"Evaluación del contenido de carotenoides, antocianinas y polifenoles totales en tomate (Solanum lycopersicum L.) y uva (Vitis vinifera L.) en relación a su potencial antioxidante"

Silvia Klinar Barbuza[1], Jorge Chanllio Lavarello[2] y Artemio Chang Canales[3].

1 Facultad de Farmacia y Bioquímica - UNICA

2 Facultad de Medicina Humana - UNICA

3 Laboratorio de Investigación y Desarrollo – Yamano del Perú.

RESUMEN

La tradición y la evidencia científica muestran, entre otras propiedades, actividad antioxidante en los frutos de "tomate" (Solanum lycopersicum L.) y "uva" (Vitis vinifera L.) El contenido de carotenoides, antocianinas y en general de polifenoles en diferentes especies vegetales, está directamente relacionado con su actividad antioxidante.

Hemos evaluado dichos frutos, habiendo determinado los siguientes contenidos:

La pulpa del fruto de **Tomate** (Solanum lycopersicum L.) contiene 0.28 % (280 mg/100 g de pulpa) de polifenoles totales, 67 mg/L. de antocianinas totales y 2600 ug/100 g de pulpa, de carotenoides totales. La pulpa del fruto de **Uva (**Vitis vinifera L.) contiene 0.87 % (870 mg/100 g de pulpa) de polifenoles totales, 1230 mg/L. de antocianinas totales y 75 ug/100 g de pulpa, de carotenoides totales.

Los resultados son congruentes con las referencias bibliográficas, los testimonios y la información popular y tradicional que atribuyen a la **Uva (**Vitis vinifera L.) una actividad antioxidante superior al **Tomate** (Solanum lycopersicum L.).

1. silviaklinarb@hotmail.com

ABSTRACT

Tradition and scientific evidence shows, among other properties, antioxidant activity in the fruits of "tomato" (Solanum lycopersicum L.) and "grape" (Vitis vinifera L.) The content of carotenoids, anthocyanins and polyphenols in general, in different plant species, is directly related to its antioxidant activity.

We evaluated these fruits, having determined the following contents:

The pulp of the fruit of tomato (Solanum lycopersicum L.) containing 0.28% (280 mg/100 g pulp) of total polyphenols, 67 mg / L. total anthocyanins and 2600 ug/100 g of pulp, total carotenoids. The pulp of the fruit of grape (Vitis vinifera L.) containing 0.87% (870 mg/100 g pulp) total polyphenol, 1230 mg / L. total anthocyanins and 75 ug/100 g of pulp, total carotenoids.

The results are consistent with the references, testimonials and information folk who ascribe to the Grape (Vitis vinifera L.) better antioxidant activity than tomato (Solanum lycopersicum L.).

Introducción

La actividad antioxidante de los compuestos fenólicos contribuye significativamente a la salud humana. La relación que existe entre la concentración de especies reactivas del oxígeno (EROs) y el estado de salud de los seres humanos es un hecho aceptado. Vocablos nuevos, tales como estrés oxidativo, actividad prooxidante y producto antioxidante, son cada vez más comunes y la gran cantidad de artículos que aparecen tanto en revistas científicas como de divulgación popular, indican el interés cada vez más creciente sobre este tema. Esta avalancha informativa ha conducido a la aparición de miles de productos, de origen natural o sintético, que se expenden por lo general como “productos de salud” con el calificativo de “antioxidantes”, con lo cual se quiere significar la capacidad de disminuir la concentración de radicales libres y otros agentes oxidantes, en el organismo humano y por tanto, mejorar el estado de salud de quien lo consume.[1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16]

El contenido de carotenoides, antocianinas y en general de polifenoles en diferentes especies vegetales, está directamente relacionado con su actividad antioxidante.[2,3,4,5,6] A los frutos de, “tomate” (Solanum lycopersicum L.) y “uva” (Vitis vinifera L.) se les atribuye, entre otras propiedades, actividad antioxidante[17,18,19,20,21,22,23,24,25,26,27,28,29]. La determinación del contenido de

carotenoides, antocianinas y polifenoles totales, nos permite desarrollar evidencias científicas que sustenten las propiedades atribuidas.

