



INFORME FINAL DE INVESTIGACION

Efecto de los métodos físicos por presión y reducción de partículas por cortado en la capacidad antioxidante del zumo de granada (*Punica granatum*).

RESPONSABLE

Dra. ELENA ELIZABETH LON KAN PRADO

CORRESPONSABLE:

Mag.CARLOS ALBERTO LON KAN PRADO

2015

LIMA - PERU

I. INTRODUCCIÓN

Las frutas y las hortalizas son productos que se consumen frescos y procesados, durante la transformación su composición nutricional puede verse alterada, así mismo las propiedades antioxidantes, el contenido de compuestos bioactivos, su actividad y biodisponibilidad. Es difícil predecir los cambios que una sustancia sufre bajo las diferentes condiciones de proceso (por ejemplo: temperatura de proceso, oxigenación, tiempo, luz, tratamiento térmico, etc.) y generalizar su comportamiento ya que podría depender en gran medida del tratamiento, la concentración de oxígeno, el tiempo y la presencia de luz.

EL objetivo general de este estudio fue la determinación de la capacidad antioxidante y compuestos bioactivos de la zarzamora.

II. MARCO TEÓRICO

La granada (*Punica granatum*) es la fruta carnosa del granado. Es una baya globular con una corteza coriácea. El interior está dividido por una membrana blanquecida en varios lóbulos, que contienen numerosas semillas revestidas con una cubierta, llamada sarcotesta, y rellenas de pulpa roja y jugosa. La granada es originaria del sur de Asia, Persia y Afganistán. Fueron los árabes quienes la introdujeron en España desde donde fue exportada hacia América tras la conquista (Lötschert, 1983). También se reporta (Kulkarni, 2007) que la granada es fuente de azúcares, vitamina C y hierro, pero deficiente en calcio, los compuestos fitoquímicos son una gama de compuestos fenólicos tales como los flavonoides (antocianinas), taninos condensados

(proantocianidinas) y taninos hidrolizados (elagitaninos y galotaninos) (Jaiswal, 2010).

Actualmente su cultivo se extiende por España, Estados Unidos, Irán, Turquía, India, Israel, China, entre otros. España se sitúa como el primer productor más importante de Europa, cuya producción se centra en la comunidad valenciana, Andalucía y la región de Murcia, la producción Española es de 22.311 T (MMRM, 2010).

El estudio de los componentes bioactivos de la granada y sus efectos sobre la mejora de la salud humana es un campo de investigación de gran actualidad y máximo interés. Se ha comprobado mediante numerosos estudios científicos que tanto la granada como sus productos derivados contienen numerosos componentes que pueden servir para la prevención de enfermedades y prevención de la salud.

La granada posee numerosos compuestos químicos de alto valor biológico en sus diferentes partes: corteza, membranas carpelares, arillos y semillas (Tabla1). El producto más importante es el zumo. La absorción intestinal de los compuestos antioxidantes de zumos de frutas es aún mejor que la de antioxidantes procedentes directamente de frutos (Bitsch, 2004). Además, la actividad sinérgica de antioxidantes presentes en las frutas y zumos de frutas puede dar como resultado un aumento en antioxidantes y actividad (Lugasi, 2003).

Alrededor del 50% corresponde a la corteza y las membranas carpelares que son una fuente importantísima de compuestos

bioactivos como polifenoles, flavonoides, elaginos, proantocianidinas y minerales principalmente potasio, nitrógeno, calcio, fósforo, magnesio y sodio.

La parte comestible de la granada representa alrededor del 50% del peso total de una granada y a su vez consiste en un 80% de su arilo (parte carnosa) y 20% de la semilla (parte leñosa).

La composición de los granos de la granada: agua (85%), azúcares (10%); glucosa y fructosa, ácidos orgánicos (1.5%), principalmente ácido ascórbico, cítrico y málico, compuestos bioactivos polifenoles y flavonoides (principalmente antocianinas).

En la actualidad está ampliamente aceptado el efecto beneficioso de las frutas y verduras debido a su alto contenido en compuestos bioactivos. La presencia de los compuestos detallados en la tabla 2 garantiza el importante valor nutricional de la granada.

