

# ESTUDIO Y CUANTIFICACIÓN DE CAROTENOIDES POR MÉTODOS ESPECTROSCÓPICOS DEL FRUTO DEL NÍSPERO DE LA SIERRA Y SU VALORACIÓN COMO ALIMENTO FUNCIONAL

Nancy Chasquibol S.<sup>1</sup>, José Luis López G.<sup>1</sup>, Robert Cárdenas O.<sup>2</sup>, Maribel Rodríguez V.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Facultad de Química e Ingeniería Química de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos,

<sup>2</sup>Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Norbert Wiener

## RESUMEN

En el presente trabajo se estudió el fruto del «Níspero de la Sierra» como alimento funcional. Se caracterizaron los pigmentos carotenoides presentes, separándose dos pigmentos carotenoides en cromatografía de capa fina, los cuales se identificaron por sus características espectrales en diferentes solventes, identificándose el  $\beta$ -caroteno (15.18 mg/kg).

Se determinó el contenido de minerales: potasio (1566 ppm), sodio (745 ppm), calcio (424 ppm), magnesio (290 ppm) y hierro (5.40 ppm); así como el análisis proximal siendo los carbohidratos (34.72%) el componente mayoritario.

**Palabras clave:** Alimento funcional, Carotenoides, Minerales, Composición centesimal, Níspero de la sierra.

## ABSTRACT

In this research we studied the fruit of «Níspero de la Sierra» as functional food. The carotenoids have been fractionated in two bands by layer chromatography. The major pigment was identified by its spectral characteristics in several solvents:  $\beta$ -caroteno (15.18 mg/kg).

The quantification of minerals and proximal analysis were: potassium (1566 ppm), sodium (745 ppm), calcium (424 ppm), magnesium (290 ppm), iron (5.40 ppm); and carbohydrates (34.72%), respectively.

**Keywords:** Functional food, Carotenoids, Minerals, Proximal analysis, Níspero de la sierra.

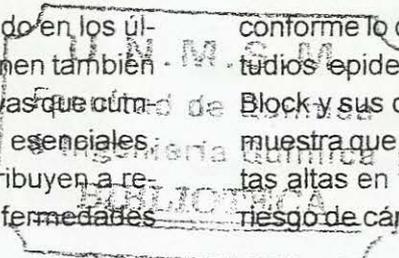
## I. INTRODUCCIÓN

### Alimentos funcionales

El concepto tradicional de que la dieta diaria debe proveer cantidades adecuadas de nutrientes esenciales, para el mantenimiento de una salud óptima, ha cambiado en los últimos años; los alimentos contienen también sustancias fisiológicamente activas que cumplen, al igual que los nutrientes esenciales, una función de beneficio y contribuyen a reducir la incidencia de ciertas enfermedades

crónicas y, por lo tanto son necesarias para una vida saludable<sup>1</sup>.

Estudios epidemiológicos en vivo, in vitro y clínicos indican que una dieta a base de vegetales puede reducir el riesgo de enfermedades crónicas, especialmente del cáncer, conforme lo demuestra la revisión de 200 estudios epidemiológicos llevada a cabo por Block y sus colaboradores, en la cual se muestra que en personas que consumen dietas altas en frutas y vegetales, se reduce el riesgo de cáncer<sup>2,3</sup>.



Podemos definir al alimento funcional como «todo aquel alimento semejante en apariencia física al alimento convencional, consumido como parte de la dieta diaria, pero capaz de producir efectos metabólicos o fisiológicos, útiles en la mantención de una buena salud física y mental, pudiendo auxiliar en la reducción del riesgo de enfermedades crónico-degenerativas, además de sus funciones nutricionales básicas»<sup>4</sup>.

