

## Determinación de la capacidad antioxidante de flavonoides en frutas y verduras frescas y tratadas térmicamente

Lorena R. Agostini, María J. Morón Jiménez, Adriana N. Ramón, Antonio Ayala Gómez

Facultad de Ciencias de la Salud. Universidad Nacional de Salta. Argentina, Departamento de Bioquímica, Bromatología y Toxicología. Facultad de Farmacia. Universidad de Sevilla. España

**RESUMEN.** El objetivo principal del trabajo fue determinar la capacidad antioxidante de los flavonoides en manzanas rojas con y sin cáscaras, fresas, tomates y cebollas frescas y tratadas térmicamente: calor húmedo (hervido y vapor), seco (horno) y alta frecuencia (microondas). Se realizó la medición en un espectrofotómetro de fluorescencia y el análisis estadístico a través de la Varianza y Prueba de Duncan. Los resultados indican que la capacidad antioxidante de los flavonoides de las manzanas rojas con y sin cáscaras, fresas, tomates y cebollas fue de 0,259, 0,267, 0,278, 0,165 y 0,223  $\mu\text{M}$  Equivalente Trolox, disminuyendo estos valores luego del tratamiento térmico en mayor grado por calor seco a 0,128, 0,072, 0,077 y 0,048  $\mu\text{M}$  Equivalente Trolox respectivamente y 0,146  $\mu\text{M}$  Equivalente Trolox en la cebolla hervida. Los flavonoides presentaron mayor actividad antioxidante en estado fresco, disminuyendo al ser sometidos a los distintos tipos de calor (cocción).

**Palabras clave:** Capacidad antioxidante, flavonoides, tratamientos térmicos.

**SUMMARY:** Determination of the antioxidant capacity of flavonoids in fruits and fresh and thermally treated vegetables.

The main objective of the work was to determine the antioxidant capacity of the flavonoids in red apples with and without skin, strawberries, tomatoes and fresh onions and thermally treated: humid heat (boiled and vapor), dry heat (oven) and high frequency (microwaves). The measurement was carried out in a fluorescence spectroscopy and the statistical analysis through the Variance and Test of Duncan. The results indicate that the antioxidant capacity of the flavonoids of red apples with and without skin, strawberries, tomatoes and onions were of 0,259, 0,267, 0,278, 0,165 and 0,223 Equivalent  $\mu\text{M}$  Trolox. These values diminished after the thermal treatment at a higher degree by dry heat at 0,128, 0,072, 0,077 and 0,048 Equivalent  $\mu\text{M}$  Trolox respectively and 0,146 Equivalent  $\mu\text{M}$  Trolox in the boiled onion. The flavonoids showed a higher antioxidant activity in fresh state, and their activity diminished under heat (cooking).

**Key words:** Antioxidant capacity, flavonoids, thermal treatment.

### INTRODUCCION

Tradicionalmente, los compuestos fenólicos, metabolitos secundarios de los vegetales (1) fueron considerados antinutrientes, debido al efecto negativo de uno de ellos, los taninos sobre la digestibilidad de las proteínas (2). Sin embargo, en la actualidad, se demostró que en particular, uno de los subgrupos: los flavonoides presentan actividades antioxidantes (3,4) ya que son excelentes dadores de electrones o hidrógeno con la formación de radicales intermedios relativamente estables (5). Este comportamiento está relacionado con la capacidad de quelar metales, inhibir la enzima lipooxigenasa y captar los radicales libres (6).

