

Estudio Químico-Espectrofotométrico de los Carotenoides de la Guayaba

ALEJANDRO MOSQUEDA SUÁREZ Y RIGOBERTO DÍAZ CADAVIECO *
Instituto Nacional de Nutrición

INTRODUCCION

En los últimos años la determinación de los carotenoides, particularmente en vegetales, ha sufrido considerables cambios. Los trabajos de Zechmeister, Zscheile, Deuel, Mehl, etc. (1), (2), (3), al reportar la presencia de estereoisómeros en las plantas, produjeron cambios fundamentales en los conceptos analíticos de las provitaminas A. Si se añade, por otra parte, que la preparación de muestras es dificultosa y depende en buena medida de la naturaleza de los especímenes, en la investigación de nuevos materiales es indispensable adaptar, mejorar los métodos existentes o idear otros nuevos.

Ante la ausencia de datos analíticos concretos sobre la constitución química de los carotenoides de la guayaba y sus variedades, nos proponemos reportar cifras analíticas de caroteno, porcentaje del isómero beta, y comparar los valores con los señalados en tablas de alimentos de otros países.

Como es sabido, la guayaba es una fruta tropical que crece fácilmente en Venezuela, con preferencia en tierra caliente, y es muy utilizada en jugos y jaleas (4).

Desde el punto de vista nutricional la guayaba es conocida como fruta rica en vitamina C, sin hacer mención a su contenido de caroteno. En este sentido la estimación cuantitativa ha sido compleja y difícil, pues fué necesario adaptar y modificar el método propuesto por el A.O.A.C. (5).

* Los autores hacen público su agradecimiento al Perito Agrónomo J. M. Calabria por su decidida y valiosa ayuda en la preparación y selección de la mayor parte de las muestras analizadas.

TECNICA PROPUESTA

La muestra se estabiliza mezclando en una licuadora eléctrica (*waring blender*) partes iguales del alimento y una solución álcali-alcohol-agua (30 gramos de KOH, 320 gramos de alcohol etílico de 95 y 650 gramos de agua), de acuerdo con las indicaciones y sugerencias del M.I.T. (6).

Da la muestra estabilizada se pesan 2 a 5 gramos en un balón rojo esmerilado de 250 cc. Por cada gramo de muestra agréguese 20 cc. de una solución alcohólica de KOH al 12% (P \times V). Saponificar durante 30 minutos al b. m. Lavar el refrigerante y el cuello del matraz con poco alcohol, y enfriar la solución a temperatura ambiente. Filtrar por embudo de vidrio poroso tipo C, lavando el matraz y el embudo con pequeñas cantidades de hexano. Trasvasar la solución cuantitativamente a un embudo de separación rojo de 500 cc. y lavar de nuevo con una pequeña cantidad de hexano (unos 50 cc. en total). Añadir al conjunto igual volumen de agua al utilizado de KOH en la saponificación. La fase hexánica se trasvasa a otro embudo de 300 cc., mientras que la fase hidroalcohólica se extrae 3 veces con porciones de 25 cc. de hexano, y se reúnen todos los extractos en el segundo embudo.

Omitase el lavado del extracto hexánico con metanol al 90% en agua. En el caso particular de la guayaba, ante la ausencia de pigmentos clorofilianos, resulta innecesaria esta purificación.

El extracto hexánico se lava 2 ó 3 veces con una cantidad de agua igual a la cantidad de hexano, para eliminar la alcalinidad. A su vez, con Na₂SO₄ anhidro se elimina el agua. Como es indispensable reducir el volumen del extracto para la cromatografía, destílese en b. m. caliente durante el menor tiempo posible (más o menos, 10 minutos). La operación realizada con cuidado no induce a pérdidas ni isomerizaciones, según se demuestra más adelante.

La cromatografía se verifica utilizando una mezcla de óxido de magnesio y dicalite (1 + 4). El caroteno se extrae con 50 cc. del disolvente mixto hexano-acetona 9:1 (V \times V). Quedan retenidos en la columna una fracción de pigmentos que serán estudiados en el capítulo "Pigmentos de la guayaba". El extracto hexano-acetona se concentra por destilación al b. m.

(más o menos, 5 minutos) y se lleva a volumen deseado. La acetona se elimina, pues pasa al destilado (P. E. de la acetona 56,5°C.; P. E. del hexano 69°C.).

El color del extracto purificado se compara con una curva standard de 90% B-caroteno y 10% A-caroteno en hexano ajustando la transmisión entre 30-80%. Para las lecturas se utiliza la banda 440 $m\mu$ (ver gráfico 1).

