

---

## ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE Y PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS DE LAS SEMILLAS DE JABUTICABA (*Myrciaria cauliflora* BERG)

### Antioxidant Activity and Profile Fatty Acids of Jabuticaba Seeds (*Myrciaria cauliflora* Berg)

NEUZA JORGE<sup>1</sup>, Professora Adjunta.; BRUNA JORGE BERTANHA<sup>2</sup>, estudiante, DÉBORA MARIA MORENO LUZIA<sup>1</sup>, estudiante.

<sup>1</sup> Departamento de Engenharia e Tecnologia de Alimentos, Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, Universidade Estadual Paulista, São José do Rio Preto-SP, CEP: 15054-000, Tel: 55 17 3221 2257, Fax: 55 17 3221 2299, Brasil.

<sup>2</sup> Departamento de Engenharia de Alimentos, Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga-SP, CEP: 13635-900, Brasil.

Autor de correspondencia: njorge@ibilce.unesp.br

Presentado 30 de septiembre de 2010, aceptado 2 de junio de 2011, correcciones 9 de junio de 2011.

#### RESUMEN

Múltiples compuestos naturales encontrados en frutas, cereales y vegetales presentan actividad antioxidante. Este trabajo tuvo como objetivo caracterizar las semillas de jabuticaba (*Myrciaria cauliflora* Berg) en cuanto a su composición proximal y potencial antioxidante, y evaluar el perfil de ácidos grasos en el aceite extraído de las mismas. Para la obtención del extracto, las semillas deshidratadas y trituradas fueron extraídas con alcohol etílico por 30 minutos, en la proporción de 1:3 de semillas:alcohol etílico, bajo agitación continua, a temperatura ambiente. Seguidamente, la mezcla fue filtrada y el sobrenadante deshidratado a 40 °C con la finalidad de determinar, por pesaje directo, rendimiento en materia seca del extracto. De acuerdo con los resultados obtenidos, las semillas de jabuticaba mostraron ser fuente de carbohidratos totales importante, además presentaron actividad antioxidante relevante. El aceite de jabuticaba presentó porcentaje significativo de ácidos grasos poliinsaturados, con predominancia del ácido linoleico y  $\alpha$ -linolénico, ácidos grasos esenciales.

**Palabras clave:** semillas, aceites comestibles, actividad antioxidante, compuestos fenólicos, DPPH•, frutas.

#### ABSTRACT

Numerous natural compounds found in fruits, grains and vegetables have antioxidant activity. This work aimed to characterize jabuticaba seeds (*Myrciaria cauliflora* Berg) by proximate composition, antioxidant activity and fatty acids profile of their extracted oil. To obtain the extract, the dehydrated and triturated seeds were extracted with ethyl

alcohol for 30 min, at a proportion of 1:3 of seeds:ethyl alcohol, under continuous agitation, at room temperature. Afterwards, the mixture was filtered and the supernatant dehydrated at 40 °C aiming to determine, by direct weighing, the extract's dry matter yield. According to the results, the jabuticaba seeds are an important source of total carbohydrates, and also presented relevant antioxidant activity. In the jabuticaba seeds oil, a significant percentage of polyunsaturated fatty acids stood out, with linoleic and  $\alpha$ -linolenic being the main component, essentials fatty acids.

**Key words:** Seeds, edible oils, antioxidant activity, phenolic compounds, DPPH•, fruits.

## INTRODUCCIÓN

La jabuticaba es nativa de Brasil y se encuentra desde el estado de Pará hasta Rio Grande do Sul, pero em los estados de São Paulo, Rio de Janeiro, Minas Gerais y Espírito Santo se producen los mayores rendimientos. Entre las especies conocidas destacan *Myrciaria cauliflora* (DC) Berg (jabuticaba paulista) y *Myrciaria jabuticaba* (Vell) Berg (jabuticaba Sabará) que producen frutos adecuados tanto para la industria como para consumo in natura debido a sus características (Brunini *et al.*, 2004; Oliveira *et al.*, 2003).