Los flavonoides o Vitamina P (7) están ampliamente distribuidos en el reino vegetal localizándose en la savia vacuolar de las células (8) como órganos aéreos, hojas, flores y raíces (9). Forman múltiples compuestos de bajo peso molecular (10) en su mayor parte en forma de glucósidos (11) como flavonoles, flavonas, flavanonas, antocianinas, isoflavonas, taninos condensados o no hidrolizables entre otras

(10). La mayoría se caracterizan por ser hidrosolubles y estables al calor (11) siendo susceptibles a los cambios químicos (maduración de las frutas), físicos en el procesado de los alimentos: picado y trituración (estos forman parte de la organización tisular y de estructuras, que al romperse se lixivian y se destruyen parcialmente en contacto con el aire); y térmicos, ya que el calor excesivo altera los pigmentos de los alimentos (12).

El interés en la aplicación de los flavonoides y las evidencias clínicas de sus ventajas en la salud, determinó su importancia en la prevención (13) de enfermedades neurodegenerativas (Alzheimer y Parkinson) (14), accidentes cerebro-vasculares, hepatitis, hipertensión, lupus, diabetes mellitus, fallo renal crónico, artritis reumatoidea (15), y retardo del envejecimiento (13).

Aparte de sus propiedades biológicas, poseen actividades farmacológicas y médicas (16) antiinflamatorias, antialérgicas (17) y bactericidas, vasodilatadores, entre otras (16). Por lo tanto, el objetivo del presente trabajo fue determinar la capacidad antioxidante de los flavonoides en frutas y verduras frescas y tratadas térmicamente.

## MATERIALES Y METODOS

Se utilizaron manzanas rojas (*Malus sylvestris*), fresas (*Fragaria spp.*), tomates (*Lycopersicon esculentum*) y cebollas (*Allium cepa*) en estado de maduración óptimo adquiridas en comercios locales de la ciudad de Salta, Argentina; seleccionadas según los requisitos de calidad y especificaciones del Código Alimentario Argentino (18).

Luego se procedió a lavar y eliminar partes no comestibles de las manzanas rojas con y sin cáscaras, fresas, tomates y cebollas. Cada una fue dividida en 5 grupos de 150-200 gr., uno de ellos en estado fresco y los otros fueron tratados térmicamente según técnicas establecidas para la cocción de frutas y verduras (19,20), estandarizándose las temperaturas y tiempos de cocción correspondientes (Tabla 1).

TABLA 1

Temperatura y tiempo de cocción de las frutas y verduras sometidas a diferentes tratamientos térmicos

Muestras	Métodos	Temperaturas promedios (°C)		Tiempo (minutos)
		Interna	Medio de cocción	
Manzana con cáscara	Hervido	83	96	18-23
	Vapor	81	-	19-21
	Horno	88	230-260	28-29
	Microondas	95	-	2,30
Manzana sin cáscara	Hervido	81	95	13-15
	Vapor	83	-	15-20
	Horno	90	230-260	25-27
	Microondas	95	-	2
Frutilla	Hervido	82	95	6-7
	Vapor	76	-	3
	Horno	85	230-260	9-10
	Microondas	86	-	1,30
Tomate	Hervido	80	95	13-16
	Vapor	78	-	13-16
	Horno	86	230-260	18-22
	Microondas	88	-	1,30
Cebolla	Hervido	83	95	19-22
	Vapor	82	-	18-22
	Horno	81	230-260	29-31
	Microondas	96	-	2,5

Las muestras frescas y cocidas se homogeneizaron a fin de obtener los extractos de flavonoides según el método de Villar del Fresno (21).

Al final de la extracción se obtuvieron 4 fases: clorofórmica, acética, butanólica y acuosa. La capacidad antioxidante se midió a través de un Espectrofotómetro de Fluorescencia (W excitación 540 nm; W emisión 575 nm), previa termostatación de las cubetas de 3 ml a 37°C., según el método de Packer y Glazer (22). Se trabajó únicamente en la fase acética, descartándose las clorofórmicas y butanólicas

debido a que estas sustancias solas presentaron actividad antioxidante, y la acuosa porque no presentó una lectura positiva. Los datos obtenidos se expresaron en  $\mu\text{M}$  Equivalente Trolox, compuesto análogo de la Vitamina E (23).