PIGMENTOS DE LA GUAYABA

Durante la marcha analítica en el análisis del caroteno pudimos obtener 3 fracciones, a objeto de estudiarles su espectro de absorción. La A o fracción total pigmentada, que contiene el caroteno y demás pigmentos; la B o misma fracción A, menos el caroteno; y la C, o fracción específica de caroteno. Las fracciones A y C no presentan dudas en cuanto a su obtención. En cambio, la B se extrajo de la columna después de C, mediante una nueva elución con los solventes hexano-acetona 7:3.

Estas fracciones fueron obtenidas solamente en las guayabas rojas; en la amarilla las cantidades son menores, y en la blanca no existen. Todas se obtuvieron, bien concentrando el extracto hexánico al b. m. no más de 10 minutos, o mejor evaporando el solvente al vacío. Esto último es una operación demasiado larga y delicada, y no se presta para análisis corrientes o de rutina. De cualquier manera, pueden verse en los gráficos 2 y 3 que el calentamiento del caroteno en b. m. por corto tiempo prácticamente no influye en cambios isoméricos importantes de los carotenoides.

En la guayaba roja, las fracciones A obtenidas por destilación al b. m. y al vacío presentan el mismo espectro. Los picos de máxima absorción aparecen localizados a 445, 470 y 500 $m\mu$. Este último anuncia la presencia de licopeno en cantidad apreciable, y a la vez ausencia de criptoxantina por no existir ningún pico de absorción a 424 $m\mu$. El espectro de absorción de la fracción B es muy similar al de la fracción A, sea en b. m. o a presión reducida. El espectro de la fracción C, o de caroteno, acusa con exactitud una curva de Neo (cis-trans) B-caroteno. El porcentaje de B-caroteno presente se calculó según la fórmula de Beadle-Zscheile:

$$\begin{array}{r}
 \text{A } 478 \text{ m } \mu \\
 \text{Log. } \frac{\text{I}^\circ}{\text{I}} \\
 \hline
 \text{C} \quad \text{--- } 132 \\
 \hline
 96 \quad \times 100
 \end{array}$$

RESULTADOS ANALITICOS

Con la técnica que hemos descrito se analizaron por duplicado (algunas por triplicado) muestras de guayabas blancas, amarillas y rojas. Las señaladas en clave corresponden a variedades cultivadas por la Fundación Mendoza en la Hacienda Macapo (Magdaleno, Estado Aragua). Las otras fueron compradas en el mercado Quinta Crespo de la capital como guayabas criollas, es decir, de origen venezolano. Se analizaron también dos muestras de guayabas silvestres o que crecen en los montes. Todos los resultados reportados se refieren a la guayaba completa (cáscara, pulpa y semilla). (Tabla 1)

Igualmente, y a objeto de comparar los valores obtenidos con aquellos asignados a la guayaba en tablas de composición de alimentos de otros países, inclusive Venezuela, en la tabla 2 se reportan las cifras *.

DISCUSION

En orden a las guayabas analizadas, la variedad roja acusa un contenido mayor de caroteno que las otras. Contiene además en la fracción total de pigmentos una cantidad relativamente grande de licopeno, y muy poca o nada criptoxantina. Este hecho es de interés, por cuanto en análisis de caroteno en vegetales la diferencia entre carotenoides totales y el caroteno se considera como una mezcla de criptoxantina. En la guayaba amarilla, los pigmentos que no son carotenos presentan un espectro de absorción que no corresponde ni a licopeno ni a criptoxantina. En la guayaba blanca hay ausencia de pigmentos.

Los valores en vitamina A asignados para la guayaba en algunas tablas de composición de alimentos están reportados

* Para convertir valores de caroteno en vitamina A utilizamos la relación internacionalmente aceptada de que 1 U. I. de vitamina es igual a 0,6 microgramos de caroteno.

sin considerar la variedad genética o su color, o si se trata de un conjunto de variedades. En virtud de los resultados analíticos que hemos obtenido, nosotros damos importancia al color, y señalamos a la guayaba roja como contentiva de más caroteno; luego, la amarilla.

Podría intentarse clasificar a las guayabas por sus colores, aparte de la variedad genética. Habría que agregar, por otra parte, que es muy difícil el encontrar variedades totalmente puras. Cuando se habla de guayaba roja, o amarilla, o blanca, hemos visto que en realidad se trata de guayabas cruzadas. Esta podría ser una de las explicaciones en los valores analíticos irregulares de guayabas provenientes de un mismo árbol.

