

Correlación del contenido de fenoles y antocianinas con la capacidad antioxidante *Syzygium cumini* (L.) Skeels, (jambolan)

Phenol and anthocyanin content and correlation with the antioxidant capacity of *Syzygium cumini* (L.) Skeels, (jambolan)

Oscar Camacho Romero,^I Sandra Melgarejo Gómez,^I Catalino de la Rosa Torres,^{II} Miguel Angel Puertas-Mejia,^{III} Benjamin Rojano^{IV}

^I Grupo de Investigación Fitoquímica (GIF). Facultad de Química y Farmacia. Universidad del Atlántico. Atlántico, Colombia.

^{II} Ciencias Químicas. Universidad del Atlántico. Atlántico, Colombia.

^{III} Instituto de Química. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Antioquia. Medellín, Colombia.

^{IV} Escuela de Química. Universidad Nacional de Colombia. Medellín, Colombia.

RESUMEN

Introducción: la especie *Syzygium cumini* (L.) Skeels, (jambolan), sin. *Eugenia jambolana* L, es una planta rica en metabolitos secundarios con un elevado potencial biológico, medicinal, entre otros y que pueden estar asociados con las propiedades terapéuticas reportadas para *S. cumini*.

Objetivo: comparar capacidad antioxidante de extractos del fruto, pulpa y semilla de *S. cumini*, con respecto al contenido de polifenoles y antocianinas.

Métodos: fruto, pulpa y semillas *S. cumini* deshidratados y macerados se sometieron a extracción sólido-líquido; el contenido de fenoles se evaluó por el método de Folin-Ciocalteu, el de antocianinas por el método de diferencial de pH y el potencial antioxidante *in vitro* se evaluó con base en los métodos del radical estable 1,1-difenil-2-picrilhidracil, el radical catión 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolin-6-sulphonic ácido) y poder antioxidante de reducción del ion férrico.

Resultados: el contenido de fenoles obtenidos tanto en los extractos metanólicos como etanólicos fue muy similar en fruto y pulpa, mientras que en las semillas se observó un incremento hasta 5 veces con respecto a la pulpa, presentó correlación con el efecto de protección antioxidante entre los extractos evaluados.

Conclusiones: la elevada presencia de fenoles determinada en todos los extractos afectó de manera positiva la capacidad protectora contra radicales libres, y los frutos

de *S. cumini*, podrían ser considerados como una fuente potencial de compuestos bioactivos con aplicaciones terapéuticas.

Palabras clave: antocianinas; jambolan; *Syzygium cumini*; polifenoles; uva portuguesa.

ABSTRACT

Introduction: *Syzygium cumini* (L.) Skeels, (jambolan), sin. *Eugenia jambolana* L., is considered as a source of secondary metabolites with a biological and medicinal potential and these can be associated with its therapeutics properties.

Objective: to correlated the content of polyphenols and anthocyanins with antioxidant capacity in ethanolic and methanolic extracts of *S. cumini*.

Methods: dehydrated and powered fruits, pulp and seeds of *S. cumini* was subjected to solid-liquid extraction. Total phenolis content was determined by Folin-Cicoulteau method, anthocyanin content was determined by the pH differential method and the potential antioxidant was evaluated using 1,1-difenil-2-picrilhidracil radical stable, 2,2'-azino-bis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid radical cation and ferric reducing/antioxidant power tests.

Results: all extracts showed an important correlation between total phenolis content and antioxidant capacity values, however, in the seed total phenolis content was almost 5 times higher than that obtained in fruit and pulp.

Conclusions: all extracts exhibited a considerable antioxidant potential against free radical, and *S. cumini* could be used as an alternative source of natural bioactive compounds with application in therapeutic research area.

Key words: anthocyanins; jambolan; *Syzygium cumini*; polyphenols; portuguese plum.

