

Universidad Pública de Navarra

Nafarroako Unibertsitate Publikoa

**ESCUELA TECNICA SUPERIOR
DE INGENIEROS AGRONOMOS**

*NEKAZARITZAKO INGENIARIEN
GOI MAILAKO ESKOLA TEKNIKOA*

**ÁCIDO ASCÓRBICO EN HORTALIZAS DE USO
FRECUENTE EN NAVARRA**

presentado por

SARAI SALAS MARTÍNEZ (e) *k*

aurkeztua

GRADO EN INNOVACIÓN DE PROCESOS Y PRODUCTOS ALIMENTARIOS
GRADUA ELIKAGAI PROZASU ETA PRODUKTUEN BERRIKUNTZAN

Enero, 2018

2018ko Urtarrila

RESUMEN

Llevar una dieta equilibrada es fundamental para el correcto mantenimiento de la salud. Uno de los nutrientes esenciales en nuestro organismo es el ácido ascórbico o vitamina C, un compuesto con gran poder antioxidante, capaz de prevenir numerosas enfermedades. Sin embargo, las células humanas no son capaces de sintetizarlo y, como consecuencia, se debe adquirir principalmente a través del consumo de frutas y hortalizas. Algunas frutas como los cítricos son conocidas por su alto contenido en vitamina C, aunque las hortalizas presentan unos niveles considerables. El objetivo de este estudio es lograr un mayor conocimiento acerca del contenido de ácido ascórbico en distintas hortalizas de uso frecuente.

En primer lugar, se ha llevado a cabo un análisis de las distintas Tablas de Composición de Alimentos (TCA), analizando los niveles de ascorbato. Tras ello, se han determinado los niveles de ácido ascórbico en un conjunto de hortalizas de flor, fruto y hoja, analizando su estado redox.

Las distintas TCA presentan contenidos comparables de ascorbato en la mayoría de los alimentos, aunque se observan algunas diferencias con respecto al número de alimentos que incluyen, y su clasificación. Los contenidos de ascorbato determinados son coherentes con los presentados en las TCA, siendo las hortalizas de fruto, como el pimiento, las que mayores niveles presentan y las de hoja, como la acelga, las más pobres. El estado redox es muy alto en pimiento siendo muy bajo en el resto de hortalizas. Tanto las formas oxidadas como reducidas poseen acción vitamínica, pero su absorción ocurre de diferente manera, por lo que esto podría tener efectos distintos en el metabolismo celular.

Palabras clave: ácido ascórbico, ácido dehidroascórbico, antioxidante, hortaliza, tablas de composición de alimentos.

ABSTRACT

Keeping a balanced diet is essential for the proper maintenance of health. One of the essential nutrients in our body is ascorbic acid or vitamin C, a compound with high antioxidant power, capable of preventing many diseases. However, human cells do not have the ability of synthesizing it and, as a consequence, it must be obtained from the consumption of fruits and vegetables. Some fruits such as citrus fruits are known for their high content of vitamin C, although vegetables have important levels. The objective of this study is to achieve greater knowledge about the content of ascorbic acid in different frequently used vegetables.

In the first place, an analysis of the different Food Composition Tables (FCT) was carried out, analyzing ascorbate levels. After that, the levels of ascorbic acid have been determined in a group of vegetables of flower, fruit, and leaf, analyzing their redox state.

The different FCTs have comparable contents of ascorbate in most foods, although some differences are observed respecting the number of foods included, and their classification. The determined ascorbate contents are coherent with those presented in the FCT, being the fruit vegetables, such as pepper, the ones with the highest levels and the leaf ones, such as chard, the poorest ones. The redox state is very high in pepper being very low in the rest of vegetables. Both the oxidized and reduced forms have vitamin action, but their absorption occurs in different ways so that it could have different effects on cellular metabolism.

Key words: ascorbic acid, dehydroascorbic acid, antioxidant, vegetable, food composition tables.

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	2
1.1. Vitaminas y antioxidantes	2
1.1.1. Ácido ascórbico	3
1.2. Ácido ascórbico en plantas.....	4
1.2.1. Funciones y distribución subcelular	4
1.2.2. Ruta de Halliwell-Asada.....	6
1.3. Ácido ascórbico en el organismo humano	6
1.3.1. Funciones más importantes	6
1.3.2. Absorción en el organismo.....	7
1.3.3. Recomendaciones nutricionales	9
1.4. Ácido ascórbico en alimentos	10
1.4.1. Fuentes alimentarias	10
1.4.2. Degradación	12
2. OBJETIVO.....	14
3. MATERIALES Y MÉTODOS	15
3.1. Análisis de las tablas de composición de alimentos.....	15
3.2. Determinación de ascorbato.....	16
3.2.1. Preparación de la muestra	16
3.2.2. Extracción del ascorbato	18
3.3.3. Determinación de ácido ascórbico.....	19
3.3.4. Análisis estadístico	19
4. RESULTADOS	20
4.1. Tablas de composición de alimentos: estudio comparativo del contenido de ascorbato en las distintas hortalizas	20
4.1.1. Contenido de vitamina C en hortalizas	20
4.1.2. Clasificación en función de los órganos comestibles de las hortalizas	22
4.2. Contenido de ascorbato en hortalizas de uso frecuente en Navarra	24
5. DISCUSIÓN.....	28
6. CONCLUSIONES	39
7. BIBLIOGRAFÍA.....	40

1. INTRODUCCIÓN

La alimentación es la base de nuestra vida y tiene una función esencial en el mantenimiento de la salud y en la prevención de numerosas enfermedades. Los nutrientes que ingerimos cumplen funciones energéticas, estructurales o reguladoras en nuestro organismo. Los diferentes alimentos contienen distintas cantidades de nutrientes, si bien tanto la combinación de éstos en el alimento como su biodisponibilidad – proporción de nutriente que se absorbe y llega a las células para su uso o almacenamiento – afectan a su absorción, remarcando la necesidad de consumir una dieta variada y equilibrada (Alonso y Lorenzo, 2013). Un claro ejemplo del efecto de la interacción entre nutrientes es el gran aumento de la biodisponibilidad del hierro en presencia de vitamina C (Sandström, 2001). Los distintos nutrientes se clasifican en macronutrientes como proteínas, lípidos o hidratos de carbono, que son necesarios en cantidades relativamente altas y aportan la mayor parte de la energía metabólica del organismo, y micronutrientes, necesarios en menores cantidades pero igual de importantes, como las vitaminas y los minerales (Moreiras et al., 2006).

Los micronutrientes se encuentran en los alimentos en pequeñas cantidades, sin embargo, no podemos prescindir de ellos (Steiner y Middleton, 1991) ya que son necesarios para el buen funcionamiento del organismo y para un correcto metabolismo de los macronutrientes (Alonso y Lorenzo, 2013). Los hábitos inadecuados de alimentación y el ritmo de vida en la sociedad actual han llevado a un menor consumo de vitaminas y minerales, favoreciendo trastornos como la obesidad, el envejecimiento temprano y las enfermedades crónicas como alteraciones cardiovasculares o cáncer (Romero et al., 1990).

1.1. Vitaminas y antioxidantes

Las vitaminas son compuestos orgánicos, pertenecientes al grupo de micronutrientes, que, como ya se ha comentado, son necesarias en pequeñas cantidades para el metabolismo corporal normal y que las células del cuerpo no pueden fabricar (Guyton y Hall, 2000).

Según su solubilidad, las vitaminas se clasifican en hidrosolubles como la vitamina C y las del complejo B, y liposolubles como las vitaminas A, D, E y K (Steiner y Middleton, 1991; Wickens, 2001). Cada una de ellas posee diversas actividades biológicas en el organismo y se obtienen en la dieta a partir de los distintos alimentos (Alonso y Lorenzo, 2013). Algunas se caracterizan por ser potentes antioxidantes. La oxidación de las biomoléculas es un proceso habitual en el cuerpo humano, si bien puede ser acelerado por hábitos como fumar, el estrés o el consumo elevado de alcohol. Ésta

supone la pérdida de electrones y con ello el deterioro de las moléculas, y en este contexto los antioxidantes son compuestos que actúan neutralizando los radicales libres y compuestos oxidantes presentes en las células, como las especies reactivas de oxígeno (ROS) (Smirnoff, 2005). Entre las vitaminas con actividad antioxidante destacan la vitamina E o los tocoferoles, cuya función principal es impedir o retrasar la peroxidación de los ácidos grasos poliinsaturados (Romero et al., 1990), la vitamina A o los carotenoides con funciones foto-protectoras (Smirnoff, 2005) y la vitamina C o ascorbato que interviene en el ciclo de Halliwell-Asada y contribuye a la neutralización enzimática y no enzimática de las especies reactivas de oxígeno (Noctor y Foyer, 1998). Además, estas vitaminas son dependientes unas de otras de manera que la vitamina C determina las reservas de vitamina E y ésta a su vez protege a los carotenoides (Romero et al., 1990).

