por tanto el consumo del fruto fresco o los fenoles obtenidos a partir de éste, pueden ser aplicados como aditivos a los alimentos, para así constituir una fuente natural de nutrientes funcionales que ayuden a prevenir el deterioro oxidativo del consumidor.

Bibliografía citada

1. Velioglu Y.; Mazza L.; Gao B., Omah. Antioxidant and total phenolics in selected fruits, vegetables, and grain products. *J. Agric. Food Chem*. 1998. **46**: 4113-4117.
2. Bravo L.; Polyphenols: Chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutr. Rev*. 1998. **56** (11): 317-333.
3. Pannala A.; Chan S.; O'Brien P.; Rice-Evans C. Flavonoid B-ring chemistry and antioxidant activity: fast-reaction kinetics. *Biochem. Biophys. Res. Commun*. 2001. **282**: 1161-1168.
4. Restrepo D.; Narváez C.; Restrepo L. P. Extracción de compuestos con actividad de frutos de guayaba cultivada en Vélez Santander, Colombia. *Quím. Nova*, 2009. **32** (6): 1517-1522.
5. Shahidi F.; Naczk M. Method of analysis and quantification of phenolic compound. En Food phenolics: sources, chemistry, effects and applications. Lanchester, PA. USA: Technomic Publishing Company. 1995. pp. 287–293.
6. Thaipong K.; Boonprakoba U.; Crosbyb K.; Cisneros-Zevallos L.; Byrne D. Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. *J. Food Compos. Anal*. 2006. **19**: 669–675.
7. Benzie F.; Strain J. The ferric reducing ability of plasma as a measure of "antioxidant power" the FRAP assay. *Anal. Biochem*. 1996. **239**: 70–76.
8. Berra B.; Caruso D.; Cortesi N.; Fedeli E .; Rasetti M. F.; Galli G. Antioxidant properties of minor polar components of olive oil on the oxidative processes of cholesterol in human LDL . *Riv. Ital. Sostanze Grasse*. 1995. **72**: 285- 291.



Capítulo 8