

(S4-P164)

## CUANTIFICACIÓN DE $\beta$ -CAROTENO EN ZAPALLOS (*Cucurbita* sp.) CULTIVADOS EN URUGUAY.

FERNANDA ZACCARI<sup>(1)</sup>, GIOVANNI GALIETTA<sup>(2)</sup>, ANDREA DURÁN<sup>(1)</sup>,  
BEATRIZ SOTO<sup>(1)</sup> y VALENTINA GRATADOUX<sup>(1)</sup>

<sup>(1)</sup>Unidad Poscosecha., Departamento de Producción Vegetal, Universidad de la República, Facultad de Agronomía, Av. Garzón 780, CP 12900. Montevideo, Uruguay, [fzaccari@fagro.edu.uy](mailto:fzaccari@fagro.edu.uy)

<sup>(2)</sup>Unidad de Tecnología de los Alimentos. Vegetal, Universidad de la República, Facultad de Agronomía, Av. Garzón 780, CP 12900. Montevideo, Uruguay

**Palabras clave:** provitamina A – HPLC – pulpa cruda – conservación

### RESUMEN

El zapallo (*Cucurbita* sp.) es una hortaliza de fruto que se desarrolla con facilidad en las condiciones agro climáticas del Uruguay y forma parte del alimento habitual de sus habitantes siendo de interés nutricional analizar su contenido en  $\beta$ -caroteno. El  $\beta$ -caroteno tiene acción como provitamina A, participando en los mecanismos que permiten el crecimiento, la reproducción, y por sus propiedades antioxidantes ayuda en el mantenimiento de los tejidos epiteliales y de la visión normal. El objetivo de este estudio fue cuantificar el contenido de  $\beta$ -caroteno en pulpa fresca de siete tipos de zapallos. Los cultivares evaluados provinieron de un estudio comparativo agronómico y de conservación en el Centro Regional Sur (CRS-Facultad de Agronomía). Los frutos fueron conservados en estructuras de almacenamiento tradicionales, construidas a la intemperie, sin control de temperatura y humedad. Los frutos fueron colocados sobre una mesa de madera de 1,20 x 50 m, con techo de chapas para evitar la lluvia sobre los frutos y al resguardo de una cortina de árboles. Las temperaturas registradas fueron variables en el rango de 8 a 23 °C y 60 a 95% de humedad relativa. Las parcelas fueron distribuidas al azar en el almacenamiento y se muestrearon tres frutos en forma mensual desde mayo a agosto. Se cuantificó el contenido en  $\beta$ -caroteno en base húmeda por técnica de Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC) con una columna C30, siendo la solución de extracción THF-Metanol (1:1). La población local “Criollo” tuvo el menor contenido en  $\beta$ -caroteno con 0,08 – 0,17 mg /100g en base húmeda. “Delicato F1” y “Delica F1” presentaron mayor contenido con 3,17 y 3,74 mg de  $\beta$ -caroteno / 100g base húmeda. “Atlas F1” fue el cultivar que mantuvo más estable el valor de  $\beta$ -caroteno en el periodo estudiado. Al final del almacenamiento (Agosto) los materiales genéticos evaluados tuvieron similar contenido (1,70 a 2,71 mg/100g base húmeda) diferenciándose sólo del “Criollo” (0,09 mg/100g base húmeda).

