

COMPUESTOS FENÓLICOS Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE DIFERENTES GENOTIPOS DE LECHUGA

PHENOLIC COMPOUNDS AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF DIFFERENT LETTUCE GENOTYPES

González^{1,2*} RE, Soto-Vargas³ VC, Lanza Volpe¹, M

¹Estación Experimental Agropecuaria La Consulta· INTA· Ex Ruta 40 s/n La Consulta· Mendoza·

²Facultad de Ciencias Exactas y Naturales· Universidad Nacional de Cuyo·

³ IBAM· UNCuyo· CONICET· Facultad de Ciencias Agrarias· Almirante Brown 500, M5528 AHB· Chacras de Coria· Mendoza· Argentina;

*Correspondencia: gonzalez.roxana@inta.gob.ar; lanzavolpe.melisa@inta.gob.ar; vsoto@fca.uncu.edu.ar

Resumen

La horticultura argentina es una actividad de relevancia como productora de alimentos indispensables en la dieta y motor de economías regionales. La lechuga (*Lactuca sativa* L.) ocupa el cuarto lugar entre las principales hortalizas cultivadas en el país. Factores pre-cosecha, tales como el genotipo, las condiciones ambientales y el sistema productivo, afectan tanto la composición química como las propiedades biológicas de esta especie. El objetivo del presente trabajo fue evaluar el contenido de compuestos fenólicos y actividad antioxidante de diferentes genotipos de lechuga producidos en campo e invernadero. Se observaron diferencias significativas para el contenido de compuestos fenólicos totales y la actividad antioxidante entre tipos de lechuga para cada sistema de producción y entre genotipos pertenecientes a un mismo tipo ($p < 0,05$). El análisis de correlación entre la actividad antioxidante *in vitro* y el contenido de compuestos fenólicos totales, evidenció una relación significativa y positiva entre estas variables. Los datos obtenidos evidencian una marcada variabilidad entre los distintos genotipos, lo que podría contribuir a la selección de cultivares con mayores mejores propiedades funcionales. Es fundamental identificar los sistemas de producción óptimos.

Palabras claves: : *Lactuca sativa* L., compuestos funcionales, actividad biológica

Abstract

Argentina horticulture is a relevant activity since it produces essential vegetables for human consumption and promotes regional economies. Lettuce (*Lactuca sativa* L.) ranks fourth among the main vegetables grown in the country. Pre-harvest factors, such as genotype, environmental conditions and production system affect chemical composition and biological properties of lettuce. The aim of this work was to evaluate the total phenolic content and antioxidant activity of lettuce genotypes produced in field and greenhouse cultivation systems. Significant differences were observed for total phenolic content and antioxidant activity among lettuce's types for each production system and genotypes of the same type ($p < 0.05$). A significant and positive correlation between *in vitro* antioxidant activity and total phenolic content was observed. The results showed a remarkable variability between genotypes that could contribute to the selection of cultivars with significant functional properties. For this reason, it is essential to identify the optimal production systems.

Keywords: *Lactuca sativa* L., functional compounds, biological activity

Introducción

En la actualidad, la horticultura ocupa un lugar predominante en la producción agropecuaria, abasteciendo de productos indispensables para la alimentación humana, ya sea para ser consumidos en fresco o bien procesados con distintas tecnologías. Una amenaza constante a nivel agropecuario, es la influencia del cambio climático sobre el comportamiento de los cultivos. Para sobrellevar las pérdidas asociadas al impacto ambiental, las estrategias se enfocan en dos puntos fundamentales; por un lado, en determinar la ingeniería del cultivo más adecuada y por otro, en llevar a cabo programas de mejoramiento destinados a seleccionar nuevos genotipos mejor adaptados a las diversas situaciones de estrés (Mzini and Winter, 2015; Fadda et al., 2016; Colonna et al., 2016; Pérez-López et al., 2016). Además, se ha comprobado que la exposición de los cultivos a situaciones de estrés conduce a cambios en la composición química, lo cual tiene un impacto directo en el valor nutricional de los productos finales (Mou, 2011).

