



Universidad
Zaragoza

Trabajo Fin de Carrera

Caracterización de los antioxidantes naturales
presentes en el tomate rosa de Barbastro y
determinación de su valor nutritivo y funcional

Autor

Izarbe Sanvicente Benedico

Director/es

Dra. Esther Asensio Casas

Dra. Susana Menal Puey

Escuela Politécnica Superior de Huesca

2015

Agradecimientos

En primer lugar, me gustaría agradecer a Esther Asensio y Susana Menal su dedicación en las diferentes etapas dentro de la elaboración de este proyecto. Igualmente al resto de miembros del laboratorio, que en algún momento u otro me han servido de gran ayuda.

También, me gustaría dar las gracias a la empresa Cereales Huesca para la que trabajo, por su disposición y facilidad que me han dado para compaginar el trabajo con este proyecto de investigación.

Asimismo quiero reseñar en estas líneas el apoyo constante e incondicional recibido por mi familia en todo momento.

Por último, no querría olvidarme de los diferentes compañeros y amigos que me han acompañado durante este trayecto.

A todos ellos, Muchas gracias.

Índice

Resumen.....	1
Abstract	3
Objetivos	5
1. Introducción.....	9
1.1. Origen del tomate	9
1.2. Taxonomía	11
1.3. Características botánicas.....	11
1.4. Importancia económica.....	14
1.4.1. Importancia económica y distribución geográfica a nivel mundial.....	15
1.4.2. Importancia económica y distribución geográfica en Europa.....	18
1.4.3. Importancia económica y distribución geográfica en España.....	19
1.4.4. Importancia económica y distribución geográfica en Aragón.....	21
1.5. Variedades de tomate	24
1.5.1. Principales tipos de tomate que se consumen en España	25
1.5.2. Variedades de tomate en Aragón.....	28
1.5.2.1. El tomate rosa de Barbastro.....	29
1.6. Parámetros de calidad del tomate	31
1.6.1. Calidad nutricional del tomate	32
1.7. Compuestos bioactivos. Antioxidantes naturales en el tomate.....	34
1.7.1. Polifenoles	35
1.7.1.1. Ácidos fenólicos.....	36
1.7.1.2. Flavonoides.....	36
1.7.2. Carotenoides	37
1.7.2.1. Licopeno	38
1.7.2.2. Beta-caroteno.....	40
1.8. Valor nutricional y funcional de los alimentos	41
Glosario	44
2. Experimental.....	49
2.1. Material y reactivos.....	49
2.1.1. Equipos de laboratorio	49
2.1.2. Reactivos y disoluciones	49
2.2. Muestreo	50
2.2.1. Obtención de las muestras de tomate rosa de Barbastro	51
2.3. Determinación de polifenoles	53
2.3.1. Puesta a punto y optimización de la determinación de polifenoles.....	54
2.3.1.1. Métodos de extracción con hidrólisis	57
2.3.1.2. Métodos de extracción.....	62

2.3.2. Procedimiento para de la determinación de polifenoles en muestras de tomate rosa de Barbastro	71
2.4. Determinación de fenoles totales	74
2.4.1. Determinación de fenoles totales en el tomate rosa de Barbastro.....	74
2.5. Determinación de carotenoides.....	76
2.5.1. Extracción y análisis de carotenoides (licopeno y beta-caroteno).....	77
2.5.1.1. Separación e identificación de licopeno y beta-caroteno.....	77
2.5.1.2. Determinación de licopeno y beta-caroteno en muestras de tomate.....	78
2.6. Determinación del valor nutricional y funcional del tomate	81
3. Resultados y discusión	85
3.1. Análisis de polifenoles en muestras de tomate rosa de Barbastro.....	85
3.2. Análisis de fenoles totales en muestras de tomate rosa de Barbastro.....	94
3.3. Análisis de carotenoides en muestras de tomate rosa de Barbastro	98
3.4. Estudio del valor nutritivo y funcional del tomate rosa de Barbastro	104
3.4.1. Análisis y comparación de los datos de composición química en antioxidantes para las diferentes muestras	104
3.4.2.- Determinación de la ingesta probable de cada antioxidante objeto de estudio con el consumo medio diario de tomate	105
3.4.3.- Recopilación de información sobre la biodisponibilidad de los polifenoles y otros compuestos antioxidantes que pueden encontrarse en los tomates.....	106
4. Conclusiones	114
Bibliografía.....	117

Índice de tablas

Tabla 1. Descripción taxonómica del tomate	11
Tabla 2. Principales países importadores de tomate español.....	20
Tabla 3. Principales países exportadores de tomate a España	21
Tabla 4. Superficies ocupadas por cultivos herbáceos en Aragón	22
Tabla 5. Superficie dedicada al cultivo de tomate para industria agroalimentaria en Aragón	22
Tabla 6. Superficie ocupada por cultivo de tomate en Aragón.....	23
Tabla 7. Superficie ocupada por tomate por comarcas en la provincia de Huesca	23
Tabla 8. Producción y rendimiento de tomate en Aragón en el año 2012	24
Tabla 9. Tipos de tomate para consumo en fresco	25
Tabla 10. Composición nutricional del tomate por cada 100 g de porción comestible	34
Tabla 11. Muestras de tomate rosa de Barbastro analizadas en este estudio	53
Tabla 12. Calibrado de los ácidos fenólicos estudiados	73
Tabla 13. Calibrado de los fenoles totales estudiados.....	76
Tabla 14. Calibrado de los carotenoides estudiados.....	78
Tabla 15. Resultados ácidos fenólicos muestras de tomate rosa de Barbastro.....	85
Tabla 16. Resultados medios de la suma de ácidos fenólicos (mg/kg) para las cuatro líneas de tomate rosa de Barbastro en los dos cultivos y dos parcelas estudiados, y para la muestra de tomate control	87
Tabla 17. Resultados medios de la suma de ácidos fenólicos (mg/kg) para las cuatro líneas de tomate rosa de Barbastro en los dos cultivos y dos parcelas estudiados, y para la muestra de tomate control	91
Tabla 18. Contenido en fenoles totales, expresados en mg ácido gálico/kg tomate, para las muestras de tomate rosa de Barbastro analizadas.....	95
Tabla 19. Resultados medios de los fenoles totales (mg AG/kg) según las líneas de tomate, en los dos cultivos y dos parcelas estudiados	96
Tabla 20. Resultados licopeno y beta-caroteno, expresados en mg/kg tomate (FW) .	99
Tabla 21. Resultados medios del contenido en licopeno y beta-caroteno (mg/kg) según las líneas de tomate, en los dos cultivos y dos parcelas estudiados	101

Índice de figuras

Figura 1. <i>Physalis philadelphica</i> L	9
Figura 2. <i>Solanum lycopersicum</i>	9
Figura 3. Mapa que muestra la “hipotética” expansión del tomate	10
Figura 4. Plantas de tomate.....	12
Figura 5. Tallo planta del tomate.....	12
Figura 6. Flores del tomate.....	13
Figura 7. Fruto de la planta del tomate.....	14
Figura 8. Distribución producción tomate fresco nivel mundial	15
Figura 9. Principales productos agroalimentarios nivel mundial	15

Figura 10. Evolución producción tomate en los últimos 20 años.....	15
Figura 11. Distribución producción mundial por continentes.....	16
Figura 12. Mayores productores tomate fresco a nivel mundial	16
Figura 13. Países mayor rendimiento producción de tomate.....	17
Figura 14. Exportaciones de tomate a nivel mundial.....	17
Figura 15. Importaciones de tomate a nivel mundial	18
Figura 16. Principales productos agroalimentarios europeos.....	18
Figura 17. Productores de tomate en Europa año 2013	18
Figura 18. Principales productos agroalimentarios en España	19
Figura 19. Evolución superficie cultivada de tomate	19
Figura 20. Evolución de la producción de tomate.....	20
Figura 21. Tomate Daniela.....	26
Figura 22. Tomate Pera	26
Figura 23. Tomate Rama.....	26
Figura 24. Tomate Cherry.....	27
Figura 25. Tomate canario.....	27
Figura 26. Tomate Mazarrón	27
Figura 27. Tomate Rambo	28
Figura 28. Tomate Raf	28
Figura 29. Tomate rosa de Barbastro analizado en este proyecto	29
Figura 30. Recolección de tomate rosa de Barbastro	30
Figura 31. Estructura química del licopeno	38
Figura 32. Contenido de licopeno en diversos alimentos	39
Figura 33. Estructura química del beta-caroteno.....	40
Figura 34. Muestra tomate rosa de Barbastro congelada para su posterior análisis ..	52
Figura 35. Espectros absorción patrones polifenoles inyectados en el HPLC-UV/Vis..	55
Figura 36. Cromatograma disolución multipatrón condiciones cromatográficas optimizadas (320, 370 y 275 nm).....	56
Figura 37. Cromatograma método extracción-hidrólisis 1.....	57
Figura 38. Cromatograma método extracción-hidrólisis 2.....	58
Figura 39. Cromatograma método de extracción-hidrólisis 3.....	58
Figura 40. Cromatograma método de extracción-hidrólisis 4.....	59
Figura 41. Cromatograma método de extracción-hidrólisis 5.....	60
Figura 42. Cromatograma método extracción-hidrólisis 6.....	61
Figura 43. Cromatograma método de extracción-hidrólisis 7.....	62
Figura 44. Cromatograma extracto con método de extracción-1.....	63
Figura 45. Cromatograma extracto con método de extracción-2.....	64
Figura 46. Cromatogramas obtenidos con método de extracción-3	64
Figura 47. Cromatograma extracto obtenido con método de extracción-4	65
Figura 48. Cromatograma extracto con método de extracción-5.....	66
Figura 49. Cromatograma extracto obtenido con método de extracción-6	67

Figura 50. Cromatograma extracto método de extracción-7.....	68
Figura 51. Cromatograma extracto con método de extracción-8.....	69
Figura 52. Cromatograma extracto método de extracción-8bis	70
Figura 53. Procedimiento de extracción de polifenoles en tomate	71
Figura 54. Muestra del tomate rosa de Barbastro triturado y la centrífuga.....	72
Figura 55. Muestra de tomate después haber pasado por la centrífuga.....	72
Figura 56. Viales donde se guarda el sobrenadante	72
Figura 57. Cromatograma ácidos fenólicos muestra tomate rosa de Barbastro	73
Figura 58. Rectas de calibrado de los ácidos fenólicos seleccionados	74
Figura 59. Procedimiento determinación fenoles totales extractos en metanol	75
Figura 60. Tubos ensayo con la mezcla para la determinación de fenoles totales.....	75
Figura 61. Viales con el complejo azul formado y espectrofotómetro utilizado	76
Figura 62. Separación e identificación licopeno y beta-caroteno mediante HPLC	77
Figura 63. Espectros de absorción beta-caroteno y licopeno inyectados HPLC	78
Figura 64. Procedimiento de extracción de carotenoides en tomate.....	78
Figura 65. Condiciones de extracción del tomate con solución extractante	79
Figura 66. Embudos de decantación para la extracción líquido/líquido	79
Figura 67. Descarte fase acuosa y adición sulfato de sodio anhidro fase orgánica	80
Figura 68. Viales ámbar con el trasvase de los dos extractos obtenidos	80
Figura 69. Control gravimétrico de la adición de 1 mL de diclorometano.....	80
Figura 70. Cromatograma de carotenoides en tomate rosa de Barbastro	81
Figura 71. Resultados suma ácidos fenólicos en muestras de tomate cultivadas en Barbastro al aire libre y en túnel invernadero	92
Figura 72. Resultados suma ácidos fenólicos en muestras de tomate cultivadas en Montañana al aire libre y en túnel invernadero	93
Figura 73. Resultados suma ácidos fenólicos en muestras de tomate cultivadas en las dos parcelas y las dos condiciones de cultivo	94
Figura 74. Fenoles totales según línea de cultivo, ambiente y parcela.....	97
Figura 75. Ácidos fenólicos y fenoles totales según línea de cultivo, ambiente y parcela	98
Figura 76. Contenido en licopeno según línea de cultivo, ambiente y parcela.....	102
Figura 77. Contenido en beta-caroteno según línea de cultivo, ambiente y parcela ..	103

Resumen

En este proyecto fin de carrera, se ha llevado a cabo la caracterización de los antioxidantes naturales presentes en el tomate rosa de Barbastro y la determinación de su valor nutritivo y funcional, dado que se trata de un tomate que cada día adquiere una mayor importancia económica en Aragón y del cual aún no hay ningún estudio en el que se haya determinado su valor nutritivo y funcional

Para ello, se ha llevado a cabo el análisis de los polifenoles presentes, en concreto de los ácidos fenólicos, del contenido total de fenoles y de los carotenoides, licopeno y beta-caroteno. Previamente, se ha realizado una cuidada selección de las muestras de tomate rosa de Barbastro, facilitadas por el CITA, en función de la línea de variedad, de la parcela de cultivo (Barbastro y Montaña) y de las condiciones de cultivo (túnel de plástico y aire libre)

Se ha llevado a cabo la puesta a punto y optimización de un procedimiento analítico adecuado para la extracción, separación, identificación y cuantificación de cuatro ácidos fenólicos presentes en el tomate rosa de Barbastro: ácido clorogénico, ácido caféico, ácido ferúlico y ácido *p*-cumárico. El contenido en polifenoles presentes en el tomate rosa de Barbastro, se ha complementado con la determinación de los fenoles totales según el método de Folin-Ciocalteu. Además, se ha determinado el contenido de los dos carotenoides más importantes en el tomate, licopeno y beta-caroteno, según el procedimiento de extracción y análisis previamente optimizado en el departamento de Química Analítica de la EPSH.

Por último, para la caracterización nutricional del tomate rosa de Barbastro, se han considerado el contenido de los diferentes antioxidantes determinado en las muestras, las recomendaciones de ingesta de cada componente y la biodisponibilidad de cada uno de ellos.

Abstract

In this project you can observe the characterization of the natural antioxidants that can be found in the pink tomato of Barbastro, and also the determination of its nutritional and functional value, owing to the fact that this kind of tomato is economically more relevant each day in Aragón, and there is not any research in which the nutritional value has been established.

To do this, an analysis of the polyphenol has been done, specifically this analysis has been done using phenolic acids of the total phenols, carotenoids, lycopene, and beta-carotene. Previously, careful samples of pink tomatoes of Barbastro given by CITA have been chosen depending on the variety and the cultivated plot (Barbastro and Montañana) and also depending on the cultivated plot conditions (with plastic tunnel or without plastic tunnel).

An analytic process to extract, remove, recognize and quantify four phenolic acids that can be found in the pink tomato of Barbastro: chlorogenic acid, caffeic acid, ferulic acid and *p*-coumaric acid, has been done. The content of polyphenol that can be found in the pink tomato of Barbastro has been completed with the establishment of the total phenols according to the Folin-Ciocalteu's method. Furthermore, the content of the two carotenoids more important in the tomato has been established: lycopene and beta-carotene, according to the extraction process and analysis previously optimized in the Chemistry Department of the EPSH.

Lastly, to characterize the nutritional value of the pink tomato of Barbastro it has been considered the content of different antioxidants established in some samples, the recommendations of each component and the resources of each

Objetivos

Este proyecto fin de carrera tiene como **objetivo general**:

• Caracterizar los antioxidantes naturales (carotenoides y polifenoles) presentes en una selección de tomates rosa de Barbastro, procedentes del programa de mejora genética, durante la campaña 2013, y determinar su valor nutritivo.

Como objetivos específicos a cumplir tiene:

• Realizar una búsqueda bibliográfica en las bases de datos de artículos científicos en relación a los métodos de análisis empleados en la determinación de antioxidantes naturales en frutas y hortalizas: carotenoides y polifenoles.

• De acuerdo a la bibliografía encontrada y a la disponibilidad de material, equipos, instrumental, reactivos, límites de detección y límites de cuantificación necesarios, se seleccionará la metodología analítica adecuada para este proyecto: cromatografía de líquidos (HPLC) con detección UV/Vis. El método de análisis seleccionado, para cada grupo de antioxidantes, se optimizará para su aplicación al análisis del tomate.

• Analizar el tomate rosa de Barbastro de la campaña 2013 de acuerdo a la metodología analítica optimizada y puesta en marcha en el laboratorio, seleccionada en el objetivo anterior.

• Valorar la concentración de antioxidantes naturales presentes en el tomate rosa de Barbastro analizado.

• Determinar el valor nutritivo y funcional del tomate rosa de Barbastro en función de los compuestos antioxidantes analizados en las distintas muestras.

• Incluir los resultados obtenidos entre los criterios de selección del programa de mejora genética de tomate rosa de Barbastro, que actualmente contempla exclusivamente aspectos productivos, morfológicos y organolépticos.

Introducción

1. Introducción

1.1. Origen del tomate

El tomate tiene su origen en la zona oeste de América del Sur, entre el norte de Chile y el sur de Colombia, donde crece en forma silvestre. Las formas botánicas silvestres y más ancestrales, de las cuales descienden los cultivares modernos, son nativas de la región Andina, en una franja de 300 km de ancho, que limita al Sur con Chile, al norte con Ecuador, al este con la cordillera de los Andes y al oeste con el Océano Pacífico hasta las islas Galápagos. El centro de origen del tomate, es la región andina que hoy comparten Colombia, Ecuador, Perú, Bolivia y Chile. En esta área crecen espontáneamente las diversas especies del género (*Esquinas-Alcázar, 1995*). En algún momento decisivo de la historia del tomate, alguien decidió plantar y cultivar tomates en vez de recolectarlos como fruto silvestre. Ése fue el primer agricultor de tomates de la historia y tomando esa decisión, cambió el futuro del tomate para siempre. Se habla de la “*domesticación*” del tomate.

La palabra tomate proviene de “*tomatl*”, que en lengua Náhuatl (azteca) significa “*agua gorda*”, ya que corresponde al tomate de cáscara *Physalis philadelphica* (Fig. 1) y se aplicaba genéricamente a plantas con frutos globosos o bayas con muchas semillas y pulpa acuosa (*Esquinas-Alcázar, 1995*). El tomate, tal y como lo conocemos hoy en día (Fig. 2), *Solanum lycopersicum* era denominado “*jitomatl*” (*Blandcard, 2011*). Tanto el *Solanum lycopersicum* como el *Physalis philadelphica* fueron introducidos en Europa, pero el tomate de cáscara dejó de cultivarse rápidamente (*Esquinas-Alcázar, 1995*).



Figura 1. *Physalis philadelphica* L.



Figura 2. *Solanum lycopersicum*.

(<http://commons.wikimedia.org/>)

El tomate era desconocido en el Viejo Mundo hasta el descubrimiento de América. Fueron España y Portugal quienes lo difundieron a otros países europeos y por sus colonias (Fig. 3). Su nombre se introdujo en la lengua castellana en 1532 (*Esquinas-Alcázar, 1995*). Probablemente, el tomate llegó en primer lugar a Sevilla, que era uno de los principales centros del comercio internacional, junto con Italia a donde llegó antes del siglo XVI. Los tomates se abrieron paso a Norte América con los colonizadores, cuya primera base fue en Virginia, pero no ganaron popularidad sino hasta mediados del siglo XIX, ya que se creía que era tóxico.

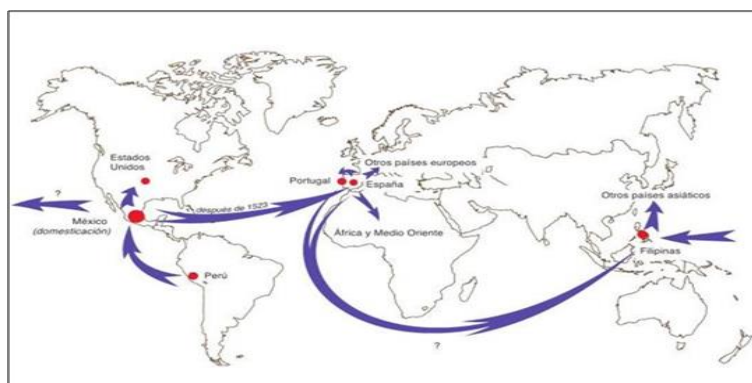


Figura 3. Mapa que muestra la “hipotética” expansión del tomate (*Blandcard, 2011*).

La primera descripción de los frutos de tomate, hecha en Europa por el botánico italiano Pietro Andreas Matthioli en 1544, dice que éstos en estado maduro eran amarillos, lo que sumado al hecho de que el nombre del tomate en italiano sea “*pomodoro*”, parece confirmar que las primeras introducciones de tomates en Europa producían frutos amarillos (*Blandcard, 2011*).

La aceptación del tomate fue muy desigual. En España e Italia se utilizó en la alimentación humana prácticamente desde su introducción. En cambio, en otros países europeos la planta fue aceptada durante mucho tiempo como ornamental, dado que se la creía venenosa, por su relación con las plantas de la familia de las *Solanáceas*, como el beleño, la belladona y otras; y esta creencia se ha mantenido en muchas regiones hasta bien entrado el siglo XX. El alcaloide causante de la pretendida toxicidad, es la tomatina también llamada solanina, que se encuentra principalmente en las hojas y en el fruto verde, pero que se degrada al madurar. Superada esta primera fase, su cultivo y consumo ha alcanzado tal difusión que difícilmente puede encontrarse otro producto agrícola que sea consumido en tales cantidades como el tomate, bien en fresco, o en distintos tipos de jugos o salsas (*Esquinas-Alcázar, 1995*).

1.2. Taxonomía

El tomate pertenece a la familia *Solanaceae*, al igual que otras plantas cultivadas de gran importancia, como son el pimiento, la berenjena, la patata o el tabaco. La situación taxonómica del tomate dentro de las Solanáceas siempre ha estado clara, pero no su género. En 1700 Tournefort reconoció *Lycopersicon* como un género distinto de *Solanum*. Sin embargo, en 1754, Linnaeus incluyó al tomate dentro del género *Solanum*, denominándolo *Solanum lycopersicon*. Simultáneamente, Miller reconoció al género *Lycopersicon* y en 1768 propuso el nombre de *Lycopersicon esculentum*. Actualmente, se le denomina ***Solanum lycopersicum* L.** En la Tabla 1 se muestra la taxonomía del tomate según Foolad, 2007.

Tabla 1. Descripción taxonómica del tomate (Fuente: Foolad, 2007).

Reino	Plantae
Subreino	Traqueobinta
Superdivisión	Spermatophyta
División	Angiospermas/Magnoliophyta
Clase	Dicotiledóneas/Magnoliopsida
Orden	Solanale
Familia	Solanaceae
Género	Solanum
Especie	Lycopersicum L.

1.3. Características botánicas

El tomate es una planta dicotiledónea, diploide ($2n = 2x = 24$), autógama, herbácea y perenne, que normalmente se cultiva de forma anual. La planta se desarrolla bien en un amplio rango de latitudes, tipos de suelos, temperaturas y métodos de cultivo, y es moderadamente tolerante a la salinidad. Prefiere ambientes cálidos, con buena iluminación y drenaje.

- **Planta:** el tomate puede presentar básicamente dos hábitos de crecimiento: determinado e indeterminado. La planta indeterminada es la normal y se caracteriza por tener un crecimiento extensivo, postrado, desordenado y sin límite. En ella, los tallos presentan segmentos uniformes con tres hojas (con yemas) y una inflorescencia, terminando siempre con un ápice vegetativo. A diferencia de ésta, la planta determinada tiene tallos con segmentos que presentan progresivamente menos hojas

por inflorescencia y terminan en una inflorescencia, lo que resulta en un crecimiento limitado. Este tipo de crecimiento surgió por una mutación espontánea aparecida en 1914 en Florida. Se trata de una mutación recesiva denominada “*selfpruning*” que tiene por símbolo genético “*sp*” (Blandcard, 2011). En la Figura 4 se muestran plantas de tomate.



Figura 4. Plantas de tomate (<http://commons.wikimedia.org/>).

- **Sistema radical:** el sistema radical alcanza una profundidad de hasta 2 m, con una raíz pivotante y muchas raíces secundarias. Sin embargo, bajo ciertas condiciones de cultivo, se daña la raíz pivotante y la planta desarrollada resulta en un sistema radical fasciculado, en que dominan raíces adventicias y que se concentran en los primeros 30 cm del perfil.

- **Tallo principal:** los tallos son ligeramente angulosos, semileñosos, de grosor mediano y con tricomas (pilosidades) simples y glandulares (Fig. 5). Eje con un grosor que oscila entre los 2-4 cm en su base, sobre el que se van desarrollando las hojas, tallos secundarios e inflorescencias. En la parte distal se encuentra el meristemo apical, donde se inician los nuevos primordios foliares y florales.



Figura 5. Tallo planta del tomate (www.salvanatura.es).

- **Hojas:** son compuestas e imparipinnadas, con folíolos peciolados, lobulados y con borde dentado, en número de 7 a 9, y recubiertos de pelos glandulares. Las hojas se disponen de forma alternada sobre el tallo (*Esquinas-Alcázar, 1995*).

- **Flor:** la flor del tomate es perfecta. Consta de 5 o más sépalos, de igual número de pétalos de color amarillo, dispuestos de forma helicoidal y de igual número de estambres que se alternan con los pétalos (Fig. 6). Los estambres están soldados por las anteras y forman un cono estaminal que envuelve al gineceo y evitan la polinización cruzada. El ovario es bi- o plurilocular. Las flores se agrupan en inflorescencias denominadas comúnmente como “racimos”. La primera flor se forma en la yema apical y las demás se disponen lateralmente por debajo de la primera, alrededor del eje principal. Las inflorescencias se desarrollan cada 2-3 hojas en las axilas (*Esquinas-Alcázar, 1995*).



Figura 6. Flores del tomate (<http://commons.wikimedia.org/>).

- **Fruto:** son los órganos aprovechables de este cultivo (Fig. 7). Son bayas bi- o pluriloculares que se encuentran unidas a la planta por un pedicelo. Las cavidades locales son huecas en el pericarpio. Un fruto normal posee al menos dos lóculos. Las semillas se encuentran contenidas en los lóculos y rodeadas de una masa gelatinosa de células parenquimáticas que forman un tejido compacto y firme en los frutos inmaduros que se va haciendo gelatinoso al madurar por la desintegración de las paredes celulares (*Chamarro, 1995*). Los frutos jóvenes verdes contienen alcaloides tóxicos (tomatina/solanina) que desaparecen cuando los frutos maduran (*Blandcard, 2011*).

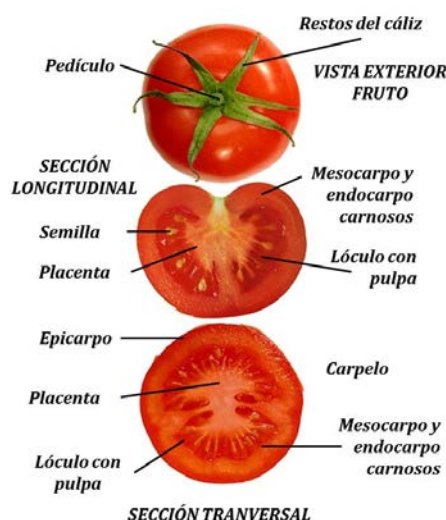


Figura 7. Fruto de la planta del tomate (elaboración propia).

- **Semilla:** tiene forma lenticular con unas dimensiones aproximadas de 5 mm x 4 mm x 2 mm y está constituida por el embrión, el endospermo y la testa o cubierta seminal.

El tomate es un fruto climatérico, por lo que durante la maduración se producen cambios en el color, la composición, el aroma, el sabor y la textura; que hacen el fruto atractivo para el consumo humano. El ablandamiento del fruto durante la madurez está asociado a cambios estructurales en la pared celular e implica la solubilización de las pectinas.

1.4. Importancia económica

El tomate es la hortaliza más difundida en todo el mundo, y la de mayor valor económico. Su demanda aumenta continuamente y con ella su cultivo, producción y comercio. El incremento anual de la producción en los últimos años se debe principalmente al aumento en el rendimiento y, en menor proporción, al aumento de la superficie cultivada.

En la Figura 8 se muestra la distribución del tomate fresco a nivel mundial, según datos del año 2013.

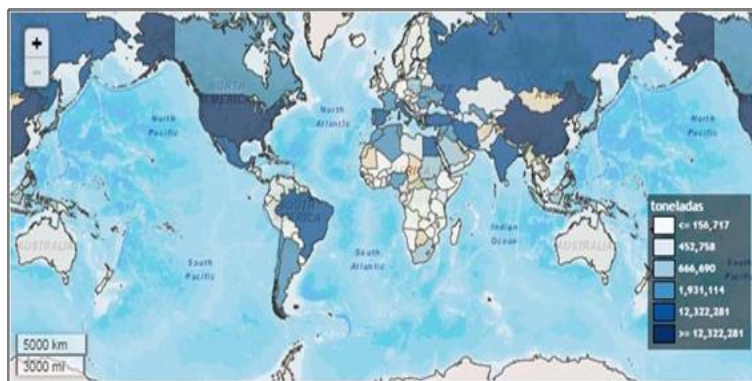


Figura 8. Distribución producción tomate fresco nivel mundial, (FAOSTAT, datos 2013).

1.4.1. Importancia económica y distribución geográfica a nivel mundial

El tomate, es el octavo producto agroalimentario más producido a nivel mundial con 161 mil millones de toneladas (Figura 9), por detrás de la leche entera fresca de vaca, el arroz de cascara y la carne de vacuno, que ocupan los tres primeros puestos de productos producidos (FAOSTAT, 2012).

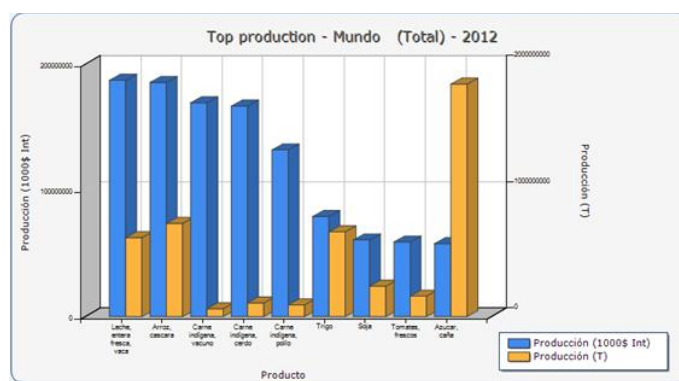


Figura 9. Principales productos agroalimentarios nivel mundial (FAOSTAT, datos 2012).

En la Figura 10 se observa que el cultivo del tomate ha seguido una evolución creciente en los últimos 20 años duplicado su producción, pasando de 77,9 millones de toneladas en 1993 a 161,8 millones de toneladas en 2012 (FAOSTAT, 2012).

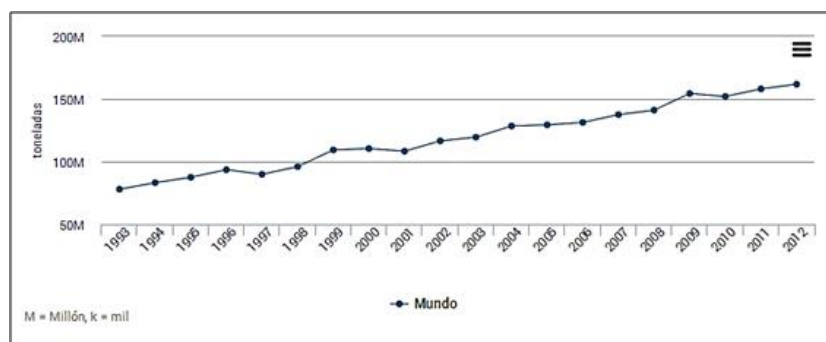


Figura 10. Evolución producción tomate en los últimos 20 años (FAOSTAT, datos 2012)

A nivel mundial, el mayor productor de tomate es el continente asiático, que produce la mitad de los tomates cultivados en el mundo con una producción de 60,4 millones de toneladas, seguido de América con 23 millones de toneladas y Europa con 20,9 millones de toneladas (FAOSTAT, 2013). En la Figura 11 se muestra la distribución mundial de la producción de tomate.

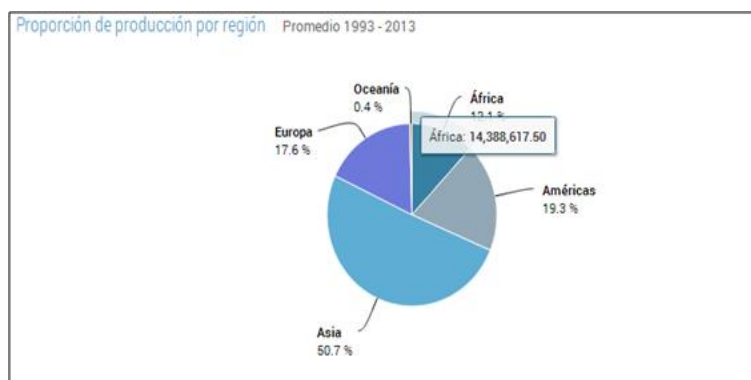


Figura 11. Distribución producción mundial por continentes (FAOSTAT, datos 2013).

En cuanto a países, el mayor productor de tomates es China con 50 millones de toneladas, seguida de India con 17,4 millones de toneladas y de Estados Unidos con 13,2 millones de toneladas; España ocupa el noveno lugar a nivel mundial en producción de tomates con 4 millones de toneladas (FAOSTAT, datos 2012). En la Figura 12 se muestran los principales países productores de tomate.

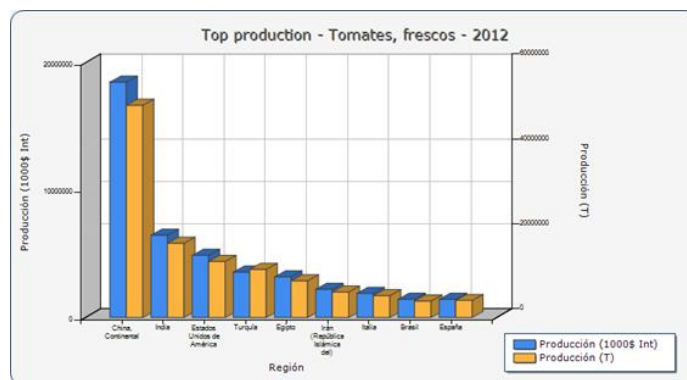


Figura 12. Mayores productores tomate fresco a nivel mundial (FAOSTAT, datos 2012).

Pero a nivel de rendimiento, son los países europeos y no los asiáticos los que consiguen unas mayores producciones. Siendo los Países Bajos los que consiguen un mayor rendimiento en sus producciones, seguidos de Bélgica y Reino Unido (Fig. 13). Esto es debido a su mayor producción en invernaderos (FAOSTAT, 2013).

