

## EVALUACIÓN DE LAS PROPIEDADES ANTIOXIDANTES EN CONCENTRADOS DE UVA Y FRUTAS ROJAS

Evaluation of antioxidant properties of grape and berry concentrates

**García Alonso J.<sup>1</sup>, Periago M<sup>a</sup> J.<sup>1</sup>, Vidal Guevara M<sup>a</sup> L.<sup>2</sup> y Cantos E.<sup>3</sup>**

<sup>1</sup> Dpt. Tecnología de Alimentos, Nutrición y Bromatología. Area de Conocimiento de Nutrición y Bromatología. Facultad de Veterinaria, Campus de Espinardo, 30.071 Murcia.

<sup>2</sup> Dpt. de Investigación y Desarrollo. Hero España, S.A. Avd. de Murcia, 1, Alcantarilla, Murcia.

<sup>3</sup> Dpt. Tecnología de los Alimentos. CEBAS-CSIC. Campus de Espinardo, Murcia.

### RESUMEN

En el presente estudio se evaluaron las propiedades antioxidantes de zumos concentrados de uva, frambuesa, zarzamora, cereza y grosella, con el fin de caracterizar sus aptitudes para su empleo como materias primas en la elaboración de alimentos funcionales con alta actividad antioxidante. Para ello se determinaron por HPLC los contenidos en compuestos fenólicos y la actividad antioxidante total (AAT) por los métodos ABTS y FRAP. En lo relativo a los compuestos fenólicos, tanto su presencia como las cantidades medidas fueron variables de unas muestras a otras. En todos los concentrados analizados se identificaron antocianos y flavonoles, los ácidos cinámicos se detectaron en los concentrados de uva, cereza y grosella, mientras que los estilbenos sólo se cuantificaron en el zumo concentrado de uva y los ácidos elágicos en los de frambuesa y zarzamora. Los valores de AAT oscilaron entre 21'42 y 270 mmol de equivalentes Trolox/L, para el método ABTS y entre 62'5 y 385 mmol de equivalentes de Fe (II)/L, para el método FRAP. En ambos métodos la AAT siguió el siguiente orden de mayor a menor: Grosella>cereza>frambuesa>uva>zarzamora. En general, el contenido en compuestos fenólicos y las actividades antioxidantes de los concentrados de frutas rojas fueron muy superiores a las recogidas por diferentes autores para las frutas de origen en fresco y sus derivados. Los resultados obtenidos indican que estos concentrados de frutas pueden ser utilizados como ingredientes para el diseño de productos funcionales con alta actividad antioxidante y con efectos potencialmente beneficiosos para la salud del consumidor.

**Palabras clave:** antioxidantes, compuestos fenólicos, uva, frutas rojas, alimentos funcionales.

## SUMMARY

Antioxidant properties of grape, blackberry, raspberry, cherry and blackcurrant commercial concentrates were evaluated. Levels of the main phenolic compounds were determined by HPLC and total antioxidant activities (TAA) were assessed using two methods, ABTS and FRAP. Phenolic compounds concentrations varied between samples. Anthocyanins and flavonols were identified in all samples analysed, while cinnamic acids were only detected in grape, cherry and blackcurrant concentrates. Stilbenoids were identified only in grape concentrate and ellagic acids only detected in raspberry and blackberry concentrates. TAA ranged between 21.42 and 270 mmol Trolox equivalents/L by the ABTS method and between 62.5 and 383 mmol Fe (II) equivalents/L by the FRAP assay. TAA values, measured by both methods, decreased in the following order: blackcurrant>cherry>raspberry>grape>blackberry. Phenolic compounds levels and total antioxidant activity values were higher than those of fresh fruits and its derivatives reported by several researchers. Data shows that grape and berry concentrates may be used as ingredients for the design of functional foods with high antioxidant activity and potential health benefits.

**Key words:** antioxidants, phenolic compounds, grape, berries, functional foods.

## INTRODUCCIÓN

El metabolismo aeróbico normal de las células, los contaminantes ambientales, las radiaciones, los pesticidas, las aguas contaminadas o el consumo de algunos medicamentos provocan la formación de especies reactivas del oxígeno y radicales libres (Luh, 1998). Un incremento de estas especies en el organismo conduce a un estado de estrés oxidativo en el que se producen lesiones bioquímicas y fisiológicas que pueden perjudicar el metabolismo del individuo, causando daño oxidativo a lípidos, proteínas y ácidos nucleicos, y llevando eventualmente a la muerte celular (Rice-Evans y Miller, 1996; Sattué-Gracia et al. 1997; Heinonen et al. 1998b). El daño oxidativo ha sido implicado en los procesos de envejecimiento (Bunker, 1992) y en la patogénesis de numerosas enfermedades degenerativas, tales como las enfermedades cardiovasculares, el cáncer o las cataratas (Halliwell, 1991; Stohs, 1995).

El cuerpo humano posee diferentes mecanismos de defensa frente a las agresiones oxidativas. Una línea importante de defensa son los sistemas enzimáticos, que incluyen la glutatión peroxidasa, superóxido dismutasa y catalasa, a los que se añade una serie de antioxidantes plasmáticos como el glutatión, ácido úrico, albúmi-

na, bilirrubina y ubiquinol. Otros antioxidantes presentes en el organismo, como son las vitaminas E y C, los carotenoides y los compuestos fenólicos, son aportados en la dieta por lo que sus concentraciones en el cuerpo humano estarán relacionadas con el consumo de frutas y verduras (Shahidi y Nazck, 1995). Diversos estudios epidemiológicos han mostrado que dietas ricas en alimentos vegetales reducen de forma significativa las tasas de mortalidad por enfermedades degenerativas relacionadas con el estrés oxidativo (Ames et al., 1993; Hertog et al., 1997a, b). Este efecto protector se ha atribuido al hecho de que estos alimentos proporcionan al organismo una mezcla óptima de componentes bioactivos, como los compuestos fenólicos y otros antioxidantes naturales (Steinmetz y Potter, 1991a, b; Ames et al., 1993; Cao et al., 1997).