La lechuga, *Lactuca sativa* L., se encuentra entre las hortalizas de mayor consumo en fresco a nivel mundial. En Argentina, ocupa el cuarto lugar entre las hortalizas más cultivadas, alcanzando una producción nacional

de aproximadamente 400.000 T. Su valor nutricional se destaca por su bajo contenido calórico, de grasas y sodio. Es fuente de fibra, calcio, hierro y ácido fólico. En términos generales, las lechugas romanas y de hoja presentan mayor contenido de minerales y vitaminas que las de tipo arropolladas (Mou, 2011; López et al., 2014). Dada la popularidad de la lechuga como alimento en todo el mundo, es importante evaluar y determinar la composición química y el valor nutricional de los diferentes cultivares consumidos. Diversas investigaciones científicas han focalizado su estudio en las propiedades biológicas que ejercen los compuestos bioactivos presentes en lechuga (Yu et al., 2016; Kim et al., 2016; Giri et al., 2016; De Tender et al., 2016). Los de mayor relevancia son los antioxidantes, en particular los compuestos fenólicos, vitamina C, luteína, tocoferoles, clorofilas y antocianos (Smeriglio et al., 2016).

El objetivo del presente trabajo fue evaluar el contenido de compuestos fenólicos y actividad antioxidante de diferentes genotipos de lechuga producidos en campo e invernadero.

La creciente demanda por parte de los consumidores de alimentos ricos en nutrientes, con propiedades benéficas para la salud, sumado a la variabilidad existente en la composición y calidad de los compuestos bioactivos, presentan un nuevo desafío a tener en cuenta dentro de los programas de mejoramiento genético. La caracterización a nivel nutricional de diferentes genotipos de lechuga, bajo las condiciones agroclimáticas locales, constituirán la base para la selección de cultivares cuya performance se adecue tanto a las exigencias productivas como a las del consumidor final.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal

Los ensayos fueron realizados durante la temporada invernal en el campo experimental del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA) ubicado en La Consulta, Mendoza, Argentina (latitud 33° 44' Sur, longitud 69° 07' Oeste, altura 940 msnm) utilizando un diseño completo al azar con tres repeticiones. Se seleccionaron veintidós genotipos de lechuga, incluyendo cultivares comerciales y líneas avanzadas de mejoramiento (LAM) (Tabla 1). Durante el mes de junio se realizó la plantación a tres bolillos con una densidad de 13 plantas.m⁻². El cultivo fue conducido bajo un sistema de producción tradicional a campo e invernadero en suelo de similares características y bajo el mismo régimen de riego y fertilización. La cosecha se efectuó hacia finales del mes de octubre, una vez que las plantas alcanzaron el tamaño comercial. Se cosecharon diez plantas por genotipo que fueron acondicionadas y liofilizadas para su posterior análisis.

Determinación de compuestos fenólicos totales:

La determinación de compuestos fenólicos totales (CFT) se realizó por el método de Folin- Ciocalteu siguiendo la metodología propuesta por Li y Kubota (2009). La absorbancia, medida a 725 nm, fue determinada por triplicado utilizando un espectrofotómetro UV-Visible (Beckman DU 520). Los resultados fueron expresados como mg equivalentes de ácido gálico por g materia seca (mgEAG.g⁻¹ ms).

Actividad antioxidante:

La actividad antioxidante in vitro fue determinada siguiendo el método propuesto por Soto y col. (2016), que se describe a continuación.

Secuestro del radical libre DPPH•: Diariamente fue preparada la solución de DPPH y 3,5 mL de esta solución se mezclaron con 250 µL del extracto de lechuga. El radical DPPH• muestra un máximo de absorción a 515 nm. Las muestras se midieron después de 5 minutos en contra de metanol (AE) y metanol con DPPH• como blanco (AB). El experimento se realizó por triplicado y se consideró la absorbancia de la muestra (Ao). Una solución de pirogalol (1mM) se utilizó como referencia (AREF). El secuestro de radicales libres se calculó en porcentaje de inhibición (I%) con la siguiente fórmula:

$$I \% = \left[\frac{A_B - (A_E - A_O)}{A_B} \right] / \left[\frac{A_B - A_{REF}}{A_B} \right] \times 100$$

Siendo, AE, AB, A0, AREF: absorbancia de metanol, absorbancia de metanol con DPPH, absorbancia de la muestra, absorbancia de pirogalol usado como referencia, respectivamente.