INTRODUCCIÓN

En las últimas décadas se ha dado un fuerte impulso al consumo de frutas y vegetales, debido a que estos alimentos contienen un número significativo de sustancias biológicamente activas, no nutritivas para la planta, pero que son importantes para el consumo humano, ya que proporcionan un beneficio para la salud, ha reducido el riesgo de enfermedades crónicas como cáncer, diabetes, desórdenes cardiovasculares, entre otros.¹ Por lo cual, para aprovechar al máximo las cualidades terapéuticas de una especie vegetal como posible alimento funcional, su valoración requiere de un estudio sistemático tanto del extracto crudo como de sus posibles fracciones obtenidas a partir de diferentes partes de la planta (hojas, flores, frutos, raíces), con el fin de identificar aquella porción con el mayor porcentaje de sustancias bioactivas.²

Dentro del amplio grupo de compuestos funcionales presentes en la mayoría de las frutas, están los polifenoles y su contenido en cualquier alimento de origen vegetal es muy variable, ya que depende de muchos factores tales como la variedad o el grado de maduración de la especie vegetal. Estas sustancias juegan un papel importante en

la calidad final del mismo, ya que influyen en su aceptabilidad y estabilidad, actúa, por ejemplo, como colorantes y antioxidantes.

La especie *S. cumini* es una planta perteneciente a la familia *Myrtaceae*, y es originaria del sureste de Asia (India, Indochina) y Australia; sin embargo se ha adaptado muy bien en diferentes regiones, como el este africano, en países tropicales de Suramérica, Madagascar y en el sur de los Estados Unidos de América. Los frutos del árbol son conocidos con nombres coloquiales tales como uva negra, jambolan, uva portuguesa, entre otros. La planta presenta una gran diversidad de actividades biológicas, como antidiabéticas,^{3,4} antiinflamatorias,⁵ antiulcerosas,⁶ antibacterianas,⁷ entre otras. Por otro lado, estudios fitoquímicos reportan la presencia de metabolitos secundarios con un elevado potencial biofuncional, como el caroteno, tiamina, riboflavina, ácido ascórbico, proteínas, carbohidratos, entre los principales.⁸

Luego, ya que las plantas medicinales son el método terapéutico tradicional más importante y utilizado por cerca del 60 % de la población mundial, la obtención de productos derivados de ellas juegan un papel económico y terapéutico relevante en la medicina moderna.⁹ Por consiguiente, el objetivo de este trabajo es comparar el contenido de polifenoles y antocianinas y su efecto sobre el potencial antioxidante *in vitro* de los frutos de *S. cumini*.

MÉTODOS

Reactivos y equipos

El radical estable 1,1-difenil-2-picrilhidracil (DPPH), fosfato ácido de sodio, metanol, tricloruro de hierro, 2,4,6-tri(2-piridil)triazina (TPTZ), 2,2-Azinobis-(3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico) (ABTS), AAPH [2,20-Azo-bis(2-amidinopropano) dihidrocloruro], Trolox (Ácido 6-hidroxi- 2,5,8-tetrametilchromano-2-carboxílico), fluoresceinato de sodio, ácido ascórbico, fueron obtenidos de *Sigma Chemical Co.* (St. Louis, MO). El reactivo Folin-Ciocalteu fue adquirido de *Merck* (Darmstadt, Germany). El agua usada en los experimentos fue grado cromatográfico. Los ensayos FRAP (ferric reducing/antioxidant power), se realizaron en un espectrofotómetro de Fluorescencia, Perkin Elmer, LS55; los ensayos de absorción UV- Vis se llevaron a cabo en un espectrofotómetro Jenway 6405.

Material vegetal

Los frutos *S. cumini* se colectaron en el municipio de Puerto Colombia (Atlántico-Colombia), a 132 msnm, con temperatura promedio 28 °C, (coordenadas 11° 01' 13.45" N y 74° 52' 11.70" W) y fue clasificada por *Jhon Infante Betancour* del Herbario Nacional Colombiano (COL), registrada bajo el voucher No. COL 522903.

