

EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DEL NONI (*Morinda citrifolia* L.) EN TRES ESTADOS DE MADUREZ EN TINGO MARIA

ANTIOXIDANT ACTIVITY EVALUATION OF NONI (*Morinda citrifolia* L.) FROM THREE MATURITY STAGES HARVESTED IN TINGO MARIA

Joel P. Sullón Vargas^{a,b,c}, Elizabeth S. Ordóñez Gómez^a, Johan G. Vela Romero^{a,b}, Manuel Sandoval Chacón^b

RESUMEN

En la actualidad existe mucho interés por la búsqueda de antioxidantes de fuentes naturales incluyendo el noni (*Morinda citrifolia* L.). Su consumo es promocionado debido a sus propiedades funcionales que posee. El objetivo fue determinar el contenido de ácido ascórbico, polifenoles totales y actividad antioxidante del jugo de noni en tres estados de madurez: pintón, maduro y sobre maduro. Los antioxidantes analizados fueron: ácido ascórbico y polifenoles totales. La actividad antioxidante se midió utilizando los métodos: DPPH, ABTS^{o+} y Peroxilo. Los resultados indican que el fruto en estado maduro tuvo el mayor contenido de ácido ascórbico 253±1,9mgAA/100ml; y polifenoles totales 232±6,8 mg de catequina/100ml de jugo de noni. Para el radical DPPH se encontró como mejor tratamiento en el estado maduro IC₅₀ 149,5±0,6ug/ml; en el método del catión ABTS^{o+} se encontró que el estado de madurez pintón ejerció mayor efecto sobre la capacidad antioxidante IC₅₀ 145,5±0,6ug/ml y este mismo estado de madurez fue el mejor en el radical peroxilo IC₅₀ 106,1±2,0ug/ml. En consecuencia, el consumidor dispone de un fruto rico en antioxidantes, que podrían ayudar a aliviar problemas de salud asociados a estrés oxidativo y enfermedades crónicas.

Palabras clave: Noni, Acido ascórbico, Polifenoles totales, Antioxidantes, Radicales libres.

ABSTRACT

There is a lot of interest to find antioxidants from natural resources, especially fruits that grow well in the Peruvian Amazon such as noni (*Morinda citrifolia* L.). This fruit is being used by the nutraceutical industry because of its functional properties. However, its antioxidant capacity has not being fully investigated. The purpose of this study was to determine the content of ascorbic acid, total polyphenols and antioxidant activity of noni juice under three maturity stages: unripe, ripe and over-ripe. Ascorbic acid and total polyphenols were determined by spectrophotometry. The antioxidant activity was quantified using the DPPH, ABTS^{o+} and peroxy methods. Result from the ripe noni had the highest content of ascorbic acid 253±1,9mgAA/100ml) and total polyphenols 23±6,8mg de catechin/100ml. DPPH results showed that the best treatment was ripe noni IC₅₀ 149,5±0,6ug/ml. However, unripe noni provided best results for ABTS^{o+} (IC₅₀ 145,5±0,6ug/ml) and peroxy inhibition (IC₅₀ 106,1±2,0ug/ml). Collectively, our results demonstrated that a juice prepared with unripe and ripe noni could significant amounts of natural antioxidants and help alleviate oxidative stress and chronic inflammation.

Key words: Noni, Ascorbic acid, Total polyphenols, Antioxidants, Free radicals.

INTRODUCCIÓN

Existen evidencias que el jugo de noni puede ayudar favorablemente a combatir algunas enfermedades. Los compuestos polifenólicos, ácido ascórbico entre otros son atribuidos principalmente a su actividad antioxidante. Las controversias sobre el momento de cosecha donde se aproveche mejor sus propiedades funcionales nos motivo a realizar estudios en tres estados de madurez: pintón, maduro y sobre maduro para determinar el contenido de ácido ascórbico, polifenoles totales y su actividad antioxidante mediante radicales sintéticos como: DPPH, ABTS^{o+} y Peroxilo. Los resultados demuestran que el noni en estado maduro contiene mayor contenido de ácido ascórbico y polifenoles totales, mientras que la actividad antioxidante frente al radical ABTS^{o+} y Peroxilo fue mejor en el fruto pintón y solo el fruto maduro fue mejor en la inhibición del radical DPPH. Se cree que hay otro tipo de compuestos no estudiados aquí que contribuyen de

manera significativa con el potencial antioxidante en los frutos pintones.

