

Actividad antioxidante del fruto de *Rubus sparsiflorus* (Shiraca) Antioxidant activity of the fruit of *Rubus sparsiflorus* (Shiraca)

Henry GUIJA-GUERRA¹, Luzmila TRONCOSO-CORZO¹, Emilio GUIJA-POMA²

1 Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Medicina, Instituto de Investigación de Bioquímica y Nutrición. Lima, Perú.

2 Universidad de San Martín de Porres, Facultad de Medicina Humana, Centro de Investigación de Bioquímica y Nutrición. Lima, Perú.

Recibido: 22/noviembre/2022. Aceptado: 6/febrero/2023.

RESUMEN

Objetivo: Determinar la actividad antioxidante del fruto de *Rubus sparsiflorus* (shiraca).

Material y métodos: Se preparó un homogenizado con agua destilada y se centrifugó a 15,000 rpm por 10 minutos, el sobrenadante se utilizó para realizar las determinaciones analíticas. Los polifenoles se determinaron con la técnica de Singleton y Rossi, los flavonoides con la técnica de Jia, Tang y Wu, la vitamina C con la técnica de Jagota y Dan y las antocianinas con la de Giusti y Wrolstad. Así mismo, se determinó la capacidad antioxidante utilizando las técnicas FRAP (Benzie y Strain), DPPH (Brand-Williams, Cuvelier y Berset), ABTS (Rice-Evans, Miller y Paganga) y el sistema ascorbato/cobre (Uchida y Kawakishi).

Resultados: La shiraca madura mostró un contenido de polifenoles de 415.4 mg. EAG/100g de fruta, flavonoides 72.03 mg.EC/100g de fruta y antocianinas 147.38 mg de cianidina-3-glucósido/100g de fruta que fueron más elevados que la shiraca verde, en cambio, el contenido de vitamina C fue similar en el fruto maduro (108.35 mg/100g) y el verde (118.52 mg/100g). Así mismo, la actividad antioxidante del fruto maduro evaluada con las técnicas FRAP (8.05 mmoles de Fe-II/100 g de fruta), DPPH (IC₅₀ = 0.76 mg/mL), ABTS (IC₅₀ = 0.147 mg/mL) y el sistema ascorbato/cobre (IC₅₀ = 2.16 mg/mL) mostraron que el fruto maduro tuvo mayor capacidad antioxidante que el fruto verde.

Conclusiones: La shiraca principalmente la madura, es un fruto que posee una elevada capacidad antioxidante y un alto contenido de polifenoles, flavonoides y vitamina C.

PALABRAS CLAVE

Antioxidante; *Rubus sparsiflorus*; shiraca; fruto; polifenoles; flavonoides; antocianinas; vitamina C.

ABSTRACT

Objective: To determine the antioxidant activity of the fruit of *Rubus sparsiflorus* (shiraca).

Material and methods: A homogenate was prepared with distilled water and centrifuged at 15,000 rpm for 10 minutes, the supernatant was used to perform the analytical determinations. Polyphenols were determined using the Singleton and Rossi technique, flavonoids using the Jia, Tang and Wu technique, vitamin C using the Jagota and Dan technique, and anthocyanins using the Giusti and Wrolstad technique. Likewise, the antioxidant capacity was determined using the FRAP (Benzie and Strain), DPPH (Brand-Williams, Cuvelier and Berset), ABTS (Rice-Evans, Miller and Paganga) techniques and the ascorbate/copper system (Uchida and Kawakishi).

Results: The mature shiraca showed a polyphenol content of 415.4 mg GAE/100g of fruit, flavonoids 72.03 mg.CE/100g of fruit and anthocyanins 147.38 mg of cyanidin-3-glucoside/100g of fruit that were higher than the green shiraca, instead, the content of vitamin C was similar in the mature fruit (108.35 mg/100g) and the green fruit (118.52 mg/100g). Likewise, the antioxidant activity of the mature fruit evaluated with the techniques FRAP (8.05 mmoles of Fe-II/100 g of fruit),

Correspondencia:

Henry Guija Guerra
hguijag@unmsm.edu.pe

DPPH ($IC_{50} = 0.76$ mg/mL), ABTS ($IC_{50} = 0.147$ mg/mL) and the ascorbate/copper system ($IC_{50} = 2.16$ mg/mL) showed that the mature fruit had higher antioxidant capacity than the green fruit.

Conclusions: Shiraca, mainly the mature one, is a fruit that has a high antioxidant capacity and a high content of polyphenols, flavonoids and vitamin C.

KEY WORDS

Antioxidant; *Rubus sparsiflorus*; shiraca; fruit; polyphenols; flavonoids; anthocyanins; vitamin C.

INTRODUCCIÓN

Los radicales libres son moléculas que tienen como característica poseer un electrón desapareado, condición que los torna muy reactivos; en el ser humano se generan en la cadena transportadora de electrones mitocondrial a través de la reducción univalente de la molécula de oxígeno generándose el anión superóxido que es un radical poco reactivo, pero cuando reacciona con el óxido nítrico forma el peroxinitrito compuesto altamente reactivo; así mismo, cuando la vitamina C reacciona con un metal de transición como el ión ferroso o el ion cuproso forma el radical hidroxilo, que es el más dañino que se forma en los seres humanos^{1,2}. Los radicales libres también pueden generarse por la ingesta de ciertos medicamentos en cuya composición se encuentren compuestos como el paracetamol que tiene la propiedad de formar radicales libres, otras fuentes generadoras de radicales libres es el humo del cigarrillo, la contaminación ambiental, la ingesta de algunos alimentos, etc. Nuestra defensa antioxidante incluye enzimas como la superóxido reductasa, catalasa, glutatión reductasa, entre otras, cuya actividad antioxidante puede ser superada por la elevada generación de radicales libres conduciendo al ser humano al estrés oxidativo, condición que está vinculada con diversas patologías entre las que se incluyen a la psoriasis, cáncer, diabetes mellitus, aterosclerosis, etc.³⁻⁵.