Los resultados de las muestras se realizaron por triplicado y fueron analizados estadísticamente mediante el análisis de Varianza (24) y Prueba de Duncan (25) y se presentan en un cuadro como promedio y desvío estándar, donde las letras distintas indican diferencias altamente significativas entre tratamientos y muestras.

## RESULTADOS

Las manzanas frescas con y sin cáscaras no presentaron diferencias estadísticamente significativas entre las muestras, siendo los valores de 0,259 y 0,267  $\mu\text{M}$  Equivalente Trolox respectivamente (Tabla 2), observándose una disminución de esta actividad en las tratadas térmicamente, sobretodo por la aplicación del calor seco (horno): 0,072  $\mu\text{M}$  Equivalente Trolox en la manzana pelada y 0,128  $\mu\text{M}$  Equivalente Trolox, con cáscara.

La mayor capacidad antioxidante en fresas fue en la muestra fresca (0,278  $\mu\text{M}$  Equivalente Trolox), y la menor actividad, en las tratadas por calor seco (0,077  $\mu\text{M}$  Equivalente Trolox), siendo igual que en las referidas anteriormente.

En el tomate en estado fresco, la actividad antioxidante fue mayor (0,165  $\mu\text{M}$  Equivalente Trolox), en relación a los tratados por hervido (0,154  $\mu\text{M}$  Equivalente Trolox), vapor (0,141  $\mu\text{M}$  Equivalente Trolox), microondas (0,126  $\mu\text{M}$  Equivalente Trolox) y horno (0,048  $\mu\text{M}$  Equivalente Trolox).

La capacidad antioxidante de cebollas frescas fue de 0,223  $\mu\text{M}$  Equivalente Trolox, siendo la menor actividad en las tratadas por hervido (0,146  $\mu\text{M}$  Equivalente Trolox) y vapor (0,151  $\mu\text{M}$  Equivalente Trolox), diferenciándose de los casos anteriores.

## DISCUSION

La disminución de la capacidad antioxidante de los flavonoides de las manzanas frescas con y sin cáscaras por los tratamientos de cocción puede ser debida a la destrucción de los mismos causada por la temperatura y tiempo de cocción (calor seco: horno), temperatura interna del alimento (tratamiento por microondas) o por el tipo de calor aplicado.

El menor valor se obtuvo en la aplicación de calor seco (horno) por las temperaturas elevadas aplicadas y tiempo prolongado de cocción. Por otra parte, la diferencia observada entre las manzanas con y sin cáscaras horneadas puede ser debida a que la cáscara actúa como medio de protección durante la cocción del alimento evitando en lo posible las pérdidas de estos compuestos.

TABLA 2  
Capacidad antioxidante de flavonoides de frutas y verduras frescas y tratadas térmicamente  
( $\mu$ M Equivalente Trolox por gr de muestras)

Ttos Frutas/verduras	Fresco	Hervido	Vapor	Microondas	Horno
Manzanas con cáscaras	0,259±0,006* <sup>a</sup>	0,237±0,007 <sup>ab</sup>	0,223±0,006 <sup>b</sup>	0,172±0,008 <sup>c</sup>	0,128±0,003 <sup>d</sup>
Manzanas sin cáscaras	0,267±0,004 <sup>a</sup>	0,247±0,005 <sup>ab</sup>	0,242±0,003 <sup>ab</sup>	0,212±0,008 <sup>b</sup>	0,072±0,003 <sup>c</sup>
Frutillas	0,278±0,006 <sup>f</sup>	0,226±0,005 <sup>e</sup>	0,228±0,002 <sup>e</sup>	0,138±0,004 <sup>h</sup>	0,077±0,005 <sup>i</sup>
Tomates	0,165±0,008 <sup>j</sup>	0,154±0,004 <sup>j</sup>	0,141±0,008 <sup>ik</sup>	0,126±0,004 <sup>k</sup>	0,048±0,007 <sup>l</sup>
Cebollas	0,223±0,005 <sup>m</sup>	0,146±0,007 <sup>n</sup>	0,151±0,007 <sup>n</sup>	0,198±0,005 <sup>m</sup>	0,158±0,007 <sup>n</sup>