Sus frutos son bayas globulares de hasta 3 cm de diámetro, con cáscara de color rojizo case negro, pulpa blanca mucilaginosa, agridulce, sabrosa, frecuentemente se presenta una sola semilla, pero podrá presentar hasta 4. La jabuticaba presenta en su composición vitamina C con valores medios de 23 mg por 100 g de pulpa y minerales, que se destacan hierro, calcio, fósforo y potasio (Oliveira *et al.*, 2003). En el fruto completamente desarrollado, los hidratos de carbono más abundantes en la pulpa son azúcares solubles, lo que indica el potencial de su uso industrial (Magalhães, 1991).

La jabuticaba puede ser consumida in natura o en mermeladas. La pulpa cuando fermentada produce licor, vino y vinagre. La cáscara es adstringente, útil contra diarrea e irritaciones de piel. También es indicada en medicina popular como antiasmática, en inflamación intestinal y hemoptisis (Lima *et al.*, 2008).

En la fabricación de jaleas de fruta, normalmente las cáscaras y semillas son separadas, lo que representa aproximadamente el 50% de la fruta. Un mejor uso de estas fracciones agregaría más valor a esta fruta, tomando como ejemplo, la uva que tiene aceite muy apreciado en industria alimenticia y cosmética, extraído de sus pequeñas semillas. Las cáscaras ricas en pigmentos podrían ser empleadas en la industria alimenticia como colorante. Pocos estudios se encuentran en la literatura sobre los constituyentes químicos, sobretudo los compuestos bioactivos, principalmente en relación a las fracciones de la fruta (Pereira *et al.*, 2000; Oliveira *et al.*, 2003).

Numerosos compuestos naturales encontrados en frutas, cereales y vegetales presentan actividad antioxidante. Entre los más importantes antioxidantes naturales están los compuestos fenólicos (flavonoides, ácidos fenólicos y taninos), compuestos nitrogenados (alcaloides, aminoácidos, péptidos, aminas y derivados de clorofila), carotenoides, tocoferoles y ácido ascórbico (Amarowicz *et al.*, 2004). Los compuestos fenólicos son antioxidantes primarios que actúan como terminales para los radicales libres (White y Xing, 1996).

Estudios clínicos y epidemiológicos han mostrado evidencia de que antioxidantes fenólicos de cereales, frutas y vegetales son los principales factores que contribuyen en

la disminución de la incidencia de enfermedades crónicas y degenerativas encontradas en poblaciones, cuyas dietas son altas en el consumo de estos alimentos (Shahidi, 1996). De esta forma, la importancia de la investigación por antioxidantes naturales ha aumentado significativamente en los últimos años.

Las semillas de frutas no han recibido mucha atención como fuente de antioxidantes naturales, debido a la falta de popularidad y de aplicación industrial de las mismas. Tales circunstancias explican la importancia de la utilización eficiente de semillas, una vez que el aprovechamiento de la especie fructífera *Myrciaria cauliflora* Berg puede constituir una actividad económica bastante provisor, dada la excelente calidad de sus frutos y sus diversas utilidades.

El presente estudio tuvo como objeto principal caracterizar semillas de jabuticaba en cuanto a su composición proximal, determinar su potencial antioxidante y evaluar el perfil de ácidos grasos en el aceite extraído de las mismas.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### MUESTRAS

Los frutos de jabuticaba fueron recolectados en octubre de 2008, debido a que en esta época se produce su maduración, siendo provenientes de la región de Frutal/MG. Las semillas fueron retiradas manualmente de los frutos y lavadas ligeramente con agua destilada para remover residuos de pulpas y azúcares solubles y después fueron seleccionadas y colocadas en estufa a 35 °C durante 48 horas, para reducir su contenido de humedad. Después, las semillas fueron homogeneizadas para análisis posteriores por triplicado.