Las frutas y verduras son alimentos que constituyen una fuente importante de sustancias antioxidantes^{6,7} entre las que se pueden considerar a los polifenoles, flavonoides, antocianinas, vitaminas, como el ascorbato, vitamina E, vitamina A, etc. La Organización Mundial de la Salud⁸ promueve la práctica de estilos de vida saludables impulsando la ingesta de una dieta sana que incorpore en su composición el consumo de frutas y hortalizas. El efecto antioxidante se puede realizar a través de su propiedad para bloquear la generación de radicales libres, evitando que éstos se propaguen e impidiendo la activación de factores de transcripción a nivel intracelular^{7,9-12} como AP-1, NF- κ B, JNK, p38MAPK, etc., los que tienen la propiedad de interactuar con el ADN y activar la RNA polimerasa que transcribe genes que codifican IL-1, IL-3, IL-10, IL-12, TNF- α , INF- γ y otros^{5,9}.

El estudio de las propiedades antioxidantes de las frutas, constituye una manera de brindar el respaldo científico de su uso dirigido a prevenir, a través de su consumo, la acción nociva de los radicales libres. Con tal propósito, se está desarrollando un considerable número de estudios destinados a describir el contenido de compuestos antioxidantes, su capacidad antioxidante y el efecto sobre la salud. En una investigación realizada con el propósito de mostrar el contenido de diversos compuestos antioxidantes en las frutas de mayor consumo en la India¹³, se observó que el fruto conocido como aonte (*Emblica officinalis* Gaertn) mostró el mayor contenido de polifenoles, flavonoides y vitamina C, seguido por el *Ziziphus*, guayaba, uvas, manzana, papaya y granada; así mismo, el aonle tuvo la mayor capacidad antioxidante. En un estudio análogo sobre el contenido de compuestos bioactivos en las frutas más comúnmente consumidas en Costa Rica¹⁴ se observó que el mayor contenido de polifenoles en orden decreciente correspondieron a la mora tropical de altura (*Rubus adenotrichos*), jobote (*Spondias purpurea*), membrillo y piña. Así mismo, se han publicado investigaciones sobre la actividad antioxidante y el contenido de polifenoles de siete frutas comercialmente disponibles¹⁵ en los mercados locales de Texas y California (EEUU), así como, otro estudio sobre la actividad antioxidante y anticancerosa de *Pachycereus weberi* y *Escontria chiotilla*¹⁶.

Existen numerosos estudios que muestran el elevado interés en estos últimos años por disponer de alimentos que ofrezcan elevadas posibilidades protectoras de la salud, hallazgos que ulteriormente pueden conducir a incentivar su cultivo y utilización en la alimentación humana con fines fundamentalmente preventivos de enfermedades crónicas no transmisibles. En el presente trabajo, utilizamos el fruto del *Rubus sparsiflorus* que es un arbusto que crece de manera silvestre en los Andes del Perú, especialmente en la ciudad de Abancay, capital de la región de Apurímac, situada a 2500 m s.n.m. cuyo fruto se conoce como "shiraca" el cual es de naturaleza carnosa integrado por numerosas drupas estrechamente unidas entre sí de un color morado oscuro y cuyo tamaño es aproximadamente de 2 cm. La shiraca se expende en el mercado local y se ingiere directamente o se utiliza, principalmente, en la preparación de una mazamorra que se consume como postre. El objetivo del presente estudio radica en la evaluación de la actividad antioxidante del *Rubus sparsiflorus* cuyo fruto se conoce comúnmente como shiraca.

MATERIAL Y MÉTODOS

Preparación del material biológico

La colecta del fruto de *Rubus sparsiflorus* se realizó directamente de la planta, ya que crece de manera silvestre en la región de Apurímac; luego fue conducido a Lima donde se procedió a lavarla con agua destilada, se separó la semilla, y la pulpa conjuntamente con la cáscara, se so-

metieron a un proceso de trituración con 10 volúmenes de agua destilada, utilizando un mortero de porcelana. Se centrifugó a 15,000 rpm durante 10 minutos en una microcentrífuga refrigerada. Se separó el sobrenadante que fue utilizado para realizar las determinaciones analíticas, por cuyo motivo, los resultados experimentales están referidos a la parte comestible de la fruta. Todas las determinaciones analíticas se realizaron por triplicado.

Determinación del contenido de vitamina C

La determinación de vitamina C se realizó usando el método propuesto por Jagota y Dan¹⁷. Para realizar los cálculos cuantitativos se preparó una curva de calibración utilizando concentraciones variables de ácido ascórbico. Los resultados se expresan como mg/100 g de fruta.