Las frutas rojas y bayas como las fresas, arándanos y zarzamoras son consumidas a nivel mundial en fresco y en forma de productos procesados, tales como zumos, confituras, frutas desecadas, helados, etc (Amakura et al., 2000). Estas frutas constituyen una de las principales fuentes de compuestos fenólicos en nuestra dieta, especialmente ácidos benzoicos y cinámicos, antocianos, flavonoles, catequinas y taninos (Macheix et al., 1990), compuestos que perma-

necen presentes también en los productos elaborados a partir de las mismas (Heinonen et al., 1998a). Las uvas muestran también propiedades similares, destacando su contenido en estilbenos, que son compuestos fenólicos con características antioxidantes, y que se encuentran en la uva fresca y sus derivados (Cantos et al., 2000). La importancia de las propiedades antioxidantes de los alimentos en el mantenimiento de la salud y en la protección frente a enfermedades degenerativas ha despertado el interés de los científicos, fabricantes y consumidores. Por este motivo, uno de los objetivos actuales de la industria alimentaria es la elaboración de alimentos funcionales con efectos específicos sobre la salud del consumidor (Velioglu et al., 1998; Kähkönen et al., 1999; Robards et al., 1999).

El propósito del presente estudio fue la evaluación de las propiedades antioxidantes de varios zumos concentrados de frutas rojas, con la finalidad de establecer sus aptitudes como materias primas para la elaboración de alimentos funcionales con alta capacidad antioxidante.

## MATERIAL Y MÉTODOS

### Material

Se determinaron los compuestos fenólicos y la actividad antioxidante total de zumos concentrados comerciales de uva, frambuesa, zarzamora, cereza y grosella. Todos los análisis se realizaron por triplicado.

### Métodos analíticos

Determinación de compuestos fenólicos:

El análisis se llevó a cabo por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), de acuerdo a las técnicas referenciadas por García-Viguera et al. (1997), Cantos et al. (2000) y Gil et al. (2000). 10 g de muestra se mezclaron con 20 mL de una mezcla de metanol:ácido fórmico (97:3) en un equipo Ultraturax T-25 (Janke and Kunkel, Ika-

Labortechnik), donde se homogeneizaron durante un minuto a 24.000 r.p.m. Los extractos se centrifugaron a 5.000 x g durante 5 minutos, en una centrífuga Centromix (Selecta, Barcelona, España) utilizando un filtro Millipore de 0,45 µm de tamaño de poro, previamente a la inyección de 20 mL en el HPLC. El análisis por HPLC se llevó a cabo en un cromatógrafo líquido L-7100 (Merck-Hitachi, Darmstadt, Alemania), equipado con un detector UV diode-array 7455 de Merck-Hitachi y una columna Licrochart RP-18 (Merck, Darmstadt, Alemania) (25 x 0,4 cm, 5 µm de tamaño de partícula). Como solventes se utilizaron una solución de ácido fórmico al 5% (Solvente A) y metanol para HPLC (Solvente B), con un caudal de 1 mL/minuto. La elución se realizó en gradiente, comenzando con un 2% de solvente B hasta alcanzar un 32% de B a los 30 minutos, un 40% de B a los 40 minutos y un 95% de B a los 50 minutos, pasando entonces a ser isocrático al 98% de B durante 5 minutos. Los cromatogramas se registraron a 510, 360, 320 y 255 nm y los diferentes compuestos fenólicos se identificaron por su espectro ultravioleta registrado con un detector diode-array por comparaciones cromatográficas con los patrones, expresando los resultados en mg/Kg de producto. Los antocianos se cuantificaron a 510 nm como cianidina-3-rutinósido, los flavonoles a 360 nm como quercetina-3-rutinósido, los estilbenos a 320 nm como resveratrol, los derivados del ácido hidroxicinámico a 320 nm como ácido clorogénico y los derivados del ácido elágico a 255 nm como ácido elágico.

Medida de la actividad antioxidante total (AAT):

Las propiedades antioxidantes de los concentrados de frutas fueron evaluadas en función de la capacidad para captar radicales libres y para reducir el hierro férrico a ferroso. Para realizar ambos ensayos fue preciso diluir las muestras con agua destilada.

*Capacidad para captar el radical ABTS:* El ensayo se realizó utilizando un kit comercial de Randox Laboratories Ltd. (Cat. No. NX2332), de acuerdo a la metodología descrita por Miller et al. (1993). La técnica mide la capacidad de los antioxidantes presentes en la muestra para reducir el radical catión  $ABTS^+$ , en comparación con cantidades estándar de Trolox. Para generar el radical, el ABTS (ácido 2, 2'-azino-di-[3-etilbenzotiazolin] sulfónico) se incubaba a 37°C con peroxidasa (metamioglobina) y peróxido de hidrógeno. El radical presenta una coloración verde-azulada relativamente estable que se mide a 600 nm. La presencia de antioxidantes en la muestra provoca una supresión de dicha coloración, que es proporcional a la concentración de antioxidantes presentes en la muestra. Los resultados se expresan como mmol de Eq. Trolox/L.