\*X ± D.E. p ≤ 0,01

Las letras iguales indican que no se presentan diferencias estadísticamente significativas

En diversos estudios se ha observado una disminución de los flavonoles como quercetina y kaempferol en frutas hervidas, por la producción de reacciones de oxidación (26) o la lixiviación de los compuestos en el agua de cocción (27).

Las fresas presentaron la mayor capacidad antioxidante, la cual disminuyó a partir de los tratamientos térmicos en especial por calor seco. Waterman y Mole (26) observaron que durante el hervido de frutas el contenido de quercetina y kaempferol (flavonoles) disminuyó sobre su cantidad original.

Con respecto a los tomates, estos presentaron igual tendencia que los casos mencionados anteriormente. Estudios realizados por Crozier, A., Lean, M. E. J., Morag, S. M. and Black, C. (28) demostraron una disminución de los flavonoides en tomates tratados por calor húmedo: hervido y según Hakkinen, Karenlampi, Mykkänen y Törrönen (27) esto se debe a una lixiviación de los compuestos en el agua de cocción.

La cebolla en estado fresco mostró mayor actividad en relación a las tratadas térmicamente, pero se diferenciaron de las restantes muestras estudiadas porque presentaron menor capacidad en las sometidas a calor húmedo con respecto al microondas y horno, lo que puede ser debido a que por las características propias del alimento, se produzca una mayor solubilización de estos compuestos.

Otros autores observaron que la quercetina libre que se encuentra en partes comestibles de cebollas crudas y cocidas, y conjugada presente en bulbos fueron resistentes a la degradación durante las operaciones domésticas normales (hervido y fritura) (29). Por otra parte, en tomates y cebollas se disminuyó el contenido de flavonoides en relación a su cantidad original (27), debido probablemente a una liberación de los compuestos en el medio de cocción (29). Además se observó que en ciertas verduras, una parte de los glucósidos de flavonoles individuales han sido retenido en los tejidos cocinados y el resto, lixiviado dentro del agua de cocción (30).

## CONCLUSIONES

Las frutas y verduras frescas presentaron mayor capacidad antioxidante que las tratadas térmicamente, siendo la frutilla la que mayor valor obtuvo con respecto a las otras muestras frescas. El pelado de las manzanas rojas horneadas influyó sobre su actividad.

La capacidad antioxidante de flavonoides de las frutas y verduras disminuyó con la aplicación de los tratamientos térmicos, obteniendo el menor valor en las manzanas rojas con y sin cáscaras, fresas y tomates tratadas por calor seco (horno); y en cebollas, por calor húmedo (hervido y vapor).

## AGRADECIMIENTOS

Queremos agradecer a la Profesora Laura Moreno por su aporte en la traducción de este manuscrito, y al Departamento de Bioquímica, Bromatología y Toxicología de la Facultad de Farmacia de la Universidad de Sevilla, España por su buena disposición para el desarrollo de este trabajo.

## REFERENCIAS

1. Shahidi F, Nacz M. Foods phenolics. sources, chemistry, effects, application. Tecnnomic, publishing co. inc eds. Lancaster, Pennsylvania. USA; 1995. (original no consultado compendiado en Martínez - Valverde, J., Periago, M. J. y Ros, G. Significado nutricional de los compuestos fenólicos de la dieta. Arch Latinoamer Nutr. 2000; 50 (1): 5-18.
2. Martínez - Valverde J, Periago MJ y Ros G. Significado nutricional de los compuestos fenólicos de la dieta. Arch Latinoamer Nutr. 2000; 50 (1): 5 -18.
3. Pratt DE. Natural antioxidant from plant material. In: Huang, M. T, Ho, C. T. and Li, C. Y, eds. Acs symposium series 507. Phenolic compounds in food and their effects on health II.

