

Efecto del estado de maduración sobre el contenido de polifenoles totales en frutos de *Solanum marginatum*

Effect of the state of maturation on the content of polyphenols total in fruits of *Solanum marginatum*

JUANITA DEL PILAR CORREA FUENTES

*Estudiante de Química
Semillero de investigación en procesos biotecnológicos
(SIPBIO)
Grupo de Investigación Núcleo
Universidad de Boyacá, Colombia
Correo electrónico: juanita.correa@uptc.edu.co*

SANDRA PATRICIA PINZÓN REYES

*Estudiante de Química
Semillero de Investigación en Procesos Biotecnológicos
(SIPBIO)
Grupo de Investigación Núcleo
Universidad de Boyacá, Colombia
Correo electrónico: sandrapatricia.pinzon@uptc.edu.co*

D. A. MARTIN G.

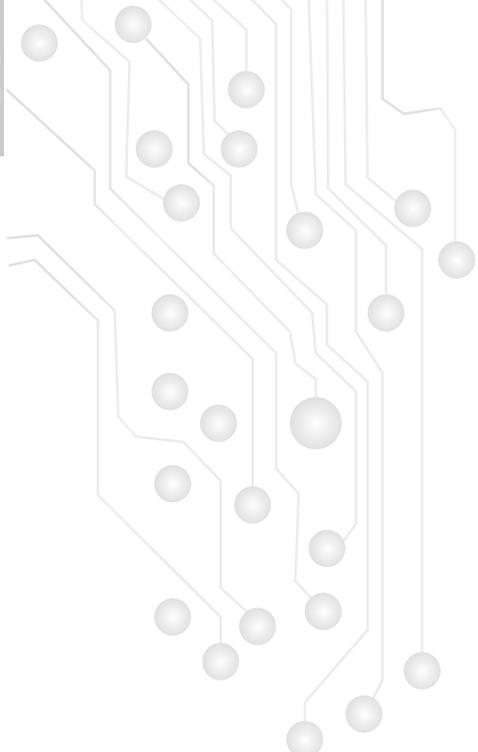
*Químico de Alimentos
Candidato a Magíster en Química
Grupo de Investigación Núcleo
Universidad de Boyacá, Colombia
Correo electrónico: damartin@uniboyaca.edu.co*

OSWALDO ELIÉCER CÁRDENAS GONZÁLEZ

*Licenciado en Biología y Química
Magíster en Ciencias Químicas
PhD en Ciencias Marinas
Grupo de Química Física Molecular y Modelamiento
Computacional QUIMOL
Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia
Correo electrónico: oswaldo.cardenas@uptc.edu.co*

Recibido: 18/11/2015

Aceptado: 20/01/2016



RESUMEN

El lulo de perro (*Solanum marginatum*) es una planta que se ha utilizado con fines medicinales, aplicándose de manera externa para dolores articulares y reumáticos, debido a la presencia de algunos alcaloides. Esta investigación tiene como objetivo encontrar alternativas para el manejo de ciertas enfermedades. Se cuantificó el contenido de polifenoles totales (CPT) mediante el uso del método de Folin-Ciocalteu en los frutos de *S. marginatum* en tres estados de maduración diferentes. Inicialmente, se realizó un tratamiento al material vegetal recolectado, realizando un secado, molienda, extracción en equipos soxhlet, y posterior concentración a presión reducida. Se encontraron valores para CPT comprendidos entre 29.881 (etanol-verde) a 192.672 (metanol-pintón) mg AG/g FS, determinando así que el metanol es el solvente que permite extraer mayor cantidad de extracto y de polifenoles del fruto de *S. marginatum*, y que el estado de maduración en donde hay mayor concentración de polifenoles es el pintón sin importar qué solvente se utilice.

Palabras clave: *Solanum marginatum*, polifenoles totales, método Folin-Ciocalteu, estado de maduración.