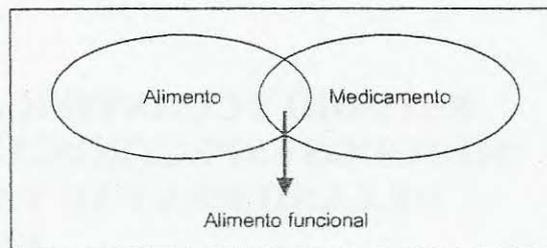
La base de estos componentes es eminentemente de origen vegetal o fitoquímica. Los alimentos funcionales que proveen un posible beneficio fisiológico en el control o prevención de enfermedades representan una oportunidad para el desarrollo de nuevos productos.

**Propiedad o alegación funcional:** Está relacionada al papel metabólico estructural o fisiológico sobre el crecimiento, desarrollo, mantención y otras funciones normales del organismo.

**Propiedad o alegación de salud («health claim»):** Constituye la relación entre el alimento o ingrediente presente con una dolencia o condición determinada de salud.

El FDA (Food and Drug Administration) norteamericana autoriza la utilización de alegaciones de salud (health claims) en un contado número de situaciones:

1. Calcio y osteoporosis.
2. Sodio e hipertensión arterial.
3. Grasas en la dieta y cáncer.
4. Grasas saturadas y colesterol con coronariopatías.
5. Productos en base a cereales, frutas, vegetales y cáncer.
6. Frutas, vegetales y productos en base a cereales con fibra.
7. Frutas y vegetales y cáncer.
8. Folatos y defectos del tubo neural al nacer.
9. Azúcares y caries dental.
10. Fibra soluble de la dieta y coronariopatías.



El término «fitoquímicos» constituye la evolución más reciente del término de «alimentos funcionales» y enfatiza las fuentes vegetales de la mayoría de los compuestos preventivos de enfermedades.

### Alimentos funcionales y los antioxidantes

Las investigaciones para la comprobación científica de las propiedades de los alimentos funcionales, principalmente en el caso de las frutas, las verduras y los cereales se vienen realizando, identificándose los principios activos y convalidando la seguridad y dosis a utilizar, estableciéndose marcadores analíticos, ensayos clínicos y demostración de efectos bioquímicos y fisiológicos.

Los antioxidantes incluyen varios componentes, tales como: vitaminas, minerales, carotenoides, polifenoles que están presentes en diferentes alimentos. Algunos son los mismos colorantes naturales que otorgan al alimento su apariencia característica, el rojo profundo de las cerezas o de los tomates, el naranja de las zanahorias y el color amarillo del maíz, los mangos y el azafrán. Los antioxidantes más conocidos son las vitaminas A, C y E, el betacaroteno y el selenio.

Los antioxidantes existen en forma natural en los siguientes alimentos: Tomates, maíz, zanahorias, mangos, camote, brócoli, brotes de soya, sandía, naranjas, espinaca, nueces, lechuga, apio, hígado, aceite de pescado, semillas, cereales, té (negro y verde).

Se ha demostrado que el consumo del antioxidante carotenoide luteína aumenta la densidad del pigmento macular. No puede afirmarse con certeza si esto evitará o revertirá el progreso de la degeneración macular. El consumo de té, tanto verdes como negros, facilita la rápida absorción de la catequina,

un antioxidante polifeno<sup>9</sup> que ayuda a mantener la salud cardiovascular<sup>10</sup> y que puede reducir el riesgo de algunos cánceres. Hasta hace poco tiempo, estaba claro que los antioxidantes eran prácticamente una panacea para lograr una constante buena salud<sup>11</sup>, lo que motivó la creación de una enorme industria que intentó satisfacer la demanda de los consumidores. Sin embargo, investigaciones más recientes que estudiaron los mecanismos de la acción de los antioxidantes, dejaron en claro que existe una historia mucho más compleja detrás de estos mecanismos que aún no se llegó a desentrañar por completo. Por ejemplo, se puede afirmar que ciertos individuos, tales como los fumadores, no deberían consumir altas dosis complementarias de betacaroteno<sup>12</sup>.