El concepto de Alimento Funcional es complejo y puede referirse a sus componentes, si afectan de manera positiva, sobre el organismo, o si promueven un efecto fisiológico o psicológico (Viuda-Martos, 2011).

Los antocianinas son los compuestos considerados responsables del color rojo de las granadas la importancia de estos compuestos fenólicos radica en su acción antioxidante que protege ante los radicales libres y retrasa el proceso de envejecimiento de las células. La actividad captadora de los radicales libres de estos flavonoides ha

sido demostrada en distintos estudios (Espin, 2000). Se estima que un 10% de la capacidad antioxidante del zumo de la granada se debe a la presencia de estos polifenoles, las antocianinas (Gil, 2000).

La capacidad del zumo de granada es superior tres veces a la del vino tinto (Gil, 2000).

El ácido púnicico tiene efecto antiaterogénicos. Los elagínatos pueden ser transformados en urolatinas; la urolatina A podría ser compuesto antiinflamatorio más activo relacionado con la ingesta de granada. En el colon los procesos antiinflamatorios podrían deberse a la fracción no metabolizada de los eligenatinos (Larrosa, 2010). Las punicalaginas son los compuestos que presentan mayor capacidad antioxidante o captadora de radicales libres y son responsables del 50% de esta actividad en el zumo de granada seguida de otros taninos hidrolizable (33% de la actividad total) y en menor medida del ácido elágico (3%) (Gil, 2005; García-Viguera, 2004).

Las principales propiedades funcionales de las punicalaginas son: (Sánchez, 2009):

Poderoso efecto antioxidante

Actividad anticancerígena

Efecto protector del sistema cardiovascular

La Capacidad antioxidante total (TAC) no puede ser medido directamente, aunque puede ser evaluada mediante el análisis de los efectos de las sustancias antioxidantes en respuesta a una determinada

forma de oxidación. Varios métodos han sido propuestos para medir el TAC de los alimentos -el más ampliamente utilizado opciones es la Capacidad Antioxidante Equivalente Trolox (TEAC) y capacidad de absorción Radical Oxígeno (ORAC) ensayos, debido a su funcionamiento sencillo (Antolovich, 2002). El TEAC ensayo se basa en la activación de metmyoglobin con peróxido de hidrógeno en presencia de ABTS (2,2'-azino-bis-(3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfónico) para producir el catión radical (Miller, 1993; Miller, 1995). Sin embargo, lo que ha sido criticado porque la reacción muestra interferencias con sustancias que poseen actividad peroxidasa, y los antioxidantes presentes en la muestra. También podría contribuir a la reducción de la mioglobina ferryl radical (Re, 1999). La mejor técnica para la generación de ABTS^{•+}, antes de la reacción con antioxidantes putativo, implica dirigir la producción de los radicales a través de la reacción entre ABTS y persulfato de potasio. El ensayo ORAC a su vez se basa en la detección de daños químicos ficoeritrina a través de la disminución de la fluorescencia. El inconveniente principal de este ensayo es ficoeritrina, porque varía de lote a lote, no es fotoestable, puede ser photobleached después de la exposición a luz de excitación, y puede interactuar con los polifenoles que valores ORAC errónea (Ou, 2001). Considerando estos inconvenientes, Ou desarrolló y validó una mejor prueba de fluoresceína como la sonda fluorescente sonda. Fluoresceína que muestra excelente fotoestabilidad, no interactúa con antioxidantes, y además reduce el costo de los experimentos. Debido a que los diferentes compuestos antioxidantes

pueden actuar en vivo a través de diferentes mecanismos, no hay un único método que pueda evaluar plenamente el TAC de los alimentos. Además, el TAC medido por un individuo en un solo ensayo sólo refleja reactividad química en las condiciones específicas de este ensayo; en consecuencia, la información obtenida varía según el método utilizado. Por lo tanto, hay varios métodos para evaluar TAC que son necesarios. El mayor problema de estos métodos es la falta de un ensayo validado que pueda medir de forma fiable el TAC de los alimentos. Como resultado de ello, el uso de diferentes métodos ofrece más robustos datos (Squali, 1997).