En la evaluación de las pulpas de frutos de tomate y uva, encontramos 0.28% y 0.87% de polifenoles totales, expresados como ácido gálico, respectivamente. En cuanto a los carotenoides totales, el tomate presenta 2600 ug/100 g de pulpa; mientras que la uva presenta 75 ug/100 g de pulpa. La uva presenta 1230 mg/L de antocianinas totales y el tomate presenta 67 mg/L.

Generalidades

La actividad antioxidante de los compuestos fenólicos contribuye significativamente a la salud humana. La relación que existe entre la concentración de especies reactivas del oxígeno (EROs) y el estado de salud de los seres humanos es un hecho aceptado en la actualidad por la comunidad científica y médica.

Un ejemplo para ilustrar lo anterior: **la paradoja francesa**[30], que revela la aparente compatibilidad de una dieta elevada en grasas con una reducida incidencia de la ateroesclerosis coronaria, lo cual se atribuye al consumo regular de vino tinto y/o jugo de uvas, productos con un elevado contenido de flavonoides y otros polifenoles[31]. A estos flavonoides y otras sustancias fenólicas que contiene el vino tinto se le atribuyen propiedades antioxidantes[2] que reducen la oxidación de las lipoproteínas de baja densidad (LDL) y con ello la disminución del riesgo de enfermedades aterogénicas.[3,32].

Otros ejemplos son: el proceso de envejecimiento del organismo humano[33] y las correlaciones halladas entre los procesos de iniciación, promoción y progresión del cáncer[4,34,35,36] con el incremento de especies reactivas del oxígeno (EROs), lo que ha inducido el consumo de productos antioxidantes como agentes quimiopreventivos.

No obstante todas las evidencias de la literatura científica sobre la relación entre estrés oxidativo y la progresión de enfermedades, sobre todo crónicas, la administración de productos antioxidantes a los pacientes se considera, de forma muy frecuente, como suplementaria o de segunda importancia en la metodología terapéutica. Uno de los factores que puede contribuir a ello es el ambiente regulatorio actual, donde los antioxidantes no se consideran medicamentos, sino

suplementos nutricionales o *productos naturales para la salud*, ya que el estrés oxidativo no se considera una categoría terapéutica.

Un número cada vez más creciente de ensayos clínicos demuestran la importancia de la terapia antioxidante en diversas enfermedades; es decir, la **realidad** se va imponiendo sobre el **mito** de la terapia antioxidante. Sin embargo, otra realidad es la falta de ensayos clínicos con productos naturales antioxidantes que surgen de la medicina tradicional o práctica etnomédica, donde los recursos financieros para una adecuada investigación preclínica y clínica son escasos o inexistentes; mientras que el flujo de los recursos financieros, que genera su comercialización, se destina a la publicidad y promoción; la mayor parte de las veces con absoluta falta de ética. No menos importante, es la actitud generalizada de sólo considerar como válidos aquellos metabolitos aislados de fuentes naturales, con una identidad y pureza similares a los productos de síntesis química.[5]

Desde hace varios años se ha incrementado el consumo de vegetales, atribuyéndoles la disminución de la incidencia de enfermedades como el cáncer y la aterosclerosis. La creciente aceptación de la dieta como terapia preventiva y de la medicina verde como alternativa, está acompañada de muchas ideas erróneas, una de las más frecuentes es atribuirles a las vitaminas todos los beneficios de los vegetales y el desconocimiento de otros agentes presentes en ellos, que contribuyen con un amplio espectro de propiedades a la prevención de ciertas enfermedades, un ejemplo de estos son los polifenoles.[2,5,6,7,8,9]