Potencial antioxidante ABTS $\bullet+$: Previo a la medición de las muestras, fue necesario obtener el catión radical ABTS $\bullet+$, para lo cual ABTS fue disuelto en agua para obtener una solución madre 7 mM. Luego, el catión radical ABTS $\bullet+$ se obtuvo por reacción de ABTS 2 mM y persulfato de potasio 2,45 mM, que fueron disueltos por separado en agua y luego combinados. Esta solución se mantuvo a la oscuridad a temperatura ambiente durante 12-16 horas antes de su uso. La absorbancia de la solución ABTS $\bullet+$ se llevó a un valor de 0,7-0,8 a 734 nm diluyendo con etanol. Los extractos de lechuga se mezclaron con la solución ABTS $\bullet+$ y la absorbancia fue leída después de 7 minutos (AE) contra etanol y etanol con un ABTS $\bullet+$ como blanco (AB). Todas las determinaciones se llevaron a cabo por triplicado y fue necesario medir un blanco de la muestra para corregir la absorbancia (Ao). Una solución de ácido gálico (1 mM) se utilizó como estándar y los resultados se calcularon de acuerdo con la misma fórmula indicada en el punto anterior.

ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

El análisis estadístico de los datos se realizó mediante el análisis de varianza (ANOVA) y la prueba de significación de Tukey, lo que permitió una comparación entre los datos múltiples para individualizar diferencias significativas. Las diferencias se consideraron significativas si $p < 0,05$. Para este análisis fue utilizado el programa InfoStat. Todos los datos se informaron como la media \pm la desviación estándar (DS) de tres repeticiones.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El contenido de compuestos fenólicos totales de veintidós genotipos de lechuga clasificados por tipo, se muestran en la tabla 2 y 3. Diferencias significativas fueron observadas entre los tipos de lechuga para cada sistema de producción y entre genotipos pertenecientes a un mismo tipo ($p < 0,05$). En la producción a campo, genotipos de lechugas del tipo hoja de roble y hoja rizada presentaron los niveles más altos de compuestos fenólicos totales ($32,87 \pm 0,27$ y $29,21 \pm 13,98$ mgEAG.g-1 ms, respectivamente), destacándose los cultivares Grenadine y Falbala. Mientras que los genotipos de lechuga del tipo arrepollada evidenciaron los niveles más bajos de compuestos fenólicos totales ($3,43 \pm 0,42$ mgEAG.g-1 ms, en promedio).

Respecto a la producción en invernadero, el cultivar Grenadine (tipo hoja de roble) presentó el contenido más alto ($41,65 \pm 3,39$ mgEAG.g-1 ms) y LAM 001 (tipo arrepollada) el contenido más bajo de compuestos fenólicos totales ($2,40 \pm 0,27$ mgEAG.g-1 ms).

Los resultados obtenidos muestran una gran variabilidad entre genotipos para cada sistema de producción en coincidencia con estudios realizados previamente (Sofó et al., 2016; Vargas-Arcila et al., 2017; Zapata-Vahos et al., 2020).

Debido a la naturaleza compleja de los extractos de las plantas y teniendo en cuenta los diferentes modos en los que puede actuar un antioxidante, siempre al menos dos metodologías complementarias para medir la actividad antioxidante deben ser empleadas para estimar los efectos antioxidantes totales (Wong et al., 2006). Dos de las técnicas más utilizadas en diversos trabajos para medir esta actividad son: la capacidad de reducir radicales libres utilizando el radical libre estable 1,1-difenil-2picrylhydrazyl (DPPH) y el potencial antioxidante para la cual se utilizó el 2,2-azino-bis (ácido 3-ethylbenzothiazoline-6-sulfónico) (ABTS). La determinación de actividad antioxidante in vitro mediante el secuestro del radical libre DPPH, mostró diferencias significativas debidas a la interacción genotipo de lechuga y sistema de producción ($p < 0,05$), (Figura 1). Los genotipos producidos en invernadero mostraron en promedio mayor porcentaje de inhibición respecto de la producción a campo (72 % y 59 %, respectivamente). La variabilidad total observada para esta técnica fue del 22,51%, diferenciándose significativamente la actividad antioxidante promedio ejercida por cada tipo de lechuga evaluado (Figura 2).