El TAC de frutas y bebidas de frutas se han medido por varios métodos como TEAC en jugo de manzana (Miller, 1995), jugo de naranja y manzana (Miller, 1997; Salici, 2005) jugo de granada (Gil, 2000) y otras frutas y ORAC bebidas, (Lugasi, 2003; Pellegrini, 2003; Henn, 1998; Palma, 2004) en bebidas de frutas -incluidos los frutos analizados en el presente estudio. Sin embargo, estos estudios no se relacionan necesariamente con los antioxidantes biodisponibles que pueden ser liberados durante el paso a través del tracto gastrointestinal, donde puede modificarse la actividad antioxidante de los alimentos (Halliwell, 2000).

III. DESARROLLO

Se recolectó la muestra de granada y se eliminó las partes dañadas. Posteriormente las muestras fueron congeladas bajo oscuridad a -20°C y mantenidas en estas condiciones hasta el momento de realizar los respectivos análisis. La capacidad antioxidante se determinó por el método de ABTS. La capacidad antioxidante se determinó por el método del ABTS (Awika, 2005) el cual se basa en la cuantificación espectrofotométrica de la reducción de un estable preformado (ABTS) en un medio alcohólico. Conociendo la concentración inicial de dicho radical se puede estimar la concentración final luego de la reducción y a partir de ésta estimar la actividad antioxidante del extracto. En el ensayo, se hizo reaccionar $150\mu\text{L}$ de muestra con $2850\mu\text{L}$ de la solución ABTS a temperatura ambiente hasta que la absorbancia fue estable a 734nm . La absorbancia obtenida fue reemplazada en una curva estándar considerando al trolox como equivalente químico. Los resultados fueron expresados como μmol de trolox equivalente (TE) por g o ml (Valencia, 2013).

El ABTS tiene que ser generado tras una reacción que puede ser química (dióxido de manganeso presulfato de potasio, ABAP), enzimática (peroxidase, mioglobulina) o también electroquímica. Con el ABTS se puede medir la actividad de compuesto de naturaleza hidrofílica y lipofílica.

El radical ABTS tiene además, la ventaja de que su espectro presenta máximos de absorbancia a 414, 654, 754 815nm en medio alcohólico (Kuskoki, 2005).

El método FRAP ocurre por reducción directa es un método rápido simple operacionalmente y reproducible.

Consiste en la formación de un complejo férrico con el reactivo TPTZ, el cual en presencia de antioxidantes forma un complejo Azul de máxima absorción a 598 nm (Restrepo-Sánchez, 2009).

IV. CONCLUSIONES

Si bien es cierto se han obtenido valores mayores por el método de reducción de partículas, dentro del rango esperado, es necesario hacer algunas repeticiones en la capacidad antioxidante para corroborar los valores obtenidos.



V. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

Andreu Sevilla, A., Pastor, A. J. S., & Barrachina, A. A. C. La granada y su zumo. Alimentación, equipos y tecnología. 2008.

Antolovich, M., Prenzler, P. D., Patsalides, E., McDonald, S., & Robards, K. Methods for testing antioxidant activity. Analyst. 2002.

Awika, J. M., Rooney, L. W., & Waniska, R. D. Anthocyanins from black sorghum and their antioxidant properties. Food Chemistry. 2005.

Bitsch, R., Netzel, M., Frank, T., Strass, G., & Bitsch, I. Bioavailability and biokinetics of anthocyanins from red grape juice and red wine. BioMed Research International. 2004.

Espin, J. C., Soler-Rivas, C., Wichers, H. J., & García-Viguera, C. Anthocyanin-based natural colorants: a new source of antiradical activity for foodstuff. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2000.

García-Viguera, C., & Pérez-Vicente, A. La granada. Alimento rico en polifenoles antioxidantes y bajo en calorías. Alimentación Nutrición y Salud, 2004.

Gil -Antioxidante de la granada 2000.

Gil Hernández, Á. Tratado de nutrición. 2005

Halliwell, B., Zhao, K., & Whiteman, M. The gastrointestinal tract: a major site of antioxidant action? Free radical research. 2000.

Henn, T., & Stehle, P. Total phenolics and antioxidant activity of commercial wines, teas and fruit juices. *Ernährungs-Umschau*. 1998.

