

**Contenido de fenoles totales y capacidad
antioxidante *in vitro* del zumo de “pur
pur” *Passiflora tripartita* var. *mollissima*
(Passifloraceae)**

**Content of total phenols and *in vitro* antioxidant
capacity of the juice of “pur pur” *Passiflora*
tripartita var. *mollissima* (Passifloraceae)**

Segundo G. Ruiz Reyes

Departamento Académico de Farmacotecnia, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad Nacional de Trujillo. Av. Juan Pablo II s/n, Trujillo, PERÚ

Edmundo A. Venegas Casanova

Departamento Académico de Farmacotecnia, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad Nacional de Trujillo. Av. Juan Pablo II s/n, Trujillo, PERÚ

Juan E. Valdiviezo Campos

Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad Nacional de Trujillo. Av. Juan Pablo II s/n, Trujillo, PERÚ

Jorge L. Plasencia Cuba

Escuela de Posgrado, Universidad Nacional de Trujillo. Av. Juan Pablo II s/n, Trujillo, PERÚ



Resumen

El estudio tuvo como objetivo determinar el contenido de fenoles totales y la capacidad antioxidante del zumo de “pur pur” *Passiflora tripartita* var. *mollissima* (Passifloraceae). Los fenoles totales se obtuvieron por extracción en reflujo con etanol de 50° GL, la cuantificación se realizó por el método de Folin Cicalteau y la capacidad antioxidante *in vitro* se determinó por el método de DPPH mediante espectrofotometría UV-visible. Los resultados reportaron un contenido de fenoles totales de $17,23 \pm 0,07$ g ac. tánico/100 g extracto seco y la capacidad antioxidante con un valor de IC_{50} es $10,53$ μ g/ μ L en ensayo DPPH del zumo del fruto de “pur pur” *Passiflora tripartita* var. *mollissima* (Passifloraceae).

Palabras clave: *Passiflora tripartita* var. *mollissima*, fenoles totales, capacidad antioxidante.

Abstract

The objective of the study was to determine the content of total phenols and the antioxidant capacity of the juice of “pur pur” *Passiflora tripartita* var. *mollissima* (Passifloraceae). The total phenols were obtained by extraction under reflux with ethanol of 50° GL, the quantification was performed by the Folin Cicalteau method and the *in vitro* antioxidant capacity was determined by the DPPH method by UV-visible spectrophotometry. The results reported a content of total phenols of 17.23 ± 0.07 g tannic ac./100 g dry extract and the antioxidant capacity with an IC_{50} value is 10.53 μ g/ μ L in DPPH assay of fruit juice of “pur pur” *Passiflora tripartita* var. *mollissima* (Passifloraceae).

Keywords: *Passiflora tripartita* var. *mollissima*, total phenols, antioxidant capacity.

Citación: Ruiz, S.; E. Venegas; J. Valdiviezo & J. Plasencia. 2018. Contenido de fenoles totales y capacidad antioxidante *in vitro* del zumo de “pur pur” *Passiflora tripartita* var. *mollissima* (Passifloraceae). *Arnaldoa* 25 (3): 1003-1014. DOI: <http://doi.org/10.22497/arnaldoa.253.25312>

Introducción

En la naturaleza existe una amplia variedad de compuestos que presentan una estructura molecular caracterizada por la presencia de uno o varios anillos fenólicos. Estos compuestos podemos denominarlos polifenoles. Poseen una estructura química adecuada para ejercer actividad antioxidante, la cual está íntimamente relacionada con tales propiedades (Lincoin, 2006).

Los compuestos fenólicos destacan por poseer actividad antioxidante; cada polifenol tiene una cierta actividad antioxidante, sin embargo en frutos, la capacidad antioxidante no está dada simplemente por la suma de las capacidades antioxidantes de cada uno de sus componentes, sino también por la interacción entre ellos, lo que puede

producir efectos sinérgicos o antagónicos (Abeysinghe *et al.*, 2007).

Estos fitoquímicos en frutas y vegetales pueden presentar diferentes mecanismos que se complementen o sean sinérgicos en la neutralización de los agentes oxidantes, estimulación del sistema inmune, regulación de la expresión de genes implicados en la proliferación y apoptosis celular, regulación del metabolismo de hormonas y efecto antiviral y antibacteriano (Kaur & Kapoor, 2001).