## CUANTIFICACION DE $\beta$ -CAROTENE IN PUMPKINS (*Cucurbita* sp.) CULTIVATED IN URUGUAY.

**Keywords:** provitamin A – HPLC – raw flesh – conservation

### ABSTRACT

Pumpkins (*Cucurbita* sp.) easily grow in the agricultural and climatic conditions of Uruguay, and it is part of the everyday food of their inhabitants. Their  $\beta$ -carotene content has nutritional interest. This carotene has provitamin A activity, participating in mechanisms that allow healthy growth and reproduction. Their antioxidant properties help in maintaining epithelial tissues and normal vision. The objective of this study was to determine the  $\beta$ -carotene content in the raw flesh of seven different pumpkins types. The evaluated materials came from a field and postharvest comparative trial carried out at Southern Regional Center of the Faculty of Agronomy. The fruits were stored in the open using traditional structures, without control of temperature neither humidity. The pumpkins were placed on a wood table (1,2 by 50 m) below a roof to avoid rain over the fruits, and protected between two lines of trees. The temperatures were registered, and varied from 8 to 23°C. The relative humidity ranged from 60 to 95%. The plots were distributed at random. Samples consisting of three pumpkins by plant material were taken three times from May to August. The content of  $\beta$ -carotene was determined by high-pressure liquid chromatography (HPLC) on C<sub>30</sub> column, extracted with THF-Methanol (1:1). The local type “Criollo” had the lowest content of  $\beta$ -carotene with 0,08 – 0.17 mg/100g fresh weight always. “Delicato F1” and “Delica F1” showed the highest value, 3,17 and 3,74 mg  $\beta$ -carotene/100g fresh weight respectively. The hybrid that kept more stable the content of  $\beta$ -carotene during the period analyzed was “Atlas F1”. At end of this trial “Criollo” (0.09 mg/100g fresh weight) only had statistical differences with the others evaluated materials (1,70 – 2.71 mg /100g fresh weight).

### INTRODUCCIÓN

El interés por el estudio de los carotenoides se ha incrementado en los últimos años debido a los efectos positivos que tienen sobre la salud. El  $\beta$ -caroteno es uno de los pigmentos naturales ampliamente distribuido en la naturaleza, responsable del color desde el amarillo al naranja más intenso en los vegetales. Estos se encuentran en los cromoplastos de las plantas superiores, aunque su color puede estar enmascarado por la clorofila.

La provitamina A más importante es el  $\beta$  caroteno tanto respecto a su bioactividad como a su amplia ocurrencia. Estructuralmente, la vitamina A es la mitad de la molécula de  $\beta$ -caroteno con una molécula adicional de agua en el extremo de la cadena lateral. Así, el  $\beta$ -caroteno es una fuente importante de provitamina A, a la cual se le asigna un 100% de actividad. Además este caroteno cumple diversas funciones en el organismo como aumento del sistema inmune, disminución del riesgo de enfermedades degenerativas tales como envejecimiento celular, cáncer, enfermedad cardiovascular, arteriosclerosis, degeneración macular relacionada a la edad y formación de cataratas. Esto se debe a la propiedad antioxidante del  $\beta$ -carotenos, por la cual desactiva los radicales libres y atrapa los oxígenos singletes que provocan los efectos adversos mencionados previamente (Astorg, 1997; Clevidence et al 2000; Rodríguez-Amaya, 2001; Bramley, 2003; Southon y Faulks, 2003).

La información respecto al contenido de  $\beta$ -caroteno en *Cucurbita* sp. en diferentes países muestra una gran variabilidad. (Gross, 1991; Rodriguez Amaya, 1999). Esto se debe a que el mismo depende de la especie, el cultivar o variedad, órgano de la planta analizada,

estado de madurez, clima, sitio de producción, manejo durante la cosecha, postcosecha, su procesamiento y almacenamiento final. En un estudio realizado en Brasil por cromatografía en columna abierta, la cucurbitácea nativa Menina Verde (*Cucurbita moschata*) presentó niveles de  $\beta$ -caroteno de 3,9 mg/100g al estado madura (Arima y Rodríguez-Amaya, 1988). En los Estados Unidos, algunas muestras de calabaza y zapallo analizadas por Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC) contenían 2,4 a 8,4 mg/100g de  $\beta$ -caroteno, (Rodríguez-Amaya, 1999). En Austria la especie *Cucurbita pepo* presentó niveles de 0,06 a 2,3 mg/100g, *Cucurbita maxima* de 1,4 a 7,4 mg/100g y *Cucurbita moschata* de 3,1 a 7,0 mg/100g (Murkovic et al, 2002).

En Uruguay no existe suficiente información acerca del contenido de nutrientes de nuestras frutas y hortalizas, siendo el zapallo un alimento habitual en la dieta y por lo tanto potencial fuente de provitamina A. Según datos del Instituto Nacional de Estadística (INE, 1996) se consume en promedio 0,500 kg/mes/persona correspondiendo al 10% en peso de las verduras frescas, que forman parte de la canasta familiar uruguaya, excluyendo raíces y tubérculos. Además se debe considerar que los zapallos y calabazas se desarrollan con facilidad en las condiciones climáticas del país con una prolongada duración en los almacenamientos del sur del país (enero – setiembre). El objetivo de este estudio fue cuantificar el contenido de  $\beta$ -caroteno en pulpa fresca de zapallos (*Cucurbita* sp.) de las diferentes especies cultivadas y almacenadas en el sur del país para su consumo durante todo el año en Uruguay.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Material vegetal