Los compuestos fenólicos o polifenoles, los diferentes tipos de flavonoides (entre ellos las antocianinas) y los carotenoides (carotenos y xantofilas) provienen del metabolismo secundario de las plantas. Existe una gran variedad de compuestos fenólicos, y se clasifican en flavonoideos, formados por dos anillos aromáticos unidos por un heterociclo oxigenado y que dependiendo del grado de hidrogenación y de la sustitución del heterociclo son, flavonoles, flavonas, isoflavonas, antocianinas, proantocianidinas, flavanonas, etc. y se encuentran

generalmente en forma de glicósidos, y los no flavonoideos, compuestos benzoicos y cinámicos, llamados comúnmente ácidos fenólicos, que contienen un anillo aromático con diferentes grupos funcionales, y que pueden estar formando ésteres con los ácidos orgánicos. Otros compuestos de naturaleza polifenólica son estilbenos, taninos, ligninas y lignanos.

A los frutos de , "tomate" (Solanum lycopersicum L.) y "uva" (Vitis vinifera L.) se les atribuye, entre otras propiedades, actividad antioxidante[17,18,19,20,21,22,23,24,25,26,27,28,29]

Experimental

MUESTRAS

- Pulpa de frutos de Solanum lycopersicum L. *"Tomate"*
- Pulpa de frutos de Vitis vinifera L. *"Uva"*

DETERMINACIÓNES CUANTITATIVAS

1. Técnica para determinar Polifenoles Totales

Se utilizó el método espectrofotométrico desarrollado por Folin y Ciocalteau[37], para la determinación de fenoles totales. El reactivo es una mezcla de ácidos fosfowolfrámico y fosfomolíbdico en medio básico, que se reducen al oxidar los compuestos fenólicos, originando óxidos azules de wolframio (W_8O_{23}) y molibdeno (Mo_8O_{23}). La absorbancia del color azul desarrollado se mide a 765 nm. Los resultados se expresan en % de polifenoles totales expresados como ácido gálico y en mg de ácido gálico por 100 g de pulpa de frutos.

Preparación de la muestra.-

Tomar 1 gramo de la muestra, licuar y diluir con un volumen entre 200 a 400 mL. Filtrar. Enrasar a volumen exacto.

Preparación de la muestra para la Lectura

Tomar 0.5 mL de la solución muestra, agregar 0.2 mL de Reactivo de Folin Ciocalteu y 1 mL de solución de carbonato de sodio 7.5%. Dejar reaccionar durante 20 minutos.

Lectura

Leer la absorbancia a 765 nm.

Cálculos

Se prepara una curva de calibración con ácido gálico a concentraciones de 5, 10, 15, 20 y 25 mg/L.

Se elige la absorbancia de la curva de ácido gálico, más próxima a la absorbancia obtenida de la muestra y se aplica la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de Polifenoles expresados como ácido gálico} = \frac{\text{Cest. x Am x Vdm x 0.1}}{\text{Aest. x Pdm}}$$

Donde:

- Cest .- concentración de ácido gálico en mg/L, en la A elegida
- Am .- lectura de la absorbancia de la muestra (promedio de 3 ensayos)
- Vdm .- volumen de dilución de la muestra, en mL.
- Aest.- Absorbancia elegida del ácido gálico.
- Pdm.- mg de muestra, utilizados en la dilución.

2. Técnica para determinar Carotenoides Totales

Preparación de la muestra.-

Tomar 1 gramo de la muestra, extraer por agitación con 2 porciones de 20 mL de acetona, por 20 minutos cada vez, filtrar y diluir hasta 50 mL.

Leer a 540 nm.

Repetir 2 veces más.

La Absorbancia será el promedio de las 3 lecturas.

Cálculos

Aplicar la fórmula:

$$\textbf{mg/L antocianinas totales} = \frac{\textbf{A} \times \textbf{V}}{\textbf{250}}$$

A = Absorbancia (Promedio de 3 lecturas)

V = Volumen en mL.