El presente trabajo se va a centrar en la vitamina C o ácido ascórbico, un metabolito multifuncional y esencial tanto en plantas como en animales. Como se comenta posteriormente, los principales suministradores de esta vitamina en la dieta son las frutas y hortalizas, aunque también se encuentra en concentraciones importantes en algunos órganos animales como el hígado, el riñón o el cerebro (Johnston et al., 2007).

1.1.1. Ácido ascórbico

El ácido ascórbico es una pequeña molécula de seis carbonos, constituida por un anillo casi plano de cinco lados. Los carbonos simétricos 4 y 5 determinan los cuatro estereoisómeros (Johnston et al., 2007), siendo la forma natural de la vitamina el isómero L, el cual constituye la forma activa con propiedades nutricionales. El isómero D presenta únicamente el 10% de la actividad del isómero L mostrando potencial óxido-reductor, pero no tiene función vitamínica (Ordóñez et al., 1998; Jesse y Gregory, 2000). En la Figura 1.1 se muestra la estructura química de los dos estereoisómeros del carbono 4.

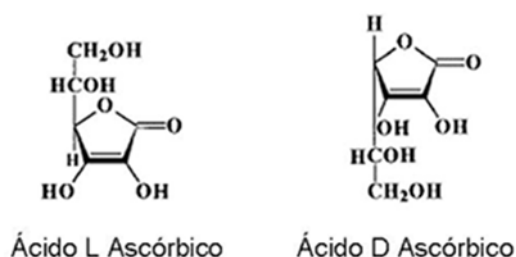


Figura 1.1. Estructura química de los isómeros ópticos del carbono 4 (L y D) del ácido ascórbico. Extraído de Jesse y Gregory (2000).

Se trata de una molécula con capacidad oxidoreductora, por lo que puede presentarse bien en su forma reducida como ácido ascórbico (AA o ASC), o bien en sus dos formas oxidadas, ácido monodehidroascórbico (MDHA) y ácido dehidroascórbico (DHA) (Zechmann, 2011; Ramírez et al., 2017). Es esencial en la defensa contra el estrés oxidativo, tanto de plantas como de animales, ya que puede actuar como antioxidante no enzimático y neutralizar ROS, además de participar en la modulación de la expresión génica y en la regulación de actividades enzimáticas como ha sido demostrado en organismos fotosintéticos (Ishikawa y Shigeoka, 2008). Se trata de una molécula eficiente ya que puede reaccionar con un amplio rango de radicales y oxidantes biológicamente importantes (Carr y Frei, 1999).

La síntesis de ácido ascórbico varía entre plantas y animales, aunque en ambos casos se produce a partir de glucosa (Smirnoff, 2005). Esta glucosa está fácilmente disponible en las células y se estima que únicamente el 1% de la glucosa se destina para la síntesis de ascorbato, por lo que la síntesis de este compuesto no supone un alto coste energético (Gest et al., 2013).

1.2. Ácido ascórbico en plantas

1.2.1. Funciones y distribución subcelular

El ascorbato es una de las moléculas antioxidantes más abundantes en las plantas, principalmente en las hojas (Smirnoff, 2005). Su distribución en los diferentes compartimentos celulares es esencial para el desarrollo, crecimiento y defensa de la planta (Smirnoff et al., 2001; Zechmann, 2011) ya que interviene en la división celular y en la síntesis de la pared celular (Tóth et al., 2013). Este antioxidante se encuentra en casi todos los tejidos de las plantas, excepto en semillas secas. Puede transportarse fácilmente desde la superficie de las hojas hasta los tejidos internos e intercambiarse entre los distintos órganos mediante el sistema de haces vasculares (Smirnoff, 2005; Zechmann, 2011). Está presente en la mayoría de los compartimentos subcelulares como el citosol, cloroplastos, vacuolas y la matriz extracelular, entre otros (Zechmann et al., 2011). Tiende a acumularse en los órganos fotosintéticos pero también puede alcanzar altas concentraciones en tejidos no fotosintéticos como tejidos meristémicos, flores y frutos, raíces y ápices de estolones o tubérculos (Gest et al., 2013). Se han llegado a registrar valores de entre 2 y 20 $\mu\text{mol/g}$ FW en hojas de plantas superiores (Smirnoff et al., 2001).

En el estudio realizado por Zechmann et al. (2011) se analiza el contenido total de ascorbato en hojas de la especie modelo *Arabidopsis thaliana* que fue de 5,6 $\mu\text{mol/g}$ FW, determinado mediante HPLC. A partir de este valor se estimaron las concentraciones en los orgánulos individuales, concretamente en mitocondria,

cloroplastos, núcleo, peroxisomas, citoplasma y vacuolas (Figura 1.2), concluyendo que el peroxisoma y el citoplasma contenían una concentración relativamente más alta que el resto de compartimentos celulares. De esta forma, en la mayoría de los estudios cuando se analizan los contenidos de ascorbato, lo que se obtiene es el valor medio de todo el tejido, pero pueden existir diferencias en los distintos compartimentos.

Además de intervenir en el desarrollo de la planta, el ascorbato también se ha visto implicado en procesos como la fotoprotección o la biosíntesis de componentes esenciales (Gest et al., 2013), y su función más destacada, la protección frente a los ROS en condiciones de estrés ambiental (Smirnoff, 2005). Otro potente antioxidante capaz de captar y eliminar radicales reactivos de oxígeno es el glutatión (GSH), el cual participa en el reciclaje de ácido ascórbico mediante el ciclo ascorbato-glutatión (Asada, 2006). Esta molécula, más ampliamente presente que el ascorbato, posee muchas funciones clave en las plantas y es particularmente necesaria para la mitosis y el desarrollo de las raíces. El lugar de mayor síntesis de glutatión en las plantas son las hojas verdes, si bien, al igual que el ascorbato, también es transportado al resto de tejidos y órganos (Foyer, 2005).

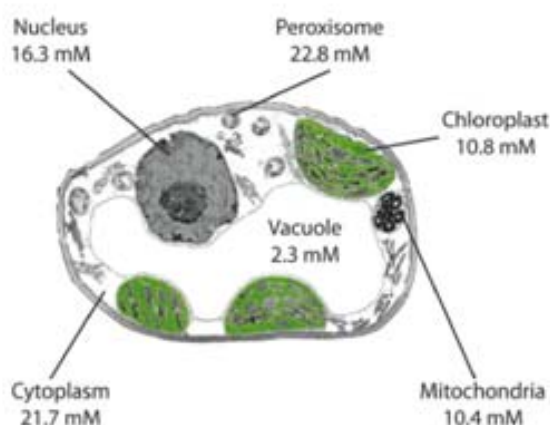


Figura 1.2. Distribución de ascorbato a nivel intracelular en células fotosintéticas de *Arabidopsis thaliana*. Extraído de Gest et al. (2013).

La exposición a estrés ambiental conlleva cambios en los niveles de antioxidantes. El 90% del contenido de ascorbato en hojas sanas se encuentra normalmente en forma reducida, estando el resto como DHA, y tiende a oxidarse más en las paredes celulares (Foyer, 2005). El ratio entre ambas formas es clave para la protección de la planta, ya que cuando se forman ROS dentro de la célula, se generan grandes cantidades de DHA con la consecuente pérdida de la actividad antioxidante (Zechmann, 2011). Un efecto extremo es el bloqueo del ciclo celular cuando el ascorbato y el glutatión se oxidan bajo condiciones de estrés ambiental (Foyer, 2005).