- Antioxidants and cancer prevention. American Chemical Society. Washington, D.C; 1992. p 54 - 68. (Original no consultado compendiado en Martínez - Valverde, J., Periago, M. J. y Ros, G. Significado nutricional de los compuestos fenólicos de la dieta. Arch Latinoamer Nutr. 2000, 50 (1): 5-18.
4. Pratt DE and Hudson BJS. Natural antioxidant no exploited commercially. In: Hudson, B. J. F. de Elsevier Applied Sciences. Food antioxidants. London; 1990. p. 171-180. (original no consultado compendiado en Martínez - Valverde, J., Periago, M. J. y Ros, G. Significado nutricional de los compuestos fenólicos de la dieta. Arch Latinoamer Nutr. 2000; 50 (1): 5-18.
  5. Nawar WW. Lípidos. En: Fennema, U. R. Química de los alimentos. (traducido del original en inglés por Calvo Rebollar, P.). Editorial Acribia, S.A. Zaragoza. España; 1993. p.223 - 227.
  6. Decker EA. Phenolics: prooxidants or antioxidants?. Nutritional Reviews. 1997; 55 (1): 396 - 398. (original no consultado compendiado en Martínez - Valverde, J., Periago, M. J. y Ros, G. Significado nutricional de los compuestos fenólicos de la dieta. Arch Latinoamer Nutr. 2000. 50 (1): 5-18.
  7. Salazar LE. Té verde. <http://www.nutrinfo.com.ar/pagina/info/teverde.html>. 2002. pp. 1- 3.
  8. Braverman JBS. Introducción a la bioquímica de los alimentos. (traducido el original en inglés por Sanz Pérez, B. y Burgos González, J.) 2da edición. Barcelona. España: Editorial Omega, S. A.; 1978. p. 228, 229, 242-254.
  9. Villar del Fresno AM. Flavonoides. En Villar del Fresno, A. M. Farmacognosia General. Madrid. España: Editorial Síntesis; 1999. p. 209 -217.
  10. Hertog MGI, Hollman PCH and Van de Putte, B. Content of potentially anticarcinogenic flavonoids of tea infusions, wines and fruit juices. J Agric Food Chem. 1993; 41:1242-1246. (original no consultado compendiado en Martínez - Valverde, J., Periago, M. J. y Ros, G. Significado nutricional de los compuestos fenólicos de la dieta. Arch Latinoamer Nutr. 2000. 50(1):5-18.
  11. Francis FJ. Pigmentos y otros colorantes. En: Fennema, O. R. Química de los alimentos (traducido del original en inglés por López Lorenzo, P.) Zaragoza. España: Editorial Acribia, S.A.; 1993. p. 635-648.
  12. Potters NM y Hotch Kiss JH. Ciencia de los alimentos. (traducido del original en inglés por Torija Isasa, M. E.). Zaragoza. España: Editorial Acribia, S. A; 1995. p. 44 - 45.
  13. Institute of food technologists (IFT). Antioxidantes: beneficios funcionales y nutraceuticos. La Alimentación Latinoamericana. 1998; 226: 55-58.
  14. Romero Ramos M. Efecto de la disminución de la capacidad de protección frente a oxidaciones sobre el sistema dopaminérgico nigro-estriado (tesis doctoral). España. Universidad de Sevilla. Facultad de Farmacia; 1999. p. 1 - 205.
  15. Jiménez MD, Silvia. Radicales libres, amigos del envejecimiento. [http://www.saludpr.com/radicales-ibres-amigos\\_del\\_envejecimiento.htm](http://www.saludpr.com/radicales-ibres-amigos_del_envejecimiento.htm). 2001. pp.1-2.