MATERIALES Y METODOS

El presente trabajo se realizó en el Centro de Investigaciones de Productos Naturales de la Amazonía (CIPNA) de la Universidad Nacional Agraria de la Selva (UNAS), ubicado en la ciudad de Tingo María, Provincia de Leoncio Prado, Departamento de Huánuco.

Material biológico. Los frutos de noni (*Morinda citrifolia* L.) fueron estudiados en estados de madurez pintón, maduro y sobre maduro, estas se obtuvieron del Fundo "Granjas Asociadas" ubicado a 2 Km. de la localidad de Aucayacu, Distrito de José Crespo y Castillo, Provincia de Leoncio Prado. La edad promedio de las plantas fue de 2 años. Las muestras fueron sometidas a una reducción de tamaño por cada estado de madurez, obteniéndose el

^a Facultad de Ingeniería en Industrias Alimentarias, Universidad Nacional Agraria de la Selva (UNAS), Tingo Maria - Perú

^b Centro de Investigaciones de Productos Naturales de la Amazonía (CIPNA), Universidad Nacional Agraria de la Selva, Tingo Maria – Perú

^c joelsullon@hotmail.com

jugo con un extractor. Posteriormente fueron diluidas con etanol al 96% en una concentración de 300 mg/ml. Seguidamente se colocaron en microtubos 1.5ml y fueron centrifugados a 10,000 rpm/5 min a 20°C, a partir de esta muestra se prepararon concentraciones de 100, 30 y 10 mg/ml.

Materiales y equipos. Espectrofotómetro, desionizador, balanza analítica, baño maria, centrifuga, extractor, micropipetas, gradillas, tips, cubetas.

Reactivos. 2,6 Dichloroindophenol Sodium Salt Hydrate – DFIF, L(+)-ácido ascórbico QP, (+)-catequin, Solución de fenol folin-ciocalteu, 1,1 diphenyl-2-picrilhydrazyl (DPPH); 2,2-azobis (2- amidopropano)hidrocloride (ABAP); 2,2-azino-bis (3-ethyl-benzthiazoline-6-acido sulfónico) (ABTS); metanol (96% pureza), agua desionizada.

Métodos analíticos. La cuantificación de ácido ascórbico se realizó por el método de espectrofotometría [4]. Para los polifenoles totales se utilizó el método Folin-Ciocalteu [11]. La capacidad de Inhibición del radical 1,1 diphenyl-2-picrilhydrazyl (DPPH) se evaluó mediante el método descrito por [1], Modificado por [11]. La capacidad de inhibir el catión 2,2-azinobis (3-etilbenzotiazoline – 6 ácido sulfónico) (ABTS^{o+}), se evaluó mediante el método descrito por [9]. Y para evaluar la capacidad del radical peroxilo se empleó el método descrito por [11].

Metodología experimental. El ácido ascórbico fue evaluado con el espectrofotómetro a 515 nm, haciendo reaccionar 100µl de la muestra con 900µl de 2,6 diclorofenolindofenol y los resultados se expresaron en mg de AA/100ml de jugo. Los polifenoles totales se determinó a 700 nm y los resultados fueron expresado en mg de catequina/100ml de jugo. Para la evaluación del radical DPPH se hizo reaccionar 25µl de muestra con 975µl de DPPH y las lecturas se realizaron a 515 nm; para el catión ABTS^{o+} la reacción fue de 10µl de muestra y 990µl del ABTS^{o+} a 734 nm; la lectura del radical peroxilo se realizó a 414 nm, haciendo reaccionar 10µl de muestra y 990µl del radical. La evaluación de los tres radicales fue medida cada 30 seg/5 min. Los resultados se expresaron en IC₅₀ (ug/ml) y fueron analizados mediante el modelo estadístico Diseño Completo al Azar (D.C.A), sometidos al programa estadístico SAS y la prueba de Tukey (p<0,05).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Cuantificación de ácido ascórbico en el jugo de noni en tres estados de madurez.