*Capacidad para reducir el hierro férrico (Ensayo FRAP):* El poder reductor de las muestras de zumos concentrados se determinó aplicando un método manual basado en la técnica descrita por Benzie y Strain (1996). A bajo pH y en presencia de antioxidantes (reductores), la forma férrica del complejo hierro-tripiridiltriazina ( $Fe^{III}$ -TPTZ) se reduce a su forma ferrosa ( $Fe^{II}$ -TPTZ). El complejo reducido posee una coloración azul intensa que presenta su máxima absorción a 593 nm. La aparición del color indicará la capacidad reductora de la muestra, que será proporcional a la concentración de antioxidantes en la misma. El reactivo de trabajo FRAP se preparó en el momento de su utilización mezclando 25 mL de tampón acetato de concentración 300 mM (pH 3'6), 2'5 mL de una solución 10 mM de TPTZ en HCl 40 mM y 2'5 mL de una solución 20 mM de  $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ . El ensayo se realizó del siguiente modo: Se tomó una lectura de blanco a 593 nm con 300  $\mu$ L de reactivo FRAP a 37°C, a los que continuación se añadieron 10  $\mu$ L de muestra y 30  $\mu$ L de agua. Tras incubar la mezcla de reacción a 37°C durante 4 minutos, se midió su absorbancia a 593 nm.

Para la calibración se utilizaron soluciones de  $Fe^{II}$  ( $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ ) de concentración conocida en el rango 0,1-2 mM, expresando los resultados como mmol de Eq.  $Fe(II)/L$ .

### Análisis estadístico

Para el tratamiento de los datos se empleó el paquete estadístico SPSS 10.0 para Windows. Para el estudio de las relaciones existentes entre las distintas variables se aplicó un análisis de correlación de Pearson.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Contenido en compuestos fenólicos en los concentrados de fruta

El contenido total de los diferentes grupos de compuestos fenólicos en los zumos concentrados de frutas se muestra en la Tabla 1. Los niveles de antocianos en estos concentrados de fruta fueron elevados, ya que proceden de materias primas con un intenso color, el cual está relacionado con la concentración de estos pigmentos naturales. El concentrado que presentó el mayor contenido en antocianos fue la grosella, seguido de la uva, frambuesa, zarzamora, y en último lugar la cereza, con valores que oscilaron entre 8.018 y 51.281 mg/Kg, para los concentrados con menor y mayor contenido, respectivamente. Los ácidos cinámicos fueron los compuestos mayoritarios en el concentrado de cereza, donde se observó una concentración media de 52.592 mg/Kg. En el concentrado de uva el contenido en estos compuestos alcanzó los 10.000 mg/Kg, mientras que en el concentrado de grosella se obtuvo una concentración ligeramente superior a 5.000 mg/Kg. Por el contrario, no se detectaron ácidos cinámicos en los concentrados de frambuesa y zarzamora. Los estilbenos sólo se detectaron en el concentrado de uva, al tratarse de compuestos característicos de esta fruta. Los flavonoles se cuantificaron en todos los zumos de frutas rojas, con concentra-

ciones decrecientes de acuerdo al siguiente orden: Cereza > zarzamora > uva > grosella > frambuesa. Por el contrario, los ácidos elágicos sólo se detectaron en los concentrados de frambuesa y zarzamora, con concentraciones significativamente superiores en el concentrado de frambuesa con respecto al concentrado de zarzamora. Estas frutas, junto con la fresa, constituyen las principales fuentes dietéticas de estos compuestos.

*Concentrado de uva:* En la uva madura se hallan bien representadas varias clases de compuestos fenólicos como los ácidos fenólicos, flavonoles y antocianos, que constituyen el grupo de compuestos más abundante en las uvas rojas (Robards et al., 1999). En el concentrado de uva estudiado el análisis por HPLC mostró que los antocianos son los constituyentes mayoritarios, seguidos de los ácidos cinámicos, flavonoles y estilbenos (Tabla 1). El contenido en antocianos totales del concentrado (13.707 mg/Kg de zumo), fue muy superior al de la uva en fresco, que presenta entre 300 y 7.500 mg/Kg de peso fresco y al del vino tinto, que varía entre 240 y 350 mg/L (Clifford, 2000). Los contenidos en ácidos cinámicos, estilbenos totales y flavonoles fueron 10.503, 501 y 2.811 mg/Kg, respectivamente. Estos datos son muy superiores a los descritos por Cantos et al. (2000) en la variedad de uva Napoleón, quienes determinaron las siguientes concentraciones: ácidos cinámicos 3'8 mg/Kg estilbenos totales 2'4 mg/Kg y flavonoles 21'6 mg/Kg.

*Concentrado de frambuesa:* En el concentrado de frambuesa se detectaron tres grupos de compuestos fenólicos, que de acuerdo a su concentración fueron: derivados del ácido elágico, antocianos y flavonoles. El valor medio de la concentración de antocianos (12.164 mg/Kg, Tabla 1) es superior a las concentraciones de estos compuestos en la frambuesa que aparecen recogidas en la bibliografía científica. Así, en frambuesa fresca los contenidos en antocianos

totales reportados por De Ancos et al. (2000) oscilaron entre los 313 y 1.162 mg/Kg, según la variedad de frambuesa analizada. García-Viguera et al. (1998) evaluaron los niveles de antocianos en dos variedades de frambuesa antes y después de la elaboración de confituras, con valores que oscilaron entre 1.060 y 1.826 mg/Kg en la fruta fresca, y entre 883 y 1.083 en la confitura. De Ancos et al. (2000), cuantificaron cantidades de ácido elágico que variaron, según la variedad de frambuesa analizada, entre 207 y 244 mg/Kg. El contenido de flavonoles totales medido por Häkkinen et al. (2000) en frambuesa fue de 9'5 mg/Kg de peso fresco, mientras que el valor determinado por Zafrilla et al. (2001) fue considerablemente mayor, 70 mg/Kg de peso fresco.

