

## Efecto de la temperatura sobre la acumulación de carotenoides en frutos de tomate en diferentes estados de desarrollo

V. Hernández, P. Hellín, J. Fenoll, M.V. Molina, J. Cava, I. Garrido, P. Flores

Equipo de Calidad Alimentaria del Instituto Murciano de Investigación y Desarrollo Agrario y Alimentario (IMIDA), 30150, Murcia. virginia.hernandez5@hotmail.com

### RESUMEN

El tomate es un fruto rico en carotenoides, principalmente licopeno, aunque también contiene concentraciones relativamente altas de  $\beta$ -caroteno, luteína, violaxantina y de los precursores fitoeno y fitoflueno, todos ellos con un importante efecto beneficioso para la salud. Su concentración en el fruto depende de diversos factores precosecha, entre los que destaca la temperatura ambiental, cuyo aumento por encima de 32 °C se ha correlacionado con una pérdida de calidad funcional en el tomate, consecuencia de la inhibición de la síntesis de licopeno. En este trabajo se estudió el efecto del incremento de la temperatura diaria (de 24 °C a 32 °C), impuesto en diferentes etapas de desarrollo del fruto (desde floración hasta fruto verde totalmente desarrollado), sobre la concentración final de carotenoides en el fruto maduro (rojo). Desde un punto de vista nutricional, el aumento de la temperatura a 32 °C en frutos totalmente desarrollados, provocó una pérdida de licopeno, fitoeno, fitoflueno, violaxantina y  $\gamma$ -caroteno. Sin embargo, cuando el incremento se impuso en estadios menos avanzados, las concentraciones de licopeno y fitoeno aumentaron, mientras que fitoflueno, luteína y  $\beta$ -caroteno no se vieron afectados.

**Palabras clave:** *Solanum lycopersicum*, calidad funcional, antioxidantes, bioactivos

### 1. Introducción

Además de su gran importancia socioeconómica, el tomate (*Solanum lycopersicum*) es considerado, desde un punto de vista nutricional, una potente fuente de vitaminas y compuestos bioactivos, lo que le ha permitido ser catalogado como alimento funcional [1]. En concreto, el tomate es rico en carotenoides, especialmente licopeno y  $\beta$ -caroteno (precursor vitamina A), principales pigmentos responsables de su color rojo característico y su poder antioxidante [2]. Además, el tomate es una fuente importante de otros carotenoides, entre ellos luteína, que juega un papel fundamental en la protección de la visión [3] y otros menos estudiados como los precursores fitoeno y fitoflueno, a los que se les atribuye un papel inhibidor en la progresión de la arterioesclerosis [4].

Las características organolépticas y la composición nutricional de los productos hortícolas vienen determinadas en gran medida por factores ambientales, entre los que destaca la temperatura [5]. El estudio de la influencia de las altas temperaturas sobre la composición de las hortalizas tiene especial relevancia en zonas

cálidas y en cultivos bajo invernadero, donde el incremento de temperatura es muy notable, sobre todo en los meses de verano. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto del incremento de la temperatura diaria, impuesto en diferentes etapas de desarrollo del fruto, sobre la acumulación de carotenoides en tomate.

### 2. Materiales y métodos

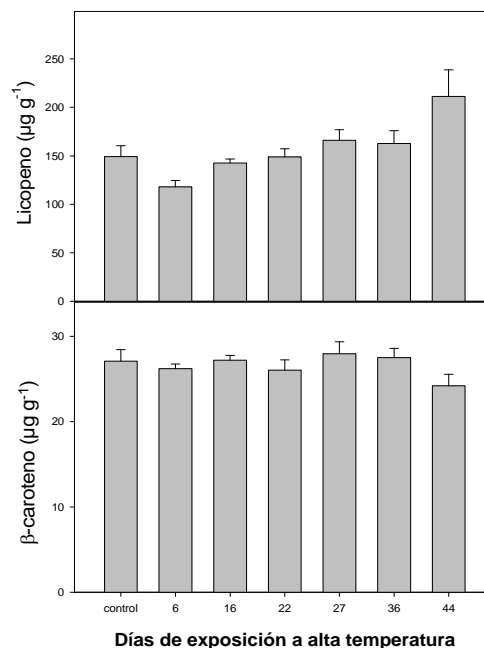
Se cultivaron plantas de tomate (*Solanum lycopersicum* L. cv. Velasco) en cámaras de crecimiento bajo condiciones de temperatura y humedad controladas, utilizando como sustrato fibra de coco y perlita (85:15). Las plantas se cultivaron inicialmente a temperatura óptima (24/13 °C, día/noche) hasta que se pudieron diferenciar seis estadios de desarrollo del fruto diferentes, momento en el cual la temperatura se incrementó hasta 32/19 °C (día/noche). Los estadios de desarrollo considerados fueron: floración (44 días expuestos a alta temperatura (DAT)); estadio 1 ( $\varnothing \leq 30$  mm, 36 DAT); estadio 2 ( $\varnothing \leq 40$  mm, 27 DAT); estadio 3 ( $\varnothing \leq 50$  mm, 22 DAT); estadio 4, ( $\varnothing \leq 60$  mm, 16 DAT); estadio 5 (fruto verde desarrollado, 6 DAT).