Similares resultados fueron obtenidos cuando la actividad antioxidante fue evaluada a través del potencial antioxidante ABTS $\bullet+$ (Figura 3). El porcentaje de inhibición ejercido por los distintos genotipos producidos en invernadero fue en promedio del 88% versus el 85% de inhibición ejercido por los genotipos producidos a campo. Sin embargo, la variabilidad total mediante esta técnica, fue solo del 7,26%. Solo se diferenciaron por su menor capacidad antioxidante los genotipos del tipo arrepollada (55,15%), mientras que para el resto de los tipos de lechugas evaluados no hubo diferencias significativas en el porcentaje de inhibición de la actividad antioxidante (Figura 4).

Hung y colaboradores (2005) han previamente reportado significativas diferencias en la actividad antioxidante evaluada mediante el secuestro del radical DPPH y ABTS. Estas son atribuidas a diferencias estereoquímicas de ambos radicales libres y a que no todas las especies reactivas del oxígeno comparten el mismo patrón de conducta en su capacidad antioxidante.

El análisis de correlación entre las distintas metodologías empleadas para medir la capacidad antioxidante in vitro y el contenido de compuestos fenólicos totales, evidenció una relación significativa y positiva entre estas variables (Tabla 4). Estos resultados se encuentran en coincidencia con investigaciones previas que han reportado correlaciones positivas entre el contenido de compuestos fenólicos y actividad antioxidante (Kin et al., 2018; Zapata-Vahos et al., 2020).

CONCLUSIONES

Los sistemas de producción afectaron significativamente el contenido de compuestos fenólicos y la actividad antioxidante ejercida por diferentes genotipos de lechuga. Los datos obtenidos evidencian una marcada variabilidad entre los distintos genotipos, lo que podría contribuir a la selección de cultivares con mayores efectos funcionales. Es fundamental identificar los sistemas de producción óptimos.

AGRADECIMIENTOS

El presente trabajo ha sido subsidiado por los siguientes proyectos: INTA 2019-PD-E7-I152-001, INTA 2019-PE-E7-I517-001, INTA 2019-PE-E6-I508-001 y SIIP 06/M113-RE 4142/2019 UNCuyo.

Tabla 1. Genotipos de lechuga clasificados acorde a la L'Union Internationale pour la protection des obtentions végétales (UPOV).

Tipo	Genotipos
Arrepollada	83-25-317; Dessert storm; LAM 001; LAM 003; Road runner; Valley Green
Hoja rizada	Bacchus; Falbala; LAM* 009; LAM 010; LAM 011; Lírice
Batavia	Rossia
Hoja de roble	Grenadine
Latina	Crimor; Maravimor
Mantecosa	Balerina; LAM 006; Lores
Romana	LAM 012; LAM 013; LAM 014

LAM*: línea avanzada de mejoramiento

Tabla 2. Contenido de compuestos fenólicos totales en veintidós genotipos de lechuga producidos a campo.

TIPO	GENOTIPO	CFT ¹ (mgEAG.g ⁻¹ ms)	CFT (mgEAG.g ⁻¹ ms) por tipo
Arrepollada	Valley Green	4,16 ± 0,17 ² a ³	
	LAM 003	3,29 ± 0,07 a	
	LAM 001	2,97 ± 0,02 a	3,43 ± 0,42 a
	Road runner	3,55 ± 0,18 a	
	Dessert storm	3,48 ± 0,29 a	
	83-25-317	3,10 ± 0,30 a	
Hoja rizada	Bacchus	39,81 ± 1,35 m	
	LAM 010	30,86 ± 1,21 k	
	LAM 011	37,01 ± 1,58 lm	29,21 ± 13,98 e
	Lírice	12,98 ± 0,83 defg	
	Falbala	43,59 ± 2,87 o	
	LAM 009	11,01 ± 1,28 bcdef	
Batavia	Rossia	11,43 ± 0,30 bcdef	11,43 ± 0,30 b
Hoja de roble	Grenadine	32,87 ± 0,27 k	32,87 ± 0,27 f
Latina	Crimor	10,04 ± 1,44 bcd	20,58 ± 14,89 d
	Maravimor	31,11 ± 0,71 k	