Los diferentes materiales genéticos analizados correspondieron a poblaciones local de *Cucurbita pepo* (Zapallo Criollo) y de *Cucurbita moschata* (Calabaza Criolla), híbridos de *Cucurbita maxima* (Delica F1 y Delicato F1) y *Cucurbita moschata* (Coloso F1 y Atlas F1), y el híbrido interespecífico *Cucurbita maxima* x *Cucurbita moschata* (Maravilla del Mercado F1). Este último constituye un 90% del volumen cosechado y comercializado en el principal mercado de frutas y hortalizas del país.

Los frutos provinieron de un estudio comparativo agronómico y de conservación realizados en el Centro Regional Sur (CRS-Facultad de Agronomía). Los zapallos fueron cosechados y almacenados en abril (otoño), en estructuras tradicionales, sin control de temperatura y humedad. Los frutos para su conservación, se colocaron apilados sobre una mesa, construída a la intemperie, de 1,20 m de ancho y 50 m de largo, de madera con un techo de chapas para evitar la lluvia sobre los frutos y al resguardo de una cortina de árboles. Las temperaturas registradas en el interior de las pilas de frutas fueron muy variables en el rango de 8 a 23 °C y 60 a 95% de humedad relativa. Las parcelas fueron distribuidas al azar en el almacenamiento y se muestrearon 3 frutos por material genético, en tres épocas durante la postcosecha comprendidas en el período Mayo-Agosto. De cada fruto se tomó una muestra de al menos 100 g de pulpa fresca sin cáscara y se congelaron a -20°C.

### Extracción de $\beta$ -caroteno

El contenido en  $\beta$ -caroteno fue determinado por triplicado. Se tomaron 2-3g de muestra descongelada y se agregaron 25mL de solución de extracción, compuesta por tetrahidrofurano (THF) y metanol de calidad HPLC en proporción 1:1. Se agitó durante 20 minutos a 500 r.p.m en un agitador magnético (Ika, Alemania). Se filtró con papel Whatman N°1 y sobre el sobrenadante se realizaron extracciones sucesivas de forma análoga a la anterior hasta pérdida de color. Los volúmenes obtenidos en cada extracción fueron

registrados. Este procedimiento se realizó al resguardo de la luz y con el agregado de 1% (m/m) de butilato hidroxil tolueno (BHT).

### **Análisis de $\beta$ -caroteno por HPLC**

La determinación de *trans*- $\beta$ -caroteno en base húmeda se realizó por HPLC. Se inyectaron 20 $\mu$ L del extracto en una columna de fase reversa YMC Carotenoid C<sub>30</sub> (Waters, USA). El equipo utilizado fue un Thermo Separations Products (USA) con detector UV-visible (UV2000) seteado a 450nm. Se usó como fase móvil Etanol:Metanol:THF en una relación 75:20:5, todos los solventes fueron calidad HPLC. El flujo de trabajo fue de 1,2mL min<sup>-1</sup> y se trabajó a temperatura ambiente. Para la cuantificación se utilizó como estándar externo  $\beta$ -caroteno 98% mín (Sigma, USA). La concentración de  $\beta$ -caroteno se expresa en mg/100 g de zapallo fresco.

### **Análisis estadístico**

Los resultados obtenidos se sometieron a análisis de varianza ( $p \leq 0,05$ ) y las medias se compararon por test de Tukey, mediante el programa SAS, Statistical Analysis System v8.1 (SAS Institute Inc., Cary, NC).

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

En los resultados del presente trabajo se observa que el contenido de  $\beta$ -caroteno varía de 0,08 a 3,74 mg/100g dependiendo del material genético y del mes de conservación (Tabla 1). Estos valores se encuentran dentro del rango determinado por Murkovic et al (2002), aunque lejos del extremo superior informado por este (7,4 mg/100g).

En la cuantificación realizada en el mes de mayo, a los 30 días de almacenados, se observa que la variedad con mayor contenido en  $\beta$ -caroteno es coloso f1 y con menor contenido el zapallo criollo. Visualmente esta diferencia concuerda con la tonalidad del fruto, siendo el criollo de color amarillo claro y el coloso f1 amarillo fuerte-anaranjado (datos no presentados). El híbrido maravilla del mercado f1 y la población local de zapallo criollo se diferencian del resto, siendo su contenido hasta 4 a 25 veces menor respectivamente.

