

PERFIL FITOQUÍMICO Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE EXTRACTOS DE PITAHAYA *Hylocereus undatus*

Flores Vázquez Joel (1), García-Vieyra María Isabel (2)

1 [Lic. En Ingeniería Agroindustrial, Universidad de Guanajuato] | [joel_flrs@hotmail.com]

2 [Departamento de Ingeniería Agroindustrial, División de Ciencias de la Salud e Ingenierías, Campus Celaya-Salvatierra, Universidad de Guanajuato] | [Isabel.garcia@ugto.mx]

Resumen

La pitahaya es una planta ampliamente utilizada en la medicina tradicional, ya que contiene varios constituyentes bioactivos de interés nutricional y con efectos benéficos para la salud. El objetivo de este estudio fue obtener el perfil fitoquímico y evaluar la actividad antioxidante de la pitahaya como una alternativa y fuente potencial de antioxidantes. Las pruebas fitoquímicas evaluadas fueron; alcaloides, saponinas, flavonoides, quinonas, glucósidos, glucósidos cardiacos, terpenoides, cumarinas y fenoles. La actividad antioxidante se determinó por el método del DPPH. El contenido de fenoles totales se determinó por el método de Folin –Ciocalteu. El tamizaje fitoquímico mostró la presencia de saponinas, flavonoides, glucósidos cardiacos, terpenoides, cumarinas, fenoles, taninos y alcaloides en los 3 diferentes extractos, en relación a los demás metabolitos algunos resultaron negativos, como quinonas y glucósidos; en general las muestras presentaron resultados mayormente positivos en los extractos analizados. El porcentaje de actividad antioxidante se encontró en un rango de 36.5-54.89 % obteniendo el valor más alto la muestra (Ep) y el valor menor la muestra (Acp). Con nuestros resultados podemos concluir que el extracto de la pitahaya *H. undatus* presenta un potencial fitoquímico ya que contiene presencia de metabolitos secundarios y presenta alta actividad antioxidante.

Abstract

The pitahaya plant is widely used in traditional medicine because it contains several bioactive constituents of nutritional interest and beneficial effects on health. The objective of this study was to obtain the phytochemical screening and evaluate the antioxidant activity of pitahaya fruit as an alternative and potential source of antioxidants. The phytochemical tests evaluated; alkaloids, saponins, flavonoids, quinones, glycosides, cardiac glycosides, terpenoids, phenols and coumarins. The antioxidant activity was determined by the method of DPPH. The total phenol content was determined by the Folin -Ciocalteu. Phytochemical screening showed the presence of saponins, flavonoids, cardiac glycosides, terpenoids, coumarins, phenols, tannins and alkaloids in the three different extracts, respect to other metabolites some were negative, as quinones and glucosides; generally samples showed mostly positive results in the analyzed extracts. The percentage of antioxidant activity was found in a range of 36.5-54.89% obtaining the highest sample value (Ep) and the lowest sample value (Acp). This results show that the extract of pitahaya fruit *H. undatus* present a phytochemical potential and containing presence of multiple secondary metabolites and has high antioxidant activity.

PALABRAS CLAVE

1; Fenoles 2; Taninos condensados 3;DPPH 4; Antioxidantes 5; Pitahaya

INTRODUCCIÓN

La función de los antioxidantes naturales ha recibido mucha atención. Las frutas y verduras juegan un papel importante en la dieta humana proporcionando protección contra el daño celular causado por la exposición a altos niveles de radicales libres.

Esto se atribuye al hecho de que estos alimentos proporcionan una óptima mezcla de antioxidantes como la vitamina C y E, polifenoles, carotenoides y carbohidratos complejos. [1]

Los antioxidantes son sustancias que reaccionan con los radicales libres para formar compuestos estables no reactivos [1]. Los radicales libres son moléculas del metabolismo muy inestables, siendo las especies reactivas de oxígeno las más importantes, el desbalance entre radicales libres y antioxidantes, produce un fenómeno llamado estrés oxidativo, lo cual ha sido asociado a la patogénesis de muchas enfermedades humanas. [2].