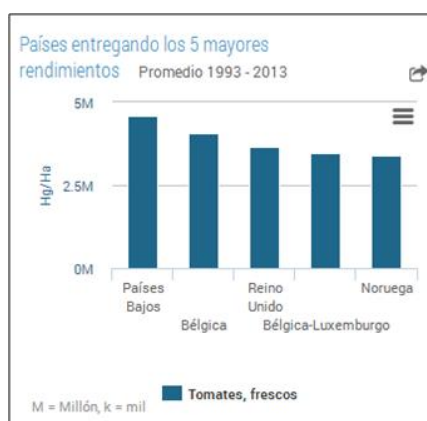


Figura 13. Países mayor rendimiento producción de tomate (FAOSTAT, datos 2013).

En cuanto a exportaciones, el mayor país exportador de tomate en el mundo es Brasil, seguido de Países Bajos y España. Aunque en los últimos diez años la evolución ha sido desigual, Brasil ha pasado de situarse en el tercer lugar en 2001 al primer lugar en 2011, aumentando su producción en un 48%, los Países Bajos se mantienen en el segundo lugar con un aumento en su producción del 55%, en cambio España ha bajado del primer lugar al tercero disminuyendo su producción en casi un 5% (Fig. 14).

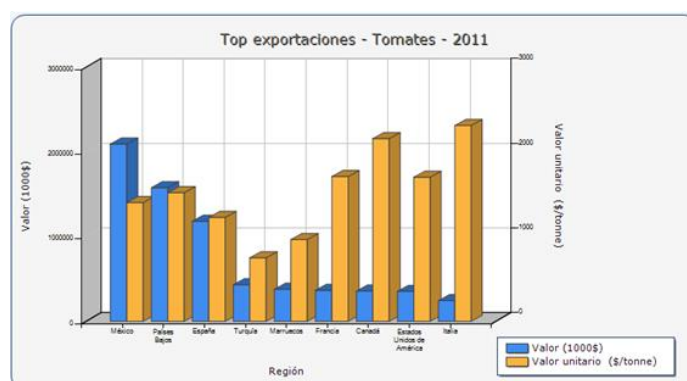


Figura 14. Exportaciones de tomate a nivel mundial (FAOSTAT, datos 2013).

En cuanto a los países importadores de tomate (Fig. 15), los más importantes son Estados Unidos, Alemania y la Federación de Rusia. En estos últimos 10 años las exportaciones de estos tres países han aumentado, sobretudo en la Federación de Rusia, que desde el 2001 hasta el 2011 (últimos datos disponibles) ha aumentado sus exportaciones en un 81%, pasándose de situarse en el octavo lugar en el 2001 al tercer lugar en 2011. Estados Unidos y Alemania, en estos últimos 10 años, siempre han ocupado el primer y segundo lugar aumentando también sus exportaciones un 45% y 10% respectivamente (FAOSTAT, datos 2011).

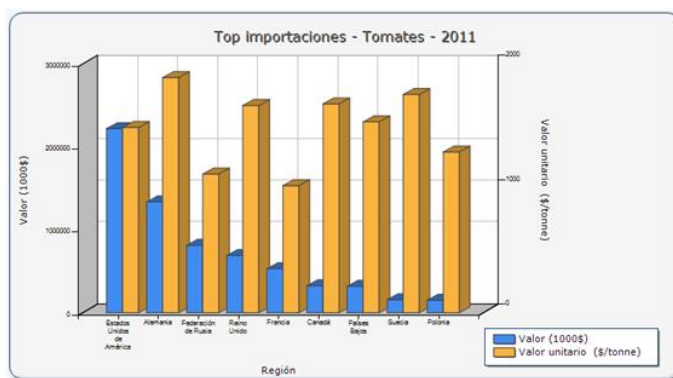


Figura 15. Importaciones de tomate a nivel mundial (FAOSTAT, datos 2011).

1.4.2. Importancia económica y distribución geográfica en Europa

La producción de tomate fresco en Europa (Fig. 16) es de 20.693.590 kg, ocupando el noveno lugar de productos producidos en Europa, por detrás de la leche entera fresca de vaca (210.336.776 kg), la carne de cerdo (26.494.559 kg) y la carne de vacuno (10.665.225 kg); que son los tres productos con mayor producción en Europa (FAOSTAT, datos 2012).

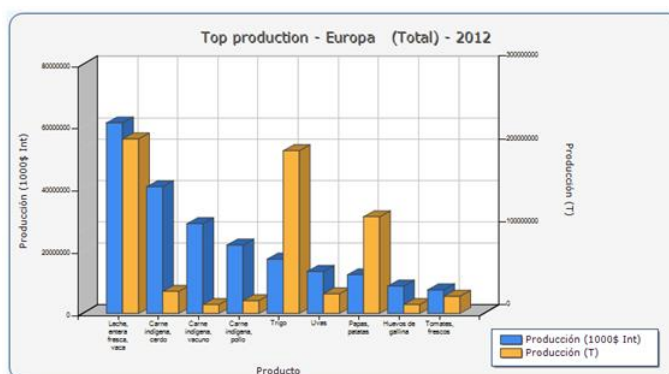


Figura 16. Principales productos agroalimentarios europeos (FAOSTAT, datos 2012).

El mayor productor de tomate en Europa (Fig. 17) en el año 2013 fue Turquía, produciendo una cuarta parte de los tomates de Europa, seguida de Italia y España (EUROSTAT, 2013).

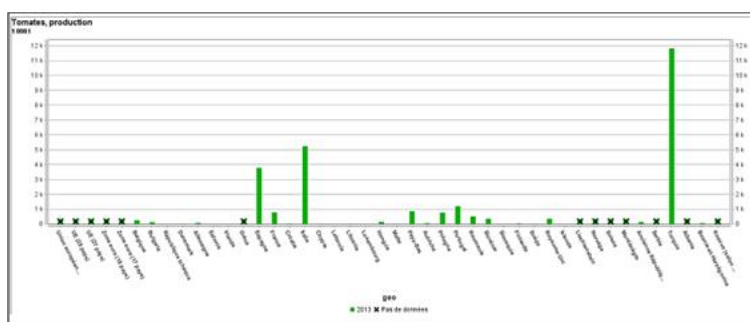


Figura 17. Productores de tomate en Europa año 2013 (EUROSTAT, 2013).

1.4.3. Importancia económica y distribución geográfica en España

El **tomate** es el sexto producto agroalimentario más producido en España, por detrás de la carne de cerdo, las uvas y las aceitunas que ocupan los tres primeros lugares (Fig. 18); y **es la hortaliza más producida en España** con una producción de 4.046.143 kg, y ocupa una superficie total 4.861.177 ha. La comunidad autónoma que tiene una mayor producción es Andalucía, seguida de Extremadura cuya provincia Badajoz es la mayor productora de toda España con 1.266.623 kg. Las otras comunidades autónomas con unas producciones más altas de tomate son: Murcia, Navarra, Canarias y Castilla la Mancha (MAGRAMA, 2014).

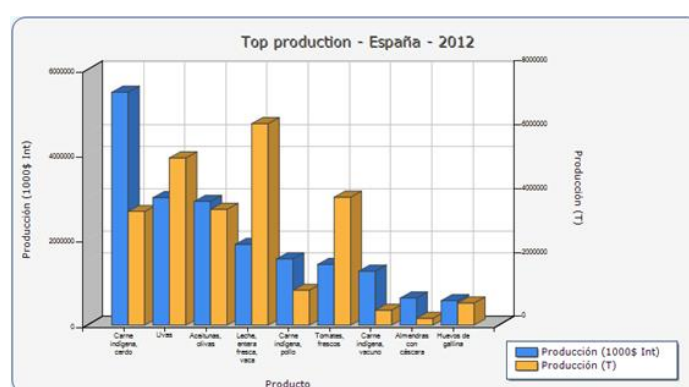


Figura 18. Principales productos agroalimentarios en España (FAOSTAT, datos 2012).

Como se puede observar en los datos estadísticos del MAGRAMA (2012) que se muestran en la Figura 19, en estos últimos años la superficie dedicada al cultivo del tomate ha ido disminuyendo, mientras que por el contrario su producción ha aumentado (Fig. 20). Esto es debido al desarrollo tecnológico basado en un proceso de mejora de las distintas variedades existentes y a las ayudas de la Política Agraria Común (PAC). El consumo de tomate en España es aproximadamente de 42.6 kg/persona/año (FAOSTAT, datos 2012).

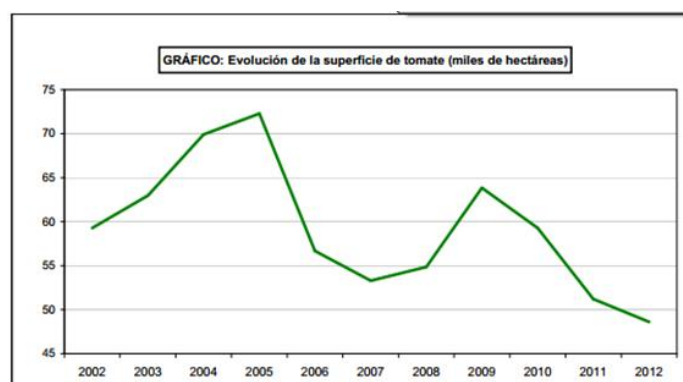


Figura 19. Evolución superficie cultivada de tomate (miles ha) (MAGRAMA, 2012).

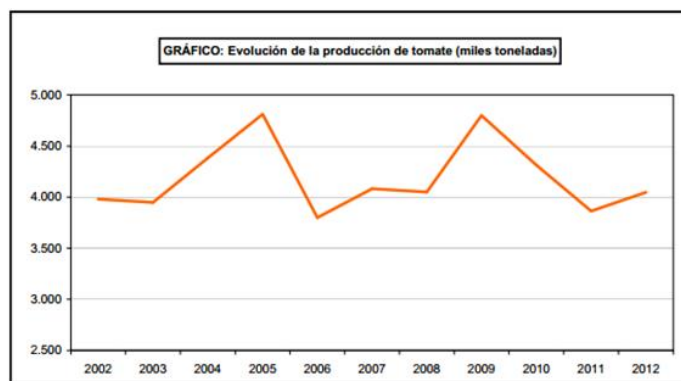


Figura 20. Evolución de la producción de tomate (miles ha) (MAGRAMA, datos 2012).

El tomate producido, mayoritariamente en Extremadura, Navarra y Aragón es utilizado en la industria, mientras que el producido en Andalucía, Murcia y Canarias se vende para consumo en fresco; siendo Almería la mayor productora de tomate en fresco en España. Mucho de este tomate es destinado a la exportación. Las exportaciones de tomate de España representan un 13,34% a nivel mundial (año 2010) teniendo como principal país importador a Alemania con 156.902,7 toneladas, que representan el 24,00%. En la Tabla 2 se muestran los principales países a los que España exporta tomate.

Tabla 2. Principales países importadores de tomate español (www.trademap.org).

Exportaciones (070200)								
No.	País importador	Cantidad exportada en toneladas					Valor de las exportaciones en (miles de USD)	Participación de las exportaciones del país (%)
		2006	2007	2008	2009	2010		
1	Alemania	208,071	187,833	201,201	184,106	156,902.7	260,156	24
2	Reino Unido	179,289	163,371	174,433	164,508	136,481.7	182,060	16.8
3	Francia	176,386	134,372	152,622	137,336	127,063.5	174,324	16.1
4	Países Bajos (Holanda)	166,115	158,441	145,214	129,317	101,353.3	148,662	13.7
5	Polonia	42,070	42,819	57,274	44,696	365,49.5	53,101	4.9
6	Portugal	26,352	26,311	23,231	28,439	31,398	36,740	3.4
7	República Checa	28,644	24,443	28,201	28,184	24,893.2	35,629	3.3
8	Bélgica	23,903	21,133	19,291	19,348	16,136	32,154	3
9	Italia	34,332	26,876	33,093	38,676	23,707.5	30,839	2.8
10	Suecia	17,648	15,980	15,617	16,542	15,200.7	30,462	2.8
11	Dinamarca	4,689	6,263	6,698	6,539	8,775.3	13,511	1.2
12	Federación de Rusia	15,419	11,673	15,565	11,129	7,914.7	11,263	1
13	Finlandia	6,274	5,450	6,953	5,300	5,142.5	10,948	1
14	Suiza	6,726	4,298	5,158	6,485	5,272.2	10,606	1
15	Lituania	8,798	6,145	10,642	6,215	9,388.7	8,348	0.8
16	Austria	8,752	6,152	8,811	6,718	5,590.4	8,132	0.7
17	Irlanda	4,131	4,586	4,980	3,926	4,493.8	7,364	0.7
18	Hungría	8,867	6,849	8,889	8,946	5,812.6	7,315	0.7
19	Eslovaquia	6,720	5,926	6,263	5,441	4,718.5	6,608	0.6
20	Noruega	2,926	2,463	1,368	1,895	2,439.8	5,507	0.5

FUENTE: <http://www.trademap.org>, (070200) fracción arancelaria de "Tomates frescos o refrigerados".

Por otro lado, en España también se importa tomate de otros países, en la Tabla 3 se muestran los principales países de los que España importa tomate.

Tabla 3. Principales países exportadores de tomate a España (www.trademap.org).

Cuadro 72. Importación de tomate en España.

Importaciones (070200)								
No.	País exportador	Cantidad Importada en toneladas					Valor de las importaciones (miles de USD)	Participación de las importaciones del país (%)
		2006	2007	2008	2009	2010		
1	Marruecos	15,697	26,182	31,368	32,222	20,586.7	22,590	30.4
2	Países Bajos (Holanda)	7,387	7,049	7,909	17,269	15,996.1	18,116	24.4
3	Portugal	53,936	205,199	137,111	115,880	108,961.6	15,445	20.8
4	Francia	1,693	3,636	7,174	8,070	6,111.3	7,749	10.4
5	Bélgica	2,704	2,702	3,837	7,355	3,140.2	3,863	5.2
6	Alemania	130	37	1,147	8,525	6301.2	2,841	3.8
7	Reino Unido	400	474	617	1,597	782.7	1,472	2
8	Polonia	713	546	1,359	1,559	692.4	749	1
9	República Checa	38	59	5	19	206.6	419	0.6
10	Lituania	0	0	0	0	181.3	315	0.4
11	Italia	129	211	78	136	278.1	267	0.4
12	Eslovenia	0	0	0	1	141	188	0.3
13	Letonia	0	25	19	16	38.9	80	0.1
14	Israel	0	0	0	0	17.9	47	0.1
15	Hungría	20	10	0	0	19.6	29	0
16	Suecia	0	0	465	903	11.5	17	0
17	Perú	0	12	0	0	3.7	9	0
18	Dinamarca	0	0	429	295	3.9	5	0
19	Ecuador	0	0	0	0	0.5	2	0

FUENTE: <http://www.trademap.org>, (070200) fracción arancelaria de "Tomates frescos o refrigerados".

Según los datos mostrados en la Tabla 3, España participa con el 0,92% de las importaciones mundiales de tomate (datos año 2010), siendo Marruecos el país del cual importamos mayor cantidad de tomate con 20,586.7 toneladas, que representan el 30,40%.

1.4.4. Importancia económica y distribución geográfica en Aragón

En el año 2012 se cultivaron en Aragón 984 hectáreas de tomate, todas ellas de primera cosecha y en regadío. De ellas, 854 hectáreas fueron dedicadas para tomate de industria, lo que supone un 87% de la superficie total.

En la Tabla 4 se muestra la superficie ocupada por los cultivos herbáceos en Aragón. Y en la Tabla 5 se muestra la cantidad de tomate que se dedica a industria en la comunidad autónoma de Aragón.

Tabla 4: Superficies ocupadas por cultivos herbáceos en Aragón (Anuario Estadístico de Aragón 2012).

SUPERFICIES OCUPADAS POR CULTIVOS HERBÁCEOS ARAGON												
CULTIVOS (datos en hectáreas)	AÑOS											
	2.010			2.011			2.012			MEDIA		
	Secano	Regadío 1ª	Regadío 2ª	Secano	Regadío 1ª	Regadío 2ª	Secano	Regadío 1ª	Regadío 2ª	Secano	Regadío 1ª	Regadío 2ª
CEREALES	580.491	202.941	4.739	589.326	214.926	8.536	592.816	203.786	6.006	587.544	207.218	6.427
Trigo	200.569	54.062	0	209.586	57.540	0	220.326	55.852	0	210.160	55.818	0
Cebada	338.387	79.655	0	339.275	77.801	0	323.897	82.271	0	333.853	79.909	0
Avena	25.361	1.487	0	23.249	1.343	0	25.464	1.531	0	24.691	1.454	0
Centeno	11.820	314	0	11.688	306	0	13.313	589	0	12.274	403	0
Arroz	0	13.751	0	0	13.907	0	0	6.748	0	0	11.469	0
Maiz	305	51.922	4.739	306	62.507	8.535	383	54.905	6.006	331	56.445	6.427
Sorgo	177	893	0	177	669	1	169	737	0	174	766	0
Otros Cereales	3.872	857	0	5.045	853	0	9.264	1.153	0	6.060	954	0
LEGUMINOSAS	54.776	3.046	0	69.679	3.357	0	70.632	5.067	0	65.029	3.823	0
Habas Secas	18	297	0	0	400	0	0	249	0	6	315	0
Lentejas	1.183	16	0	739	5	0	589	21	0	837	14	0
Garbanzos	357	35	0	350	12	0	300	4	0	336	17	0
Guisantes Secos	16.626	2.087	0	28.358	2.319	0	24.363	4.100	0	23.116	2.835	0
Veza	26.178	515	0	25.366	424	0	24.770	321	0	25.438	420	0
Yeros	9.798	56	0	13.296	40	0	18.623	102	0	13.906	66	0
Otras Leguminosas	616	40	0	1.570	157	0	1.987	270	0	1.391	156	0
TUBERCULOS.	89	223	0	69	229	0	66	320	0	75	257	0
INDUSTRIALES	10.819	3.493	1.280	12.199	2.794	1.858	10.694	5.687	1.299	11.237	3.991	1.479
Girasol	9.272	2.766	1.280	10.243	1.889	1.858	9.276	4.630	1.299	9.597	3.095	1.479
Cártamo	73	4	0	42	1	0	0	0	0	38	2	0
Soja	0	49	0	0	24	0	0	12	0	0	28	0
Colza	1.422	642	0	1.891	794	0	1.399	943	0	1.571	793	0
Otros Industriales	52	32	0	23	86	0	19	102	0	31	73	0
FLORES, ORNAMENTALES	2	10	0	3	7	0	0	8	0	2	8	0
FORRAJES	73.500	106.749	0	74.240	101.819	0	69.850	100.548	0	72.530	103.039	0
Vállico	1.038	5.833	0	1.026	5.344	0	1.036	6.402	0	1.033	5.860	0
Alfalfa	30.764	81.481	0	29.549	74.277	0	27.989	74.533	0	29.434	76.764	0
Esparceta	11.971	345	0	11.788	331	0	10.928	337	0	11.562	338	0
Veza Forrajera	5.040	2.150	0	4.613	2.442	0	4.353	1.656	0	4.669	2.083	0
Otros Forrajes	24.687	16.940	0	27.264	19.425	0	25.544	17.620	0	25.832	17.995	0
HORTALIZAS	122	8.873	0	135	9.343	109	98	8.847	580	118	9.021	230
Col.Repollo	0	817	0	0	528	0	0	456	466	0	600	155
Espárrago	24	36	0	21	29	0	10	35	0	18	33	0
Tomate	0	903	0	0	668	0	0	984	0	0	852	0
Pimiento	0	89	0	0	178	0	0	141	0	0	136	0
Coliflor	0	219	0	0	121	0	0	64	114	0	135	38
Cebolla	0	529	0	0	745	0	0	853	0	0	709	0
Puerro	0	76	0	0	226	0	0	268	0	0	190	0
Guisante Verde	0	3.652	0	0	4.589	0	0	3.493	0	0	3.911	0
Cereales Grano	0	192	0	0	322	0	0	419	0	0	311	0
Endivia	0	120	0	0	115	0	0	55	0	0	97	0
Otras Hortalizas	98	2.240	0	114	1.822	109	88	2.079	0	100	2.047	36
TOTAL HERBÁCEOS	719.799	325.335	6.019	745.651	332.475	10.503	744.156	324.263	7.885	736.535	327.358	8.136

NOTA: Regadío 1ª y 2ª cosecha.

Tabla 5. Superficie dedicada al cultivo de tomate para industria agroalimentaria en Aragón (Anuario Estadístico de Aragón 2012).

RESULTADOS DE LA ENCUESTA SOBRE SUPERFICIES 2012 (ha) ⁽¹⁾ COMUNIDAD AUTÓNOMA DE ARAGÓN				
Cultivo o cubierta	Secano	Regadío	Invernadero	Total
TOMATE INDUSTRIA		854		854

Por superficie cultivada la provincia que mayor superficie tiene es Zaragoza, seguida de Huesca y Teruel. Tanto Huesca como Teruel han tenido una evolución a la baja de hectáreas cultivadas en los últimos 2 años (datos años 2010 al 2012). En cambio Zaragoza, en esos dos últimos años, ha aumentado las hectáreas cultivadas de

tomate en más de 100 ha. En la Tabla 6 se muestran los datos del 2010 al 2012 de la superficie cultivada en Aragón de tomate.

Tabla 6. Superficie ocupada por cultivo de tomate en Aragón (Anuario Estadístico de Aragón 2012).

SUPERFICIE OCUPADA POR TOMATE EN ARAGÓN			
	2010	2011	2012
Huesca	15	37	17
Zaragoza	850	628	964
Teruel	37	3	3

En cuanto a la evolución de la superficie cultivada de tomate en la provincia de Huesca, por comarcas, se puede ver que la Hoya de Huesca y Somontano experimentan un gran aumento de la superficie cultivada en 2011 respecto al 2010, pero esta superficie vuelve a disminuir de forma considerable en el año 2012 (Tabla 7).

Tabla 7: Superficie ocupada por tomate por comarcas en la provincia de Huesca (Anuario Estadístico de Aragón 2012).

SUPERFICIE OCUPADA POR TOMATE POR COMARCAS EN LA PROVINCIA DE HUESCA			
	2010	2011	2012
Jacetania	0	0	0
Sobrarbe	0	0	0
Ribagoza	0	0	0
Hoya de Huesca	11	21	4
Somontano	1	12	3
Monegros	0	0	4
La Litera	1	1	4
Bajo Cinca	2	3	2

En el año 2012 la producción de tomate de Aragón fue de 64.480 toneladas. El 96% de la producción fue producida por la provincia de Zaragoza (Tabla 8).

Tabla 8: Producción y rendimiento de tomate en Aragón en el año 2012 (Anuario Estadístico de Aragón 2012).

PRODUCCIÓN Y RENDIMIENTO DE TOMATE EN ARAGÓN EN EL AÑO 2012						
	Rendimiento			Producción (Toneladas)		
	Secano	Regadío	Media	Secano	Regadío	Media
Huesca	0	60.000	60.000	0	1.020	1.020
Teruel	0	260.000	260.000	0	1.560	1.560
Zaragoza	0	90.000	74.044	0	63.900	63.900
Media	0	90.696	75.034	0	66.480	66.480

1.5. Variedades de tomate

El tomate es un cultivo con una gran diversidad de cultivares, adaptados a diferentes condiciones ambientales, prácticas culturales, destino del fruto y gustos; lo que hace que su clasificación sea compleja y variada.

Considerando su tipo de crecimiento, se puede hacer una primera clasificación según sean cultivares de crecimiento indeterminado o determinado. Los primeros son adecuados para obtener tomates para consumo en fresco, ya que permiten una recolección continua al florecer y fructificar de forma escalonada. Los segundos, en cambio, son más apropiados para el cultivo industrial porque desarrollan una envergadura limitada.

Además, se pueden usar las características de los frutos para clasificarlos, ya que según el cultivar los hay de diferentes formas (aplanados, redondeados, cilíndricos, rectangulares, en forma de pera, acostillados, lisos, etc.), tamaños, colores (crema, amarillo, naranja, rosa, rojo, pardo, etc.) y, consistencia.

Una clasificación muy extendida, desde el punto de vista comercial, es según el calibre de los frutos, que viene determinado por el diámetro máximo de la sección ecuatorial del fruto. El Reglamento (CE) nº 1221/2008 de la Comisión Europea, que establece las normas para la comercialización de los tomates, dispone que la escala de calibrado será: de 30 mm inclusive a 35 mm exclusive, de 35 a 40 mm, de 40 a 47 mm, de 47 a 57 mm, de 57 a 67 mm, de 67 a 82 mm, de 82 a 102 mm y 102 mm o más. Comercialmente se designa esta clasificación con letras de la siguiente manera: MMM (< 47 mm), MM (45-57 mm), M (57-67 mm), G (67-82 mm), GG (82-102 mm), y GGG

(diámetro > 102 mm). En la Tabla 9 se muestran diferentes tipos de tomate para consumo en fresco.

Tabla 9. Tipos de tomate para consumo en fresco (Díez-Niclós, 1995).

TAMAÑO FRUTO	ACOSTILLADO FRUTO	TIPO DE CRECIMIENTO	TIPO
<i>Frutos gruesos calibre G, GG y GGG (> 67 mm)</i>	Liso o ligero	Indeterminado	<i>Beefsteak</i>
		Determinado	<i>Bush Beefsteak americano</i>
	Medio o fuerte	Determinado e indeterminado	<i>Marmande</i>
<i>Frutos medianos calibre M (57-67 mm)</i>	Liso o ligero	Indeterminado	<i>Vemone</i>
		Determinado	<i>Francés</i>
<i>Frutos pequeños calibre MM (47-57 mm)</i>	Lisos	Indeterminado	<i>Monkeymaker y Canario</i>
<i>Frutos pequeños calibre MMM (<47 mm)</i>	Lisos	Indeterminado	<i>Cocktail (redondos y aperados)</i>
<i>Frutos muy pequeños <30 g</i>	Lisos	Indeterminado	<i>Cereza ("cherry") comestibles y ornamentales</i>

1.5.1. Principales tipos de tomate que se consumen en España

Existen innumerables variedades de tomate que se cultivan en España, en el año 2004 en el Banco de Germoplasma de Hortícolas de Zaragoza (CITA, Gobierno de Aragón) existían 3.180 variedades distintas, es por ello, que es difícil decir cuáles son las más importantes.

Según la empresa pública Mercasa, estos son los principales tipos de tomates que podemos encontrar en los supermercados españoles.

1. Tomate tipo Daniela/Long Live/Royesta: estos tipos de tomate son híbridos y se caracterizan porque su planta es fuerte y vigorosa. Su fruto tiene una piel gruesa y áspera y adquiere un color rojo brillante o anaranjado en la madurez. Tiene buena consistencia, es muy jugoso y de acidez alta. Estas variedades tienen una vida larga y una gran producción. Su fruto (Fig. 21) es muy apreciado por su gran resistencia a la manipulación y transporte.



Figura 21. Tomate Daniela (<http://www.es.all.biz/>).

2. Tomate Pera: tal y como indica su nombre, es un tomate con una forma que recuerda a esta fruta o a una bombilla (Fig. 22). El fruto de esta variedad, de tamaño considerable. Algunas variedades de color rojo menos intenso, más bien rosado, son idóneas para consumir sólo con aceite de oliva, ya que su sabor es muy pronunciado. Estas variedades tienen un cultivo muy exigente y son poco productivas, pero esta limitación se compensa por su excelente sabor y rusticidad. Otros tipos de tomate pera, de rojo más intenso, tienen su uso más habitual en las cocciones, entre otras, para hacer salsa de tomate o sopas como el gazpacho. Esta variedad, de las más fructíferas, es la que utiliza la industria conservera.



Figura 22. Tomate Pera (<http://commons.wikimedia.org/>).

3. Tomate Rama: de tamaño pequeño y forma esférica (Fig. 23). Las variedades más útiles son las de fruto carnoso y piel gruesa, óptimas para elaborar el típico “*pa con tomàtec*”. La gran ventaja de este tomate es que, almacenado en un lugar fresco y seco, se conserva durante largos periodos de tiempo.



Figura 23. Tomate Rama (<http://commons.wikimedia.org/>).

4. Tomate Cherry o Cereza: como su nombre indica, se caracteriza por sus diminutas dimensiones y su forma redonda (Fig. 24), aunque también se distingue el tomate cherry pera, más alargado. Estas características, junto con su sabor afrutado, lo convierten en un elemento decorativo de platos y ensaladas.



Figura 24. Tomate Cherry (<http://commons.wikimedia.org/>).

5. Tomate Canario: este tomate se caracteriza por ser redondo y liso de tamaño medio, su piel es fina en tonos verdes y rojos y su carne es dura y de buen sabor. Esta variedad presenta buena resistencia al transporte y conservación (Fig. 25).



Figura 25. Tomate canario (fuente: <http://canariasactual.com/>).

6. Tomate Mazarrón: esta variedad presenta unas características parecidas al tomate canario. Se trata de un tomate redondo, liso y por lo general, de tamaño medio. Su piel es fina, brillante y pigmentada en verdes y rojos, antes de madurar. Su pulpa es consistente y de buen sabor, cuando son pequeños son muy dulces. Esta variedad es muy apta para el transporte y conservación (Fig. 26).



Figura 26. Tomate Mazarrón (fuente: www.regmurcia.com).

7. Tomate Rambo: se trata de una variedad que alcanza un buen tamaño de planta, cuyo fruto es duro y tiene una forma esférica y ligeramente acostillado. Su piel es

media/fina y de un color rojo entreverado en verde, con mucha agua y un buen sabor. Este tomate es muy comercial ya que tiene una buena relación calidad-precio y es muy indicado para ensaladas. Esta variedad presenta unas buenas condiciones de conservación, manipulación y transporte. (Fig. 27).



Figura 27. Tomate Rambo (fuente: <http://www.infoagro.com/>).

8. Tomate Raf: de sabor muy codiciado, este tomate almeriense se caracteriza por un elevado grado de azúcares (glucosa y fructosa), un aspecto carnoso y gusto muy dulce (Fig. 28). De temporada corta, las siglas se refieren a "*resistente a Fusarium*", uno de los patógenos que más destruyen las plantaciones. Se conoce también con el nombre *muchamiel*.



Figura 28. Tomate Raf (<http://commons.wikimedia.org/>).

1.5.2. Variedades de tomates en Aragón

Las variedades tradicionales Aragonesas de tomate son una parte importante de la agrobiodiversidad de Aragón. Como ya se ha comentado en el apartado 1.1, a partir de la introducción del tomate en Europa por los españoles se inició un proceso de transdomesticación que ha dado lugar a la diversidad actual.

Cuando el tomate se introdujo en Aragón, se produjo una adaptación por selección a los factores agroclimáticos locales, que engloban aspectos tales como el sistema de cultivo, las condiciones edáficas, la climatología así como las plagas y enfermedades locales. En este proceso de adaptación el hombre participó seleccionando las plantas con mayor utilidad que, en definitiva, son las que mejor se

adaptaron a las condiciones locales. Por otra parte, más allá de la selección natural se dio también una selección artificial en la que el agricultor seleccionó los materiales en función de su forma, tamaño, color e incluso sabor. Dado que en los criterios de la selección influyeron las características socioculturales de la zona de cultivo y que éstas varían entre distintas zonas, esta selección fue por tanto diferencial y contribuyó también a la diversificación. Este proceso evolutivo, en el que se combinó la selección natural y la artificial, fue un proceso lento que requirió largos periodos de tiempo. En definitiva, una vez llegó el cultivo a Aragón éste evolucionó, fruto de la selección de los agricultores, que transmitieron la semilla de padres a hijos a lo largo del tiempo desarrollándose lo que se denomina como variedades tradicionales o locales.

Una parte importante de la variabilidad de los tomates en Aragón está conservada en forma de semillas en el Banco de Germoplasma de Especies Hortícolas de Zaragoza (BGHZ) del Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria de Aragón (CITA) del Gobierno de Aragón. La descriptiva de estas variedades se encuentra recogida en dos publicaciones (*Carravedo, 2006*), donde se detallan un total de 226 variedades tradicionales aragonesas, entre las que se incluye el **Tomate Rosa de Barbastro**.

1.5.2.1. Tomate rosa de Barbastro

El tomate Rosa de Barbastro (*Solanum lycopersicum* L.) es una variedad local tradicional de las comarcas de Somontano, Sobrarbe y Ribagorza. Se caracteriza por presentar frutos grandes –de 500 a 900 g– y con una piel fina de color rosado, además de ser aromático, carnoso, compacto, dulzón, con poca acidez y poseer escasas semillas (Fig. 29).



Figura 29. Tomate rosa de Barbastro analizado en este proyecto.

No es un producto que se adquiere por su apariencia externa, puede considerarse un tomate con aspecto “feo”, pero su gran aceptación en el mercado se debe a su interior, dado el sabor y la textura tan característicos, con un predominio del dulzor sobre la acidez. *Carravedo (2006)*, lo cataloga de producto con enorme calidad.

La **variedad tradicional tomate rosa** es el resultado de un proceso de selección artesanal llevada a cabo por los agricultores del Somontano de Barbastro (Huesca). En su comercialización se utilizan materiales locales conservados por los agricultores, que al estar adaptados a las condiciones agroclimáticas de la zona y a los gustos locales permiten obtener un producto muy valorado por el consumidor. Su cultivo siempre es mediante abonado orgánico de estiércol procedentes de ganaderías locales que aportan nutrientes naturales para corregir las carencias del suelo. Además, es recolectado y seleccionado manualmente y no pasa por cámaras antes de su venta (Fig. 30), lo que le da ventaja con respecto al sabor y al punto de maduración ya que el cliente lo tiene al día siguiente en su punto de venta (*elsabordelahuerta, 2014*).

En los últimos años, gracias a que los productores de Tomate Rosa de Barbastro crearon la Asociación de Hortelanos y Amigos de la Huerta del Alto Aragón, han conseguido potenciar y promocionar su producción, pasando de los 200.000 kg en el año 2009 a los 2.000.000 kg que son las previsiones para este año 2014 (*www.aragondigital.es, 2014*). De los cuales, Barbastro y la Comarca del Somontano aportan el 50%, mientras que el resto de la provincia de Huesca completa la producción.



Figura 30. *Recolección de tomate rosa de Barbastro (CITA, 2013).*

Esta asociación también ha contribuido a crear dos nuevos entes jurídicos que en encargarán de llevar las riendas de este proyecto económico. Se trata de la Asociación para la producción, transformación y comercialización del tomate rosa de Barbastro –integrada por transformadores, establecimientos, productores; y cuya

única misión será realizar un seguimiento de la marca tomate rosa de Barbastro, y la regulará— y una entidad de carácter económico, que une a productores de tomate rosa de Barbastro para su comercialización. Esta última, aglutina a una docena de productores y se espera que a corto plazo alcance el medio centenar. Entre todos aglutinan el 80% de la producción del tomate rosa de Barbastro.