*Concentrado de zarzamora:* Al igual que en el anterior, los compuestos más representativos fueron los antocianos, que aparecen como compuestos mayoritarios, seguidos de los derivados del ácido elágico y de los flavonoles. El valor medio de antocianos en nuestra muestra de concentrado de zarzamora (10.452 mg/Kg, Tabla 1), es del orden de 9 veces superior a los medidos por Wang y Lin (2000), en tres variedades de zarzamora. Las concentraciones de ácido elágico y de flavonoles en el concentrado (3.415 y 5.268 mg/Kg, respectivamente, Tabla 1) son muy superiores a los cuantificados por Amakura et al. (2000) en la fruta fresca, quienes mostraron valores de 68'7 y 2'4 mg/Kg para estos dos grupos de compuestos.

*Concentrado de cereza:* En el concentrado de cereza el perfil de compuestos fenólicos estuvo representado mayoritariamente por los ácidos cinámicos, seguido de antocianos y flavonoles. Los niveles de antocianos en cerezas frescas recogidos en la bibliografía son variables y se encuentran por debajo de los cuantificados en el concentrado analizado (8.018 mg/Kg, Tabla 1). Así según Gao y Mazza (1995), los contenidos en antocianos están comprendidos entre 20 y 2.970 mg/Kg según la clase de cereza ana-

**Tabla 1. Contenido en compuestos fenólicos de los concentrados de uva y frutas rojas, expresados en mg/Kg de concentrado<sup>1</sup>**

Compuestos	Concentrado de frutas				
	Uva	Frambuesa	Zarzamora	Cereza	Grosella
Antocianos	13.707 <sup>12</sup> ±7 <sup>20</sup>	12.164 <sup>34</sup> ±4 <sup>77</sup>	10.452 <sup>57</sup> ±5 <sup>08</sup>	8.018 <sup>85</sup> ±6 <sup>11</sup>	51.281 <sup>07</sup> ±30 <sup>14</sup>
Ácidos cinámicos	10.503 <sup>33</sup> ±0 <sup>51</sup>	Nd	Nd	52.592 <sup>10</sup> ±20 <sup>80</sup>	5.116 <sup>30</sup> ±31 <sup>69</sup>
Estilbenos	501 <sup>81</sup> ±1 <sup>81</sup>	Nd	Nd	Nd	Nd
Flavonoles	2.811 <sup>01</sup> ±1 <sup>01</sup>	709 <sup>30</sup> ±2 <sup>13</sup>	5.268 <sup>92</sup> ±12 <sup>54</sup>	5.555 <sup>19</sup> ±13 <sup>20</sup>	2.463 <sup>31</sup> ±16 <sup>74</sup>
Ácidos elágicos	Nd*	13.237 <sup>01</sup> ±5 <sup>60</sup>	3.415 <sup>40</sup> ±7 <sup>91</sup>	Nd	Nd

<sup>1</sup> Media y desviación típica de tres determinaciones

\* Nd: No detectado

lizada, mientras que para Clifford (2000), las variaciones son mayores oscilando entre 20 y 4.500 mg/Kg. En confituras de cereza los niveles oscilaron entre 102 y 295 mg/Kg (García-Viguera et al., 1997). En cuanto al contenido en ácidos cinámicos, Heinonen et al. (1998b) cuantificaron niveles de 234 mg/Kg en la cereza en fresco, los cuales son muy inferiores a los observados en el concentrado comercial de cereza (52.592 mg/Kg, Tabla 1). Las concentraciones de flavonoles totales determinados por estos mismos autores oscilaron entre 15 y 18 mg/Kg (Heinonen et al., 1998b), muy por debajo del valor medio en el concentrado.

*Concentrado de grosella:* El concentrado de grosella se caracterizó por poseer los niveles más altos de antocianos de los zumos concentrados analizados. La concentración media de antocianos en el concentrado de grosella, 51.281 mg/Kg, es entre 5 y 7 veces superior a las cantidades determinadas en la fruta fresca por varios autores. Así, los niveles de antocianos medidos por Kähkönen et al. (2001) en tres variedades de grosella negra estuvieron comprendidos entre 7.560 y 10.640 mg/Kg. Un valor medio inferior (4.100 mg/Kg) fue reportado por Iversen (1999) en la variedad de grosella Ben Lomond. Los niveles medios de ácidos cinámicos del concentrado (5.116 mg/Kg, Tabla 1)

también son elevados en comparación con las concentraciones presentes en la grosella en fresco. Kähkönen et al. (2001) cuantificaron niveles de ácidos cinámicos entre 580 y 790 mg/Kg de peso seco, mientras que Amakura et al. (2000) no detectaron ácidos cinámicos en sus muestras de grosella. Los contenidos de flavonoles totales determinados por diferentes autores se encuentran muy por debajo de los niveles medios de flavonoles del concentrado de grosella, oscilando entre 7<sup>7</sup> y 157 mg/Kg (Häkkinen et al., 1999; Amakura et al., 2000; Häkkinen et al., 2000).