### OBTENCIÓN DEL EXTRACTO DE LAS SEMILLAS

Para la obtención del extracto de jabuticaba, las semillas fueron trituradas y extraídas con alcohol etílico por 30 minutos, en proporción de 1:3 de semillas:alcohol etílico, bajo agitación continua, a temperatura ambiente. Luego, la mezcla fue filtrada y el sobrenadante deshidratado en rotavapor bajo presión reducida a 40 °C para determinar, por pesaje directo, el rendimiento en materia seca del extracto.

### DETERMINACIÓN DE LA COMPOSICIÓN PROXIMAL

Las determinaciones analíticas de humedad, materia grasa y cenizas en las semillas se realizaron de acuerdo con métodos estándares (AOCS, 1998). Las proteínas fueron determinadas mediante el método Kjeldahl descrito por AOAC, 1995, y los carbohidratos totales se cuantificaron por diferencia del valor obtenido de la sumatoria de humedad, materia grasa, proteína y cenizas.

### MEDIDA DE LA CAPACIDAD DE SECUESTRAR RADICALES LIBRES (DPPH•)

Este procedimiento fue descrito por Brand-Williams *et al.*, 1995. Se preparó una solución etanólica de 500 µg/mL de concentración de extracto de semillas de jabuticaba (solución madre), a partir de la cual se obtuvieron soluciones de 5, 10, 25, 50, 125 y 250 µg/mL. Una alícuota de cada una de estas soluciones (0,3 mL) fue adicionada de 2,7 mL de solución de 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH•) (40 µg/mL). Después de 30 min, la absorbancia fue leída a 515 nm y convertida en porcentaje de actividad antioxidante (AA)

por medio de la siguiente ecuación:  $AA(\%) = 100 - \left\{ \frac{(Abs_{muestra} - Abs_{blanco}) \times 100}{Abs_{control}} \right\}$   
Un control fue hecho con 2,7 mL de DPPH• y un blanco fue realizado con 0,3 mL de solución etanólica del extracto y 2,7 mL de etanol, para cada concentración.

#### COMPUESTOS FENÓLICOS TOTALES

La cuantificación de compuestos fenólicos totales fue determinada por espectrofotometría, por medio del reactivo de Folin-Ciocalteu, según la metodología descrita por Singleton y Rossi, 1965. En este procedimiento, se dispensaron 100 µL de la solución de extracto natural en tubos de ensayo y se agregaron 500 µL del reactivo Folin-Ciocalteu. Luego, se agregaron 1,5 mL de solución saturada de carbonato de sodio 20% y 6 mL de agua destilada.

Esta mezcla se mantuvo en reposo por 2 horas a temperatura ambiente, y la absorbancia fue determinada a 765 nm. Para realizar la curva estándar se utilizó ácido gálico y el resultado fue expresado en miligramos de equivalentes de ácido gálico por gramo de extracto (mg/g).

#### PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS POR CROMATOGRAFÍA GASEOSA

Los ésteres metílicos de ácidos grasos presentes en los aceites fueron obtenidos mediante el método descrito por Hartman y Lago, 1973. Para el análisis cromatográfico de ácidos grasos se utilizó un cromatógrafo de gases marca Varian (Walnut Creek, USA), modelo GC 3900, equipado con detector de ionización de llama, inyector y muestreador automático. Los compuestos fueron separados en una columna capilar de sílica fundida CP-Sil 88 de 50 m de largo, con diámetro interno de 0,25 mm y espesor de película de 0,20 mm.

La programación de temperatura de la columna fue iniciada a 50 °C por 2 min, seguida por un calentamiento con una elevación de temperatura de 4 °C/min. hasta 240 °C y mantenida en isoterma durante 20,5 min. Las temperaturas utilizadas en el inyector y en el detector fueron 230 y 250 °C, respectivamente. Las muestras inyectadas fueron de 1 mL de volumen, adoptándose la relación de 1:30. El gas portador fue hidrógeno con un caudal de 30 mL/min.

