

Comparison of calafate with other native fruits of Chile with biological potential

Comparación de calafate con otros frutos nativos de Chile con potencial biológico

ME. Romero-Román^{1,3*}, MD. López¹, P.S. Fernández², C. García-Viguera³

¹Departamento de Producción Vegetal, Facultad de Agronomía, Universidad de Concepción. Chile.

²Departamento de Ingeniería Agronómica, ETSIA, Universidad Politécnica de Cartagena. Paseo Alfonso XIII, 48, 30203 Cartagena. Murcia. Spain.

³Laboratorio de Fitoquímica y Alimentos Saludables, Departamento de Ciencia y Tecnología de Alimentos, CEBAS-CSIC, Campus Universitario de Espinardo, 25, 30100 Espinardo, Murcia. Spain.

*mariaeugeromero@udec.cl

Abstract

Red fruits from central and southern Chile have great potential in the food industry thanks to their high content of polyphenols, compounds that have been associated with clear benefits for human health. Three native berries were compared: myrtle, murtilla and calafate. The antioxidant capacity was determined in vitro by two methods * DPPH and FRAP and chemical profile by HPLC-DAD. Of the three berries, calafate registered the highest value in terms of total polyphenols and excellent reducing power (11279.2±2027.4 μmol Trolox 100 g⁻¹ FRAP assay and 5235.0±445.9, μmol 100g⁻¹ in DPPH). The anthocyanin chemical profile showed delphinidin, cyanidin, malvidin, petunidin and peonidin in the three berries. These results contribute to highlighting the potential use of these berries as functional foods.

Keywords: red fruits; native; antioxidant capacity; HPLC-DAD.

Resumen

Los frutos rojos del centro y sur de Chile tienen un gran potencial en la industria alimentaria gracias a sus altos contenidos de polifenoles, compuestos que han sido relacionados con claros beneficios en la salud humana. Se comparó tres bayas nativas: arrayan, murtilla y calafate. Se determinó in vitro la capacidad antioxidante por dos métodos *DPPH y FRAP y perfil químico por HPLC-DAD. De los tres berries, calafate registró el valor más alto en cuanto a polifenoles totales y excelente poder reductor (11279,2±2027,4 μmol Trolox 100g⁻¹ ensayo FRAP y 5235,0±445,9, μmol 100g⁻¹ en DPPH). El perfil químico de antocianinas mostró delfinidina, cianidina, malvidina, petunidina y peonidina en los tres berries. Estos resultados contribuyen a confirmar el uso potencial de estos berries como alimentos funcionales.

Palabras clave: frutos rojos; nativos; capacidad antioxidante; HPLC-DAD.

1. INTRODUCCIÓN

Los frutos rojos o “berries” poseen colores característicos que van del rojo al púrpura. Estos llamativos colores son gracias a algunos de los metabolitos secundarios que estas plantas producen como mecanismo de protección frente a estrés abiótico (1). En diversos estudios se ha determinado que estos compuestos pueden ofrecer beneficios claros en la salud humana, ya que

tienen la capacidad de evitar el estrés oxidativo asociado a enfermedades crónicas y degenerativas (2).

Considerando el contenido de compuestos bioactivos, a la presente fecha, la promoción del consumo de frutos rojos es creciente, en especial el consumo de frutos nativos ya que los compuestos químicos que ellos producen, están asociados con la protección frente a enfermedades degenerativas (3), crónicas (4), inflamatorias (5), entre otras. En Chile, existe una amplia diversidad de bayas que crecen bajo distintas condiciones ecológicas (6), sin embargo, algunas como el arrayán (*Luma apiculata*) (7), calafate (*Berberis microphylla* G. Forst) (8) y murtila (*Ugni molinae*) (9), por su condición silvestre o de semi-domesticación, su valor a nivel agronómico y en la industria alimentaria aún está siendo investigado. Con estos antecedentes el presente trabajo busca destacar el potencial de tres berries nativos chilenos del centro y sur de Chile, para promoción de futuros trabajos y generación de alimentos funcionales en relación con los compuestos bioactivos de murtila, arrayán y calafate.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Material vegetal y extracción

Los frutos en estado óptimo de maduración fueron colectados de la zona centro y sur de Chile. arrayán (*Luma apiculata*) de Mulchén, Región de Bio-Bio, murtila (*Ugni molinae*) de Temuco y calafate (*Berberis microphylla* G. Forst) de la región de Aysén y se mantuvieron a -80°C antes de los ensayos. La extracción polifenólica se realizó agua:metanol:ácido fórmico (24:25:1), sonicación por 1 h y 24 h de maceración a temperatura ambiente, una sonicación posterior de 1 h y filtración antes del análisis por cromatografía.