El porcentaje de isómero beta en la guayaba roja, cuya cifra encontrada es de 50-52, lo consideramos elevado, teniendo en cuenta que los valores máximos encontrados hasta ahora en frutas ha sido en variedades de mangos, con un porcentaje de 36-53 de los carotenoides presentes (2).

RESUMEN

Se hace un estudio cromatográfico y espectrofotométrico de los principales carotenoides existentes en diferentes variedades de guayabas.

Se reportan valores analíticos de guayabas venezolanas rojas, amarillas y blancas, y se comparan con otros asignados en varias tablas de alimentos de otros países. Se analiza por primera vez el contenido del isómero beta.

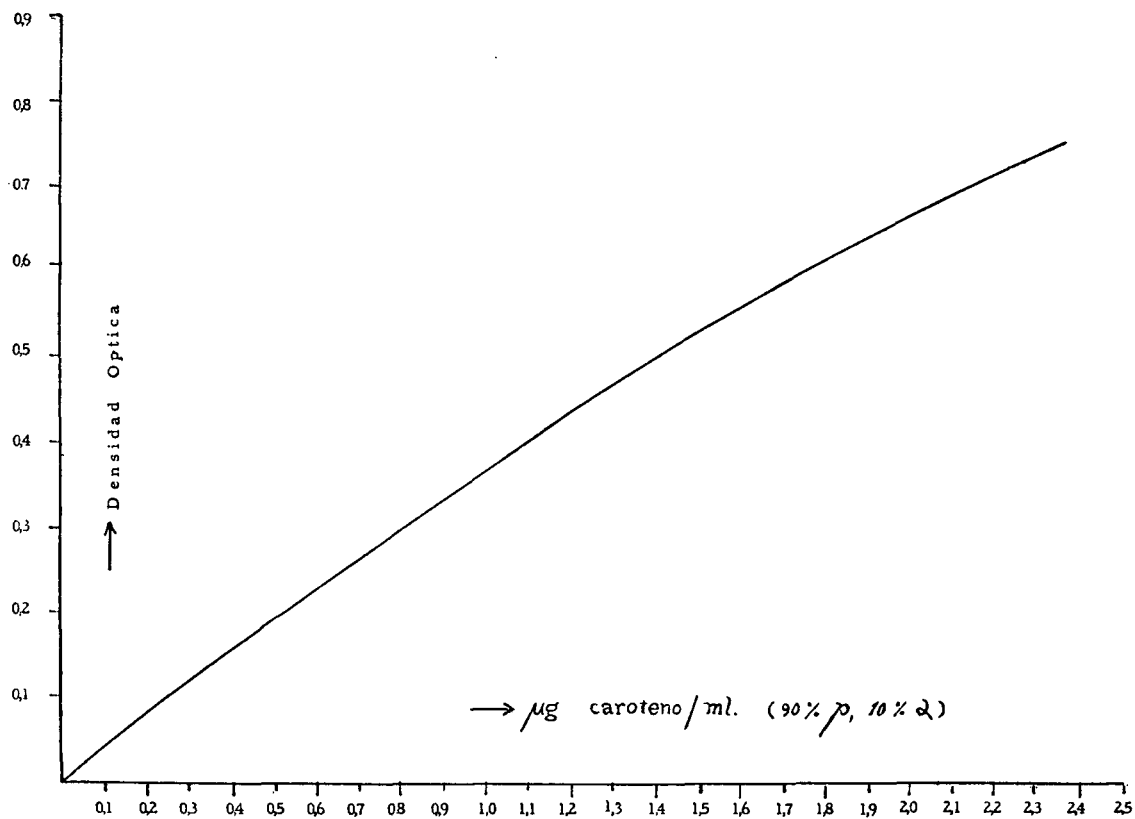


Gráfico #1: Curva estándar de caroteno disuelto en n-hexano y medida en un fotocolorímetro Evelyn