### Los carotenoides

Los carotenoides o tetraterpenoides son una clase de pigmentos terpenoides con 40 átomos de carbono derivados biosintéticamente a partir de dos unidades de geranyl-geranylpirofosfato, en su mayoría son solubles en solventes apolares y de coloraciones que oscilan entre el amarillo (por ejemplo, el  $\beta$ -caroteno) y el rojo (por ejemplo el licopeno). La **Figura 1**, muestra algunos ejemplos de los carotenoides más distribuidos en la naturaleza.

Los carotenos, incluyen alfa, beta y epsilon-caroteno, los únicos que poseen actividad como vitamina A. El beta-caroteno es el más activo. Estos carotenos, conjuntamente con el gamma-caroteno, el licopeno y la luteína, parecen ofrecer protección contra el cáncer de los pulmones, cáncer colorectal, cáncer de las glándulas mamarias, cáncer del útero y cáncer de la próstata<sup>15</sup>.

Los carotenos tienen un efecto favorable para el sistema inmunológico y protegen a la piel contra la radiación ultravioleta<sup>16</sup>.

Esta subclase de terpenos se encuentran en los pigmentos de color amarillo intenso, naranja y rojo de los vegetales como el tomate, el perejil, la naranja, la toronja roja, la espinaca, el aceite de palma, la yema de huevo, etc.

Se conocen más de 600 carotenoides, y se les encuentra en forma libre, como ésteres de ácidos grasos o como glicósidos. Incluyen dos tipos de moléculas: carotenos y xantofilas<sup>17</sup>.

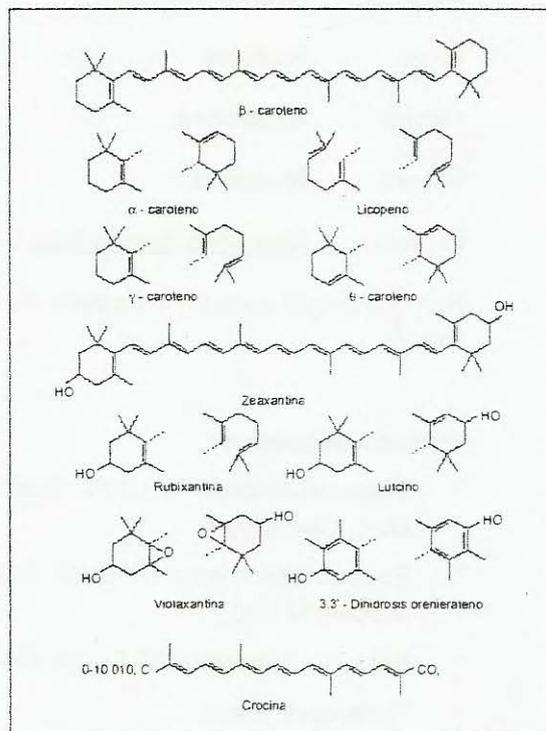


Fig. N° 1. Ejemplos de carotenoides naturales ampliamente distribuidos.

El objetivo del presente trabajo es caracterizar al fruto del «nispero de la sierra como alimento funcional».

## II. MATERIALES Y MÉTODOS

### Materiales

#### Procedencia de la muestra

Para este estudio se eligió el fruto «Nispero de la Sierra», procedente de la región de Huancayo, el cual es empleado como fruto y en la preparación de mermeladas.

La muestra vegetal fue estudiada, identificada y clasificada en el Museo de Historia Natural de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos como *Mespilus germanica* Linneo y según el sistema de clasificación de TAKHTAJAN (1980), ubicándose en las siguientes categorías taxonómicas:

División: **Angiospermas**  
Clase: **Dicotiledoneae**  
Subclase: **Archiclamideae**  
Orden: **Rosales**  
Familia: **Rosaceae**  
Género: **Mespilus**  
Especie: **Mespilus germanica Linneo**  
Nombre vulgar común: «Níspero de la sierra».

#### Equipos utilizados

- Espectrofotómetro UV/V Spectronic, Mod. Genesys 5.
- Espectrofotómetro IR Buck Scientific, Modelo M 500.
- Espectrofotómetro AA Perkin Elmer.
- Rotavapor Buchi.
- Lámpara UV/V provista de luz blanca y ultravioleta.
- Balanza Analítica Sartorius, Modelo BP 2215.
- Cámara Cromatográfica 30 x 30 x 7 de vidrio.