1.2.2. Ruta de Halliwell-Asada

El fundamento de la ruta de Halliwell-Asada o ciclo del ascorbato-glutatión se basa en la detoxificación del peróxido de hidrógeno (H_2O_2) a agua mediante la acción de la ascorbato peroxidasa (APX) (Dalton, 1995). A su vez, es un sistema regenerativo que consigue mantener el ascorbato en su forma reducida mediante la acción de varias moléculas, incluyendo el glutatión (Smirnoff, 2005).

En el ciclo (Figura 1.3) intervienen cuatro enzimas trabajando conjuntamente en la eliminación de H_2O_2 y utilizando NADH y NADPH como poder reductor. Comienza cuando la APX oxida el ascorbato a MDHA, el cual puede regenerarse en ASC mediante la monodehidroascorbato reductasa (MDHAR) o convertirse de forma espontánea en DHA. El DHA seguidamente da lugar a ASC mediante la dehidroascorbato reductasa (DHAR) que oxida de manera simultánea el GSH. Finalmente, el glutatión oxidado (GSSG) se regenera por la acción de la glutatión reductasa (GR) que utiliza poder reductor en forma de NADPH (Dalton, 1995).

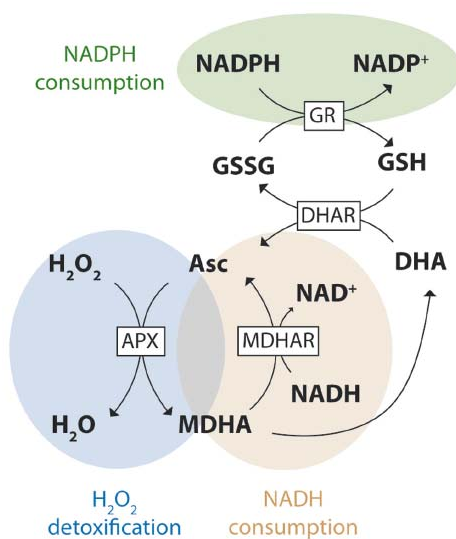


Figura 1.3. Ciclo del ascorbato-glutatión. Extraído de Gest et al. (2013).

1.3. Ácido ascórbico en el organismo humano

1.3.1. Funciones más importantes

Actualmente se conocen numerosas funciones biológicas y químicas que desempeña la vitamina C en nuestro organismo. Al igual que en las plantas, participa en numerosas vías metabólicas e interviene en muchos procesos fisiológicos (Ramírez et al., 2017),

siendo imprescindible para lograr un correcto metabolismo y una función celular adecuada (Frei et al., 2012).

Es un gran antioxidante capaz de captar y neutralizar radicales libres resultantes del metabolismo celular, protegiendo a otros compuestos como proteínas, lípidos o ácidos nucleicos (Frei et al., 2012; Karger y Basel, 2015). Por ello se cree que contribuye a disminuir el daño celular y, en consecuencia, la aparición de enfermedades crónicas degenerativas (Karger y Basel, 2015).

Es un regulador enzimático que actúa como sustrato o cofactor en determinadas reacciones enzimáticas (Ashor et al., 2015; Karger y Basel, 2015), participando en la síntesis y en el mantenimiento de sustancias como el colágeno. También se considera un regulador del metabolismo que incrementa la absorción de hierro a nivel intestinal (Naidu, 2003; Frei et al., 2012) y controla la absorción de grasa manteniendo los niveles adecuados de lipoproteínas de baja y alta densidad (LDL y HDL, respectivamente) (Ashor et al., 2015). Finalmente, es un regulador del sistema inmunológico (Frei et al., 2012), de manera que es esencial en la cicatrización de heridas y en la protección contra infecciones (Wickens, 2001).

1.3.2. Absorción en el organismo

El ácido ascórbico es sintetizado por la mayoría de especies animales a partir de la glucosa, especialmente en hígado, intestino y glándulas suprarrenales. Sin embargo, para algunos animales como los cobayos, murciélagos frugívoros, algunas aves, ciertos primates y los humanos, es una vitamina esencial debido a que no poseen la capacidad de sintetizarla. Esta incapacidad de síntesis se debe a que la última enzima involucrada en el proceso, la L-gulono- γ -lactona oxidasa (GLO), está ausente en los organismos de estas especies (Nishikimi et al., 1994). Aunque los humanos no podemos sintetizar esta vitamina, la mayoría de los tejidos y órganos acumulan concentraciones que van desde los 0.07-0.09 mg hasta los 30-40 mg por cada 100 gramos de tejido, tomándola del flujo sanguíneo que distribuye por el cuerpo los nutrientes de los alimentos (EFSA, 2013). Las concentraciones intracelulares son bastante más altas que las concentraciones en plasma. En las glándulas pituitarias y suprarrenales, en los ojos y en el cerebro se encuentran concentraciones mayores que en el riñón, el corazón y el tejido muscular esquelético (Johnston et al., 2007; Carr et al., 2013; Tabla 1.1).

La concentración de ascorbato en plasma es un indicador de los niveles de vitamina C, un biomarcador para la ingesta actual de este nutriente. El mismo parámetro en estado de ayunas es un biomarcador que se extrapola para estimar los niveles de ascorbato a nivel de individuo y de esta manera se puede hacer recomendaciones de ingesta a largo plazo. Este biomarcador está influido por varios factores como el

tabaco, el embarazo, la edad, el género y la presencia de infecciones, siendo el nivel en plasma más bajo en fumadores, mujeres embarazadas, ancianos, hombres y personas con infecciones (Karger y Basel, 2015). Así mismo, la concentración aumenta de forma exponencial con el aumento de ingesta del nutriente, siendo de unos 50 $\mu\text{mol/L}$ cuando la ingesta de vitamina C se encuentra entre 60 y 100 mg al día. Una concentración igual o mayor a 50 $\mu\text{mol/L}$ representa un estado adecuado, sin embargo, entre 10 y 50 $\mu\text{mol/L}$ indica un riesgo de deficiencia y siendo menor de 20 $\mu\text{mol/L}$ se suele asociar a síntomas subclínicos (EFSA, 2013; Karger y Basel, 2015).

Tabla 1.1. Concentración de ácido ascórbico (AA) en diferentes tejidos del cuerpo humano. Expresado en mg por cada 100 gramos de peso fresco de tejido. Modificado de Johnston et al. (2007).

Tejido	Concentración AA (mg/100 g)
Glándulas suprarrenales	30-40
Glándulas pituitarias	40-50
Hígado	10-16
Bazo	10-15
Pulmones	7
Riñón	5-15
Testículos	3
Tiroides	2
Cerebro	13-15
Ojos	25-31
Músculo esquelético	3-4
Corazón	5-15
Plasma	0.4-1.0

El ácido ascórbico no se puede almacenar en el organismo pero es absorbido en el intestino delgado mediante transporte activo (Ramírez et al., 2017). Esta absorción está controlada por una serie de transportadores activos dependientes de sodio presentes en las células que acumulan ascorbato. Dentro de las células, el DHA se reduce de nuevo a ascorbato mediante enzimas que usan nucleótidos de glutatión y piridina como donadores de electrones. Las células animales comparten los mismos enzimas e intermediarios presentes en el ciclo de Halliwell-Asada (Figura 1.3) excepto la APX (Locato et al., 2013; Halliwell y Gutteridge, 2015).

Al ingerir altas concentraciones de vitamina, puede generarse un exceso de la misma, no pudiendo ser absorbido. La parte de vitamina C no absorbida es parcialmente metabolizada a ácidos orgánicos y CO_2 por la microbiota intestinal y excretada vía renal a través de la orina, por lo que una sobredosis o toxicidad de esta vitamina es poco

probable (Johnston et al., 2007; Karger y Basel, 2015). Con una ingesta de vitamina C de 100 mg al día, se excreta en la orina en torno al 25% de dicha ingesta (EFSA, 2013). La EFSA (2013) asume una biodisponibilidad del 80% aproximadamente, cuando la ingesta es de 100 mg al día, como base para estimar los valores de ingesta de referencia de vitamina C.

