

Contenido de prolina en zumos comerciales y néctares de naranja como parámetro de genuinidad

Calderón Fernández Ricardo Adrián, Hernández Torres Mario Alberto, Rodríguez Arzave Juan Antonio

Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Ciencias Biológicas, Departamento de Química, Av. Pedro de Alba s/n, San Nicolás de los Garza, Nuevo León, C.P. 66450, México.

Autor para correspondencia: oiramalbert@gmail.com

Recibido:

21/julio/2019

Aceptado:

06/agosto/2019

Palabras clave:

Prolina, zumos, naranja

Keywords:

Proline, orange, juice

RESUMEN

Típicamente, la prolina es el aminoácido más abundante en el zumo de naranja, las cantidades presentes están influenciadas por factores agrícolas y genéticos. Durante la producción de jugo de naranja comercial, el contenido de prolina puede cambiar por dilución con otros jugos naturales u otras formas de adulteración. Por esta razón, el conocimiento del contenido de prolina puede ser un indicador útil para predecir la genuinidad de los jugos comercializados como 100% natural. Usando un método espectrofotométrico de ninhidrina ácida en dimetilsulfóxido, se determinó el contenido de prolina de jugos naturales y néctares comerciales de naranja. La concentración de prolina en los zumos de naranja comercial varió entre 0.262 g/L a 0.475 g/L. Los néctares comerciales de naranja mostraron los valores más bajos de contenido de prolina. Estas observaciones no fueron consistentes con la concentración de prolina determinada para el zumo de naranja Valencia hecho en el laboratorio. No es posible afirmar que los zumos comerciales y néctares de naranja analizados fueron adulterados durante su producción. Sin embargo, informar el contenido de prolina después de la fabricación de un zumo de naranja podría dar a los comerciantes y consumidores de jugo de naranja un indicador de calidad.

ABSTRACT

Typically, proline is the most abundant amino acid in an orange juice, the amounts present is influenced by agricultural and genetic factors. During commercial orange juice making, the proline content could change by dilution whit other naturals juices or others adulteration ways. For this reason, knowledge of the proline content can be an indicator helpful for predicting juice genuine. Using a spectrophotometric method of acidic ninhydrin in dimethyl sulfoxide, the proline content of commercial natural orange juice and nectar samples were determined. The proline concentration in commercial natural orange juice ranged from 0.262 g/L to 0.475 g/L. Orange nectar samples showed the lowest proline content values. These observations weren't consistent with the proline concentration by Valencia orange juice making in the laboratory. It is not possible to affirm that the commercial natural orange juice and nectar samples analyzed showed adulteration during their production. However, reporting the proline content after orange juice making could give to the comerciantes and orange juice consumer an additional indicator of quality.



Introducción

La naranja, es uno de los frutos más consumidos en México, junto al limón y la toronja constituye uno de los principales productos de exportación. Por su sabor agrídulce y aroma fresco cítrico frutal, la naranja, además de consumirse como fruta fresca, es utilizada en la cocina nacional e internacional en la preparación de platillos, ensaladas y postres. En la gastronomía se emplea tanto el zumo como la cáscara, mientras que, en la industria agroalimentaria es insumo para la producción de jugos frescos, néctares, concentrados, mermeladas, así como para la obtención de aceites esenciales y pectinas (SAGARPA, 2017).

En el año 2016, la naranja valencia fue el cultivo perenne con la mayor superficie sembrada en México con poco más de 335 mil hectáreas y una producción de 4.60 mil millones de toneladas, de los cuales solo el 0.4 % fue exportado. Veracruz es el principal productor del fruto cítrico, seguido por los estados de Tamaulipas, San Luis Potosí y Nuevo León. Actualmente se satisface el 100 % de los requerimientos nacionales con producción interna siendo el zumo de naranja el principal producto procesado por la industria agroalimentaria (Flores, 2017; SAGARPA, 2017).

Se conoce como zumo de naranja al líquido colectado de la parte comestible del fruto en buen estado, maduro y fresco, no diluido, no concentrado, no fermentado, y sometido a tratamiento adecuado que mantenga sus características físicas, químicas y organolépticas al envasarse; puede o no, contener pulpa y aditivos procedentes del mismo fruto, además debe estar exento de corteza, semillas y materia ajena (CODEX STAN 247-2005; NMX-F-118-1984).

El zumo de naranja es una bebida popular refrescante de agradables propiedades sensoriales; es fuente de diversos nutrimentos esenciales como ácido fólico, β -caroteno, flavonoides, vitamina C y aminoácidos; Además, posee un alto valor calórico. Se ha reportado que su ingesta trae consigo beneficios a la salud como son prevenir la obesidad, la litiasis renal, así como enfermedades relacionadas con la edad (Chiosa et al., 2005; Cerqueira et al., 2014 y Kim et al., 2017).