Además, un grupo de plantas se mantuvo a la temperatura inicial hasta el final de la maduración del fruto (control). Todos los frutos, los pertenecientes al tratamiento control y a los seis estadios de desarrollo, se recolectaron en estado de maduración de fruto totalmente rojo, exento de zonas verdes, manchas amarillas y marrones.

Los carotenoides se extrajeron según el método descrito por Bohm (2001). El extracto obtenido se analizó en un cromatógrafo líquido Agilent 1200 (Waldbronn, Alemania) equipado con un detector diodos array (DAD). La cuantificación de los compuestos se realizó mediante comparación con estándares externos (DHI LAB, Hoersholm, Dinamarca) a excepción de  $\gamma$ -caroteno, fitoeno, y fitoflueno que fueron expresados como equivalentes de  $\beta$ -caroteno. Los resultados se analizaron estadísticamente mediante el análisis de la varianza (ANOVA), utilizando el programa estadístico SPSS 21.

### 3. Resultados y discusión

El aumento de la temperatura, impuesto en frutos verdes totalmente desarrollados (estadio 5), provocó una disminución de la concentración de licopeno total (calculado como la suma de los isómeros *all-trans*, *13-cis* y *5-cis* licopeno) en fruto maduro (Figura 1A). Esta disminución de licopeno fue paralela a una disminución de la concentración de sus precursores fitoeno y fitoflueno, y a un aumento de luteína (producto) (Tabla 1). En estadios más tempranos, el efecto inhibitor de la temperatura sobre la acumulación de licopeno y sus precursores y el efecto estimulador sobre luteína, disminuyeron de forma proporcional al tiempo de exposición a 32 °C, llegando a alcanzar, en el caso de frutos sometidos a altas temperaturas desde la floración, concentraciones de fitoeno y licopeno superiores a las del control. Por otro lado, la concentración de  $\beta$ -caroteno no se vio afectada por el aumento de temperatura en ninguno de los estadios estudiados. Sin embargo, las concentraciones de violaxantina y  $\gamma$ -caroteno, disminuyeron de forma proporcional al tiempo de exposición al estrés térmico.



**Figura 1.** Concentración de licopeno (A) y  $\beta$ -caroteno (B) total, en frutos expuestos a alta temperatura (32 °C) durante diferentes periodos de tiempo.

Compuesto	Días de exposición a alta temperaturas						
	0	6	16	22	27	36	44
Luteína	11.2	128 <sup>ab</sup>	13.8 <sup>ab</sup>	13.2 <sup>ab</sup>	13.4 <sup>ab</sup>	13.7 <sup>a</sup>	12.2 <sup>c</sup>
Violaxantina	3.1 <sup>a</sup>	3.0 <sup>a</sup>	2.5 <sup>b</sup>	2.5 <sup>b</sup>	2.2 <sup>c</sup>	1.8 <sup>c</sup>	1.1 <sup>d</sup>
Fitoeno	16.8 <sup>a</sup>	8.5 <sup>a</sup>	9.9 <sup>ab</sup>	11.4 <sup>ab</sup>	13.5 <sup>ab</sup>	22.7 <sup>ab</sup>	24.4 <sup>a</sup>
Fitoflueno	7.8 <sup>b</sup>	4.2 <sup>b</sup>	5.1 <sup>cd</sup>	5.4 <sup>cd</sup>	6.2 <sup>c</sup>	6.3 <sup>cd</sup>	6.7 <sup>c</sup>
All-trans licopeno	100.4 <sup>a</sup>	78.5 <sup>a</sup>	94.9 <sup>ab</sup>	99.3 <sup>ab</sup>	111.3 <sup>ab</sup>	107.2 <sup>a</sup>	143.6 <sup>a</sup>
13-cis licopeno	4.8 <sup>a</sup>	5.2 <sup>ab</sup>	6.6 <sup>ab</sup>	6.4 <sup>ab</sup>	7.1 <sup>ab</sup>	8.5 <sup>b</sup>	9.3 <sup>b</sup>
5-cis licopeno	3.3 <sup>a</sup>	1.9 <sup>bc</sup>	1.8 <sup>c</sup>	2.2 <sup>bc</sup>	1.8 <sup>c</sup>	2.2 <sup>bc</sup>	1.9 <sup>cd</sup>
All-trans β-caroteno	25.7	24.6	25.2	24.2	25.9	24.5	21.6
9-cis β-caroteno	0.6	0.6	0.7	0.6	0.7	0.7	0.5
13-cis β-caroteno	0.9 <sup>d</sup>	1.0 <sup>cd</sup>	1.3 <sup>bc</sup>	1.2 <sup>bc</sup>	1.4 <sup>bc</sup>	1.4 <sup>bc</sup>	1.3 <sup>c</sup>
All-trans γ-caroteno	3.2 <sup>a</sup>	2.8 <sup>b</sup>	2.8 <sup>b</sup>	2.3 <sup>c</sup>	2.1 <sup>c</sup>	1.9 <sup>c</sup>	2.0 <sup>c</sup>