¹CFT: compuestos fenólicos totales.

²Valores medios ± desviación estándar.

³Valores en la misma columna con diferente letra representan diferencias significativas $p < 0,05$.

Tabla 3. Contenido de compuestos fenólicos totales en veintidós genotipos de lechuga producidos en invernadero.

TIPO	GENOTIPO	CFT ¹ (mgEAG.g ⁻¹)	CFT (mgEAG.g ⁻¹) por tipo
Arrepollada	Valley Green	4,18 ± 6,61 ² a ³	2,97 ± 0,25 a
	LAM 003	3,17 ± 0,09 a	
	LAM 001	2,40 ± 0,27 a	
	Road runner	2,80 ± 0,10 a	
	Dessert storm	2,73 ± 0,09 a	
	83-25-317	2,53 ± 0,60 a	
Hoja rizada	Bacchus	26,68 ± 1,04 j	20,04 ± 8,92 d
	LAM 010	11,57 ± 0,80 bcdefg	
	LAM 011	21,62 ± 1,48 i	
	Lírice	12,36 ± 0,29 cdefg	
	Falbala	33,72 ± 1,42 kl	
	LAM 009	14,30 ± 0,14 fg	
Batavia	Rossia	11,77 ± 0,15 bcdefg	11,77 ± 0,15 b
Hoja de roble	Grenadine	41,65 ± 3,39 no	41,65 ± 3,39 g
Latina	Crimor	9,15 ± 0,29 bc	10,84 ± 2,39 b
	Maravimor	12,53 ± 0,86 cdefg	

¹CFT: compuestos fenólicos totales.

²Valores medios ± desviación estándar.

³Valores en la misma columna con diferente letra representan diferencias significativas $p < 0,05$.

Tabla 4. Contenido de compuestos fenólicos totales en veintidós genotipos de lechuga producidos en invernadero.

	CFT	ABTS	DPPH
CFT	1,00	0,63*	0,60*
ABTS		1,00	0,82*
DPPH			1,00

DPPH: Capacidad de secuestro de radicales libres· ABTS: Potencial antioxidante· El símbolo * indica significancia de las regresiones lineales entre pares de variables para $p < 0,001$.

Figura 1: Actividad antioxidante in vitro evaluada mediante el secuestro del radical DPPH de veintidós genotipos de lechuga producidos a campo e invernadero.

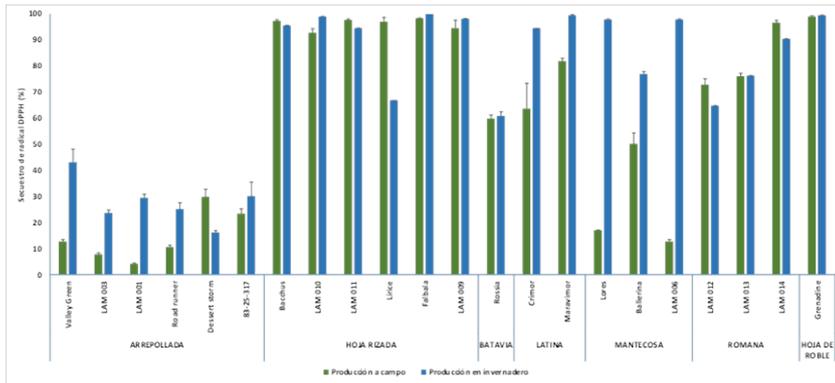
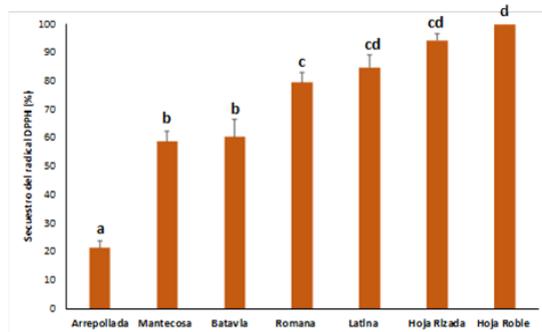