El “pur pur” (*Passiflora tripartita* var. *mollissima*) es un frutal originario del norte de los Andes, la fruta se encuentra en los alrededores de los pueblos andinos de Venezuela, Colombia, Ecuador, Perú y Bolivia (Bernal & Díaz, 2005) e introducidas a países como Chile, México, Nueva Zelanda, Australia y

Estados Unidos (Simirgiotis *et al.*, 2013); es clasificada como una de las mejores pasifloras comestibles por sus apetecibles características organolépticas y el alto contenido nutricional (Primot *et al.*, 2005).

Su composición tiene un elevado porcentaje de agua, casi las tres partes de su peso, su aporte más notable. Muy rica en vitaminas y minerales, como Vitamina C, provitamina A o beta caroteno, niacina, proteínas y polifenoles. Los minerales presentes en esta fruta son el potasio, fósforo y magnesio (Mostacero, 2011).

Adicionalmente, tiene importancia nutracéutica dado el alto potencial antioxidante del fruto (Rojano *et al.*, 2012; Simirgiotis *et al.*, 2013) y el componente sedativo e hipnótico de sus hojas, las cuales son empleadas en infusiones en la medicina tradicional de numerosos países (Costa *et al.*, 2016).

Sin embargo, en los últimos años, se ha observado una relación entre un alto consumo de frutas y verduras. En este sentido, diversos estudios realizados sugieren el papel protector de los polifenoles de la dieta.

Los compuestos antioxidantes poseen la facultad de proteger a las células contra el daño oxidativo, el cual provoca envejecimiento y enfermedades degenerativas. Esta actividad protectora de los polifenoles no sólo se asocia a sus propiedades anticarcinogénica y antimutagénica, sino también a sus actividades antioxidante y antiinflamatoria (Granado, 2010).

“Pur pur” (*Passiflora tripartita* var. *mollissima*) se le atribuyen propiedades medicinales para el tratamiento del colesterol alto, evita los cálculos renales, malestares urinarios y dolores estomacales,

previene y trata el escorbuto. Contribuye en la cicatrización de heridas y detención de hemorragias; es recomendable para mantener la belleza de la piel, eliminando arrugas y manchas, ayudando a recuperar la elasticidad (Escobar, 1998; Mostacero, 2009).

Los polifenoles son responsables del buen funcionamiento de las plantas y en su relación con el hombre, son utilizados para tratar desordenes cardiovasculares y prevenir algunos cánceres (García, 2007). Hoy en día los frutos no solo son netamente alimentos resaltan las propiedades medicinales.

Es por tal razón la importancia de la investigación determinar el contenido de fenoles totales y la capacidad antioxidante *in vitro* del zumo de “pur pur” (*Passiflora tripartita* var. *mollissima*), para así aportar al consumo y avalar el uso en medicina tradicional y complementaria en nuestro país.