**Tabla 2.** Concentración de carotenoides (µg g<sup>-1</sup>PF) en frutos de tomate expuestos durante diferentes periodos de tiempo a alta temperatura (32 °C).

El estrés causado por altas temperaturas provoca una alteración de la composición del fruto a través de modificaciones tanto a nivel fisiológico como a nivel bioquímico. A nivel de planta, el aumento de la temperatura modifica la distribución de fotoasimilados entre los diferentes órganos y se produce una mayor translocación de biomasa hacia los frutos, en detrimento del crecimiento vegetativo [6], lo que modifica, de forma indirecta, la síntesis de

metabolitos en fruto. Además, el aumento de temperatura por encima de los valores óptimos, puede alterar de forma directa los procesos de síntesis/degradación de los metabolitos. [7]Según Gautier et al. (2008), el enzima fitoeno sintasa (PSY), responsable de la formación de fitoeno a partir de dos moléculas de geranylgeranyl-difosfato (GGPP), juega un papel fundamental en la regulación de la biosíntesis de carotenoides. PSY se inhibe por el aumento de la temperatura, principalmente a nivel transcripcional [8,9], y dicha inhibición podría explicar la disminución observada en la concentración de fitoeno, fitoflueno y su producto licopeno, en frutos sometidos a alta temperatura durante un corto periodo (estadio 5). Algunos autores sugieren que la disminución de licopeno puede deberse a una degradación de este compuesto hacia la formación de  $\beta$ -caroteno [7]. Sin embargo, nuestros resultados sugieren además, una degradación de licopeno hacia la formación de luteína. Con el aumento del tiempo de exposición al estrés térmico, disminuyeron los efectos de la temperatura sobre la concentración de fitoeno, fitoflueno, licopeno y luteína, lo que sugiere una aclimatación de la planta y/o un posible reestablecimiento de los procesos de síntesis de carotenoides durante los intervalos de tiempo en los que disminuye la temperatura a lo largo del fotoperiodo.

A diferencia de lo que ocurre con licopeno, la concentración de  $\beta$ -caroteno no se vio afectada por el aumento de temperatura. [10]Según Gonord et al., (2010), los mecanismos de control de retroalimentación y canalización metabólica entre cada rama de la ruta de isoprenoides, desempeñan un papel fundamental en la concentración final de cada compuesto. Así, el hecho de que la concentración de  $\beta$ -caroteno se mantuviera estable podría estar relacionado por una parte, con el aumento de la degradación de licopeno y  $\gamma$ -caroteno y por otra, con una disminución del catabolismo de  $\beta$ -caroteno hacia la formación de violaxantina, lo que explicaría la disminución observada en la concentración de este último compuesto.

Además, de estos cambios metabólicos en la ruta de biosíntesis de los isoprenoides, el estrés térmico provocó un aumento de la concentración de isómeros 13-cis de  $\beta$ -caroteno y licopeno. La formación de isómeros cis a partir de las formas all-trans por efecto del aumento de la temperatura ha sido descrito en la bibliografía tanto en productos de tomate procesados como en frutos de tomate cortados [11]. Aproximadamente, el 90 % del licopeno

que incorporamos diariamente en nuestra dieta, está en la conformación all-trans, sin embargo los tejidos celulares contienen principalmente isómeros cis. Las formas cis, aunque son más inestables [12], presentan mayor biodisponibilidad que los isómeros trans, debido a su menor longitud y baja tendencia a formar agregados, lo que les confiere mayor solubilidad [13,14].