3. Técnica para determinar Antocianinas Totales

Preparación de la Muestra

Tomar 1 mL ó 1 g de la muestra y agregar 9 mL de agua destilada (Factor de dilución = 10)

Leer a 510 nm.

Repetir 2 veces más.

La Absorbancia será el promedio de las 3 lecturas.

Se utiliza la cianidina 3-glicósido como patrón de referencia.

Cálculos

Aplicar la fórmula:

$$\textbf{mg/L antocianinas totales} = \frac{\textbf{A} \times \textbf{P.M.} \times \textbf{F dil.} \times \textbf{1000}}{\textbf{E}_{\textbf{max.}}}$$

Donde:

A = Absorbancia (Promedio de 3 lecturas)

P.M. = Peso molecular del patrón de referencia: Cianidina 3-glicósido (449.2)

F dil. = Factor de dilución

$\textbf{E}_{\textbf{max}}$ = Constante de extinción molar del patrón de referencia: Cianidina 3-glicósido (26,900)

Resultados

Resultados de la Curva de calibración del ácido gálico

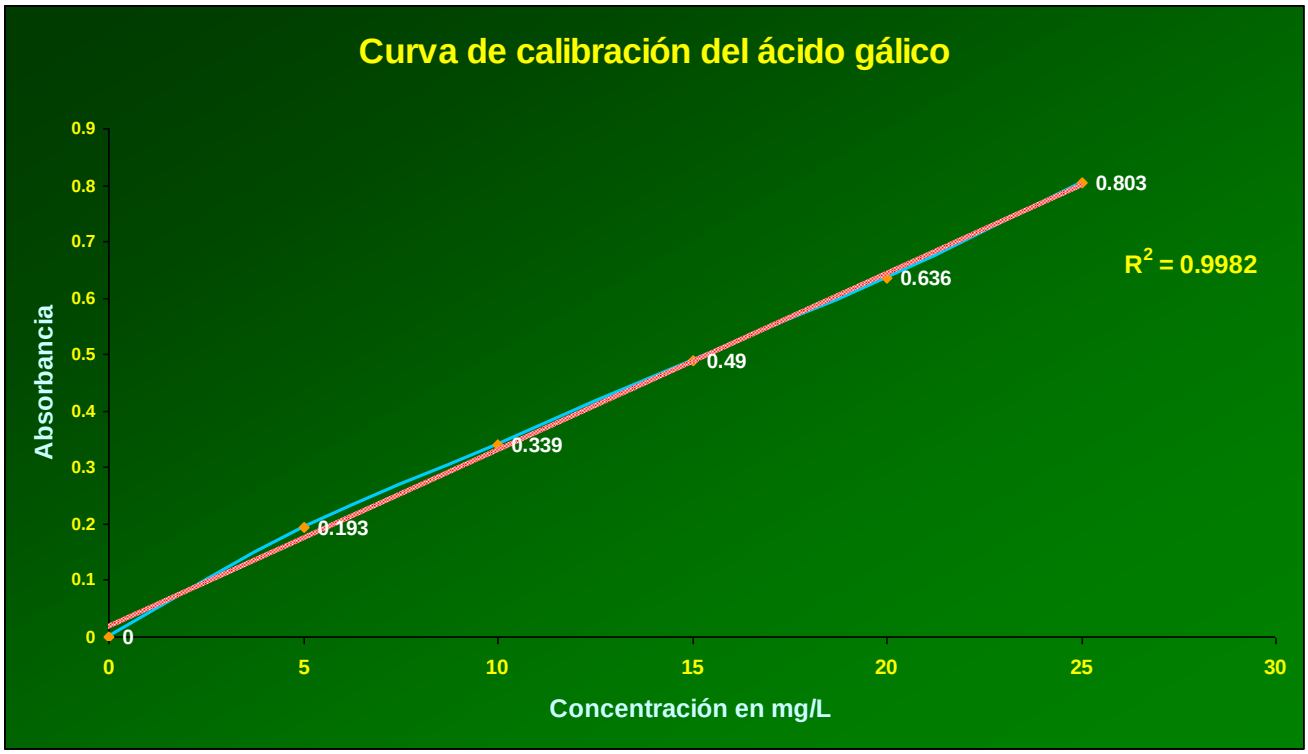
Para elaborar la curva de calibración, se utilizó el ácido gálico a concentraciones de 5, 10, 15, 20 y 25 mg/L, la lectura a 765 nm, dio los resultados mostrados en el cuadro 1.