Determinación del contenido de polifenoles

El contenido de polifenoles se determinó utilizando la técnica de Singleton y Rossi¹⁸. La concentración de polifenoles se calculó utilizando una curva estándar preparada con concentraciones variables de ácido gálico. Los resultados se expresan como mg equivalentes de ácido gálico/100 g de fruta (mg EAG/100g de fruta).

Determinación del contenido de flavonoides

La determinación del contenido de flavonoides se hizo utilizando la técnica propuesta por Jia, Tang y Wu¹⁹. Para realizar los cálculos se preparó una curva de calibración utilizando concentraciones variadas de catequina. Los resultados se expresan como mg equivalentes de catequina/100 g de fruta (mg EC/100g de fruta).

Determinación del contenido de antocianinas

El contenido de antocianinas se determinó por el método diferencial de pH propuesto por Giusti y Wrolstad²⁰. La concentración de las antocianinas se expresa como mg equivalentes de cianidina-3-glucósido /100 g de fruta, cuyo peso molecular es de 449.2, para realizar los cálculos se utilizó un coeficiente de extinción molar de $26900 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$.

Determinación de la capacidad antioxidante utilizando el método DPPH

Con este propósito se utilizó la técnica sugerida por Brand-Williams²¹. Los resultados se expresan como valores IC_{50} , es decir, como miligramos/mL de la muestra que inhibe 50% (IC_{50}).

Determinación de la capacidad antioxidante utilizando el método ABTS+

Se utilizó la técnica propuesta por Rice-Evans, Miller y Paganga²². Se calculó el volumen de la muestra que produjo

50% de inhibición y los resultados se expresan como los miligramos/mL de la muestra que inhiben 50% (IC_{50}).

Determinación de la capacidad antioxidante utilizando la técnica FRAP

Esta técnica fue propuesta por Benzie²³. Para realizar los cálculos cuantitativos se preparó una curva patrón con diferentes concentraciones de cloruro ferroso. Los resultados se expresan como mmoles de Fe-II/100 g de fruta.

Determinación del efecto captador de radicales hidroxilo generados por el sistema ascorbato/Cu²⁺

Con esta finalidad se hizo uso de la técnica propuesta por Uchida y Kawakishi²⁴. Los resultados se expresan como valores IC_{50} , es decir, mg de muestra/mL que inhiben 50 %.

Análisis estadístico

Los resultados se analizaron utilizando los estadísticos descriptivos de promedios y desviación estándar. Con la finalidad de comprobar si existía diferencia estadísticamente significativa entre los resultados del fruto verde y maduro, se evaluó previamente la distribución de los resultados y se verificó su normalidad a través de las pruebas de Kolmogorov-Smirnov y Shapiro-Wilk, observándose que todos los resultados presentaban normalidad ($p > 0.05$), por lo tanto, se utilizó la prueba estadística t de Student con un $\alpha < 0.05$. Todos estos procedimientos se realizaron utilizando el programa estadístico SPSS versión 15.

RESULTADOS

El estudio de las propiedades antioxidantes del fruto *Rubus sparsiflorus* J.F. Macb, conocida vulgarmente como "shiraca" se realizó tanto en el fruto verde como en el maduro y los resultados están referidos a la parte comestible del fruto fresco que comprende el mesocarpio y la cáscara. En la tabla 1 puede apreciarse que el contenido de polifenoles en la fruta madura fue notablemente mayor que el fruto verde con un valor p de 0.003, así mismo, en esa misma tabla se observa que el contenido de flavonoides en el fruto maduro es ostensiblemente más elevado que el fruto verde, prácticamente el doble, con un valor p de 0.007.

Con respecto al contenido de vitamina C, en la tabla 1 se observa que el fruto verde tiene un contenido ligeramente mayor al mostrado por el fruto maduro, careciendo esta diferencia de una apreciable significación estadística, conforme se desprende del valor p que es de 0.444. En relación al contenido de antocianinas se observa que en la shiraca verde no se encontró presencia alguna de antocianinas, en cambio, en la shiraca madura el contenido de antocianinas fue bastante apreciable.

Tabla 1. Contenidos de Polifenoles, Flavonoides, Vitamina C y Antocianinas de fruta fresca de *Rubus sparsiflorus* madura y verde

Compuestos bioactivos	<i>Rubus sparsiflorus</i> Maduro ^a	<i>Rubus sparsiflorus</i> Verde ^a	Valor p
Polifenoles (mg equivalentes de ácido gálico/100 g de fruta)	415.4 ± 55.90	262.8 ± 46.3	0.003
Flavonoides (mg equivalentes de catequina/100 g de fruta)	72.03 ± 4.24	37.22 ± 8.60	0.007
Vitamina C (mg/100 g de fruta)	108.35 ± 15.92	118.52 ± 13.83	0.444
Antocianinas (mg equivalentes de cianidina 3-glucósido/100 g de fruta)	147.38 ± 19.49	No detectable	—

^a Los datos están expresados como promedio ± desviación estándar (n=5) sobre la base de fruta fresca.

Cuando se evaluó la capacidad antioxidante de la "shiraca" utilizando la técnica FRAP, que mide la capacidad reductora ejercida por los antioxidantes de la fruta sobre el 2,4,6-Tris(2-piridil)-s-triazina unido al ion férrico que es convertido a la forma ferrosa, se observa que la capacidad antioxidante de la fruta madura es el doble que la fruta verde, resultado que se aprecia en la tabla 2. Así mismo, puede percibirse que cuando se evalúa la contribución de la vitamina C al valor FRAP de la fruta en sus dos estados verde y madura, se puede apreciar que en el caso de la fruta verde la vitamina C contribuye con un porcentaje apreciablemente mayor que la fruta madura.