#### 4. Conclusiones

El aumento de la temperatura durante cortos periodos de tiempo (6 días) provocó una disminución de la concentración de licopeno, principal carotenoide que contiene el tomate, y de fitoeno y fitoflueno, de cuyas propiedades funcionales, aunque existen evidencias, se dispone de poca información. También se produjo una disminución de la concentración de violaxantina y  $\gamma$ -caroteno, proporcional al tiempo de exposición. Por el contrario, la exposición a alta temperatura produjo un incremento de la concentración de luteína y no afectó a la concentración de  $\beta$ -caroteno. Tras un periodo de aclimatación, se restablecieron las concentraciones de la mayoría de los compuestos estudiados, excepto la de violaxantina y  $\gamma$ -caroteno, llegándose a alcanzar los valores encontrados en los frutos del tratamiento control e incluso, en el caso de licopeno y fitoeno, valores superiores a los del control. Además, el aumento de temperatura favoreció, la formación de isómeros cis de licopeno y de  $\beta$ -caroteno, mas inestables pero mas biodisponibles para el organismo que sus correspondientes isómeros trans. Estos resultados muestran la capacidad de la planta para aclimatarse al estrés térmico, aprovechando los periodos de tiempo en los que la temperatura disminuye a lo largo del fotoperiodo, consiguiendo disminuir el efecto negativo del estrés térmico moderado (32 °C) sobre la calidad funcional del fruto, en particular, sobre la concentración y estereoisomería cis-trans de compuestos relevantes para la salud, como es el caso de licopeno.

#### 5. Agradecimientos

Los autores quieren agradecer al Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA) la financiación de este trabajo a través del proyecto RTA2010-00119-00-00.

#### 6. Referencias

- [1] Erge, H. y Karadeniz, F. (2001). Bioactive compounds and antioxidant activity of tomato cultivars. *International Journal of Food Properties*, 14, 968-977.
- [2] Mein, J.R., Lian, F., Wang, X. D. (2008). Biological activity of lycopene metabolites: implications for cancer prevention. *American Society for Clinical Nutrition*, 66, 667–683.
- [3] Sommerburg, O., Keunen, J., Bird, A., Frederik, J., Kuijk. (1998). Fruits and vegetables that are sources for lutein and zeaxanthin: the macular pigment in human eyes. *British Journal Ophthalmology*, 82, 907-910.
- [4] Lindqvist, A., He, YG., Andersson, S. (2005). Cell type-specific expression of betacarotene 9', 10'-monooxygenase in human tissues. *Journal Histochem Cytochem*, 53, 1403–12.
- [5] Dumas, Y., Dadomo, M., Di Lucca, G., 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.
- [6] De Koning, A. N. M. (1996). Quantifying the response to temperature of different plant processes involved in growth and development of glasshouse tomato. *Acta Horticulturae*, 406, 99-104.
- [7] Gautier, H., Diakou-Verdin, V., Benard, C. (2008). How does tomato quality (sugar, acid, and nutritional quality) vary with ripening stage, temperature, and irradiance. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56, 1241-1250.
- [8] Bramley, P. M. (2002). Regulation of carotenoid formation during tomato fruit ripening and development. *Journal of Experimental Botany*, 53, (377), 2107-2113.
- [9] Fraser, P.D., Bramley, P. M. (2004). The biosíntesis and nutritional uses of carotenoids. *Progress in Lipid Research*, 43(3), 228-265.
- [10] Gonord, F., Bidel, L., Fanciullino, A., Gautier, H., Lopez, F., Urban, L. (2010). Health benefits of vitamins and secondary metabolites of fruits and vegetables and projects to increase their concentrations by agronomic approaches. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58, 12065-12082.
- [11] Boileau, T., Boileau, AC., Erdman, JW. (2013). Bioavailability of all- trans and cis Isomers of Lycopene. *Experimental Biology and Medicine*, 227, 914-919.
- [12] Peterson, W. (1996). *Formulación y nomenclatura química orgánica. Ediciones y distribuciones universitarias S.A. Barcelona, España.*
- [13] Nguyen, ML., Schwartz, SJ. (1998). Lycopene stability during food processing. *Proceeding of the Experimental Biology and Medicine*, 218, 101–105.
- [14] Boileau, AC., Merchen, NR., Wasson, K., Atkinson, CA., Erdman, JW. (1999) Cis-lycopene is more bioavailable than trans-lycopene in vitro and in vivo in lymph-cannulated ferrets. *Journal of Nutrition*, 129, 1176–1181.