Cuadro 1. Resultados en la elaboración de la curva de calibración del ácido gálico

Resultados en la elaboración de la curva de calibración del ácido gálico					
Ácido gálico (mg/L)	5	10	15	20	25
Absorbancia a 765 nm	0.193	0.339	0.49	0.636	0.803

En el gráfico 1, se observa la linealidad de la curva de calibración del ácido gálico, presentando R^2 = 0.9982

Gráfico 1. Curva de calibración del ácido gálico



Resultados de la determinación cuantitativa de Polifenoles totales, expresados como ácido gálico

Los resultados de la determinación cuantitativa del contenido de polifenoles en las pulpas de los frutos de **Tomate** (Solanum lycopersicum L.), y **Uva (**Vitis vinifera L.), expresados como ácido gálico, en porcentaje (%) y en mg/L, se muestran en el cuadro 2.

Cuadro 2. Resultados de la determinación cuantitativa de polifenoles totales, expresados como % y mg/L de ácido gálico.

Especie vegetal	Parte utilizada	Contenido de polifenoles totales (como ácido gálico)	
		%	mg/100 g
Tomate Solanum lycopersicum L.	Pulpa del fruto	**0.28**	**280**
Uva Vitis vinifera L.	Pulpa del fruto	**0.87**	**870**

Resultados de la determinación cuantitativa de Carotenoides totales

Especie vegetal	Parte utilizada	Contenido de carotenoides totales
		ug/100 g
Tomate Solanum lycopersicum L.	Pulpa del fruto	**2600**
Uva Vitis vinifera L.	Pulpa del fruto	**75**

Resultados de la determinación cuantitativa de Antocianinas totales

Especie vegetal	Parte utilizada	Contenido de antocianinas totales
		mg/L
Tomate Solanum lycopersicum L.	Pulpa del fruto	**67**
Uva Vitis vinifera L.	Pulpa del fruto	**1230**

Interpretación de resultados y Conclusiones

- El contenido de polifenoles (expresados como ácido gálico) en los frutos evaluados es:
    - En la pulpa del fruto de **Tomate** (Solanum lycopersicum L.) = 0.28 % (280 mg/100 g de pulpa)
    - En la pulpa del fruto de **Uva (**Vitis vinifera L.) = 0.87 % (870 mg/100 g de pulpa)
- El contenido de polifenoles carotenoides totales en los frutos evaluados es:
    - En la pulpa del fruto de **Tomate** (Solanum lycopersicum L.) = 2600 ug/100 g de pulpa
    - En la pulpa del fruto de **Uva (**Vitis vinifera L.) = 75 ug/100 g de pulpa
- El contenido de antocianinas totales en los frutos evaluados es:
    - En la pulpa del fruto de **Tomate** (Solanum lycopersicum L.) = 67 mg/L.
    - En la pulpa del fruto de **Uva (**Vitis vinifera L.) = 1230 mg/L.
- Los resultados obtenidos en el presente trabajo son congruentes con las referencias bibliográficas, los testimonios y la información popular y tradicional que atribuyen a la **Uva (**Vitis vinifera L.) una actividad antioxidante superior al **Tomate** (Solanum lycopersicum L.).