1.3.3. Recomendaciones nutricionales

Una ingesta limitada de vitamina C causa síntomas generales como fatiga, insomnio, pérdida de peso o el incremento del riesgo de sufrir infecciones (Locato et al., 2013). Sin embargo, una deficiencia severa puede provocar escorbuto, enfermedad vista por primera vez hacia finales del siglo XV entre los marineros que hacían largos viajes por mar, con una dieta ausente de alimentos frescos, y cuya solución fue el consumo de frutas cítricas (Naidu, 2003). Los efectos más importantes de esta enfermedad son la falta de cicatrización de heridas, la detención del crecimiento de los huesos y la fragilidad de las paredes de los vasos sanguíneos (Guyton y Hall, 2000). La EFSA (2013) afirma que con una ingesta por encima de 10 mg de vitamina C al día se puede prevenir esta enfermedad. Por el contrario, no se establece un nivel de ingesta máxima tolerable para la vitamina C (EFSA, 2013), sugiriendo que ésta posee una toxicidad aguda leve y, la consecuencia más clara que se ha podido observar, es un efecto gastrointestinal agudo a niveles de 3-4 gramos diarios (Naidu, 2003; EFSA, 2013).

Las necesidades de nutrientes difieren según edad, sexo, actividad física o estado fisiológico. A pesar de tener el mismo enfoque, los valores pueden variar entre los distintos países de la UE, desde 74 mg/día de ingesta de vitamina C para mujeres adultas entre 18 y 35 años en Irlanda hasta los 136 mg/día para el mismo sector en Portugal (EFSA, 2013). Tras la realización de los estudios correspondientes, la EFSA (2013) concluye que la ingesta recomendada (IR) para adultos a partir de 18 años es de 110 mg/día en hombres y 95 mg/día en mujeres, siendo este valor menor en niños y más elevado en mujeres embarazadas y en periodo de lactancia (Tabla 1.2).

El Instituto de Medicina de Washington (2000) establece una ingesta recomendada de 90 mg/día para hombres adultos a partir de 19 años y 75 mg/día para mujeres adultas. Al igual que en el caso de Europa, estas ingestas son inferiores para niños y superiores para mujeres embarazadas y en periodo de lactancia, sin bien se puede comprobar que las cantidades de referencia en Europa son mayores en comparación con las indicadas para Estados Unidos y Canadá (Standing Committee on the Scientific Evaluation of dietary reference intakes, 2000).

Tabla 1.2. Valores de Ingesta Recomendada (IR) de vitamina C, expresados como mg de vitamina C al día, según la EFSA. Extraído de EFSA (2013).

Edad	IR (mg/día)	
	Hombres	Mujeres
7 – 11 meses	20	20
1 – 3 años	20	20
4 – 6 años	30	30
7 – 10 años	45	45
11 – 14 años	70	70
15 – 17 años	100	90
≥ 18 años	110	95
Embarazo	-	+ 10
Lactancia	-	+ 60

En cuanto a las declaraciones nutricionales en alimentos establecidas tanto en el Real Decreto 1669/2009 como en la Directiva 2008/100/CE, relativos al etiquetado sobre propiedades nutritivas de los productos alimenticios, la cantidad diaria recomendada (CDR) de vitamina C es de 80 mg y, una cantidad significativa a partir de la cual puede declararse en el etiquetado, se considera un 15% de la CDR suministrada por 100 g o 100 ml de alimento.

1.4. Ácido ascórbico en alimentos

1.4.1. Fuentes alimentarias

Todos los alimentos aportan vitaminas en mayor o menor medida, por tanto, en una dieta variada y equilibrada es probable que se cubran los requerimientos vitamínicos sin problema. En un estudio realizado entre 1992 y 2003 sobre las ingestas de energía y nutrientes en Cataluña, se llegó a la conclusión de que los mayores contribuidores a la ingesta de vitamina C en España son frutas (49%) y hortalizas (30%) y seguidamente, en un porcentaje bastante menor, se encuentran las bebidas no alcohólicas, las patatas y los productos lácteos (Serra-Majem et al., 2007; Figura 1.4).

Por tanto, las frutas y hortalizas son las principales suministradoras de ácido ascórbico en la dieta, pudiendo contribuir hasta el 90% del requerimiento dietético humano de vitamina C (Salunkhe et al., 1991; Figura 1.5), por lo que tener conocimiento acerca de su contenido en alimentos es importante, tanto para los consumidores como para las empresas de control de calidad (Spínola et al., 2014).

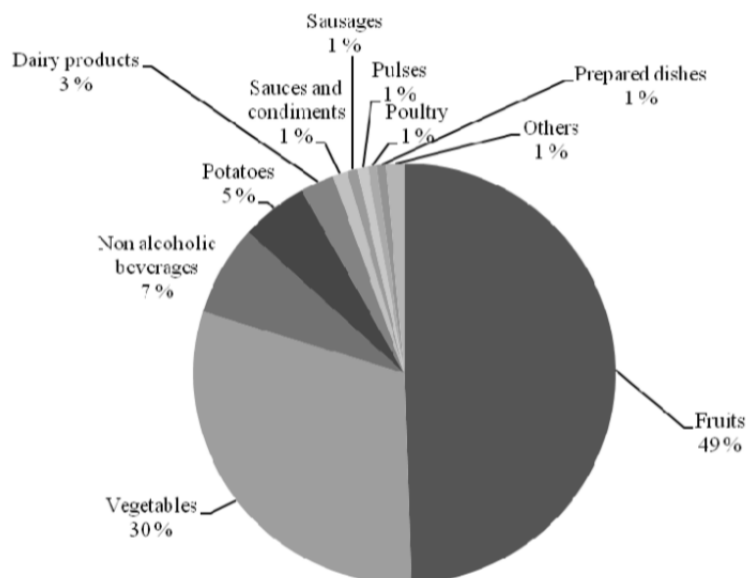


Figura 1.4. Alimentos contribuyentes a la ingesta de vitamina C en España. Extraído de EFSA, 2013 (adaptado de Serra-Majem et al., 2007).

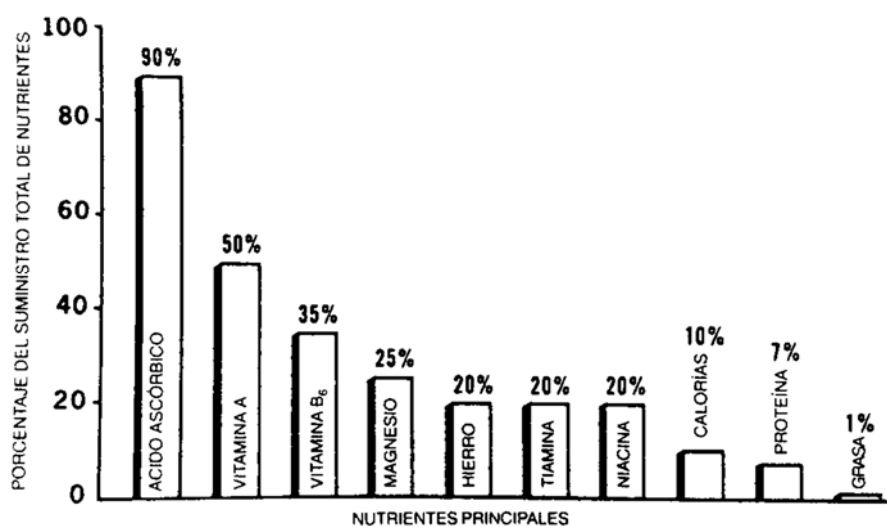


Figura 1.5. Contribución nutricional de las frutas y verduras en comparación con el porcentaje de suministro total de alimentos. Extraído de Salunkhe et al. (1991).

Algunas de las frutas con mayor contenido de ascorbato son kiwi, fresas, melón, así como frutas cítricas y sus jugos. A pesar de estar en menores cantidades, algunos tejidos animales también contienen vitamina C, principalmente el hígado, que posee una mayor concentración en comparación con otros productos animales (EFSA, 2013). En la Tabla 1.3 se puede apreciar el contenido de vitamina C en ciertos productos vegetales y animales.

Tabla 1.3. Vitamina C en algunas frutas, hortalizas y productos animales. Expresado como mg de vitamina C por 100 g de porción comestible. Modificado de Johnston et al. (2007).