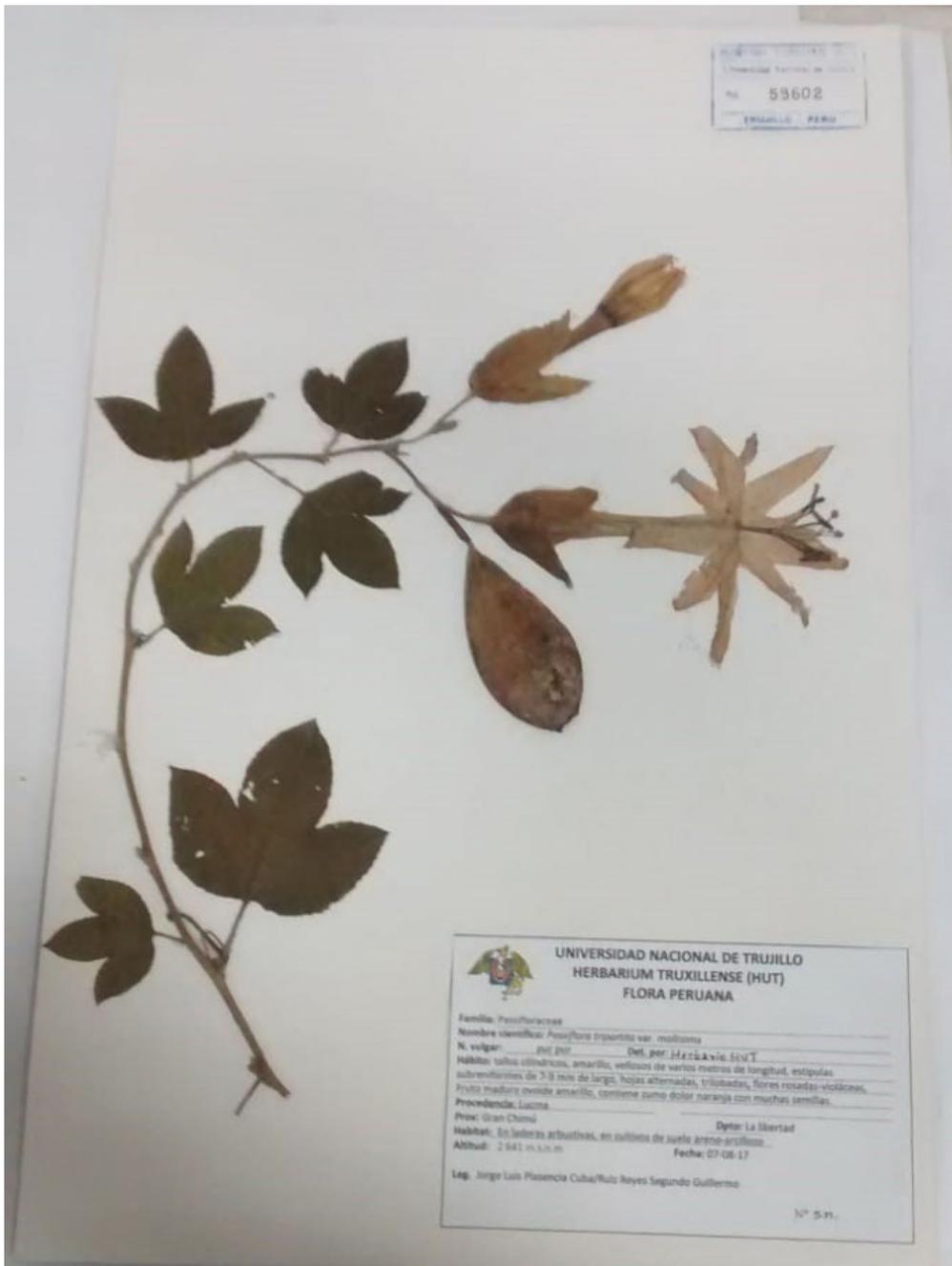


Fig. 1. Depósito con el número 59602 y descripción taxonómica de *Passiflora tripartita* var. *mollissima* "pur pur" realizado por el Herbarium Truxillense (HUT) de la Universidad Nacional de Trujillo, Perú.

Material y métodos

Material

Se recolectaron 2 kg de frutos de “pur pur” (*Passiflora tripartita* var. *mollissima*) ubicado en el distrito de Lucma de la pro-

vincia de Gran Chimú, región La Libertad y se trasladaron al laboratorio de Farmacognosia y Farmacobotánica de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de Trujillo.



Fig. 2. Frutos de *Passiflora tripartita* var. *mollissima*

Método (Miranda, 2001; Lock, 2016)

1. Recolección

Los frutos de “pur pur” (*Passiflora tripartita* var. *mollissima*) se recolectaron del distrito de Lucma (Altitud: 2 750 m.s.n.m. entre coordenadas geográficas: latitud sur 7°37'25", longitud oeste 78°02'52" de la provincia de Gran Chimú, región La Libertad.

2. Selección

Luego de la recolección de la muestra, se seleccionó los frutos con el objetivo de realizar una separación de las partes deterioradas y evitar la mezcla con otra especie.

3. Identificación taxonómica

Un ejemplar de la especie vegetal seleccionada, se llevó al *Herbarium Truxillense* (HUT) de la Universidad Nacional de Trujillo para su identificación, donde se depositó con el código N° 5962.

4. Clasificación taxonómica

La especie fue clasificada, de acuerdo al sistema de clasificación filogenético de Adolph Engler publicada en la XII Edición del Syllabus Der Pflanzenfamilien del año 1954 -1964.