En el mes de Junio se observa que Delica F1, Delicato F1 y Coloso F1 son las variedades que presentan los valores de  $\beta$ -caroteno más altos, sin existir diferencia significativa entre estos. El Criollo tiene el valor mas bajo, aunque superior al mes anterior. Para todas las variedades a excepción de Atlas F1 y Calabaza, el contenido en  $\beta$ -caroteno se incrementó en el mes de Junio.

Por último para el período julio-agosto se observa que la población local de zapallo criollo se sigue diferenciando del resto y permanece con el valor mas bajo. Según Murkovic et al (2002), las variedades que pertenecen a la especie *Cucurbita pepo* tienen rangos de valores de contenido en  $\beta$ -caroteno mas bajos que otras especies, como en el presente estudio. El resto de las variedades no presentan diferencia significativa entre si, siendo su valor alrededor de 2 mg/100g.

Los híbridos Coloso F1, Delicato F1 y Delica F1 y el Zapallo Criollo, presentan sus picos de  $\beta$ -caroteno en el mes de junio mientras que atlas F1 tiene el valor absoluto mas bajo en este mes. Maravilla del mercado F1 muestra un incremento paulatino en  $\beta$ -caroteno hacia el final de la poscosecha, lo que puede estar relacionado con una marcada carotenogénesis en esta variedad (Rodríguez-Amaya, 1999). Atlas F1 es un híbrido que mantiene relativamente constante el nivel de  $\beta$ -caroteno en el período considerado. Gross (1991) cita los trabajos de Hopp et al (1960) en *Cucurbita moschata* observando incremento de carotenos luego de 25 semanas de almacenamiento, y de similar modo Kon y Shimba (1988) estudiando en

*Cucurbita maxima* en dos temperaturas de conservación (10 a 25°C) durante tres meses de almacenamiento.

En las estructuras locales de almacenamientos, sin control de temperatura y humedad, la población local de zapallo criollo y el híbrido ínter específico maravilla del mercado f1, logran mantener un 70% de los frutos almacenados en un período promedio de seis meses con buena calidad comercial, a la vez que los híbridos de *Cucurbita maxima* (delica F1 y Delicato F1) se conservan sólo cuatro meses luego de cosecha. (Zaccari y Sollier, 2000; Zaccari et al, 2002). Bajo las condiciones de éste trabajo, la disponibilidad de frutos mediante una diversidad de especies se permitiría asegurar un aporte equilibrado de pro vitamina a en el periodo de estudio realizado, siendo necesario profundizar estos estudios.

### CONCLUSIONES.

Los materiales genéticos evaluados tienen comportamientos diferentes en cuanto al contenido de  $\beta$ -caroteno en el período considerado. El Zapallo Criollo fue el que presentó el nivel mas bajo y Delica F1 la que presenta el mas alto. El híbrido interespecífico Maravilla del Mercado F1, el zapallo más consumido en nuestro país, bajo las condiciones de este estudio, incrementó el contenido de provitamina A hacia el mes de agosto. Esta información muestra que mediante el conocimiento de la composición y evolución de  $\beta$ -caroteno de diferentes especies de *Cucurbita*, una hortaliza de bajo costo y fácil producción en las condiciones agro climáticas de Uruguay, se puede contribuir a mejorar el aporte diario de vitamina A de la población. Es necesario continuar investigando respecto de la influencia del procesamiento y almacenamiento sobre el contenido de provitamina A, de modo de ayudar a los sistemas de comercialización y a las industrias procesadoras de estas hortalizas a elegir las condiciones que favorezcan una mayor retención de la misma.

### AGRADECIMENTOS

Este trabajo fue realizado con fondos de la Unidad Poscosecha utilizando parte del tiempo de becarias asignadas a otros proyectos de la unidad, así como a la gentileza de la Unidad de Tecnología de Alimentos permitiendo el uso de su laboratorio sin contar con financiación específica.