ABSTRACT

The plant *Lulo de perro* (*Solanum marginatum*) has been used for medicinal purposes. It is applied externally for joint pain and rheumatism thanks to the presence of some alkaloids. In order to find alternatives for the management of certain diseases, the total polyphenol content (TPC) was quantified in the fruit of *S. marginatum* in three different states of maturation, using the Folin-Ciocalteu method. Initially, a treatment of the vegetal material collected was performed by drying, grinding and extracting with a soxhlet equipment, followed by a concentration under reduced pressure. Additionally, TPC values ranging from 29,881 (ethanol-green) to 192,672 (methanol-ripened) mg AG/g FS were found, showing that methanol is the solvent that allows the best extraction of polyphenols from the fruit, and also, the state of the fruit with the highest concentration of polyphenols is the ripened one.

Keywords: *Solanum marginatum*, total polyphenols, Folin-Ciocalteu method, ripening stages.

Citar este artículo así:

Correa J., Pinzón S., D. A. Martín G. & Cárdenas O. (2016). Efecto del estado de maduración sobre el contenido de polifenoles totales en frutos de *Solanum marginatum*. Revista I3+, 3(2), 86 - 97 p.

INTRODUCCIÓN

Solanum marginatum pertenece a la familia Solanaceae, originaria de África (Vibrans, 2009). Distintiva por su arbusto, sus hojas más o menos ovadas y el fruto colgante, carnoso, globoso, hasta de 5 cm de diámetro, amarillento al madurar, sin pelos; con semillas numerosas, algo aplanadas. Esta especie robusta y exótica es atractiva, pero también una maleza en potreros y pastizales.

Sus hojas molidas en agua se recomiendan para aliviar las enfermedades reumáticas, también se utiliza como cicatrizante de heridas y úlceras, contra infecciones en la piel (Calderón y Rzedowski, 2001; Lara Ochoa y Márquez Alonso, 1996), diarrea, bronquitis y tos. Los frutos son ampliamente reportados como tóxicos (Vibrans, 2009). Se han aislado, principalmente de los frutos, compuestos como esteroides y glucoalcaloides. En estudios fitoquímicos y farmacológicos de *S. marginatum* realizados se determinó una dosis letal media de 3250 mg/kg para el jugo (Argelia Herrera, A. y Kecán Gabriel, 1970). La muerte producida por intoxicación con *S. marginatum*, es debida a una potente acción hipotensora, acompañada de estimulación respiratoria y finalmente paro pulmonar.

Existen pocos estudios acerca del potencial antioxidante de frutos de esta especie, atribuido principalmente a componentes bioactivos como vitamina C y E, carotenoides y polifenoles, los cuales han sido fuertemente asociados a la prevención de ciertas enfermedades crónico-degenerativas. Estos componentes bioactivos se encuentran en cantidades significativas en este tipo de frutos tropicales (Robles-Sánchez et al, 2007), pero se desconoce en gran medida cómo se afectan estos valores, dependiendo del estado de maduración del fruto y el efecto que tiene sobre sus constituyentes antioxidantes, resaltando la importancia de la evaluación de la actividad antioxidante total en frutos verdes, pintones y maduros.

Los frutos, junto con los nutrientes esenciales y una serie de micronutrientes como minerales, fibras y vitaminas, aportan diversos metabolitos secundarios de naturaleza fenólica, denominados polifenoles. Los fenoles, especialmente los flavonoides y los antocianos, muestran una gran capacidad para captar radicales libres causantes del estrés oxidativo, atribuyéndoseles a su vez un efecto beneficioso en la prevención de enfermedades cardiovasculares, circulatorias, cancerígenas y neurológicas. Poseen actividad anti-inflamatoria, antialérgica, antitrombótica, antimicrobiana y antineoplásica (Kuskoski et al, 2005).

Los polifenoles son un conjunto heterogéneo de moléculas que comparten la característica de poseer en su estructura varios grupos bencénicos sustituidos por funciones hidroxílicas; se encuentran en muchas plantas, algunas de uso común y por sus propiedades antioxidantes merecen mayor atención (Ángel y González, 1999). Los polifenoles son efectivos donadores de hidrógenos, particularmente

los flavonoides. Su potencial antioxidante es dependiente del número y de la posición de los grupos hidroxilos y su conjugación, así como de la presencia de electrones donadores en el anillo estructural, debido a la capacidad que posee el grupo aromático de soportar el desapareamiento de electrones por desplazamiento del sistema de electrones-p (Kuskoski et al, 2004).