Obtención de extractos

De cada una de las muestras (Fruto completo, pulpa y semilla), 80 g fueron homogenizados y sometieron a extracción con metanol-HCl 1 % en una relación 6:1 (p/v), hasta agotamiento. Los extractos fueron filtrados y concentrados en rotaevaporador a 40 °C. Con el fin de comparar el efecto del solvente, se evaluó la mezcla etanol-HCl 1 % (v/v) bajo las mismas condiciones de extracción. Los extractos se almacenaron a -20 °C durante el periodo de estudio.¹⁰

Evaluación de la capacidad antioxidante

Ensayo del radical estable 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH, 2-2-diphenyl-1-picrylhydrazyl)

Se empleó el método reportado por Rojano y colaboradores,¹¹ con algunas modificaciones. Se evaluó la capacidad de las muestras para atrapar el radical DPPH, por medio de la disminución en la absorbancia luego de 30 min de reacción, a una longitud de onda de 517 nm. Los resultados se expresaron en valores TEAC (actividad antioxidante equivalente a Trolox, μmol de Trolox/100 g fruta fresca).

Ensayo del catión-radical 2,2'-azino-bis(ácido 3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico, ABTS)

El radical se generó por una reacción de oxidación del ABTS con persulfato de potasio. Se evaluó la capacidad de las muestras para atrapar el radical ABTS, por medio de la disminución en la absorbancia, luego de 30 min de reacción.¹² Los resultados se expresaron en valores TEAC (μmol de Trolox/100 g fruta fresca).

Ensayo del poder reductor (FRAP, ferric reducing ability of plasma)

De una solución de TPTZ, 900 μL se mezclaron con 50 μL de muestra y 50 μL de agua destilada.¹² Luego de 30 min de reacción, la absorbancia se midió a una longitud de onda de 593 nm. Las actividades de las muestras se expresaron como AEAC (Capacidad Antioxidante en equivalentes de Ácido Ascórbico: mg de ácido ascórbico/100 g fruta fresca).

Determinación de fenoles totales

La determinación de fenoles se realizó por el método descrito por *Pereira y Tavano*.¹³ Se construyó una curva patrón, se usó como estándar ácido gálico. Los resultados fueron expresados como mg de ácido gálico/100g de fruta fresca.

Determinación de antocianinas totales

Las antocianinas totales se determinaron mediante el método diferencial de pH.¹⁴ La absorbancia se midió a 530 nm y 700 nm en soluciones buffer a pH 1,0 (ácido clorhídrico/cloruro de potasio, 0,025 M) y 4,5 (ácido acético/acetato de sodio 0,4 M). El cálculo se realizó con base en la ecuación:

$$A = [(A_{530} - A_{700})_{\text{pH}1,0} - (A_{530} - A_{700})_{\text{pH}4,5}]$$

El coeficiente de extinción molar para el cianidina-3-glucósido es de 26,900. Los resultados fueron expresados como miligramos equivalentes de cianidina-3-glucósido/100 g de fruta fresca.

RESULTADOS

En la tabla 1 se reportan los resultados de la capacidad antioxidante de los extractos de *S. cumini*. La especie bajo estudio presentó una buena capacidad antioxidante en todos los extractos evaluados y se correlacionan con los ensayos calculados; sin embargo la semilla, fue la parte de fruto que presentó un elevado potencial antioxidante tanto en el extracto metanólico como en el etanólico.

Tabla 1. Capacidad antioxidante de *S. cumini*

Muestra	TEAC mol Trolox/100 g FF*		FRAP, mg ácido ascórbico/100 g FF*
	DPPH	ABTS	
EM fruto**	1759±88	10627±531	29826±1491
EEfruto***	1693±85	10275±514	28168±1408
EM pulpa	1020±51	4071±204	18005±900
EE pulpa	1745±87	5755±288	36091±1805
EM semilla	4664±433	39666±1983	65835±3292
EE semilla	5974±299	44440±2222	88909±4445

*FF: Fruta fresca; **EM: Extracto metanólico; ***EE: Extracto etanólico.
Los valores indican la media ± SD, n = 4.

Así mismo, el contenido de fenoles y antocianinas se correlacionaron con la capacidad antioxidante determinada por los ensayos de DPPH y ABTS. No obstante, esta correlación no se observó con el método FRAP, lo cual puede estar asociado con sustancias que inhiben la capacidad reductora del reactivo empelado en dicho método (tabla 2).