Figura 2: Actividad antioxidante in vitro evaluada mediante el secuestro del radical DPPH por tipo de lechuga.



Letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas (Tuckey, $p < 0,05$)

Figura 3: Actividad antioxidante in vitro evaluada mediante potencial antioxidante ABTS^{•+} de veintidós genotipos de lechuga producidos a campo e invernadero.

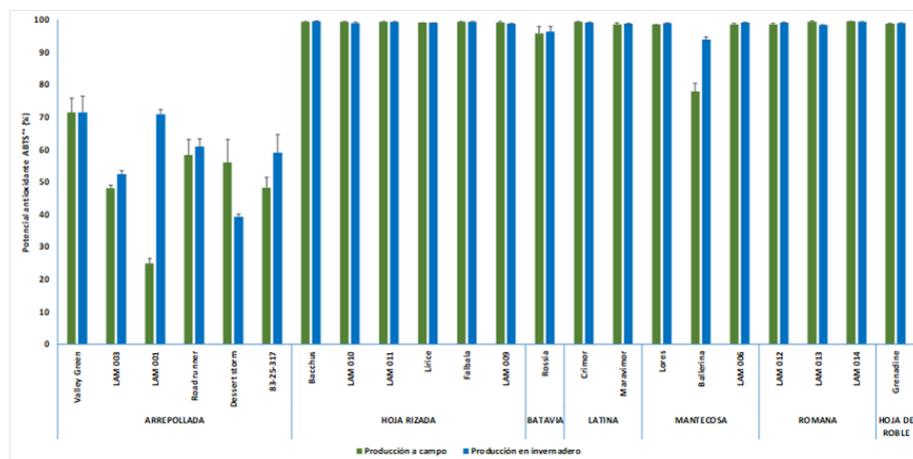
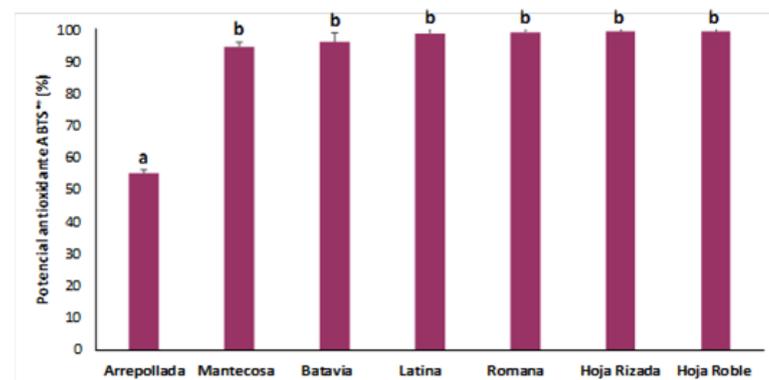


Figura 4: Actividad antioxidante in vitro evaluada mediante el potencial ABTS^{•+} por tipo de lechuga.



Letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas (Tuckey, $p < 0,05$)