Los polifenoles son un conjunto heterogéneo de moléculas que comparten la característica de poseer en su estructura varios grupos bencénicos sustituidos por funciones hidroxílicas; se encuentran en muchas plantas, algunas de uso común y por sus propiedades antioxidantes merecen mayor atención (Ángel y González, 1999). Los polifenoles son efectivos donadores de hidrógenos, particularmente los flavonoides. Su potencial antioxidante es dependiente del número y de la posición de los grupos hidroxilos y su conjugación, así como de la presencia de electrones donadores en el anillo estructural, debido a la capacidad que posee el grupo aromático de soportar el desapareamiento de electrones por desplazamiento del sistema de electrones-p (Kuskoski et al, 2004).

Los polifenoles son importantes para la fisiología de las plantas, pues contribuyen a la resistencia a los microorganismos e insectos y ayudan a preservar su integridad, debido a su continua exposición a condiciones ambientales estresantes, incluyendo radiaciones ultravioleta y relativamente altas temperaturas (Soleas et al, 2002). Aunque la mayor capacidad antioxidante de la dieta está en frutas y vegetales y se la proporcionan el contenido en vitaminas E, C y β -carotenos, también los polifenoles contribuyen de manera importante (Pineda Alonso et al., 1999), pues sus anillos aromáticos con sustituyentes hidroxilos les brinda una estructura especialmente adecuada para ejercer una acción antioxidante al poder actuar como donadores de hidrógenos o electrones, o servir como atrapadores de radicales libres (Nakatani 2000).

En estudios se ha demostrado que el grado de madurez determina el CPT presentes en los frutos. Este contenido parece que tiende a aumentar en pieles y pulpas a medida que se incrementa el grado de madurez, mientras que en semillas el efecto es opuesto (Incer, 2012). Por ende, el objetivo de este estudio es evaluar el efecto de la maduración del fruto sobre el CPT, determinando las posibles causas por las que exista una mayor concentración en uno de los estados de maduración.

METODOLOGÍA

Material Vegetal

Los frutos de *S. marginatum* fueron recolectados en la ciudad de Tunja - Boyacá - Colombia, en el sector de María Fernanda, en el barrio Santa Inés, y se seleccionaron dependiendo del tipo de maduración (verde, pintón y maduro). Estos se rebanaron en rodajas de 1 mm de grosor y secados sobre papel filtro a 40°C en una estufa durante 24 horas aproximadamente, teniendo como muestras frutos verdes= 291,660 g, pintones=238,904 g y maduros=268,365 g.

Obtención de Extractos

Los frutos secos se llevaron a un molino analítico para la homogenización del tamaño de partículas (200 μm); dicho tamaño fue establecido de acuerdo a estudios reportados en la literatura, donde muestran que, por debajo de la misma, la eficiencia de la extracción de polifenoles disminuye significativamente (Qu, Pan, and Ma 2010). Para la obtención de extractos, se pesaron 38 g de fruto seco homogenizado. Posteriormente, se realizó una extracción sólido-líquido (Soxhlet) con las seis muestras diferentes durante 8 horas, usando metanol y etanol como solventes. El extracto obtenido se concentró en un rotoevaporador marca IKA a 40°C y 300 mBar de presión interna. El extracto seco se llevó a congelación a -20°C para su posterior análisis.

Determinación de Polifenoles Totales (CPT) por el Método de Folin-Ciocalteu

El contenido de polifenoles se determinó mediante el método de Folin-Ciocalteu reportado por Nossa y colaboradores (2016), usando ácido gálico como estándar de referencia (10 - 100ppm). El ensayo se llevó a cabo de la siguiente manera: se midieron 125 μL de la solución patrón de ácido gálico, se adicionaron 0,5 mL de H₂O destilada y 125 μL del reactivo de Folin-Ciocalteu (Sigma Aldrich); se dejó reaccionar por 6 min y se agregaron 1,25 mL de una solución de Na₂CO₃ (Merck) al 7 %; por último, se agregó 1mL de H₂O destilada y se dejó reposar por 90 min en condiciones de laboratorio. Las lecturas se realizaron a una longitud de onda (λ) de 760 nm en el espectrofotómetro UV Genesys 10UV (thermo-electron). Los extractos se disolvieron en su solvente de extracción (metanol y etanol) en una concentración de 0,05 mg/mL y se determinó el CPT, teniendo en cuenta la curva patrón de ácido gálico. Todas las determinaciones se realizaron por triplicado. Los datos se reportan como *mg* de ácido gálico por g de fruto seco (mg AG/g FS).