#### Métodos analíticos

##### Determinación de minerales

Los minerales de magnesio, calcio, hierro, potasio y sodio en el fruto del «Níspero de la sierra», fueron determinados por absorción atómica, según el método de USAQ-ME-04.

##### Análisis químico proximal

En el fruto del «Níspero de la sierra», se realizó las siguientes determinaciones:

**Humedad:** Se determinó la humedad secando la muestra en estufa a 100°C hasta peso constante.

**Proteína:** Digestión ácida, por el método Kjeldahl. Se destruyó la materia orgánica y se liberó el nitrógeno (utilizando digestor) como sulfato de amonio y destilador de operación manual. Neutralización con NaOH, destilado para liberar el amoniaco (capturado con ácido bórico). Se tituló para calcular el porcentaje de nitrógeno (Método AOAC 984.13).

**Grasa:** Por extracción con éter de petróleo en un Extractor SOXHLET (Método AOAC 920.39).

**Cenizas:** Por carbonización y posterior calcinación de la muestra a 550°C, hasta peso constante (Método AOAC 942.05).

**Fibra cruda:** Se realizó la determinación de fibra dietaria total por el método enzimático gravimétrico (Método AOAC 968.08).

**Carbohidratos:** Se determinó restando de 100, los porcentajes de humedad, proteína bruta, grasa bruta, cenizas y fibra cruda.

#### Determinación de carotenoides

##### Extracción de carotenoides

Se pesó 54 g del fruto del «Níspero de la sierra», homogenizándolo rápidamente en una licuadora que contenía unos 100 mL de N, N-dimetilformamida saturada de MgCO<sub>3</sub>. Se trituró durante un minuto y se filtró a vacío. El residuo se recogió y se procede como antes tres veces más.

Los filtrados se recogieron en un embudo o pera de decantación y se trataron con 70 mL de hexano. Se agitó por 1 minuto, se dejó reposar hasta completa separación de fases, se decantó la fase inferior N, N-dimetilformamida y se trató con hexano 2 veces más.

Se juntaron las fases superiores de hexano (fase orgánica) se concentró en rotavapor y se realizó el espectro de absorción para cuantificar el betacaroteno.

Para la purificación de los carotenos del fruto del «Níspero de la sierra», se transfirió 100

mL de éter etílico y se llevó a cabo la saponificación con 100 mL de KOH al 20% en metanol a temperatura ambiente, hasta el día siguiente, después se añadió agua destilada para separar los jabones.

La fase acuosa se despreció y la fase orgánica o etérea se lavó sucesivamente con agua destilada hasta pH neutro, tratándose entonces con sulfato de sodio acuoso al 2%. Se filtró en lecho de sulfato sódico anhidro y se evaporó en rotavapor hasta sequedad, a temperatura inferior a 30°C. El residuo se eluyó con 3 ó 5 mL de acetona.

### Separación de carotenos

La separación de pigmentos se efectuó por cromatografía en capa fina, utilizando cromatofolios (20x20 cm) revestidas con gel de sílice 60 GF<sub>254</sub> (Merck N° 7730) y de espesor 0.7mm. La cromatografía se desarrolló en cámara saturada empleando los siguientes solventes de desarrollo. Éter de petróleo (65-95°C) / acetona / dietilamina (10:4:1).

### Identificación de carotenos

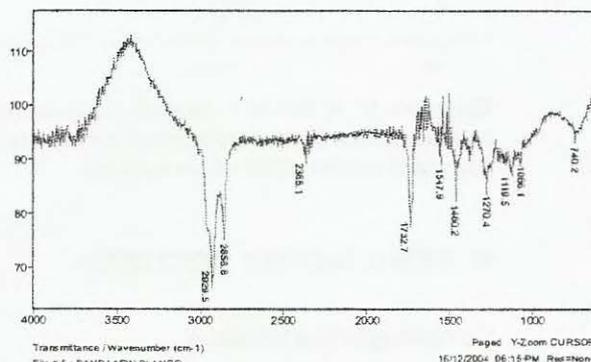
Se tuvo en cuenta las propiedades de adsorción de estos pigmentos en capa fina, el espectro de absorción en el visible y bandas de absorción en el IR (**Espectro N° 1**).