Los ácidos grasos fueron identificados por comparación con los tiempos de retención de estándares puros de ésteres metílicos de ácidos grasos con los tiempos correspondientes de los componentes separados de las muestras y la cuantificación fue hecha por normalización del área (%). Se utilizó como estándar una mezcla compuesta de 37 ésteres metílicos de ácidos grasos (Supelco, Bellefonte, USA), de C4:0 a C24:1, con pureza entre 99,1 y 99,9%.

### RESULTADOS

En la tabla 1 se presentan las medias ± desviación estándar de la composición proximal de las semillas de jabuticaba. De acuerdo con los resultados obtenidos, las semillas presentaron elevado contenido de carbohidratos totales (81,68%). Se observaron bajos porcentajes de materia grasa (0,55%) y proteína (5,66%), mientras que su cantidad de cenizas fue de 3,20%.

Componentes	Media
Humedad	8,91 ± 0,07
Materia grasa	0,55 ± 0,07
Proteínas	5,66 ± 0,24
Cenizas	3,20 ± 0,33
Carbohidratos totales	81,68

Tabla 1. Composición proximal de las semillas, en porcentaje. Media ± desviación estándar (n = 3).

La tabla 2 presenta rendimiento porcentual, porcentaje máximo de actividad antioxidante ( $AA_{m\acute{a}xima}$ ), valor de  $EC_{50}$  ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) y contenido de compuestos fenólicos totales (mg/g) del extracto de semillas de jabuticaba. La tabla 3 presenta los ácidos grasos identificados por cromatografía de gases, presentes en la materia grasa de las semillas de jabuticaba. El perfil de ácidos grasos muestra valores importantes para los ácidos linoleico (37,01%), oleico (13,67%) y palmítico (28,02%). La cantidad total de ácidos grasos insaturados fue de 61,98%, de los cuales 16,11% son ácidos monoinsaturados y 45,87% ácidos poliinsaturados, siendo el ácido linoleico el principal componente.

Determinaciones	Extracto de semillas
Rendimiento (%)	11,48
$AA_{m\acute{a}xima}$ (%)	91,13
$EC_{50}$ ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	190,20
Compuestos fenólicos totales (mg/g)*	91,56

Tabla 2. Determinaciones de rendimiento, actividad antioxidante ( $AA_{m\acute{a}xima}$ ) y compuestos fenólicos totales del extracto de las semillas.  $EC_{50}$  es definido como la concentración suficiente para obtener 50% del efecto máximo, estimado en 100%. \*mg de equivalentes de ácido gálico por g de extracto.

Ácidos grasos	Media
Cáprico (C 10:0)	0,99 ± 0,06
Láurico (C 12:0)	0,33 ± 0,02
Mirístico (C 14:0)	0,58 ± 0,02
Pentadecanóico (C15:0)	0,30 ± 0,02
Palmítico (C 16:0)	28,02 ± 0,02
Palmitoléico (C 16:1)	2,43 ± 0,16
Esteárico (C 18:0)	3,57 ± 0,06
Oleico (C 18:1 n9)	13,67 ± 0,02
Linoleico (C 18:2 n6)	37,01 ± 0,08
Araquídico (C 20:0)	1,46 ± 0,02

Ácidos grasos	Media
$\alpha$ -linolénico (C 18:3 n3)	7,07 ± 0,06
Henecosanóico (C 20:2)	0,62 ± 0,01
Behénico (C 22:0)	2,09 ± 0,07
Lignocérico (C 24:0)	0,70 ± 0,05
Eicosapentaenóico (C20:5 n3)	1,17 ± 0,05
Saturados	38,03 ± 0,09
Monoinsaturados	16,11 ± 0,14
Poliinsaturados	45,87 ± 0,09
Sat/Insat*	1/1,63
Ole/Lin**	1/2,71

Tabla 3. Perfil de ácidos grasos del aceite de las semillas, en porcentaje. \*Relación entre el total de ácidos grasos saturados e insaturados. Media ± desviación estándar (n = 3). \*\*Relación entre el total de ácidos oleico y linoleico.