Tabla 2. Contenido de fenoles y antocianinas totales en *S. cumini*

Muestra	Fenoles totales mg de ácido gálico/100 g FF*	Antocianinas totales mg de cianidin-3- glucósido/100 g FF
EM fruto**	512,1±25,6	80,42±4,02
EE fruto***	581,±29,1	81,72±4,09
EM pulpa	246,2±12,3	79,47±4,91
EE pulpa	304,7±15,2	163,49±6,60
EM semilla	1654,9±82,7	0,00±0,00
EE semilla	1911,3±95,6	22,38±1,12

*FF: Fruta fresca; **EM: Extracto metanólico; ***EE: Extracto etanólico.
Los valores indican la media ± SD, n = 4.

DISCUSIÓN

La especie *S. cumini* es una planta que tiene un número significativo de propiedades biológicas que le han permitido ser usada en muchos campos de la medicina terapéutica tradicional como antifúngico, antibacteriano, antiinflamatorio, entre otros. Muchos de estos procesos degenerativos están asociados a la presencia de especies reactivas de oxígeno, por tanto, la elevada capacidad antioxidante determinada en este estudio correlaciona dicha hipótesis, y permite inferir que el fruto de *S. cumini* es una fuente potencial de sustancias con capacidad antiradicalaria.

Los resultados de esta investigación demostraron que los frutos de *S. cumini* tienen un alto contenido de antocianinas (22,38 a 163,49 mg de cianidin-3-glucósido/100 g de fruta fresca) comparable con aquellos obtenidos en otras especies, e incluso en algunos casos mayores que los reportados en la literatura, por ejemplo en extractos de *Fragaria vesca*, *Vitis vinifera* y *Psidium guajaba* (23,7; 30,9 y 2,7 mg/100 g).¹⁵ En comparación con la especie *Vitis vinifera*, reportada por su potencial antioxidante, los resultados indicaron la semilla del fruto de *S. cumini*, que contienen posibles compuestos más eficientes como secuestradores de radicales. Con respecto al método FRAP, la mayor capacidad reductora se observó en el extracto etanólico de la semilla, seguido por el extracto metanólico de la semilla, lo cual puede estar relacionado con el contenido de compuestos fenólicos en las soluciones. La capacidad reductora determinada en los extractos de fruto completo de *S. cumini* fue similar a la reportada para la curuba larga (*Passiflora mollisima* (H.B.K.) Bailey).¹⁶ En cuanto al contenido de fenoles, la especie evaluada presentó un alto contenido de estas sustancias (246,2 a 1911,3 mg/100 g), comparado con el reportado en *Vitis vinifera* (117,1 mg/100 g).¹⁵ Los diferentes extractos del fruto de *S. cumini* mostraron un contenido de antocianinas alto y comparable con aquellos reportados para frutos de *V. corymbosum*.¹⁷ Por otro lado, el extracto etanólico de la semilla mostró la mayor actividad antioxidante y se relaciona con el contenido fenólico encontrado en el extracto; la misma tendencia se observó con el extracto metanólico de semilla. En los extractos de fruto completo se observaron valores intermedios de actividad antioxidante en los diferentes ensayos realizados, esto puede estar relacionado con las interacciones de los diferentes compuestos que forman parte del fruto y de la semilla. Se estableció que la evaluación por partes del fruto (semilla y pulpa) mostró diferencias significativas comparados con el fruto completo.

Los resultados de la presente investigación demostraron un alto grado de relevancia, entre el contenido de compuestos bioactivos y la capacidad antioxidante, y se podría inferir que la presencia de las antocianinas podría actuar de manera sinérgica con los polifenoles, incrementa las propiedades antioxidantes de la especie evaluada. Este es el primer estudio sobre esta especie reportado en Colombia, conocido hasta ahora por los autores.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Yessoufou K, Elansary HO, Mahmoud EA, Skalicka-Woźniak K. Antifungal, antibacterial and anticancer activities of *Ficus drupacea* L. stem bark extract and biologically active isolated compounds. Ind. Crops Prod. 2105;74(15):752-8.