Jaiswal, V., DerMarderosian, A., & Porter, J. R. Anthocyanins and polyphenol oxidase from dried arils of pomegranate (*Punica granatum L.*). *Food Chemistry*. 2010

Kulkarni, A. P., Mahal, H. S., Kapoor, S., & Aradhya, S. M. In vitro studies on the binding, antioxidant, and cytotoxic actions of punicalagin. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2007

Kuskoski, E. M., Asuero, A. G., Troncoso, A. M., Mancini-Filho, J., & Fett, R. Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. *Food Science and Technology (Campinas)*. 2005.

Larrosa, M., González-Sarriás, A., Yáñez-Gascón, M. J., Selma, M. V., Azorín-Ortuño, M., Toti, S. & Espín, J. C. Anti-inflammatory properties of a pomegranate extract and its metabolite urolithin-A in a colitis rat model and the effect of colon inflammation on phenolic metabolism. *The Journal of nutritional biochemistry*. 2010.

Lötschert, W., Torres, E., & Beese, G. *Guía de las plantas tropicales*. Editorial Omega. 1982.

Lugasi, A., & HÓVÁRI, J. Antioxidant properties of commercial alcoholic and nonalcoholic beverages. *Food/Nahrung*. 2003.

Miller, N. J., & Rice-Evans, C. A. The relative contributions of ascorbic acid and phenolic antioxidants to the total antioxidant activity of orange and apple fruit juices and blackcurrant drink. *Food Chemistry*. 1997.

Miller, N. J., Diplock, A. T., & Rice-Evans, C. A. Evaluation of the total antioxidant activity as a marker of the deterioration of apple juice on storage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 1995.

Miller, N. J., Rice-Evans, C., Davies, M. J., Gopinathan, V., & Milner, A. A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates. *Clinical science*. 1993.

MMRM, Granada. Producción Española 2010.

Ou, B., Hampsch-Woodill, M., & Prior, R. L. Development and validation of an improved oxygen radical absorbance capacity assay using fluorescein as the fluorescent probe. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2001.

Palma, S., D'Aquino, S., Agabbio, M., & Schirru, S. Changes in flavonoids, ascorbic acid, polyphenol content and antioxidant activity in cold-stored fortune mandarin. In *V International Postharvest Symposium*. 2004.

Pellegrini, N., Del Rio, D., Colombi, B., Bianchi, M., & Brighenti, F. Application of the 2, 2'-azinobis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) radical cation assay to a flow injection system for the evaluation of antioxidant activity of some pure compounds and beverages. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2003.

Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free radical biology and medicine*. 1999.

Restrepo-Sánchez, D. C., Narváez-Cuenca, C. E., & Restrepo-Sánchez, L. P. Extracción de compuestos con actividad antioxidante de frutos de guayaba cultivada en Vélez-Santander, Colombia. *Quim. Nova*, 32(6), 1517-1522. 2009

Rojas, D., Narváez, E., & Restrepo, L. Evaluación del contenido de vitamina C, fenoles totales y actividad antioxidante en pulpa de guayaba (*Psidium guajava* L.) de las variedades pera, regional roja y regional blanca. Memorias red-alfa lagrotech comunidad europea. 2008.

Salici, E., Goekmen, V., & Acar, J. Evaluation of total antioxidant activities of freshly squeezed and comercial orange beverages as influenced by their ascorbic acid and total phenolics constituents. *Fruit Processing*. 2005.

Sánchez, F. Granado: Perspectivas y Oportunidades de un Negocio Emergente: Alternativas agroindustriales del granado. Chile: Fundación. 2009.

Squali, H., Fatima, Z., Arnaud, J., Richard, M. J., & Renversez, J. C. Evaluation of oxidative stress and protection by antioxidants in Moroccan malnourished children. *Ann Nut Metab*. 1997.

USDA (United States Department of Agriculture). Nutrient data laboratory. 2007.

Valencia Sullca, C. E., & Guevara Pérez, A. Variación de la capacidad antioxidante y compuestos bioactivos durante el procesamiento del néctar de zarzamora (*Rubus fruticosus* L.). *Revista de la Sociedad Química del Perú*. 2013.

Viuda-Matos, La granada como alimento funciona.