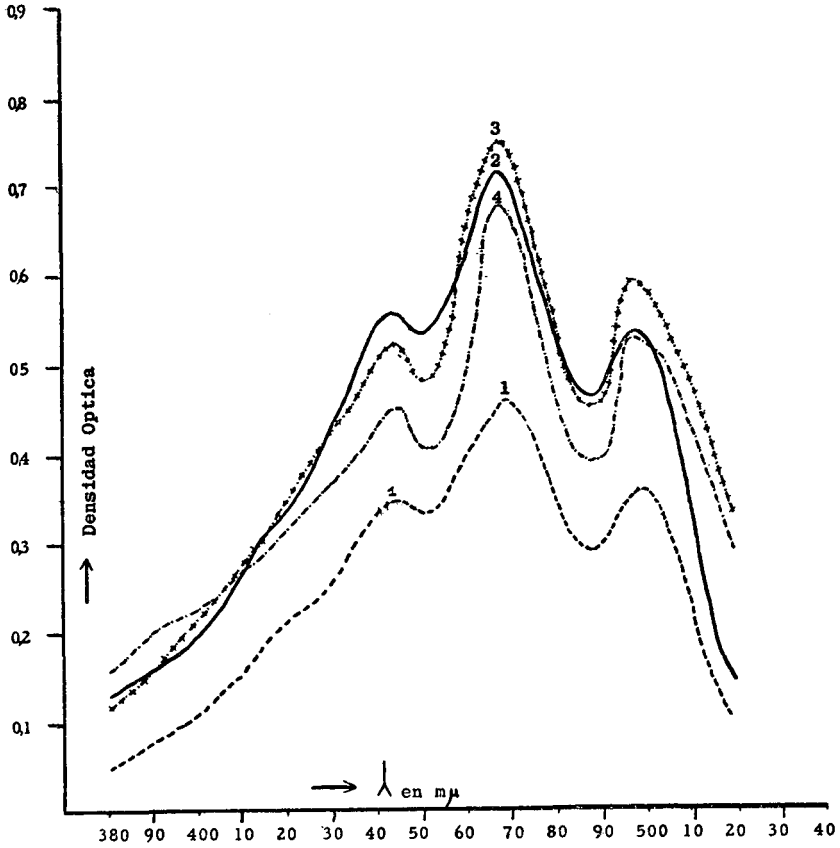


Gráfico # 2: Espectros de absorción de los extractos crudos de guayaba roja, antes y después de cromatografiados. Las curvas: {---(1)} corresponden a extractos crudos concentrados a b. m. (2) a presión reducida respectivamente (Fracción A). Las curvas {.....(3)} corresponden a extractos cromatografiados y concentrados a b. m. y a presión reducida respectivamente (Fracción B).

