

BENEFICIOS DE LOS ANTIOXIDANTES DE LA FRUTA DE GUAYABA (PSIDIUM GUAJAVA) ROJO Y BLANCO EN LA PREVENCIÓN Y TRATAMIENTO DEL CÁNCER

BENEFITS OF ANTIOXIDANTS THE GUAVA FRUIT (PSIDIUM GUAJAVA) RED AND WHITE IN THE PREVENTION AND TREATMENT OF CANCER

José Yamid Bolaños Cardozo (1), Ulises Pabilón Mejía Rodríguez(2), Ruby Alba Márquez Salcedo (3), Alex Mejía Rodríguez (4) Linda Yorlery Ávila Páez (5)

(1) Médico. Doctorando (C) en Criminalística de la Universidad Privada Wiener, Mg en Calidad y Gestión Integral de la USTA. Docente de la Escuela de Ciencias de la Salud de la Universidad Nacional Abierta y a Distancia. Bogotá Colombia.

(2) Médico. Doctorando (C) en Criminalística de la Universidad Privada Wiener, Master en Medicina Forense de la Universidad de Valencia.

(3) Especialista en Bioquímica Investigación y Docencia de la UPTC.

(4) Interno de Medicina Essalud Lima, Universidad Nacional Jorge Basadre – Tacna.

(5) Estudiante de Tecnología en Regencia de Farmacia de la Universidad Nacional Abierta y a Distancia.

RESUMEN

Introducción: Objetivo: Valorar los beneficios antioxidantes de la fruta de guayaba (Psidium guajava) rojo y blanco. **Material y Métodos:** Se evaluó en laboratorios de la Universidad Nacional de Medellín Colombia las características físicas de la fruta como color, tamaño, apariencia y madurez. Para determinar sus niveles antioxidantes, se realizó el proceso de liofilización en el Centro Nacional de Aprendizaje SENA, en las instalaciones de CAISA. Las muestras se llevaron congeladas y se pusieron en un liofilizador marca FREEZONE 4.5 por el transcurso de 32. Los análisis físico-químicos se realizaron por duplicado siguiendo los métodos oficiales para determinar acidez libre, humedad, cenizas, pH y nitrógeno. **Resultados:** Se trabaja con el método ABTS que permite construir la curva patrón o de referencia utilizando el reactivo de referencia Trolox, empleando soluciones en un rango de concentraciones de 2 a 18 M, por triplicado; y el método DPPH desarrollado por Brand-Williams, que evalúa la capacidad de las muestras para atrapar el radical DPPH, por medio de la variación en la absorbancia leída, luego de 30 minutos de reacción. **Conclusión:** Las terapias antioxidantes basadas en dietas compuestas de frutas ricas en antioxidantes como la guayaba, parecen prevenir o al menos restringir el deterioro funcional del organismo que se origina por un incremento del estrés oxidativo.

Palabras claves: Ácido Ascórbico, Antioxidantes, Flavonoides, Frutas, Polifenoles.

ABSTRACT

Introduction: To assess the red and white antioxidant benefits of guava fruit (Psidium guajava). **Material and Methods:** We evaluated in laboratories of the National University of Colombia Medellin physical characteristics as fruit color, size, appearance and maturity. To determine their antioxidant levels, the lyophilization process was conducted at the National Center for Training SENA in CAISA facilities. Frozen samples were taken and placed in a lyophilizer for brand FREEZONE 4.5 32. During physical-chemical analysis were performed in duplicate following standard methodologies to determine free acidity, moisture, ash, nitrogen and pH. **Results:** We work with the ABTS method to construct the standard curve or using solutions in a reference using the reference reagent Trolox concentration range of 2-18 uM, in triplicate; and DPPH method developed by Brand-Williams, which evaluates the ability of the samples to trap the radical DPPH through variation in the read absorbance after 30 minutes of reaction. **Conclusion:** The antioxidant therapies based on diets composed of antioxidant-rich fruits such as guava, seem to prevent or at least restrict the functional deterioration of the body which is caused by increased oxidative stress.

Keywords: Ascorbic Acid, Antioxidants, Flavonoids, Fruit, Polyphenols.

INTRODUCCIÓN

Algunos autores como Atala, Contreras y Lopera, presentan gran interés en frutas tropicales como la fresa, guayaba, maracuyá, uchuva, entre otras, por sus propiedades antioxidantes (polifenoles y flavonoides). (1,2,3); además, varios estudios epidemiológicos han demostrado que la dieta rica en frutas y verduras se asocia generalmente con una menor incidencia de cáncer de colon (4-6).

