

Ensayo Biológico de Vitamina C en la Cereza "Antillana"

(*Malpighia punicifolia* L.) (*) (**)

CONRADO F. ASENJO

Departamento de Bioquímica y Nutrición, Escuela de Medicina,
Escuela de Medicina Tropical, Universidad de Puerto Rico,
San Juan, Puerto Rico

INTRODUCCION

En el 1946, Asenjo y Freire de Guzmán (1) descubrieron que la fruta de la "cereza" antillana (*Malpighia punicifolia* L.), conocida también bajo los nombres de acerola y semeruco, y en inglés como "West Indian cherry", "Barbados cherry" y "Surinam cherry", era una fuente muy rica de vitamina C, ya que contiene entre 1 y 3 gramos de dicha vitamina en 100 ml. de jugo. Como esta fruta tiene aproximadamente 70% de jugo, y el arbusto que las produce da de dos a cuatro cosechas por año, la "cereza" antillana resulta ser la fuente natural de vitamina C más rica hasta ahora, conocida por el hombre. El alto contenido de vitamina C en la "cereza" antillana observado por Asenjo y Freire de Guzmán (1) ha sido confirmado por Vieta de Ruiz y colaboradores en Cuba (2), por Mustard en Florida (3), por Jaffé, Budowski y Gorra en Venezuela (4) y por Cravioto y colaboradores en México (5) (6) y también por estudios subsiguientes hechos en nuestro laboratorio (7).

(*) Esta investigación ha sido subvencionada por la Estación Experimental Agrícola de la Universidad de Puerto Rico.

(**) Una nota preliminar sobre esta investigación fué presentada por el autor ante la Convención de la Federación de Asociaciones de Biología (Sec. de Bioquímica) celebrada en Cincinnati, Ohio, E. U., en marzo de 1951 (13).

Munsell y colaboradores (8) (9), sin embargo, encontraron que "cerezas" de procedencia guatemalteca, identificadas botánicamente como *Malpighia glabra* L., contenían muy poca vitamina C. A instancias nuestras se han hecho análisis de dicha fruta en el Instituto de Centro-América y Panamá, el cual está localizado en Guatemala. Ellos confirman los resultados bajos obtenidos por Munsell et al. en las "cerezas" guatemaltecas (10). Existe, sin embargo, alguna duda en cuanto a si la clasificación botánica de la fruta guatemalteca es del todo correcta. Habrá que esperar a que se realicen estudios más detenidos de la taxonomía de esta planta antes de aceptar dichos resultados como definitivos. Si se llegara a establecer que no hay diferencia botánica entre las "cerezas" de Puerto Rico y las de Guatemala, pero que sí existe una diferencia muy grande en el contenido de vitamina C, el asunto constituiría un problema de sumo interés para los fitofisiólogos y horticultores (*).

En un estudio reciente que hemos realizado sobre el contenido de vitamina C en diferentes variedades de "cereza" antillana cultivadas en la Estación Experimental de nuestra Universidad, de 100 árboles diferentes, el fruto de 98 de ellos contenía más de 1.000 mg. de vitamina C por 100 ml. de jugo, aun cuando más de la mitad de las muestras se componían de frutas totalmente maduras. Las dos muestras que estaban por debajo de 1.000 mg. contenían, sin embargo, sobre 700 mg. por 100 ml. de jugo.

Hasta donde nosotros sabemos no se han efectuado ensayos biológicos de vitamina C en la "cereza" antillana. La presente comunicación tiene por objeto el informar varios ensayos biológicos de vitamina C realizados por nosotros en el jugo fresco y enlatado (**) de "cerezas" antillanas cosechadas en Puerto Rico.

(*) La "cereza" que se cultiva en Puerto Rico ha sido clasificada recientemente por varios eminentes botánicos (E. J. Alexander, Jardín Botánico de Nueva York; Prof. Richard E. Howard, Universidad de Harvard; J. I. Otero, Estación Experimental Agrícola, Universidad de Puerto Rico; Dr. Ismael Vélez, Instituto Politécnico de San Germán, P. R.) como la *Malpighia puniceifolia* L. Algunos botánicos en el pasado la han clasificado erróneamente como *M. glabra*. La "cereza" antillana es, por lo tanto, una pseudocereza que no está relacionada con el género *Prunus*.

(**) El jugo enlatado nos lo suministró el señor Ferdinand Sánchez Nieva, jefe del Departamento de Química de la Estación Experimental Agrícola de la Universidad de Puerto Rico, Río Piedras.