El mercado del zumo de naranja es uno de los más competitivos a nivel mundial. Sin embargo, su popularidad lo convierte en blanco de adulteración y fraude. En los jugos de frutas, la dilución con agua, jugos de frutas o la adición de jarabes dulces y colorantes constituyen el tipo de adulteración más común, mientras que, las formas más sofisticadas incluyen el aditamento de aminoácidos y de hidrolizados proteicos con el

objetivo de aumentar el contenido de nitrógeno (Twhig et al., 2011; Acevedo et al., 2018).

Existen distintos perfiles químicos para evaluar la adulteración de los jugos de frutas. Los análisis cuantitativos para determinar la autenticidad de los zumos de naranja incluyen la determinación de ácidos orgánicos, carbohidratos, flavonoides y aminoácidos mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), cromatografía gas-líquido y espectroscopia fluorescente (Ammari, 2015; Acevedo 2018). Algunos países de América del Sur emplean el índice de formol como parámetro de calidad para establecer la genuinidad del jugo, el análisis químico determina el contenido de nitrógeno amínico, sin embargo, no es una prueba específica debido a que cualquier grupo amino libre es causa de un resultado positivo (Bosso et al., 1996; Segurondo et al., 2013). Actualmente, en México los parámetros fisicoquímicos ampliamente utilizados para evaluar la calidad de los zumos de naranja son la acidez iónica y titulable, el % de sólidos disueltos y el índice de Madurez (NMX-F-118-1984). Dicho perfil fisicoquímico ofrece poca información para establecer, con certeza, la autenticidad del zumo; por lo que es necesario incluir un perfil bioquímico representativo del fruto, como es el contenido aminoacídico. Uno de los aminoácidos presentes en mayor proporción en la naranja es la prolina (Twhig et al., 2011; Acevedo et al., 2018). Por ello, esta investigación se propuso determinar la genuinidad de zumos comerciales y néctares de naranja expedidos en el área metropolitana de Monterrey N.L. midiendo el contenido de prolina.

Metodología

Muestras de Trabajo

Seis zumos comercializados como "jugo 100 % natural" y cinco néctares de naranja fueron adquiridos mediante un muestreo aleatorio en comercios localizados en la ciudad de Monterrey N.L. y su área metropolitana. Además, se extrajo el zumo de una muestra de 1kg de naranja variedad valencia. Todas las muestras fueron mantenidas bajo refrigeración a 4°C hasta el momento de su análisis.

Preparación de las muestras

Una alícuota de 20 mL de muestra fue colocada en un tubo cónico con capacidad de 50 mL y se llevó a centrifugación durante 15 minutos a 2500 RPM con la finalidad de precipitar los detritos de tejido frutal y/o espesantes contenidos. Las muestras fueron diluidas con agua bidestilada en proporción 1:50 para los zumos y 1:10 para los néctares con la finalidad de evitar

interferencias en la determinación del contenido de prolina.

Contenido de prolina

El contenido de prolina fue determinado espectrofotométricamente por el método Ninhidrina-DMSO en medio ácido propuesto por Rienth y colaboradores en el año 2014, empleando prolina como estándar. En un tubo de ensaye de 13 x 100 mm con tapón de rosca se añadieron 750 µL de jugo previamente centrifugado y diluido, enseguida se agregaron 750 µL de ácido fórmico concentrado. La mezcla en el tubo fue agitada en vortex durante un minuto y enseguida se añadieron 750 µL de una solución de Ninhidrina al 3 % p/v disuelta en Dimetilsulfóxido y se agitó nuevamente durante 2 minutos en vortex. El tubo se colocó en un baño de agua en ebullición durante 15 minutos. Al terminar el tiempo de reacción, el tubo fue retirado del baño de agua y se dejó enfriar a temperatura ambiente. Una vez frío el tubo, la solución se transfirió a una celda para espectrofotómetro con 1 cm de paso de luz y se midió la absorbancia en un espectrofotómetro Spectronic Genesys 5 empleando una longitud de onda de 520 nm. El contenido de prolina fue estimado por interpolación de los datos en una curva de regresión lineal ($Y = 0.0622x - 0.0066$, $R^2 = 0.9999$) establecida con soluciones de prolina en un rango de concentración de 2.5 a 15 mg/L. Cada muestra fue analizada por quintuplicado.