7. Referencias Bibliográficas

1. G. Martínez Sánchez et al. (2003) “Mitos y realidades de la terapia antioxidante”. Centro de Química Farmacéutica. Ciudad de la Habana, 2003. Segunda edición.

2. S.V. Jovanovic et al (1994) "Flavonoids as antioxidants". *J. Am. Chem. Soc*. 116:4846.

3. E.N. Frankel, J. Kanner, J.B. German, E. Parks, J.E. Kinsella, "Inhibition of oxidation of human low density lipoproteins by phenolic substances in red wine", *Lancet* 341: 454 (1993).

4. G.L. Michael *et al* (1995) "Flavonoid intake and long-term risk of coronary hearth disease and cancer in the seven countries study" *Arch. Intern. Med.*155:381.

5. M. Hernández y E. Prieto. (1999) “Plantas que contienen polifenoles. Antioxidantes dentro del estilo de vida”. Rev Cubana Invest. Biomed.; 18(1):12-4

6. E. M. KuskoskI et al (2004) Actividad antioxidante de pigmentos antociánicos**.** Ciênc. Tecnol. Aliment., Campinas, 24(4): 691-693.

7. Orlando Muñoz et al (2007) “Contenido de flavonoides y compuestos fenólicos de mieles chilenas e índice antioxidante” Quim. Nova, Vol. 30, No. 4, 848-851

8. Ritva Repo de Carrasco y Christian Rene Encina Zelada (*2008)* Determinación de la capacidad antioxidante y compuestos fenólicos de cereales andinos: quinua (*Chenopodium quinoa*), Kañiwa (*Chenopodium pallidicaule*) y Kiwicha (*Amaranthus caudatus*) *Rev Soc Quím Perú., 74, Nº 2 (85-99)*

9. Wei Zheng, and Shiow Y. Wang (2001) Antioxidant Activity and Phenolic Compounds in Selected Herbs. *J. Agric. Food Chem.*, 49 (11), 5165-5170

10. Leslie Wada and Boxin Ou (2002) Antioxidant Activity and Phenolic Content of Oregon Caneberries. *J. Agric. Food Chem. 50,* 3495-3500

11. Marja P. Kahkonen et al (1999) Antioxidant Activity of Plant Extracts Containing Phenolic Compounds. *J. Agric. Food Chem. 47,* 3954-3962

12. Hung-Chi Chang et al (2007) Antioxidant activities and polyphenol contents of six folk medicinal ferns used as “Gusuibu”. Botanical Studies 48: 397-406

13. W. Kalt, J.E. Mcdonald, and H. Donne (2000) Anthocyanins, Phenolics, and Antioxidant Capacity of Processed Lowbush Blueberry Products. Journal Of Food Science - Vol. 65, No. 3

14. Mark K. Ehlenfeldt, and Ronald L. Prior (2001) Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC) and Phenolic and Anthocyanin Concentrations in Fruit and Leaf Tissues of Highbush Blueberry. *J. Agric. Food Chem.* 49 (5), 2222-2227

15. George J. Soleas et al (1997) Relative Contributions of Polyphenolic Constituents to the Antioxidant Status of Wines: Development of a Predictive Model. J. Agric. Food Chem., 45, 3995-4003

16. S. Klinar, J. Chanllio y A. Chang (2011) Contenido de polifenoles totales en frutos de camu camu (Myrciaria dubia (H. B. & K.) McVaugh), guanábana (Anona muricata L.) y mango (Mangifera indica L.). Facultad de Farmacia y Bioquímica. UNICA

17. I. Vinkovic (2011) The effect of grafting on the antioxidant properties of tomato (*Solanum lycopersicum* L.). Spanish Journal of Agricultural Research 2011 9(3), 844-851

18. I. Palomo et al (2010) Actividad antioxidante, hipolipemiante y antiplaquetaria del tomate (*Solanum lycopersicum L.*) y el efecto de su procesamiento y almacenaje. Rev Chil Nutr Vol. 37, Nº4