### Cuantificación de carotenos

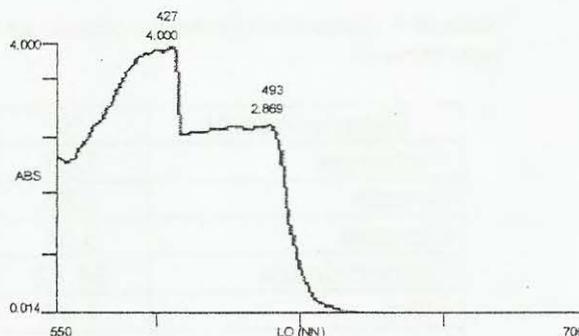
Luego de haber concluido el desarrollo cromatográfico del extracto de pigmentos del fruto del «Nispero de la sierra»; para la cuantificación se raspó a partir de la placa cromatográfica la sustancia correspondiente, luego se eluyó con acetona y se llevó a un volumen determinado. A continuación se obtuvo el respectivo espectro de absorción, el valor de la constante de extinción E; a la longitud de onda de máxima absorción (**Espectros N° 2, 3 y 4**).

Realizadas las operaciones oportunas, los resultados se dan en mg/kg de fruto.

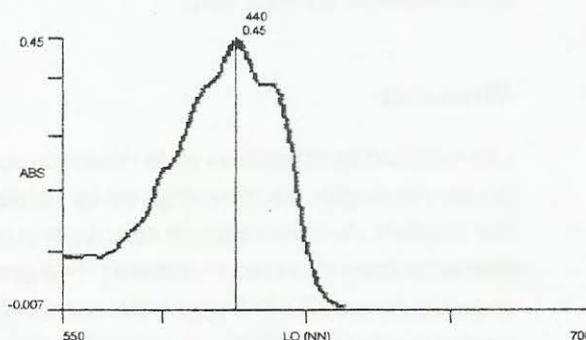
Los valores calculados para el coeficiente de extinción E, en acetona, a partir de los que da la bibliografía en etanol para carotenoides<sup>20</sup>.



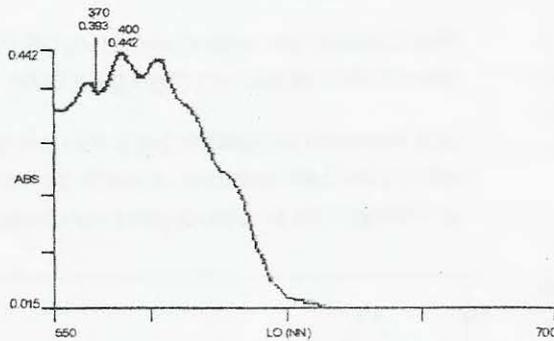
**Espectro N° 1.** Espectro IR de los Carotenoides del Fruto del «Nispero de la sierra».



**Espectro N° 2.** Carotenos Totales de los Carotenoides del Fruto del «Nispero de la sierra» antes de la Saponificación.



**Espectro N° 3.** Banda 1 Después de la Separación Cromatográfica de los Carotenoides del Fruto del «Nispero de la sierra» en 25 mL de Acetona.



**Espectro N° 4.** Banda 2 después de la separación cromatográfica de los carotenoides del fruto del «Nispero de la sierra» en 25 mL de Acetona.

### III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### Constituyentes básicos

Los resultados obtenidos en las determinaciones realizadas se muestran en la **Tabla N° 1**.