La evaluación de la capacidad antioxidante de la shiraca también se realizó utilizando la técnica del radical catiónico ABTS⁺, en la tabla 2 puede observarse que la fruta madura muestra un valor IC₅₀ menor que la fruta verde, es decir, tiene un efecto antioxidante mayor que la fruta verde, ya que con esta técnica un valor IC₅₀ pequeño indica un mejor efecto antioxidante. De manera análoga, la evaluación de la capacidad antioxidante determinada utilizando el radical libre estable DPPH, se observa que la fruta madura muestra un valor IC₅₀ menor que la fruta verde, lo que significa que posee un ma-

yor efecto antioxidante, así mismo, cuando se utiliza el sistema ascorbato/Cu²⁺, sistema que tiene la propiedad de generar radicales hidroxilo, se observa que la fruta madura tiene un valor IC₅₀ notablemente menor que la fruta verde siendo el valor p de 0.001, lo que significa que la fruta madura tiene una capacidad antioxidante mayor que la fruta verde, diferencia que es altamente significativa.

DISCUSIÓN

Las frutas y verduras constituyen fuentes importantes de sustancias antioxidantes cuya eficiencia depende de su contenido y naturaleza, en estos alimentos se han identificado una gran diversidad de metabolitos secundarios como las antocianinas, flavonoles, isoflavonas, vitamina C, licopeno, β-caroteno, vitamina E, etc.; estos metabolitos caracterizados por presentar propiedades antioxidantes se encuentran en determinados vegetales cuyos contenidos dependen de la especie, tal como ocurren con las flavanonas que preferencialmente se localizan en los cítricos, las isoflavonas en la soya, la floritina en las manzanas, los polifenoles en el té, entre otros^{7,25-28}.

Tabla 2. Actividad antioxidante utilizando las técnicas FRAP, ABTS⁺, DPPH y Ascorbato/Cu-II de fruta fresca madura y verde de *Rubus sparsiflorus*

Actividad antioxidante	<i>Rubus sparsiflorus</i> Maduro	<i>Rubus sparsiflorus</i> Verde	Valor p
FRAP (mmoles de Fe-II/100 g de fruta)	8.05 ± 1.53 ^(a)	4.03 ± 0.16 ^(a)	0.005
Contribución de Vit. C al valor FRAP (%)	21.6	43.7	0.003
ABTS ⁺ (IC ₅₀) mg/mL de fruta	0.147 ± 0.01 ^(a)	0.273 ± 0.05 ^(a)	0.056
DPPH (IC ₅₀) mg/mL de fruta	0.76 ± 0.05 ^(a)	1.03 ± 0.08 ^(a)	0.067
Ascorbato/Cu-II (IC ₅₀) mg/mL de fruta	2.16 ± 0.21 ^(a)	5.30 ± 0.36 ^(a)	0.001

^a Los resultados se expresan como promedio ± desviación estándar (n=5) sobre la base de fruta fresca.

Los polifenoles son compuestos de naturaleza orgánica caracterizados por tener una estructura constituida por anillos aromáticos con uno o más grupos hidroxilo que se encuentran de manera natural en las frutas y muestran una importante actividad antioxidante, por cuyo motivo, se encuentran vinculados con la prevención de ciertas enfermedades en el ser humano. El contenido de polifenoles de la shiraca madura fue notablemente más elevado que el plátano, manzana, guayaba, naranja, mango, papaya, granada y uvas¹³. En cambio, fue similar al tumbo (*Passiflora mollissima*)²⁵ de las regiones Arequipa y Moquegua (2300 – 3500 m s.n.m.) y Arequipa (3500 – 4000 m s.n.m.) del Perú; sin embargo, fue ligeramente menor que el tumbo cultivado en Arequipa (500 – 2300 m s.n.m.), Cusco (2300 – 3500 m s.n.m.) y Moquegua (3500 – 4000 m s.n.m.). Conforme puede observarse el contenido de polifenoles no solamente depende de la altitud donde son cultivados, sino muy probablemente de la naturaleza del suelo.

En relación al contenido de polifenoles del cerezo (*Prunus serotina*) cultivado en Arequipa y Cusco (500 – 3500 m s.n.m.) mostraron un contenido menor que la shiraca madura y la shiraca verde, así mismo, la concentración de polifenoles de la tuna (*Opuntia ficus-indica*) y ayrampo (*Opuntia apurimacensis*)⁷ cultivados en la región Huancavelica (Perú) a una altitud aproximada de 2200 m s.n.m. mostraron valores considerablemente más bajos que la shiraca verde y madura. Teniendo en consideración que la ingesta de shiraca incluye la pulpa y la cáscara, su contenido de polifenoles fue apreciablemente menor que la fresa de junio (*Amelanchier alnifolia*) y del guillomo del Canadá (*Amelanchier canadensis*)²⁹, ambas frutas son originarias de Estados Unidos de América. Análogamente, los procesos de extracción de polifenoles de la zarzamora (*Rubus fruticosus*)³⁰ utilizando acetoneitrilo y acetona mostraron un contenido similar a la shiraca madura, mientras que el uso de etanol permitió obtener una cantidad mucho menor, siendo similar al de la shiraca verde.