Análisis Estadístico

Se usó un diseño en bloques aleatorios, tomando el solvente y estado de maduración como variables independientes y el CPT como variable dependiente. Se desarrolló un análisis de varianza ANOVA unifactorial bloqueando la incidencia del solvente para ver el efecto del estado de maduración, se bloqueó el estado de maduración para ver el efecto del solvente; igualmente, se realizó análisis bifactorial. Las ANOVA y el test de Tuckey se evaluaron con un nivel de significancia de 0,05.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Contenido de Humedad

Se encontraron porcentajes de humedad comprendidos entre 20,8 - 27,3 (tabla 1). Los frutos maduros mostraron el mayor valor de humedad, con aumentos sucesivos desde los verdes. Se reporta que, básicamente, los factores que determinan la pérdida de peso en los frutos de lulo (*Solanum quitonse*, planta del mismo género) son: la relación área superficial/volumen, la naturaleza de la pared del fruto y el estado del fruto (Galvis V. y Herrera Arevalo, 1999). En este ensayo, la pérdida de agua por secado se dio principalmente por el estado de maduración del fruto, dado que los frutos en un menor grado de estado de maduración tienen una mayor área superficial a través de la cual se facilitaba la pérdida de humedad (Casierra y Aguilar, 2008).

Estado de maduración	Peso inicial ($\pm 0,001$ g)	Peso final ($\pm 0,001$ g)	% Humedad
Verde	268,365	55,753	20,8 \pm 0,005
Pintón	238,904	58,583	24,5 \pm 0,010
Maduro	291,660	79,743	27,3 \pm 0,005

Tabla 1. Contenido de humedad expresado como porcentaje de los frutos de *S. marginatum*.

Obtención de los Extractos

Los porcentajes obtenidos están en un rango de 5,6 - 18,9 %. En general, a mayor estado de maduración, se evidencia una mejor extracción de los metabolitos, teniendo el mismo comportamiento con el contenido de humedad. Se determina que, al aumentar la maduración del fruto, se encuentra una mayor cantidad de compuestos que son afines a los solventes (tabla 2), porque a estados de maduración más altos, los frutos almacenan una mayor cantidad de compuestos. Comparando los solventes, el metanol exhibe una mayor eficiencia de extracción, debido a la alta afinidad que tiene el metanol sobre los compuestos presentes en los frutos, dada su mayor polaridad.

Solvente	Estado de maduración	Peso Fruto (g)	Extracto Obtenido (g)	Rendimiento de Extracción (%)
Etanol	Verde	38,135 ± 0,005	2,131 ± 0,012	5,6 ± 0,015
	Pintón	38,207 ± 0,005	2,510 ± 0,010	6,6 ± 0,010
	Maduro	38,049 ± 0,005	2,838 ± 0,010	7,5 ± 0,080
Metanol	Verde	38,344 ± 0,010	7,239 ± 0,010	18,9 ± 0,005
	Pintón	38,306 ± 0,012	5,888 ± 0,080	15,4 ± 0,012
	Maduro	38,234 ± 0,075	6,669 ± 0,010	17,4 ± 0,085

Tabla 2. Rendimiento de extracción encontrado para los frutos de *S. marginatum*.

Contenido de Polifenoles Totales (CPT)

Se encontraron valores para CPT comprendidos entre 29,881 y 192,672 mg AG/g FS (Tabla 3). Se observó significancia estadística en el ANOVA realizado al efecto del solvente ($p = 0,00153$), mostrando que el metanol fue el solvente más afín a los polifenoles presentes en este fruto (Deng et al. 2014) (figura 1).