5. Lavado y limpieza

El fruto fue convenientemente lavado con abundante agua potable para luego desinfectada con hipoclorito de sodio a una concentración de 100-500 ppm. Se realizó para eliminar bacterias superficiales y suciedad adherida a la fruta.

6. Obtención del zumo

Se cortaron los frutos enteros transversalmente por la mitad, pasando el contenido hacia un colador con gasa estéril, se exprimió y el zumo se recibió en un matraz aforado de 50 mL.



Fig. 3. Obtención del zumo de *Passiflora tripartita* var. *mollissima*

7. Densidad relativa

Por el método de picnometría; se pesó el picnómetro vacío y seco a 2 °C y se llenó con el zumo, manteniéndolo a 25 °C (± 1 °C) de temperatura durante 15 min. Se pesó cuidadosamente el picnómetro con el zumo y se repite la operación con agua destilada a 25 °C, después de limpiar el picnómetro.

8. Extracto seco

Se midió una alícuota del 5 ml de zumo y se vertió sobre una cápsula previamente tarada, luego se llevó a estufa a 40 °C de temperatura hasta peso constante.

9. Cuantificación del contenido de fenoles totales (Miranda, 2001)

Los fenoles totales se determinaron mediante el método de Folin Cicalteau usando ácido tánico como estándar de referencia.

1. Obtención del extracto

La preparación del extracto fue al 2%, midiéndose zumo equivalente a 5 g en un balón de 500 mL con 250 mL de etanol 50 °GL, se reflujo por 2 horas, posteriormente,

se dejó en reposo 1 hora, finalmente se agitó y se filtró a través de bomba al vacío.

2. Preparación de los reactivos

a. Solución de referencia

Se disolvió 25 mg de ácido tánico en matraz aforado de 100 mL y se aforo con agua destilada.

b. Reactivo para fenoles totales

Se usó el estándar de Folin-Ciocalteu. Calidad Merck

3. Preparación de la curva de calibración

Se preparó los estándares de la solución de referencia de ácido tánico de 1,0; 5,0; 10,0; 15,0 ug/mL. Luego se realizaron las lecturas en espectrofotómetro Heweltt Packard a 700 nm.

4. Preparación de la muestra

Se midió 3 mL del filtrado a un matraz aforado de 50 mL y se diluyó con agua destilada hasta enrase. Se realizó por triplicado.

5. Preparación de la solución para la cuantificación de fenoles totales

Se preparó tres sets de matraces aforados de 50 mL.

Reactivos	Blanco	Estándar	Muestra
Muestra	-----	-----	1,0 mL
Sol. ac. Tánico	-----	3,0 mL	-----
Agua destilada	5,0 mL	2,0 mL	4,0 mL
Folin-Ciocalteu	2,0 mL	2,0 mL	2,0 mL
Agitar 1min y reposo 5 min			
Sol. Na ₂ CO ₃ 20 %	1,0 mL	1,0 mL	1,0 mL
Se completa con agua destilada hasta enrase			
Leer en espectrofotómetro a 700nm			

Fuente: Miranda, M.: *Farmacognosia y Productos naturales*.

i. Capacidad antioxidante *in vitro* (Horna y López, 2012; Moreno, 2014).

Se siguió el método descrito por Brand Williams *et al.*

1. Preparación de la solución 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH*)

Se preparó una solución de DPPH* con etanol de 96 °GL a una concentración de DPPH 0,1 mM (0,03943 mg/ml)

2. Preparación de la recta de calibración para la solución de radical libre DPPH*

De la solución de DPPH* 0,1 mM se midió volúmenes de 1,0; 2,0; 3,0; 4,0; 5,0; 6,0; 7,0; 8,0; 9,0 y 10,0 mL; y se trasvasó a matraces aforados de 10 mL aforándolos con etanol de 96 °GL, para obtener concentraciones de 0,01; 0,02; 0,03; 0,04; 0,05; 0,06; 0,07; 0,08; 0,09 y 0,10 mM respectivamente.

Se realizó un barrido espectrofotométrico con la solución DPPH* 0,1 mM para encontrar la longitud de onda de máxima absorbancia, el cual fue de 520 nm.

Se realizó lecturas por triplicado de absorbancias en el espectrofotómetro Hewlett Packard a 520 nm, de las cuales se sacó un promedio, utilizándose etanol de 96° GL como blanco.