Los flavonoides constituyen una importante fracción de los compuestos antioxidantes de muchas frutas, su evaluación proporciona una información muy valiosa que está estrechamente vinculada con la calidad funcional de los alimentos. El contenido de flavonoides de la shiraca madura (72.03 EQ/100 g) fue similar a la granada¹³ cultivada en la India y al cerezo²⁵ procedente de la región Arequipa (2300 – 3500 m s.n.m.) (Perú), pero considerablemente mayor a la manzana, plátano, naranja, mango y papaya cultivados en la India, así como de la zarzamora³⁰, cuyos contenidos fueron semejantes a la shiraca verde que tenía una concentración notablemente menor (37.22 mg EQ/100 g). En relación al contenido de flavonoides de la fresa de junio y guillomo de Canadá, frutas del género *Amelanchier*²⁹ se han reportado que son ligeramente mayores a la shiraca madura, en cambio, el tumbo un fruto que se cultiva en los Andes del Perú en altitudes de 500 a 4000 m s.n.m. mostraron contenidos de flavonoides considerablemente mayores (223.54 – 445.62 mg EQ/100 g)²⁵ que la shiraca madura.

Las antocianinas constituyen otro grupo importante de compuestos fenólicos que poseen un eficiente efecto protector de la acción nociva de los radicales libres, la evaluación de su presencia en las frutas reviste de un considerable y especial interés ya que estas sustancias se caracterizan por ser los responsables de la amplia variedad de colores que son muy estimados en la industria alimentaria. La extracción de antocianinas de la zarzamora³⁰ utilizando acetoneitrilo mostró ser el solvente más eficiente que los otros solventes utilizados, como metanol, acetona y etanol, lo que permitió alcanzar una concentración ligeramente menor (120,01 mgC3G/100g) que la shiraca madura (147,38 mg C3G/100g).

El ácido ascórbico es una vitamina hidrosoluble que el ser humano debe ingerirlo necesariamente en su dieta ya que en el organismo cumple múltiples funciones como la de intervenir en la absorción de hierro, facilitar el transporte de glucosa a través de membrana, participar en la homeostasis del hierro, en la hidroxilación del colágeno, regulación del factor inducible de hipoxia, etc., su deficiencia causa el escorbuto siendo una de sus funciones más conocidas la de ejercer efecto antioxidante. Un considerable número de frutas son fuente importante de vitamina C, siendo la ciruela kakadu, camu camu, acerola, bilirubi y la carambola³⁰ las frutas que mostraron los niveles más elevados de vitamina C cuyos valores estuvieron comprendidos entre 162 y 22490 mg/100g de fruta fresca. Sin embargo, es necesario precisar que la shiraca podría incluirse entre las frutas con el mayor contenido de vitamina C de todas las frutas del mundo, muy por encima del kiwi, fresa, naranja, limón, mandarina, manzana y pera²⁷.

La capacidad antioxidante de un fruto está estrechamente relacionado con el contenido de fenoles totales y las fases de su maduración, se ha observado que estos compuestos se incrementan durante el proceso de maduración²⁶ en los 4 cultivares de arándanos ojo de conejo (*Vaccinium ashei*), en cambio, el contenido de flavonoides totales del cultivar Gardenblue mostró un aumento en la etapa 4 y disminuyó notablemente en la fase 5, mientras que los otros cultivares Powderblue, Balwin y Bright Well aumentaron en la fase 5 de la maduración. Con respecto específicamente a los metabolitos secundarios se observó que el ácido gálico se incrementó en todos los cultivares en las 4 primeras fases de la maduración, con excepción del Powderblue que disminuyó considerablemente en la fase 5. En cambio, los niveles de ácido ferúlico se incrementaron notablemente en la fase 5 de maduración en los cultivares Powderblue y Bright Well. Los contenidos de polifenoles, flavonoides y capacidad antioxidante de la shiraca madura fueron apreciablemente mayores que la shiraca verde con excepción del contenido de vitamina C que fue similar. En relación al cultivar Powderblue mostró una disminución de la capacidad antioxidante en la fase 2, evaluada con la técnica DPPH, posteriormente, se incrementó en la fase 3 y finalmente disminuyó en la fase 5. Análogamente, la capacidad antioxidante evaluada con las técnicas DPPH y ABTS en el cultivar Gardenblue y la evaluada utilizando la técnica DPPH en los