Gracias a investigaciones realizadas en los últimos años, diversos efectos benéficos a la salud son atribuidos a los antioxidantes, por lo que su estudio cada vez toma mayor importancia. [3]

México contiene una gran diversidad de cactáceas. La pitahaya (*Hylocereus undatus*) es un cactus suculento, rústico, originario de América que en México se encuentra en forma silvestre en casi todas las selvas tropicales caducifolias. [4] La especie *H. undatus* se considera la de mayor importancia económica en México, dado que sus frutos son apreciados y fácilmente comercializados en mercados locales y regionales, además de tener demanda en los mercados nacional y extranjero. [5]

El fruto de la pitahaya se consume principalmente en fresco; también puede utilizarse en cocteles, refrescos, dulces, jugos, jaleas, nieves y vinos. Las semillas contienen un aceite de efectos laxantes y ayudan al buen funcionamiento del aparato digestivo. La pulpa contiene una sustancia llamada captina que actúa como tonificante del corazón y calmante de los nervios. [6]

El aumento de las enfermedades crónicas relacionadas con la alimentación de la población ha conducido a un mayor interés por estudiar la relación alimentación y salud. En este sentido,

estudios epidemiológicos han demostrado una menor incidencia de las mismas con patrones alimentarios que involucran un alto consumo de frutas y verduras, este efecto protector se atribuye a diversos nutrientes y fitoquímicos con actividad antioxidante. [7]

El objetivo de este estudio fue obtener el perfil fitoquímico y evaluar la actividad antioxidante de la pitahaya como una alternativa y fuente potencial de antioxidantes.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal

La pitahaya se obtuvo de diferentes establecimientos de la ciudad de Salvatierra, siendo estas procedentes de varias regiones del estado de Michoacán.

Obtención de los extractos

Extracción acuosa: se agregó agua destilada en un volumen igual de fruto y se realizó decocción durante 20 minutos, posteriormente se filtró y el filtrado se concentró en un rotavapor a 60°C.

Extracción etanólica: el fruto fue cubierto completamente con etanol absoluto y se realizó una maceración a temperatura ambiente durante una semana, posteriormente se filtró. Al igual que el extracto anterior se concentró en un rotavapor a 40°C.

Extracción acetónica: se colocaron 50 g del fruto con 200 g de acetona al 80% enfriada a -4°C en una licuadora por 10 minutos. La mezcla fue filtrada con un papel filtro, los sólidos se redisolviaron y se homogenizaron nuevamente con 150 g de acetona al 80% a -4°C durante 5 minutos, enseguida se volvió a filtrar. El filtrado se concentró en un rotavapor a 50°C. Todos los extractos se colocaron en frasco ambar y en refrigeración.

Screening fitoquímico

Para la realización del screening fitoquímico los extractos se prepararon colocando 0.2 g de extracto en un tubo eppendorf de 1.5 ml, se añadieron 200 µl de agua destilada y 900 µl de etanol absoluto, se agitó con ayuda del vortex

durante 5 minutos y se centrifugó a 10,000 rpm durante 10 minutos.

Saponinas

Se colocaron 200 µl y se agregaron 200 µl de agua destilada se agitó manualmente durante 3 minutos. La prueba fue positiva con la formación de una capa de espuma.

Flavonoides

Se tomaron 200 µl de extracto y se agregaron 100 µl de NaOH al 2N. La prueba fue positiva con la formación de color amarillo.

Quinonas

Se colocaron 100 µl de extracto y se agregaron 100 µl H₂SO₄. La prueba fue positiva con la formación de color rojo.

Glucósidos

Se tomaron 200 µl de extracto, se agregaron 300 µl de cloroformo y posteriormente se le pusieron gotas de NH₄Cl al 10%. La prueba fue positiva con la formación de un color rosado.