2. Irakli M, Katsantonis D, Kleisiaris F. Evaluation of quality attributes, nutraceutical components and antioxidant potential of wheat bread substituted with rice bran. *J. Cereal Sci.* 2015;65(9):74-80.
3. Pepato DM, Mori AM, Baviera JB, Harami RC, Vendramini IL, Brunetti MT, et al. Fruit of the jambolan tree (*Eugenia jambolana* Lam.) and experimental diabet. *J. Ethnopharmacol.* 2005;96(1-2):43-8.
4. Sharma SB, Nasir A, Prabhu KM, Murthy PS. Antihyperglycemic effect of the fruit-pulp of *Eugenia jambolana* in experimental diabetes mellitus. En: *Ethnopharmacol.* 2006;104(3):367-3.
5. Muruganandan S, Srinivasan K, Chandra S, Tandan SK, Lal J, Raviprakash V, et al. Anti-inflammatory activity of *Syzygium cumini* bark. *Fitoterapia.* 2001;72(4):369-5.
6. Udupurkar PP, Kale MK, Duragkar NJ. Antioxidant activity of *Syzygium cumini* seeds in aspirin induced peptic ulcer in rats. *J. Cell Tissue Res.* 2008;8(3):1577-80.
7. Shafi PM, Rosamma MK, Jamil K, Reddy PS. Antibacterial activity of *Syzygium cumini* and *Syzygium travancoricum* leaf essential oils. *Fitoterapia.* 2002;73(5):414-6.
8. Baliga MS, Bhat HP, Baliga BRV, Wilson R, Palatty PL. Phytochemistry, traditional uses and pharmacology of *Eugenia jambolana* Lam.(black plum): A review. *Food Res. Internat.* 2011;44(7):1776-89.
9. Migliato KF, Baby AR, Zague V. Ação Farmacológica de *Syzygium cumini* (L.) Skeels. *Acta Farm. Bonaerense.* 2006;25(2):310-4.
10. Segura-Carretero A, Puertas-Mejía MA, Cortacero-Ramírez S, Beltrán R, Alonso-Villaverde C, Joven J, et al. Selective extraction, separation and identification of anthocyanins from *Hibiscus sabdariffa* L. using SPE-CE-MS (TOF/IT). *Electrophoresis* 2008;29(13):2852-61.
11. Rojano B, Gaviria CA, Gil MA, Saez JA, Schinella G, Tournier H, et al. Actividad antioxidante del isoespintanol en diferentes medios. *Vitae.* 2008;15(1):173-81.
12. Mesa-Vanegas AM, GaviriaII CA, CardonaI F, Sáez-Vega JA, Blair S. Rojano B, et al. Actividad antioxidante y contenido de fenoles totales de algunas especies del género *Calophyllum*. *Rev. Cubana Plant. Med.* 2010;15(2):13-26.
13. Pereira MP, Tavano OL. Use of different spices as potential natural antioxidant additives on cooked beans (*Phaseolus vulgaris*). Increase of DPPH radical scavenging activity and total phenolic content. *Plant Foods Hum Nutr.* 2014;69(4):337-43.
14. Lee J, Durst RW, Wrolstad RE. Determination of total monomeric anthocyanin pigment content of fruit juices, beverages, natural colorants, and wines by the pH differential method: Collaborative study. *J AOAC International.* 2005;88(5):1269-78.
15. Kuskoski M, Asuero AG, Troncoso AM, Mancini-Filho J, Fett R. Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. *Ciênc. Tecnol. Aliment., Campinas,* 2005;25(4):726-32.

16. Botero MI, Ricaurte SC, Monsalve CE, Rojano B. Capacidad reductora de 15 frutas tropicales. *Scientia et Technica* 2007;33(5):295-6.

17. Kalt W, Lawand C, Ryan DAJ, McDonald JE, Donner H, Forney CF, et al. Oxygen radical absorbing capacity, anthocyanin and phenolic content of highbush blueberries (*Vaccinium corymbosum* L.) during ripening and storage. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.* 2003;128(6):917-23.

Recibido: 4 de febrero de 2015.

Aprobado: 28 de octubre de 2015.

Miguel Angel Puertas-Mejia. Instituto de Química. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Antioquia. Medellín, Colombia.
Correo electrónico: mianpume07@gmail.com