Solvente	Estado de maduración	mg AG/g FS
Etanol	Verde	29,881 ± 0,004
	Pintón	64,181 ± 0,002
	Maduro	57,477 ± 0,003
Metanol	Verde	50,043 ± 0,019
	Pintón	192,672 ± 0,015
	Maduro	88,454 ± 0,001

Tabla 3. Contenido de polifenoles totales de los frutos de *S. marginatum*, usando el método de Folin-Ciocalteu. Los datos se muestran como promedio ($n = 3$).

Los resultados encontrados se pueden explicar debido a que el metanol es un compuesto con una polaridad mayor a la del etanol, y se sabe que los polifenoles tienen una polaridad que varía de media a alta (Lou et al., 2016), influenciando el resultado al comparar los dos solventes.

En los frutos de *S. marginatum* (lulo de perro), el CPT es mayor en el estado de maduración medio del fruto tanto en el extracto etanólico como metanólico, con una diferencia estadística ($p = 0,00114$), obteniendo valores mayores en el estado de maduración pintón (figura 2). Son datos similares a lo encontrado en una investigación en donde se evidenció que el fruto pintón contenía mayor contenido

de glicoalcaloides, evidenciando que este estado de maduración contiene mayor concentración de metabolitos secundarios (García Colmenares y Castellanos Corredor, 2011). Entre el estado maduro y verde no se encontró diferencia estadística para el CPT.

S. marginatum es una especie rica en componentes fenólicos, principalmente alcaloides, del tipo glicoalcaloides, considerado como mayoritario, aunque también se demostró en este estudio que se presenta una gran cantidad de polifenoles presentes en los frutos de esta especie. Este tipo de componentes presentan una potente actividad antioxidante y a ellos se le atribuyen las principales acciones farmacológicas que presenta la especie (Argelia Herrera, A. y Kacán Gabriel, 1970).

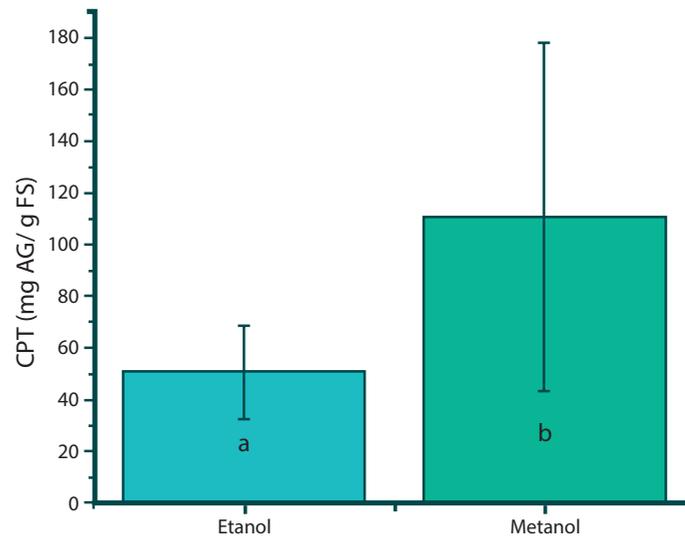


Figura 1. Comparación del contenido de polifenoles totales removidos por cada solvente. Los datos se muestran como media \pm SD ($n = 9$). Letras diferentes muestran diferencia en el Test de Tuckey evaluado al 0,05.