Glucósidos cardiacos

Se tomaron 50 µl de extracto, se añadieron 200 µl de una solución de ácido acético glacial con gotas de FeCl₃ al 5%, posteriormente se agregaron 60 µl de H₂SO₄. La prueba fue positiva con la aparición de un anillo marrón en la interface.

Terpenoides

Se tomaron 50 µl de extracto, se añadieron 200 µl de cloroformo y se agregaron cuidadosamente gotas de H₂SO₄. Si se tornó café la prueba fue positiva.

Cumarinas

Se colocaron 100 µl de extracto y se adicionaron 100 µl de NaOH al 10%. La coloración amarilla indicó la presencia de cumarinas.

Fenoles

Se colocaron 100 µl de extracto, se añadieron 200 µl de agua destilada seguido de gotas de FeCl₃ al 10%. La formación de un color azul o verde indicó que la prueba fue positiva.

Taninos

Se colocaron 100 µl de extracto, se adicionaron 200 µl de FeCl₃ al 5%. La prueba se consideró positiva con la aparición de un color azul o verde.

Alcaloides

Se tomó una pequeña porción de cada extracto, se disolvieron en 2 ml de HCl al 37.5% y se filtraron. Se colocó 1 ml del filtrado y se añadieron 300 µl del reactivo Mayer. Se consideró positiva la prueba que presentó precipitado.

Actividad antioxidante

Se colocaron 150 µl de cada extracto [8], se diluyó 1:7 y se puso por triplicado posteriormente se agregaron 150 µl de DPPH a 150 µM. Se mezcló y se midió la absorbancia a una longitud de onda de 490 nm a 0,30, 60, y 120 min. Para expresar la actividad antioxidante se usó la fórmula 1).

$$\% \text{ Inhibición del radical DPPH} = \frac{\text{Absorbancia muestra (0 min)} - \text{Absorbancia muestra (30 min)}}{\text{Absorbancia muestra (0 min)}} \times 100$$

100

Determinación de fenoles totales

Se pesaron 0.1 g de cada extracto en 1 ml de agua destilada, se centrifugó a 13,000 rpm durante 3 minutos y se diluyó 1:6. A 30 µl de cada extracto se agregaron 150 µl del reactivo Folin-Ciocalteu se mezcló y después 5 minutos a temperatura ambiente, se agregaron 120 µl de carbonato de sodio (Na₂CO₃) al 0.075%. Se incubaron las muestras durante 2 horas a temperatura ambiente. La absorbancia se midió a 750 nm. Se prepararon 11 concentraciones de ácido gálico de 0-200 mg/L. Los resultados fueron expresados en equivalentes de ácido gálico (EAG)/100 g de muestra. [9]

Determinación de taninos condensados

Se colocaron 10 µl del extracto diluido 1:6 que se usó para la determinación de fenoles totales, se agregaron 197 µl de una solución etanol-vainilla al 4%. Se añadieron 99 µl de ácido sulfúrico al 25% (H₂SO₄) y se incubaron durante 15 minutos a temperatura ambiente. Se midió la absorbancia a 490 nm. Se realizaron 11 concentraciones de catequina de 75-750 µg/ml. Los resultados fueron

expresados en mg de equivalente de catequina (EC)/g de muestra. [10]

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Screening Fitoquímico

Los resultados colorimétricos obtenidos de manera cualitativa indican la presencia (+,++) o ausencia (-) de los metabolitos secundarios: saponinas, flavonoides, quinonas, glucósidos, glucósidos cardiacos, terpenoides y cumarinas, reportados en la siguiente Tabla.

Metabolito	Extractos		
	Acp	Ap	Ep
Saponinas	++	+	-
Flavonoides	+	+	+
Quinonas	+	-	-
Glucósidos	-	-	-
G. cardiacos	+	+	+
Terpenoides	+	+	+
Cumarinas	+	+	+
Fenoles	+	+	+
Taninos	+	+	+
Alcaloides	-	+	+

Tabla 1. Screening fitoquímico de los extractos de pitahaya *H. undatus*. Acp: Acuoso; Ap: Acetónico y Ep: etanólico.