CUADRO 1
COMPOSICION DE LA DIETA ESCORBUTOGENICA USADA EN
ESTA INVESTIGACION

Avena integral	50 gramos
Leche destanata en polvo, previamente calentada a 100° C. por 12 horas ...	30 „
Manteca de leche	10 „
Cloruro de sodio	1 „
Levadura de cerveza	8 „
Aceite de hígado de bacalao .. .	1 „

A cada cobayo se le administraron semanalmente, por vía oral, 2 mg. de a-tocoferol.

METODOS

Fueron usados cobayos jóvenes de nuestra colonia y la dieta escorbútica de Sherman, La Mer y Campbell (11) reforzada con 8% de levadura y de 1% de aceite de hígado de bacalao. Además, una vez por semana, los cobayos recibían, por la vía oral, 2 mg. de a-tocoferol (cuadro 1).

Para acostumbrar a los animalitos a la dieta básica se les suministró ésta por un período preliminar de dos semanas conjuntamente con 1 mg. diario de ácido ascórbico sintético. Al finalizar este período preliminar se descartaron todos aquellos animales que se manifestaban reacios a consumir dicha dieta. Los restantes se distribuían, a medida que aprobaban este período de prueba, entre los diferentes grupos que enumeramos en el cuadro 2.

El ensayo preventivo se efectuó por un período de 4 semanas, excepto en el caso del grupo que recibió jugo enlatado, en el cual se limitó el período experimental a sólo 3 semanas. A estos animales se les suministraba diariamente, con excepción de los domingos, las diferentes disoluciones conteniendo vitamina C. Estas disoluciones se administraban oralmente con un gotero graduado.

En los ensayos curativos se dejó que los cobayos perdieran una cantidad considerable de peso antes de empezar a administrar el suplemento.

CUADRO 2

RESULTADOS DE LOS ENSAYOS BIOLÓGICOS CON COBAYOS (4 semanas)

Ensayo	Suplemento	Número de cobayos usados	Peso inicial promedio (gramos)	Ganancia o pérdida en peso promedio durante el ensayo (gramos)	Ración promedio que consumieron durante el ensayo (gramos)	Cobayos que murieron antes de los 28 días
1	Ninguno (testigos negativos)	10	395	-150	286	2
2	1 mg. ácido ascórbico sintético por día.	7	255	+ 36	401	ninguno
3	0,5 mg. ácido ascórbico sintético por día.	7	397	- 9	424	1
4	0,1 ml. de jugo de cereza tropical por día.	6	260	+ 47	456	ninguno
5	0,05 ml. de jugo de cereza tropical por día.	10	305	+ 82	510	ninguno
6	0,1 ml. jugo enlatado de cereza tropical por día.*	5	401	+ 25	358	ninguno

* El ensayo con el jugo enlatado se realizó por un período de sólo tres semanas.

RESULTADOS Y CONCLUSIONES

Ensayos preventivos.—En el cuadro 2 aparecen los resultados obtenidos en estos ensayos. Los testigos negativos perdieron en peso un promedio de 150 gramos durante las cuatro semanas que duró el ensayo. Al hacerse la autopsia de estos animales se observaron algunas hemorragias subcutáneas y lesiones típicas en las costillas. En la generalidad de ellos los dientes estaban tan flojos que se podían arrancar con facilidad. Dos de los testigos negativos murieron durante la última semana del ensayo.

Los animales que recibieron 1 mg. diario de ácido ascórbico sintético como suplemento ganaron un promedio de 36 gramos de peso durante las cuatro semanas. En cambio, los que sólo recibieron 0,5 mg. diarios perdieron 9 gramos y uno de los cobayos perteneciente a este grupo murió antes de finalizarse el período experimental. Estos resultados están de acuerdo con los informados en la literatura en que se considera como la dosis mínima preventiva 0,5 mg. diarios (11).

Los animales que recibieron como suplemento 0,1 ml. y 0,05 ml. de jugo fresco de "cereza" antillana, la ganancia promedio en peso observada fué de 47 y 82 gramos, respectivamente. Ambos grupos ganaron mucho más peso que los testigos positivos, que recibieron 1 mg. de ácido ascórbico diario. Es interesante anotar que el grupo que recibió menor cantidad de jugo ganó mayor cantidad de peso. Esto puede haberse debido a que estos dos grupos no se corrieron al mismo tiempo. Por lo tanto, las "cerezas" que se usaron en la preparación de las disoluciones que se les administraba a los animales no eran exactamente las mismas en ambos casos, aunque sí provenían de una misma cochura compuesta de "cerezas" maduras y pintonas conservadas en una heladora. Es posible, por lo tanto, que las "cerezas" usadas en el ensayo con 0,05 ml. tuvieran un contenido de vitamina C mayor que las usadas en el ensayo anterior, donde se administró 0,1 ml. de jugo diario. Análisis químicos realizados por el método de Roe y Oesterling (12) en siete muestras diferentes de "cerezas" tomadas al azar de esta cochura mantenida en la heladora, indican que aunque todas tenían sobre 1.000 mg. de vitamina C por 100 ml. de jugo, entre algunas muestras había diferencias

de más de setenta por ciento en el contenido de vitamina C (véase cuadro 3).