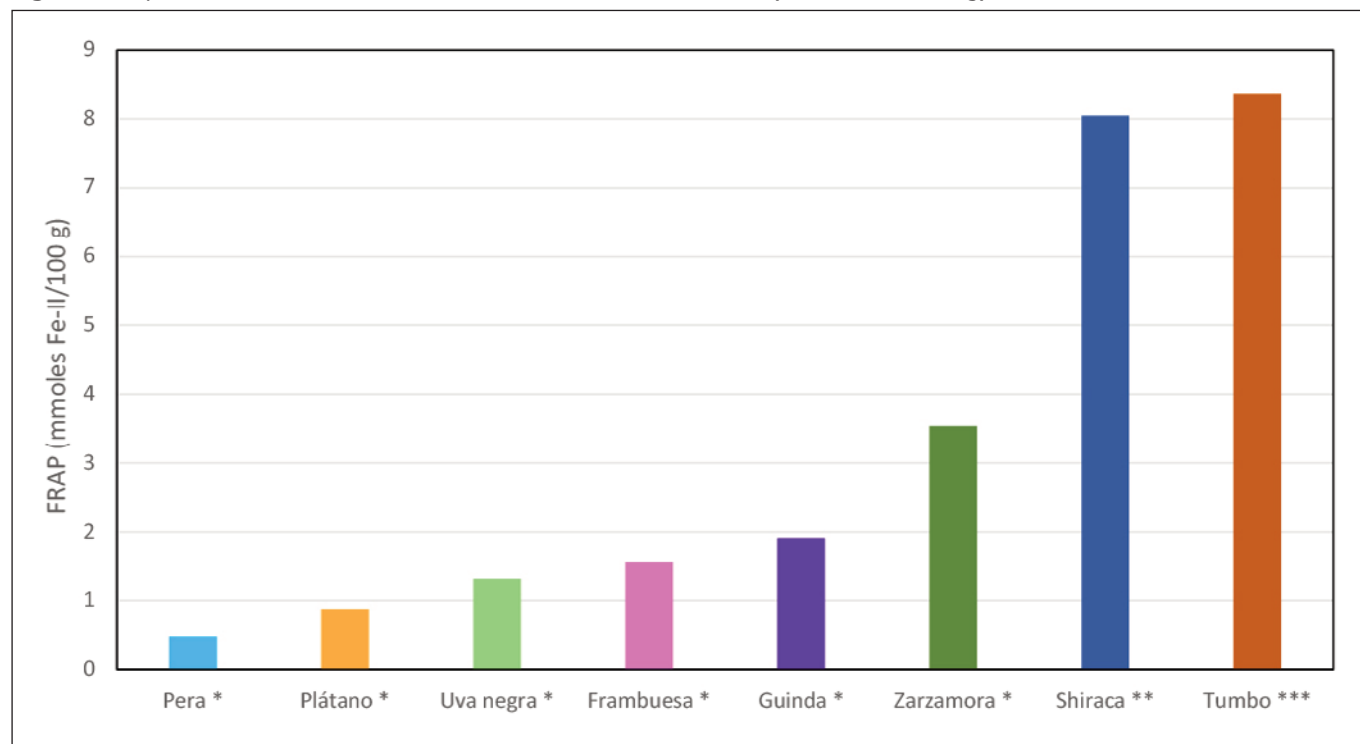
cultivares Balwin y Bright Well se incrementaron en las primeras fases de maduración y luego disminuyeron, mientras que la evaluación de la capacidad antioxidante con la técnica FRAP tendieron a incrementarse en todos los cultivares de los arándanos ojo de conejo²⁶; estas observaciones muestran la importancia de evaluar la capacidad antioxidante utilizando varias técnicas.

Teniendo en consideración el elevado número de compuestos antioxidantes, así como, sus diversas estructuras químicas que se han identificado en los alimentos de origen vegetal, no es recomendable el uso de una sola técnica para evaluar la capacidad antioxidante debido a que cada una de las técnicas descritas hasta el presente utilizan compuestos reactivos que operan a través de mecanismos diversos; la técnica DPPH o ABTS reacciona con los compuestos antioxidantes cediendo un electrón o un átomo de hidrógeno, mientras que la técnica FRAP lo hace mediante la transferencia de un electrón, lo que ha motivado a que varios autores recomienden la utilización de dos o más técnicas. La capacidad antioxidante de la shiraca evaluada con la técnica FRAP mostró valores que son más elevados que la tuna y el ayrampo⁷ resultado que guarda relación con las más bajas concentraciones de polifenoles, flavonoides y vitamina C de estas frutas, de manera análoga la evaluación

de la actividad antioxidante con esta misma técnica permite observar que los valores de la shiraca madura son similares al tumbo pese a que este fruto tiene contenidos más elevados de flavonoides, pero contenidos similares de polifenoles.

Los valores IC_{50} de la capacidad antioxidante de la shiraca obtenidos utilizando la técnica DPPH²⁵, son similares al tumbo; este resultado corrobora la evaluación de la capacidad antioxidante realizada con la técnica FRAP anteriormente mencionada. De manera similar, los valores IC_{50} usando la técnica DPPH del cerezo fueron notablemente mayores (2,1 – 18,34 mg/mL) que la shiraca madura (0,76 mg/mL), lo que estaría indicando que la shiraca posee mayor capacidad antioxidante ya que cuando se utiliza la técnica DPPH cuanto más bajo es el valor IC_{50} mayor es la capacidad antioxidante; en cambio, los resultados obtenidos utilizando la técnica FRAP mostraron que la shiraca madura es apreciablemente mayor (8,05 mmoles de Fe-II/100 g) que el cerezo (1,04 – 1,59 mmoles de Fe-II/100 g); este valor de FRAP mantiene estrecha relación con la concentración de compuestos antioxidantes, por este motivo, la utilización de esta técnica permite realizar comparaciones de la actividad antioxidante de diversos frutos y autores de una manera sencilla, conforme se observa en la figura 1

Figura 1. Capacidad antioxidante de frutas evaluadas con la técnica FRAP (mmoles Fe-II/100 g)



Fuente. Gráfico elaborado en base a datos extraídos de:

* Referencia: Araya HL, Clavijo CR, Herrera C. Capacidad antioxidante de frutas y verduras cultivadas en Chile. Arch Latinoam Nutr. 2006;56(4):361-365.