La gráfica de la curva de calibración se obtuvo mediante concentraciones *versus* las absorbancias.

3. Determinación del porcentaje de captura del radical libre DPPH*

En un set de 10 matraces aforados, se agregó a cada uno de ellos 10 mL de la solución de DPPH* 0,1 mM. Se midió alícuotas de 10,0; 20,0; 30,0; 40,0; 50,0; 60,0; 70,0; 80,0; 90,0 y 100,0 uL de zumo de "pur pur" (*Passiflora tripartita* var. *mollissima*) y se enfrentó a la solución de DPPH* 0,1 mM. Se realizó tres lecturas de cada sistema a una longitud de onda de 520 nm, después de pasado 30 minutos.

Se utilizó como patrón 10 mL de solución de DPPH* 0,1 mM y se fue a leer a longitud de onda de 520 nm en el espectrofotómetro. Como blanco se utilizó etanol de 96 °GL.

Se calculó el porcentaje de radicales DPPH* capturado, con la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de captura de radicales DPPH}^* = \frac{\text{Abs. control m.} - \text{Abs. muestra}}{\text{Abs. control m.}} \times 100$$

4. Determinación del concentración inhibitoria (IC₅₀)

Se graficó los porcentajes de captura de radicales DPPH* *versus* concentraciones del zumo de pur pur (*Passiflora tripartita* var. *mollissima*)

$$IC_{50} = \frac{50 - b}{m}$$

Se utilizó el intercepto y la pendiente de la línea de regresión lineal para calcular el valor de IC₅₀, aplicando la siguiente fórmula.

ii. Análisis estadístico

Los datos fueron procesados en el programa de Microsoft Excel ® 2016 de Microsoft Office ®. Caracterizados mediante parámetros estadísticos descriptivos: Media Aritmética (x) y Desviación Estándar (δ)

Resultados y discusión

La tabla 1, sobre el contenido de fenoles totales del zumo de “pur pur”

(*Passiflora tripartita* var *mollissima*) los resultados reportados fueron 17,23 ± 0,07 g ac. tánico /100 g extracto seco, esto a su

vez equivalentemente representados en ácido gálico fue 1,723 ± 0,07 g ac. gálico /100 g extracto seco.

La comparación con estudios hay relación con la concentración de fenoles totales determinados. En el estudio del género *Passiflora*, se analizaron los extractos de las pulpas de las frutas; encontrándose en el extracto de *Passiflora tripartita* var. *mollissima* la concentración de 638,48 ± 18,48 mg equivalentes de ácido gálico/100 g muestra.

En el estudio de análisis de extractos metanólicos de “cáscara” (=epicarpio) y el zumo de fruta de *P. tripartita* presentó una concentración de fenoles totales de 56,03 ± 4,34 mg de ac. gálico /100 g de peso seco (Simirgiotis *et al.*, 2013).

En la investigación se determinó compuestos fenólicos totales de 111,657 ± 2,823 mg equivalente de ácido gálico/100 mL muestra del extracto estabilizado del zumo del “tumbo serrano” *Passiflora mollissima* (Kunth) L. H. Bailey de una crema gel (Inocente, 2014).

El fruto de “pur pur” se caracteriza por su alta actividad antioxidante y alto contenido de compuestos fenólicos (Simirgiotis *et al.*, 2013; Vasco *et al.*, 2008), especialmente taninos, flavonoides y ácidos fenólicos (Rojano *et al.*, 2012; Chaparro y Rojas *et al.*, 2014), los cuales se encuentran principalmente en el exocarpo (Contreras & Calderón *et al.*, 2011).

Tabla 1. Contenido de fenoles totales del zumo del fruto *Passiflora tripartita* var. *mollissima*

Muestra	Concentración (ug/mL)	Expresados en g ac. tánico/100g extracto seco
M ₁	6,50 ± 0,076	17,23 ± 0,07 g
M ₂	6,49 ± 0,062	
M ₃	6,50 ± 0,071	

La actividad antioxidante de los fenoles totales se debe al combinado efecto de factores diversos, como puede ser la presencia de otro tipo de metabolitos antioxidantes que podrían ser carotenoides, vitamina C, entre otros (Alejandro *et al.*, 2013).