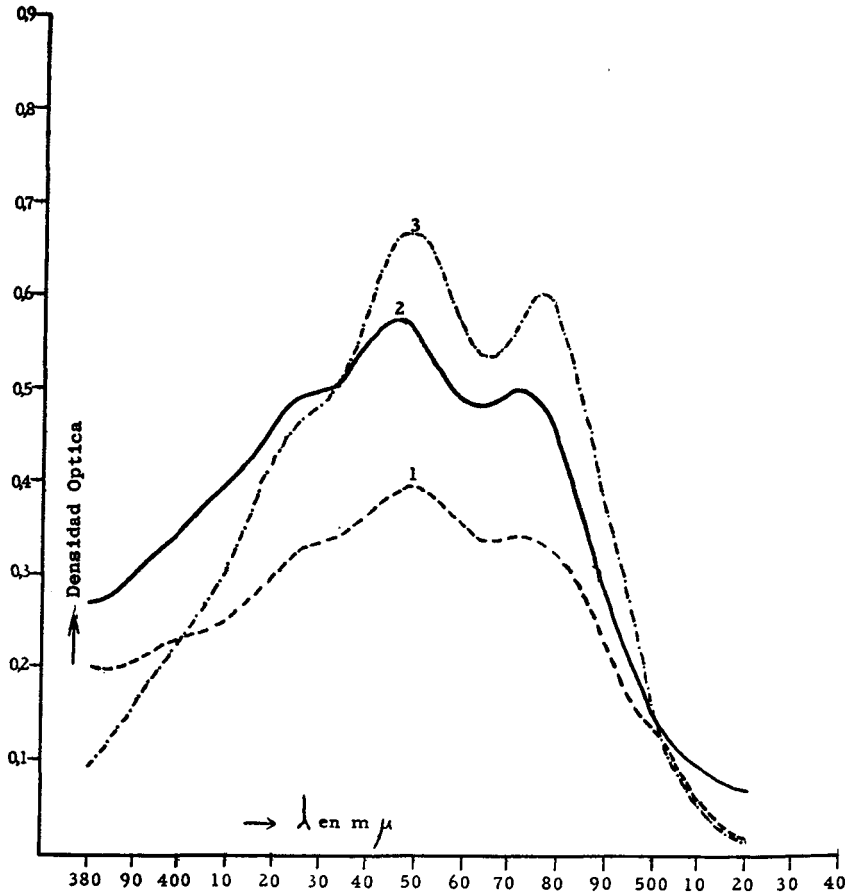


Gráfico # 3: Espectros de absorción de los extractos de guayaba roja para caroteno, junto con un standard de caroteno. Las curvas $\left\{ \begin{array}{l} \text{---} \text{---} \text{---} \\ \text{---} \text{---} \end{array} \right. \begin{array}{l} (1) \\ (2) \end{array}$ corresponden a extractos cromatografiados y concentrados a b. m. y a presión reducida respectivamente (Fracción C). La curva $\text{---} \text{---} \text{---}$ (3) corresponde al standard de caroteno (90 % β caroteno + 10 % α -caroteno).

TABLA N° 1

VALORES DE CAROTENO EN VARIEDADES DE GUAYABA VENEZOLANA

Muestra	Clave	Caroteno mg./100
ROJA	—	0.52
AMARILLA	—	0.32
AMARILLA	—	0.29
AMARILLA (verde) SILVESTRE	—	0.24
AMARILLA (madura) SILVESTRE	—	0.43
ROJA	3B	0.50
ROJA	40B	0.35
BLANCA	3	>0.01
ROJA	8	0.56
BLANCA	70	>0.01
ROJA	97B	0.32
ROJA	72	0.50

TABLA N° 2

VALORES DE VITAMINA "A" PARA LA GUAYABA
SEÑALADA EN DIVERSAS TABLAS DE ALIMENTOS

	Vitamina A U. I.
Tables of Representative Values of Foods Commonly uses in Tropical Countries (7)	200
Tabla de Composición de Alimentos de Colombia (8)	400
Tabla de Composición de Alimentos de Centro-América y Panamá (9)	23.3?
Tabla de Composición de Alimentos de Venezuela (10)	200
Tabla de Composición de Alimentos de Cuba (11)	300
Tabla de Composición de Alimentos pa- ra uso internacional, F.A.O. (12)	180
Promedio de Valores máximos obtenidos en las Variedades Rojas	833

RESUMEN

Se hace un estudio cromatográfico y espectrofotométrico de los principales carotenoides existentes en diferentes variedades de guayabas.

Se reportan valores analíticos de guayabas venezolanas rojas, amarillas y blancas, y se comparan con otros asignados en varias tablas de alimentos de otros países. Se analiza por primera vez el contenido del isómero beta-caroteno.

SUMMARY

Some of the carotinoides of the guava fruit are studied by chromatographic and spectometric methods. Quantitative values for betacarotene are given.

ZUSAMMENFASSUNG

Einige der Carotinoide der Guava-früchte wurden mit chromatographischen und spektrophotometrischen Methoden untersucht. Quantitative Bestimmungen wurden für Beta-Carotin gemacht.

BIBLIOGRAFIA

- (1) The Vitamins, edited by Sebrell and Harris. Academic Press Inc. Publishers, New York, 1954. Volume I. Page 92.
- (2) Carotenoids, Their Comparative Biochemistry by T. W. Goodwin. Chemical Publishing Co. Inc. New York, 1954. Page 24.
- (3) Beadle B. W. and F. P. Zcheile. The isomerization of B-caroteno and its relation to caroteno analysis. J. Biol. Chem. 144, 21 (1942).
- (4) Aristigueta, L. — Frutos comestibles de Venezuela. Tipografía La Nación. Caracas, 1950. Página 37.
- (5) Official Methods of Analysis of the Association of Official Agricultural Chemists. Eighth Edition, 1955. Page 816.
- (6) Massachusetts Institute of Technology. Colección y estabilización de muestras de alimentos. Sin fecha.
- (7) Tables of Representative Values of Foods Commonly Used in Tropical Countries. London: His Majesty's Stationery Office. 1945. Page 25.
- (8) Tabla de Composición de Alimentos de Colombia. 1953. Página 34.
- (9) Tabla de Composición de Alimentos de Centro-América y Panamá. 1953. Página 144.
- (10) Tabla de Composición de Alimentos de Venezuela. 1954. Página 15.
- (11) Tabla de Composición de Alimentos de Cuba, 1954. Página 94.
- (12) Tabla de Composición de Alimentos (Minerales y Vitaminas) para uso internacional. FAO. 1955. Página 39.