El ácido ascórbico es considerado como uno de los antioxidantes naturales y juega un papel vital en la síntesis del colágeno y en la protección contra las lesiones producidas por los radicales libres. En el Cuadro 1 se observa los datos del contenido de ácido ascórbico en el jugo de noni en diferentes estados de madurez, después del análisis estadístico se determinó, que los estados de madurez influyen en el contenido de ácido ascórbico, encontrándose el mayor contenido de ésta en el fruto maduro con 252, 975±1,87 mg de AA/100 ml de jugo.

Cuadro 1. Contenido de ácido ascórbico en el jugo de noni.

Estado de madurez	mg. AA*/100 ml Jugo
Pintón	224,376±0,41 ^b
Maduro	252,975±1,87 ^a
Sobre maduro	219,575±0,28 ^b

(*) AA= ácido ascórbico

Para los estados de madurez pintón y sobre maduro no existió diferencia estadística significativa, 224,376±0,41 mg de AA/100ml; y 219,575±0,28 mg de AA/100ml de jugo de noni respectivamente. Esto puede deberse a lo reportado por [2] quien indica que los cambios en la tasa respiratoria son acompañados de cambios químicos y bioquímicos en el fruto, de los cuales se han presentado cambios en el contenido de azúcares, almidón, acidez y vitaminas. La disminución en los niveles de ácido ascórbico después de la maduración y el almacenamiento es fácilmente cuantificable, esto está asociada a la tasa respiratoria en la que se generan especies reactivas de oxígeno (EROS). En este panorama, las enzimas como ascorbato peroxidasa y ascorbato reductasa, juegan un papel importante al usar el ácido ascórbico como sustrato [12]. Otros autores reportan para la guayaba 111.93 y 160 mgAA/100g de la parte comestible [5], y para el limón 80 mgAA/100g [13], con estos datos se puede indicar que el noni en estado maduro fue mejor y el consumo de 50g de este fruto puede cubrir el requerimiento mínimo diario de ácido ascórbico que es 60mg [12].

Cuantificación de polifenoles totales en el jugo de noni en tres estados de madurez.

En el Cuadro 2 se presenta los resultados del contenido de polifenoles totales en el jugo de noni en los tres estados de madurez, analizando estadísticamente se encontró que el mejor fue el fruto maduro con 232,413±6,76 mg de catequina/100ml de jugo, seguido por el pintón con 224,243±7,32 mg de catequina/100ml de jugo.

Cuadro 2. Contenido de polifenoles totales en el jugo de noni.

Estado de madurez	mg de catequina/100 ml Jugo
Pintón	224,243±7,32 ^a
Maduro	232,413±6,76 ^a
Sobre maduro	173,510±4,26 ^b

Este comportamiento se puede atribuir al proceso de maduración del fruto ya que una vez iniciada la madurez, la presencia del etileno conocido como una hormona de maduración provoca cambios en la composición de los frutos, por lo que en frutos maduros la presencia del etileno favorece un aumento en la concentración polifenólica [8]. Por el contrario en el noni sobre maduro el contenido de polifenoles fue 173,510±4,26 mg de catequina/100ml de jugo; si comparamos nuestros resultados con [7] este reporta 133 mg/100g en pulpa de noni pero no especifica el estado de madurez, así mismo [12] reporta 120mg catequina/100g (BH) de pulpa de arazá (*Eugenia stipitata Mc Vaugh*), entonces vemos que la fruta madura de noni fue mejor.