  16. Guohua C, Sofic E and Ronald LP. Antioxidant and prooxidant behaviour of flavonoids. structure activity relationships. Free radical biology and medicine. 1997; 22 (5): 749 - 760. (original no consultado compendiado en Martínez - Valverde, J., Periago, M. J. y Ros, G. Significado nutricional de los compuestos fenólicos de la dieta. Arch. Latinoamer. Nutr. 2000. 50 (1): 5-18).
  17. Borrego Ros F. Propiedades de los flavonoides cítricos. Naranja y salud. <http://www.ediho.es/horticom/news/22.html>. 2001. 1 p.
  18. De la Canal e Asociados, eds. Código Alimentario Argentino Actualizado. Cap. XI. Buenos Aires. Argentina; 1982.p.135-138.
  19. Garimaldi U. Los alimentos y su manejo. Ediciones H. A. Macchi. Buenos Aires. Argentina; 1968. p. 50-56.
  20. Jiménez MJ. Variación de peso, volumen y calidad sensorial de alimentos según los métodos de cocción. Consejo de Investigación. Facultad de Ciencias de la Salud. Universidad Nacional de Salta. Salta. Argentina; 1998. p 7-32.
  21. Villar del Fresno AM. Flavonoides. En Villar del Fresno, A. M. Farmacognosia General. Madrid. España: Editorial Síntesis; 1999. p. 209 -217.
  22. Packer L, Glazer AN. Methods in enzymology. Oxygen radicals and antioxidants. Part B. Vol. 186. San Diego. California: Editorial Academic Press. INC; 1990. p.161-168.
  23. Cano MJ, Ayala A, Murillo ML y Carreras O. Protective effect of folic acid against the oxidative stress produced in 21- day post-partum rats by maternal ethanol consumption during pregnancy and lactation period. Free Rad. RES. 2001;34:1- 8.
  24. Snedecor GH and Cochran WG. Métodos estadísticos (traducido del original en inglés por Reinos Fuller, J. A.). México (D. F.): Compañía Editorial Continental S. A.; 1971. p. 373-417.
  25. Duncan DB. Multiple range and multiple f test. Biometrics II; 1955. p. 1-42.
  26. Waterman PG, Mole S. In analysis of phenolic plant metabolites. The methods in ecology series. Lawton, J. H., Likens, G. E., eds. Blackwell Scientific Publications. Oxford; 1994. (original no consultado compendiado en Häkkinen, S. H., Karenlampi, S. O., Mykkanen, H. M. and Torronen, A. R. Influence of domestic processing and storage on flavonol contents in berries. J Agric Food Chem. 2000;48:2960 - 2965).
  27. Häkkinen SH, Karenlampi SO, Mykkanen HM and Torronen AR. Influence of domestic processing and storage on flavonol contents in berries. J Agric Food Chem. 2000; 48:2960 - 2965.
  28. Crozier A, Lean MEJ, Morag SM and Black C. Quantitative analysis of the flavonoid content of commercial tomatoes, onions, lettuce and celery. J Agric Food Chem.1997;45:590 - 595.
  29. Price KR, Bacon JR and Rhodes MJC. Effects of storage and domestic processing on the content and composition of flavonol glucosides in onion (*allium cepa*). J Agric Food Chem. 1997; 45: 938 - 942.
  30. Price KR, Casuscelli F, Colquhoun IJ, Barnes KA and Rhodes MJC. Composition and content of flavonol glycosides in broccoli florets (*brassica olearacea*) and their fate during cooking. J. Sci. Food Agric. 1998; 477: 468 - 472. (original no consultado compendiado en Häkkinen, S. H., Karenlampi, S. O., Mykkanen, H. M. and Torronen, A. R. Influence of domestic processing and storage on flavonol contents in berries. J. Agric. Food Chem. 2000; 48: 2960-2965).

Recibido: 13-06-2003

Aceptado: 05-03-2004