## DISCUSIÓN

El rendimiento en extracto seco fue de 11,48% en función del solvente utilizado (Tabla 2). Según datos publicados por Fernandes *et al.*, 2002, este porcentaje puede variar en función de la especie del fruto y de la técnica usada para la extracción.

La actividad antioxidante de los compuestos, dada por el valor de  $EC_{50}$ , es calculada a partir de una reducción del 50% de la concentración inicial de DPPH•. Cabe destacar que cuanto menor es el valor de  $EC_{50}$ , mayor la actividad antioxidante del compuesto analizado. El valor de  $EC_{50}$ , obtenido por regresión lineal, para el extracto de semillas, mostró un coeficiente de regresión elevado, que fue  $R^2 = 0,988$ . Los valores de actividad antioxidante máxima y  $EC_{50}$  alcanzados por el extracto de semillas fueron de 91,13% y 190,2 mg/mL, respectivamente (Tabla 2).

La concentración de compuestos fenólicos totales encontrada fue de 91,56 mg de equivalentes de ácido gálico por gramo de extracto de semillas. La extracción de compuestos fenólicos de productos naturales es fuertemente influenciada por el solvente utilizado. Se ha observado que cuanto mayor es la polaridad del solvente de extracción, mayor es la cantidad de compuestos fenólicos extraídos (Gaméz-Meza *et al.*, 1999). Los resultados indican que el extracto etanólico tiene potencial antioxidante y estudios adicionales son necesarios para evaluar esa propiedad y su aplicación en los alimentos. Entre los ácidos grasos saturados, el ácido palmítico (C16:0) fue predominante en el aceite de jabuticaba, seguido por el ácido esteárico (C18:0). Este resultado es consistente con el hecho de que el ácido palmítico es el ácido graso saturado más abundante en lípidos vegetales, mientras que el ácido esteárico es menos común. Aunque los ácidos araquídico (C20:0) y behénico (C22:0) se han encontrado, las concentraciones fueron bajas, 1,46 y 2,09%, respectivamente (Tabla 3).

La calidad y digestibilidad de los aceites vegetales comestibles son determinadas por la cantidad y composición de ácidos grasos insaturados. La presencia de ácido linoleico en contenidos adecuados es fundamental, ya que se trata de un ácido graso esencial. Cuanto mayor es la cantidad de ácido linoleico en relación al oleico, mejor es la calidad del aceite vegetal para evitar la formación del colesterol LDL (El-Adawy y Taha, 2001). En el aceite de cacahuete Borges *et al.*, 2007 encontraron una relación entre ácidos grasos saturados e insaturados de 1/2,8, indicando que este aceite puede ser utilizado en frituras, por cuanto la estabilidad oxidativa está relacionada a la cantidad de ácidos grasos insaturados.

En cuanto al ácido graso linolénico (C18:3 n-3), el aceite de semillas de jabuticaba mostraron porcentaje de 7,07%. Teniendo en cuenta el porcentaje de este ácido graso en los aceites más comunes como girasol (0,3%), maíz (2%) y soja (4,5-11%; Codex Alimentarius Commission, 2008), el aceite de semillas de jabuticaba presenta considerable cantidad de este ácido graso.

De acuerdo con la tabla 3, el aceite de semillas de jabuticaba presentó una relación ácido oleico/linoleico (Ole/Lin) de 1/2,71, similar al valor encontrado por El-Adawy y Taha, 2001, para el aceite de semillas de abóbora (1/2,73).

Las semillas de jabuticaba mostraron ser una importante fuente de carbohidratos totales, pudiendo ser aprovechadas como producto alimenticio destinado a consumo humano. El extracto de las semillas mostró una además actividad antioxidante rele-

vante. El aceite presentó porcentaje significativa de ácidos grasos insaturados, con predominancia del ácido linoleico y  $\alpha$ -linolénico, ácidos grasos esenciales.

### AGRADECIMIENTOS

A la Fundación de Apoyo a la Investigación de São Paulo – FAPESP, por la concesión de beca de Doctorado y Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq, por la beca de Productividad en Investigación.