Se han descubierto niveles degradados de enzimas antioxidantes en algunos tipos de células tumorales (7), por lo cual la vitamina C (ácido ascórbico) por su carácter hidrosoluble, elimina los radicales libres y actúa como regeneradora de la capacidad antioxidante de la vitamina E (α -tocoferol) teniendo así un efecto anticarcinógeno prometedor (8).

MATERIAL Y METODOS

PARTE EXPERIMENTAL

Localización del área de estudio

La parte experimental de esta investigación se realiza en el periodo comprendido entre septiembre de 2008 hasta mayo de 2009, en los laboratorios de alimentos de la Fesad, laboratorio

de suelos de la facultad de ingeniería y en el laboratorio del Grupo de Química de productos Naturales y de Alimentos de la Universidad Nacional sede Medellín Colombia.

Selección de las muestras

Las muestras se diferenciaron según su color, ya que en este estudio tomamos 500gr de dos variedades de Guayaba (blanca y roja) en sus tres estados de madurez (verde, pintona y madura). Con el fin de encontrar diferencias en su composición química.

EXTRACCIÓN

La extracción se hizo tomando 10g de cada una de las muestras, las cuales se les hizo un proceso de maceración para disminuir el tamaño de las partículas, posteriormente se hicieron extracciones de 30mL hasta alcanzar los 90mL con una solución de etanol – agua 1:1 las cuales se fueron filtrando y agitando continuamente.

CONCENTRACIÓN

La concentración se realizó en un rota evaporador marca BÜTCHI R 205 a 60°C y una presión 220mbar para el etanol y 150mbar para el agua hasta que los extractos se encontraron libres de la presencia de los solventes (etanol-agua).

ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICOS PARA LA CARACTERIZACIÓN.

Los análisis físico-químicos se realizaron por duplicado siguiendo los métodos oficiales para determinar acidez libre, humedad, cenizas, pH y nitrógeno. Las fracciones de guayabas frescas se homogeneizaron y se conservaron congeladas en un envase hermético hasta su análisis. La acidez libre se evaluó en una solución preparada con 2,5 ± 0,1 g de guayaba con 50 mL de agua recién destilada, titulados con una solución de NaOH 0,1 N.

Determinación de la Actividad Antioxidante.

Método ABTS

El radical se genera por una reacción de oxidación del ABTS con persulfato de potasio. En el momento de realizar la prueba esta solución se diluye en buffer fosfato a un pH de 7.4. Se construye la curva patrón o de referencia utilizando el reactivo de referencia Trolox, empleando soluciones en un rango de concentraciones de 2 a 18 M, por triplicado. Se midió la absorbancia a una longitud de onda de 734 nm, después de exponer a la oscuridad por 30 min. Luego en la evaluación de las muestras, éstas se diluyeron en agua destilada.

De la anterior dilución, se tomaron: 10 L muestra y 990 L de la solución de radical ABTS, se agitaron en vortex y se lleva a oscuridad; después de 30 minutos de reacción se mide el cambio en la absorbancia a 734 nm empleando un espectrofotómetro Genesys 10Uv (Termo electrón). Ver figura 1: ABTS.

Figura 1. ABTS.

$$\% \text{ Inhibición} = \left[1 - \left(\frac{\text{Abs muestra} - \text{Abs blanco}}{\text{Abs referencia}} \right) \right] * 100$$

La Actividad Antioxidante de las muestras fue expresada como TEAC (Capacidad Antioxidante equivalente a Trolox), valor que se obtiene por medio de la regresión lineal de la recta, de la curva de referencia, ver figura 2: TEAC.

Figura 2. TEAC.

$$\text{TEAC} = \left(\frac{a * \% \text{ Inhibición} + b}{\text{Concentración de evaluación}} \right) * 1000$$

Método DPPH

La curva de referencia o de calibración, se elaboro preparando soluciones de Trolox en un rango de concentración de 0,01mM a 2 mM, dejando reaccionar con el radical DPPH (21) en oscuridad durante 30 min. Luego se midió la absorbancia a 517nm.

Las muestras de análisis se diluyeron en agua destilada; y se tomaron 10L de cada una y se les adicionó 990 L de solución de radical DPPH, se agitaron vigorosamente y se mantuvo en la oscuridad durante 30 min. Se evaluaron por triplicado a una longitud de onda de 517 nm empleando un espectrofotómetro Genesys 10Uv (Termo Electron), la referencia del reactivo consistió en 10 L de agua destilada y 990 L de DPPH, como Blanco se usó metanol.

RESULTADOS

La caracterización de la pulpa de guayaba se evidencia en la tabla 1. Características Químicas de la pulpa de Guayaba (Psidium guajava) Blanca y Roja.