### BIBLIOGRAFÍA

- Arima, H. K. Rodriguez-Amaya, D.B.. 1988. Carotenoid composition and vitamin A value of commercial Brazilian squashes and pumpkins. *J. Micronutr. Anal.* 4: 177-191
- Astorg, P. 1997. Food Carotenoids and cancer prevention: an overview of current research. *Trends in Food Science and Technology* 8, 406-413.
- Bramley, P. 2003. The genetic enhancement of phytochemicals: the case of carotenoids. Chapter 13. pg 153 - 179. In: *Phytochemical Functional Foods*. Johnson, I.T.. (ed.). Cambridge. GBR: Woodhead Publishing, Limited.
- Clevidence, Beverly; Inke, Paetau and Smith Jr, Cecil J. 2000. Bioavailability of carotenoids from vegetables. *HortScience* 35(4): 585 – 588
- Gross, J. 1991. Pumpkins and Squashes. (*Cucurbita pepo* L., *Cucurbita moschata* Lam., *Cucurbita maxima* Duch.). Cucurbitaceae. pg 225-237. In: *Pigments in vegetables: Chlorophylls and carotenoids*. AVI Book, Van Nostrand Reinold Pub. New York NY. 351p.
- INE (Instituto Nacional de Estadística). 1996. Aproximación estadística al consumo de alimentos de Uruguay. [www.mgap.gub.uy/Junagra/ElSector/consgas.htm](http://www.mgap.gub.uy/Junagra/ElSector/consgas.htm) (junio 2006)

- Murkovic, M.; Mülleder, U.; Neunteufl, H. 2002. Carotenoid Content in Different Varieties of Pumpkins. *Journal of Food Composition and Analysis*. 15(6): 633-638.
- Rodríguez Amaya, Delia B. 1999. Carotenoides y Preparación de Alimentos: la retención de los carotenoides provitamina A en alimentos preparados, procesados y almacenados. OMNI Project – John Snow Inc. 1997. 99 p.
- Rodríguez-Amaya, Delia B. 2001. A guide to carotenoid analysis in food. ILSI Press, USA, 5-10 pp.
- Southon, S.; Faulks, R. 2003. Carotenoids in food: bioavailability and functional benefits. Chapter 7. pg 117 - 127. In: *Phytochemical Functional Foods*. Johnson, I.T. (eds.). Cambridge, GBR: Woodhead Publishing, Limited.
- Zaccari, F.; Sollier, S. 2000. Caracterización de las pérdidas en almacenamiento de zapallos híbridos tipo kabutía (*Cucurbita maxima x Cucurbita moschata*) mediante estudio de casos. Facultad de Agronomía. Montevideo, Uruguay. *Revista Agrociencia*. Vol:III N°1:77-79.
- Zaccari, F.; Sollier, S.; Silveira, A.; Curbelo, N.; Gonzalez, P., Silvera, E. 2002. Seminario de Actualización en el Cultivo de Zapallo. pg 14 - 54. In: *Mesa Nacional de Cucurbitaceas*. Carballo, S. (Ed.). INIA-Las Brujas, Canelones. Uruguay. 62p

## TABLAS Y FIGURAS

**Tabla 1.** Contenido de  $\beta$ -caroteno (mg/100g base húmeda) en pulpa fresca de diferentes materiales genéticos de zapallo en los períodos de poscosecha Mayo, Junio y Julio-Agosto.

MATERIAL GENETICO	May.	Jun.	Jul.-Ag.
<i>Híbridos</i>			
<i>Atlas F1</i>	2,21bc <sup>z</sup> ± 0,68	2,14cd ± 0,52	2,24b ± 0.37
<b>Coloso F1</b>	2,77c ± 1,61	2,97de ± 0,15	1,70b ± 0.95
<b>Delicato F1</b>	2,69c ± 0,14	3,17e ± 0,31	2,48b ± 0.22
<b>Delica F1</b>	2,18bc ± 0,68	3,74e ± 0,12	2,51b ± 0.36
<b>Maravilla del Mercado F1</b>	0,49ab ± 0,01	1,75bc ± 0,44	2,71b ± 0.67
<b>Población local</b>			
<b>Criollo</b>	0,08a ± 0,03	0,17a ± 0,02	0,09a ± 0.05
<i>Calabaza</i>	2,59c ± 0,47	1,06ab ± 0,36	2,89b ± 0.50

<sup>z</sup> Valores seguidos por la misma letra dentro de cada columna no difieren significativamente entre sí (Tukey,  $\leq 5\%$ ).