Inhibición del radical 1,1 diphenyl-2-picrilhydrazyl (DPPH).

Los resultados de la prueba de DPPH fueron expresados en IC₅₀ (ug/ml) para los diferentes estados de madurez: pintón, maduro y sobre maduro como se muestra en el Cuadro 3 los valores encontrados fueron analizados estadísticamente, determinando que el mejor tratamiento fue para el estado maduro con IC₅₀ de 149,475±0,55 ug/ml. Se dice que los frutos que tienen el valor de IC₅₀ menor tienen mayor actividad antioxidante; el mismo autor realizó una comparación de IC₅₀ en frutos tropicales e indica que el noni está entre las 11 mejores en actividad antioxidante [7].

Cuadro 3. Inhibición de radicales libres de DPPH (IC₅₀) en el jugo de noni.

Estado de madurez	IC ₅₀ (µg/ml)
Pintón	154,819±1,76 ^b
Maduro	149,475±0,55 ^a
Sobre maduro	200,321±1,43 ^c

Se cree que durante la maduración podrían generarse productos de condensación o incremento en algunos compuestos fenólicos que aportan mayor actividad antioxidante [12]. En el estado de madurez pintón el IC₅₀ del jugo de noni fue 154,819±1,76 ug/ml y para el sobre maduro IC₅₀ 200,321±1,43 ug/ml, el cual determina que un fruto para ser cosechado y consumido tiene que haber alcanzado su madurez fisiológica y comercial, en cambio los frutos sobre maduros son aquellos en los que la madurez organoléptica no es gustativa ni olfativa y señala que es el final desarrollo de la fruta y comienza la senescencia y ordinariamente es un proceso irreversible [3]. Si vemos los valores de IC₅₀ del noni con otros frutos tenemos que este es mejor que el agua de coco de la variedad verde con 1 – 10 % de albumen con IC₅₀ 252±3,6 mg/100ml [10] y la fresa con IC₅₀ 132,8 mg/100g [6].

Inhibición del catión 2,2-azino bis (3-etilbenzotiazoline – 6 ácido sulfónico) (ABTS^{o+}).

Los resultados de la evaluación de la capacidad secuestrante del catión ABTS^{o+} se observa en el Cuadro 4. Comparando los promedios de los tratamientos mediante la prueba de Tukey (p < 0,05) se encontró que el fruto en estado de madurez pintón ejerció mayor efecto sobre la capacidad de inhibir el catión ABTS^{o+} IC₅₀ 145,490±0,58 ug/ml.

Cuadro 4. Determinación del IC₅₀ del radical ABTS^{o+} en el jugo de noni.

Estado de madurez	IC ₅₀ (µg/ml)
Pintón	145,490±0,58 ^a
Maduro	186,961±1,22 ^b
Sobre maduro.	191,311±1,22 ^c

Comparando con la prueba de DPPH el que tuvo mejor IC₅₀ correspondió al estado de madurez maduro, esto puede ser explicado con lo reportado por [6], quien indica que ambos métodos presentan una excelente estabilidad en ciertas condiciones, aunque también muestran diferencias. El DPPH es un radical libre que puede obtenerse directamente sin una preparación previa, mientras que el ABTS^{o+} tiene que ser generado tras una reacción que puede ser química (dióxido de manganeso,

persulfato de potasio, ABAP), ó enzimática, además se puede medir la actividad de compuestos de naturaleza hidrofílica y lipofílica, mientras que el DPPH solo puede disolverse en medio orgánico. Asimismo, en los frutos pintones se encuentra un marcado sabor astringente y que se reduce en la maduración, los taninos que se localizan en los vasos de látex y sus células adyacentes tanto en la pulpa como en la cáscara ofrecen una mayor actividad antioxidante. Por otro lado la actividad antioxidante disminuye con el estado maduro IC₅₀ 186,961±1,22ug/ml y sobre maduro IC₅₀ 191,311±1,22ug/ml. Comparado los resultados obtenidos con la fresa IC₅₀ 202,5±0,5 mg/100g y uva IC₅₀ 161,5±3,3 mg/100g [6], el noni es mejor.