Vitamina C (mg/100 g)					
Frutas		Hortalizas		Productos animales	
Manzana	3-30	Espárrago	15-30	Leche de vaca	0.5-2
Plátano	8-16	Aguacate	10	Leche humana	3-6
Mora	8-10	Brócoli	80-90	Carne de vacuno	1-2
Cereza	15-30	Remolacha	6-8	Cerdo	1-2
Grosella roja	20-50	Alubias	10-15	Ternera	1-1.5
Grosella negra	150-200	Coles de Bruselas	100-120	Jamón	20-25
Uva	2-5	Repollo	30-70	Hígado (pollo)	15-20
Pomelo	30-70	Zanahoria	5-10	Riñón (pollo)	6-8
Kiwi	80-90	Pepino	6-8	Corazón (pollo)	5
Limón	40-50	Coliflor	50-70	Molleja (pollo)	5-7
Melón	9-60	Berenjena	15-20	Cangrejo	1-4
Mango	10-15	Cebollín	40-50	Langosta	3
Naranja	30-50	Col rizada	70-100	Camarón	2-4
Pera	2-5	Cebolla	10-15		
Piña	15-25	Guisantes	8-12		
Ciruela	2-3	Patata	4-30		
Escaramujo	250-800	Calabaza	15		
Fresa	40-70	Rábano	25		
Tomate	10-20	Espinacas	35-40		

Cabe destacar que, dentro de un mismo grupo de alimentos, las concentraciones de antioxidantes pueden variar de un producto a otro y con ello su poder antioxidante. Este hecho supone que la capacidad para prevenir enfermedades relacionadas con el estrés oxidativo no sea la misma para los diferentes alimentos (Morillas y Delgado, 2012). El contenido de vitamina C en frutas y hortalizas varía según la especie, pero también se ve afectado, entre otros factores, por las condiciones ambientales como temperatura, luz, humedad y estado nutricional del suelo, el estado de madurez, las prácticas de cosecha, el transporte hasta el mercado y su recepción, la vida útil, el tiempo de almacenamiento, las prácticas culinarias, la cloración del agua y el envasado (Salunkhe y Kadam, 2004; EFSA, 2013; FAO/WHO, 2001).

1.4.2. Degradación

En los alimentos, la degradación del ácido ascórbico puede ocurrir debido a procesos oxidativos, en condiciones aerobias, aunque también puede ocurrir una degradación anaerobia mediante un proceso complejo que no es muy importante en la mayoría de los alimentos (Santos y Silva, 2008).

A pH fisiológico predomina su forma aniónica, pero puede sufrir una oxidación generando el dehidroascorbato, el cual no posee carga, por lo que no tiene carácter ácido, y es muy inestable (Smirnoff, 2005; Tóth et al., 2013). Si hay poder reductor en el medio puede reducirse de nuevo a ascorbato, pero de lo contrario sufre una hidrólisis de manera espontánea e irreversible, originando el ácido 2,3-dicetogulónico (Johnston et al., 2007; Ramírez et al., 2017) y tras descarboxilación, dando lugar a una serie de metabolitos secundarios (Figura 1.6). La reducción del DHA es esencial para el mantenimiento de los niveles de ascorbato en las células (Johnston et al., 2007). La oxidación reversible AA-DHA es la base de este sistema de oxidación-reducción, clave para su función antioxidante y sus actividades fisiológicas (Romero et al. 1990; Johnston et al., 2007; Smirnoff, 2005).

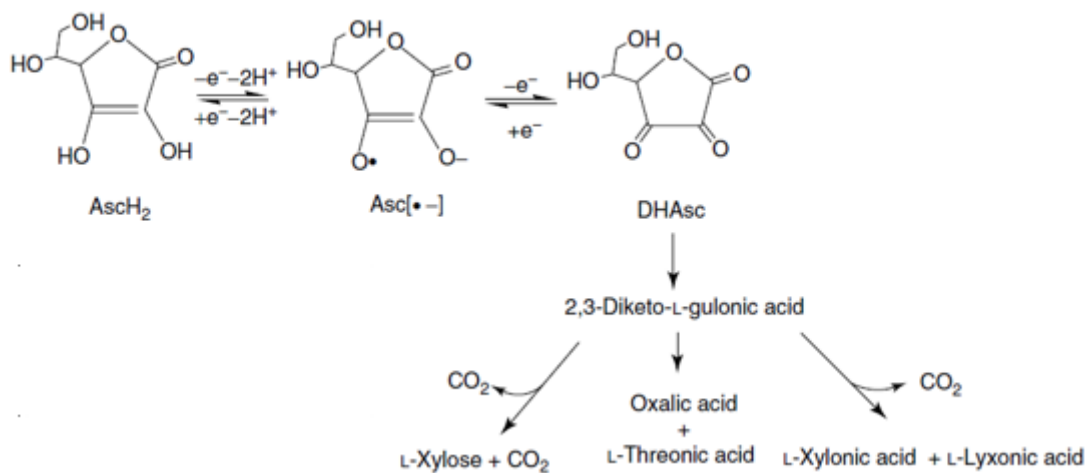


Figura 1.6. Ácido ascórbico y varios de sus productos de oxidación. AscH₂ (ácido ascórbico reducido); Asc [-] (radical ascorbato); DHAsc (ácido dehidroascórbico). Extraído de Johnston et al. (2007).

El ácido ascórbico es estable al aire, la luz o la temperatura ambiental, sin embargo, en soluciones acuosas o en los alimentos, esta estabilidad varía dependiendo tanto de las condiciones de almacenamiento como de la matriz que lo contiene (Santos y Silva, 2008). Existen muchos factores influyentes en su degradación, entre ellos, el pH, la temperatura, el oxígeno, la actividad de agua y la presencia de enzimas o de catalizadores metálicos (Ordóñez et al., 1998; Santos y Silva, 2008; Spínola et al., 2014).

2. OBJETIVO

El ácido ascórbico o vitamina C es un metabolito con un importante papel antioxidante a nivel celular. Aunque la mayoría de los seres vivos son capaces de sintetizarlo, los humanos no pueden sintetizar esta vitamina y por lo tanto tienen que obtenerla de los alimentos. A pesar de que la principal fuente de vitamina C son los cítricos, esta vitamina está presente en cantidades notables en muchas hortalizas que pueden ser fuentes más importantes, debido a que la disponibilidad de los vegetales se extiende por periodos más largos durante el año que la disponibilidad de las frutas (FAO/WHO, 2001). El presente Trabajo Fin de Grado tiene como objetivo central lograr un mayor conocimiento acerca del contenido de ácido ascórbico en distintas hortalizas, analizando su distribución en las distintas partes consumidas de la planta y su estado de oxidación.

Este objetivo general se ha abordado a través de una serie de objetivos específicos:

- 1. Analizar la coherencia entre las distintas tablas de composición de alimentos, atendiendo en particular al contenido de ácido ascórbico en las hortalizas.
- 2. Determinar los niveles de ascorbato en una selección de hortalizas de hoja, flor y fruto de la huerta navarra y compararlos con los descritos en las tablas de composición de alimentos, teniendo en cuenta la parte de la planta que se consume en cada hortaliza.
- 3. Caracterizar el estado redox del ácido ascórbico en las hortalizas estudiadas y analizar su importancia en las funciones antioxidantes que ejerce en nuestro organismo.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Análisis de las tablas de composición de alimentos

Las Tablas de Composición de Alimentos (TCA) son una recopilación de datos de composición de los principales alimentos disponibles en un determinado ámbito geográfico. Son una herramienta fundamental tanto para los profesionales de la nutrición, como para la investigación o el estudio en el ámbito alimentario y nutricional. Por ello es importante tener conocimiento acerca de la metodología y la fuente de los datos utilizados, así como de la complejidad que supone su elaboración (Farran et al., 2003).

En esta parte del trabajo se estudiaron y escogieron como referencia dos fuentes de información:

1. Tablas de Composición de Alimentos del CESNID (Centro de Enseñanza Superior de Nutrición y Dietética) (Farran et al., 2003).