Si bien existen diferentes métodos para evaluar la actividad antioxidante, ya sea *in vitro* o *in vivo*, el método del DPPH *in vitro* permite tener una idea aproximada de lo que ocurre en situaciones complejas *in vivo* (Horna & López, 2012).

Fig. 3. Porcentaje de Inhibición del zumo del fruto *Passiflora tripartita* var. *mollissima* por el método de DPPH

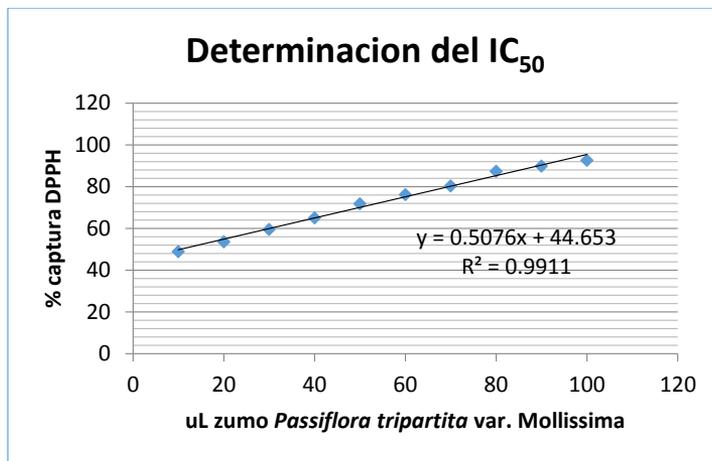


Tabla 2. Determinación del IC₅₀ en ensayo de DPPH

	IC ₅₀ (ug/uL)
DPPH	10,53

En la Tabla 2, el estudio reporta una capacidad antioxidante del zumo de *Passiflora tripartita* var. *mollissima* con un valor de IC₅₀ es 10,53 ug/uL en ensayo DPPH.

La comparación con otros estudios guarda la concordancia de la actividad antioxidante. En el estudio de análisis de extractos metanólicos de cáscara y el zumo de fruta de *P. tripartita* presentó una actividad antioxidante de 12,89 ± 0,02 mg/mL en ensayo DPPH (Simirgiotis *et al.*, 2013).

El estudio determinó la actividad antioxidante del extracto estabilizado del zumo del “tumbo serrano” *Passiflora mollissima* (Kunth) L. H. Bailey de una crema gel mediante el método de DPPH con valor de 423,187 ± 2,345 μmol Trolox/mL muestra (Inocente, 2014).

Conclusiones

El contenido de fenoles totales presentes en el zumo de “pur pur” (*Passiflora tripartita* var. *mollissima*) tiene un valor de 17,23 ± 0,07 g ac. tánico /100 g extracto seco y la capacidad antioxidante *in vitro*

del zumo de "pur pur" (*Passiflora tripartita* var. *mollissima*) tiene un valor de IC₅₀ es 10,53 ug/uL en ensayo DPPH.

Contribución de los autores

S.G.R.R. Conceptualización y metodología del estudio. E.A.V.C. Recolección de la especie vegetal. J.E.V.C. Extracción y purificación. J.L.P.C. Interpretación de los datos, revisión crítica del texto.

Conflictos de intereses

Los autores declaran no tener conflictos de intereses.