Además, también pretende obtener la C’alial que es una marca de calidad diferenciada reconocida por el Gobierno de Aragón desde 1991 para identificar a los productos de la Comunidad, naturales o transformados, que se distinguen por sus especiales cualidades, tanto gastronómicas como nutricionales.

En el mes de octubre de 2014 el Ministerio de industria concedió a la Asociación de Hortelanos del Alto Aragón la marca nacional para el tomate rosa de Barbastro. Este sello alimenticio supondrá diferenciar el producto elaborado en las huertas del Somontano de otras hortalizas que salen al mercado con la denominación de tomate rosa fuera de temporada (*www.heraldo.es, 2014*).

1.6. Parámetros de calidad del tomate

La calidad de los alimentos es el conjunto de cualidades que los hacen ser aceptados por los consumidores. Estas cualidades incluyen tanto las percibidas por los sentidos (cualidades sensoriales) como las higiénicas, las nutritivas y las comerciales.

En el tomate fresco, son determinantes de la calidad sus cualidades organolépticas, es decir, el conjunto de atributos de apariencia, textura, olor, color o sabor que se perciben por los sentidos. Se conoce que la elección del consumidor está determinada tanto por parámetros externos como la forma, el color y la ausencia de daños, como por parámetros internos como el sabor, el aroma y la textura (*Azodanlou et al., 2003*). De entre todos estos atributos, el sabor, es el que normalmente crea un mayor impacto en el consumidor. El sabor en el tomate está relacionado directamente con su composición química (principalmente azúcares y ácidos orgánicos) que varían dependiendo de la especie y el grado de madurez del fruto (*Rivera et al., 2010*).

Además de estas características organolépticas, la calidad del tomate depende también de su **valor nutricional**. El valor nutritivo de cada alimento depende de su composición química, es decir, de la cantidad y calidad de sus componentes, y de

la presencia de sustancias que afecten a la utilización de los nutrientes. En este sentido, la calidad nutricional del tomate se ve afectada por un importante número de factores como las condiciones climáticas o de cultivo que hacen que existan grandes diferencias entre especies (*Rivera et al., 2010*). Se hace necesario realizar análisis químicos para caracterizar los diferentes cultivares de tomate y determinar el valor nutricional y funcional de cada uno de ellos.

Por último, la calidad del tomate depende también de su capacidad de ser sano o inocuo. La calidad higiénico-sanitaria es la primera exigencia de todo alimento saludable, ya que determina la inocuidad del mismo y es una garantía de que no va a ocasionar enfermedad tras su consumo. Para el caso del tomate fresco, es necesario que no existan por encima de los límites legales, residuos de sustancias químicas provenientes de la actividad industrial o agrícola, ni peligros biológicos como bacterias o virus responsables de producir enfermedades en el consumidor.

Entre los riesgos para el consumidor más comunes en el tomate fresco, los más conocidos son la presencia de bacterias patógenas del tipo Enterobacterias (*Salmonella* spp. y *Escherichia coli*) que se asocian con múltiples brotes de enfermedades gastrointestinales y en casos severos con la muerte (*Beuchat, 2002; Harris et al., 2003; Berger et al., 2010*), o riesgos de tipo químico como pesticidas y fertilizantes nitrogenados, debido a un manejo inadecuado de los mismos (*Fundora-Herrera et al., 2000*). Entre las diversas fuentes potenciales de contaminación durante el cultivo y cosecha del tomate que pueden poner en riesgo la calidad del fruto se encuentran el agua de riego (*Beuchat, 2002*), prácticas de cultivo y recolección inadecuadas (*Orozco et al., 2008*).

1.6.1. Calidad nutricional del tomate

La **calidad nutricional** es el grado de utilidad que poseen los alimentos para satisfacer los requerimientos de sustancias necesarias para garantizar el buen funcionamiento del organismo humano o animal. Esta calidad depende de los nutrientes esenciales para la vida que están presentes en el alimento, y de otras sustancias que, aunque no son consideradas nutrientes, proporcionan al consumidor beneficios médicos y saludables adicionales, como la prevención y el tratamiento de enfermedades, por lo que se les denominan compuestos bioactivos (*Jack, 1995*).

La composición química de las especies de hortalizas depende de muchos factores, siendo el más importante la variedad botánica y el cultivar. Factores relevantes que influyen en ella, son las condiciones climáticas, la fertilización, el sistema de producción, el riego, así como el estado de desarrollo de la planta al momento de la cosecha (*Casierra-Posada et al., 2008*).

En general, el tomate es un alimento cuyo componente mayoritario es el agua (un 94%), seguido de los hidratos de carbono. Se considera una hortaliza cercana a las frutas, ya que su aporte en azúcares simples es superior al de otras verduras lo que le confiere un sabor dulce. Es una fuente importante de vitaminas entre las que destacan la vitamina C, la vitamina E, la provitamina A (principalmente, el beta-caroteno), vitaminas del grupo B (B1 y B3), y de minerales como el fósforo y el potasio. Además, presenta un alto contenido en licopeno, un pigmento que le proporciona su característico color rojo, y que se considera el más potente de los antioxidantes (*Beecher, 1998*). Se ha demostrado que esta sustancia puede prevenir e incluso combatir el cáncer, porque protege las células de los efectos de la oxidación (*Sies et al., 1992; Abushita et al., 1997; Giovannucci, 1999*). Otros carotenoides presentes en él son la lutína y la zeaxantina (www.fen.org.es).

El tomate también es una gran fuente de potasio que interviene en la regulación del equilibrio ácido-base del cuerpo y en el funcionamiento de los nervios, el corazón y los músculos (*ETSIA, 2014*). Además, contiene en menor medida fósforo, fibra y vitaminas (*Candelas-Cadillo et al., 2005*).

En cuanto a la composición de las hortalizas en compuestos bioactivos, se conoce que puede variar dependiendo de la especie, el cultivar, los factores ambientales, las técnicas agrícolas, los tratamientos postcosecha y el almacenaje (*Dumas et al., 2003*). Según estudios recientes el tomate es la primera fuente de licopeno (71,5%), la segunda fuente de vitamina C (12,0%) y beta-caroteno (17,2%) y la tercera fuente de vitamina E (6,0%) (*García-Closas et al., 2004*).

En la Tabla 10 se muestra la composición nutricional del tomate por cada 100 g de porción comestible (*Gil, 2010*).

Tabla 10. Composición nutricional del tomate por cada 100 g de porción comestible (Fuente: Gil, 2010).

APORTE POR 100 g			
Agua		94%	
Hidratos de carbono		3-4% (1-1,5% fibra)	
Proteínas		1%	
Lípidos		0,3%	
Energía (Kcal)		19	
Elementos minerales	por 100 g	Vitaminas	por 100 g
K	260-290 mg	Ac. Ascórbico (vit C)	25-40 mg
Na	3-10 mg	Retinol (vit A)	207 mg
Ca	11 mg	Tiamina (vit B1)	0,06-0,09 mg
Fe	0,6 mg	Riboflavina (vit B2)	0,04 mg
Mg	10 mg	Niacina (vit B3)	30-50 µg
P	27 mg	Ac. Fólico (total)	25-28 µg

1.7. Compuestos bioactivos. Antioxidantes naturales en el tomate

Las plantas son la fuente de compuestos químicos orgánicos más importantes que existe. El metabolismo primario sintetiza compuestos esenciales y de presencia universal en todas las especies vegetales (polisacáridos, aminoácidos, ácidos grasos, etc.). Por el contrario, los compuestos del metabolismo secundario, también llamados fitoquímicos o compuestos bioactivos, se acumulan en cantidades más pequeñas, no son esenciales y no están presentes en todas las plantas. Si bien su función es proteger a la planta del ambiente donde se desarrolla, su importancia para la salud es fundamental una vez ingeridos por las personas. Son sustancias de origen vegetal y biológicamente activas, que no son nutrientes esenciales para la vida pero tienen efectos positivos sobre la salud (Pascual-Villalobos, 1996).

Estas sustancias parecen ser responsables, al menos en parte, del papel beneficioso para la salud asociado al consumo de frutas, hortalizas y alimentos derivados. Dentro de ellas hay sustancias de diversas familias químicas que poseen estructuras y propiedades muy variadas, como son los polifenoles, entre los que se incluyen los pigmentos antociánicos, taninos, flavonoles, isoflavonas, lignanos, estilbenoides y derivados de ácidos aromáticos; compuestos terpenoides, como los carotenoides, y otros. Muchos de ellos tienen **características antioxidantes**, que

podrían estar relacionadas con su papel de protección “in vivo” frente a enfermedades cardiovasculares y algunos tipos de cáncer.

La composición en sustancias bioactivas de diferentes frutas y hortalizas es muy variada, tanto desde el punto de vista cualitativo como cuantitativo. Por otra parte, el contenido en estas sustancias también se puede ver afectado por las condiciones ambientales y nutricionales de los cultivos (condiciones agronómicas), así como por los tratamientos efectuados durante la manipulación de las frutas y hortalizas en la etapa postcosecha y el procesado para obtener alimentos derivados. Además existen factores intrínsecos al propio vegetal (de origen genético), que llevan a que la composición en estas sustancias sea diferente no sólo entre distintos géneros o especies, sino incluso también entre variedades de la misma especie. Así, se ha demostrado que la presencia o ausencia de determinados nutrientes en el suelo y el exceso o déficit de riego pueden afectar a la composición fitoquímica de las frutas y hortalizas, tanto cualitativamente como cuantitativamente. Se sabe que el calcio, el boro y el contenido en sustancias nitrogenadas del suelo tienen un efecto decisivo sobre el contenido en sustancias fenólicas. Igualmente, el grado de iluminación e irradiación y la temperatura ejercen también tienen una influencia importante sobre el contenido en sustancias fitoquímicas (*Vallejo et al., 2003*). Los antioxidantes naturales se encuentran presentes en prácticamente todas las plantas, microorganismos, hongos e incluso en tejidos animales (*Zapata et al., 2007*).

1.7.1. Polifenoles

Los polifenoles son compuestos que presentan una estructura molecular caracterizada por la presencia de uno o varios anillos fenólicos. Existen varias clases y subclases de polifenoles que se definen en función del número de anillos fenólicos que poseen y de los elementos estructurales que presentan estos anillos. Según su estructura, los polifenoles se pueden clasificar en dos grupos, los flavonoides (flavononas, flavonas, isoflavonas, flavonoles, proantocianidinas y antocianos) y no flavonoides (ácidos fenólicos, taninos hidrolizables, ácidos hidroxibenzoicos y estilbenos).

Los polifenoles son antioxidantes naturales de origen vegetal. Hay diversos factores, incluida la genética, que influyen en la cantidad presente en las plantas como

son los factores medioambientales, como la luz, temperatura, composición del aire y nutrición mineral, y las prácticas culturales, como el estado de maduración/cosecha o el sistema de riego (*Navarro-González et al., 2011*). Además, los métodos culinarios también afectan al nivel de polifenoles presentes en un alimento, siendo los métodos de cocción los que producen un mayor efecto.

Para el caso concreto de los tomates, existe una gran cantidad y variedad de compuestos fenólicos, como ácidos fenólicos (ácidos clorogénico, caféico, ferúlico y cumárico) y flavonoides. No obstante, la cocción de los mismos, puede afectar marcadamente a su composición, se conoce que pierden del 10 al 15% de su contenido en polifenoles después de 15 minutos de ebullición, y entre el 45-50% después de freírlos (*Pellerino, 2013*). En cuanto al estado de maduración de la planta, el ácido clorogénico, uno de los compuestos fenólicos presentes en mayor cantidad en el tomate (*García-Valverde, 2013*), va disminuyendo su cantidad al final del crecimiento y conforme se inicia la maduración del fruto (*Periago-Castón et al., 2008*).

1.7.1.1. Ácidos fenólicos

Los ácidos fenólicos son metabolitos esenciales para el crecimiento y reproducción de las plantas y, actúan como agentes protectores frente a patógenos, siendo secretados como mecanismo de defensa en condiciones de estrés, tales como infecciones y radiaciones UV, entre otros (*Muñoz-Jáuregui et al., 2007*). Diversos estudios señalan que la introducción en la dieta de estos ácidos fenólicos disminuye el riesgo en padecer enfermedades cardiovasculares y ciertas formas de cánceres (*Muñoz et al., 2007*).

Los ácidos fenólicos derivados del ácido hidroxicinámico son los ácidos caféico, ferúlico y cumárico que, por regla general, se hallan presentes en forma de derivados (*Zavaleta et al., 2005*). El contenido de estos compuestos fenólicos en el tomate se ve afectado por numerosos factores como son la variedad de tomate, el método de cultivo y la temperatura de la pulpa del tomate.

1.7.1.2. Flavonoides

Los flavonoides son pigmentos naturales presentes en los vegetales y, al igual que en el caso de los ácidos fenólicos, protegen al organismo del daño producido por

agentes oxidantes, como los rayos ultravioletas, la polución ambiental, etc. El organismo humano no puede producir estas sustancias químicas protectoras, por lo que debe obtenerlas mediante la alimentación o en forma de suplementos. Los flavonoides están ampliamente distribuidos en plantas, frutas, verduras y en diversas bebidas y, representan componentes sustanciales de la parte no energética de la dieta humana (Martínez-Flórez et al., 2002).

Los flavonoides contienen en su estructura química un número variable de grupos hidroxilo fenólicos y poseen excelentes propiedades de quelación del hierro y otros metales de transición, lo que les confiere una gran capacidad antioxidante. Por ello, desempeñan un papel esencial en la protección frente a los fenómenos de daño oxidativo, lo que reduce el envejecimiento de las células (Conseil et al., 1998) y tienen efectos terapéuticos en un elevado número de patologías, incluyendo la cardiopatía isquémica, la aterosclerosis o el cáncer (Martínez-Flórez et al., 2002).

1.7.2. Carotenoides

Los carotenoides son un grupo de cerca de 600 pigmentos liposolubles, responsables de los colores naturales amarillos, naranjas y rojos, de las frutas y vegetales (Krzysztof et al., 2010). Estos pigmentos son tetraterpenos, es decir, compuestos de 40 átomos de carbono, formalmente derivados del fitoeno. Pueden ser de dos clases: los carotenos, compuestos hidrocarbonados, y las xantofilas, derivados oxigenados de los carotenos (Sánchez et al., 1999).

Los carotenoides tienen una propiedad característica que es absorber la luz, por lo que su papel natural es dar color. Esta propiedad se deriva de la presencia de enlaces dobles conjugados que conforman un cromóforo largo. Por otro lado, también está bien establecida su función antioxidante en los organismos fotosintéticos y en muchos no fotosintéticos aerobios, participando en la desactivación de radicales libres que se producen durante el metabolismo normal de las células (Sánchez et al., 1999).

El cuerpo humano no sintetiza carotenoides, sino que su presencia en éste depende de la dieta. En general, la ingesta de tomate y de productos derivados de él provee al ser humano de alrededor del 85% del licopeno. El 15% restante es aportado por frutas tales como la sandía, papaya y uvas rosadas (Zapata et al., 2007). Los

carotenoides tienen un efecto favorable para el sistema inmunológico y protegen la piel contra la radiación ultravioleta (Candelas *et al.*, 2005).

1.7.2.1. Licopeno

El licopeno es un carotenoide, y principal pigmento responsable de la característica coloración roja del tomate y sus productos derivados, y es sintetizado exclusivamente por plantas y microorganismos (Krzysztof *et al.*, 2010). No tiene actividad provitamina A, pero muestra una capacidad antioxidante dos veces más alta que el beta-caroteno (Ordoñez *et al.*, 2009).

Es un carotenoide altamente lipofílico, que se caracteriza por carecer de anillos cíclicos y poseer once dobles enlaces conjugados, tiene una estructura sencilla con una cadena alifática formada por cuarenta átomos de carbono (Fig. 31) (Ordoñez *et al.*, 2009).

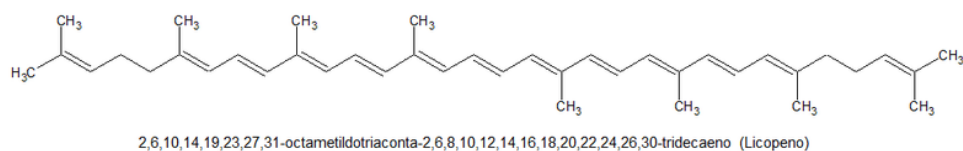


Figura 31. Estructura química del licopeno.

Una de las funciones principales del licopeno y, de otros compuestos relacionados con los carotenoides, es la de absorber la luz durante la fotosíntesis protegiendo a la planta contra la fotosensibilización. Además, este carotenoide tiene propiedades beneficiosas para la salud como son su función antioxidante, anticancerígeno, antiteratogénico, regulador de los mecanismos inmunológicos y reductor del colesterol (Krzysztof *et al.*, 2010).

El licopeno es el carotenoide más abundante en el tomate maduro, proporcionando aproximadamente del 80 al 90% de los pigmentos totales (García-Valverde *et al.*, 2013). Esta variabilidad en la cantidad de licopeno, depende de factores como la variedad, el suelo, la cantidad de nitrógeno disponible, el clima o el tipo de almacenamiento.

En función de la madurez, se sabe que varía el contenido en licopeno, ya que variedades de tomate con un color más intenso y con un mayor contenido en sustancias insolubles, dan contenidos más altos en este carotenoide. Se sabe que del 72% al 92% del total del licopeno presente en el tomate, se encuentra en la pulpa y la

piel, asociado a la presencia de compuestos insolubles (Periago-Castón *et al.*, 2001). En la Figura 32 se muestra el contenido en licopeno en diversos productos alimenticios (incluidos derivados del tomate).

Contenido de licopeno en varios alimentos	
Fuente	Contenido de licopeno (mg/100 g base húmeda)
Tomate, fresco	0,72 - 20,00
Tomate, jugo	5,00 - 11,60
Tomate, salsa	6,20
Tomate, pasta	365,00
Tomate, sopa	7,99
Salsa ketchup	9,90 - 13,44
Salsa para pizza	12,71
Sandía	2,3 – 7,2
Guayaba rosa	5,23 – 5,50
Toronja	0,35 – 3,36
Papaya	0,11 – 5,3
Zanahoria	0,65 – 0,78
Calabaza	0,38 – 0,46

Figura 32. Contenido de licopeno en diversos alimentos (Krzysztof *et al.*, 2010).

Hay diversos estudios que hablan de la importancia de la temperatura de maduración, así como de la temperatura de almacenamiento del tomate, que condicionan la concentración de licopeno en el fruto. Chang *et al.*, (1977) demostraron que la concentración de licopeno es mucho más baja cuando los frutos han sido madurados a 32 °C que cuando lo han hecho a 21 °C. En estos mismos valores se mueve el estudio de Robertson *et al.*, (1995) que indican que la temperatura óptima para la producción de este carotenoide es entre 18 °C y 26 °C. En cuanto a la temperatura de almacenamiento, hay estudios que demuestran que a partir de 4 °C se inhibe la producción de licopeno. Por otro lado, estos mismos autores señalan que la síntesis de licopeno es severamente inhibida por la exposición a la radiación solar intensa y, se ha sugerido, que el daño por radicación al tomate puede deberse a los efectos generales del sobrecalentamiento de los tejidos irradiados (Zapata *et al.*, 2007).

El licopeno puede encontrarse como isómeros *cis* y *trans*. Tanto la cantidad total de *trans*-licopeno como la de *cis*-licopeno aumentan significativamente cuando el

tomate madura (García-Valverde et al., 2013). En el tomate fresco, en estado natural, se encuentra que el 90% del licopeno está en forma de isómero *trans*, mientras que en los productos procesados del tomate existe una mayor proporción del isómero *cis*. El tratamiento térmico al que es sometido el tomate procesado es responsable de esta isomerización inducida (Ordoñez et al., 2009). Otros estudios indican que, durante el procesamiento térmico, tiene lugar la ruptura de la membrana y de la pared celular, liberando el licopeno desde la porción insoluble del tomate, lo cual incrementa el valor nutricional de los tomates por el aumento en la bioaccesibilidad del contenido de licopeno y su actividad antioxidante (Sulbarán et al., 2001).

1.7.2.2. Beta-caroteno

En el tomate, el beta-caroteno y el licopeno, se encuentran en forma de estructuras semicristalinas y unidas a la membrana de los cromoplastos o cloroplastos.

El beta-caroteno es un precursor de la vitamina A (Zapata et al., 2007); es una sustancia que no sintetiza el cuerpo humano sino los vegetales y microorganismos por lo que se deben tomar en la dieta como micronutriente (Monsalve et al., 2007). El beta-caroteno se libera de los alimentos en el intestino delgado y se absorbe junto a la grasa de la dieta, dado que es liposoluble. El beta-caroteno se convierte en vitamina A mediante la intervención de ciertas enzimas de la mucosa intestinal; y su concentración en el plasma humano está en relación directa con la ingesta de frutas y vegetales (Zapata et al., 2007). El beta-caroteno es el segundo carotenoide más abundante, por detrás del licopeno, pero solo representa el 15% de la cantidad de total de ellos (Hallman, 2013). En la Figura 33 se muestra la estructura química del beta-caroteno.

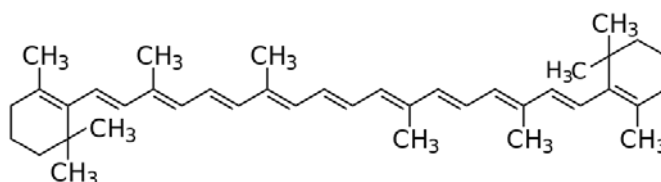


Figura 33. Estructura química del beta-caroteno.

(<http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Beta-carotene.svg>)

El beta-caroteno tiene beneficios para la salud, ya que reduce el riesgo de padecer enfermedades coronarias, así como disminuye la probabilidad de sufrir

diversos tipos de cánceres. También se ha observado que se reducen los daños producidos por los rayos X (Zamora, 2007).

En el caso del tomate, el contenido en beta-caroteno depende de la calidad del fruto fresco y de su origen (Hallman, 2013). El impacto del sistema de cultivo sobre el nivel de beta-caroteno en cosechas es confuso. Algunos autores, indican que este pigmento es más abundante en condiciones óptimas para el crecimiento de las plantas (Hallman, 2013), pero su cantidad también depende del tipo de suelo, clima, variedad y tipo de almacenamiento (Monsalve et al., 2007).

1.8.- Valor nutricional y funcional de los alimentos

El **valor nutricional** de un alimento, depende de su composición química y hace referencia a la cantidad de los diferentes nutrientes que posee, determinada mediante el análisis químico de muestras representativas.

Los componentes mayoritarios de cada alimento definen su valor nutritivo, para el caso concreto del tomate, su valor nutritivo reside en su riqueza en fibra, minerales como potasio y fósforo, y vitaminas, como C, E o vitaminas del grupo B. Además, presenta un alto contenido en carotenoides como el licopeno, pigmento natural que aporta al tomate su color rojo característico y que presenta una potente actividad anticancerígena.

El valor nutricional de un alimento no depende únicamente de la riqueza nutricional de cada alimento, sino también de su **biodisponibilidad**, es decir, de la capacidad de aprovechamiento del nutriente por el organismo. Algunos autores definen la biodisponibilidad de un alimento como la proporción de nutrientes que se digieren, se absorben y se metabolizan a través de las rutas metabólicas habituales de asimilación (Srinivasan, 2001).

Teniendo en cuenta la definición anterior, para conocer el valor nutritivo de un alimento, es importante conocer la cantidad total de compuestos que posee, pero también es necesario conocer la cantidad de cada uno de ellos que está disponible dentro del contenido total de cada nutriente. Además, debe valorarse la capacidad que el alimento tiene de cubrir las necesidades nutricionales de la población, comparando su composición nutricional con los requerimientos nutricionales establecidos medios.

El concepto valor nutricional de un alimento, es decir, la capacidad de un alimento de aportar a través de los alimentos los nutrientes (hidratos de carbono, proteínas, grasas, vitaminas y minerales) suficientes para satisfacer las necesidades orgánicas particulares, tiende a ser complementado por el de **valor funcional** de un alimento, que incluye, la potencialidad de los alimentos para promocionar la salud, mejorar el bienestar y reducir el riesgo de desarrollar enfermedades. Así, un alimento se considera funcional porque, además de destacar por sus propiedades nutritivas, contiene ciertos elementos, cuyo consumo diario dentro de una dieta equilibrada contribuye a mantener o mejorar nuestro estado de salud y bienestar.

En Europa, el primer documento de consenso sobre conceptos científicos en relación con los alimentos funcionales fue elaborado en 1999 por un grupo de expertos coordinados por el ILSI (*International Life Sciences Institute*), según el cual un alimento funcional es aquel que contiene un componente, nutriente o no nutriente, con efecto selectivo sobre una o varias funciones del organismo, con un efecto añadido por encima de su valor nutricional y cuyos efectos positivos justifican que pueda reivindicarse su carácter funcional o incluso saludable.

Entre los efectos positivos que desarrollan estos alimentos sobre la salud destacan (*Silveira-Rodríguez et al., 2003*) los siguientes:

- *Crecimiento y desarrollo durante la gestación y primeros años de vida.* Se trata de alimentos enriquecidos en hierro, yodo, ácido fólico, ácidos grasos (omega-3 y omega-6), calcio y vitaminas (A y D) que favorecen el crecimiento y desarrollo.

- *Metabolismo de sustancias.* En relación con el mantenimiento de un peso adecuado, mejor control de la glucemia, o del colesterol y triglicéridos plasmáticos asociados a riesgo cardiovascular o con un adecuado rendimiento en la práctica de actividad física, entre otros. Algunos ejemplos son los alimentos de bajo contenido energético (bajos en grasas o en azúcares sencillos), enriquecidos en omega-3, ácido oleico o en fibra, bebidas y productos específicos para deportistas.

- *Defensa contra el estrés oxidativo.* Las sustancias antioxidantes funcionan como una barrera frente al efecto nocivo de los radicales libres sobre el ADN (los genes), las proteínas y los lípidos de nuestro cuerpo. Su consumo contribuye a reducir el riesgo de enfermedades cardiovasculares, degenerativas e incluso de cáncer. Se trataría de

productos enriquecidos con sustancias antioxidantes (vitaminas C y E, beta-carotenos, selenio, cinc y fitoquímicos) o sustancias propias de vegetales.

- *Sistema cardiovascular*. Por su contribución a la hora de reducir el riesgo de enfermedades cardiovasculares se encuentran los alimentos enriquecidos en ácidos grasos mono-insaturados, poli-insaturados (omega-3 y omega-6), con sustancias de acción antioxidante, fitoesteroles, ciertas vitaminas del grupo B (B6, B9, B12) y fibra.

- *Función del tracto gastrointestinal*. Alimentos probióticos (yogures y otras leches fermentadas con bacterias ácido-lácticas), prebióticos (alimentos con fibra soluble como los fructo-oligosacáridos) y los enriquecidos en fibra soluble e insoluble o ricos en fibra (legumbres y hortalizas, frutas frescas y desecadas, frutos secos y cereales de grano entero y productos que los incluyen como ingrediente).

- *Funciones psicológicas y conductuales*. En relación con el apetito y la sensación de saciedad, el rendimiento cognitivo, el humor o tono vital y el estrés. Se engloban los alimentos ricos en fibra y los enriquecidos (de alto valor de saciedad), alimentos con aminoácidos específicos, con sustancias excitantes del sistema nervioso (cafeína, ginseng) o tranquilizantes (melisa) extraídos de plantas, etc.

Entre algunos ejemplos de alimentos funcionales, destacan aquellos alimentos que de forma natural contienen ciertos minerales, vitaminas, ácidos grasos, fitoesteroles, fibra y sustancias antioxidantes, tal es el caso del tomate y de alimentos modificados y enriquecidos en este tipo de sustancias y los probióticos como el yogur, que tienen bacterias vivas de efectos beneficiosos para la salud.

Para el caso concreto del **tomate**, además de los compuestos fenólicos previamente comentados, existen otros componentes con capacidad funcional como las vitaminas, provitaminas, minerales y la fibra. El valor funcional de este alimento reside en estos componentes, aunque hay que tener en cuenta que de acuerdo con investigaciones anteriormente citadas, esta funcionalidad dependerá de aspectos como la maduración y los factores medioambientales en los que ha sido cultivada la planta.

Glosario

Antera: f. Bot. Parte del estambre de las flores, que forma a modo de un saco pequeño, sencillo o doble, en donde se produce y se guarda el polen.

Apical: adj. Pertenece o relativo a un ápice o punta, o localizado en ellos.

Cloroplasto: m. Biol. Orgánulo de las células vegetales en el que tiene lugar la fotosíntesis.

Cromóforo: adj. Quím. Se dice del agrupamiento químico causante de la coloración de una sustancia.

Cromoplasto: m. Biol. Plasto que carece de clorofila, por lo que no puede realizar la función clorofílica.

Dicotiledónea: adj. Bot. Se dice de los vegetales cuyo embrión tiene dos cotiledones.

Diploide: adj. Biol. Dicho de un organismo, de un tejido, de una célula o de un núcleo que posee un doble juego de cromosomas.

Endospermo: m. Tejido del embrión de las plantas fanerógamas, que les sirve de alimento.

Estaminal: adj. Bot. Pertenece o relativo a los estambres.

Foliolo: m. Bot. Cada una de las hojuelas de una hoja compuesta.

Gineceo: Bot. Verticilo floral femenino de las plantas fanerógamas, constituido por uno o más carpelos, que forman el pistilo.

Imparipinada: adj. Hoja compuesta, cuyo raquis termina en un foliolo.

Inflorescencia: f. Bot. Forma en que aparecen colocadas las flores en las plantas.

Lenticular: adj. Con forma de lente biconvexa.

Lobulado: adj. Biol. En forma de lóbulo.

Lóculo: m. Bot. Cavidad del ovario o del fruto en la que están dispuestos los primordios seminales o las semillas.

Meristemo: m. Bot. Tejido embrionario formado por células indiferenciadas, capaces de originar, mediante divisiones continuas, otros tejidos y órganos especializados.

Parénquima: m. Bot. Tejido vegetal constituido por células de forma aprox. esférica o cúbica y con espacios de separación.

Peciolado: adj. Bot. Dicho de una hoja. Que tiene pecíolo.

Peciolo: m. Bot. Pezón que sostiene la hoja.

Pedicelo: m. Bot. Eje que sostiene cada una de las flores de una inflorescencia.

Primordio: Estado rudimentario de un órgano que empieza a formarse.

Sépalo: m. Bot. Hoja transformada, generalmente recia y de color verdoso, que forma parte del cáliz o verticilo externo de las flores heteroclamídeas.

Tricoma: Excrescencia de morfología variable, formada a partir de células epidérmicas. Son tricomas los pelos, las papilas y las escamas.

Experimental

2. Experimental

2.1. Material y reactivos

2.1.1. Equipos de laboratorio

En el desarrollo de este proyecto fin de carrera, además del material básico de laboratorio, como son las pipetas, probetas, matraces aforados, vasos de precipitado, tubos de ensayo, embudos de decantación y buretas, se utilizaron los siguientes equipos e instrumentos de laboratorio (ubicados en los Laboratorios 2 y 3 del Dpto. de Química Analítica, Edificio Loreto, EPSH):

- Campana extractora. Industrias Altea S. A. VG-150.
- Espectrofotómetro de absorción molecular. Unicam UV/Vis Spectrometer UV2.
- Cromatógrafo de líquidos HPLC WATERS 600 PL-EMD-950 con detector UV/Vis diode array.
- Balanza analítica. Sartorius CP 224S.
- Placa calefactora/agitadora. Modelo COBOS/HS 100.
- Centrífuga.
- Arcón congelador. Modelo EDESA.
- Refrigerador. ZANUSSI Tropic System ZFC-395-R.
- Núcleos agitadores.
- Baño de ultrasonidos.
- Pipeteador.
- Cúter.

2.1.2- Reactivos y disoluciones

En el desarrollo de este trabajo se utilizaron los siguientes reactivos:

- Metanol (HPLC-grado gradiente). Panreac
- Etanol (HPLC-grado gradiente). LiChrosolv[®]
- Sulfato de sodio anhidro (Na_2SO_4). Panreac
- Cloruro de sodio (NaCl). PA, Panreac
- Diclorometano (HPLC-grado gradiente). Sigma-Aldrich
- Acetonitrilo (HPLC-grado gradiente). Sigma-Aldrich

- Acetona ($\text{CH}_3(\text{CO})\text{CH}_3$). Fluka
- Hexano ($\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{CH}_3$) (HPLC-grado gradiente). Sigma-Aldrich
- Reactivo Folin & Ciocalteu's phenol reagent, 2 M, Sigma
- Carbonato sódico (Na_2CO_3). PA, Panreac
- Nitrógeno (N_2)
- Ácido clorogénico, 95% titration. Aldrich
- Ácido caféico, $\geq 98\%$ (HPLC). Sigma
- Ácido *p*-cumárico, $\geq 98\%$ (HPLC). Sigma
- Ácido trans-ferúlico, 99% (HPLC). Aldrich
- Quercetina, $\geq 97\%$. Sigma
- Kaempferol, $\geq 97\%$. Sigma
- Beta-caroteno, sintético $\geq 95\%$ (HPLC). Sigma
- Licopeno, de tomate $\geq 90\%$. Sigma

2.2. Muestreo

En el año 2010, la Sociedad Cooperativa Limitada Agrícola de Barbastro (SCLAB), en colaboración con la Unidad de Tecnología Vegetal del Departamento de Agricultura, Ganadería y Medio Ambiente del Gobierno de Aragón y la Asociación de Hortelanos Tradicionales y Amigos de la Huerta del Alto Aragón, realizaron una labor de recolección de semillas entre los agricultores locales, que junto con material vegetal procedente del Banco de Germoplasma de Especies Hortícolas del Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria de Aragón (CITA), se cultivó conjuntamente para su estudio.

Los resultados que se obtuvieron en la campaña 2010 mostraron la existencia de variabilidad dentro del material vegetal recolectado, lo que permitió realizar una primera selección entre las 31 muestras ensayadas inicialmente. Tras una primera criba, se seleccionaron nueve (9) entradas, correspondientes a aquellas que mostraron unas cualidades características del tomate rosa de Barbastro, esto es, principalmente forma achatada, color rosa, y acostillado, que fueron analizadas de nuevo más exhaustivamente en la campaña 2011.

Con los resultados obtenidos en las campañas 2010 y 2011, se realizó de nuevo una selección de aquellas entradas que presentaron un mejor comportamiento, y se seleccionaron tres (3) de ellas. Sin embargo, todavía se observaba heterogeneidad dentro de las diferentes variedades, siendo esta variabilidad la materia prima que permitió iniciar en 2012 un programa de mejora genética.