Estas tablas han sido elaboradas por profesionales de la Nutrición y la Dietética de gran prestigio, pertenecientes a este centro establecido en Cataluña, una Fundación Privada sin ánimo de lucro de tipo docente y cultural, en el que forman parte numerosas entidades reconocidas. Se han realizado a partir de la recopilación de datos ya existentes, tratados y seleccionados con el fin de mostrar valores lo más fiables y representativos posibles, correspondientes al mercado español. Las fuentes utilizadas para la recopilación de datos son tablas de composición españolas y extranjeras, y datos obtenidos a partir de publicaciones científicas, empresas agroalimentarias, tesis doctorales y procedentes de laboratorios. La lista de alimentos se organiza en tres niveles, teniendo así 19 grupos, 64 subgrupos y un total de 698 alimentos, de los cuales 77 se encuentran dentro del grupo de verduras y hortalizas. La vitamina C aparece expresada en mg/100 g de porción comestible y corresponde a la suma del ácido ascórbico y del ácido dehidroascórbico.

2. Base de Datos Española de Composición de Alimentos desarrollada por RedBEDCA (AESAN/BEDCA, 2010).

Esta base de datos recibe ayuda y financiación del Ministerio de Ciencia e Innovación (MICINN), por la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) y por la Red Europea de Excelencia EuroFIR.

Se han elaborado gracias a la colaboración de investigadores de diferentes Universidades y Centros del Consejo Superior de Investigaciones Científicas, y construida con los estándares europeos.

Los miembros que componen BEDCA son:

- AESAN. Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición
- CESNID. Centre d'Ensenyament Superior de Nutrició i Dietética
- Federación de Industrias de Alimentación y Bebidas (FIAB)
- Fundación Triptolemos
- Hospital Puerta de Hierro. Consejería de Sanidad de la Comunidad de Madrid. Universidad Autónoma de Madrid.
- Instituto de la Grasa. CSIC
- Instituto del Frío. CSIC
- Universidad Complutense de Madrid
- Universidad de Barcelona
- Universidad de Córdoba
- Universidad de Granada
- Universidad de Murcia

Los valores de composición reflejados en esta base de datos han sido obtenidos mediante meta-análisis, es decir, a través de un procedimiento cuyo fin es revisar, ordenar y sintetizar los resultados de un conjunto de estudios e investigaciones. Las fuentes utilizadas incluyen laboratorios, industria alimentaria y publicaciones científicas o calculados. La lista de alimentos se divide en 13 grupos con un total de 911 alimentos, de los cuales 91 corresponden al grupo de verduras, hortalizas y derivados. La vitamina C aparece expresada en mg/100 g de porción comestible y se refiere a la suma de ácido ascórbico y ácido dehidroascórbico.

Con ambas referencias, se valoró el contenido de vitamina C presente en algunos de los alimentos incluidos en el grupo de verduras y hortalizas.

3.2. Determinación de ascorbato

3.2.1. Preparación de la muestra

Las hortalizas escogidas para el análisis se obtuvieron en un establecimiento comercial especializado que asegurase la máxima frescura en los productos. En base al análisis previo de las tablas de composición de alimentos se seleccionaron hortalizas de fruto, flor y hoja con distintos contenidos de ascorbato (Figuras 3.1, 3.2 y 3.3).



Pimiento rojo morrón



Pimiento verde italiano

Figura 3.1. Hortalizas de fruto escogidas para el análisis.



Brócoli



Coliflor



Alcachofa blanca de Tudela

Figura 3.2. Inflorescencias escogidas para el análisis (marcadas las partes analizadas en cada una).



Acelga



Lechuga batavia

Figura 3.3. Hortalizas de hoja escogidas para el análisis (marcadas las partes analizadas de la acelga).

Todas las hortalizas fueron alicuotadas y congeladas el mismo día de la compra. Para cada muestra se prepararon siete tubos eppendorf con el material a analizar cortado en pequeños trozos de manera homogénea (Figura 3.4). Con el objetivo de minimizar los procesos oxidativos, todas las muestras preparadas se congelaron inmediatamente en nitrógeno líquido y seguidamente se almacenaron en el congelador a -20°C hasta su procesado.



Figura 3.4. Muestras troceadas de tallo (izquierda) y hoja (derecha) de acelga.

Por otro lado, una alícuota del mismo material vegetal se llevó a la estufa a 80°C con el fin de obtener el peso seco correspondiente y poder determinar el contenido hídrico de cada hortaliza. Debido a que las diferentes hortalizas poseen distintos contenidos hídricos, este parámetro se utiliza para expresar posteriormente el contenido de ascorbato en función del peso seco.

3.2.2. Extracción del ascorbato

Con el objetivo de extraer el ácido ascórbico, se trituraron 0,15 g de muestra congelada en un mortero a 4°C, añadiendo 1 ml de 2% ácido metafosfórico (MPA) frío y consiguiendo así una mezcla homogénea. En el caso de muestras con mayor dificultad para extraer o detectar el antioxidante se utilizaron 0,20 g de material fresco. El MPA actúa como extractante y estabilizador, inhibiendo la acción degradativa de la ascorbato oxidasa. Una vez obtenida la mezcla, se vertió en un eppendorf y se centrifugó dos veces, separando el sobrenadante. Este paso es muy importante debido a que las interferencias en la matriz pueden afectar a la detección o cuantificación posterior. Los sobrenadantes se almacenaron en el congelador a -80°C hasta su posterior análisis y durante el mismo se mantuvieron en hielo para evitar su degradación. Las condiciones de centrifugación fueron 2 minutos a 4°C y 6000 rpm (9000 g) en una centrifuga de eppendorf (Figura 3.5).



Figura 3.5. Centrifuga de eppendorf. Microfuge 22R Centrifuge, de Beckman Coulter.

3.3.3. Determinación de ácido ascórbico

El ácido ascórbico se determinó tal como describe Herrero-Martínez et al. (2000). Se utilizó un medidor de electroforesis capilar, *P/ACE Capillary Electrophoresis System* de *Beckman Coulter* (Figura 3.6), equipado con un software para el control del aparato y el manejo de datos. El capilar es de sílice fundido de 30/37 cm de longitud y 50 micras de diámetro interno. La inyección se realizó a presión durante 3 segundos con una potencia de -15kV a 23°C. El buffer empleado se compone de 60 Mm NaH₂PO₄, 60 Mm NaCl y 0.0001% hexadimethrin bromida (MDM), ajustando el pH a 7.0 con NaOH. El ascorbato (ASC) se detecta a una longitud de onda de 256 nm.

Para la medición del ascorbato reducido (ASC) se prepararon alícuotas de 180 µl del extracto y 20 µl del estándar interno (ácido ascórbico-2-fosfato, AA2P). Por otro lado, para determinar la forma oxidada de ácido ascórbico (DHA), se redujeron las muestras de material vegetal oxidadas añadiendo una alícuota de 100 µl del extracto con 50 µl de una solución de ditiotreitól (DTT) 200 mM en TRIS 400 mM. Tras un tiempo de incubación, se mide el ASC total directamente en el aparato de electroforesis capilar (Herrero-Martínez et al., 2000). Los niveles de DHA se calcularon como la diferencia entre el contenido total de ascorbato y los niveles de ascorbato reducido presentes en las muestras sin tratar con DTT (Davey et al., 2003).



Figura 3.6. *P/ACE Capillary Electrophoresis System* de *Beckman Coulter*.

3.3.4. Análisis estadístico

Para el análisis de las variables establecidas en este trabajo, se ha calculado la media como estadístico de tendencia central y el error estándar como estadístico de dispersión. Se realizaron 5 réplicas biológicas por muestra. A su vez, se ha realizado la prueba t-student estableciendo que las diferencias son significativas para una $p \leq 0.05$.

4. RESULTADOS

4.1. Tablas de composición de alimentos: estudio comparativo del contenido de ascorbato en las distintas hortalizas

4.1.1. Contenido de vitamina C en hortalizas

Mediante los datos extraídos de las Tablas de Composición de Alimentos del CESNID (Farran et al., 2003) se ha elaborado una gráfica donde se representa de una manera más clara y directa el contenido de vitamina C en las distintas hortalizas. Entre las 32 hortalizas seleccionadas, el pimiento rojo y el verde son las de mayor contenido en ácido ascórbico, seguidas del brécol y las coles de Bruselas. Por el contrario, la zanahoria, la berenjena o el cardo se encuentran entre las hortalizas más pobres en dicha vitamina (Figura 4.1).