El jugo enlatado se ensayó por el método preventivo, como se indica en el cuadro 2. Este grupo de cobayos ganaron en las tres semanas que duró la prueba 25 gramos. Si se extrapola este resultado al que se hubiera obtenido en un período de cuatro semanas, estos animales hubieran ganado una cantidad de peso prácticamente igual que los controles positivos que recibieron 1 mg. diario de ácido ascórbico. Se puede afirmar, de acuerdo con el resultado obtenido en este ensayo, que el jugo enlatado usado por nosotros tenía un contenido de vitamina C en la vecindad de 1.000 mg. por 100 ml. El jugo enlatado de esta muestra en particular contenía 1.100 mg. de vitamina C por 100 ml. al ser analizada por el método de Roe y Oesterling (12).

CUADRO 3

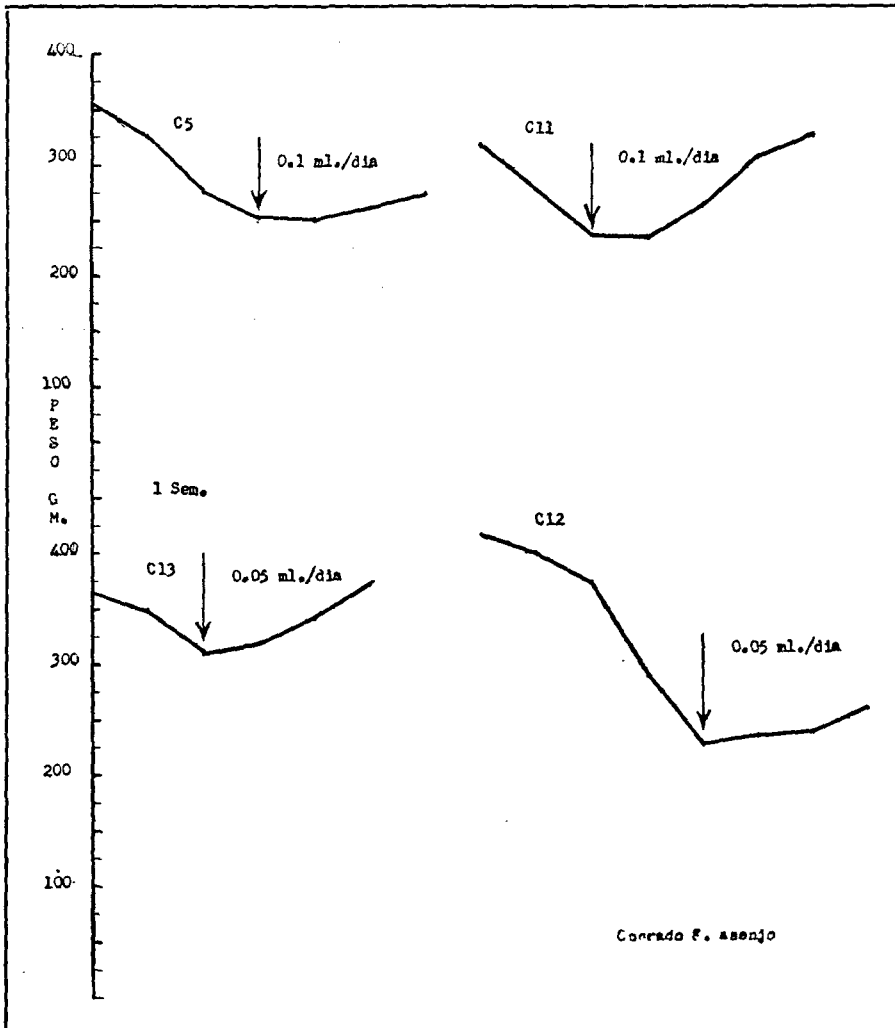
CONTENIDO DE ACIDO ASCORBICO Y DEHIDROASCORBICO EN SIETE MUESTRAS DE "CEREZAS" ANTILLANAS TOMADAS AL AZAR DE LA COCHURA USADA EN LOS ENSAYOS BIOLÓGICOS

mg./100 gm.