En la campaña 2013 se realizó el estudio de la descendencia de las doce (12) plantas que habían presentado un mejor comportamiento en la campaña 2012, considerando caracteres productivos y de calidad de los frutos (incluyendo valoraciones organolépticas). El análisis de los resultados obtenidos permitió **seleccionar cuatro** de estas líneas, que fueron:

- **Línea 1:** seleccionada por sus buenas cualidades organolépticas.
- **Líneas 7 y 8:** seleccionadas por su alta producción comercial.
- **Línea 11:** seleccionada por mostrar los mejores resultados globales (valoración organoléptica, altos valores productivos y óptimas valoraciones de frutos en el laboratorio).

Las muestras que se van a analizar en este proyecto proceden de estas cuatro mejores líneas, con el fin de caracterizarlas según su composición en antioxidantes, determinando su valor nutritivo y funcional.

2.2.1. Obtención de las muestras de tomate rosa de Barbastro

Se ha realizado, en las parcelas experimentales acondicionadas para ello, el cultivo del material vegetal, recolección de frutos y preparación y acondicionamiento de las muestras de los tomates rosa de Barbastro para su posterior análisis. Estas labores se han realizado en la parcela experimental del CITA, ubicada en Montañana, y en una parcela ubicada en Barbastro. En ambas localidades (Montañana y Barbastro) el material vegetal fue cultivado en dos ambientes:

- Al **aire libre**: 12 plantas por parcela elemental.
- En **túnel de plástico**: 20 plantas por parcela elemental.

A continuación, se detallan las fechas de recolección de los frutos, así como el número de muestras obtenidas por cada uno de los ensayos que han sido acondicionadas para el análisis.

Parcela experimental del CITA:

8 Agosto 2013 Cultivo en túnel de plástico 20 muestras \pm 1 réplica
27 Agosto 2013 Cultivo al aire libre 19 muestras \pm 1 réplica

Parcela experimental en Barbastro:

2 Septiembre 2013 Cultivo en túnel de plástico 14 muestras \pm 3 réplicas
16 Septiembre 2013 Cultivo al aire libre 16 muestras \pm 3 réplicas

Para completar el estudio, se ha seleccionado como muestra control, un híbrido comercial de tomate rojo (variedad *Caramba*) sólo en condiciones de cultivo protegido (túnel) en la parcela experimental del CITA y en Barbastro.

Cada muestra de tomate preparada para su análisis es el resultado del triturado de cinco frutos, que ha sido homogeneizado y dividido en tres fracciones para la determinación de polifenoles y carotenoides en este proyecto, y la última fracción para la determinación de la vitamina C en posteriores trabajos. Las muestras se han congelado en bolsas de plástico convenientemente marcadas hasta el momento del análisis (Figura 34).

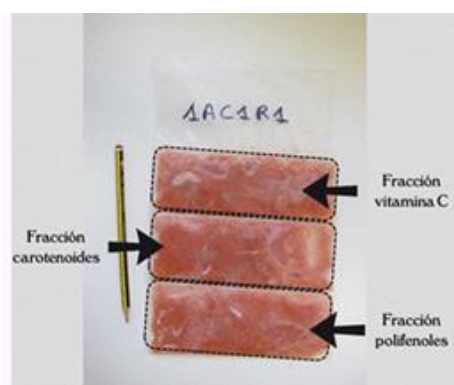


Figura 34. Muestra de tomate rosa de Barbastro congelada para su posterior análisis.

En la Tabla 11 aparecen las muestras analizadas en este proyecto así como su codificación dentro del laboratorio.

Tabla 11. Muestras de tomate rosa de Barbastro analizadas en este estudio.

Muestra	Procedencia	línea	Muestra	Procedencia	Línea
<i>Tomate rosa de Barbastro</i>					
TR1	Barbastro (túnel)	1	TR16	Montañana (túnel)	11
TR2	Barbastro (túnel)	7	TR17	Barbastro (túnel)	1
TR3	Barbastro (túnel)	8	TR18	Barbastro (túnel)	1
TR4	Barbastro (túnel)	11	TR19	Barbastro (túnel)	7
TR5	Barbastro (aire)	1	TR20	Barbastro (túnel)	7
TR6	Barbastro (aire)	7	TR21	Barbastro (túnel)	8
TR7	Barbastro (aire)	8	TR22	Barbastro (túnel)	8
TR8	Barbastro (aire)	11	TR23	Barbastro (túnel)	11
TR9	Montañana (aire)	1	TR24	Barbastro (túnel)	11
TR10	Montañana (aire)	7	TR25	Barbastro (aire)	1
TR11	Montañana (aire)	8	TR26	Barbastro (aire)	1
TR12	Montañana (aire)	11	TR27	Barbastro (aire)	7
TR13	Montañana (túnel)	1	TR28	Barbastro (aire)	8
TR14	Montañana (túnel)	7	TR29	Barbastro (aire)	8
TR15	Montañana (túnel)	8	TR30	Barbastro (aire)	11
<i>Tomate Caramba</i>					
TC31	Montañana (túnel)		TC33	Barbastro (túnel)	
TC32	Barbastro (túnel)		TC34	Barbastro (túnel)	

2.3. Determinación de polifenoles

Dado que el objetivo general del proyecto es caracterizar algunos de antioxidantes naturales más importantes, como son los **polifenoles** y los carotenoides, presentes en una selección de tomates rosa de Barbastro y determinar su valor nutritivo, es necesario realizar la puesta a punto de los métodos analíticos a aplicar.

Los polifenoles más interesantes, por su capacidad antioxidante y su presencia en el tomate, son los **ácidos fenólicos** como el ácido caféico, ácido *p*-cumárico, ácido ferúlico, ácido sinápico, ácido cinámico y ácido clorogénico; y los **flavonoides** como la quercetina y el kaempferol, tanto libres (agliconas) como combinados. Existe una amplia bibliografía muy actual, para la determinación de estos compuestos en tomate (Tokuşoğlu et al., 2003; Raffo et al., 2006; Slimestad et al., 2008; Ribas-Agustí et al., 2012; Vallverdú-Queralt et al., 2012; Hallmann et al., 2013; Charanjit et al., 2013). El análisis de los polifenoles, en las muestras de tomate rosa de Barbastro, necesita una

puesta a punto y una optimización, para adaptarlo a las condiciones e instrumentación disponible en el Departamento de Química Analítica de la Escuela Politécnica Superior de Huesca.

2.3.1. Puesta a punto y optimización de la determinación de polifenoles

Se decidió abarcar el estudio de estos compuestos mediante la extracción de los mismos, de la matriz del tomate, y posterior detección mediante cromatografía líquida HPLC con detección UV/Vis. Para la puesta a punto y optimización del método analítico a aplicar se comenzó con la optimización de la separación cromatográfica de los polifenoles seleccionados para, posteriormente continuar con la selección del método de extracción a aplicar a las muestras de tomate rosa de Barbastro.

Los compuestos fenólicos seleccionados para este estudio fueron el **ácido caféico**, **ácido *p*-cumárico**, **ácido ferúlico**, **ácido cinámico**, **ácido gálico**, **ácido clorogénico**, **quercetina** y **kaempferol**. De todos ellos se disponía de patrón analítico. Se probaron dos procedimientos de separación cromatográfica diferentes:

(a) Procedimiento separación cromatográfica 1 (García-Valverde et al., 2013):

Columna Lichrocart (250 mm x 4 mm x 5 µm) a 15 °C. Fase móvil A: H₂O con 0,05% ácido trifluoroacético a pH 2 y Fase móvil B: metanol. Flujo 1 mL/min. Inyección 20 µL. Modo gradiente: 0 min, 80% A–20% B, 45 min 35% A–65% B y 55 min, 80% A–20% B. Adquisición a 320 nm (ácidos fenólicos) y a 370 nm (flavonoides).

(b) Procedimiento separación cromatográfica 2 (Haghi et al., 2010):

Columna Eurospher (250 mm x 4,6 mm x 5 µm) a T ambiente. Fase móvil A: acetonitrilo con tetrahidrofurano al 4% y Fase móvil B: H₂O con ácido fosfórico al 0,04%. Flujo 1 mL/min. Inyección 20 µL. Modo isocrático: 35% A–65% B. Adquisición a 320 nm (ácidos fenólicos) y a 370 nm (flavonoides).

Los ensayos para la optimización de la separación cromatográfica se realizan con la columna disponible en el laboratorio, de las mismas características que las propuestas en bibliografía, una columna Phenomenex C₁₈ (250 mm x 4,6 mm x 5 µm). Se prepararon disoluciones, en metanol, de concentración 25 µg/g de cada uno de los patrones y se inyectaron en el cromatógrafo, así como una disolución multipatrón de todos ellos en la misma concentración, en las condiciones de cada uno de los

procedimientos cromatográficos seleccionados. Los resultados preliminares mostraron que los analitos de interés se separaban y se podían identificar trabajando con las condiciones cromatográficas del procedimiento 2.

El detector UV/Vis utilizado ha sido un diode array, por lo que los cromatogramas fueron adquiridos en un rango de longitudes de onda comprendido entre los 250-400 nm. Para la identificación y cuantificación de los ácidos fenólicos (clorogénico, gálico, caféico, *p*-cumárico y ferúlico) se seleccionó la longitud de onda de 320 nm, salvo para el ácido cinámico que se identifica a 275 nm; por último para los flavonoides (quercetina y kaempferol) se seleccionó la longitud de onda de 370 nm que es donde presentan mayor absorción.

En la Figura 35 se muestran los espectros obtenidos de cada uno de los patrones seleccionados en el estudio, adquiridos tras separarse en las condiciones cromatográficas óptimas.

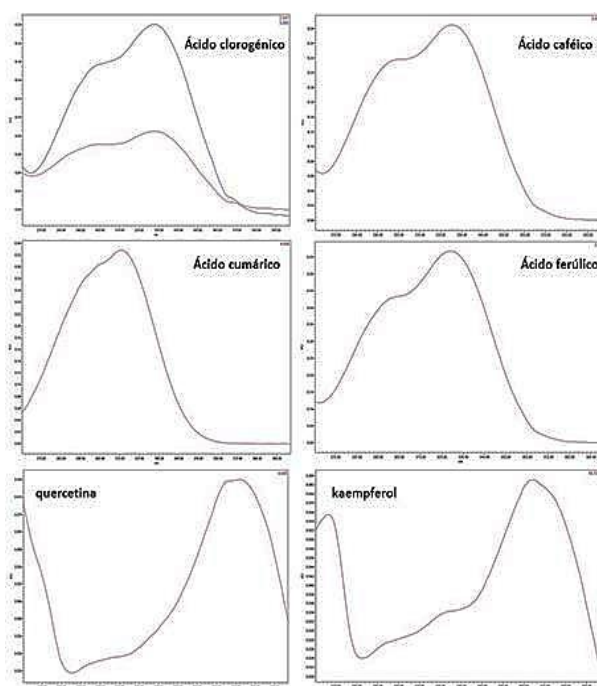


Figura 35. Espectros absorción patrones de polifenoles inyectados en el HPLC-UV/Vis.

Por otro lado, en la Figura 36 se muestra el cromatograma obtenido tras la inyección en el HPLC-UV/Vis de la disolución multipatrón, en las condiciones optimizadas, a las tres longitudes de onda seleccionadas (275 nm, 320 nm y 370 nm).

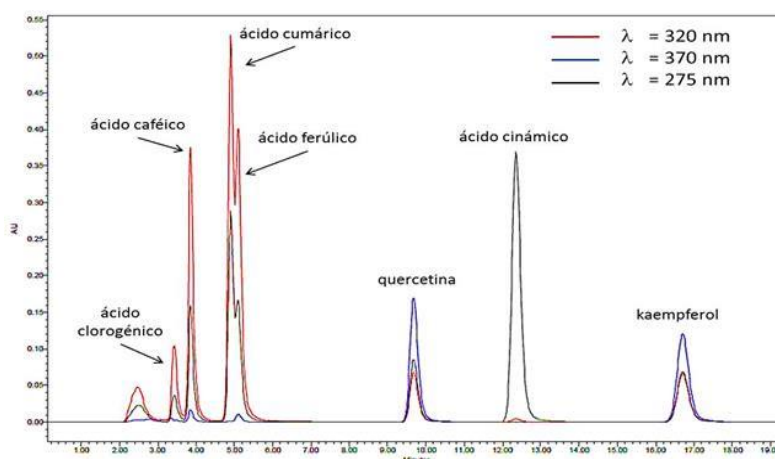


Figura 36. Cromatograma disolución multipatrón en condiciones cromatográficas optimizadas (320, 370 y 275 nm).

Como se puede observar en la Figura 36, se optimizó la separación de los ácidos fenólicos (clorogénico, caféico, *p*-cumárico, ferúlico y cinámico) y de los flavonoides (quercetina y kaempferol). Si bien, el ácido ferúlico y el ácido *p*-cumárico no consiguen separarse completamente, se decidió que se terminaría de optimizar su separación cuando se trabajase con muestras reales de tomate rosa de Barbastro. Por otro lado, el ácido gálico presentó problemas en su identificación al solaparse completamente al ácido clorogénico, y dado que en bibliografía del tomate no aparecía en todas las variedades ni su presencia era significativa, se decidió eliminarlo de la disolución multipatrón.

Una vez seleccionadas las condiciones cromatográficas de trabajo, lo siguiente consistió en optimizar el procedimiento de extracción de los polifenoles presentes en muestras de tomate. Para ello, los primeros ensayos se realizaron con muestras frescas de tomate (tomate pera, tomate pera secado en estufa y tomate desecado) compradas en el supermercado así como tomate rosa de Barbastro descongelado y liofilizado. Tras una búsqueda bibliográfica se vio que para la determinación de los polifenoles se pueden seguir dos rutas:

(a) Extracción con hidrólisis: para ácidos fenólicos y flavonoides glicosilados (*Tokuşođlu et al., 2003; Li et al., 2011; García-Valverde et al., 2013*).

(b) Extracción: para ácidos fenólicos y flavonoides libres, también denominadas agliconas (*Vallverdú-Queralt et al., 2013; Ribas-Agustí et al., 2012*).

Sobre estas dos rutas de trabajo, se realizaron diferentes modificaciones y ensayos, variando cantidades de muestra a extraer, cantidades de disoluciones extractantes e hidrolizantes, así como de tiempos de reacción, que se muestran descritos en los siguientes apartados.

2.3.1.1. Métodos de extracción con hidrólisis

Para los ensayos de extracción con hidrólisis se empezó trabajando con muestras de tomate ensalada, compradas y procesadas en el laboratorio.

- **Método extracción-hidrólisis 1:** para la aplicación de este método se parte de muestra de tomate triturada. Se pesan 2 g de tomate y se adicionan 10 mL de una disolución de metanol (MeOH) al 50%, con ácido clorhídrico (HCl) 1,2 M y 0,04% de ácido ascórbico, se lleva a agitación a 40 °C durante una hora después 10 min a la centrifuga y por último el sobrenadante se trasvasa la muestra a un matraz de 25 mL. Se filtra el sobrenadante y se inyecta en el HPLC. En la Figura 37 se muestra el cromatograma obtenido aplicando el método de extracción-hidrólisis 1.

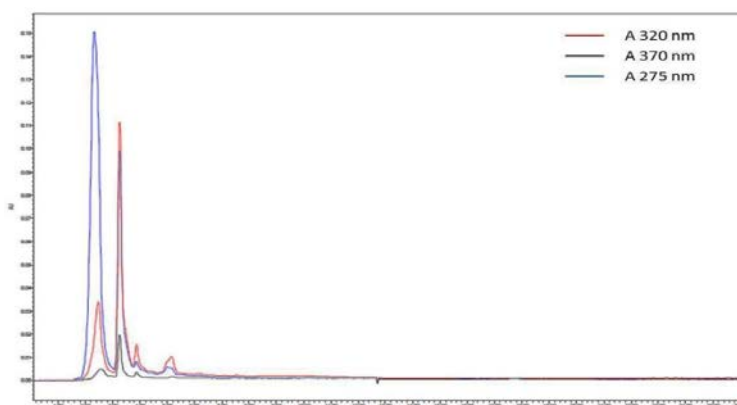


Figura 37. Cromatograma método extracción-hidrólisis 1.

Si bien se observan picos en el cromatograma de la Figura 37, a las tres longitudes de onda de interés, ninguno de ellos corresponde a los ácidos fenólicos ni a los flavonoides seleccionados en este estudio.

- **Método extracción-hidrólisis 2:** se toman 5 g de tomate triturado, se adicionan 1,5 mL de HCl 1 M (hidrólisis ácida), agitación 1 min y posterior incubación a 37 °C durante 30 min. A continuación, adición de 1,5 mL de hidróxido sódico (NaOH) 2 M en MeOH al 75% (hidrólisis básica y extracción), agitación 2 min e incubación a 37 °C durante 30 min. Por último, adición de 1,5 mL de ácido metafosfórico 0,75 M, agitación 2 min, centrifuga a 5.000 rpm durante 10 min, y repetir la centrifuga con el residuo que

queda, tras retirar el sobrenadante y adicionar 2 mL de fase móvil. Se juntan los extractos y se enrasan en un matraz de 10 mL con fase móvil, para posteriormente inyectar en el HPLC. En la Figura 38 se muestra el cromatograma obtenido del ensayo de extracción con hidrólisis-2.

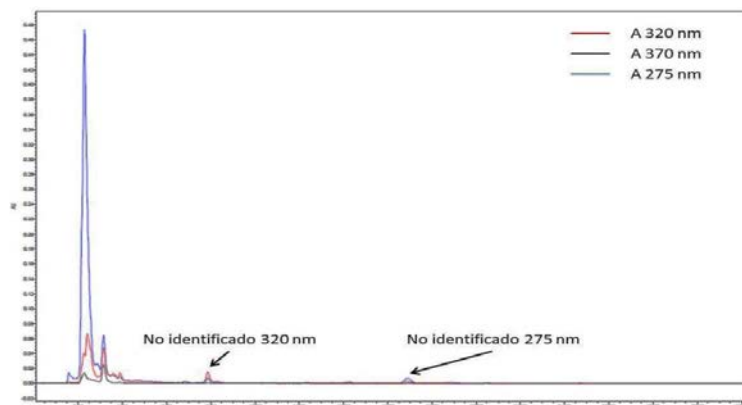


Figura 38. Cromatograma método extracción-hidrólisis 2.

En este caso, en el cromatograma aparece un pico a 8 min que muestra máxima absorción a 320 nm, pero su espectro no corresponde a ningún ácido fenólico seleccionado. Por otra parte, a 275 nm se localiza un pico a los 17 min que no se puede identificar, ya que su espectro no corresponde al del ácido cinámico.

• **Método extracción-hidrólisis 3:** se toman 25 mL de tomate triturado, se adicionan 25 mL de MeOH con HCl al 1% y 0,5 mg/mL de ácido ascórbico y se agitan. A continuación, se adicionan 5 mL de HCl 1 M, se lleva a reflujo durante 2 h a 80-90 °C, transcurrido ese tiempo se deja enfriar, se filtra y por último se trasvasa a un vial para inyectar en el HPLC-UV/Vis. En la Figura 39 se muestra el cromatograma obtenido aplicando el método de extracción-hidrólisis 3.

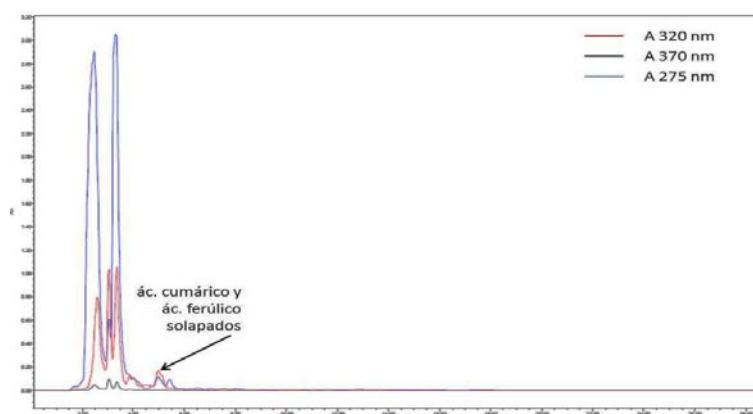


Figura 39. Cromatograma método de extracción-hidrólisis 3.

En la Figura 39 se observan unos picos muy grandes cuando se adquiere a 275 nm, pero no aparece el pico del ácido cinámico. Por otra parte, se logran identificar el ácido *p*-cumárico y el ácido ferúlico a 320 nm, pero aparecen solapados. No se identifica ningún pico relacionado con compuestos flavonoides (quercetina y kaempferol), que absorben a 370 nm.

Visto que las primeras pruebas no mostraban la extracción de los compuestos de interés. Se probó a trabajar con tomate desecado, con el objeto de trabajar con muestras que tuviesen un bajo contenido en agua. Para ello, se utilizó tomate pera comprado que se partió y trituroó con una batidora casera, para posteriormente llevarlo a una estufa a 90 °C durante 7 días.

• **Método extracción-hidrólisis 4:** se toman 5 g de tomate desecado y se le adicionan 10 mL de MeOH. Se lleva al baño de ultrasonidos durante 10 min y después 10 min a la centrífuga. Se adicionan 5 mL HCl 1 M, se agita durante 1 minuto y se lleva a incubación a 37 °C durante 30 min, transcurrido ese tiempo se adicionan 5 mL de NaOH 2 M en MeOH al 75 %, se vuelve a agitar durante dos minutos y se lleva 10 min a la centrífuga. El sobrenadante se filtra para llevarlo a un vial e inyectarlo en el HPLC-UV/Vis. En la Figura 40 se muestra el cromatograma obtenido del ensayo de extracción-hidrólisis 4.

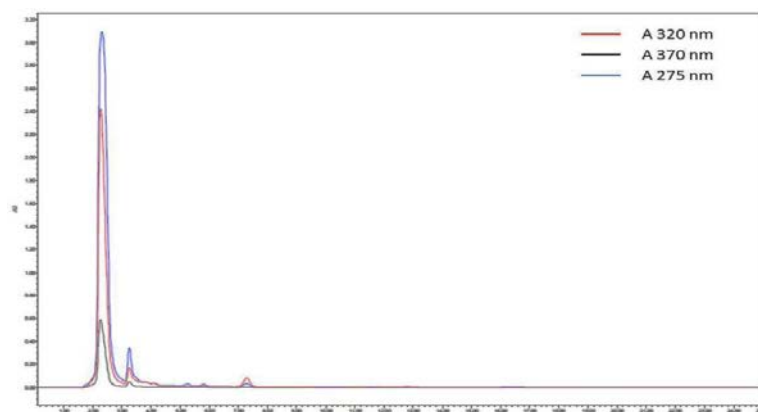


Figura 40. Cromatograma método de extracción-hidrólisis 4.

En el cromatograma obtenido que se muestra en la Figura 40, no se identificaron ninguno de los compuestos de interés, ni ácidos fenólicos ni flavonoides.

Tras estos primeros ensayos de extracción con hidrólisis, se observó que el aumento de la cantidad de muestra a extraer no suponía un aumento significativo en la cantidad de analitos extraídos. Así como, el trabajo con muestras de tomate

desechado, tampoco aportaban buenos resultados. Una posible causa de la ausencia de compuestos fenólicos extraídos en las muestras de tomate analizadas, es que las referencias bibliográficas, sobre las que se habían basado estos ensayos de hidrólisis, trabajaban con **tomate liofilizado**. En el presente trabajo NO era factible disponer de muestras liofilizadas, por el elevado número de muestras y el coste, tanto económico como temporal, que supondría liofilizarlas. Por todo ello, se buscaron nuevos estudios de investigación donde no trabajasen con muestra liofilizada y se vio que otros autores, para el análisis de gazpachos y zumos de tomate, lo que hacían era centrifugar la muestra y eliminar el sobrenadante (fracción acuosa) antes de someter la muestra a extracción (Vallverdú-Queralt et al., 2011).

Por ello, se llevaron a cabo pruebas sometiendo el tomate triturado y descongelado a una primera etapa en la centrifuga, para posteriormente, una vez separada la fracción líquida (acuosa) someter el residuo a la etapa de extracción con hidrólisis.

- **Método extracción-hidrólisis 5:** se toman 25 mL de tomate triturado y se llevan a la centrifuga durante 10 min. Se elimina el sobrenadante y sobre el residuo se añaden 25 mL de MeOH con ácido ascórbico al 1% y se agitan, después se adicionan 5 mL de HCl 1 M y se lleva a reflujo a 80-90 ° C durante 2 h. Transcurrido ese tiempo se deja enfriar a temperatura ambiente, se lleva al baño de ultrasonidos durante 5 min y se filtra a través de filtro de jeringa de 0,45 µm para inyectarlo en el HPLC-UV/Vis. En la Figura 41 se muestra el cromatograma obtenido del ensayo de extracción-hidrólisis 5.

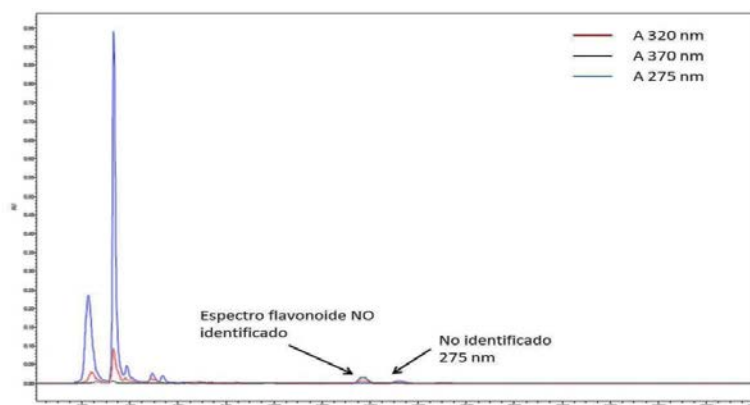


Figura 41. Cromatograma método de extracción-hidrólisis 5.

En el cromatograma de la Figura 41 se observan dos picos grandes y bien separados cuando se adquiere a 275 nm pero no se puede identificar de qué

compuestos se tratan. Además, a mitad del cromatograma sale un pico que absorbe a 275 nm, pero su espectro no corresponde al del ácido cinámico. Por otro lado, cuando se adquiere a 370 nm se observa un pico cuyo espectro no corresponde ni al kaempferol ni al de la quercetina, que deberían aparecer en esta longitud de onda.

- **Método extracción-hidrólisis 6:** se toman 45 g de tomate triturado y se llevan a la centrífuga durante 10 min. Se elimina el sobrenadante y sobre el residuo se añaden 25 mL de MeOH con HCl al 1% y 0,5 mg/L de ácido ascórbico, después se adicionan 5 mL de HCl 1 M y se lleva a reflujo a 80-90 °C durante 2 h. Se filtra la disolución a través de un filtro de papel, y posteriormente se lleva la rotavapor hasta que queda aproximadamente 1,5 mL de extracto. Se filtra antes de inyectar en el HPLC-UV/Vis. En la Figura 42 se muestra el cromatograma obtenido del ensayo de extracción-hidrólisis 6.

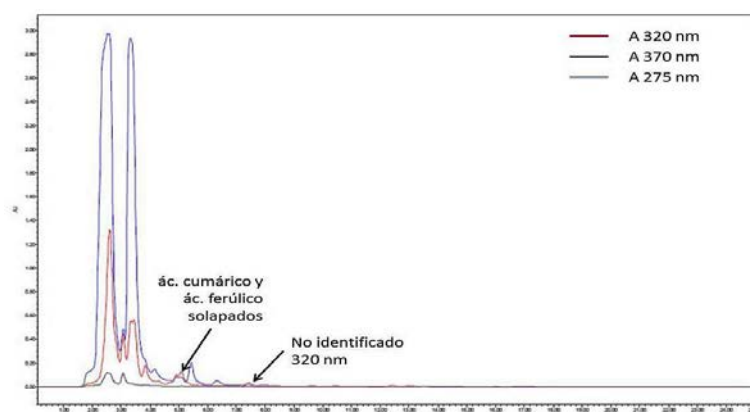


Figura 42. Cromatograma método extracción-hidrólisis 6.

En la Figura 42 se siguen observando dos picos muy grandes cuando se adquiere el cromatograma a la longitud de onda de 275 nm, pero no identifican. Por otro lado, a 320 nm se logran identificar el ácido *p*-cumárico y el ácido ferúlico, pero se encuentran solapados. Por último, cuando se adquiere a 370 nm no se identifica ni la quercetina ni el kaempferol, ya que no aparece ningún pico.

- **Método extracción-hidrólisis 7:** se toman 45 g de tomate triturado y se llevan a la centrífuga durante 10 min. Se elimina el sobrenadante y sobre el residuo se añaden 15 mL de MeOH al 50% con HCl 1,2 M y ácido ascórbico al 0,04%, por último se lleva a reflujo a 80-90 °C durante 2 h. Del extracto obtenido se filtra una parte antes de inyectarlo en el HPLC. En la Figura 43 se muestra el cromatograma obtenido del ensayo de extracción-hidrólisis 7.

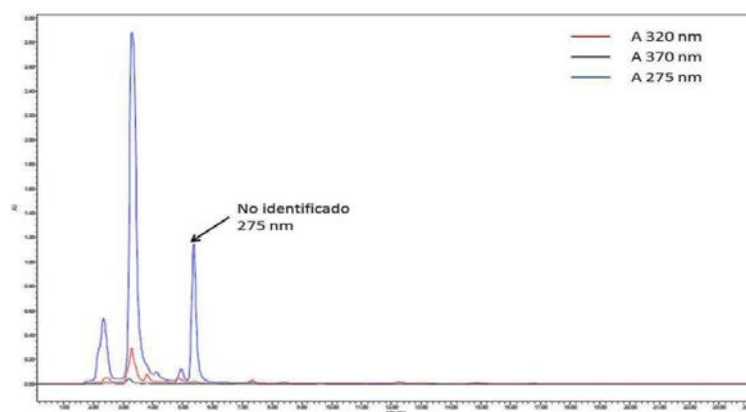


Figura 43. Cromatograma método de extracción-hidrólisis 7.

En la Figura 43 se observan tres picos muy grandes y bien separados cuando se adquiere a 275 nm, pero ninguno de ellos corresponde al ácido cinámico. Por otro lado, cuando se adquiere a 320 nm, no se logran identificar ninguno de los ácidos fenólicos seleccionados. Cuando se adquiere 370 nm no aparece ningún pico cromatográfico.

Visto que, la realización de la extracción con hidrólisis, no conseguía la extracción de los flavonoides (quercetina y kaempferol) y que los únicos polifenoles que se identificaban en las muestras de tomate analizadas eran ácidos fenólicos, en concreto, los ácidos clorogénico, caféico, *p*-cumárico y ferúlico, ya que el ácido cinámico no se identificó en ninguna muestra de tomate analizada, se decidió trabajar con un método de extracción y no someter las muestras a hidrólisis.

2.3.1.2. Métodos de extracción

Al igual que en el caso de los métodos de extracción con hidrólisis, se realizaron diferentes modificaciones y ensayos, variando cantidades de muestra a extraer, cantidades de disoluciones extractantes, así como de tiempos de reacción, que se muestran descritos en los siguientes apartados. Se comenzó trabajando con muestras de tomate para que se procesaron en el laboratorio.

- **Método extracción-1:** se toman 5 g de tomate triturado y se adicionan 20 mL de MeOH con ácido ascórbico al 1%. Esta mezcla, se lleva primero a agitación magnética durante 30 min, después al baño de ultrasonidos durante otros 30 min y por último a la centrifuga 15 min. Una vez finalizada la centrifugación y, habiendo dejado reposar la muestra durante 15 min, se extrae el sobrenadante a un vial, con una filtración previa

y se inyecta en el HPLC-UV/Vis. En la Figura 44 se muestra el cromatograma obtenido del ensayo de extracción-1.

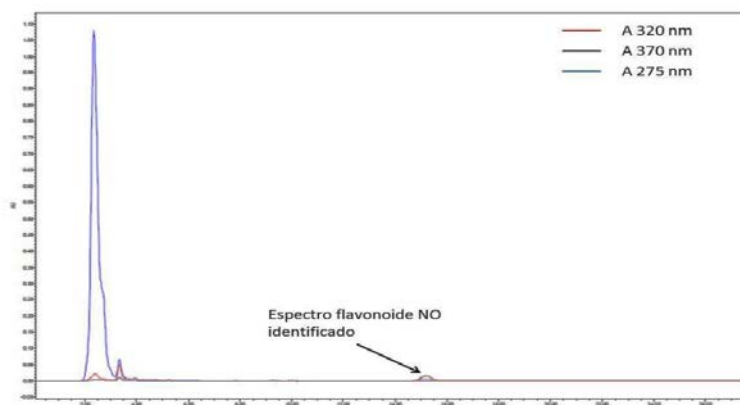


Figura 44. Cromatograma extracto con método de extracción-1.

En la Figura 44 se observa un gran pico cuando se adquiere a 275 nm, pero no se identifica el compuesto al que pertenece. A la longitud de onda de 320 nm no se identifica ninguno de los ácidos fenólicos seleccionados, lo mismo ocurre cuando se adquiere a 370 nm, donde el pico que se obtiene no se corresponde con el espectro ni de la quercetina ni del kaempferol.

• **Método extracción-2:** se pesan 2 g de muestra triturada, a la cual se le adicionan 25 mL de EtOH/H₂O (30:70), se lleva la mezcla primero al baño de ultrasonidos durante 30 min y después a la centrifuga durante 10 min. A continuación, se extrae el sobrenadante que se lleva a un vial. Al residuo se le adicionan 20 mL de EtOH/H₂O (30:70) y se vuelve a llevar al baño de ultrasonidos y a la centrifuga, el mismo tiempo que antes. Por último, se extrae el sobrenadante que se junta con el anterior, se filtra y se trasvasa a un vial para inyectarlo en el HPLC-UV/Vis. En la Figura 45 se muestra el cromatograma obtenido del ensayo de extracción-2.

En la Figura 45 se observan dos grandes picos mal separados a la longitud de onda de 275 nm, que no se identifican. Cuando se adquiere a 320 nm no se identifican los ácidos fenólicos de interés. Por último, a la longitud de onda de 370 nm no aparece ningún pico.

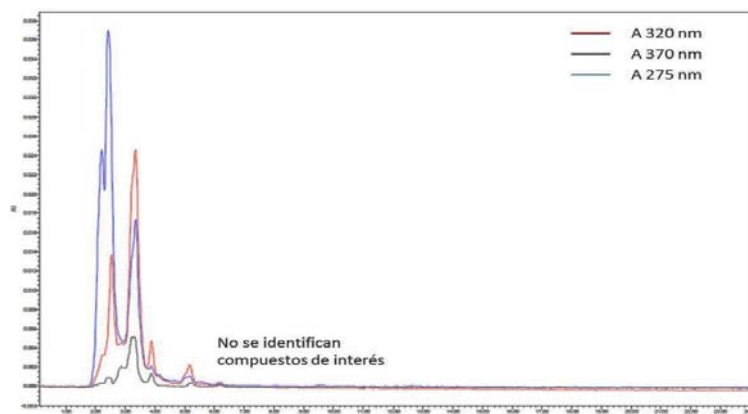


Figura 45. Cromatograma extracto con método de extracción-2.