BIBLIOGRAFÍA

- Colonna, E, Roupael, Y, Barbieri, G, De Pascale, S. (2016). *Nutritional quality of ten leafy vegetables harvested at two light intensities*. *Food Chem.* 199:702-710.
- De Tender, C, Debode, J, Vandecasteele, B, D'Hose, T, Cremelie, P, Haegeman, A et al. (2016). *Biological, physicochemical and plant health responses in lettuce and strawberry in soil or peat amended with biochar*. *Appl. Soil Ecol.* 107:1-12.
- Fadda, A, Pace, B, Angioni, A, Barberis, A, Cefola, M. (2016). *Suitability for ready-to-eat processing and preservation of six green and red baby leaves cultivars and evaluation of their antioxidant value during storage and after the expiration date*. *J. Food Process. Preserv.* 40:550-558.
- Giri, A, Armstrong, B, Rajashekar, CB. (2016). *Elevated carbon dioxide level suppresses nutritional quality of lettuce and spinach*. *Am. J. Plant Sci.* 7:246-258.
- Kim, M J, Moon, Y, Toub, JC, Mouc, B, Waterlanda, NL (2016). *Nutritional value, bioactive compounds and health benefits of lettuce (Lactuca sativa L.)*. *J. Food Compos. Anal.* 49:19-34.
- Kim, DE, Shang, X, Assefa, AD, Keum, YS, Saini, RK. (2018). *Metabolite profiling of green, green/red, and red lettuce cultivars: Variation in health beneficial compounds and antioxidant potential*. *Food Res. Int.* 105:361-370.
- Li, Q, Kubota, C. (2009). *Effects of supplemental light quality on growth and phytochemicals of baby leaf lettuce*. *Environ. Exper. Bot.* 67:59-64.
- López, A, Javier, GA, Fenoll, J, Hellín, P, Flores, P. (2014). *Chemical composition and antioxidant capacity of lettuce: Comparative study of regular-sized (Romaine) and baby-sized (Little Gem and Mini Romaine) types*. *J. Food Compos. Anal.* 33(1):39-48.
- Mou, B. (2011). *Mutations in lettuce improvement*. *Int J Plant Genomics* 2011:723518.
- Mzini, L, Winter, K. (2015). *South african journal of plant and soil effects of irrigation water quality on vegetables Part 2: Chemical and nutritional content*. *S Afr J Plant Soil* 32(1):33-37.
- Pérez-López, U, Miranda-Apodaca, J, Lacuesta M, Mena-Petite, A, Munoz-Rueda, A. (2016). *Growth and nutritional quality improvement in two differently pigmented lettuce cultivars grown under elevated CO2 and/or salinity*. *Sci. Hortic.* 195:56-66.
- Smeriglio, A, Barreca, D, Bellocco, E, Trombetta, D. (2016) *Chemistry, pharmacology and health benefits of anthocyanins*. *Phytother. Res.*, 30:1265-1286.
- Sofo, A, Lundegårdh, B, Mårtensson, A, Manfrac, M, Pepe, G, Sommella, E, et al. (2016). *Different agronomic and fertilization systems affect polyphenolic profile, antioxidant capacity and mineral composition of lettuce*. *Sci. Hortic.* 204: 106-115.
- Soto, VC, González, RE, Sance, MM, Galmarini CR. (2016). *Organosulfur and phenolic content of garlic (Allium sativum L.) and onion (Allium cepa L.) and its relationship with antioxidant activity*. *Acta Hortic., Proc. VII Int. Sym. on Edible Alliaceae* 1143: 277-290.
- Vargas-Arcila, M, Cartagena-Valenzuela, JR, Franco, G, Correa-Londoño, GA, Quintero-Vásquez, LM, Gaviaria-Montoya, CA. (2017). *Changes in the physico-chemical properties of four lettuces (Lactuca sativa L.) varieties during storage*. *Cienc. Tecnol. Agropecuaria* 18(2): 257-273.
- Wong, S, Leong, L, William Koh, J. (2006). *Antioxidant activities of aqueous extracts of selected plants*. *Food Chem.* 99:775-783.
- u, J, Engeseth, N, Feng, H. (2016) *High Intensity ultrasound as an abiotic elicitor-effects on antioxidant capacity and overall quality of romaine lettuce*. *Food Bioprocess Technol* 9:262-273.
- Zapata-Vahos, IC, Rojas-Rodas, F, David, D, Gutierrez-Monsalve, JA, Castro-Restrepo D. (2020). *Comparison of antioxidant contents of green and red leaf lettuce cultivated in hydroponic systems in greenhouses and conventional soil cultivation*. *Rev. Fac. Nac. Agron. Medellín* 73(1): 9077-9088.