#### **Actividad antioxidante de los zumos concentrados de frutas rojas**

En la Figuras 1 y 2 se muestra gráficamente la actividad antioxidante total (AAT) de los concentrados de uva, frambuesa, cereza, zarzamora y grosella. Los valores de AAT de los concentrados de frutas obtenidos por ambos métodos analíticos se encuentran determinados por el tipo materia prima ensayada, al observar grandes variaciones en la AAT entre las distintas muestras. Además, se encontró una variabilidad en los datos de acuerdo al método utilizado, ya que los valores obtenidos por el ensayo FRAP fueron superiores a los obtenidos por el método del ABTS observando entre ambos métodos una

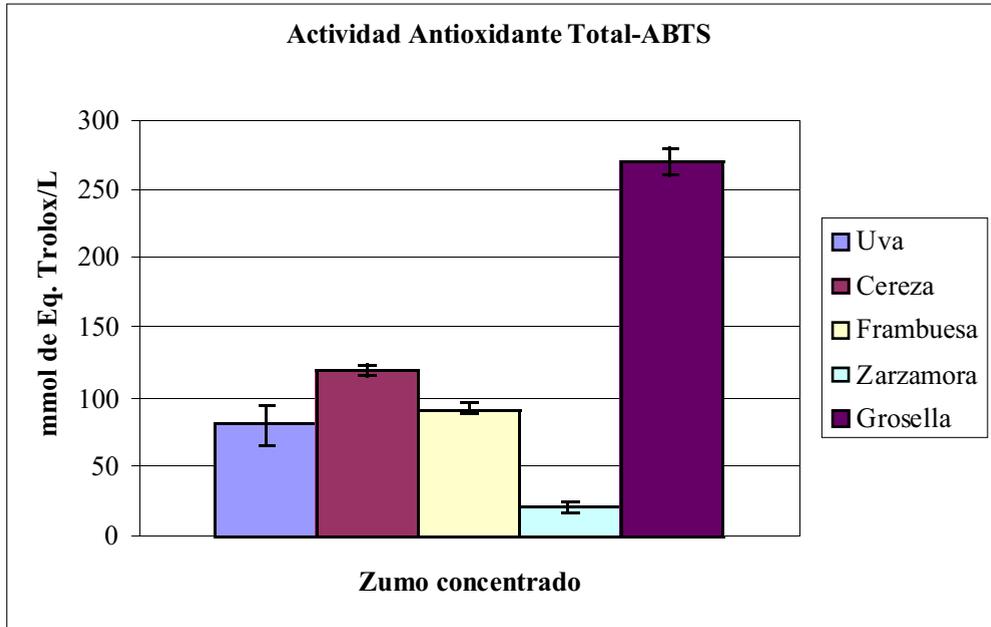


FIGURA 1. Actividad antioxidante total (AAT) de los concentrados de frutas determinada por el método del ABTS.

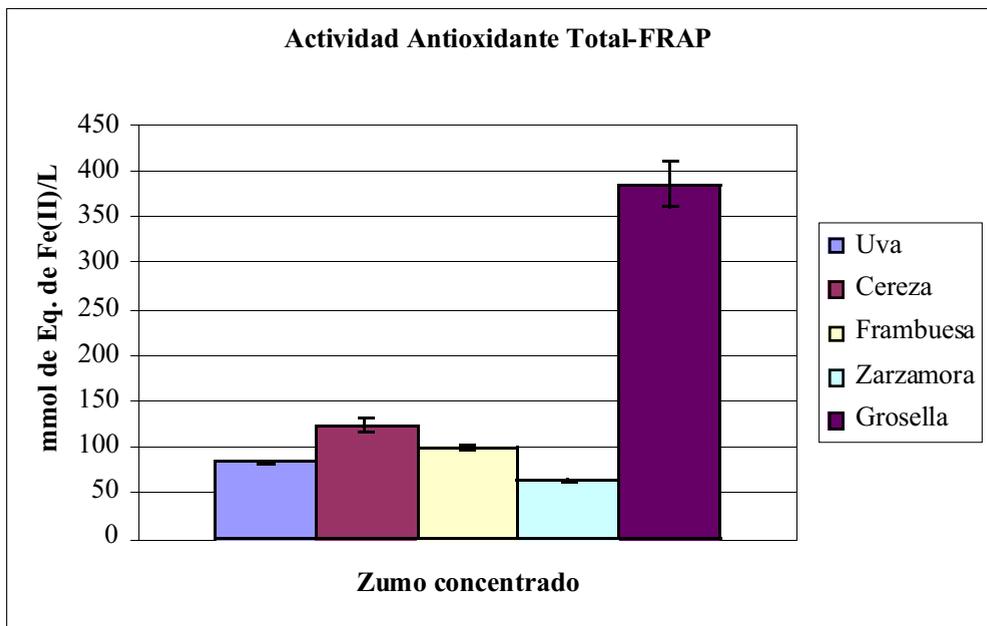


FIGURA 2. Actividad antioxidante total (AAT) de los concentrados de frutas determinada por el ensayo FRAP.

correlación positiva ( $r=0.97$ ;  $p<0.001$ ). Sin embargo, la AAT mostró un patrón similar, decreciendo en el siguiente orden: Grosella>cereza>frambuesa>uva>zarzamora.

La capacidad antioxidante de frutas rojas y productos derivados (zumos, vinos, licores, etc.) se ha evaluado empleando diferentes ensayos y sustratos de oxidación. Los resultados obtenidos por diferentes autores muestran una gran variabilidad, ya que la AAT está influenciada por factores analíticos como el ensayo aplicado, el sustrato de oxidación, la fase en que tiene lugar la reacción (lipofílica o hidrofílica), el método de extracción, etc., y por factores propios de las muestras ensayadas (agronómicos, varietales, tecnológicos etc.).