Capacidad de inhibición del radical peroxilo.

El Cuadro 5 presenta los resultados del coeficiente de inhibición del radical peroxilo, analizados estadísticamente se determinó como el mejor al fruto de noni en estado de madurez pintón con IC₅₀ 106,065±1,98ug/ml; esto es corroborado con lo que reporta [15] quien indica que los frutos no maduros guardan como reserva muchos componentes y que durante el periodo de maduración la actividad metabólica se incrementa, provocando cambios organolépticos y físico químicos.

Cuadro 5. Determinación del IC₅₀ del radical peroxilo en el jugo de noni.

Estado de madurez	IC ₅₀ (µg/ml)
Pintón	106.065±1,98 ^a
Maduro	114.774±1,03 ^b
Sobre maduro.	132.124±0,74 ^c

Así mismo en las frutas maduras y sobre maduras el coeficiente de inhibición del radical peroxilo fueron: IC₅₀ 114,774±1,03ug/ml y IC₅₀ 132,124±0,74ug/ml respectivamente; esto puede deberse al proceso de maduración de las frutas porque hay un aumento progresivo en la concentración de sólidos solubles, descenso de la acidez y compuestos aromáticos. Llevando a la comparación los resultados encontrados [14] determinó en la cáscara pintón de camu camu (*Myrciaria dubia HBK*) un IC₅₀ 8,30±0,85ug/ml; el mismo autor indica que la maca tiene un IC₅₀ 430ug/ml.; esto nos indica que el noni es un fruto con buena actividad antioxidante, siendo menor que la cáscara pintón de camu camu pero superior a la maca.

CONCLUSIONES

El mayor contenido de ácido ascórbico en el jugo de noni en estado maduro fue 252, 975±1,87mgAA/100ml y polifenoles totales 232,413±6,76 mg de catequina/100ml. La mejor capacidad antioxidante del DPPH fue en el estado maduro IC₅₀ 149,475±0,55ug/ml., mientras que el estado de madurez pintón fue mejor para el catión ABTS^{o+} IC₅₀ 145,490±0,58ug/ml y radical peroxilo IC₅₀ 106,065±1,98ug/ml.

AGRADECIMIENTOS

Al Centro de Investigaciones de Productos Naturales de la Amazonía (CIPNA) de la Universidad Nacional Agraria de la Selva, a la Dra. Elizabeth Ordóñez Gómez y PhD. Manuel Sandoval Chacón por su asesoramiento en la

investigación, al Dr. Tomás Menacho Mallqui por su apoyo en la revisión, a Johan Vela Romero con quien compartimos mucho tiempo en el laboratorio, a mi esposa