• **Método extracción-3:** se toman 10 g de tomate triturado, se le adicionan entre 2,5 mL y 5 mL de MeOH al 75% según las distintas pruebas realizadas, se lleva a agitación durante 30 min y después 10 min a la centrifuga, por último se extrae el sobrenadante, se filtra y se pone en un vial para inyectarlo en el HPLC-UV/Vis. También se probó a aplicar este mismo método poniendo la muestra con la disolución extractante 30 min en el baño de ultrasonidos y después 10 min a la centrifuga. En la Figura 46 se muestran los cromatogramas obtenidos del ensayo de extracción-3, con los dos métodos de agitación.

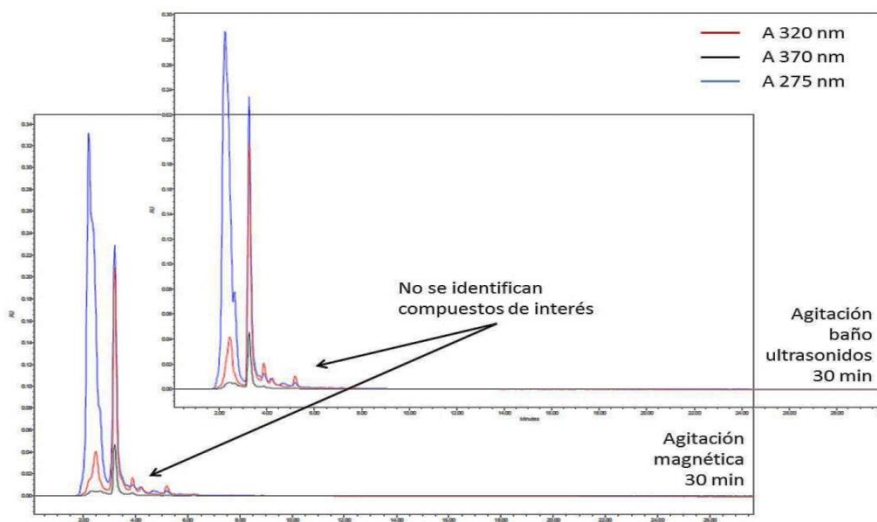


Figura 46. Cromatogramas obtenidos con método de extracción-3.

En la Figura 46 se muestran los dos cromatogramas obtenidos con los dos sistemas de agitación aplicados (magnético y baño de ultrasonidos) en los que se observan unos picos muy grandes cuando se adquiere a 275 nm. A 320 nm ninguno de los picos cromatográficos corresponde a alguno de los ácidos fenólicos seleccionados,

además a 370 nm no aparece ningún pico cromatográfico. Destacar que el cromatograma obtenido es el mismo independientemente del sistema de agitación.

Según los resultados obtenidos con tomates frescos, no se consiguió la extracción de los compuestos de interés, o bien su concentración era tan pequeña que no podían ser detectados con el sistema cromatográfico empleado, por lo que se decidió comprar tomate seco en el supermercado y probar con él un tratamiento de extracción.

• **Método extracción-4:** se toman 5 g de tomate seco, se adicionan 10 mL de MeOH con 1% de ácido ascórbico, se lleva 15 min al baño de ultrasonidos y luego 15 min a la centrifuga. Se extrae el sobrenadante, se filtra y se pone en un vial para inyectarlo en el HPLC-UV/Vis. En la Figura 47 se muestra el cromatograma obtenido del ensayo de extracción-4.

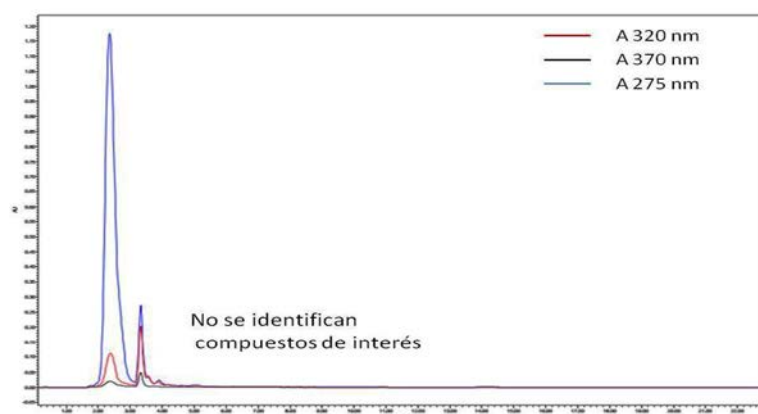


Figura 47. Cromatograma extracto obtenido con método de extracción-4.

En la Figura 47 se observan dos grandes picos cuando se adquiere a 275 nm, y ninguno de ellos tiene el espectro del ácido cinámico. Cuando se adquiere a 320 nm no se idéntica ninguno de los ácidos fenólicos seleccionados. Por último, cuando se adquiere 370 nm no se observa ningún pico cromatográfico.

Al igual que en caso de los ensayos de extracción con hidrólisis, también se hicieron pruebas con tomate desecado, y para ello se utilizaron tomates pera que se partieron y trituraron con una batidora casera, para después llevarlos a una estufa a 90° C durante 7 días.

• **Método extracción-5:** se toman 5 g de tomate desecado al que se le adicionan 10 mL de MeOH, se lleva 10 min al baño de ultrasonidos y después 10 min a la centrifuga. A continuación, se filtra el sobrenadante y al residuo que queda se le

adicionan 5 mL de MeOH, para volver a llevar al baño de ultrasonidos durante 10 min. Por último, se filtra el sobrenadante y se junta en un vial con el primer extracto, para posteriormente inyectarlo en el HPLC-UV/Vis. En la Figura 48 se muestra el cromatograma obtenido del ensayo de extracción-5.

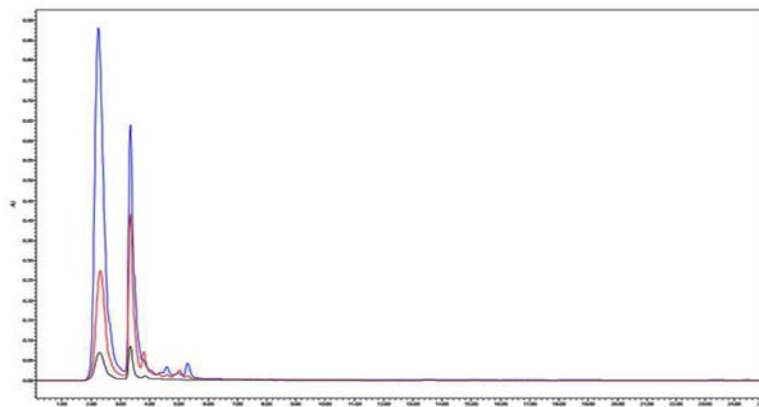


Figura 48. Cromatograma extracto con método de extracción-5.

En la Figura 48 se observan dos grandes picos cuando se adquiere a 275 nm, pero no se identifican. A 320 nm no se identifican ninguno de los ácidos fenólicos de interés, y a 370 nm no aparece ningún pico cromatográfico.

Visto que con los tomates tanto secos como desecados, tampoco se obtenían buenos resultados, es decir, la extracción e identificación de los compuestos fenólicos seleccionados, y siendo que las muestras de tomate rosa de Barbastro estaban trituradas y congeladas, se probó a tomar una mayor cantidad de muestra y someterla a extracción con una mayor cantidad de extractante.

• **Método extracción-6:** se toman 25 mL de tomate triturado, a los que se adicionan otros 25 mL de MeOH con 1% de ácido ascórbico y se lleva a incubación a 30 °C durante 30 min, y después al ultrasonido durante otros 30 min. A continuación, se lleva a la centrifuga durante 15 min a 3.500 rpm. Una vez centrifugado el extracto, se toma 1 mL del sobrenadante y se coloca en un tubo eppendorf y se vuelve a llevar a la centrifuga 10 min, en esta ocasión a 13.000 rpm (se utilizó con una centrifuga con más potencia para ver si la extracción que se obtenía era mayor). Después se filtra el sobrenadante y se inyecta en el HPLC-UV/Vis. En la Figura 49 se muestra el cromatograma obtenido del ensayo de extracción-6.

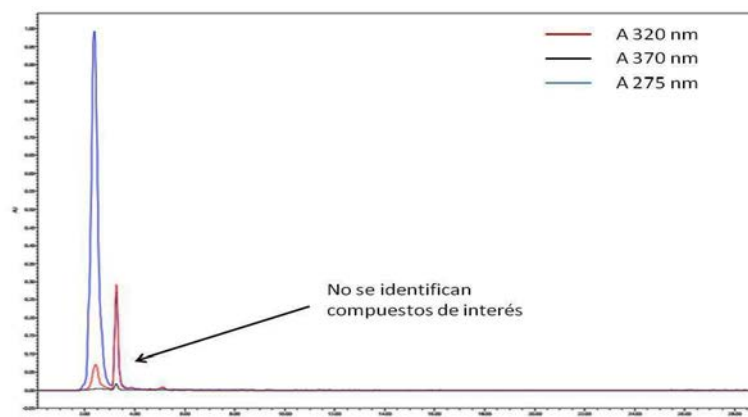


Figura 49. Cromatograma extracto obtenido con método de extracción-6.

En la Figura 49 a 275 nm se observan dos grandes picos que no se identifican. Cuando se adquiere a 320 nm no se identifican los ácidos fenólicos seleccionados en este estudio. Además, cuando se adquiere a 370 nm no aparece ningún pico cromatográfico.

Después de probar todos estos métodos de extracción y ver que no se obtenían los resultados esperados, se probó con el método de *Vallverdú-Queralt et al. (2011)*, que difería de los anteriores en que en primer lugar la muestra se llevaba a la centrifuga para eliminar la mayor parte de la fracción acuosa del tomate.

- **Método extracción-7:** se toman 20 mL de tomate triturado y se llevan a la centrifuga durante 10 min, transcurrido ese tiempo se elimina el sobrenadante y sobre el residuo se adicionan 4 mL de MeOH al 70%, se lleva la muestra al baño de ultrasonidos durante 10 min y después a la centrifuga durante otros 10 min. Se reserva el sobrenadante y se vuelve a repetir la extracción con MeOH sobre el residuo que ha quedado. Una vez recogidos los dos extractos, se lleva al rotavapor calentando a 35-40 °C y se evapora a sequedad. Una de las pruebas se redisuelve en 1 mL de MeOH al 70% y la otra en 1 mL de fase móvil. En la Figura 50 se muestran los cromatogramas obtenidos del ensayo de extracción-7, redisolviendo en fase móvil y metanol.

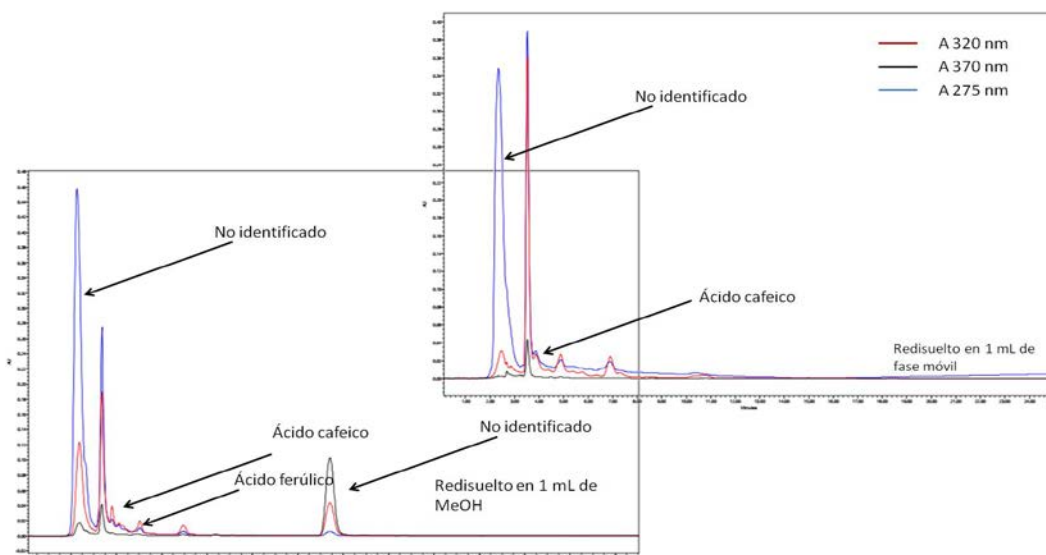


Figura 50. Cromatograma extracto método de extracción-7.

En la Figura 50, en el cromatograma que corresponde al extracto redissuelto en fase móvil, se puede ver que cuando se adquiere a 275 nm se observa un pico grande inicial que no se identifica. Mientras que cuando se adquiere a 320 nm sólo se identifica uno de los ácidos fenólicos de interés; el ácido caféico. Por último, cuando se adquiere la longitud de onda a 370 nm no aparece ningún pico cromatográfico.

Cuando el extracto se redissuelve en MeOH, se puede observar que a 275 nm aparece igualmente un pico grande inicial que no se identifica, mientras que cuando se adquiere a 320 nm se identifican dos de los ácidos fenólicos de interés; el ácido caféico y el ácido ferúlico. Cuando se adquiere a 370 nm aparece un pico a un tiempo de 13 min, pero no se logra identificar ya que su espectro no corresponde ni con el de la quercetina ni con el del kaempferol.

• **Método extracción-8:** se toman 10 g de tomate triturado y se llevan a la centrífuga durante 10 min, después de esto se elimina el sobrenadante (fracción acuosa) y al residuo se le adicionan 4 mL de EtOH al 80% y se lleva al baño de ultrasonidos durante 10 min, a continuación centrifugar durante 20 min y por último se evapora a sequedad en rotavapor. Después se redissuelve en 1 mL de MeOH y se inyecta en el HPLC-UV/Vis. Este mismo método se repite tomando 25 mL de tomate triturado y adicionando 5 mL de MeOH al 70%. En la Figura 51 se muestran los cromatogramas obtenidos del ensayo de extracción-8, con los dos procedimientos seguidos.

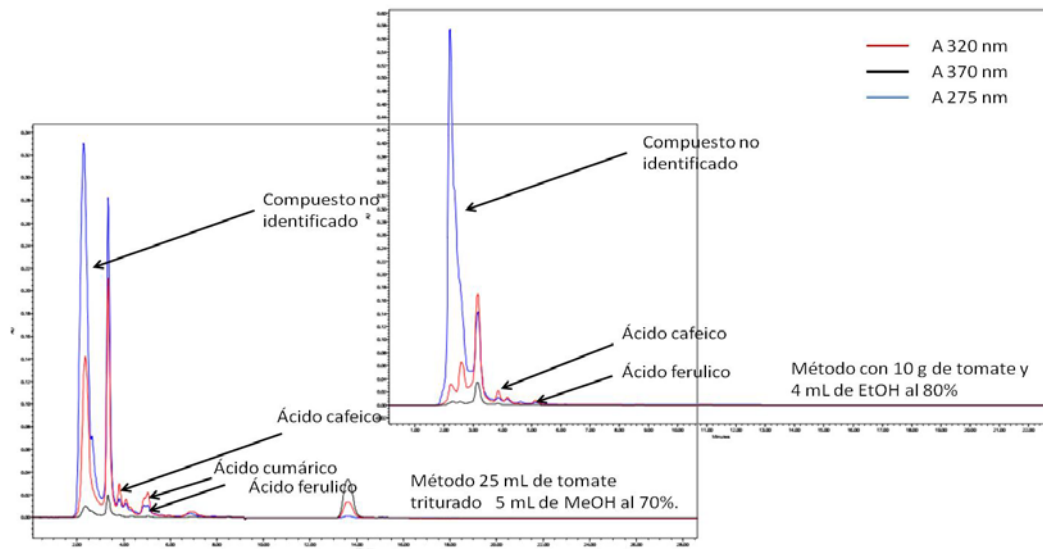


Figura 51. Cromatograma extracto con método de extracción-8.

En la Figura 51, el cromatograma que corresponde a la extracción con EtOH, se observa que cuando se adquiere a 275 nm aparece un gran pico que no se identifica, mientras que a 320 nm se pueden identificar dos ácidos fenólicos; el ácido caféico y el ácido ferúlico, por último cuando se adquiere a 370 nm no aparece ningún pico cromatográfico.

En el cromatograma que corresponde a la extracción con MeOH, sucede parecido ya que cuando se adquiere a 275 nm aparece un gran pico pero que no se identifica, pero en este caso a 320 nm se pueden identificar tres ácidos fenólicos; el ácido caféico, el ácido *p*-cumárico y el ácido ferúlico pero estos dos últimos se encuentran solapados, al igual que en el caso de los patrones. Por otra parte, a 370 nm aparece un pico pero su espectro no corresponde ni al de la quercetina ni al del kaempferol.

Una vez visto que con este último procedimiento de extracción, con metanol, se identificaban y separaban algunos de los ácidos fenólicos seleccionados, se decidió hacer una ligera modificación del mismo, trabajando con una extracción secuencial en dos etapas, con el objeto de extraer mayor cantidad de los mismos. Para ello, se modificó ligeramente el método de extracción-8 utilizando MeOH al 70% como extractante.

- **Método extracción 8-bis:** se toman 25 g de muestra de tomate rosa triturado y se llevan a la centrifuga durante 15 min, transcurrido ese tiempo se elimina el

sobrenadante y sobre el residuo se adicionan 2,5 mL de MeOH al 70% y se lleva al baño de ultrasonidos durante 15 min y después a la centrífuga durante otros 15 minutos. Se reserva el sobrenadante y se vuelve a repetir la extracción con 2,5 mL de MeOH al 70% sobre el residuo que ha quedado, para poder volver a llevarlo al baño de ultrasonidos durante 15 min y después otra vez a la centrífuga durante otros 15 min. Se extrae el nuevo sobrenadante y se junta con el obtenido anteriormente. Por último las dos extracciones se filtran y se inyecta en el HPLC-UV/Vis.

Señalar, que con objeto de separar los dos últimos ácidos fenólicos, *p*-cumárico y ferúlico, se modificaron ligeramente las condiciones cromatográficas, por lo que la muestra obtenida del ensayo de extracción-8bis fue inyectada en las siguientes condiciones: columna Phenomenex C₁₈ (250 mm x 4,6 mm x 5 µm) a una temperatura de 25 °C. Fase móvil A: acetonitrilo con tetrahidrofurano al 20% y ácido fosfórico al 0,4% (30:70) y Fase móvil B: acetonitrilo con tetrahidrofurano al 4% y ácido fosfórico al 0,4% (30:70). Modo isocrático: 100% fase móvil A hasta los 8 min y 100% fase móvil B hasta los 20 min, y volver condiciones iniciales. Flujo 1 mL/min. Inyección 50 µL. Adquisición desde 250-400 nm. En la Figura 52 se muestra el cromatograma obtenido tras el análisis de una muestra real de tomate rosa de Barbastro con las nuevas condiciones cromatográficas tras aplicar procedimiento de extracción-8bis.

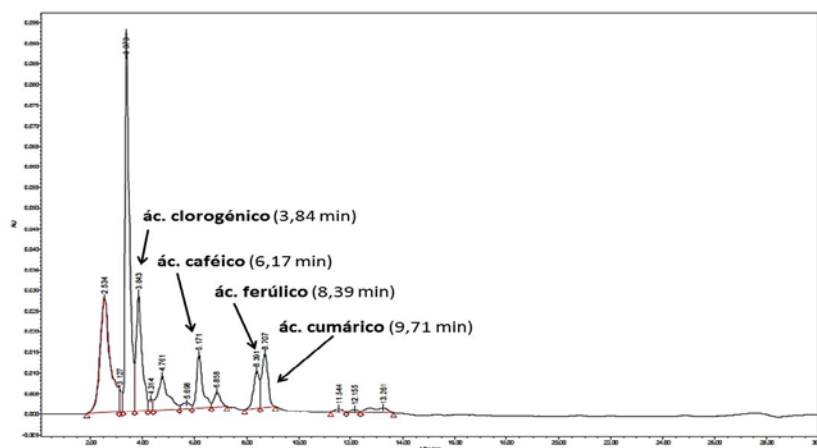


Figura 52. Cromatograma extracto método de extracción-8bis muestra tomate rosa.

Tal y como puede verse en la Figura 52, a 320 nm se identifican cuatro de los ácidos fenólicos seleccionados; el primero en aparecer es el ácido clorogénico a un tiempo de 3,84 min, a continuación aparece el ácido caféico a un tiempo de 6,17 min, después se identifica el ácido ferúlico a un tiempo de 8,39 min y el último en aparecer

es el ácido *p*-cumárico a un tiempo de 9,71 min. Señalar, que ahora al haber modificado ligeramente la fase móvil cuando se adquiere a 370 nm no aparece ningún pico cromatográfico como sucedía en los ensayos anteriores, por lo que se decidió seguir trabajando con estas condiciones nuevas, dado que no se podía identificar de qué flavonoide se trataba, pero si se conseguían separar el ácido *p*-cumárico y el ácido ferúlico.

Ya que se disponía de patrones de compuestos fenólicos, en un principio el objetivo del proyecto era cuantificar la presencia del ácido clorogénico, gálico, cinámico, caféico, *p*-cumárico y ferúlico, así como de los flavonoides quercetina y kaempferol. Pero después de realizar todos los métodos de extracción con hidrólisis y sólo extracción descritos anteriormente, se comprueba que únicamente se logran identificar cuatro de ellos, que son cuatro de los ácidos fenólicos: ácido clorogénico, ácido caféico, ácido *p*-cumárico y ácido ferúlico.

2.3.2. Procedimiento para de la determinación de polifenoles en muestras de tomate rosa de Barbastro

El procedimiento para la determinación de polifenoles en muestras de tomate rosa consiste en una etapa de doble extracción secuencial con MeOH al 70% para posteriormente identificar y cuantificar cuatro ácidos fenólicos mediante HPLC/UV-vis con detector diode array, en la Figura 53 se muestra el cuadro resumen del método aplicado.

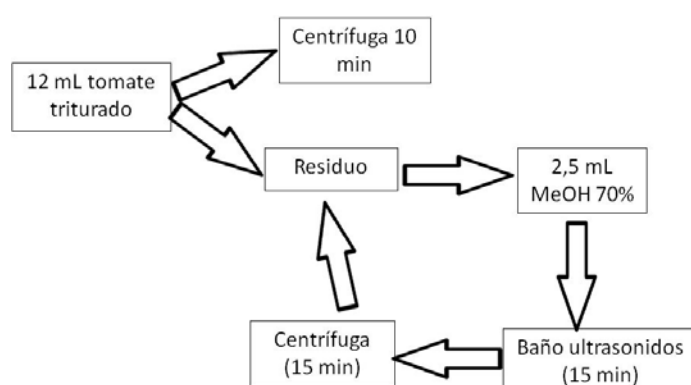


Figura 53. Procedimiento de extracción de polifenoles en tomate.

El procedimiento seguido con todas las muestras de tomate rosa de Barbastro consiste en los pasos que se describen a continuación. Se toman 12 g de muestra de tomate rosa triturado y se llevan a la centrifuga (Fig. 54) durante 15 min.



Figura 54. Muestra del tomate rosa de Barbastro triturado y la centrifuga.

Transcurrido ese tiempo, se elimina el sobrenadante (fase acuosa) y sobre el residuo se adicionan 2,5 mL de MeOH al 70% y se lleva al baño de ultrasonidos durante 15 min y después a la centrifuga durante otros 15 minutos (Figura 55).



Figura 55. Muestra de tomate después haber pasado por la centrifuga.

Se reserva el sobrenadante (Figura 56) y se vuelve a repetir la extracción con 2,5 mL de MeOH al 70% sobre el residuo que ha quedado, para poder volver a llevarlo al baño de ultrasonidos durante 15 min y después otra vez a la centrifuga durante otros 15 min.



Figura 56. Viales donde se guarda el sobrenadante.

Se extrae el nuevo sobrenadante y se junta con el obtenido anteriormente. Por último, el extracto se filtra y se inyecta en el HPLC-UV/Vis. En la Figura 57 se muestra el cromatograma de una muestra real de tomate rosa extraída siguiendo el procedimiento anteriormente descrito.

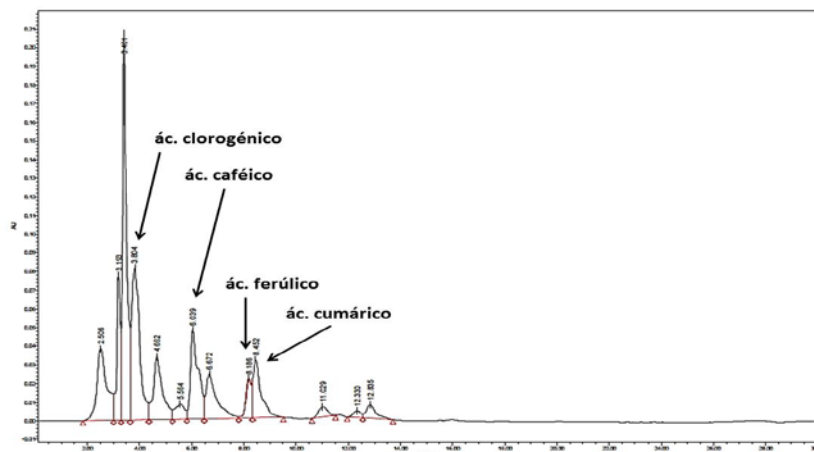


Figura 57. Cromatograma ácidos fenólicos muestra tomate rosa de Barbastro.

La cuantificación de los ácidos fenólicos encontrados en las muestras de tomate rosa de Barbastro (ácido clorogénico, ácido caféico, ácido ferúlico y ácido *p*-cumárico), se lleva a cabo mediante la preparación e inyección de las correspondientes curvas de calibrado, con disoluciones patrón de dichos compuestos en metanol. En la Tabla 12 se muestran los datos de los calibrados preparados. Las muestras se cuantificarán con estos calibrados.

Tabla 12. Calibrado de los ácidos fenólicos estudiados.

Compuesto	rango	pendiente	ordenada	R ²
ácido clorogénico	0,4–51 µg/g	57645	241681	0,9960
ácido caféico	2,5–53 µg/g	71635	58922	0,9947
ácido ferúlico	0,4-46 µg/g	125682	80054	0,9904
ácido <i>p</i> -cumárico	2,4-45 µg/g	95199	81260	0,9994

En la Figura 58 se muestran las curvas de calibración de cada uno de los cuatro ácidos fenólicos identificados en las muestras de tomate rosa.

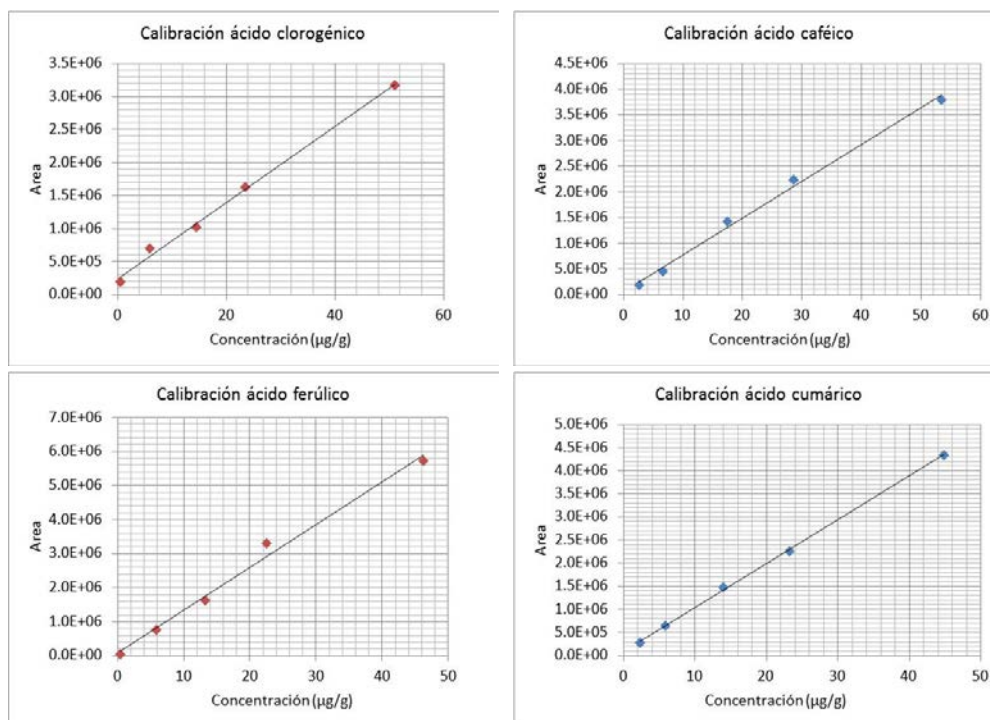


Figura 58. Rectas de calibrado de los ácidos fenólicos seleccionados.

2.4. Determinación fenoles totales

Una manera de completar el estudio de los polifenoles en el tomate rosa de Barbastro es determinar el contenido de fenoles totales en los extractos obtenidos de las muestras de tomate rosa de Barbastro analizadas, con el objeto de comprobar si el comportamiento que han mostrado los cuatro ácidos fenólicos identificados y cuantificados (clorogénico, caféico, *p*-cumárico y ferúlico), corresponde con el de los fenoles totales que contienen los tomates.

2.4.1. Determinación de fenoles totales en el tomate rosa de Barbastro

Los compuestos fenólicos son muy importantes como constituyentes de las plantas debido a su habilidad para secuestrar radicales libres, que está relacionada con la presencia del grupo hidroxilo (Gülçin *et al.*, 2003).

Los fenoles totales se analizan usando el método colorimétrico de Folin-Ciocalteu (Kaur *et al.*, 2013), con ligeras modificaciones, sobre el extracto metanólico obtenido para la determinación de los polifenoles en el tomate rosa de Barbastro, según apartado 2.3 del presente trabajo.

Los compuestos fenólicos se oxidan por el reactivo Folin-Ciocalteu, el cual está formado por la mezcla de ácido fosfotúngstico ($H_3W_{12}O_{40}$) y ácido fosfomolibdico

($H_3PMo_{12}O_{40}$) que se reduce, por acción de los fenoles presentes en la muestra, en una mezcla de óxidos, de color azul, de tungsteno (W_8O_{23}) y molibdeno (Mo_8O_{23}). Esta reacción es característica para compuestos que tienen un grupo hidroxilo unido a un anillo de benceno (caso de los compuestos fenólicos). El reactivo Folin-Ciocalteu tiene una coloración amarilla que en presencia de fenol se torna azul. La intensidad de color azul se mide espectrofotométricamente a 765 nm. Los resultados se expresan como equivalentes de ácido gálico (AG) (Morilla-Ruiz et al., 2012).

El procedimiento analítico aplicado a los extractos de tomate obtenidos para el análisis de los fenoles totales es el que se describe a continuación. En la Figura 59 se muestra un esquema del mismo.

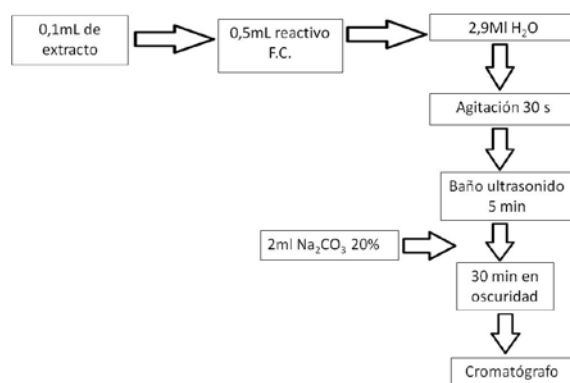


Figura 59. Procedimiento determinación de fenoles totales en los extractos en metanol.

Se adiciona 0,1 mL del extracto de MeOH al 70% obtenido para el análisis de los polifenoles en un tubo de ensayo. A continuación, se adicionan 0,5 mL de reactivo Folin-Ciocalteu 0,2 N y 2,9 mL de agua destilada. Se agita vigorosamente durante 30 s y se lleva al baño de ultrasonidos durante 5 min (Figura 60).



Figura 60. Tubos de ensayo con la mezcla para la determinación de fenoles totales.

Cuando se sacan los tubos del baño de ultrasonidos, se adicionan 2 mL de carbonato sódico (Na_2CO_3) al 20%, se agita vigorosamente el tubo y se mantiene en

oscuridad y a temperatura ambiente durante 30 min. Transcurrido ese tiempo, donde se desarrolla el complejo azul, se mide la absorbancia en un espectrofotómetro de absorción molecular UV/Vis a una longitud de onda de 760 nm (Figura 61).

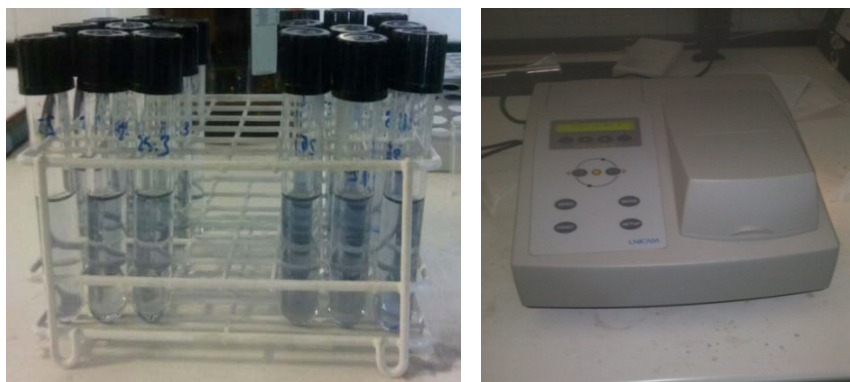


Figura 61. Viales con el complejo azul ya formado y el espectrofotómetro utilizado.

La cuantificación de los fenoles totales en los extractos de las muestras se lleva a cabo mediante la preparación de la correspondiente curva de calibrado de ácido gálico (siguiendo el protocolo anteriormente descrito), dado que los fenoles totales se expresan como mg ácido gálico/100 g tomate. En la Tabla 13 se muestran los datos de los calibrados preparados, en los diferentes días en los que se analizaron los fenoles totales. Las muestras se cuantificarán con estos calibrados (según la fecha en la que se analicen).

Tabla 13. Calibrado ácido gálico para la determinación de fenoles totales.