2.2 Características físico-químicas y preparación de extractos

La determinación de las propiedades fisicoquímicas se realizó a partir de frutos elegidos al azar. Se midieron diámetros ecuatorial y polar de 20 berries por especie y el peso en 100 frutos de cada una de las muestras. El pH, sólidos solubles y acidez se obtuvieron a partir de frutos triturados, utilizando el pHmetro digital marca INOLAB serie PH7110 para pH y la medición de sólidos solubles en °Brix utilizando un refractómetro SPER SCIENTIFIC serie 300010. La acidez se determinó por titulación con NaOH 0,1M a partir de 0,5 g de muestra triturada y diluida en 150 mL de agua destilada.

2.3 Identificación y cuantificación de antocianos y capacidad antioxidante

La determinación de los antocianos de los tres frutos nativos de Chile se realizó por HPLC-DAD (HPLC Merck-Hitachi, Darmstadt, Alemania). Se usó malvidina 3-galactósido como estándar a 520 nm. Se realizaron 3 réplicas de cada muestra para posteriormente comparar los resultados mediante un análisis de varianza (ANOVA) con un nivel significativo de $p \leq 0,05$.

El valor de capacidad antioxidante FRAP se obtuvo con 30 μ L de cada extracto, 300 μ L de agua destilada y la adición de 3000 μ L del reactivo FRAP ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 20mM, TPTZ10mM y tampón acetato 0,3 mM) incubados a 37°C durante 30 min y medidos a 595 nm de absorbancia en el espectrofotómetro UV/vis Thermo Scientific. Los resultados se enunciaron como μ mol trolox 100 g^{-1} de muestra peso fresco. Respecto a la capacidad antioxidante DPPH, se utilizó 100 μ L del extracto y 2,9 mL de la solución DPPH agitados constantemente y posterior incubación en oscuridad durante 1 h. Finalmente se realizó la lectura a 515 nm. Los resultados se expresaron en μ mol trolox 100 g^{-1} de muestra peso fresco.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El pH de los frutos analizados estuvo entre 3,7 y 4,2, siendo murtila la más ácida y arrayán la más alcalina. Respecto a los azúcares totales, calafate presentó valores superiores a respecto a los otros dos frutos (Tabla 1). En cuanto a capacidad antioxidante, (Tabla 2) calafate posee el más

alto poder reductor de radicales libre mediante método FRAP ($11279,2 \pm 2027,4 \mu\text{mol } 100 \text{ g}^{-1}$); similares a reportes de otros investigadores (10). Para el radical DPPH, los mejores resultados se obtuvieron para calafate ($5235,0 \pm 445,9 \mu\text{mol } 100 \text{ g}^{-1}$) seguido por arrayan ($4401,7 \pm 493,9$).

En el presente estudio para los tres frutos nativos chilenos mediante HPLC-DAD se identificaron 9 antocianinas a partir de extractos, todas ellas variantes glucosiladas de cianidina, delphinidina, malvidina, peonidina, petunidina y pelargonidina. Estos resultados son similares a los reportados en otras investigaciones donde se menciona que los compuestos predominantes en todos los frutos rojos comestibles son malvidina-3-glucósido, cumarato de malvidina-3-glucósido y la delphinidina-3-glucósido (11,12) y se destaca este último presente en calafate (Fig. 1) que se encuentra en mayor cantidad respecto a las otras bayas (8).

4. CONCLUSIONES

Calafate (*B. microphylla*) es la baya que mostró los niveles más altos de compuestos polifenólicos y actividad antioxidante por el método FRAP y DPPH seguida de arrayan. Estos frutos ricos en compuestos polifenólicos tienen un futuro prometedor para ser incorporados como ingredientes funcionales, por lo que es meritorio continuar con el estudio de estas bayas.

5. AGRADECIMIENTOS

Gratitud y reconocimiento a FONDECYT, que financia el proyecto 1160899 (CONICYT, Chile) y SENESCYT por la beca de estudios doctorales de ME. Romero-Román. Especial distinción a las Universidades de Concepción, Chile y Politécnica de Cartagena que permitieron la realización de la Tesis de la Doctoranda bajo el régimen de Cotutela.