la Ing. Ching Lig Flores Gastelú y familia, a mi madre, hermanos y amigos.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- [1]. Brand-Williams, W.; Cuvelier, M. y Berset, C. 1995. Laboratoire de Chimie des Substances Naturelles. Departament Science de Aliment. Use of a Free Radical Method to evaluate antioxidant activity. ENSIA 1. Vol. 28 N° 1. p 25 – 30.
- [2]. Briceño, S.; Zambrano, J.; Materano, W.; Quintero, I. y Valera, A. 2005. Agronomía Trop. Consejo de Desarrollo Científico, Humanístico y Tecnológico de la Universidad de Los Andes (UCLA). Calidad de los Frutos de Mango 'Bocado', Madurados en la Planta y Fuera de la Planta Cosechados en Madurez Fisiológica. Venezuela. 55(4): p 461-473.
- [3]. FAO/OMS. 1984. Manuales para el Control de Calidad de los Alimentos: Poscosecha de Frutas y Hortalizas. Roma. Italia. 161 p.
- [4]. Hung, CH-Y. y Yen, G-CH. 2002. J. Agric. Food Chem. Antioxidant Activity of Phenolic Compounds Isolated from *Mesona Procumbens* Hemsl. P: A-E.
- [5]. Instituto Nacional De Nutrición. 2001. Ministerio de Salud y Desarrollo Social. Dirección Técnica. División de Investigación de Alimentos. Tabla de Composición de Alimentos para uso Práctico. Publicación N° 54. Serie Cuadernos Azules. Revisión 1999. 1ª reimpresión. Caracas, Venezuela. P 13 – 58, 59 – 61.
- [6]. Kuskoski, M.; Asuero, A.; Troncoso, A.; Mancini-Filho, J. y Fett, R. 2005. Ciencia y Tecnología de Alimentos. Campinas. Aplicación de Diversos Métodos Químicos para Determinar Actividad Antioxidante en Pulpa de Frutos. 25 (4): p 726 – 732.
- [7]. Murillo, E. 2006. Alfa Editores Técnicos. Universidad de Panamá, Instituto de Alimentación y Nutrición (IANUT). Actividad Antioxidante "In Vitro" de las bebidas de frutas. p 20 – 27.
- [8]. Park, Y.; Jung, S.; Kang, S.; Drzewiecki, J.; Namiesnik, J. y Haruenkit, R. 2006. International Journal of Food Science and Nutrition. *In vitro* Studies of Polyphenols, antioxidants and Other Dietary Indices in Kiwifruit (*Actinidia deliciosa*) 57: 107-22.
- [9]. Pelligrini, N.; Re, R.; Yang, M. y Rice-Evans, C. 1999. Screening of Dietary Carotenoids and Carotenoid-Rich Fruit Extracts of Antioxidant Activities Applying 2,2-Azinobis (3-Ethylenebenzothiazoline-6-sulfonic acid) Radical Cation Decolorization Assay. Methods in Enzymology. 299: p 379 – 391.
- [10]. Reátegui, D. 2003. Facultad de Ingeniera en Industrias Alimentarias. Universidad Nacional Agraria de la Selva. Composición Física, Química y Actividad Antioxidante del agua de dos Variedades de Coco (*Cocos lucifera* L.). Tesis para optar el Título de Ingeniero. Tingo María, Perú. 72 p.
- [11]. Sandoval, M.; Okuhama, N.; Ángeles, F.; Melchor, V.; Condezo, L.; Lao, J. y Miller, M. 2001. Food Chemistry. Antioxidant Activity of the Cruciferous Vegetable Maca (*Lepidium meyenii*). Publicación aceptada. 79: 207 - 213.
- [12]. Vargas, A.; Rivera, A. y Narváez, C. 2005. Revista Colombiana de Química. Capacidad Antioxidante Durante la Maduración de Arazá (*Eugenia stipitata* Mc Vaugh). Vol. 34, N° 1. Colombia. p 57 – 65.
- [13]. Vilaplana, M. 2007. OFFARM Ámbito Farmacéutico Nutrición. Antioxidantes Presentes en los Alimentos. Vitamina, Minerales y Suplementos.. Volumen 26. N° 10. p 79 – 86.
- [14]. Villanueva, J. 2003. Facultad de Ingeniera en Industrias Alimentarias. Universidad Nacional Agraria de la Selva. Antocianinas, Acido Ascórbico, Polifenoles Totales y Actividad Antioxidante en la Cáscara de Camu Camu (*Myrciaria dubia* McVaugh H.B.K). Tesis para optar el Título de Ingeniero. Tingo María, Perú. 74 p.
- [15]. Wills, R. 1984. Fisiología y Manipulación de Frutas y Hortalizas post-recolección. Edit. Acribia, S. A. Zaragoza, España. 195 p.

E-mail: msandtm@msn.com