** Barra elaborada con los resultados del presente trabajo.

*** Referencia: Lopa J, Valderrama M, León N, Lazo L, Llerena JP, Ballón C, Guija-Poma E. Evaluación de la capacidad antioxidante y compuestos bioactivos de tumbo (*Passiflora mollissima*) y cerezo (*Prunus serótina*). Horiz Med (Lima) 2021;21(3):e1365.

donde se muestra la capacidad de frutos que habitualmente se consumen en nuestro medio.

La evaluación de la contribución de la vitamina C a la capacidad antioxidante total de un alimento constituye una información importante para recomendar la ingesta diaria de esta vitamina. La shiraca madura mostró valores de contribución de la vitamina C a la capacidad antioxidante notablemente menor que la tuna y el ayrampo⁷, lo que probablemente implicaría que la capacidad antioxidante reside principalmente en el contenido de polifenoles, flavonoides y antocianinas que, debido a sus diferentes valores redox se encuentran en capacidad de ejercer un eficiente efecto antioxidante lo que se ha evidenciado utilizando las técnicas FRAP, DPPH, ABTS y ascorbato/Cu-II. Los resultados anteriormente mostrados tornan de particular interés la ejecución de estudios destinados a evidenciar experimentalmente sus eventuales propiedades beneficiosas para la salud y aplicaciones en la industria alimentaria.

CONCLUSIONES

El presente estudio puso en evidencia que la shiraca es una fruta con elevado contenido de compuestos antioxidantes, conforme lo evidencian los niveles de polifenoles, flavonoides, antocianinas y especialmente vitamina C; al respecto, es necesario destacar que el contenido de vitamina C de esta fruta es uno de los más altos que se han descrito en el mundo. Así mismo, la shiraca mostró una elevada actividad antioxidante que se puso en evidencia al haber sido evaluada utilizando cuatro técnicas distintas, hecho que torna a esta fruta recomendable para ser ingerida por sus potenciales efectos benéficos para la salud.

BIBLIOGRAFÍA

- Georgieva E, Ivanova D, Zhelev Z, Bakalova R, Gulubova M, Aoki I. Mitochondrial Dysfunction and Redox Imbalance as a Diagnostic Marker of "Free Radical Diseases". *Anticancer Res.* 2017; 37: 5373-5381. doi: 10.1155/2020/9829176.
- Sining Li, Shanhu Tang *, Jinjin Li, Lamei Chen and Yuan Ma. Protective Effects of Four Natural Antioxidants on Hydroxyl-Radical-Induced Lipid and Protein Oxidation in Yak Meat. *Foods* 2022, 11, 3062. <https://doi.org/10.3390/foods11193062>.
- Sies H, Jones DP. Reactive oxygen species (ROS) as pleiotropic physiological signalling agents. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2020; 21:363–383. DOI: 10.1038/s41580-020-0230-3.
- Ziada AS, Marie-Soleil RS, Côté HCF. Updating the Free Radical Theory of Aging. *Front Cell Dev Biol.* 2020; 8: 575645. doi: 10.3389/fcell.2020.575645.
- Singh A, Kukreti R, Saso L, Kukreti S. Oxidative Stress: A Key Modulator in Neurodegenerative Diseases. *Molecules.* 2019; 24, 1583. doi: 10.3390/molecules24081583.
- De Almeida AP, Rocha DMUP, Ferreira LM, De Novaes JF, Hermsdorff HMM. Consumo de carotenoides e polifenóis em indivíduos com risco cardiometabólico. *Nutr clin hosp.* 2016; 36(3):138-145. DOI: 10.12873/363paulaalmeida.
- Jorge P, Troncoso L. Capacidad antioxidante del fruto de la *Opuntia apurimacensis* (ayrampo) y de la *Opuntia ficus-indica* (tuna). *An Fac med.* 2016;77(2):105-109. <http://dx.doi.org/10.15381/anales.v77i2.11812>
- Organización Mundial de la Salud. 57ª Asamblea Mundial de la Salud: Resolución WHA57.17. Estrategia mundial sobre régimen alimentario, actividad física y salud. 2004. [Internet] [citado el 14 de Noviembre de 2022]. Disponible en: https://apps.who.int/gb/ebwha/pdf_files/WHA57/A57_R17-sp.pdf
- Ursini F, Maiorino M, Formanb HJ. Redox homeostasis: The Golden Mean of healthy living. *Redox Biology.* 2016; 8: 205-215. doi: 10.1016/j.redox.2016.01.010.
- Levonen AL, Hill BG, Kansanen E, Zhang J, Darley-Usmar VM. Redox regulation of antioxidants, autophagy, and the response to stress: Implications for electrophile therapeutics. *Free Rad Biol Med.* 2014; 71: 196-207. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2014.03.025.
- Gomes SF, Silva FC, Pinheiro Volp AC. Efeito do consumo de frutas ricas em flavonoides sobre mediadores inflamatórios, bioquímicos e antropométricos relacionados ao metabolismo energético. *Nutr. clín. diet. hosp.* 2016; 36(3):170-180. DOI: 10.12873/363gomes.
- Görlach A, Dimova EY, Petry A, Martínez-Ruiz A, Hernansanz-Agustín P, Rolo AP, Palmeira CM, Kietzmann T. Reactive oxygen species, nutrition, hypoxia and diseases: Problems solved?. *Redox Biology.* 2015; 6: 372-385. doi: 10.1016/j.redox.2015.08.016
- Vinita, Rani V, Ritu. Antioxidant profile of commonly consumed fruits and vegetables in India. *Bangladesh J. Bot.* 2022;51(1): 45-50. doi: <https://doi.org/10.3329/bjb.v51i1.58819>.
- Montero ML, Rojas-Garbanzo C, Usaga J, Pérez AM. Composición nutricional, contenido de compuestos bioactivos y capacidad antioxidante hidrofílica de frutas costarricenses seleccionadas. *Agron. Mesoam.* 2022;33(2). Artículo 46175. doi:10.15517/am.v33i2.46175.
- Basu P, Maier C. In vitro Antioxidant Activities and Polyphenol Contents of Seven Commercially Available Fruits. *Pharmacogn. Res.* 2016;8:258-264. DOI: 10.4103/0974-8490.188875.
- Sandate-Flores L, Romero-Esquivel E, Rodríguez-Rodríguez J, Rostro-Alanis M, Melchor-Martínez EM, Castillo-Zacarías C et al. Functional Attributes and Anticancer Potentialities of Chico (*Pachycereus Weberi*) and Jiotilla (*Escontria Chiotilla*) Fruits Extract. *Plants.* 2020; 9(11): 1623. doi:10.3390/plants9111623.
- Jagota SK, Dani HMA. A New Colorimetric Technique for Estimation of vitamin C Using Folin Phenol Reagent. *Anal. Biochem.* 1992; 127: 178-132. doi: 10.1016/0003-2697(82)90162-2
- Singleton VL, Rossi JA. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am J Eno Vitic.* 1965; 16: 144-158.
- Jia Z, Tang M, Wu J. The determination of flavonoids contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chem.* 1999; 64: 555-599. doi: 10.1016/S0308-8146(98)00102-2.