Tabla 1
Características Químicas de la pulpa de Guayaba (Psidium guajava) Blanca y Roja.

Características de la guayaba	Roja	Blanca
Humedad %	84,3 ± 0,1	84,3 ± 0,1
Sólidos soluble ^g Brix a 20°C)	13,82 ± 0	12,82 ± 0
Cenizas totales %	0,75 ± 0,01	0,70 ± 0,01
pH	4,1 ± 0	4,0 ± 0
Att (g de Ac. cítrico/100 g)	2,48 ± 0,07	2,38 ± 0,07
D pH / DV	1,8	1,8
Ácido ascórbico (mg/100 g)	3,05 ± 0,004	2,85 ± 0,004
Azúcares totales %	11,0 ± 0,3	10,7 ± 0,3
Azúcares reductores %	5,72 ± 0,3	5,54 ± 0,3
Sacarosa (por diferencia) %	5,28	5,18

Fuente: cálculos de los autores

Capacidad Antioxidante en las dos variedades de guayaba y sus tres estados de maduración, por el método: ABTS expresada como M de Trolox/L.

Las muestras de la tabla 2. Características físicas de la pulpa de guayaba (Psidium guajava) presentan los resultados de la actividad antioxidante y se puede observar valores de TEAC por encima del promedio (62.272 μM Trolox/L) los cuales fueron: rosada madura: 92.567 4.63, roja pintona: 67.859 y el resto por debajo del promedio: luego se deduce que las muestra poseen una alta actividad antioxidante posiblemente debido al alto contenido de Vitamina C (ácido ascórbico) que presentaron algunas de ellas.

Tabla 2
Características físicas de la pulpa de guayaba (Psidium guajava)

VARIEDAD	ESTADO DE MADUREZ	TEAC	±
GUAYABA BLANCA	Madura	57,564	2,88
	Pintona	51,176	2,56
GUAYABA ROJA	Verde	49,794	2,49
	Madura	92,567	4,63
	Pintona	67,859	3,39
	Verde	61,418	3,07

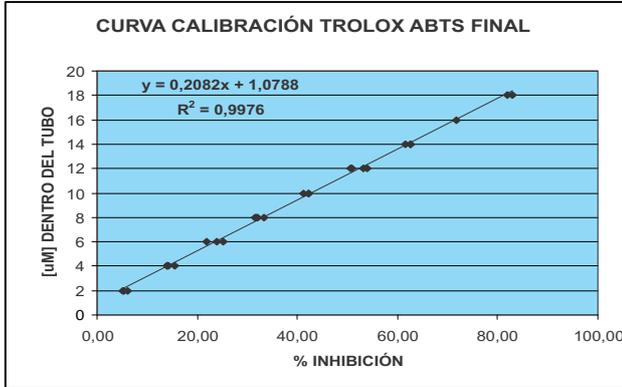
Firmeza	1,87 kg/cm ²
Consistencia (cm / 30 seg)	1,00 ± 0,01

Fuente: cálculos de los autores

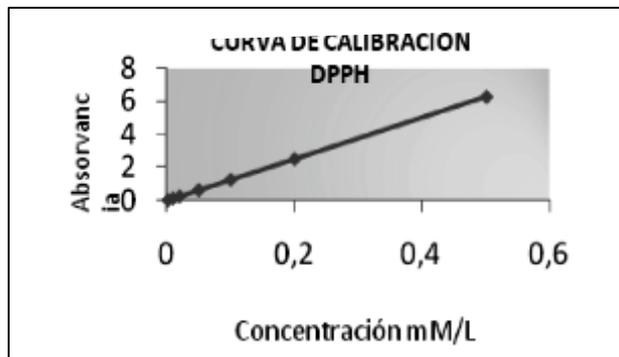
En la tabla 3. Calibraciones ABTS y DPPH con curvas de DPPH; los datos obtenidos fueron representados gráficamente, en las abscisas concentración de muestras ensayadas y patrón Trolox y en las ordenadas el porcentaje de reducción del radical DPPH. La actividad antioxidante se

detalla en la tabla 4. Actividad antioxidante de los extractos etanólicos de guayaba blanca y roja expresados como (M δ).