Perfil fisicoquímico

Además del contenido de prolina, a las muestras se les realizó un perfil fisicoquímico acorde a la legislación mexicana. Para el contenido de sólidos disueltos totales (°Brix), pH y acidez total se empleó el zumo/néctar directamente del envase. La determinación de los sólidos disueltos totales se realizó conforme a lo señalado en la Norma Mexicana NMX-F-103-1982, utilizando un Refractómetro tipo Abbe. El pH se determinó de acuerdo a la Norma Oficial Mexicana NMX-F-317-S-1978, con la ayuda de un potenciómetro Corning Modelo 430 con electrodo combinado. La acidez total se evaluó siguiendo lo señalado en la Norma Mexicana NMX-F-011-1982, los resultados fueron expresados como gramos de ácido cítrico/100 mL de muestra. Los análisis descritos se realizaron por quintuplicado.

Resultados y discusión

Contenido de prolina

Un total de seis zumos comercializados como 100 % natural de naranja, cinco néctares del mismo sabor y un zumo obtenido en el laboratorio a partir del fruto cítrico de la variedad valencia, fueron sometidos al procedimiento espectrofotométrico descrito por Rienth et al., 2014 con el fin de determinar el contenido de prolina y evaluar la genuinidad de estos. Los valores obtenidos se presentan en la tabla 1.

Tabla 1. Contenido de prolina y parámetros fisicoquímicos de zumos comerciales y néctares de naranja

Muestra	Prolina ± DS (g/L)*	Sólidos Disueltos (°Brix) ± DS	pH ± DS	Acidez Total ± DS (g de Ácido cítrico/100 mL)	Índice de Madurez
Zumo					
Comercial A	0.453 ± 0.008 ^d	11.48 ± 0.04	3.47 ± 0.02	0.97 ± 0.00	11.82
Comercial B	0.262 ± 0.004 ^a	8.30 ± 0.00	3.30 ± 0.03	0.97 ± 0.03	8.40
Comercial C	0.297 ± 0.004 ^b	8.36 ± 0.11	3.22 ± 0.03	0.65 ± 0.00	12.91
Comercial D	0.390 ± 0.002 ^c	12.50 ± 0.00	3.30 ± 0.03	0.87 ± 0.04	14.40
Comercial E	0.475 ± 0.016 ^e	11.88 ± 0.16	3.71 ± 0.01	0.76 ± 0.00	26.20
Comercial F	0.459 ± 0.007 ^{d,e}	11.36 ± 0.26	3.22 ± 0.03	0.76 ± 0.03	14.86
Natural Valencia	0.552 ± 0.017 ^f				
Néctar					
Jugo A	0.109 ± 0.001 ^c	13.40 ± 0.00	3.47 ± 0.02	0.53 ± 0.03	NA
Jugo B	0.038 ± 0.001 ^b	7.40 ± 0.07	3.27 ± 0.02	0.48 ± 0.03	NA
Jugo C	No determinado	11.62 ± 0.11	3.06 ± 0.02	0.41 ± 0.00	NA
Jugo D	0.243 ± 0.006 ^d	11.70 ± 0.00	3.39 ± 0.02	0.63 ± 0.05	NA
Jugo E	0.036 ± 0.001 ^b	11.74 ± 0.09	3.50 ± 0.01	0.48 ± 0.03	NA
NMX-F-118-1984	No especificado	10.5 - 13.5	3.00 - 4.00	0.65 - 1.85	12 - 20

*Valores seguidos por la misma letra no son diferentes significativamente: zumos ($F=501.842$, $p<0.05$), néctares ($X^2=23.355$, $p<0.05$); NA = no aplica.

En ella se observa que, el contenido de prolina fluctuó en un rango comprendido entre 0.262 g/L para el zumo comercial B hasta 0.475 g/L para el zumo E; mientras que, en los néctares se registró una menor cantidad de prolina. Fue evidente que tanto los zumos comerciales como los néctares de naranja analizados presentaron un contenido de prolina inferior a 0.552 g/L, determinado en el zumo fresco de naranja variedad valencia elaborado en el laboratorio. Sin embargo, todos los registros obtenidos son inferiores al reportado por Segurondo y colaboradores en el año 2013, quienes señalaron a la prolina como principal aminoácido presente en zumos de naranja en concentraciones que van desde 0.620 g/L hasta los 3.97 g/L, así como lo señalado por Zeng y colaboradores en el año 2015, quienes determinaron 0.955 g/L mediante HPLC en zumo de naranja no comercial. Las diferencias observables en el contenido de prolina en los frutos de naranja y en consecuencia en sus zumos, pueden ser atribuidas a factores genéticos (variedades de fruto), nivel de maduración, así como a las condiciones de cultivo como son el tipo de suelo y clima.