La AAT de los concentrados osciló entre 21.42 y 270 mmol Eq. Trolox/L en el método ABTS y entre 62.5 y 385 mmol de Eq. Fe (II)/L en el ensayo de FRAP (Figuras 1 y 2). En general, la AAT de los concentrados, es muy superior a la recogida en la literatura científica para estas mismas frutas frescas y sus derivados, hecho asociado al proceso tecnológico de obtención de estos productos. Deighton et al. (2000) evaluaron la actividad antioxidante total en zumos de frutas de varias especies del género *Rubus*, aplicando los métodos ABTS y FRAP. Los valores obtenidos por el método del ABTS estuvieron comprendidos entre 0 y 25.3 mmol de Eq. Trolox/Kg y los correspondientes al ensayo FRAP entre 0.19 y 66 mmol de Eq. Fe (II)/L, poniendo de manifiesto la gran variabilidad interespecífica existente en la actividad antioxidante. En todos los casos el valor numérico obtenido por el método FRAP fue superior al del ABTS, al igual que ocurre en las determinaciones de actividad antioxidante de los concentrados de fruta analizados en el presente estudio (Figuras 1 y 2).

El concentrado de grosella mostró la mayor AAT por ambos métodos alcanzando valores superiores al compararlos con el resto de los zumos. Böhm et al. (2000) determinaron por el método del ABTS la AAT de varios concentra-

dos de frutas y verduras, entre los que se encontraban los concentrados de grosella, uva roja y cereza. Según estos autores el concentrado de grosella presenta una AAT de 313 mmol de Eq. Trolox/Kg, el de uva roja de 344 mmol de Eq. Trolox/Kg y el de cereza de 321 mmol de Eq. Trolox/Kg. Estos valores son superiores a los detectados en nuestras muestras con valores medios de 270, 80, 120 mmol de Eq. Trolox/L, respectivamente. Sin embargo, las diferencias entre el valor de AAT del concentrado de grosella con respecto a los concentrados de uva roja y cereza descritos por Böhm et al. (2000), no fueron tan acentuadas comparadas con las observadas en este estudio (Figuras 1 y 2). Además, para estos autores el concentrado de grosella fue el menos activo de los tres analizados, mientras que entre los distintos zumos concentrados analizados en nuestro estudio el de grosella fue el que presentó la mayor AAT, independientemente del método de evaluación. Otros autores han evaluado la AAT de la grosella en fresco con valores que oscilan entre 60 y 120 mmol de Eq. de Fe (II)/Kg en función de la variedad de *Rubus nigrum* analizada (Moyer et al., 2002).

En nuestro estudio el concentrado de uva roja presentó una menor AAT que la cereza, datos que coinciden con el comportamiento observado por Murcia et al. (2001) al describir estos autores una mayor capacidad de captar el radical hidroxilo por parte de los extractos de cereza fresca que los de uva roja. Sin embargo, otros autores han descrito una mayor actividad en la uva comparada con la cereza, tal y como se ha mencionado anteriormente en el trabajo de Böhm et al. (2000). Un resultado similar fue obtenido por Karakaya et al. (2001) en fruta fresca, al observar en la uva roja una AAT 4 veces superior a la cereza, 6.84 mmol de Eq. Trolox/L y 1.65 mmol de Eq. Trolox/L, respectivamente utilizando igualmente el método del ABTS. En general, está reconocido que las uvas rojas, grosellas y cerezas son frutas capaces de actuar inhibiendo la oxidación de sistemas lipídicos (Meyer et al., 1997; Heinonen et al., 1998b;

Murcia et al., 2001; Kähkönen et al. 2001) y de secuestrar radicales libres y especies reactivas de oxígeno (Wang et al., 1996; Amakura et al., 2000; Wang y Lin, 2000; Murcia et al., 2001).

El concentrado de frambuesa mostró niveles de AAT de 91'17 mmol Eq. Trolox/L y 100'11 mmol de Eq. Fe (II)/L, datos superiores a los descritos para la frambuesa fresca y derivados. Así, la actividad antioxidante del zumo de frambuesa roja (*Rubus idaeus*) de la variedad Glen Lyon, determinada por Deighton et al. (2000), fue de 17'3 mmol de Eq. Trolox/Kg por el método del ABTS, y de 25'6 mmol de Eq. Fe (II)/L por el método FRAP. Según Moyer et al. (2002) la AAT en distintas variedades de frambuesa oscila entre 19'9 y 205'6 mmol Eq. Fe (II)/Kg. Estos valores varían en un amplio margen dentro del cual se incluyen los resultados observados en el concentrado de frambuesa como los resultados proporcionados por Deighton et al. (2000). Queda claro que la AAT de la frambuesa está determinada por la variedad (Deighton et al., 2000; Wang y Jiao, 2000; Moyer et al., 2002), presentando los extractos de esta fruta capacidad para secuestrar las siguientes especies de oxígeno reactivo;  $H_2O_2$ ,  $OH^\cdot$ ,  $O_2^{\cdot-}$ ,  $^1O_2$  (Wang y Jiao, 2000). También muestra capacidad antioxidante en fase lipídica para inhibir la oxidación del metil linoleato (MeLo) (Kähkönen et al. 2001) y de las LDL (Heinonen et al. 1998b).

Para el concentrado de zarzamora la AAT fue de 21'42 mol de Eq. Trolox/L y 62'5 mmol de Eq. Fe (II)/L, destacando por ser la muestra con menor capacidad. Según Moyer et al. (2002) en la zarzamora la capacidad antioxidante oscila entre 71'4 y 97'1 mmol de Eq. Fe (II)/Kg para distintas especies del género *Rubus*, y entre 40'6 y 106'1 mmol de Eq. Fe (II)/Kg para especies híbridas de este mismo género. En este caso la AAT valorada por estos autores es mayor que la encontrada en nuestras muestras, aunque este hecho puede estar ligado a la gran variabilidad que se observa cuando se evalúa esta

característica en las distintas materias vegetales. Al igual que se ha descrito para los otros concentrados de frutas rojas, la actividad antioxidante de esta materia se basa en la inhibición de la oxidación (Heinonen et al., 1998b) y en la capacidad de secuestrar radicales libres y especies reactivas de oxígeno (Wang et al., 1996; Amakura et al., 2000; Wang y Lin, 2000; Wang y Jiao, 2000).