Compuesto	rango	pendiente	ordenada	R ²
04-diciembre		0,1446	-0,0170	0,9996
09-diciembre	de 39,74 a	0,1450	-0,0055	0,9978
16-diciembre	267,90 mg/L	0,1485	0,0868	0,9761
17-diciembre		0,1489	-0,0146	0,9906

2.5. Determinación de carotenoides

Las sustancias terpénicas son generalmente lipófilas, e incluyen a sustancias no volátiles pigmentadas como son los carotenoides (licopeno, beta-caroteno, criptoxantina, etc.) y sustancias volátiles como los terpenos que forman parte de las esencias de los cítricos (limoneno, etc.). Los carotenoides son pigmentos responsables de amarillo y anaranjado de muchas hortalizas y frutas, y son también precursores de otras sustancias terpenoides que aportan aromas característicos a productos como el té negro, la frambuesa o el tomate. En relación con la salud, los compuestos más

estudiados de este grupo de sustancias terpénicas son los carotenoides ya que poseen actividad antioxidante y neutralizadora de radicales libres que se asocian con ciertas propiedades beneficiosas (Santos-Buelga et al., 2001).

2.5.1. Extracción y análisis de carotenoides (licopeno y beta-caroteno)

2.5.1.1. Separación e identificación de licopeno y beta-caroteno

La optimización de las condiciones cromatográficas para la separación e identificación de licopeno y beta-caroteno, ya fue llevada a cabo en estudios preliminares en el departamento de Química Analítica de la EPSH. Las condiciones cromatográficas son: cromatógrafo HPLC WATERS 600 PL-EMD-950 con detector UV/Vis diode array. Columna C₁₈ Phenomenex (250 mm x 4,6 mm x 5 μm); fase móvil: acetonitrilo/metanol (0,05 M acetato amónico)/diclorometano (65:20:15) al 0,1% de BHT, modo isocrático con un flujo de 2 mL/min. Inyección 20 μL y adquisición en un rango de 300 a 600 nm, y cuantificación de los carotenoides a 470 nm. La identificación de cada uno de los dos carotenoides se llevó a cabo con la inyección del patrón correspondiente de licopeno y beta-caroteno. En la Figura 62 se muestran los cromatogramas obtenidos tras la inyección de una disolución patrón de licopeno y una disolución patrón de beta-caroteno.

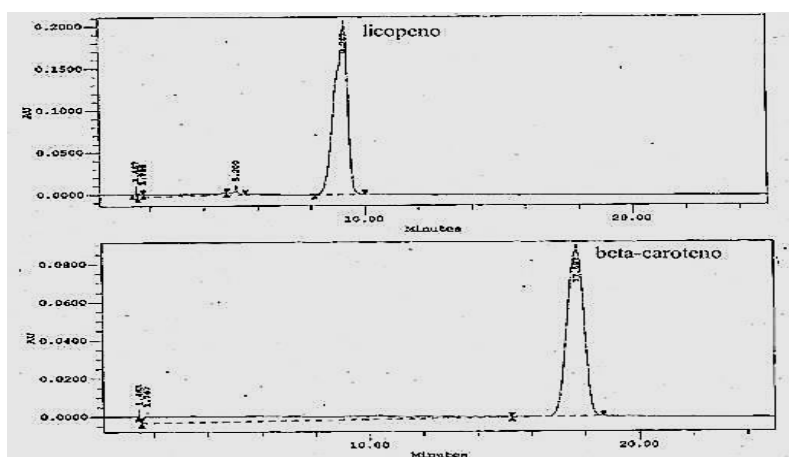


Figura 62. Separación e identificación del licopeno y beta-caroteno mediante HPLC.

En la Figura 63 se muestran los espectros obtenidos de cada uno de los patrones seleccionados en el estudio, adquiridos tras separarse en las condiciones cromatográficas óptimas.

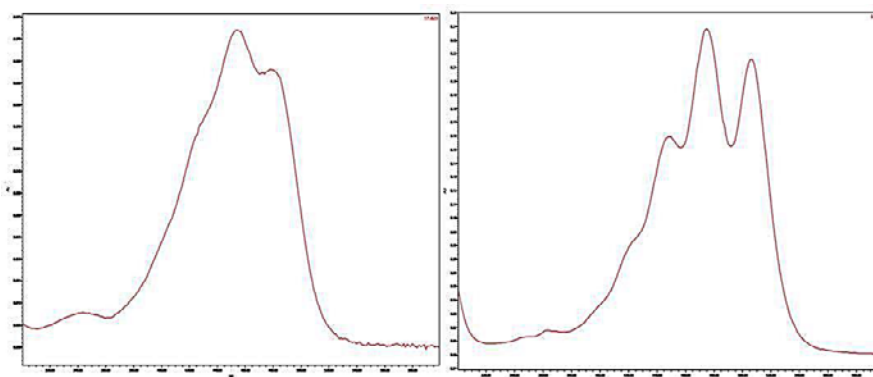


Figura 63. Espectros de absorción beta-caroteno y licopeno inyectados en el HPLC.

La identificación y cuantificación, mediante la preparación e inyección de la correspondiente curva de calibrado, se llevó a cabo con disoluciones patrón de dichos compuestos. En la Tabla 14 se muestran los datos relativos a los calibrados preparados. Las muestras se cuantificarán con estos calibrados.

Tabla 14. Rectas de calibrado de los carotenoides estudiados.

Compuesto	rango	pendiente	ordenada	R2
licopeno	10–1100 µg/g	33898	593829	0,9994
beta-caroteno	4-90 µg/g	87112	101454	0,9992

2.5.1.2. Determinación de licopeno y beta-caroteno en muestras de tomate

Según bibliografía, existen diferentes métodos para la determinación de carotenoides mediante cromatografía líquida HPLC con detección UV/Vis (Martínez-Valverde et al., 2002; Sánchez-Moreno et al., 2003; Sánchez-Moreno et al., 2006; Cucú et al., 2012). Como ya se ha mencionados en el apartado anterior, para la determinación del contenido en carotenoides (licopeno y beta-caroteno) en las muestras de tomate rosa se procedió según el protocolo optimizado desde el Dpto. de Química Analítica de la EPS y que se describe a continuación. En la Figura 64 se muestra el cuadro resumen del método aplicado.

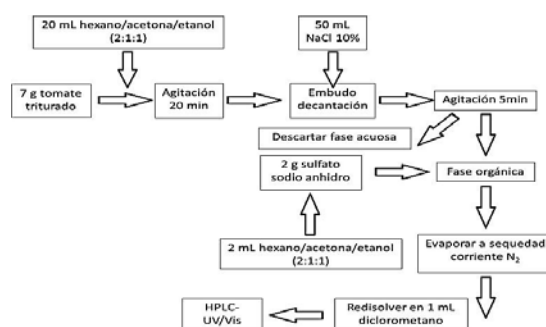


Figura 64. Procedimiento de extracción de carotenoides en tomate.

El procedimiento seguido para la extracción y análisis de licopeno y beta-caroteno se describe a continuación. Se pesan 7 g de tomate triturado en un recipiente ámbar, se adicionan 20 mL de una disolución hexano/acetona/etanol (2:1:1) y se somete a agitación magnética durante 20 min, en condiciones de poca luz (Figura 65).



Figura 65. Condiciones de extracción del tomate con solución extractante.

Transcurridos los 20 min de agitación, los extractos se trasvasan a un embudo de decantación de 100 mL. Se adicionan 50 mL de NaCl al 10% y se agita durante 5 min para favorecer la separación de fases. Mientras se agita un embudo, los otros se tapan con papel de aluminio para evitar reacciones de degradación por la acción de la luz.

En la Figura 66 se muestran los embudos de decantación con la separación de fases, arriba la fase orgánica (hexano) que contiene a los carotenoides, de ahí su coloración amarilla, y abajo la fase acuosa para su descarte.

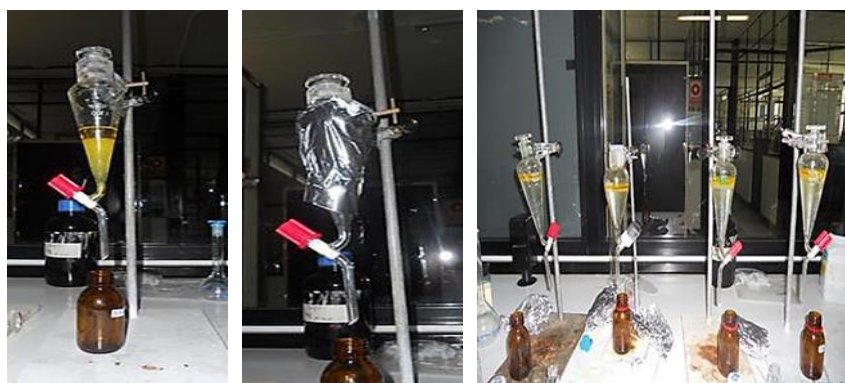


Figura 66. Embudos de decantación para la extracción líquido/líquido.

Se descarta la fase acuosa (abajo) y se recoge la fase orgánica en un vial sobre el que se adicionan 2 g de sulfato de sodio anhidro (Na_2SO_4). Los viales con el extracto orgánico y el sulfato de sodio añadido se muestran en la Figura 67.



Figura 67. Descarte fase acuosa y adición de sulfato de sodio anhidro fase orgánica.

La fase orgánica se trasvasa a tubos de ensayo ámbar, y sobre el sulfato de sodio que queda en el vial se adicionan 2 mL de solución extractante de hexano/acetona/etanol (2:1:1), a continuación se recoge el extracto obtenido y se junta con la fase orgánica del tubo ámbar (Fig. 68).

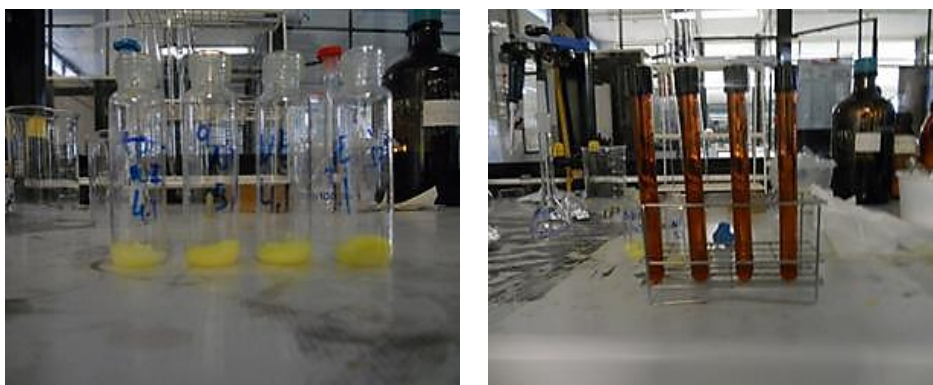


Figura 68. Viales ámbar con el trasvase de los dos extractos obtenidos.

Los extractos orgánicos se evaporan a sequedad en corriente de nitrógeno y en campana extractora. Por último, el residuo se redisuelve mediante la adición de 1 mL de diclorometano, controlado gravimétricamente (Figura 69).



Figura 69. Control gravimétrico de la adición de 1 mL de diclorometano.

Los extractos de las muestras se inyectaron en el cromatógrafo de líquidos HPLC-UV/Vis. En las Figura 70 se muestra, como ejemplo, un cromatograma obtenido

de una muestra de tomate rosa sometida a la extracción e identificación de carotenoides.

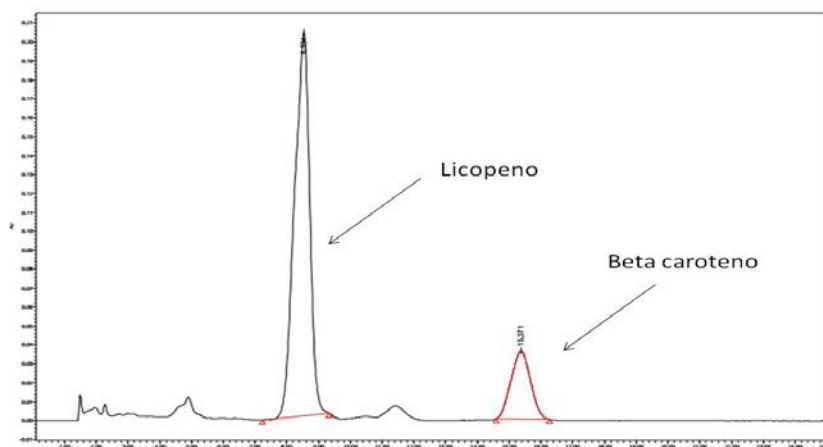


Figura 70. Cromatograma de carotenoides muestra de tomate Rosa de Barbastro.

2.6. Determinación del valor nutricional y funcional del tomate

Una vez determinada la composición química en antioxidantes naturales en las diferentes muestras de tomate analizadas en este estudio, tomates rosas procedentes de Barbastro (Huesca) y Montañana (Zaragoza), y cultivados tanto en túneles como al aire libre, se procedió a caracterizar su valor nutricional y funcional, destacando aquellos factores pre-cosecha y post-cosecha que pueden maximizarlo.

La caracterización del **valor nutricional y funcional** de las diferentes muestras de tomate rosa de Barbastro, se ha basado en varios conceptos:

- a. En el contenido de los diferentes antioxidantes (ácidos fenólicos, fenoles totales y carotenoides) determinados en las muestras de tomate.
- b. En las recomendaciones de ingesta de cada componente para la población
- c. En las cantidades medias de consumo diario de tomate
- d. En la biodisponibilidad de cada uno de los antioxidantes

Este estudio se va a realizar en tres etapas:

1. Análisis y comparación de los datos de composición química en antioxidantes para las diferentes muestras, ofrecidos por los análisis químicos previamente realizados, para determinar cuáles son las condiciones pre-cosecha que consiguen maximizar el valor nutricional del tomate rosa de Barbastro.

2. Determinación de la ingesta probable de cada antioxidante con el consumo medio diario de tomate, para conocer la capacidad del tomate de cubrir las recomendaciones de ingesta de estos componentes para la población. La concentración de cada uno de los componentes se determina mediante las técnicas de análisis previamente optimizadas, y el consumo medio diario de tomate en España, a partir de los datos de consumo de hortalizas publicados en las guías españolas de alimentación saludable. Adicionalmente se va a realizar una búsqueda bibliográfica para conocer las ingestas recomendadas publicadas para cada uno de los compuestos analizados.

3. Recopilación de información sobre la biodisponibilidad de los polifenoles y carotenoides que pueden encontrarse en los tomates para conocer por medio de una revisión bibliográfica, qué factores post-cosecha pueden limitar su valor nutricional y cuál es el impacto sobre su composición química.

Resultados y discusión

3. Resultados y discusión

3.1. Análisis de polifenoles muestras de tomate rosa de Barbastro

Siguiendo la metodología optimizada en el apartado 2.3.2 para la determinación de ácidos fenólicos en muestras de tomate, se sometieron a análisis las 30 muestras de tomate rosa de Barbastro del presente estudio (ver Tabla 11). En la Tabla 15 se muestran los resultados obtenidos para los cuatro ácidos fenólicos cuantificados, expresados en mg/kg tomate fresco (*FW=fresh weight*), del valor medio y la desviación estándar de los análisis realizados por triplicado para cada una de las muestras.

Tabla 15. Resultados ácidos fenólicos, expresados en mg/kg tomate (FW), para las muestras de tomate rosa de Barbastro analizadas.

Ácidos fenólicos (tomate rosa de Barbastro)								
	Ac. clorogénico		Ac. caféico		Ac. ferúlico		Ac. p-cumárico	
	mg/kg	s	mg/kg	s	mg/kg	S	mg/kg	s
TR1	7,80	3,00	4,57	0,55	3,91	0,56	2,86	1,64
TR2	7,15	5,62	2,62	1,19	0,08	0,05	2,17	0,77
TR3	18,95	6,47	7,79	3,46	0,64	0,50	3,90	0,77
TR4	13,63	1,85	4,56	2,08	0,05	-	5,72	2,00
TR5	11,26	2,36	4,48	2,60	1,65	0,39	0,59	0,36
TR6	22,41	7,11	15,32	2,11	2,06	0,41	14,04	2,09
TR7	9,02	1,14	7,43	1,91	0,82	0,26	3,03	0,67
TR8	20,52	4,85	9,54	1,41	1,10	0,09	6,21	1,21
TR9	37,26	2,44	10,74	2,51	2,50	0,69	6,75	1,55
TR10	26,59	8,33	6,72	2,02	0,57	0,03	8,06	3,87
TR11	21,64	3,38	2,94	0,33	0,55	-	6,12	2,39
TR12	25,77	2,88	1,72	0,16	0,20	-	7,50	0,89
TR13	5,89	0,93	1,11	0,22	0,76	0,06	2,84	0,10
TR14	23,02	2,30	2,98	0,20	0,71	0,42	3,82	0,94
TR15	10,96	1,99	1,16	0,24	0,50	-	6,16	1,12
TR16	23,02	4,44	4,70	1,64	0,35	0,10	2,31	0,40
TR17	9,50	2,86	4,44	1,77	1,24	0,56	4,07	1,36
TR18	11,32	1,28	4,93	1,03	2,42	0,08	3,03	0,44
TR19	19,33	3,17	6,88	0,56	0,23	0,03	9,99	0,38
TR20	13,02	1,93	5,67	0,88	0,40	0,15	4,86	0,18
TR21	24,34	2,25	6,27	2,15	0,25	-	9,04	3,69

TR22	14,48	4,16	10,37	5,21	0,48	0,24	7,48	0,92
TR23	20,12	1,28	4,25	0,69	0,91	-	7,27	0,55
TR24	22,88	1,99	11,95	0,32	0,81	0,79	8,94	1,15
TR25	15,51	1,22	9,73	1,04	3,41	0,66	6,62	0,64
TR26	17,78	2,07	10,68	1,16	4,26	0,38	3,86	1,03
TR27	17,15	1,58	6,04	0,98	1,20	0,10	9,01	0,59
TR28	37,07	3,86	17,36	0,50	2,03	0,15	8,25	0,37
TR29	20,97	2,70	11,30	1,87	1,27	0,63	6,77	0,71
TR30	20,73	4,99	7,27	0,81	3,10	0,53	8,50	1,07
Ácidos fenólicos (tomate Caramba)								
	<i>mg/kg</i>	<i>s</i>	<i>mg/kg</i>	<i>s</i>	<i>mg/kg</i>	<i>s</i>	<i>mg/kg</i>	<i>s</i>
TC31	15,28	2,16	3,07	0,77	1,50	0,12	<i>nd</i>	-
TC32	17,80	2,15	5,78	0,51	2,22	0,28	<i>nd</i>	-
TC33	18,23	1,65	4,20	0,83	2,62	0,15	<i>nd</i>	-
TC34	13,95	1,69	3,38	0,48	1,95	0,21	<i>nd</i>	-

s = desviación estándar; *nd* = no detectado.

Lo primero a destacar de los resultados obtenidos, que se muestran en la tabla anterior, es que **en todas las muestras de tomate rosa de Barbastro**, tanto las cultivadas en la parcela de Montañana como en la parcela de Barbastro así como para las dos condiciones de cultivo (túnel y aire libre), **se identifican y cuantifican los cuatro ácidos fenólicos seleccionados**. Mientras que, en todas las muestras de tomate variedad Caramba (control), cultivadas tanto en la parcela de Montañana como en la de Barbastro y sólo en condiciones de túnel de plástico, sólo se cuantifican tres de los ácidos fenólicos (clorogénico, caféico y ferúlico), pero no se identifica en ningún caso el ácido *p-cumárico*.

Con objeto de poder discutir los resultados de la cuantificación de los ácidos fenólicos en las muestras de tomate rosa de Barbastro analizadas, dado que se hicieron réplicas de campo (en Barbastro 3 réplicas y en Montaña 1 réplica), en la Tabla 16 se muestran los valores medios obtenidos para los cuatro ácidos fenólicos cuantificados (clorogénico, caféico, ferúlico y *p-cumárico*) de las réplicas de campo (3 en Barbastro y 1 en Montañana) para las 4 líneas estudiadas (líneas 1, 7, 8 y 11), en los 2 ambientes de cultivo (túnel de plástico y aire libre) y en las dos parcelas de cultivo (Barbastro y Montañana).

Tabla 16. Resultados medios de la suma de ácidos fenólicos (mg/kg) para las cuatro líneas de tomate rosa de Barbastro en los dos cultivos y dos parcelas estudiados, y para la muestra de tomate control.

	Ac. clorogénico		Ac. caféico		Ac. ferúlico		Ac. p-cumárico	
	mg/kg	s	mg/kg	s	mg/kg	s	mg/kg	S
Barbastro (túnel)								
media línea 1	9,54	1,76	4,65	0,25	2,53	1,34	3,32	0,66
media línea 7	13,16	6,09	5,06	2,20	0,24	0,16	5,67	3,97
media línea 8	19,26	4,94	8,15	2,07	0,46	0,20	6,81	2,64
media línea 11	18,88	4,75	6,92	4,36	0,59	0,47	7,31	1,61
control Caramba	16,66	2,36	4,45	1,22	2,27	0,34	23,38	3,56
Barbastro (aire libre)								
media línea 1	14,85	3,31	8,30	3,34	3,11	1,33	3,69	3,02
media línea 7	18,14	3,72	9,89	6,56	2,12	0,61	8,91	3,55
media línea 8	22,35	14,08	12,03	5,00	1,37	0,61	6,02	2,69
media línea 11	21,20	0,15	9,61	1,61	1,86	1,41	6,91	1,62
Montañana (túnel)								
media línea 1	5,89	0,93	1,11	0,22	0,76	0,06	2,84	0,10
media línea 7	23,02	2,30	2,98	0,20	0,71	0,42	3,82	0,94
media línea 8	10,96	1,99	1,16	0,24	0,50	-	6,16	1,12
media línea 11	23,02	4,44	4,70	1,64	0,35	0,10	2,31	0,40
control Caramba	15,28	2,16	3,07	0,77	1,50	0,24	19,84	3,09
Montañana (aire libre)								
media línea 1	37,26	2,44	10,74	2,51	2,50	0,69	6,75	1,55
media línea 7	26,59	8,33	6,72	2,02	0,57	0,03	8,06	3,87
media línea 8	21,64	3,38	2,94	0,33	0,55	-	6,12	2,39
media línea 11	25,77	2,88	1,72	0,16	0,20	-	7,50	0,89

Los resultados obtenidos de la cuantificación de los ácidos fenólicos identificados en las muestras de tomate rosa de Barbastro muestran que, en el caso del **ácido clorogénico** el rango de concentraciones encontrado va **desde los 9,5 a los 37,3 mg/kg** tomate fresco. Señalar que para la discusión de los resultados, todos los datos que se mencionan están referidos a peso de muestra fresca (FW), igual que los obtenidos en este proyecto.

Martínez-Valverde et al., 2002; llevaron a cabo un estudio completo de diferentes variedades de tomate cultivadas en España y encontraron concentraciones de ácido clorogénico desde los 14,3 mg/kg para la variedad Pera hasta los 32,8 mg/kg

de la variedad Senior. *Raffo et al., 2006*; tras el análisis de tomate de la variedad Pomodoro di Pachino encontraron valores de ácido clorogénico comprendidos entre los 26,7 y 54,4 mg/kg. Por otro lado, *Slimestad et al., 2009*; en su artículo de revisión, reportan valores medios de ácido clorogénico de 14,7; 27,9 y 32,8 mg/kg para las variedades españolas de tomate Daniella, Rambo y Liso, respectivamente. *Bravo-Lozar, 2012*; para la variedad de tomate Pera encuentra un valor medio de ácido clorogénico de 28,7 mg/kg. Mientras que *García-Valverde et al., 2013*; para las variedades de tomates Ronaldo, Pera y Cherry Pera encontraron valores de ácido clorogénico de 16,8; 17,7 y 29,3 mg/kg, respectivamente.

Por otro lado, estudios realizados por *Vallverdú-Queralt et al., 2012*; sobre tomates ecológicos y convencionales de la variedad Daniella mostraron valores de ácido clorogénico de 36,9 mg/kg para tomates convencionales y de 57,0 mg/kg para tomates ecológicos. Continuando los estudios de comparación entre tomates ecológicos y convencionales *Hallman et al., 2013*; hallaron valores medios de ácido clorogénico de 24,9 mg/kg para tomates ecológicos y 19,3 mg/kg para aquellos provenientes de cultivo no ecológico, llevados a cabo sobre tomate variedad Rumba.

Como se puede observar, existe una variación en los valores de ácido clorogénico cuantificados según las variedades de tomate estudiadas y las condiciones de cultivo atendiendo a si son ecológicos o convencionales, si bien el rango de concentración encontrado para el tomate rosa de Barbastro se encuentra dentro de los valores esperables para este último tipo de tomates. Siendo, en todos los casos revisados bibliográficamente, el ácido fenólico que se encuentra en mayor concentración.

En el caso del **ácido caféico** el rango de concentraciones encontrado en el tomate rosa de Barbastro, va **desde los 1,1 a los 12,0 mg/kg** tomate fresco. *Martínez-Valverde et al., 2002*; encontraron concentraciones de ácido caféico desde los 1,4 mg/kg para la variedad Senior hasta los 13,0 mg/kg de la variedad Ramillete. *Slimestad et al., 2009*; en su artículo de revisión, reportan valores medios de ácido caféico de 5,9; 2,6 y 1,4 mg/kg para las variedades españolas de tomate Daniella, Rambo y Liso, respectivamente. En otro estudio, llevado a cabo por *Jakob et al., 2010*; para el tomate variedad Pera reportan valores para el ácido caféico de 0,3 mg/kg.

Mientras que *Bravo-Lozar, 2012*; para esta misma variedad no detecta ácido caféico. *García-Valverde et al., 2013*; muestran que sólo en la variedad Pera cuantifican el ácido caféico (2,8 mg/kg), mientras que en el resto de variedades estudiadas (Ronaldo, Zoco y Cherry) no se pudo detectar. Todos estos estudios han sido llevados a cabo sobre tomates obtenidos por cultivo convencional, como es nuestro caso, y puede verse que los valores obtenidos para el tomate rosa de Barbastro se encuentran en los rangos identificados en otras variedades de tomate. Es más, en general, los valores encontrados de ácido caféico en esta variedad son mayores que los cuantificados en otras variedades de tomate estudiadas, sobre todo cuando se cultiva al aire libre.

Por otro lado, estudios realizados por *Vallverdú-Queralt et al., 2012*; donde se comparan tomates convencionales y ecológicos de la variedad Daniella, encuentran valores medios de ácido caféico de 22,9 mg/kg para cultivo convencional y de 41,7 mg/kg en el caso de tomates cultivados de manera ecológica. Se puede observar que los valores obtenidos de ácido caféico son mayores cuando se cultiva el tomate de forma ecológica, si bien estudios realizados por *Hallman et al., 2013*; sobre la variedad de tomate Rumba cultivado en condiciones convencionales y ecológicas no muestran cantidades detectables de ácido caféico. Lo cual pone de manifiesto, como ya se ha comentado en el párrafo anterior, que los rangos de concentración de ácido caféico dependen principalmente de la variedad de tomate estudiada.

Los resultados obtenidos en el caso del **ácido ferúlico**, muestran que el rango de concentraciones varía **desde los 0,2 a los 3,1 mg/kg** tomate fresco. *Martínez-Valverde et al., 2002*; encontraron valores de ácido ferúlico que oscilaban desde los 1,6 mg/kg para la variedad Liso hasta los 5,4 mg/kg para la variedad Durina. *Slimestad et al., 2009*; en su artículo de revisión, reportan valores medios de ácido ferúlico de 3,0; 1,9 y 1,6 mg/kg para las variedades españolas de tomate Daniella, Rambo y Liso, respectivamente. *Jacob et al., 2010*; encuentran valores medios de ácido ferúlico de 0,4 mg/kg para la variedad de tomate Pera. En el trabajo realizado por *Bravo-Lozar, 2012*; para la variedad de tomate Pera obtiene un valor medio de 1,2 mg/kg. En estudios realizados por *García-Valverde et al., 2013*; al igual que en caso del ácido caféico, de las cuatro variedades estudiadas, sólo cuantificaron ácido ferúlico en una

de ellas, aunque en este caso, la concentración media encontrada fue de 0,9 mg/kg en la variedad Cherry.

Después de la revisión bibliográfica puede decirse que los valores obtenidos de ácido ferúlico para el tomate rosa de Barbastro, se encuentran dentro de los rangos obtenidos para las otras variedades de tomate estudiadas.

En el caso del **ácido *p*-cumárico**, en el tomate rosa de Barbastro, su rango de concentraciones se encuentra comprendido **entre los 2,3 y los 8,9 mg/kg** tomate fresco. Señalar, que en este ácido fenólico las concentraciones encontradas en el tomate control variedad Caramba son mayores que en el tomate rosa de Barbastro con valores medios de 19,8 mg/kg y 23,4 mg/kg. Este comportamiento no sucede con los otros tres ácidos fenólicos estudiados, donde los valores cuantificados en el tomate Caramba se encuentran dentro del rango de concentraciones obtenidas para el tomate rosa de Barbastro.

Martínez-Valverde et al., 2002; no cuantificaron el ácido *p*-cumárico para las variedades Liso y Ramillete, y encontraron valores medios desde los 1,1 mg/kg en la variedad Rambo hasta los 5,8 mg/kg en la variedad Daniella. *Jacob et al., 2010*; reportan valores medios de ácido *p*-cumárico de 1,3 mg/kg para la variedad de tomate Pera. *Bravo-Lozar, 2012*; para esta misma variedad de tomate no detecta ácido *p*-cumárico. Estudios realizados por *Vallverdú-Queralt et al., 2012*, muestran que la variedad de tomate Daniella presenta valores medios de ácido *p*-cumárico que varían desde los 20,6 mg/kg cuando es cultivado de manera convencional hasta los 34,2 mg/kg cuando es cultivado de forma ecológica.

Al igual que en el caso anterior, los datos que se obtienen para el ácido *p*-cumárico para el tomate rosa de Barbastro, se encuentran dentro del rango de los valores obtenidos en otros estudios para diferentes variedades.

A partir de los resultados, comentados y discutidos, para los cuatro ácido fenólicos se puede decir que los valores medios encontrados en el tomate rosa de Barbastro se encuentran dentro de los rangos estudiados y encontrados para otras variedades de tomate, lo cual permite caracterizarlo, cosa que hasta el momento no se había realizado.

Una vez comentados los resultados obtenidos de los ácidos fenólicos cuantificados, en las muestras de tomate rosa de Barbastro, el siguiente paso que completa este estudio es **evaluar la influencia de la línea seleccionada de tomate, las condiciones de cultivo** (túnel y aire libre) **y la parcela de cultivo** (Barbastro y Montañana). La Tabla 17 muestra los resultados obtenidos, expresados como suma de los cuatro ácidos fenólicos seleccionados, agrupados según las líneas de variedad, las condiciones de cultivo y la parcela de cultivo.

Tabla 17. Resultados medios de la suma de ácidos fenólicos (mg/kg) según líneas de tomate rosa de Barbastro, en los dos cultivos y dos parcelas estudiados, y para la muestra de tomate control.

Suma ácidos fenólicos cuantificados					
Barbastro (túnel)			Barbastro (aire libre)		
	mg/kg	s		mg/kg	s
media línea 1	20,03	1,45	media línea 1	25,68	8,14
media línea 7	24,11	12,23	media línea 7	43,62	14,44
media línea 8	34,61	4,51	media línea 8	41,77	22,24
media línea 11	33,48	10,42	media línea 11	38,48	1,57
media Caramba	23,38	3,56			
Montañana (túnel)			Montañana (aire libre)		
	mg/kg	s		mg/kg	s
media línea 1	10,61	1,19	media línea 1	57,26	6,59
media línea 7	30,30	2,75	media línea 7	41,93	13,94
media línea 8	18,45	2,67	media línea 8	30,88	2,73
media línea 11	30,26	5,45	media línea 11	35,06	3,64
media Caramba	19,84	3,09			

En la Figura 71 se muestran conjuntamente los resultados obtenidos en las muestras de tomate rosa de Barbastro cultivadas en la parcela de Barbastro en condiciones de túnel de plástico y aire libre.

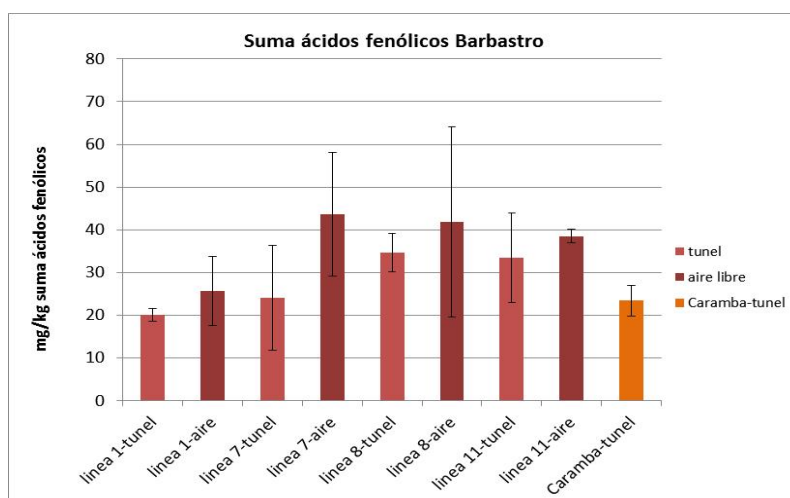


Figura 71. Resultados suma ácidos fenólicos en muestras de tomate cultivadas en Barbastro al aire libre y en túnel invernadero.

Comparando los resultados que se muestran en la gráfica anterior, en la parcela de Barbastro, se puede decir que la cantidad de ácidos fenólicos cuantificados, expresado como la suma de los ácidos fenólicos seleccionados, es mayor cuando se cultivan al aire libre que cuando se hace en túnel de plástico. En las cuatro líneas de tomate estudiadas sucede lo mismo, la línea 7 es la que presenta la mayor diferencia y la línea 11 la que presenta menor diferencia, según el tipo de cultivo (túnel de plástico o aire libre). Los datos obtenidos para la variedad de control Caramba muestran unos valores intermedios, en comparación con las cuatro líneas de tomate rosa de Barbastro cultivadas en túnel de plástico.

Es importante señalar, que tal y como se puede apreciar en la Figura 71, las desviaciones estándar de los valores medios son bastante grandes, en comparación con las desviaciones de los análisis individuales (triplicados) que se muestran en la Tabla 16, esto es principalmente debido a que en el caso de la parcela de Barbastro se tomaron tres réplicas de campo de las muestras de tomate de cada línea, y que si bien se preparan a partir de 5 frutos triturados y homogenizados, estas réplicas de campo son sacadas de plantares diferentes, lo que hace que aumente la heterogeneidad de las muestras y que se manifiesta claramente en las desviaciones estándar obtenidas.

Estos resultados son los esperables, dado que los polifenoles están dentro del grupo de sustancias denominadas bioactivas, que las plantas sintetizan para usarlas como defensa frente al medio en el que crecen, por lo que es lógico que la cantidad de

polifenoles en las plantas cultivadas al aire libre presenten mayor cantidad que las cultivadas en túnel de plástico.

En la Figura 72 se muestran conjuntamente los resultados obtenidos en las muestras de tomate rosa de Barbastro cultivadas en la parcela de Montañana en condiciones de túnel de plástico y aire libre.