20. Giusti MM, Wrolstad RE. Characterization and measurement of anthocyanins by uv-visible spectroscopy. Unit F1.2. In: R.E, Wrolstad, S.J, Schwartz, editors. Current Protocols in Food Analytical Chemistry. 2001. pp. 19–31. <https://doi.org/10.1002/0471142913.faf0102s00>
21. Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset C. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. Food Sci Tech. Lebensm.-Wiss. Technol. 1995; 28: 25-30. doi: 10.1016/S0023-6438(95)80008-5.
22. Rice-Evans CA, Miller NJ, Paganga G. Structure-antioxidant activity relationship of flavonoides and phenolic acids. Free Radical Biol Med. 1996; 20: 933-956. doi: 10.1016/0891-5849(95)02227-9.
23. Benzie IF, Strain JJ. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power" the FRAP assay. Anal. Biochem. 1996, 239, 70-76. doi: 10.1006/abio.1996.0292.
24. Uchida K, Kawakishi S. Site-specific oxidation of angiotensin I copper (II) and L-ascorbate: conversion of histidine residues to 2-imidazolones. Arch Biochem Biophys 1990; 283: 20-26. doi: 10.1016/0003-9861(90)90606-Y.
25. Lopa J, Valderrama M, León N, Lazo L, Llerena JP, Ballón C, Guija-Poma E. Evaluación de la capacidad antioxidante y compuestos bioactivos de tumbo (*Passiflora mollissima*) y cerezo (*Prunus serótina*). Horiz Med (Lima) 2021;21(3):e1365. DOI: <https://doi.org/10.24265/horizmed.2021.v21n3.08>
26. Guofang X, Xiaoyan X, Xiaoli Z, Yongling L, Zhibing Z. Changes in phenolic profiles and antioxidant activity in rabbiteye blueberries during ripening. Int J Food Prop. 2019; 22 (1): 320–329. doi: 10.1080/10942912.2019.1580718.
27. Fenech M, Amaya I, Valpuesta V, Botella MA. Vitamin C content in fruits: biosynthesis and regulation. Front. Plant Sci. 2019 volume 9: 2006. doi: 10.3389/fpls.2018.02006.
28. Shin D, Chae KS, Choi HR, Lee SJ, Gim SW, Kwon GT, et al. Bioactive and pharmacokinetic characteristics of pre-matured black raspberry, *Rubus occidentalis*. Ital. J. Food Sci. 2018; 30: 428-439. DOI <https://doi.org/10.14674/IJFS-987>
29. Didur OO, Khromykh NO, Lykholat TY, Alexeyeva AA, Liashenko OV, Lykholat YV. Comparative analysis of the polyphenolic compounds accumulation and the antioxidant capacity of fruits of different species of the genus *Amelanchier*. Agrology. 2022;5(1):3-7. Doi:10.32819/021101.
30. Albert C, Codina GG, Hejja M, Andras CD, Chetrariu A, Dabija A. Study of antioxidant activity of garden blackberries (*Rubus fruticosus* L.) extracts obtained with different extraction solvents. Appl Sci. 2022;12,4004. <https://doi.org/10.3390/app12084004>.
31. Araya HL, Clavijo CR, Herrera C. Capacidad antioxidante de frutas y verduras cultivadas en Chile. Arch Latinoam Nutr. 2006;56(4):361-365. http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-06222006000400008&lng=es.