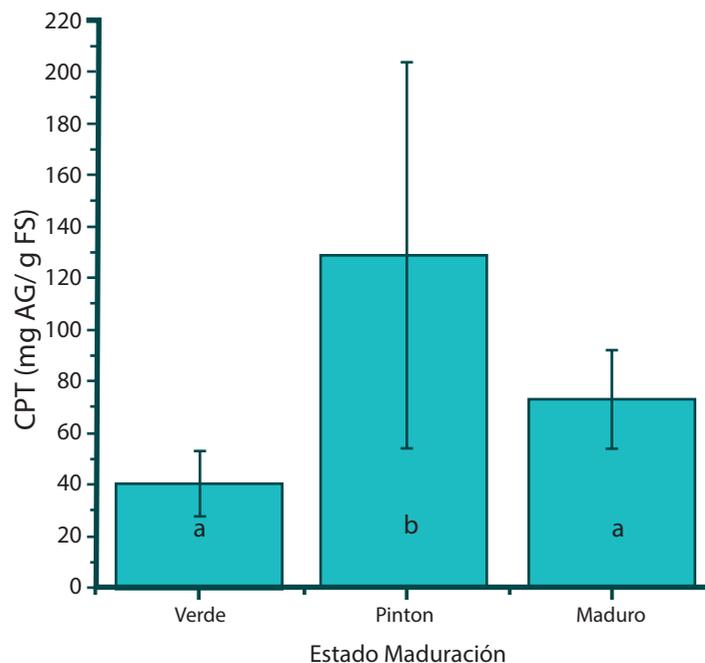


Figura 2. Comparación del contenido de polifenoles totales removidos en cada etapa de maduración. Los datos se muestran como media \pm SD ($n = 6$). Letras diferentes muestran diferencia en el Test de Tuckey evaluado al 0,05.

En la figura 3 se muestra el estado de maduración que es el factor que más afecta el CPT, encontrándose mayores valores para el tratamiento donde se usó metanol para extraer los polifenoles del fruto verde de *S. marginatum*, fortaleciendo la percepción de que se obtienen mejores resultados con metanol y en etapas de maduración media.

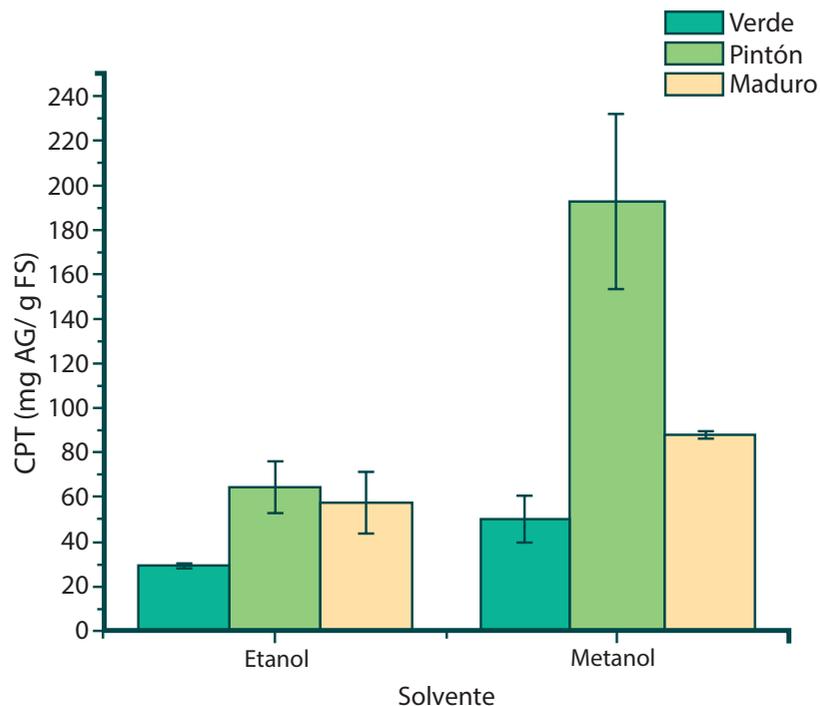


Figura 3. Comparación bifactorial del contenido de polifenoles totales removidos en cada etapa de maduración por cada solvente. Los datos se muestran como media \pm SD ($n = 3$).