De acuerdo a los resultados obtenidos, se puede observar la presencia de metabolitos secundarios como lo son saponinas, flavonoides, glucósidos cardiacos, terpenoides, cumarinas, fenoles, taninos y alcaloides en los 3 diferentes extractos, en relación a los demás metabolitos algunos resultaron negativos, como quinonas y glucósidos; en general las muestras presentaron resultados mayormente positivos en los extractos analizados. Por su parte los extractos acuoso y acetónico, de acuerdo a los resultados, tiene menor presencia de metabolitos secundarios respecto al etanólico utilizados en este trabajo.

Al realizar las extracciones con diferentes solventes los perfiles de metabolitos serán por tanto diferentes, con acetona se obtendrán compuestos apolares, con etanol compuestos de polaridad intermedia y al realizarla con agua

compuestos de alta polaridad. En un trabajo similar, utilizando extractos con hexano, acetona y metanol y al comparar la actividad antioxidante de estos, observaron que los mejores resultados se obtuvieron con el extracto en acetona. Y en nuestro caso el mejor extracto para los metabolitos analizados fue el etanólico.

Actividad Antioxidante

Determinación	Extractos		
	Acp	Ap	Ep
% De Captación de Radicales DPPH	36.5%	54.71%	54.89%
Contenido de Fenoles Totales (mg EAG)/ 100 g de muestra	92.64±10.07	145.67±12.84	109.86±17.03
Cuantificación de Taninos Condensados de (mg EC/ g de muestra)	53.2±25.99	49.33±24.20	34.05±5.09

Tabla 2. Determinación de actividad antioxidante, Contenido de fenoles totales y taninos condensados. Acp: Acuoso; Ap: Acetónico y Ep: etanólico.

El porcentaje de actividad antioxidante se encontró en un rango de 36.5-54.89 % obteniendo el valor más alto la muestra (Ep) y el valor menor la muestra (Acp).

Como se puede apreciar los valores de fenoles totales en las muestras presentaron valores distintos siendo la muestra Ap (145.67 mg EAC/ 100 g) con mayor cantidad de fenoles expresados en equivalentes de ácido gálico por 100g de muestra y la menor la muestra Acp (92.64 mg EAC/ 100 g) con menor cantidad de fenoles.

Conocer la actividad antioxidante de la pitahaya es muy importante ya que nos permite conocer la

cantidad y calidad de los antioxidantes en esta fruta colectada en la región.

El rango de contenidos de protoantocianidinas estuvo 53.2 a 34.05 expresados en mg EC/g de muestra siendo la muestra Acp la que presentó mayor cantidad y la muestra Ep la cantidad más baja.

Los valores para fenoles totales y taninos son mayores a los que previamente reportaron otros autores no obstante, esto puede deberse a las diferencias en la preparación de los extractos así como a los solventes utilizados en la preparación de los mimos. [11] En el caso de taninos algunos autores reportan como ausentes estos compuestos en pitahaya roja en extractos metanólicos. [12]

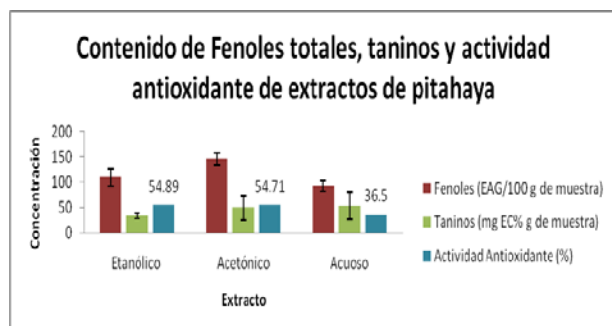


Figura 1. Contenido de Fenoles totales, taninos y actividad antioxidante de extractos de pitahaya *H. undatus*