19. F. Danesi And A. Bordoni (2008) Effect of Home Freezing and Italian Style of Cooking on Antioxidant Activity of Edible Vegetables. Vol. 73, Nr. 6, 2008 - Journal of food science

20. C. Sgherri (2007) The Influence of Diluted Seawater and Ripening Stage on the Content of Antioxidants in Fruits of Different Tomato Genotypes. J. Agric. Food Chem. 2007, 55, 2452-2458

21. E. Madrid et al (2006) El consumo de Lycopersicum esculentum podría aumentar lipoproteínas de alta densidad (HDL) y disminuir el estrés oxidativo a corto plazo. Rev Méd Chile 2006; 134: 855-862

22. Andrew P. Breksa et al (2010) Antioxidant activity and phenolic content of 16 raisin grape (Vitis vinifera L.) cultivars and selections. Food Chemistry 121 (2010) 740–745

23. Jun Yang et al (2009) Phytochemical profiles and antioxidant activities of wine grapes. Food Chemistry 116 (2009) 332–339

24. M. Nassiri-Asl et al (2009) Review of the Pharmacological Effects of Vitis vinifera (Grape) and its Bioactive Compounds. *Phytother. Res.* 23, 1197–1204

25. Hua Li et al (2008) Comparative Study of Antioxidant Activity of Grape (*Vitis vinifera*) Seed Powder Assessed by Different Methods. *Journal of Food and Drug Analysis, Vol. 16, No. 6*

26. G. Jayaprakasha et al (2001) Antioxidant activity of grape seed (Vitis vinifera) extracts on peroxidation models in vitro

27. J. Castillo et al (2000) Antioxidant Activity and Radioprotective Effects against Chromosomal Damage Induced in Vivo by X-rays of Flavan-3-ols (Procyanidins) from Grape Seeds (Vitis vinifera): Comparative Study versus Other Phenolic and Organic Compounds. *J. Agric. Food Chem.*, 48 (5), 1738-1745

28. I. Marina Heinonen et al (1998) Antioxidant Activity of Berry and Fruit Wines and Liquors. *J. Agric. Food Chem.* 1998, *46,* 25-31

29. Jean-Michel Merillon (1997) Antioxidant Activity of the Stilbene Astringin, Newly Extracted from Vitis vinifera Cell Cultures. *Clinical Chemistry* 43, No. 6

30. S. Reanaud, M De Lorgeril (1992) "Wine, alcohol, platelets, and the french paradox for coronary heart disease". *Lancet* 339:1523.

31. H.S. Demrow, P.R. Slane, J.D. Folts (1994) "Administration of wine and grape juice inhibits *in vivo* platelet activity and thrombosis in stenosed canine coronary arteries", *Circulation* 91:1182

32. B. Fuhrman, A. Lavi, M. Aviram, (1995) "Consumption of red wine and meals reduces the susceptibility of human plasma and LDL to lipid peroxidation" *Am. J. Clin. Nutr.* 61:549

33. R.G. Cutler, (1991) "Antioxidants and aging" *Am. J. Clin. Nutr.* 53: 373S

34. H.C. Pitot, Y.P. Dragan, (1996) "Facts and theories concerning the mechanisms of carcinogenesis" *FASEB J*. 5:2280.

35. J.P. Kehrer, (1993) "Free radicals as mediators of tissue injury and disease", *Crit. Rev. Toxicol*. 23:21.

36. B. Halliwel (1996) "Oxidative strees, nutrition and health. Experimental strategies for optimization of nutritional antioxidant intake in humans". *Free Rad. Res.* 25:57.

37. Cita: Folin, C.; Ciocalteau, V. Tyrosine and tryptophan determination in proteins. J. Biol. Chem. 73, 627-650, 1927. En: E. Marta Kuskoski et al. (2005) Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. Ciênc. Tecnol. Aliment., Campinas, 25(4): 726-732.