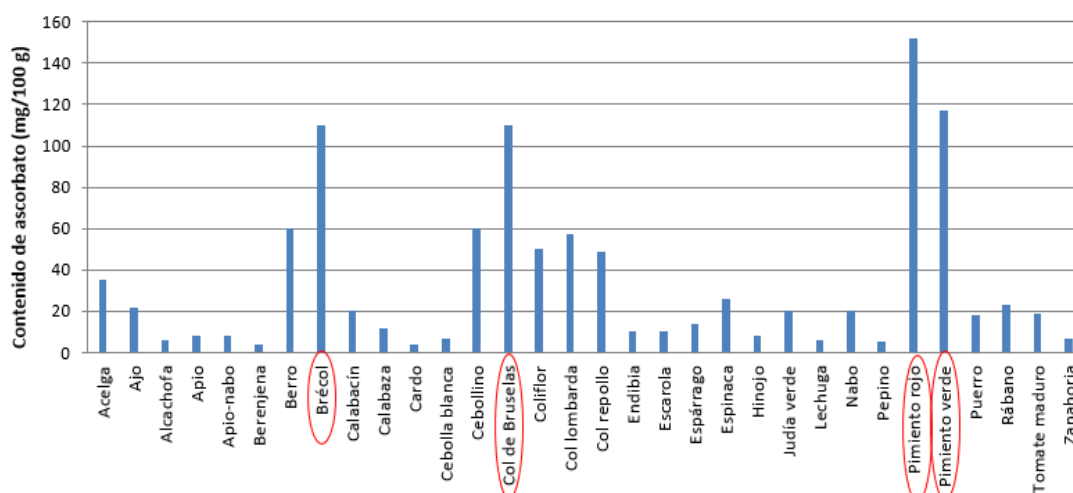


Figura 4.1. Contenido de vitamina C en distintas hortalizas, expresado en mg por cada 100 gramos de porción comestible. Los círculos rojos indican las hortalizas con mayor contenido en ascorbato. Datos extraídos de CESNID.

Esta información se ha comparado con la Base de Datos BEDCA, coincidiendo en las hortalizas con mayor y menor contenido en ascorbato. Aunque cabe destacar que en esta fuente no aparecen registrados el apio-nabo, el hinojo ni el pimiento verde, y los valores para la coliflor, la espinaca y la judía verde corresponden a las verduras congeladas. Los valores registrados difieren en el ajo, el cardo, la cebolla y la col lombarda donde el contenido de vitamina C es menor, así como el espárrago y la lechuga en las que el contenido es mayor (Figura 4.2; AESAN/BEDCA, 2010).

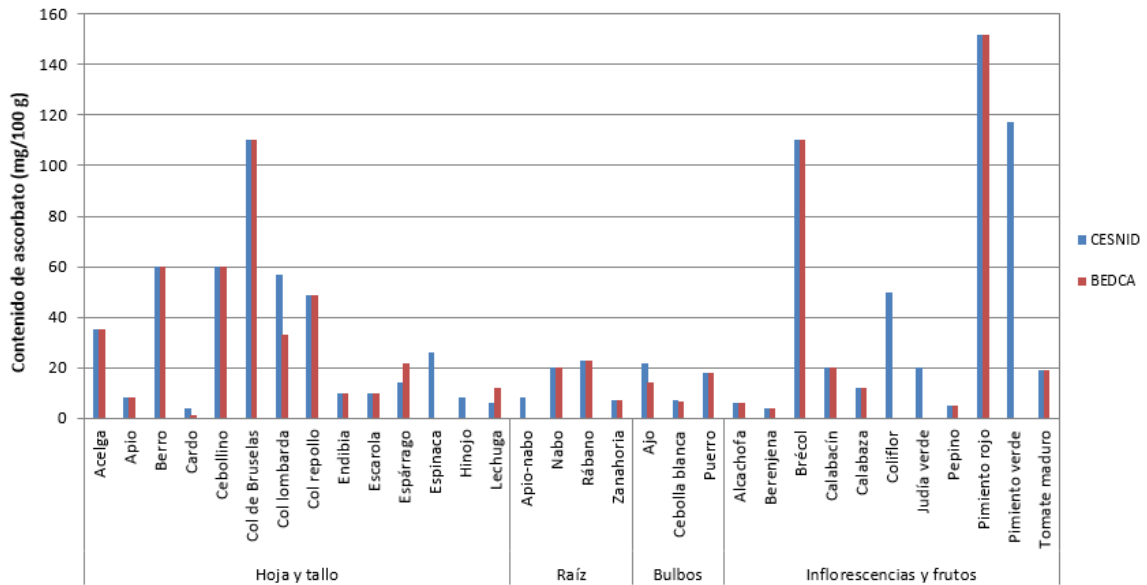


Figura 4.2. Comparación del contenido de vitamina C en los distintos grupos de hortalizas, entre la base de datos BEDCA y las Tablas de Composición de Alimentos del CESNID.

A pesar de tomar estas dos últimas fuentes comentadas, como referencia para el posterior análisis experimental, también se han analizado las Tablas de Composición de Alimentos de Moreiras et al. (2006) y la información obtenida a través de Salunkhe y Kadam (2004), con el fin de comparar las diferentes fuentes y comprobar la tendencia que sigue cada una en cuanto al contenido de vitamina C en las hortalizas.

A partir de las tablas de composición de alimentos de Moreiras et al. (2006) se comparan 44 hortalizas diferentes (Figura 4.3), de las cuales el pimiento rojo y el verde son las hortalizas más ricas en vitamina C, con 131 mg/100 g de porción comestible, seguidos de la col de Bruselas, el brécol y el pimiento morrón. Por otro lado, la hortaliza que presenta el menor valor es el cardo, con 1 mg de vitamina por cada 100 g, seguido de la lechuga iceberg, la zanahoria y la berenjena, entre otras. El resto de hortalizas se encuentran en un rango de concentración intermedio.

El número de hortalizas estudiadas en la fuente de Salunkhe y Kadam (2004) es menor, 18 en este caso, y el contenido de vitamina varía en algunas con respecto a las fuentes anteriores. Sin embargo, coincide en cuanto a las de mayor y menor contenido (Figura 4.4). Se puede seguir afirmando que el pimiento es la hortaliza con más vitamina C (128 mg/100 g), en este caso seguida de la calabaza amarga, y que la zanahoria o el apio se encuentran entre las de menor contenido.

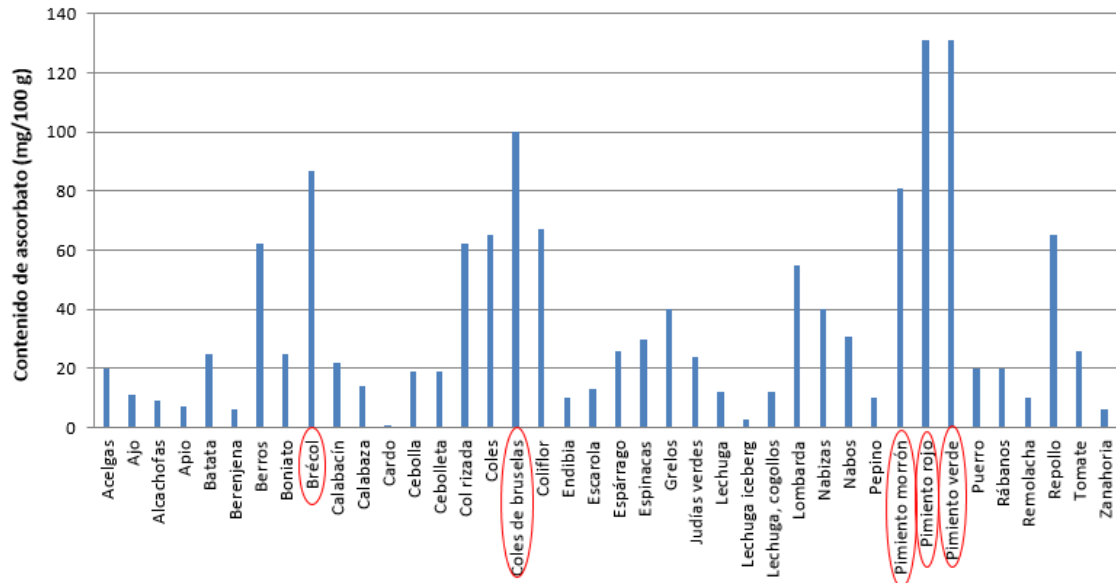


Figura 4.3. Contenido de vitamina C en distintas hortalizas, expresado en mg por cada 100 gramos de porción comestible. Los círculos rojos indican las hortalizas con mayor contenido en ascorbato. Datos extraídos de Moreiras et al. (2006).