### BIBLIOGRAFÍA

- AMAROWICZ R, PEGG RB, RAHIMI-MOGHADDAM P, BARL B, WEIL JA. Free Radical Scavenging Capacity and Antioxidant Activity of Selected Plant Species from the Canadian Prairies. *Food Chem.* 2004;84(4):551-562.
- AOAC. Official and Tentative Methods of the AOAC International. Maryland; 1995.
- AOCS. Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society. Champaign, AOCS; 1998.
- BORGES SV, MAIA MCA, GOMES RCM, CAVALCANTI NB. Chemical Composition of Umbu (*Spondias Tuberosa* Arr. Cam) Seeds. *Quím Nova.* 2007;30:49-52.
- BRAND-WILLIAMS W, CUVELIER ME, BERSET C. Use of a free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. *Lebensm Wiss Technol.* 1995;28(1):25-30.
- BRUNINI MA, OLIVEIRA AL, SALANDINI CAR. Influência de Embalagens e Temperatura no Armazenamento de Jabuticaba (*Vell Berg*) cv Sabará. *Cienc. Tecnol. Aliment.* 2004;24:378-383.
- CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION. Codex-Stan 210: Codex Standard for Named Vegetable Oils. Rome; 2008.
- EL-ADAWY TA, TAHA KM. Characteristics and Composition of Different Seed Oils and Flours. *Food Chem.* 2001;74:47-54.
- FERNANDES JB, DAVID V, FACCHINI PH, SILVA MF, FILHO ER, VIEIRA PC *et al.* Extrações de Óleos de Sementes de Citros e suas Atividades sobre a Formiga Cortadeira *Atta sexdens* e seu Fungo Simbionte. *Quím Nova.* 2002;25:1091-1095.
- GAMÉZ-MEZA N, NORIEGA-RODRÍGUEZ JA, MEDINA-JUÁREZ LA, ORTEGA-GARCÍA J, CÁZAREZ-CASANOVA R, ANGULO-GUERRERO O. Antioxidant Activity in Soybean Oil of Extracts from Thompson Grape Bagasse. *J Am Oil Chem Soc.* 1999;76:1445-1447.
- HARTMAN L, LAGO RC. A. Rapid Preparation of Fat Acids Methyl Esters. *Laboratory and Practy;* 1973;22:475-476.
- LIMA AJB, CORRÊA AD, ALVES APC, ABREU CMP, DANTAS-BARROS AM. Caracterização Química do Fruto Jabuticaba (*Myrciaria cauliflora* Berg) e de Suas Frações. *Arch Latinoam Nutr.* 2008;58(4):416-421.
- MAGALHÃES MM. Desenvolvimento e carboidratos constituintes do fruto de jabuticaba (*Myrciaria jabuticaba* Berg cv Sabará) [dissertação]. Universidade Federal de Viçosa; 1991.
- OLIVEIRA AL, BRUNINI MA, SALANDINI CAR, BAZZO FR. Caracterização

Tecnológica de Jabuticabas Sabará Provenientes de Diferentes Regiões de Cultivo. Rev Bras Frutic. 2003;25:397-400.

PEREIRA MCT, SALOMÃO LCC, MOTA WF, VIEIRA G. Atributos Físicos e Químicos de Frutos de Oito Clones de Jabuticabeiras. Rev Bras Frutic. 2000; 22:16-21.

SHAHIDI F. Natural Antioxidants: an Overview. En: Shahidi, F, editor. Natural Antioxidants: Chemistry, Health Effects and Applications. Champaign: AOCS Press; 1996. p. 1-11.

SINGLETON VL, ROSSI JRJA. Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. Am J Enol Vitic. 1965;16(3):144-158.

WHITE PJ, XING Y. Antioxidants From Cereals and Legumes. En: Shahidi, F, editor. Natural Antioxidants Chemistry, Health Effects and Applications. Champaign: AOCS Press; 1996. p. 25-55.