6. REFERENCIAS

1. Fernandes de Oliveira A, Mercenaro L, Del Caro A, Pretti L, Nieddu G. Distinctive Anthocyanin Accumulation Responses to Temperature and Natural UV Radiation of Two Field-Grown *Vitis vinifera* L. Cultivars. *Molecules*. 2015 Jan 27;20(2):2061–80.
2. Čujić N, Savikin K, Miloradovic Z, Ivanov M, Vajic U-J, Karanovic D, et al. Characterization of dried chokeberry fruit extract and its chronic effects on blood pressure and oxidative stress in spontaneously hypertensive rats. *J Funct Foods*. 2018;44:330–9.
3. Spagnuolo C, Moccia S, Russo GL. Anti-inflammatory effects of flavonoids in neurodegenerative disorders. *Eur J Med Chem*. 2018 Jun 10;153:105–15.
4. Tsuda T. Recent progress in anti-obesity and anti-diabetes effect of berries. *Antioxidants*. 2016;5(2):13.
5. Sarkar D, Shetty K. Metabolic stimulation of plant phenolics for food preservation and health. *Annu Rev Food Sci Technol*. 2014;5:395–413.
6. Romero-Román ME, Schoebitz M, Bastías RM, Fernández PS, García-Viguera C, López-Belchi MD. Native Species Facing Climate Changes: Response of Calafate Berries to Low Temperature and UV Radiation. *Foods*. 2021 Jan 19;10(1).
7. Simirgiotis MJ, Quispe C, Mocan A, Villatoro JM, Areche C, Bórquez J, et al. UHPLC high resolution orbitrap metabolomic fingerprinting of the unique species *Ophryosporus triangularis* Meyen from the Atacama Desert, Northern Chile. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. 2017;27(2):179–87.
8. Lopez MD, Romero ME, Vera B. El calafate. Su industrialización abre nuevas perspectivas. *Indualimentos* [Internet]. 2018 Apr;110. Available from: <http://www.indualimentos.cl/edic.html>
9. Junqueira-Gonçalves MP, Yáñez L, Morales C, Navarro M, A. Contreras R, Zúñiga GE. Isolation and Characterization of Phenolic Compounds and Anthocyanins from Murta (*Ugni molinae* Turcz.) Fruits. Assessment of Antioxidant and Antibacterial Activity. *Molecules*. 2015 Mar 31;20(4):5698–713.
10. Mariangel E, Reyes-Díaz M, Lobos W, Bensch E, Schalchli H, Ibarra P. The antioxidant properties of calafate (*Berberis microphylla*) fruits from four different locations in southern Chile. *Ciencia e investigación agraria*. 2013 Apr;40(1):161–70.

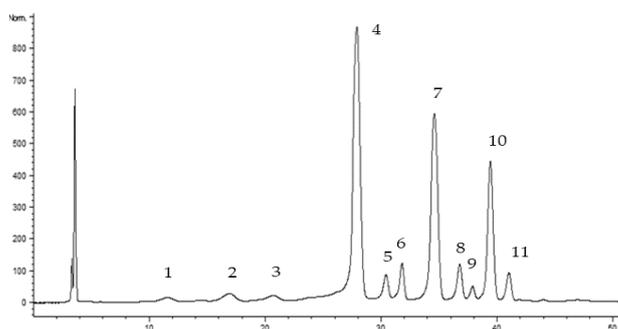
11. Brito A, Areche C, Sepúlveda B, Kennelly EJ, Simirgiotis MJ. Anthocyanin Characterization, Total Phenolic Quantification and Antioxidant Features of Some Chilean Edible Berry Extracts. *Molecules*. 2014 Jul 28;19(8):10936–55.
12. Burin B, Falcao L, Valdemoro L. Color, contenido fenólico y actividad antioxidante del jugo de uva. *Ciênc Tecnol Aliment*. 2010;30(4):1–6.

Tabla 1 Comparación de características fisicoquímicas de calafate (*B. microphylla* G. Forst), murtila (*U. molinae*) y arrayan (*L. apiculata*), del centro y sur de Chile.

Fruta	pH	°Brix	Azúcares Totales (g azúcar/100g)	Peso	Diámetro Ecuatorial	Diámetro Polar
Calafate	3,69±0,06 ^b	27,1±1,7 ^a	13,89±0,45 ^a	11,4±0,6 ^b	10,00±0,67 ^{ab}	7,81±2,48 ^b
Murtilla	3,67±0,04 ^b	13,1±0,6 ^b	8,24±0,57 ^b	12,5±0,6 ^b	9,93±0,61 ^b	8,87±0,47 ^b
Arrayan	4,21±0,08 ^a	9,6±0,4 ^c	5,23±0,46 ^c	20,0±0,4 ^a	12,12±1,68 ^a	12,12±1,51 ^a

Tabla 2. Capacidad antioxidante de calafate (*B. microphylla* G. Forst), murtila (*U. molinae*) y arrayan (*L. apiculata*) por métodos *DPPH y FRAP.

Fruta	DPPH (µmol 100 g ⁻¹)	FRAP (µmol 100 g ⁻¹)
Calafate	5235,0±445,9 ^a	11279,2±2027,4 ^a
Murtilla	2005,8±848,6 ^b	5445,8±316,6 ^b
Arrayan	4401,7±493,9 ^a	2104,2±344,9 ^c



Peak	Antocianos
1	Delfinidina 3,5 -dihexoside
2	Petunidina 3,5 -dihexoside
3	Malvidina 3,5 -dihexoside
4	Delfinidina 3-glucoside
5	Delfinidina 3-rutinoside
6	Cyanidina 3-glucoside
7	Petunidina 3-glucoside
8	Petunidina 3-rutinoside
9	Peonidina 3-glucoside
10	Malvidina 3-glucoside
11	Malvidina 3-rutinoside

Figura 1. Cromatograma HPLC-DAD a 520 nm. Antocianos de calafate.