Perfil fisicoquímico

Además, para evaluar la calidad de los zumos y néctares de naranja, se realizó un perfil fisicoquímico acorde a la Norma Mexicana NMX-F-118-1984 que sugiere analizar parámetros como: pH, acidez titulable, °Brix e Índice de maduración del fruto. Los resultados se muestran en la tabla 1. Los registros obtenidos revelaron que, los zumos de naranja comercializados A, D y F cumplen con lo establecido en la legislación mexicana. No obstante, para los zumos de naranja B, C y E los parámetros fisicoquímicos como sólidos disueltos (°Brix), acidez total e índice de madurez sugieren que para su elaboración se emplearon frutos con diferente grado de maduración: frutos inmaduros para los zumos B y C mientras que, un fruto muy maduro se utilizó para el zumo de naranja E. En contraste, los néctares presentaron un contenido de ácido cítrico inferior a los zumos, un valor de pH acorde a la normativa y solo el néctar B mostró un valor de porcentaje de sólidos disueltos por debajo de todos los zumos y néctares analizados, quizá los valores son justificados al tratarse de jugos elaborados a partir de zumos concentrados de naranja.

Conclusiones

Aunque algunos de los zumos de naranja comerciales analizados en este trabajo, cumplieron con los parámetros de calidad señalados en la normatividad, en general, el contenido de prolina no es concordante con los registros literarios obtenidos a partir de zumos de

naranjas frescas. No es posible afirmar que los zumos comerciales y néctares de naranja analizados fueron adulterados durante su producción. Sin embargo, informar el contenido de prolina después de la producción de un zumo de naranja podría constituir un indicador de la calidad del producto para los comerciantes y consumidores de jugo de naranja.

Referencias

- Acevedo, D., Montero, P. & Martelo, R. (2018). Determination of Quality in Orange Juices Marketed in the City of Cartagena de Indias-Colombia. *International Journal of Engineering and Technology*, 10(1): 336-339.
- Ammari, F., Redjal, L. & Rutledge, D. (2015). Detection of Orange Juice Frauds Using Front-Face Fluorescence Spectroscopy and Independent Components Analysis. *Food Chemistry*, 168:211-217.
- Bosso, S., Garbini, A., Kors, N., Ruarte, S., y Gandía, S. (1996). Genuinidad de Preparados a base de Jugos Cítricos. *Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica*, 4(4): 52-54.
- CODEX STAN 247-2005. Norma general del Codex para Zumos (jugos) y Néctares de frutas.
- Chiosa, V., Mandravel, C., Kleijans, J. & Moonen, E. (2005). Determination of B-Carotene Concentration in Orange and Apple Juice and in Vitamin Supplemented Drinks. *Chimie Anul XIV*, I-II:253-258.
- Gerqueira, L., David, J., dos S.Q, R., Ferreira, S., David, J., dos Reis, P. & Bruns, R. (2014). Determination of Flavanones in Orange Juices Obtained from Different Sources by HPLC/DAD. *Journal of Analytical Methods in Chemistry*, 1-5.
- Flores, D. (2017). Mexico Citrus Annual: more lime, and Slightly lees orange and grapefruit production expected. USDA.
- NMX-F-018-1968. Alimentos. Calidad para Jugos de Toronja. Normas Mexicanas. Dirección General de Normas.
- NMX-F-103-1982. Alimentos. Frutos y Derivados. Determinación de Grados Brix. Normas Mexicanas. Dirección General de Normas.
- NMX-F-118-1984. Alimentos para humanos. Bebidas No Alcohólicas Jugo de Naranja Envasado. Normas Mexicanas. Dirección General de Normas.
- NMX-F-317-S-1978. Determinación de pH en Alimentos. Dirección General de Normas.

NMX-FF-011-1982. Productos Alimenticios no Industrializados, Para uso Humano. Fruta Fresca, Determinación de Acidez Titulable, Método de Titulación. Normas Mexicanas. Dirección General de Normas.

Rienth, M., Romieu, C., Gregan, R., Walsh, C., Torregrosa, L. & Kelly, M. (2014). Validation and Application of an Improved Method for the Rapid Determination of Proline in Grape Berries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62: 3384-3389.

SAGARPA. (2017). Planeación Agrícola Nacional 2016-2030: Cítricos Limón, Naranja y Toronja Mexicanos.

Segurondo-Loza, R., Pantoja, M. R. & Rocha, E. (2013). Determinación de la genuinidad en jugos de naranja comercializados en los supermercados de la ciudad de La Paz. *Revista Con-Ciencia*, 1(1): 105-112.

Twohig, M., Gledhill, A. & Burgess, J. (2011). The Determination of Fruit Juice Authenticity Using High Resolution Chromatography, UV, Time-of-Flight MS, and Multivariate Analysis. *Water The Science of What's Possible*, 1-10.

Zeng, F., Ou, J., Huang, Y., Li, Q., Xu, G., Liu, Z. & Yang, S. (2015). Determination of 21 Free Amino Acids in Fruit Juices by HPLC Using a Modification of the 6-Aminoquinolyl-N-hidroxisuccinimidyl Carbamate (AQC) Method. *Food Analytical Methods*, 8(2): 428-437.