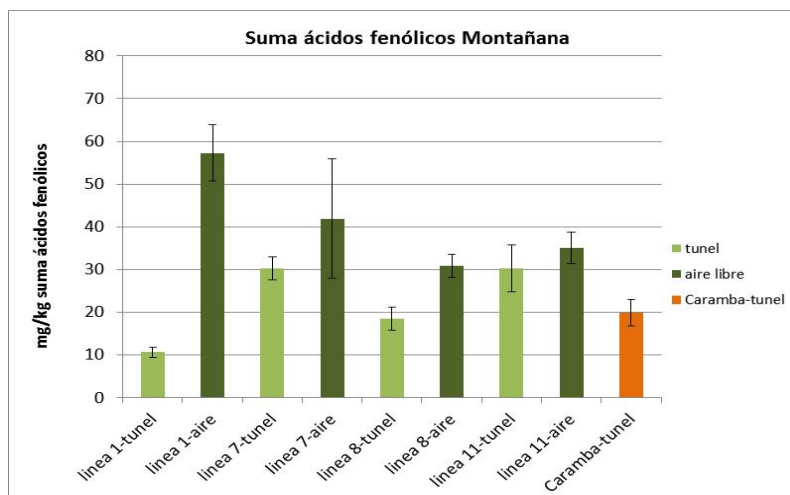


Figura 72. Resultados suma ácidos fenólicos en muestras de tomate cultivadas en Montañana al aire libre y en túnel invernadero.

Al igual que en el caso anterior, en la **parcela de Montañana**, las cuatro líneas estudiadas presentan una **mayor cantidad de ácidos fenólicos** cuando son **cultivadas al aire libre que cuando lo hacen en túnel de plástico**. En este caso, es la línea 1 la que presenta la mayor diferencia y, al igual que en la parcela de Barbastro, es la línea 11 la que presenta menor diferencia, según el tipo de cultivo (aire libre frente a túnel de plástico). Por otro lado, al igual que en la parcela de Barbastro, la variedad de tomate Caramba, presenta unos valores intermedios en comparación con las cuatro líneas de tomate rosa de Barbastro cultivadas en túnel de plástico.

En la parcela de Montañana se observa el mismo comportamiento de los polifenoles como sustancias bioactivas, es decir, presentan mayor cantidad aquellas plantas que se han cultivado al aire libre porque tienen que defenderse del medio que les rodea, más agresivo que el del túnel de plástico.

Finalmente, en la Figura 73 se muestra la comparación de los resultados obtenidos en las dos parcelas de cultivo y en las dos condiciones (aire libre y túnel de plástico), con objeto de discutir la influencia de la parcela de cultivo en el contenido de ácidos fenólicos.

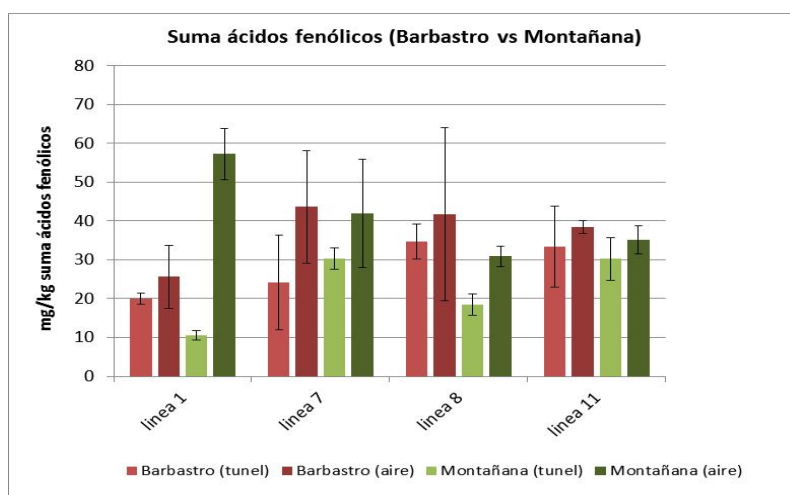


Figura 73. Resultados suma ácidos fenólicos en muestras de tomate cultivadas en las dos parcelas y las dos condiciones de cultivo.

Si se comparan los resultados obtenidos, que aparecen en la Figura 73, se puede ver que salvo en el caso de la línea 1, en el resto de líneas (7, 8 y 11) es mayor el contenido de ácidos fenólicos cuando se cultivan en la parcela de Barbastro que en la de Montañana. Donde es mayor la diferencia, en el contenido en ácidos fenólicos, es en el línea 8, y donde se obtienen valores similares es en la línea 11.

Como ya se ha mencionado en el apartado Experimental, el estudio de los ácidos fenólicos presentes en el tomate rosa de Barbastro se complementó con la determinación de los fenoles totales, con objeto de comparar si el comportamiento era el mismo o similar.

3.2. Análisis de fenoles totales muestras tomate rosa de Barbastro

Siguiendo la metodología descrita en el apartado 2.4.1 para la determinación de fenoles totales en muestras de tomate, se han sometido a análisis las 30 muestras de tomate rosa de Barbastro del presente estudio.

En la Tabla 18 se muestran los resultados obtenidos, expresados en mg ácido gálico (AG)/kg tomate, del valor medio y la desviación estándar de los análisis realizados por triplicado de cada una de las muestras.

Tabla 18. Contenido en fenoles totales, expresados en mg AG/kg tomate, para las muestras de tomate rosa de Barbastro analizadas.

Fenoles totales (tomate rosa de Barbastro)					
	mg AG/kg	s		mg AG/kg	s
TR1	94,50	22,56	TR16	121,33	29,49
TR2	59,60	27,31	TR17	92,80	18,97
TR3	120,90	34,10	TR18	88,71	4,45
TR4	73,52	31,06	TR19	108,28	21,26
TR5	116,95	50,81	TR20	91,98	22,24
TR6	159,99	59,95	TR21	102,46	30,95
TR7	125,19	45,43	TR22	102,46	22,23
TR8	128,95	32,03	TR23	93,07	21,27
TR9	175,42	55,31	TR24	140,33	46,26
TR10	126,65	21,98	TR25	209,96	28,11
TR11	123,61	20,80	TR26	164,24	17,11
TR12	142,29	50,34	TR27	129,41	18,18
TR13	95,73	15,42	TR28	181,61	26,69
TR14	76,31	18,91	TR29	149,94	7,74
TR15	84,15	20,07	TR30	134,89	16,75
Fenoles totales (tomate Caramba)					
	mg AG/kg	s		mg AG/kg	s
TC31	66,71	20,91	TC33	97,61	17,27
TC32	86,25	8,87			

Se puede observar que los resultados de **fenoles totales varían desde los 59,6 mg AG/kg a los 210,0 mg AG/kg tomate fresco**. En general, los tomates rosa de Barbastro estudiados presentan valores bajos de fenoles totales si se comparan con datos bibliográficos. Estudios llevados a cabo por *Zapata et al., 2007*; realizados sobre la variedad de tomate Alma muestran unos resultados de fenoles totales que van desde los 143,7 hasta 189,1 mg AG/kg. *Toor et al., 2006*; estudiaron tres variedades de tomate (Excell, Tradino y Flavourine) encontrando valores de fenoles totales que varían desde los 157,0 hasta los 201,4 mg AG/kg. *Bravo-Lozar, 2012*; para la variedad Pera reportó valores medios de fenoles totales de 145,7 mg AG/kg. *García-Valverde et al., 2013*; encuentran valores que van desde los 186,9 mg AG/kg para la variedad Ronaldo (poco maduro) hasta los 558,6 mg AG/kg en la variedad Cherry Pera (muy maduro); *Hallman et al., 2013*; cuantifican valores medios de 453,5 mg AG/kg para

tomates cultivados de forma convencional y 517,4 mg AG/kg para tomates ecológicos y por último *Kaur et al., 2013*; estudiaron variedades de tomate cultivadas en la India y presentan valores de fenoles totales que van desde los 263,4 mg AG/kg hasta los 1419,8 mg AG/kg.

La revisión bibliográfica realizada también permite destacar que se han encontrado trabajos donde las muestras de tomate eran sofritos o pasta de tomate que han sido centrifugadas para eliminar la fracción acuosa, como se ha hecho en el presente trabajo, y sobre el residuo se ha realizado la extracción de los polifenoles, para luego determinar el contenido total de fenoles. En estas condiciones, *Jacob et al., 2010*; estudiaron pasta de tomate y encontraron valores de fenoles totales que van desde los 23,0 mg AG/kg hasta los 234,0 mg AG/kg y *Vallverdú-Queralt et al., 2013*; encuentran valores para sofritos españoles que van desde los 132,0 mg AG/kg hasta los 202,3 mg AG/kg. Los tomates rosa de Barbastro muestran valores de fenoles totales que se encuentran dentro de estos rangos.

Al igual que en el caso de los polifenoles, los resultados de los fenoles totales se muestran en la Tabla 19 en función de la línea de tomate (media de las réplicas de campo), de las condiciones de cultivo y de la parcela.

Tabla 19. Resultados medios de los fenoles totales (mg AG/kg) según las líneas de tomate, en los dos cultivos y dos parcelas estudiados.

Fenoles totales					
Barbastro (túnel)			Barbastro (aire libre)		
	mg/kg	s		mg/kg	s
media línea 1	92,00	2,98	media línea 1	163,72	46,51
media línea 7	86,62	24,78	media línea 7	144,70	21,62
media línea 8	120,82	18,32	media línea 8	152,25	28,28
media línea 11	102,31	34,35	media línea 11	131,92	4,20
media Caramba	91,93	8,04			
Montañana (túnel)			Montañana (aire libre)		
	mg/kg	s		mg/kg	s
media línea 1	95,73	15,42	media línea 1	175,42	55,31
media línea 7	76,31	18,91	media línea 7	126,64	21,98
media línea 8	84,15	20,07	media línea 8	123,61	20,08
media línea 11	121,33	29,49	media línea 11	142,29	50,34
media Caramba	66,71	20,91			

Los resultados (**valores medios**) obtenidos de la cuantificación de los **fenoles totales** en las cuatro líneas de tomate rosa de Barbastro, muestran unos valores que **varían desde los 76,3 mg AG/kg a los 175,4 mg AG/kg tomate fresco**.

En la Figura 74 se muestran los resultados del contenido en fenoles totales de las líneas de tomate estudiadas, para la comparación de los resultados obtenidos según la parcela de cultivo y las dos condiciones de cultivo (aire libre y túnel plástico).

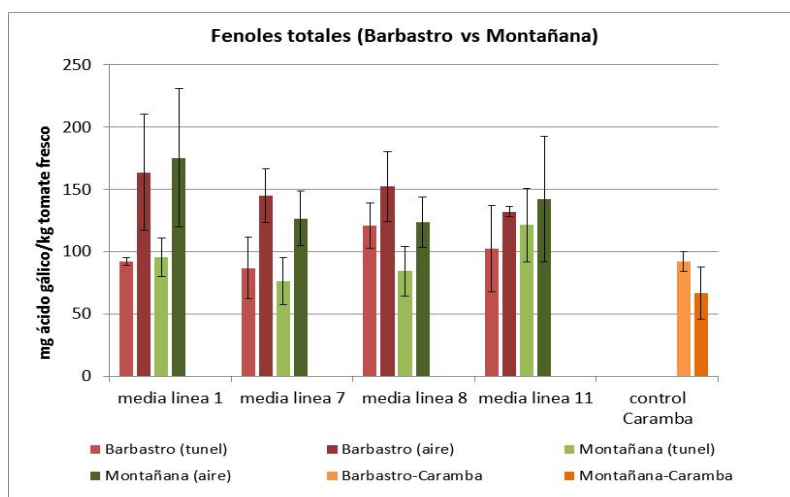


Figura 74. Fenoles totales según línea de cultivo, ambiente y parcela.

Según los resultados que se muestran en la Figura 74 se puede ver que para las cuatro líneas de tomate estudiadas, tanto en la **parcela de Barbastro** como en la **parcela de Montaña**, la **cantidad de fenoles totales**, expresados como mg ácido gálico/kg tomate fresco, **es mayor cuando se cultivan al aire libre que cuando se hace en túnel de plástico**. En ambas parcelas de cultivo, la línea 1 es la que presenta mayor diferencia en el contenido en fenoles totales y la línea 11 la que presente menor diferencia, si se cultivan al aire libre frente al cultivo en túnel de plástico. Este comportamiento es el mismo que se observa para la suma de los ácidos fenólicos cuantificados, salvo para el caso de la parcela de Barbastro donde la mayor diferencia se aprecia en la línea 1.

Los datos obtenidos para la variedad de control Caramba muestran valores relativamente menores, en comparación con las cuatro líneas de tomate rosa de Barbastro cultivadas en túnel de plástico.

En la Figura 75 se muestran de manera conjunta, y a modo resumen, los resultados obtenidos de ácidos fenólicos (como suma de los cuatro ácidos fenólicos

cuantificados) y de fenoles totales, en las cuatro líneas de tomate rosa de Barbastro, para las dos parcelas y ambientes de cultivo.

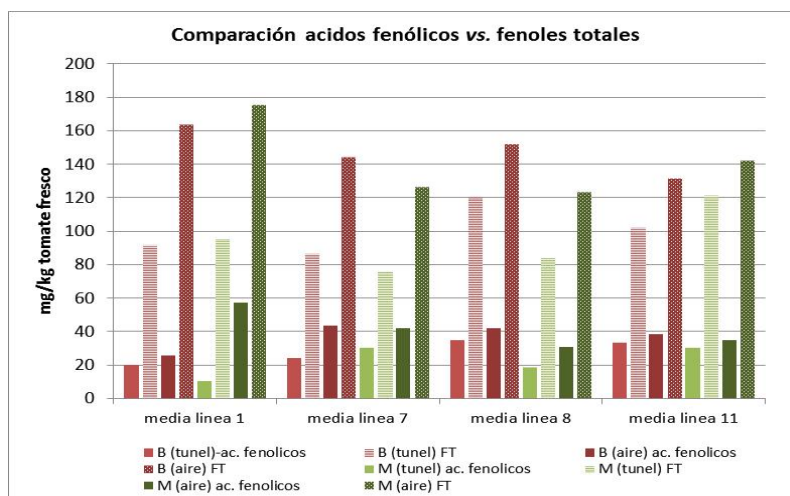


Figura 75. Ácidos fenólicos y fenoles totales según línea de cultivo, ambiente y parcela.

En la Figura 75 se observa la misma tendencia en los ácidos fenólicos y en fenoles totales, es decir, los dos se encuentran en mayor cantidad cuando los tomates se cultivan al aire libre que cuando se hace en túnel de plástico, y sucede tanto en la parcela de Barbastro como en la de Montaña.

Si se calculan las diferencias entre fenoles totales y suma de ácidos fenólicos se observa que la mayor diferencia se encuentra en la línea 1 cuando es cultivada en Barbastro al aire libre y la menor diferencia aparece en la línea 7 cuando se cultiva en Montaña en túnel invernadero. En la línea 8 se observa que la mayor diferencia se encuentra cuando se cultiva en Barbastro al aire libre y por último en la línea 11 la mayor diferencia entre fenoles totales y suma de ácidos fenólicos se encuentra cuando es cultivada en Montaña al aire libre. En todos los casos, las mayores diferencias entre fenoles totales y suma de ácidos fenólicos se encuentran en las líneas cultivadas al aire libre que en las cultivadas en líneas de plástico.

3.3. Análisis de carotenoides en muestras tomate rosa de Barbastro

Siguiendo la metodología descrita en el apartado 2.5.1 para la determinación de licopeno y beta-caroteno en muestras de tomate, se sometieron a análisis las 30 muestras de tomate rosa de Barbastro del presente estudio, así como las muestras control de tomate Caramba. En la Tabla 20 se muestran los resultados obtenidos,

expresados en mg/kg tomate fresco, del valor medio y la desviación estándar de los análisis realizados por triplicado de cada una de las muestras.

Tabla 20. Resultados licopeno y beta-caroteno, expresados en mg/kg tomate (FW).

Carotenoides (tomate rosa Barbastro)											
Licopeno						Beta-caroteno					
mg/kg		s	mg/kg		s	mg/kg		S	mg/kg		S
TR1	16,12	0,15	TR16	37,37	12,69	TR1	2,73	0,48	TR16	1,37	0,21
TR2	36,59	3,81	TR17	43,76	-	TR2	2,35	0,21	TR17	3,88	-
TR3	71,01	46,66	TR18	38,19	-	TR3	3,24	0,86	TR18	3,60	-
TR4	32,76	11,33	TR19	20,00	-	TR4	2,45	0,25	TR19	2,09	-
TR5	69,44	17,97	TR20	48,53	-	TR5	5,12	0,53	TR20	1,93	-
TR6	37,81	18,42	TR21	33,58	4,84	TR6	3,50	0,71	TR21	2,10	0,33
TR7	77,18	24,12	TR22	57,57	11,43	TR7	4,66	0,94	TR22	3,11	0,81
TR8	56,54	6,78	TR23	59,14	15,71	TR8	4,88	0,27	TR23	2,88	0,27
TR9	60,80	0,45	TR24	65,52	8,09	TR9	4,57	0,34	TR24	3,48	0,09
TR10	55,79	3,83	TR25	65,10	13,45	TR10	3,91	0,60	TR25	7,83	0,31
TR11	54,35	5,66	TR26	35,44	8,80	TR11	2,85	1,12	TR26	6,29	0,83
TR12	58,96	5,75	TR27	20,25	5,73	TR12	2,77	0,11	TR27	4,32	0,75
TR13	43,00	2,06	TR28	21,79	3,55	TR13	2,04	0,17	TR28	4,09	0,55
TR14	37,12	2,36	TR29	43,83	2,68	TR14	1,37	0,22	TR29	4,56	0,16
TR15	64,95	5,24	TR30	16,34	6,38	TR15	2,80	0,09	TR30	3,86	0,65

Carotenoides (tomate Caramba)											
Licopeno						Beta-caroteno					
mg/kg		s	mg/kg		s	mg/kg		S	mg/kg		S
TC31	21,91	0,27	TC32	29,70	14,03	TC31	2,24	0,08	TC32	3,63	1,24

Se puede observar que los resultados obtenidos al cuantificar el **licopeno** en las muestras de tomate rosa **varían desde los 16,1 mg/kg a los 77,2 mg/kg** tomate fresco. En el caso del **beta-caroteno** los resultados obtenidos **varían desde los 1,4 mg/kg hasta los 7,4 mg/kg** tomate fresco.

Según bibliografía consultada, existe una gran variabilidad en la cantidad de licopeno presente en los tomates ya que depende, entre otros parámetros, de la intensidad lumínica, factores agronómicos, etc. de las variedades estudiadas. La concentración final de licopeno se ve influenciada por la disponibilidad de agua, siendo la escasez de ésta la que puede producir un aumento en el contenido de este carotenoide (Dumas et al., 2003; Mahajan & Singh, 2006; Favati et al., 2009). Además,

la disponibilidad de nutrientes en el sustrato también parece poder regular el contenido en carotenoides como el licopeno. La presencia de potasio (K) y fósforo (P) parecen estar involucrados en un aumento del contenido de licopeno, mientras que el nitrógeno (N), por el contrario, parece influir de manera negativa en la concentración del mismo, hecho relacionado con el aumento del follaje por un incremento de la disponibilidad de N, que permite una menor incidencia de la luz sobre el fruto (*Dorais et al., 2008*)

Por su parte, la cantidad de beta-caroteno está influenciada por el tipo de suelo, clima, variedad y tipo de almacenamiento (*Monsalve et al., 2007*). Así como, por el estado de maduración del fruto (*Luna-Guevara et al., 2014*).

Abushita et al., 2000; estudiaron veintisiete variedades de tomate distintas y encontraron valores medios para el licopeno que variaban desde los 51,4 mg/kg en la variedad Pollux hasta los 116,1 mg/kg en la variedad Jovanna. Los resultados obtenidos para el beta-caroteno oscilaron desde los 2,3 mg/kg para la variedad Tenger hasta los 6,2 mg/kg para la variedad Monika. En el estudio llevado a cabo por *Periago et al., 2001*; se obtuvieron datos de ocho variedades distintas cuyos valores de licopeno oscilaban entre los 17,7 mg/kg para la variedad Liso y los 61,1 mg/kg para la variedad Durina. Prácticamente idénticos resultados se obtienen en el estudio realizado por *Martínez-Valverde et al., 2002*; donde trabajaron con nueve variedades de tomate, y obtienen valores medios de licopeno que varían entre los 18,6 mg/kg para la variedad Liso hasta los 65,0 mg/kg para la variedad Durina. *Candelas-Cadillo et al., 2005*; reportaron valores medios para el licopeno de 45,9 mg/kg y para el beta-caroteno de 1,17 mg/kg en muestras de tomate Bola. *Zapata et al., 2007*; estudiaron la variedad de tomate Alma y encontraron valores medios para el licopeno de 49,2 mg/kg y para el beta-caroteno de 1,1 mg/kg. *Campos et al., 2010*; llevaron a cabo estudios de la presencia de carotenoides para la variedad de tomate cv. Santa Cruz y encontraron valores medios de 38,0 mg/kg y 2,1 mg/kg para el licopeno y beta-caroteno, respectivamente. En ese mismo año, *Adalid et al., 2010*; estudiaron tomates cultivados en España, que mostraron valores medios de licopeno de 29,0; 49,0 y 0,5 mg/kg para tomate Cambria (rojo), tomate BGV012406 (rojo ligero) y BGV003095 (naranja); y para el beta-caroteno valores de 6,7; 10,0 y 12,0 mg/kg, respectivamente. Por otro lado,

García-Valverde et al., 2011; obtienen niveles de licopeno que varían desde los 85,6 mg/kg en la variedad Ronaldo a los 141,3 mg/kg en la variedad Pera. En el caso del beta-caroteno los valores obtenidos van desde los 2,8 mg/kg en la variedad Ronaldo a los 5,4 mg/kg de la variedad Zoco. *Bravo-Lozar, 2012*; tras el análisis de tomate Pera maduro obtiene valores medios que son de 31,8 mg/kg para el licopeno y de 2,3 mg/kg para el beta-caroteno.

Por otro lado, *Hallman, 2013*; observa que la cantidad de licopeno en salsa de tomate ecológico (125,2 mg/kg) es menor si se compara con el tomate convencional (154,3 mg/kg). El estudio llevado a cabo por *Kaur et al., 2013*; donde se compararon trece variedades de tomate indio, reportaron valores medios para el licopeno que oscilaron entre los 43,1 mg/kg para la variedad Roma y los 299,9 mg/kg en la variedad Pimpinellifolium, mientras que para el beta-caroteno se encontraron valores medios que variaban entre el 1,8 mg/kg en la variedad Avikash hasta los 12,0 mg/kg para la variedad Pimoinellifolium.

Los resultados del contenido en licopeno y beta-caroteno se muestran en la Tabla 21 en función de la línea de tomate (media de las réplicas de campo), de las condiciones de cultivo y de la parcela.

Tabla 21. Resultados medios del contenido en licopeno y beta-caroteno (mg/kg) según las líneas de tomate, en los dos cultivos y dos parcelas estudiados.

Licopeno					
Barbastro (túnel)			Barbastro (aire libre)		
	mg /kg	s		mg /kg	s
media línea 1	32,69	14,62	media línea 1	56,66	18,51
media línea 7	35,04	14,33	media línea 7	29,03	12,42
media línea 8	54,05	18,96	media línea 8	47,60	27,89
media línea 11	52,47	17,36	media línea 11	36,44	28,42
media Caramba	35,34	10,24			
Montañana (túnel)			Montañana (aire libre)		
	mg/kg	s		mg/kg	s
media línea 1	43,00	2,06	media línea 1	60,80	0,45
media línea 7	37,12	2,36	media línea 7	55,79	3,83
media línea 8	64,95	5,24	media línea 8	54,35	5,66
media línea 11	37,37	12,69	media línea 11	58,96	5,75
media Caramba	21,91	0,27			

Beta-caroteno					
Barbastro (túnel)			Barbastro (aire libre)		
	mg /kg	s		mg /kg	s
media línea 1	3,40	0,59	media línea 1	6,41	1,36
media línea 7	2,12	0,21	media línea 7	3,91	0,58
media línea 8	2,82	0,62	media línea 8	4,44	0,30
media línea 11	2,94	0,52	media línea 11	4,37	0,72
media Caramba	4,09	1,01			
Montañana (túnel)			Montañana (aire libre)		
	mg/kg	s		mg/kg	s
media línea 1	2,04	0,17	media línea 1	4,57	0,34
media línea 7	1,37	0,22	media línea 7	3,91	0,60
media línea 8	2,80	0,09	media línea 8	2,85	1,12
media línea 11	1,37	0,21	media línea 11	2,77	0,11
media Caramba	2,24	0,08			

En las Figuras 76 y 77 se muestran los resultados del contenido en licopeno y beta-caroteno en las cuatro líneas de tomate estudiadas, para la comparación de los resultados obtenidos según la parcela de cultivo y las dos condiciones de cultivo (aire libre y túnel de plástico).

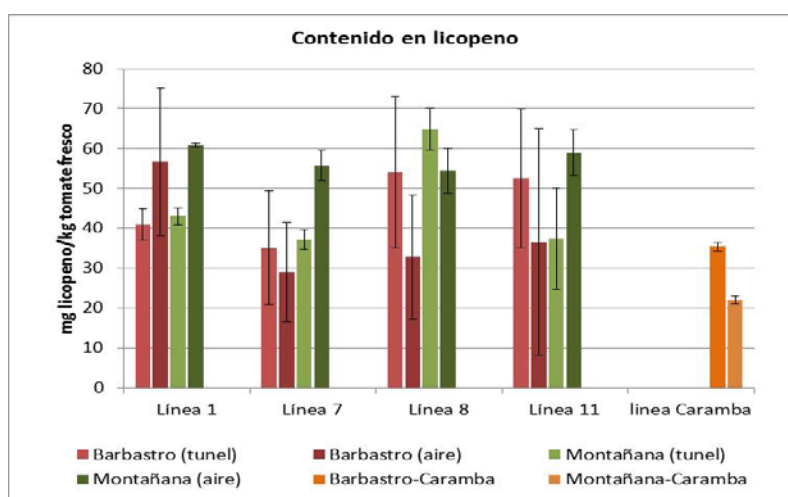


Figura 76. Contenido en licopeno según línea de cultivo, ambiente y parcela.

Cuando se comparan los resultados obtenidos de licopeno, se observa un comportamiento bastante distinto al observado hasta ahora, sobre todo al comparar el cultivo al aire libre y en túnel de plástico. Se puede ver que en la **parcela de Barbastro** el **contenido en licopeno es mayor cuando se cultiva en túnel de plástico que al aire libre**, en todas las líneas (7, 8 y 11), **salvo en la línea 1**. Mientras que en la **parcela de**

Montañana sucede lo contrario, es **mayor el contenido en licopeno al aire libre** para las líneas 1, 7 y 11; y ligeramente menor en la línea 8.

Los tomates Caramba, en contra de lo esperado, a pesar de tener coloración más roja, presentan unos valores medios de licopeno ligeramente menores que los del tomate rosa de Barbastro, sobre todo en la parcela de Montañana.

La alta intensidad de luz favorece el contenido en carotenoides en general, y en especial el del licopeno (*Dumas et al., 2002*). Existen estudios que evidencian el papel positivo de la luz solar y de ciertas longitudes de onda sobre la síntesis de este componente. La luz ultravioleta comprendida entre 200 y 283 nm, así como la luz infrarroja de 610–750 nm pueden actuar como reguladores de la síntesis y acumulación de carotenoides en los frutos, especialmente del licopeno durante el almacenamiento (*Liu et al., 2009; Maharaj et al., 2010*). La síntesis de licopeno se inicia con temperaturas superiores a 16 °C, es óptima a los 22-25 °C y se inhibe a partir de los 30 °C (*Leoni, 1999*).

Del mismo modo, *Zapata et al., 2007*; sugieren que la síntesis de licopeno está severamente inhibida por la exposición a la radiación solar intensa, por lo que cabe esperar que los tomates cultivados en campo puedan tener concentraciones menores de este licopeno (según el clima de cultivo). Todo ello, puede explicar el comportamiento observado en el contenido en licopeno de las muestras de tomate rosa de Barbastro analizadas. No es la misma radiación solar la que reciben los tomates en la parcela de Barbastro que en la parcela de Montañana, ni las mismas temperaturas.

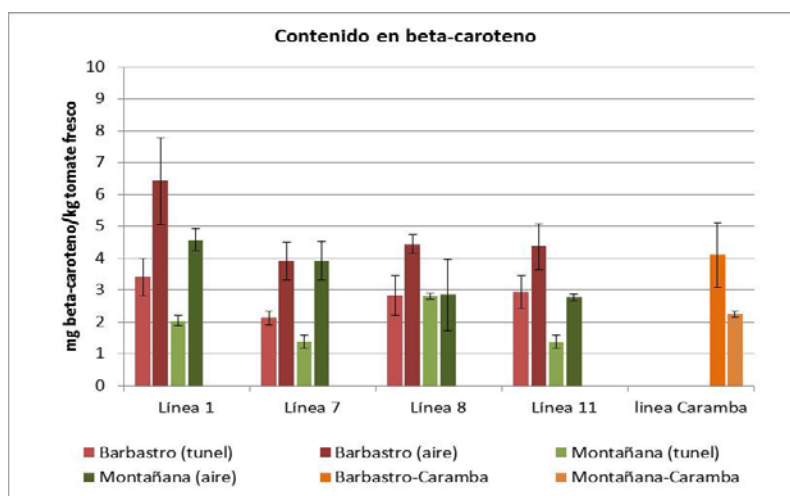


Figura 77. Contenido en beta-caroteno según línea de cultivo, ambiente y parcela.

Comparando los resultados que se muestran en la grafica anterior (Fig. 77), se puede decir que **las cuatro líneas de cultivo** contienen **mayor cantidad de beta-caroteno cuando se cultivan al aire libre**, independientemente de la parcela (Barbastro o Montañana). Las líneas 1 y 7 son las que presentan la mayor diferencia de ser cultivada al aire libre a hacerlo en túnel de plástico. Al igual que en el caso de los polifenoles, la línea 11 sigue mostrando la menor diferencia en el contenido en beta-caroteno al comparar cultivo al aire libre y en invernadero.

Por otro lado, los frutos que crecen bajo ambientes de cristal o túnel de plástico acumulan menos beta-caroteno que aquellos cultivados al aire libre (*Adalid et al., 2011*). En nuestro caso, efectivamente las muestras de tomate cultivadas al aire libre acumulan una mayor cantidad de beta-caroteno que las cultivadas en túnel de plástico, y sucede en las dos parcelas de cultivo.

3.4. Estudio del valor nutritivo y funcional del tomate rosa de Barbastro

3.4.1.- Análisis y comparación de los datos de composición química en antioxidantes para las diferentes muestras

Analizando todos los datos anteriormente expuestos de forma conjunta sin diferenciar entre líneas, se observa que la aplicación de las distintas condiciones de cultivo (parcela de Barbastro o de Montañana), afecta a la capacidad antioxidante de los tomates, en proporciones variables en función del componente analizado. Así, el tomate rosa de Barbastro cultivado en la parcela de Barbastro presenta una mayor actividad antioxidante que el cultivado en Montañana, con reducciones del 11,6%; 21,7%; 7,9% y 3,2% para los compuestos estudiados (fenoles totales, ácidos fenólicos, licopeno y beta-caroteno). Dentro del tomate proveniente de la parcela de Barbastro, los tomates cultivados al aire libre, presentan un mayor valor nutritivo que los cultivados en túnel de plástico, con una reducción en el contenido de fenoles totales, ácidos fenólicos, licopeno y beta-caroteno de 14,6%; 28,13%; 23,5% y 3,1%, respectivamente. Esta tendencia no se observa en el tomate cultivado en Montañana, ya que acumula menor concentración de antioxidantes cuando es cultivado al aire

libre, con reducciones en el contenido de fenoles totales, ácidos fenólicos, licopeno y beta-caroteno del 37,3%; 10,1%; 38,7% y 44,6%.

Estos resultados ponen de manifiesto que se hace necesario controlar las condiciones medioambientales en las que se cultiva la planta con el fin de optimizar el contenido de antioxidantes y maximizar el valor nutricional y funcional del tomate rosa de Barbastro. Las condiciones climáticas son factores pre-cosecha que deberían considerarse en la optimización del valor funcional de este tipo de tomate.

3.4.2.- Determinación de la ingesta probable de cada antioxidante objeto de estudio con el consumo medio diario de tomate

Tal y como se ha explicado en el apartado 2.6, para conocer la capacidad del tomate en cubrir las recomendaciones de ingesta de estos componentes para la población, se ha procedido a comparar la ingesta probable de cada componente atribuida al tomate, con las recomendaciones establecidas para ellos.

Para el caso de los compuestos bioactivos encontrados en el tomate, únicamente existe una **ingesta diaria recomendada** para aquellas sustancias con actividad provitamina A (en el caso de este proyecto, el **beta-caroteno**), ya que son necesarias para el correcto funcionamiento del organismo. El licopeno, al igual que los compuestos fenólicos, no son considerados nutrientes esenciales, por lo que no se ha establecido una ingesta diaria recomendada, no obstante, son varios los grupos de investigación que han estudiado el efecto beneficioso de estas sustancias publicando recomendaciones de ingesta.

En cuanto a la ingesta diaria recomendada para el beta-caroteno, la *Food and Nutrition Board* (FNB), recomendó en el año 2000 una ingesta dietética de 3-6 mg/día de beta-caroteno (*FNB, 2000*), dosis asociada a un menor riesgo de contraer enfermedades crónicas por su actividad provitamina A.

Si se tiene en cuenta el aporte medio del tomate rosa de Barbastro con mayor valor nutritivo, de procedencia parcela de Barbastro y cultivado al aire libre (3,86 mg/kg), y que según la pirámide española de dieta saludable publicada por la Sociedad Española de Nutrición Comunitaria (SENC), una ración recomendada de verdura son 200 g (*SENC, 2004*), se puede afirmar que consumiendo una ración al día

de tomate **se cubrirían del 13 al 26%** de este intervalo de necesidades establecidas para el beta-caroteno.

En cuanto al licopeno, aunque no existe un consenso claro sobre la ingesta necesaria para reducir el riesgo de enfermedades, se han demostrado beneficios importantes para la salud con un consumo diario de aproximadamente 5-7 mg/día (Rao & Shen, 2002). Considerando el mejor de los casos y el valor medio obtenido para el licopeno en el tomate rosa de Barbastro cultivado al aire libre (62,23 mg/kg), una ración de 200 g de tomate cubriría **más del 200% de la recomendación**, lo que convierte al tomate rosa en un alimento con una gran riqueza nutricional en licopeno. Estos datos significan que, consumiendo únicamente 100 g de tomate rosa de Barbastro, se pueden alcanzar estas cantidades.