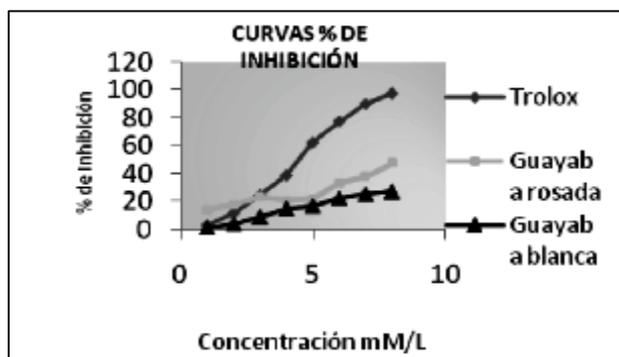
Tabla 3
Calibraciones ABTS y DPPH con curvas de DPPH.
Curva de calibración trolox ABTS.



Curvas de calibración de DPPH.



Curvas de DPPH de las muestras etanólicas de guayaba roja y blanca comparadas con el patrón Trolox.



Fuente: cálculos de los autores

Tabla 4
Actividad antioxidante de los extractos etanólicos de guayaba blanca y roja expresados como (M ± δ)

EXTRACTOS	% DE INHIBICION	µg de Trolox/g de muestra seco
Guayaba roja	11,60 ± 26,98	0,088 ± 0,55
Guayaba blanca	9,60 ± 5,02	0,073 ± 0,65

Se puntualizan los resultados de la investigación de la siguiente manera:

Entre los métodos químicos utilizados para determinar la capacidad antioxidante (captación de radicales libres), el radical ABTS+ es uno de los más rápidos, originando resultados reproducibles y coherentes. Además, el ABTS±± presenta importantes ventajas; muestra varios máximos de absorción y una buena solubilidad, permitiendo el ensayo de compuestos tanto de naturaleza lipofílica como hidrofílica.

La actividad antioxidante de las pulpas “in vitro” depende principalmente y en gran medida a su contenido de compuestos fenólicos y antocianinas monoméricas, así las frutas con mayor contenido de estas sustancias poseen mayor actividad antioxidante.

La evaluación de actividad antioxidante a través del método que utiliza el radical libre 1,1-difenil-2- picrilhidrazilo (DPPH), constituye un procedimiento relativamente sencillo, en el cual es necesario tener presentes algunos cuidados con el manejo de la solución de trabajo, tales como tiempo de conservación, ausencia de humedad y cantidad de luz. Las reacciones llevadas a cabo con el radical libre DPPH muestran no ser termalmente estables, por tanto se pueden realizar a temperatura ambiente, teniendo en cuenta que debe evitarse variaciones climáticas de magnitud considerable.

La concentración de vitamina C (ácido ascórbico), disminuye conforme avanza el proceso de maduración en las frutas, debido a la acción de enzimas y al proceso de transpiración que lo acompañan, por esta razón es necesario estandarizar los reactivos para obtener resultados confiables.

DISCUSIÓN

Un número creciente de sustancias naturales se han identificado como moduladoras del proceso de carcinogénesis; entre ellas se encuentran los flavonoides que han demostrado poseer efectos antimutagénicos y anticarcinogénicos. Diversos datos experimentales han demostrado la acción antiproliferativa y anti- carcinogénica, así como el papel de agente quimiopreventivo de los flavonoides (9-11). Los flavonoides pueden interferir en la carcinogénesis participando en el bloqueo o supresión de diversos procesos (12). Los mecanismos biológicos que han recibido más atención debido a su relación con el proceso de carcinogénesis incluyen, metabolismo del cáncer, reparación del DNA, proliferación de las células, apoptosis, ciclo celular, angiogénesis y metástasis (13). Dos metaanálisis de estudios epidemiológicos (estudios prospectivos y estudios de casos control), concluyen que existe una asociación estadísticamente significativa entre la ingesta de flavonoides y la disminución del riesgo de padecer cáncer (14, 15).

Las terapias antioxidantes basadas en dietas compuestas de frutas ricas en antioxidantes como la guayaba, parecen prevenir o al menos restringir el deterioro funcional del organismo que se origina por un incremento del estrés oxidativo (16 - 22).

Conflicto de intereses

No existe ninguno.