La AAT de los distintos zumos concentrados se ha visto correlacionada con el contenido en compuestos fenólicos y concretamente con el contenido en antocianos, tanto para las determinaciones obtenidas con el método ABTS como para las del ensayo FRAP. Así se observó una correlación positiva y significativa ( $p < 0'01$ ) con los siguientes valores para los coeficientes de correlación: Para el método ABTS y contenido en antocianos  $r=0'90$  y para los resultados del ensayo del FRAP y el contenido en antocianos  $r=0'97$ .

## CONCLUSIÓN

En general, la concentración de los distintos compuestos fenólicos y la actividad antioxidante total en los concentrados de frutas estudiados son superiores a los datos reportados para la fruta fresca o para confituras, lo cual es debido al procesado tecnológico de concentración y a la reducción porcentual del contenido en agua en el producto con respecto a la fruta de partida. Estos concentrados de frutas rojas podrían ser materias primas adecuadas para la elaboración de alimentos funcionales ricos en antioxidantes naturales, cuyo consumo a largo plazo pudiera tener efectos preventivos frente a enfermedades relacionadas con el estrés oxidativo. No obstante, serán necesarios más estudios acerca de las propiedades antioxidantes de productos elaborados con estas materias primas y los efectos de su ingesta sobre las defensas antioxidantes del consumidor.

## AGRADECIMIENTOS

A la Consejería de Agricultura, Agua y Medio Ambiente de la C.A.R.M. por el proyecto AGR/21/FS/02. A HERO España S.A. por la financiación de este proyecto de investigación. Al Departamento de Tecnología de los Alimentos del CEBAS-CSIC por su participación en el desarrollo de los métodos analíticos realizados en el estudio.

## BIBLIOGRAFÍA

- Amakura, Y., Umino, Y., Tsuji, S. y Tonogai, Y. 2000. Influence of jam processing on the radical scavenging activity and phenolic content in berries. *J. Agric. Food Chem.* 48: 6292-6297.
- Ames, B.M., Shigena, M.K. y Hagen, T.M. 1993. Oxidants, antioxidants and the degenerative diseases of aging. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 90: 7915-7922.
- Benzie, I.F.F. y Strain, J.J. 1996. The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of "Antioxidant Power": The FRAP Assay. *Anal. Biochem.* 239: 70-76.
- Böhm, V., Schlesier, R. y Bitsch, R. 2000. Kritische betrachtung der protektiven wirkung von frucht und gemüsekonzentraten. *GIT Labor-Fachz.* 44: 280-282.
- Bunker, W.W. 1992. Free radicals, antioxidants and ageing. *Medical Laboratory Science.* 49: 229-312.
- Cantos, E., García-Viguera, C., De Pascual-Teresa, S. y Tomás-Barberán, F.A. 2000. Effect of postharvest ultraviolet irradiation on resveratrol and other phenolics of Cv. Napoleon table grapes. *J. Agric. Food Chem.* 48: 4606-4612.
- Cao, G., Sofic, E. y Prior, R.L. 1997. Antioxidant and prooxidant behaviour of flavonoids: Structure-activity relationships. *Free Rad. Biol. Med.* 22: 749-760.
- Clifford, M.N. 2000. Anthocyanins: Nature, occurrence and dietary burden. *J. Sci. Food Agric.* 80: 1063-1072.
- De Ancos, B., González, E.M. y Cano, M.P. 2000. Ellagic acid, vitamin C, and total phenolic contents and radical scavenging capacity affected by freezing and frozen storage in raspberry fruit. *J. Agric. Food Chem.* 48: 4565-4570.
- Deighton, N., Brennan, R., Finn, C. y Davies, H.V. 2000. Antioxidant properties of domesticated and wild *Rubus* species. *J. Sci. Food Agric.* 80: 1307-1313.
- Gao, L. y Mazza, G. 1995. Characterization, quantitation and distribution of anthocyanins and colorless phenolics in sweet cherries. *J. Agric. Food Chem.* 43: 343-346.
- García-Viguera, C., Zafrilla, P., Artés, F., Romero, F., Abellán, P. y Tomás-Barberán, F.A. 1998. Colour and anthocyanin stability of red raspberry jam. *J. Sci. Food Agric.* 78: 565-573.
- García-Viguera, C., Zafrilla, P. y Tomás-Barberán, F.A. 1997. Determination of authenticity of fruit jams by HPLC analysis of anthocyanins. *J. Sci. Food Agric.* 73: 207-213.
- Gil, M.I., Tomás-Barberán, F.A., Hess-Pierce, B., Holcroft, D.M. y Kader, A.A. 2000. Antioxidant activity of pomegranate juice and its relationship with phenolic composition and processing. *J. Agric. Food Chem.* 48: 4581-4589.
- Häkkinen, S.H., Kärenlampi, S.O., Mykkänen, H.M. y Törrönen, A.R. 2000. Influence of domestic processing and storage on flavonol contents in berries. *J. Agric. Food Chem.* 47: 2274-2279.
- Häkkinen, S.H., Sirpa, O., Heinonen, M., Mykkänen, H.M. y Torronen, R. 1999. Content of the flavonols quercetin, myricetin and kaempferol in 25 edible berries. *J. Agric. Food Chem.* 48: 2960-2965.
- Halliwell, B. 1991. The biological toxicity of free radicals and other reactive oxygen species. In: Free radicals and food additives. Aruoma, O.I., Halliwell, B. Eds: Taylor & Francis Inc.: PA; pp. 23-27, 47-58.