Muestra	Acido ascórbico	Acido dehidroascórbico	Vitamina C Total
1	1.875	500	2.375
2	1.875	791	2.666
3	2.511	552	3.063
4	1.839	431	2.270
5	1.532	541	2.073
6	1.703	296	1.999
7	1.609	265	1.874
Promedio	1.848	482	2.331

Ensayo curativo.—Para confirmar el alto contenido de vitamina C obtenido por el método preventivo en el jugo fresco de las "cerezas" se depauperaron cuatro cobayos hasta que empezaron a tener signos de escorbuto y habían perdido en peso entre 57 y 182 gramos. A estos animalitos se les suministró diariamente, seis veces por semana, 0,1 y 0,05 ml., res-

pectivamente, de jugo fresco de "cerezas", con los resultados indicados en la gráfica 1. Como se puede ver, aun aquellos que recibieron la cantidad más baja de jugo diario respondieron positivamente al tratamiento. Esta sencilla experiencia confirma de manera concluyente el alto contenido de vitamina C observado por el método químico y por el método biológico preentivo en el jugo de la "cereza" antillana.



RESUMEN

Al evaluarse el contenido de vitamina C en el jugo de la "cereza" antillana (*Malpighia puniceifolia* L.) por métodos biológicos utilizando cobayos, se encuentra que el jugo fresco contiene más de 1.000 mg. de esta vitamina en cada 100 ml. y que una muestra de jugo enlatado contiene aproximadamente 1.000 mg. por cada 100 ml. Estos valores concuerdan bastante bien con los obtenidos por análisis químicos y confirman una vez más el alto contenido de vitamina C en dicha fruta.

SUMMARY

The biological dosification with guinea pigs of the vitamin C content of the west Indian Cherry (*Malpighia puniceifolia* L.) gave values of more than 1.000 mg. of this vitamin in 100 ml. of fresh juice. These values are in reasonably good agreement with those obtained by chemical analysis and confirm again the high vitamin C content of this fruit.

ZUSAMMENFASSUNG

Die biologische Bestimmung des Vitamin C Gehaltes der West Indischen Kirschen (*Malpighia puniceifolia* L.) mit Meerschweinchen ergab Werte von über 1.000 mg. in 100 cc. von frischem Saft und von annähernd 1.000 mg. in 100 cc. des in Büchsen eingemachten Saftes. Diese Werte stimmen gut überein mit den durch chemische Analyse gefundenen und Bestätigen den hohen ert in Vitamin C der untersuchten Früchte.

BIBLIOGRAFIA

- (1) Asenjo, Conrado, y A. R. Freire de Guzmán.—The high ascorbic acid content of the West Indian cherry. *Science* 103, 219 (1946).
- (2) Vieta de Ruiz, E.; O. Durán, J. Rosenkranz y E. Kaufman.—Contenido de vitamina C en frutas cubanas. *Informe médico*, 10, 160-165 (1946).
- (3) Mustard, M. J.—The ascorbic acid content of some *Malpighia* fruits and jellies. *Science*, 104, 230-231 (1946).

- (4) Jaffé, W. G.; P. Budowski y G. Gorra.—Estudio sobre el contenido de ácido ascórbico (vitamina C) en los principales frutos de Venezuela. *Archivos Venezolanos de Nutrición*, 1, 83-106 (1950).
- (5) Cravioto, R. E.—Valor nutritivo de alimentos mexicanos. *Ciencia*, XI, 9-17 (1951).
- (6) Cravioto, R. E.; G. Massien H., J. Guzmán G. y J. Calvo de la Torre.—Composición de alimentos mexicanos. *Ciencia*, XI, 129-155 (1951).
- (7) Asenjo, C. F., and C. G. Moscoso.—Ascorbic acid content and other characteristics of the West Indian cherry. *Food Res.* 15, 103-106 (1950).
- (8) Munsell, H. E.; L. O. Williams, L. P. Guild, C. B. Troescher, G. Nighthingale and R. S. Harris.—Composition of food plants of Central America III Guatemala. *Food Res.* 15, 34-52 (1950).
- (9) Munsell, H. E.; L. O. Williams, L. P. Guild, L. T. Kelley, Ann M. McNally and R. S. Harris.—Composition of food plants of Central America VIII Guatemala. *Food Res.* 15, 439-453 (1950).
- (10) Comunicación personal del Dr. Miguel A. Guzmán.
- (11) *Practical Physiological Chemistry*. P. B. Hawk, B. L. Oser y W. H. Summerson. Duodécima edición, página 1.140. The Blakiston Co., Filadelfia (1949).
- (12) Roe, J. H., and M. J. Oesterling.—The determination of dehydroascorbic acid and ascorbic acid in plant tissues by the 2,4-dinitrophenylhydrazine method. *J. Biol. Chem.* 152, 511-517 (1944).
- (13) Asenjo, C. F.—Biological vitamin C activity of the *Malpighia punicifolia* L. pseudo cherry. *Fed. Proc.* 10, 158 (1951).