CONCLUSIONES

Basado en estos resultados podemos decir que el extracto etanólico de la pitahaya *H. undatus* presenta un potencial fitoquímico ya que contiene presencia de metabolitos secundarios con actividad antioxidante. Además presentó un alto contenido en fenoles totales y protoantocianidinas. Lo que la destaca como una fuente potencial de antioxidantes naturales con los consecuentes beneficios a la salud.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a la Universidad de Guanajuato por proporcionarnos la beca de verano y por la oportunidad de participar en el mismo. A la Dra. M. Isabel García Vieyra por darme la oportunidad de

participar en este proyecto, que además del aprendizaje adquirido reafirmó mis ganas de trabajar en la investigación, de igual forma, por la paciencia y conocimientos compartidos.

REFERENCIAS

- [1] Figueroa R, Tamayo J, Gonzales S, Moreno G, Vargas L. Actividad antioxidante de antocianinas presentes en cáscara de pitahaya (*Hylocereus undatus*). Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha, REDALYC, 2011; 12(1):44 – 50
- [2] Cuellar C, Anzola V. Comparación de la capacidad antioxidante del arazá (*Eugenia stipitata* Mc vaugh) durante la maduración. Vitae, REDALYC, 2012; 19(1):385 – 387
- [3] Hinojosa, J., Gutiérrez, M., Siller, F., Rodríguez, A., Morales, J. A., Guerrero, P. J. & Del Toro, C. L. (2012). Screening fitoquímico y capacidad antiinflamatoria de hojas de *Tilthonia tubaeformis*. Revista de Ciencias Biológicas y de la Salud, 15(2), 53-60.
- [4] Figueroa R., Tamayo J., González S., Moreno G. & Vargas L. (2011). Actividad antioxidante de antocianinas presentes en cáscara de pitahaya (*Hylocereus undatus*). (redalyc, Ed.) *Revista Iberoamericana de Tecnología*, 12 (1), 44-50.
- [5] Ortíz H Y D (1999) Pitahaya. Un Nuevo Cultivo para México. LimusalPN. México. 111 p.
- [6] Lezama E. A., Tapia S. A. E., Muñoz S. G. (2016). SAGARPA. (pp. 35-40) Subsecretaría de Desarrollo Rural, Dirección General de Apoyos para el Desarrollo Rural. Puebla: Ediciones SAGARPA.
- [7] Araya L. H., Clavijo R. C. y Herrera. C. (2006). Capacidad antioxidante de frutas & verduras cultivados en Chile. (O. O. Nutrición, Ed.) *Sociedad Latinoamericana de Nutrición*, 56 (4), 361.
- [8] Chaikhram, P. & Prangthip, P. (2014). Alteration of antioxidative properties of longan flower-honey after high pressure, ultra-sonic and thermal processing. *Food Bioscience*, 10(2015), 1-7.
- [9] Meda, A., Lamien, C. E., Romito, M., Millogo, J. & Nacoulma, O. G. (2005). Determination of the total phenolic, flavonoid and proline contents in Burkina Fasan honey, as well as their radical scavenging activity. *Food Chemistry*, 91(2005), 571-577.
- [10] Tili, N., Mejri, H., Anouer, F., Saadaoui, E., Khaldi, A. & Nasri, N. (2015). Phenolic profile and antioxidant activity of *Capparis spinosa* seedsharvested from different wild habitats Nizar. *Industrial Crops and Products* 76 (2015) 930–935.
- [11] Ya-Lun, S., Lai, K.L., Yu-Rong, B., Huang, Y., Zhen-Y.C. Antioxidant activity of flavonoids isolated from , , 2000;77: 807- 812
- [12] Herbach K, C Maier, F C Stintzing, R Carle (2007) Effects of processing and storage on juice colour and betacyanin stability of purple pitaya (*Hylocereus polyrhizus*) juice. *Eur. Food Res. Technol.* 224:649658.