Literatura citada

- Abeysinghe, D.; X. Li; C. Sun; W. Zhang; C. Zhou & K. Chen.** 2007. Bioactive compounds and antioxidant capacities in different edible tissues of citrus fruit of four species, *Food Chemistry*, 104, 1338-1344.
- Alejandro, M.; X. Jaramillo; S. Ojeda; O. Malagón & J. Ramirez.** 2013. Actividad antioxidante y antihiper glucemiantes de la especie medicinal *Oreocallis grandiflora* (Lam.) R. Br., al sur del Ecuador. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas* 12(1): 59-68.
- Bernal, J. & C. Díaz.** 2005. Tecnología para el cultivo de la Curuba. Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria, Antioquia (Colombia).
- Chaparro, D.; M. Maldonado; M. Franco & L. Urango.** 2014. Características nutricionales y antioxidantes de la fruta "curuba larga" (*Passiflora mollissima* Bailey). *Perspectivas en Nutrición Humana*, 16(2): 203-212.
- Contreras, J.; L. Calderón; E. Guerra & B. García.** 2011. Antioxidant capacity, phenolic content and vitamin C in pulp, peel and seed from 24 exotic fruits from Colombia. *Food Research International*, 44(7): 2047-2053.
- Costa, G.; A. Gazola; S. Zucolotto; L. Castellanos; F. Ramos; F. Reginatto & E. Schenkel.** 2016. Chemical profiles of traditional preparations of four South American *Passiflora* species by chromatographic and capillary electrophoretic techniques. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 26(4): 451-458.
- Escobar, L.** 1988. Passifloraceae. En: Flora de Colombia. Instituto de Ciencias Naturales. Museo de Historia Natural. Universidad Nacional. Bogotá, Colombia. pp. 78-81.
- García, N.** 2007. Cuantificación de fenoles y flavonoides totales en extractos naturales. Universidad Autónoma De Querétaro. [Recuperado 05 de septiembre del 2017]. URL Disponible en: http://www.uaq.mx/investigacion/difusion/veranos/memorias-2007/56_1UAQGarciaNava.pdf
- Granado, S.** 2010. Estudios de los mecanismos de acción molecular de polifenoles de la dieta en cultivos celulares y animales de experimentación. Tesis doctoral. Universidad Complutense de Madrid. España.
- Horna & López.** 2012. Capacidad antioxidante *in vitro* de los flavonoides totales obtenidos de las hojas de *Sambucus peruviana* H.B.K (sauco), proveniente de la ciudad de Huamachuco. Tesis. Universidad Nacional de Trujillo. Perú.
- Inocente, C., et al.** 2014. Compuestos fenólicos, actividad antioxidante y fotoprotectora *in vitro* de una crema gel elaborada con extracto estabilizado de tumbo serrano (*Passiflora mollissima* HBK). *Rev. Per. Quím. Ing. Quím.* Vol. 17 N. ° 2. Págs. 27-33.
- Kaur, C. & H. Kapoor.** 2001. Antioxidants in fruits and vegetables-The millennium's health. *International Journal of Food Science and Technology*, vol. 36, nº. 7, pp. 703-725.
- Lincoin, T. & E. Zeige.** 2006. Fisiología Vegetal. Univesitat Jaume I.D.L. pp. 542-543.
- Lock, O.** 2016. Investigación Fitoquímica. Métodos en el estudio de productos naturales. Pontificia universidad Católica del Perú. 3° ed. pp. 103-121.
- Miranda, M.** 2001. Farmacognosia y Productos naturales. 1° ed. Ed. Félix Varela. Cuba. pp: 141, 207, 291-292.
- Moreno, E.** 2014. Contenido total de fenoles y actividad antioxidante de pulpa de seis frutas Tropicales. Departamento de Química. Universidad Nacional de Colombia. [Recuperado: 09 de septiembre del 2017]. URL Disponible en: <http://revistas.unal.edu.co/index.php/rcolquim/article/viewFile/53615/53238>.

Mostacero, J. 2011. Plantas medicinales del Perú: Taxonomía, ecogeografía, fenología y etnobotánica. Trujillo - Perú. pp.: 444-445.

Primot, S.; V. Rioux; G. C. Eeckenbrugge; F. Garcin & J. A. Ocampo. 2005. Variación morfológica de tres especies de curubas (*Passiflora tripartita* var. *mollissima*, *Passiflora tarminiana* y *Passiflora mixta*) y sus híbridos en el Valle del Cauca. Revista Brasileira de Fruticultura, 27(3): 467-471.

Rojano, B.; A. Zapata & C. Cortes. 2012. Capacidad atrapadora de radicales libres de *Passiflora mollissima* (Kunth) LH Bailey (curuba). Revista Cubana de Plantas Medicinales, 17(4): 408-419.

Simirgiotis, M.; G. Schmeda; J. Bórquez & E. Kennelly. 2013. The *Passiflora tripartita* (Banana Passion) Fruit: A Source of bioactive flavonoid C-glycosides isolated by HSCCC and characterized by HPLC–DAD–ESI/MS/MS. *Molecules*, 18(2): 1672-1692.

Vasco, C.; J. Ruales & A. Kamal Eldin. 2008. Total phenolic compounds and antioxidant capacities of major fruits from Ecuador. *Food Chemistry*, 111(4): 816-823.