**Tabla N° 1.** Composición Centesimal del fruto del «Nispero Serrano».

| Determinación | %     |
|---------------|-------|
| Proteínas     | 1.07  |
| Grasas        | 0.65  |
| Cenizas       | 0.61  |
| Carbohidratos | 34.72 |
| Fibra         | 4.41  |
| Humedad       | 58.54 |

A partir de estos resultados se puede establecer que los carbohidratos es el principal constituyente de este fruto.

#### Minerales

Los resultados obtenidos en la determinación de los minerales se muestran en la **Tabla 2**. Del análisis de minerales se concluye que el elemento mayoritario es el potasio (1566 ppm), seguido del sodio (745 ppm), del calcio (424 ppm) y magnesio (290 ppm), respectivamente.

**Tabla N° 2.** Contenido de Minerales del fruto del «Nispero Serrano».

| Determinación | ppm  |
|---------------|------|
| Hierro        | 5.40 |
| Magnesio      | 290  |
| Calcio        | 424  |
| Potasio       | 1566 |
| Sodio         | 745  |

#### Carotenoides

En el fruto del «Nispero Serrano», fueron aislados y separados dos carotenoides por cromatografía en capa fina y por espectrofotometría visible e infrarroja. Identificándose el  $\beta$ -caroteno como componente mayoritario, el cual presenta una banda ancha de color amarillo intenso y longitudes máximas de absorción a 427 y 493 nm.

Se obtuvo un contenido de 15.18 mg del  $\beta$ -caroteno por cada kilogramo del «Nispero de la sierra».

### IV. CONCLUSIONES

Se comprobó el aporte energético que brinda este fruto en minerales, carbohidratos, proteína, grasa y fibra. Estas características hacen del Nispero de la sierra un alimento de excelente contenido energético, apto en su integridad para el consumo humano y de excelente alternativa para dietas vegetarianas, con un importante aporte de compuestos antioxidantes como son los carotenoides, carbohidratos y minerales, especialmente potasio, sodio y calcio; los cuales en conjunto cubren una buena parte de la ingesta diaria recomendada, pudiendo ser recomendado como un alimento funcional, representando un importante nicho de mercado.

## V. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Caragay, A.B. *Food Technol.* 46 (4):65-68 (1992).
2. Steimetz, K.A. y Potter, J.D. *Cancer causes Control* 2: 325-357 (1991a).
3. Steimetz, K.A. y Potter, J.D. *Cancer causes Control* 2: 427-442 (1991b)
4. Functional Foods for Health  
<http://www.ag.uiuc.edu/~ffh/ffh.html>
5. Cross, CE, et al. *Ann Intern Med.* 1987; 107: 526-545.
6. Zaman, Z, et al. *Age and Ageing.* 1992; 21: 91-94.
7. Pike, J, Chandra, RK. *Int Vitam Nutr Res.* 1995; 65: 117-121.
8. Robertson, JM, et al. *Ann NY Acad Sci.* 1989; 570: 372-382.
9. Bortz, W. quoted in «Mixed Messages» by Wanjek, C. *Washington Post.* Aug 7, 2001.
10. van het Hof, KH, et al. *Eur J Clin Nutr.* 1998; 52: 356-359.
11. Wiseman, S, et al. *Bioactive compounds in plant foods.* 2001. COST 916 Conference. Tenerife, Spain.
12. Redlich, CA, et al. *Atherosclerosis.* 1999; 143: 427-434.
13. Tribble, DL, *Circulation.* 1999; 99: 591-595.
14. Food and Nutrition Board, Institute of Medicine. 2000. *Dietary Reference Intakes for Vitamin C, Vitamin E, Selenium, and Carotenoids.* National Academy Press, Washington, DC.
15. Bendich, A. *J. Nutri.* 119 (1): 112-115 (1989).
16. Bendich, A. y Olson, J. A. *FASEB J.* 3(1): 1927-1932 (1989).
17. Britton, G. *Carotenoids and Colors in Fruits and vegetables.* *Phytochemistry of fruit and vegetables*, eds. Clarendon Press, Oxford, pp.11-27 (1997).