- Heinonen, I.M., Lehtonen, P.J. y Hopia, A.I. 1998a. Antioxidant activity of berry and fruit wines and liquor. *J. Agric. Food Chem.* 46: 25-31.
- Heinonen, M.I., Meyer, A.S. y Frankel, E.N. 1998b. Antioxidant activity of berry phenolics on human low-density lipoprotein and liposome oxidation. *J. Agric. Food Chem.* 46: 4107-4112.
- Hertog, M.G.L., Sweetnam, P.M., Fehily, A.M., Elwood, P.C. y Kromhout, D. 1997a. Antioxidant flavonols and ischaemic heart disease in a Welsh population of men. The Caerphilly study. *Am. J. Clin. Nutr.* 65: 1489-1494.
- Hertog, M.G.L., Van Poppel, G. y Verhoeven, D. 1997b. Potentially anticarcinogenic secondary metabolites from fruit and vegetables. In: *Phytochemistry of Fruit and Vegetables*. Tomás-Barberán, F.A., Robins, R.J., Eds.; Clarendon Press. Oxford, pp. 313-329.
- Iversen, C.K. 1999. Black currant nectar: Effect of processing and storage on anthocyanin and ascorbic acid content. *J. Food Sci.* 64(1): 37-41.
- Kähkönen, M., Hopia, A.I. y Heinonen, M. 2001. Berry phenolics and their antioxidant activity. *J. Agric. Food Chem.* 49: 4076-4082.
- Kähkönen, M.P., Hopia, A.I., Vuorela, H.J., Rauha, J.P., Pihlaja, K., Kujala, T.S. y Heinonen, M. 1999. Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *J. Agric. Food Chem.* 47: 3954-3962.
- Karakaya, S., El, S.N. y Ta?, A.A. 2001. Antioxidant activity of some foods containing phenolic compounds. *Int. J. Food Sci. Nutr.* 52: 501-508.
- Luh, B.S. 1998. Antioxidants and phenolic phytochemicals in some fruits and wines. *Fruit Process.* 12: 500-504.
- Macheix, J.J., Fleuriet, A. y Billot, J. 1990. *Fruit phenolics*. CRC Press. Boca Raton. FL. USA.
- Meyer, A.S., Yi, O.S., Pearson, D.A., Waterhouse, A.L. y Frankel, E.N. 1997. Inhibition of human low-density lipoprotein oxidation in relation to composition of phenolic antioxidants in grapes (*Vitis vinifera*). *J. Agric. Food Chem.* 45: 1638-1643.
- Miller, N.J., Rice-Evans, C., Davies, M.J., Gopinathan, V. y Milner, A. 1993. A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates. *Clin. Sci.* 84: 407-412.
- Moyer, R.A., Hummer, K.E., Finn, C.E., Frei, B. y Wrolstad, R.E. 2002. Anthocyanins, phenolics and antioxidant capacity in diverse small fruits: *Vaccinium*, *Rubus* and *Ribes*. *J. Agric. Food Chem.* 50: 519-525.
- Murcia, M.A., Jiménez, A.M. y Martínez-Tomé, M. 2001. Evaluation of the antioxidant properties of mediterranean and tropical fruits compared with common food additives. *J. Food Prot.* 64(12): 2073-2046.
- Rice-Evans, C.A. y Miller, N.J. 1996. Antioxidant activities of flavonoids as bioactive components of food. *Biochemical Soc. Trans.* 24: 790-795.
- Robards, K., Prenzler, P.D., Tucker, G., Swatsitang, P. y Glover, W. 1999. Phenolic compounds and their role in oxidative processes in fruits. *Food Chem.* 66: 401-436.
- Satué-Gracia, M-T., Heinonen, M. y Frankel, E.N. 1997. Anthocyanins as antioxidants on human low-density lipoprotein and lecithin liposome system. *J. Agric. Food Chem.* 45: 3362-3367.
- Shahidi, F. y Naczki, M. 1995. *Food phenolics. Sources, chemistry, effects, application*. Technomic Publishing CO. INC eds. Lancaster, Pennsylvania, USA.
- Steinmetz, K.A. y Potter, J.D. 1991a. Vegetables, fruit and cancer. I. Epidemiology. *Cancer Causes Control.* 2: 325-357.
- Steinmetz, K.A. y Potter, J.D. 1991b. Vegetables, fruit and cancer. II. Mechanisms. *Cancer Causes Control.* 2: 427-442.
- Stohs, S.J. 1995. The role of free radicals in toxicity and disease. *J. Basic Clin. Physiol. Pharmacol.* 6: 21-39.

- Velioglu, Y.S., Mazza, G., Gao, L. y Oomah, B.D. 1998. Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables and grain products. *J. Agric. Food Chem.* 46: 4113-4117.
- Wang, H., Cao, G. y Prior, R.L. 1996. Total antioxidant capacity of fruits. *J. Agric. Food Chem.* 44: 701-705.
- Wang, S.Y. y Jiao, H. 2000. Scavenging capacity of berry crops on superoxide radicals, hydrogen peroxide, hydroxyl radicals and singlet oxygen. *J. Agric. Food Chem.* 48: 5677-5684.
- Wang, S.Y. y Lin, H.S. 2000. Antioxidant activity in fruits and leaves of blackberry, raspberry and strawberry varies with cultivar and development stage. *J. Agric. Food Chem.* 48: 140-146.
- Zafrilla, P., Ferreres, F. y Tomás-Barberán, F.A. 2001. Effect of processing and storage on the antioxidant ellagic acid derivatives and flavonoids of red raspberry (*Rubus idaeus*) jams. *J. Agric. Food Chem.* 49(8): 3651-3655.