CONCLUSIONES

Se encontró que el metanol es el solvente con el cual se obtiene un mayor porcentaje de extracción en la planta, así como la mejor remoción de polifenoles debido a su mayor afinidad con los compuestos presentes en el fruto de *S. marginatum*. El estado de maduración de fruto afectó significativamente el CPT, encontrándose más contenido de polifenoles en frutos de maduración media.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ángel Hernández, M. y Prieto González, E. (1999). Plantas que contienen polifenoles. Antioxidantes dentro del estilo de vida. *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas* 18(1):12-14.
- Argelia Herrera, A. y Kecán Gabriel, M. (1970). Análisis fitoquímico y farmacológico del *Solanum marginatum*. *Rev. Colomb. Cienc. Quim. Farm.* 1(3):43-88.
- Calderón, G. y Rzedowski, J. (2001). *Flora fanerogámica del Valle de México*. Comisión Nacional para el Estudio de la Biodiversidad e Instituto de Ecología, AC. México.
- Casierra, F. y Aguilar, O. (2008). Calidad en frutos de tomate (*Solanum Lycopersicum* L.) cosechados en diferentes estados de madurez. *Agronomía colombiana*. 26(2):300-307.
- Deng, Y., Yang, G., Yue, J., Qian, B., Liu, Z., Wang, D... Zhao, Y. (2014). Influences of ripening stages and extracting solvents on the polyphenolic compounds, antimicrobial and antioxidant activities of blueberry leaf extracts. *Food Control*. 38(1):184-91. doi: 10.1016/j.foodcont.2013.10.023.
- Galvis V, JA. y Herrera Arévalo, A. (1999). *El lulo Solanum quitoense lam: manejo postcosecha*. Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria.
- García Colmenares, M. y Castellanos Corredor, MC. (2011). Evaluation of the sanitizer effect of a biodegradable extract of ethnobotanical use in Boyacá, obtained from the *Solanum marginatum* species. *Luna Azul* (32):10-15.
- Incer González, A. (2012). Contenido de polifenoles según estado de maduración y zona climática de tres variedades de uvas distintas. *Boletín de Ciencia y Tecnología*. (121)
- Nossa González, D., Talero Pérez, Y. y Roza Núñez, W. (2016). Determinación del contenido de polifenoles y actividad antioxidante de los extractos polares de comfrey (*Symphytum officinale* L). *Revista Cubana de Plantas Medicinales* 21(2):125-132.
- Kuskoski, M., Asuero, A., García-Parilla, MC., Troncoso, AM. y Fett, R. (2004). Actividad antioxidante de pigmentos antocianicos. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*. 24(4):691-693.
- Kuskoski, M., Asuero, A., Troncoso, AM., Mancini-Filho, J. y Fett, R. (2005). Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*. 25(4):726-732.
- Lara Ochoa, F. y Márquez Alonso, C. (1996). *Plantas medicinales de México: composición, usos y actividad biológica*. Universidad Nacional Autónoma de México.

- Lou, SN., Lai, y., Hsu, Y., y Ho, CT. (2016). Phenolic content, antioxidant activity and effective compounds of kumquat extracted by different solvents. *Food Chemistry* 197:1-6. doi: 10.1016/j.foodchem.2015.10.096).
- Nakatani, N. (2000). Phenolic antioxidants from herbs and spices. *BioFactors*. 13(1-4):141-146. Recuperado de <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11237173>.
- Pineda Alonso, D., Salucci, M., Lázaro, R. y Giuseppe, M. y Ferro-Luzzi, A. (1999). Capacidad antioxidante y potencial de sinergismo entre los principales constituyentes antioxidantes de algunos alimentos. *Revista Cubana Alimentación y Nutrición*. 13(2):104-111.
- Qu, W., Pan, Z. y Ma, H. (2010). Extraction modeling and activities of antioxidants from pomegranate marc. *Journal of Food Engineering*. 99(1):16-23. doi: 10.1016/j.jfoodeng.2010.01.020).
- Robles-Sánchez, M., Gorinstein, S., Martín-Belloso, O., Astiazarán-García, H., González-Aguilar, G., Cruz-Valenzuela, R. (2007). Frutos tropicales mínimamente procesados: potencial antioxidante y su impacto en la salud. *Interciencia*. 32(4):227-232.
- Soleas, G., Grass, L., Josephy, PD., Goldberg, D., y Diamandis, EP. (2002). A comparison of the anticarcinogenic properties of four red wine polyphenols. *Clinical Biochemistry*. 35(2):119-124.
- Vibrans, H. (ed.) (2009). *Solanum marginatum*. *Malezas de México*. Recuperado de <http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/solanaceae/solanum-marginatum/fichas/ficha.htm>