3.4.3.- Recopilación de información sobre la biodisponibilidad de los polifenoles y otros compuestos antioxidantes que pueden encontrarse en los tomates

Los datos anteriores muestran que un consumo regular de 100 a 200 g de tomate rosa de Barbastro cultivado en las mejores condiciones agronómicas (parcela de Barbastro y al aire libre), puede cubrir las ingestas recomendadas de alguno de los compuestos funcionales analizados, si el aprovechamiento del componente es máximo. En este sentido, se hace necesario valorar los factores post-cosecha que pueden maximizar la proporción de componente que se absorbe y se metaboliza, analizando la biodisponibilidad de los mismos.

a. Licopeno y otros carotenoides

La biodisponibilidad de los carotenoides es altamente variable y está influenciada por la estructura molecular que está presente en el alimento, por la composición y la liberación de la molécula del alimento, por la cantidad consumida y la absorción en el tracto intestinal y por el transporte junto con la fracción lipoprotéica (Kopsell & Kopsell, 2012).

En cuanto a la estructura molecular, se conoce que el licopeno presente en los tomates crudos maduros se encuentra, generalmente, como isómero *trans*, que es menos absorbible que el isómero *cis* (Richelle et al., 2002; García-Valverde et al., 2013) lo que puede repercutir en su valor funcional. Este fenómeno es debido a que la

configuración *cis* disminuye el espacio ocupado por la molécula, en comparación con el isómero lineal *trans*, lo que evita la agregación y formación de cristales, facilitando así su biodisponibilidad. Asimismo, la configuración *cis* se une más fácilmente a los transportadores de membrana responsables de la absorción de los carotenoides en las células epiteliales intestinales (*During et al., 2005*). Por todo ello, para **maximizar el valor nutricional y funcional de los tomates**, se deberían provocar cambios en la conformación de las moléculas, por ejemplo el cocinado es un factor relevante en la biodisponibilidad del licopeno ya que favorece los procesos de isomerización del licopeno dando lugar a las formas *cis* (*Burri et al., 2009*). Además, mejora la biodisponibilidad porque libera el componente de la matriz alimentaria facilitando la disociación de los complejos carotenoide-proteína y dispersando los agregados cristalinos (*Perdomo et al., 2012*). Un efecto similar se observa con el triturado del tomate (*Van het Hof et al., 2000*).

Por su carácter liposoluble, la absorción del licopeno mejora en presencia de grasas (*Ahuja et al., 2006; Fernández-García et al., 2012*) ya que se combina con ellas facilitando la disolución. En este sentido, el licopeno del tomate se absorbe más eficientemente cuando el fruto se ingiere en combinación con una grasa absorbible.

A partir de todo lo anteriormente expuesto, se puede afirmar que la biodisponibilidad de los carotenoides depende del procesado del producto. La asociación con ácidos grasos así como el tratamiento térmico del tomate o el triturado pueden aumentar su biodisponibilidad, mejorando el valor funcional del mismo.

b. Polifenoles

Los efectos beneficiosos derivados del consumo de compuestos fenólicos dependen de la cantidad consumida y de su biodisponibilidad, afectada por la gran variedad estructural de los compuestos fenólicos que existen. Se conoce que los más abundantes en nuestra dieta no son los que presentan la mejor biodisponibilidad. Los principales factores, directos o indirectos, que afectan a la biodisponibilidad de los compuestos fenólicos de la dieta en humanos son (*D'Archivio et al., 2010*):

- Factores relacionados con el procesado de alimentos: tratamientos térmicos, homogenización, liofilización, cocinado y métodos de preparación culinaria.

- Factores relacionados con el alimento: matriz alimentaria, presencia de compuestos que faciliten o retrasen la absorción (grasas o fibra), e interacción con otros componentes, como son las uniones a proteínas (albúmina) o con compuestos fenólicos con similares mecanismos de absorción.
- Factores relacionados con los compuestos fenólicos: estructura química y concentración en el alimento.
- Factores propios del individuo: factores intestinales (actividad enzimática, tiempo de tránsito intestinal o microflora colónica) y factores sistémicos (sexo y edad, desórdenes y/o patologías, genética o condición fisiológica).

En general, los métodos de preparación culinarios tienen un efecto notable en el contenido de polifenoles (*Ferracane et al., 2008; Xu et al., 2009*), afectando a su biodisponibilidad. Aunque se recomienda el consumo de tomate crudo, la evidencia científica está demostrando que la biodisponibilidad de muchos compuestos protectores se potencia cuando se cocinan. Un aumento significativo en los niveles plasmáticos de naringenina y ácido clorogénico fue encontrado después de la ingesta de tomates cocidos en comparación con el producto fresco (*Bugianesi et al., 2004*). A pesar de que los tratamientos térmicos en los vegetales aumentan la degradación y la oxidación de los polifenoles, también rompen las uniones de las matrices alimentarias facilitando su digestión.

Los procesos tecnológicos, tales como el triturado del tomate, también pueden aumentar la biodisponibilidad de los polifenoles por la alteración de la matriz del alimento, como se ha demostrado para el licopeno y beta-caroteno, dos de los carotenoides más importantes (*D'Archivio et al., 2010*). Además, el pelado del tomate, también se desaconseja porque se puede eliminar una porción significativa de polifenoles, dado que estas sustancias están presentes en mayores concentraciones en las partes exteriores del fruto.

Por último, y al igual que para los carotenoides, la adición de grasa en la dieta puede afectar positivamente sobre la biodisponibilidad de los flavonoides del tomate, ya que aumenta la absorción de los mismos (*Lesser et al., 2004*). A pesar de que puede haber una interacción fisiológica entre los flavonoides y las grasas que ralentice el tiempo de tránsito intestinal, esto únicamente retrasa, pero no disminuye la absorción

(*Rao et al., 1996*). Así, se ha demostrado que algunos compuestos fenólicos como el hidroxitirosol y el tirosol aumentan su biodisponibilidad cuando se administran como una solución en aceite de oliva en comparación con una solución acuosa (*Tuck et al., 2001*).

A partir de todo lo anteriormente expuesto, y al igual que para los carotenoides, se puede afirmar que la biodisponibilidad de los compuestos fenólicos depende del procesado del producto. La asociación con ácidos grasos así como el tratamiento térmico del tomate o el triturado junto a la piel pueden mejorar el valor funcional del mismo.

Conclusiones

4. Conclusiones

Las conclusiones obtenidas en este proyecto han sido:

1. Se ha llevado a cabo la caracterización del tomate rosa de Barbastro mediante la determinación del contenido en ácidos fenólicos (clorogénico, caféico, ferúlico y *p*-cumárico), fenoles totales y los carotenoides mayoritarios (licopeno y beta-caroteno). En concreto, de las muestras de tomate rosa de Barbastro de la campaña 2013, cultivadas al aire libre y túnel de plástico en las parcelas experimentales del CITA ubicadas en Barbastro y Montañana.

2. Tras una puesta a punto y optimización, el contenido de los cuatro ácidos fenólicos seleccionados (clorogénico, caféico, ferúlico y *p*-cumárico), en muestras de tomate, puede ser determinado mediante una extracción secuencial con MeOH al 70% en dos etapas, de las muestras de tomate trituradas y previamente centrifugadas para eliminar la fracción acuosa, para posteriormente ser analizado el extracto mediante cromatografía líquida HPLC con detector diode array UV/Vis.

3. Se han analizado las treinta muestras de tomate rosa de Barbastro tomadas en la campaña 2013, así como las cuatro muestras de tomate control variedad Caramba, determinando el contenido en ácidos fenólicos, fenoles totales, licopeno y beta-caroteno.

4. El contenido en ácido clorogénico, ácido ferúlico y ácido *p*-cumárico determinado, en las muestras de tomate rosa de Barbastro, se encuentran dentro de los rangos obtenidos para las otras variedades de tomate estudiadas. En el caso del ácido caféico, los valores encontrados en esta variedad son mayores que los cuantificados en otras variedades de tomate estudiadas, sobre todo cuando se cultiva al aire libre.

5. Los resultados obtenidos en el análisis de los ácidos fenólicos y los fenoles totales muestran que en todos los casos, parcela de Barbastro y de Montañana, así como en las cuatro líneas de tomate estudiadas, el contenido de los mismos es mayor cuando son cultivados al aire libre que cuando se cultivan en túnel de plástico. Este comportamiento tiene su justificación en el hecho de que los polifenoles están dentro del grupo de sustancias denominadas bioactivas, que las plantas sintetizan para usarlas

como defensa frente al medio en el que crecen, por lo que es lógico que la cantidad de polifenoles en las plantas cultivadas al aire libre presenten mayor cantidad que las cultivadas en túnel de plástico.

6. En la parcela de Barbastro, el contenido en licopeno es mayor en tres de las cuatro muestras de tomate cultivadas en túnel de plástico frente a las cultivadas al aire libre. Mientras que en la parcela de Montañana, el contenido de licopeno es mayor en las muestras cultivadas al aire libre. El contenido en licopeno en el tomate está muy influenciada por la temperatura y la radiación solar que reciben los tomates, el comportamiento observado puede explicarse dado que no es la misma radiación solar la que reciben los tomates en la parcela de Barbastro que en la parcela de Montañana, ni las mismas temperaturas.

7. Las muestras de tomate rosa de Barbastro cultivadas al aire libre acumulan una mayor cantidad de beta-caroteno que las cultivadas en túnel de plástico, y sucede en las dos parcelas de cultivo: Barbastro y Montañana en las cuatro líneas de tomate.

8. Los datos recogidos en este trabajo sobre la biodisponibilidad de los antioxidantes detectados en el tomate rosa de Barbastro, constituyen una importante aportación que permite controlar los factores post-cosecha (culinarios y tecnológicos) para maximizar el valor funcional de este fruto. Así, un consumo asociado a ácidos grasos, el tratamiento térmico o el triturado del tomate pueden mejorar la biodisponibilidad de los antioxidantes detectados aumentando su aprovechamiento.

Bibliografía

Bibliografía

Abushita AA, Hebshie A, Daood HG, Biacs PA. (1997). Determination of antioxidant vitamins in tomatoes. *Food Chemistry*, 207-212.

Abushita AA, Daood HG, Biacs, PA (2000). Change in carotenoids and antioxidant vitamins in tomato as a function of varietal and technological factors. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(6):2075-2081.

Adalid AM, Roselló S, Nuez F. (2010). Evaluation and selection of tomato accessions (*Solanum* section *Lycopersicum*) for content of lycopene, beta-carotene and ascorbic acid. *Journal of Food Composition and Analysis*, 23:613-618.

Adalid AM. (2011). *Mejora de la calidad nutritiva del tomate: Búsqueda de fuentes de variabilidad, estudio de la influencia del ambiente y determinación del control genético*. Tesis doctoral, para optar al título de Doctor Ingeniero Agrónomo por la Universitat Politècnica de València, España.

AEA. Anuario Estadístico Agrario 2012. www.aragon.es. Consultado el 15 octubre 2014.

Aragón digital. www.aragondigital.es. Consultado el 27 de octubre 2014.

Ahuja KDK, Pittaway JK, Ball MJ. (2006). Effects of olive oil and tomato lycopene combination on serum lycopene, lipid profile, and lipid oxidation. *Journal of Nutrition*, 22:259-265.

Azodanlou R, Darbellay C, Luisier JC, Villettaz JC, Amado R. (2003). Quality assessment of strawberries (*Fragaria* species). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(3):715-721.

Beecher GR. (1998). Nutrient content of tomatoes and tomato products. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 98-100.

Berger CN, Sodha SV, Shaw RK, Griffin PM, Pink D, Hand P, Frankel G. (2010). Fresh fruits and vegetables as vehicles for the transmission of human pathogens. *Environmental Microbiology*, 12: 2385–2397.

Beuchat LR. (2002). Ecological factors influencing survival and growth of human pathogens on raw fruits and vegetables. *Microbes and Infection*, 4:413-423.

Blandcard D. (2011). *Enfermedades del tomate*. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid. ISBN: 978- 84-8476-427-4.

Bravo-Lozar S. (2012). *Optimización del contenido y disponibilidad del licopeno y otros compuestos bioactivos en tomate y productos elaborados con tomate*. Tesis doctoral, para optar al título de Doctor en Veterinaria por la Universidad de Murcia, España.

Bugianesi R, Salucci M, Leonardi C, Ferracane R, Catasta G, Azzini E, Maiani G. (2004). Effect of domestic cooking on human bioavailability of naringenin, chlorogenic acid, lycopene and beta-carotene in cherry tomatoes. *European Journal of Nutrition*, 43:360-366.

Burri BJ, Chapman MH, Neidlinger TR, Seo JS, Ishida BK. (2009). Tangerine tomatoes increase total and tetra-cis-lycopene isomer concentrations more than red tomatoes in healthy adult humans. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 60:1-16.

Campos FM, Chaves JBP, de Azeredo RMC, Mata GMSC, Pinheiro-Santana HM. (2010). Adequate handling conditions to preserve vitamin C and carotenoids in tomatoes. *Journal of Food Quality*, 33:230–245.

Canarias Actual. <http://canariasactual.com>. Consultado el 4 de febrero 2015.

Candelas-Cadillo MG, Alanís-Guzmán MGJ, Bautista-Justo M, Del Río-Olague F, García-Díaz C. (2005). Lycopene content in spray-dried tomato juice. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, Vol. 4:299-307.

Carravedo Fantova M. (2006). *Variedades autóctonas de tomates de Aragón*. Ed. CITA. ISBN: 84-7753-436-5.

Casierra-Posada F, Aguilar-Avendaño OE. (2008). Quality of tomato fruits (*Solanum lycopersicum* L.) harvested at different maturity stages. *Agronomía Colombiana*, volumen 26, nº 2 Julio/Diciembre.

Chamarro J. (2003). Anatomía fisiología de la planta. *En: Nuez F, (2007) El cultivo del tomate*, pp 43-91. Ediciones Mundi Prensa, Madrid, España.

Chang Y, Raymundo L, Glass RW, Simpson KL. (1977). Effect of high temperature on CPTA-induced carotenoid biosynthesis in ripening tomato fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 25 (6):1249-1251.

Charanjit K, Suresh W, Shweta N, Shweta W, Jashbir S, Braj BS, Supradip S, Balraj S, Pritam K, Seema J, Sarika. (2013). Functional quality and antioxidant composition of selected tomato (*Solanum lycopersicon* L) cultivars grown in Northern India. *LWT-Food Science and Technology*, 50:139-145.

Conseil G, Baubichon-Cortay H, Dayan G, Jault JM, Barron D, Di Pietro A. (1998). Flavonoids: A class of modulators with bifunctional interactions at vicinal ATP- and steroid-binding sites on mouse p-glycoprotein. *Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America*, 95(17): 9831-9836.

Cucu T, Huvaere K, Van Den Bergh MA, Vinkx C, Van Loco J. (2012). A simple and fast HPLC method to determine lycopene in foods. *Food Analytical Methods*, 5:1221-1228.

D'Archivio M, Filesi C, Vari R, Sczzocchio B, Masella R. (2010). Bioavailability of the polyphenols: status and controversies. *International Journal of Molecular Sciences*, 11(4):1321-1342.

Díez-Niclós J. (1995). Tipos varietales. En: Nuez, F. *El cultivo del tomate*. Madrid: Mundi Prensa. pp 93-129.

Dorais M, Ehret DL, Papadopoulos AP. (2008). Tomato (*Solanum Lycopersicum*) health components: from the seed to the consumer. *Phytochemistry Reviews*, 7:231-250.

Dumas Y, Dadomo M, Di Lucca G, Grolier P. (2002). Review of the influence of major environmental and agronomic factors on the lycopene content of tomato fruit. *Acta Horticulturae*, 579:595-601.

Dumas Y, Dadomo M, Lucca GD, Grolier P. (2003). Effects of environmental factors and agricultural techniques on antioxidant content of tomatoes. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 83:369-382.

During A, Harrison EH. (2005). An in vitro model to study the intestinal absorption of carotenoids. *Food Research International*, 38:1001-1008.

ETSIA, Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos. Universidad Politécnica de Madrid. <http://www1.etsia.upm.es>. Consultado 1 de noviembre del 2014.

Esquinas-Alcázar J, Nuez F. (1995). Situación taxonómica, domesticación y difusión del tomate. Capítulo 1, pp 793. En: Nuez F. (2007). *El cultivo del tomate*. Ediciones Mundi-Prensa. Bilbao. ISBN: 84-7114-549-9.

EUROSTAT. (2014) Statistical Office of the European Communities. <http://epp.eurostat.ec.europa.eu/portal/page/portal/agriculture/introduction>. Consultado el 19 de septiembre de 2014.

FAOSTAT. The Statistics Division of FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación). <http://faostat.fao.org> Consultado el 29 de Agosto 2014.

Favati F, Lovelli S, Galgano F, Miccolis V, Di Tommaso T, Candido V. (2009). Processing tomato quality as affected by irrigation scheduling. *Scientia Horticulturae*, 122:562-571.

Fernández-García E, Carvajal-Lerida I, Jaren-Galan M, Garrido-Fernandez J, Perez-Galvez A, Hornero-Mendez D. (2012). Carotenoids bioavailability from foods: From plant pigments to efficient biological activities. *Food Research International*, 46(2):438-450.

Ferracane R, Pellegrini N, Visconti A, Graziani G, Chiavaro E, Miglio C, Fogliano V. (2008). Effects of different cooking methods on antioxidant profile, antioxidant capacity, and physical characteristics of artichoke. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56:8601-8608.

Food and Nutrition Board (FNB). (2000). *Dietary Reference Intakes for Vitamin C, Vitamin E, Selenium, and Carotenoids*. Institute of Medicine. National Academy. Washington, D.C.

Foolad MR. (2007). Genome mapping and molecular breeding of tomato. *International Journal of Plant Genomics*, 2007:1-57.

Fundación Española de Nutrición www.fen.org.es. Consultado el 3 de septiembre 2014.

Fundora-Herrera O, Yepis-Vargas O, Pereira-Marín C. (2000). Contaminación ambiental por el uso excesivo de fertilizantes nitrogenados en el cultivo del tomate. *Scientia Gerundensis*, 24. 5-12.

García-Closas R, Berenguer A, Tormo MJ, Sánchez MJ, Quirós JR, Navarro C, Arnaud R, Dorronsoro M, Chirlaque MD, Barricarte A, Ardanaz E, Amiano P, Aller A, Agudo A, González CA. (2004). Dietary sources of vitamin C, vitamin E and specific carotenoids in Spain. *British Journal of Nutrition*, 91:1005-1011.

García-Valverde V, Navarro-González I, García-Alonso J, Periago-Castón MJ. (2013). Antioxidant bioactive compounds in selected industrial processing and fresh consumption tomato cultivars. *Food Bioprocess Technology*, 6:391-402.

Gil A. (2010). *Tratado de Nutrición: Composición y Calidad Nutritiva de los Alimentos, Volumen 2.* Ed. Médica Panamericana, ISBN-10: 8498353475.

Giovannoni, J.J. (2007). Fruit ripening mutants yield insights into ripening control. *Current Opinion in Plant Biology*, 3:283-289.

Giovannucci E. (1999). Tomatoes, tomato-based products, lycopene, and cancer: review of the epidemiologic literature. *Journal of the National Cancer Institute*, 91(4):317-31.

Grolier P, Bartholin G, Broers L, Caris-Veyrat C, Dadomo M, Di Lucca G, Schuch W. (2001). Composition of tomatoes and tomato products in antioxidants. *The White Book on Antioxidants in Tomatoes and Tomato Products and Their Health Benefits*, 1-100.

Gülçin Ý, Oktay M, Kierççi E, Küfreviölu ÖÝ. (2003). Screening of antioxidant and antimicrobial activities of anise (*Pimpinella anisum* L.) seed extracts. *Food Chemistry*, 83: 371-382.

Haghi G, Hatamij A. (2010). Simultaneous quantification of flavonoids and phenolic acids in plant materials by a newly developed isocratic high-performance liquid chromatography approach. *Agricultural and Food Chemistry*, 58:10812-10816.

Hallmann E, Lipowski J, Marszalek K, Rembialkowska E. (2013). The seasonal variation in bioactive compounds content in juice from organic and non-organic tomatoes. *Plant Foods for Human Nutrition*, 68:171-176.

Harris LJ, Farber JM, Beuchat LR, Parish ME, Suslow TV, Garrett EH, Busta FF. (2003). Outbreaks associated with fresh produce: incidence, growth, and survival of pathogens in fresh and fresh-cut produce. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2:78-141.

Heraldo de Aragón. Noticia “El tomate rosa de Barbastro adquiere una marca nacional concedida por el Ministerio de Industria” (21/10/2014). Consultado el 24 de octubre de 2014. www.heraldodearagon.com.

http://tecrenat.fcien.edu.uy/Cursos/reconcimiento_de_flora/Insumos_para_estudiantes_curso_2010/GLOSARIO_DE_TERMINOS_BOTANICOS_FacAgronom%C3%ADaUNLAPa.pdf. Consultado el 4 de octubre 2014.

<http://www.arbolesornamentales.es/glosario.htm>. Consultado 4 octubre 2014.

<http://www.elsabordelahuerta.es>. Consultado el 18 de octubre de 2014.

<http://www.sitiosespana.com/diccionarios/botanica/t.htm>. Consultado el 4 de octubre de 2014.

Jack DB. (1995). Keep taking the tomatoes the exciting world of nutraceuticals. *Molecular Medicine Today*, 1:118-121.

Jacob K, García-Alonso FJ, Ros G, Periago MJ. (2010). Stability of carotenoids, phenolic compounds, ascorbic acid and antioxidant capacity of tomatoes during thermal processing. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 60(2):192-198.

Jurado L. (2012). *Estudio del grado de madurez y/o conservación de tomates empleando técnicas espectroscópicas moleculares*. Trabajo Fin de Máster. Máster en Ciencia Analíticas y Bioanalíticas, Universidad de Oviedo, España.

Kaur C, Walia S, Nagal S, Walia S, Singh J, Singh BB, Saha S, Singh B, Kalia P, Jaggi S. (2013). Functional quality and antioxidant composition of selected tomato (*Solanum lycopersicon* L) cultivars grown in Northern India. *Food Science and Technology*, 50:139-145.

Kopsell DA, Kopsell DE. (2012). Accumulation and bioavailability of dietary carotenoids in vegetable crop. *Trends in Plant Science*, 11(10):499-507.

Krzysztof N Waliszewski, Blasco G. (2010). Nutraceutical properties of lycopene. *Salud Pública de México*, 52(3):254-265.

Leoni C. (1992). Industrial quality as influenced by crop management. *Acta Horticulturae*, 301:177-184.

Lesser S, Cermak R, Wolfram S. (2004). Bioavailability of quercetin in pigs is influenced by the dietary fat content. *Journal of Nutrition*, 134(6):1508-1511.

Li H, Deng Z, Liu R, Young JC, Zhu H, Loewen S, Tsao R. (2011). Characterization of phytochemicals and antioxidant activities of a purple tomato (*Solanum lycopersicum* L.) *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59:11803-11811.

Liu LH, Zabarar D, Bennett LE, Aguas P, Woonton BW. (2009). Effects of UV-C, red light and sun light on the carotenoid content and physical qualities of tomatoes during postharvest storage. *Food Chemistry*, 115:495-500.

Luna-Guevara ML, Delgado-Alvarado A. (2014). Importancia, contribución y estabilidad de antioxidantes en frutos y productos de tomate. *Revista Avances en la investigación Agropecuaria*, 18(1):51-66.

MAGRAMA. Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medioambiente. <http://www.magrama.gob.es>. Consultado el 30 de Agosto del 2014.

Mahajan G, Singh KG. (2006). Response of greenhouse tomato to irrigation and fertigation. *Agricultural Water Manage*, 84:202-206.

Maharaj R, Arul J, Nadeau P. (1999). Effect of photochemical treatment in the preservation of fresh tomato (*Lycopersicon esculentum* cv. Capello) by delaying senescence. *Postharvest Biology and Technology*, 15:13-23.

Martínez-Flórez S, González-Gallego J, Culebras JM, Tuñón MJ. (2002). Revisión. Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. *Nutrición Hospitalaria*, 17:271-278.

Martínez-Valverde I, Periago MJ, Provan G, Chesson A. (2002). Phenolic compounds, lycopene and antioxidant activity in commercial varieties of tomato. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 82:323-330.

Monsalve J, Machado M. (2007). Evaluación de dos métodos de deshidratación del tomate (*Lycopersicum esculentum* mil) variedad manzano. *Multiciencias*, Vol. 7(3):256-265.

Morillas-Ruiz JM, Delgado-Alarcón JM. (2012). Análisis nutricional de alimentos vegetales con diferentes orígenes: Evaluación de capacidad antioxidante y compuestos fenólicos totales. *Nutrición Clínica y Dietética Hospitalaria*, 32(2):8-20.

Muñoz-Jáuregui AM, Ramos-Escudero F, Alvarado-Ortiz Ureta C, Castañeda-Castañeda B. (2007). Evaluation of the antioxidant capacity and content of phenolics compounds of vegetable promissory resources. *Revista de la Sociedad Química de Perú*, 73(3):142-149.

Navarro-González I, García-Valverde V, García-Alonso J, Periago MJ. (2011). Chemical profile, functional and antioxidant properties of tomato peel fiber. *Food Research International*, 44(5):1528–1535.

Ordóñez AL, Balanza ME, Martín FR, Flores CA. (2009). Estabilidad del carotenoide licopeno en tomates en conserva. *Información Tecnológica*, 20(4):31-37.

Ordoñez-Santos LE, (2006). Estudio comparativo de las características físico-químicas, nutricionales y microscópicas de tomate procedente de cultivo ecológico y convencional, en fresco y tras la obtención de triturados y de diferentes derivados comerciales de tomate. Tesis doctoral, Universidad de Santiago de Compostela, España. <http://hdl.handle.net/10347/9673>.

Orozco L, Rico RE, Fernández EE. (2008). Microbiological profile of greenhouses in a farm producing hydroponic tomatoes. *Journal of Food Protection*, 1:60-65.

Palomo I, Fuentes E, Carrasco G, González D, Moore-Carraco R. (2010). Antioxidant, lipid-lowering and antiplatelet activity of tomato (*Solanum lycopersicum* L.) and the effect of its processing and storage. *Revista Chilena de Nutrición*, 37(14):524-533.

Pascual-Villalobos MJ. (1996). *Plaguicidas naturales de origen vegetal*. INIA, Madrid.

Pellerino M. (2013). Antioxidantes no nutricionales: polifenoles e isoflavonas. <http://suite101.net/article/antioxidantes-no-nutricionales-polifenoles-e-isoflavonas-a72818#.VFZmFfmG-W0>.

Perdomo F, Cabrera-Fránquiz F, Cabrera J, Serra-Majem L. (2012). Influencia del procedimiento culinario sobre la biodisponibilidad del licopeno en el tomate. *Nutrición Hospitalaria*, 27(5):1542-1546.

Periago-Castón MJ, Martínez-Valverde I, Ros Gaspar, Martínez C, López G. (2001). Propiedades químicas, biológicas y valor nutritivo del licopeno. *Anales de Veterinaria de Murcia*, 17:51-66.

Periago-Castón MJ, García-Alonso J, Jacob K, Jorge-Vidal V, García-Valverde V, Ros-Berruero G. (2008). Licopeno y otros antioxidantes del tomate. Papel en la prevención de enfermedades cardiovasculares. *Revista de Ciencia y Tecnología de la UACJ*, Vol. VI: 65-74.

Raffo A, La Malfa G, Fogliano V, Maiani G, Quaglia G. (2006). Seasonal variations in antioxidant components of cherry tomatoes (*Lycopersicum esculentum* cv. Naomi F1). *Journal of Food Composition and Analysis*, 19:1-19.

Rao SS, Lu C, Schulze-Delrieu K. (1996). Duodenum as a immediate brake to gastric outflow: A videofluoroscopic and manometric assessment. *Gastroenterology*, 110:740-747.

Rao AV, Shen HL. (2002). Effect of low dose lycopene intake on lycopene bioavailability and oxidative stress. *Nutrition Research*, 22:1125-1331.

Reglamento (CE) No 1221/2008 de 5 de diciembre de 2008 que modifica, en lo que atañe a las normas de comercialización, el Reglamento (CE) No 1580/2007 por el que se establecen disposiciones de aplicación de los Reglamentos (CE) No 2200/96, (CE) No 2201/96 y (CE) No 1182/2007 del Consejo en el sector de las frutas y hortalizas.

Ribas-Agustí A, Cáceres R, Gratacós-Curbasí M, Sárraga C, Castellari M. (2012). A validated HPLC-DAD method for routine determination of ten phenolic compounds in tomato fruits. *Food Analytical Methods*, 5:1137-1144.

Richelle M, Bortlik K, Liardet S, Hager C, Lambelet P, Baur M, Applegate LA, Offord EA. (2002). A food-based formulation provides lycopene with the same bioavailability to humans as that from tomato paste. *Journal of Nutrition*, 132:404-408.

Rivera A, Gobbi A, Taboada A, Freijeiro D, Villar L, Ortega JA, Rodríguez JM, Riveiro M, Fernández JA, López MJ. (2010). Calidad organoléptica de cultivares de tomate. *Revista Horticultura*, nº 293:64-66.

Robertson GH, Mahoney NE, Goodman N, Pavlath AE. (1995). Regulation of lycopene formation in cell-suspension culture of VFNT tomato (*Lycopersicon-esculentum*) by CPTA, growth-regulators, sucrose, and temperature. *Journal of Experimental Botany*, 46(287):667-673.

Rodríguez-Rodríguez R. et al. *Cultivo moderno del tomate*. Ed. Mundi-Prensa. ISBN 84-7114-146-9.

Sánchez A, Flores-Cotera LB, Langley E, Martín R, Maldonado G, Sánchez S. (1999). Carotenoides: Estructura, Función, Biosíntesis, Regulación y aplicaciones. *Revista Latinoamericana de Microbiología*, 41:175-191.

Sánchez-Moreno C, Plaza L, de Ancos B, Cano MP. (2003). Vitamin C, provitamin A carotenoids, and other carotenoids in high-pressurized orange juice during refrigerated storage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51:647-653.

Sánchez-Moreno C, Plaza L, de Ancos B, Cano MP. (2006). Nutritional characterization of commercial traditional pasteurized tomato juices: carotenoids, vitamin C and radical-scavenging capacity. *Food Chemistry*, 98:749–756.

Santos-Buelga C, Tomás-Barberán F. (2001). Fitoquímicos de frutas y hortalizas. Sustancias fitoquímicas de frutas y hortalizas, su posible papel beneficioso para la salud. *eMagazine Horticultura* (23/05/2001).

Sociedad Española de Nutrición Comunitaria (SENC). (2004).

Sies H, Stahl W, Sundquist AR. (1992). Antioxidant functions of vitamins. Vitamins E and C, carotene, and other carotenoids. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 669:7-20.

Slimestad R, Fossen T, Verheul MJ. (2008). The flavonoids of tomatoes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56:2436-2441.

Srinivasan VS. (2001). Bioavailability of nutrients: a practical approach to in vitro demonstration of the availability of nutrients in multivitamin-mineral combination products. *Journal of Nutrition*, 131:1349S-1350S.

Sulbarán B, Sierra E, Ojeda de Rodríguez G, Berradre M, Fernández V, Peña J. (2001). Evaluación de la actividad antioxidante del tomate crudo y procesado. *Revista de la Facultad de Agronomía (Venezuela)*, 28: 273-291.

Tokuşoğlu Ö, Ünal MK, Yildirim Z. (2003). HPLC-UV and GC-MS characterization of the flavonol aglycones quercetin, kaempferol and myricetin in tomato pastes and other tomato-based products. *Acta Chromatographica*, 13:196-207.

Toor RK, Savage GP, Lister CE. (2006). Seasonal variations in the antioxidant composition of greenhouse grown tomatoes. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19: 1-10.

TRADEMAP. Trade statistics for international business development. www.trademap.org. Consultado el 27 de septiembre 2014.

Tuck KL, Freeman MP, Hayball PJ, Stretch GL, Stupans I. (2001). The in vivo fate of hydroxytyrosol and tyrosol, antioxidant phenolic constituents of olive oil, after intravenous and oral dosing of labelled compounds to rats. *Journal of Nutrition*, 131:1993-1996.

Valdés F. (2006). Vitamina C. *Actas Dermo-Sifiliográficas*, 97(9):557-619.

Vallejo F, Tomas-Barberan FA, Garcia-Viguera C. (2003). Effect of climatic and sulphur fertilisation conditions, on phenolic compounds and vitamin C, in the inflorescences of eight broccoli cultivars. *European Food Research and Technology*, 216(5):395-401.

Vallverdú-Queralt A, Jáuregui O, Di Lecce G, Andrés-Lacueva C. (2011). Screening of the polyphenol content of tomato-based products through accurate-mass spectrometry (HPLC-ESI-QTOF). *Food Chemistry*, 129:877-883.

Vallverdú-Queralt A, Jáuregui O, Medina-Remón A, Lamuela-Raventós RM. (2012). Evaluation of a method to characterize the phenolic profile of organic and conventional tomatoes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60:3373-3380.

Vallverdú-Queralt A, Rinaldi de Alvarenga JF, Estruch R, Lamuela-Raventós RM. (2013). Bioactive compounds present in the Mediterranean sofrito. *Food Chemistry*, 141:3365-3372.

Van het Hof KH, de Boer BC, Tijburg LB, Lucius BR, Zijp I, West CE, et al. (2000). Carotenoid bioavailability in humans from tomatoes processed in different ways determined from the carotenoid response in the triglyceride-rich lipoprotein fraction of plasma after a single consumption and plasma after four days of consumption and in plasma after four days of consumption. *Journal of Nutrition*, 130: 1189-1196.

www.es.all.biz. Consultado el 4 de febrero 2015.

www.infoagro.com. Consultado el 4 febrero 2015.

www.regmurcia.com. Consultado el 4 de febrero 2015.

www.salvanatura.es. Consultado el 27 de septiembre 2014.

Xu X, Li W, Lu Z, Beta T, Hydamaka AW. (2009). Phenolic content, composition, antioxidant activity, and their changes during domestic cooking of potatoes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57:10231-10238.

Zamora JD. (2007). Antioxidants: Micronutrients fighting for health. *Revista Chilena de Nutrición*, 34:3-7.

Zapata LM, Gerad L, Davies C, y Schvab MC. (2007). Study of antioxidants compounds and antioxidant activity in tomatoes. *Ciencia, Docencia y Tecnología*, nº 35:173-193.

Zavaleta J, Muñoz AM, Blanco T, Alvarado C, Loja B. (2005). Capacidad antioxidante y principales ácidos fenólicos y flavonoides de algunos alimentos. *Revista Horizonte Médico*, 2(5):29-38.