Financiación

Se utilizaron fondos propios de los autores.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Atala, E., L. Vásquez, H. Speisky, E. Lissi y C. López-Alarcón, Ascorbic acid contribution to ORAC values in berry extracts: An evaluation by the ORAC-pyrogallol red methodology, *Food Chemistry*. 2009; 113 (1), 331-335.
2. Contreras - Calderon, J., L. Calderon, E. Guerra y B. Garcia, Antioxidant capacity, phenolic content and vitamin C in pulp, peel and seed from 24 exotic fruits from Colombia, *Food Research International*. 2010; 44 (7), 2047-2053.
3. Lopera, Y.E., Fantinelli, J., González-Arbeláez, L.F., Rojano, B., Ríos, J.L., Schinella, G. y S. Moscam Antioxidant Activity and Cardioprotective Effect of a Non-Alcoholic Extract of Vaccinium meridionale Swartz During Ischemia-Reperfusion in Rat. *Evid Based Compl Alt*. 2013; 1 – 10.
4. Arts IC. A review of the epidemiological evidence on tea, flavonoids, and lung cancer. *J Nutr*. 2008; 138: 1561S-66S.
5. Gates MA, Tworoger SS, Hecht JL, De V, I, Rosner B, Hankinson SE. A prospective study of dietary flavonoid intake and incidence of epithelial ovarian cancer. *Int J Cancer* 2007; 121: 2225-32.
6. Peterson J, Lagiou P, Samoli E, Lagiou A, Katsouyanni K, La Vecchia C, Dwyer J, Trichopoulos D. Flavonoid intake and breast cancer risk: a case-control study in Greece. *Br J Cancer* 2003; 89: 1255-9.
7. Oberley TD, Oberley LW. Antioxidant enzyme levels in cancer. *Histol Histopathol* 1997; 12 (2): 525-535.
8. Block G. Epidemiological evidence regarding vitamin C and cancer. *Am J Clin Nutr* 1991; 54: 1310s-1314s.
9. Hardigree AA y Epler JL: Comparative mutagenesis of plants flavonoids in microbial system. *Mutation Res*, 1978, 58:231.
10. Stacvric B: Quercetin in our diet: From potent mutagen to probable anticarcinogen. *Clinical Biochemistry*, 1994, 27:245-248.
11. Birt DF, Hendrich S y Wang W: Dietary agents in cancer prevention: flavonoids and isoflavonoids. *Pharmacol Ther*, 2001, 90:157-177.
12. Moon YJ, Wang X, Morris ME. Dietary flavonoids: effects on xenobiotic and carcinogen metabolism. *Toxicol In Vitro*. 2006; 20(2):187-210.
13. Knekt P, Jarvinen R, Seppanen R, Hellevoora M, Teppo L, Pukkala E, et al. Dietary flavonoids and the risk of lung cancer and other malignant neoplasms. *Am J Epidemiol*. 1997; 146(3):223-230.
14. Neuhouser ML. Dietary flavonoids and cancer risk: evidence from human population studies. *Nutr Cancer*. 2004; 50(1):1-7.
15. Tang NP, Zhou B, Wang B, Yu RB, Ma J. Flavonoids intake and risk of lung cancer: a meta-analysis. *Jpn J Clin Oncol*. 2009;39(6):352-359.
16. Romero-Alvira D, Villalba MP, Mur M, Cabeza F, Guerrero L, Simail E et al. Importancia de los antioxidantes en la alimentación humana. *Med Clin (Bar)* 1990; 94: 69-75.
17. Peuchant E, Delmas-Beauvieux MC, Dubourg L, Thomas MJ, Perromat A, Aparicio M, Clerc M, Combe C. Antioxidant effects of a supplemented very low protein diet in chronic renal failure. *Free Rad Biol Med* 1997; 22: 313-320.
18. Sanaka T, Nakano Y, Nishimura H, Shinobe M, Higuchi C, Omata M, Nihei H, Sugino N. Therapeutic effect of a newly developed antioxidative agent (OPC-15161) on experimental immune complex nephritis. *Nephron* 1997; 76: 315-322.
19. Ongajooth L, Ongajooth S, Likidilid A, Chantachun Y, Shayakul C, Nilwarangkur S. Role of lipid peroxidation, trace elements and antioxidants enzymes in chronic renal disease patients. *J Med Assoc Thai* 1996; 79: 791-800.
20. Young MR, Young IS, Johnston SR, Rowland BJ. Lipid peroxidation assessment of free radical production following release of obstructive uropathy. *J Urol* 1996; 156: 1828-1832.
21. Van den Braden C, Gabriels M, Vemecq J, Vaneden Houte K, Verbeelen D. Carvedilol protects against glomerulosclerosis in rat remnant kidney without general changes in antioxidant enzyme status. A comparative study of two beta-blocking drugs, carvedilol and propranolol. *Nepron* 1997; 77: 319-324.
22. Lee HS, Jeong JY, Kim YS, Zhang YZ, Chung HK. Dietary antioxidant inhibits lipoprotein oxidation and renal injury in experimental focal segmental glomerulosclerosis. *Kidney Int* 1997;

CORRESPONDENCIA:

José Yamid Bolaños Cardozo

jose.bolanos@unad.edu.co, yamidbolanos@gmail.com

Recibido: 20-01-2015

Aceptado: 30-03-2015