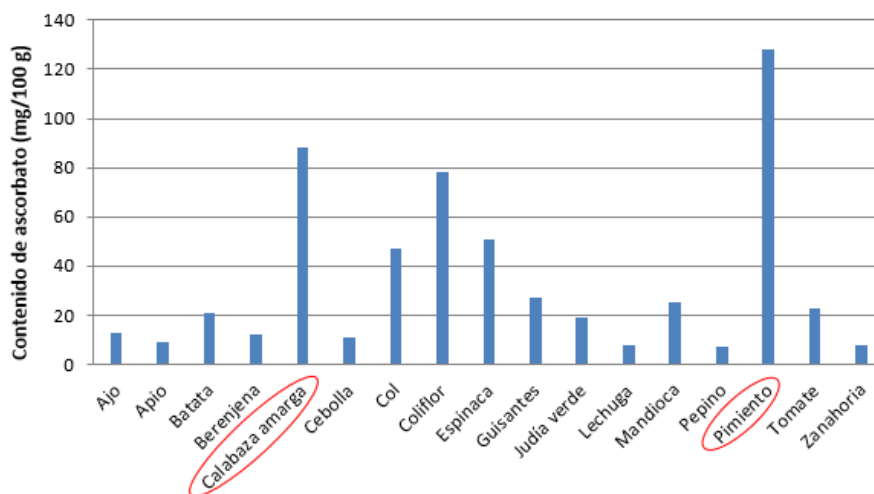


Figura 4.4. Contenido de vitamina C en distintas hortalizas, expresado en mg por cada 100 gramos de porción comestible. Los círculos rojos indican las hortalizas con mayor contenido en ascorbato. Datos extraídos de Salunkhe y Kadam (2004).

4.1.2. Clasificación en función de los órganos comestibles de las hortalizas

El Código Alimentario Español (CAE) clasifica las hortalizas según la parte de la planta a la que pertenecen, la forma de presentación y la calidad comercial. En la sección 1ª del capítulo XXI del CAE se clasifican las hortalizas en función de la parte de la planta a que pertenecen (Tabla 4.1; Decreto 2484/1967). En otras referencias aparecen clasificadas

en función de su uso final y botánica o de acuerdo al órgano de la planta utilizado (Salunkhe y Kadam, 2004). A pesar de que en Salunkhe y Kadam (2004) también se clasifican en función del órgano de la planta (Tabla 4.2), hay diferencias con respecto al CAE, como por ejemplo que hacen referencia a la patata como un tallo, mientras que en el CAE la patata se encuentra en la familia de los tubérculos.

Tabla 4.1. Clasificación de las hortalizas en función de la parte de la planta a que pertenecen. Datos extraídos de Decreto 2484/1967.

Frutos	Berenjena, guindilla, maíz dulce, pimiento
Bulbos	Ajo, cebolla, puerro
Coles	Berza, brócoli, col de Bruselas, coliflor, lombarda, repollo
Hojas y tallos tiernos	Berro, borraja, cardo, escarola, espinaca, lechuga
Inflorescencias	Alcachofa
Legumbres verdes	Guisante, haba, judía
Pepónides	Calabacín, calabaza, pepino
Raíces	Achicoria, apio, colinabo, nabo, rábano, remolacha, zanahoria
Tallos jóvenes	Apio, espárrago

Tabla 4.2. Clasificación de las hortalizas de acuerdo con el órgano de la planta utilizado. Extraído de Salunkhe y Kadam (2004).

Hortalizas de raíz	Zanahoria, apio nabo, ajo, rábano picante, chirivía, mandioca, rábano, rutabaga, salsifí, batata, remolacha de mesa, nabo
Hortalizas de tallo	Espárrago, patata, pataca, colinabo, taro, ñame
Hortalizas de hoja	Amaranto, col, cardo, apio, col china, acelga, achicoria, cebolleta, amargón, endibia, cebolla, puerro, lechuga, col rizada, mostaza, espinaca de Nueva Zelanda, chalota
Hortalizas de flor	Coliflor, brécol, alcachofa
Hortalizas de frutos inmaduros	Judías, pepinillo, berenjena, okra, guisante, pimiento, calabacín, maíz dulce
Hortalizas de frutos maduros	Pimiento, calabaza, melón, tomate

Como se ha comentado anteriormente, una de las referencias escogidas para este trabajo son las Tablas de Composición de Alimentos del CESNID elaboradas por Farran et al. (2003), donde las 32 hortalizas seleccionadas se agrupan en cuatro familias diferentes: hoja y tallo, raíz, bulbos e inflorescencias y frutos. Al igual que en el CAE, en las tablas de composición del CESNID la patata también se incluye en el grupo de tubérculos. Sin embargo, el tomate se considera un fruto mientras que en el CAE se encuentra en el grupo de las frutas, entre más diferencias detectables con otras hortalizas.

En la Figura 4.5 aparece representado el contenido medio de ácido ascórbico de cada grupo de hortalizas seleccionadas a partir de CESNID y BEDCA, y se puede comprobar

que el grupo de inflorescencias y frutos presenta un mayor contenido de ácido ascórbico con respecto al resto, debido especialmente al pimiento rojo. Le siguen las hortalizas de hoja y tallo, mientras que las raíces y los bulbos son los grupos con menor contenido en ascorbato. A pesar de todo ello, los valores difieren bastante dentro de cada grupo teniendo, por ejemplo, 110 mg de ascorbato para las coles de Bruselas, dentro del grupo de hoja y tallo, frente a la berenjena, un fruto, con 4 mg de ascorbato (Farran et al., 2003; AESAN/BEDCA, 2010).

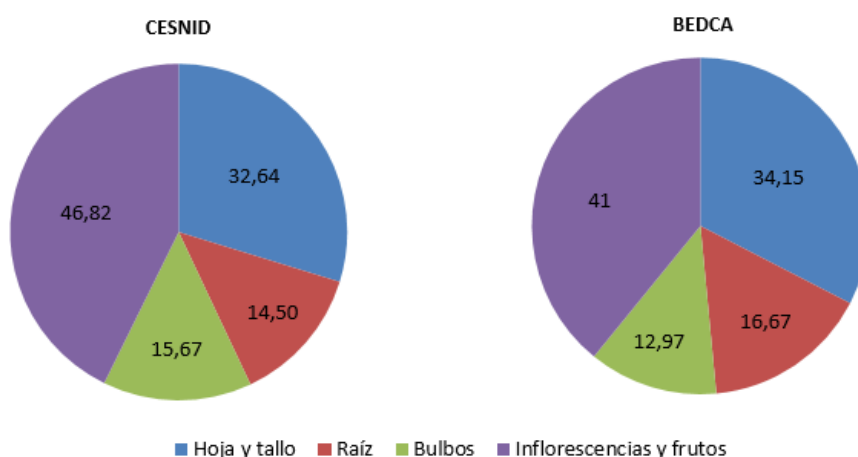


Figura 4.5. Diagrama sobre el valor medio de ascorbato que representa cada grupo de hortalizas. A la izquierda se representan los datos de CESNID y a la derecha los datos de BEDCA.

4.2. Contenido de ascorbato en hortalizas de uso frecuente en Navarra

Con el fin de comprobar e interpretar el comportamiento del ascorbato en las hortalizas, se ha determinado la concentración de ácido ascórbico, ácido dehidroascórbico y ascorbato total expresado en mg/g de peso seco (PS). Además, también se ha calculado la proporción que supone el ascorbato reducido respecto del ascorbato total en cada hortaliza.

Hortalizas de fruto: pimiento verde y rojo

El pimiento verde tiene mayor cantidad de ácido ascórbico reducido, oxidado y total en comparación con el pimiento rojo, siendo estas diferencias significativas en el ascorbato reducido y total. Por otro lado, no hay diferencias en el ratio ascorbato reducido: ascorbato total entre ambas hortalizas, teniendo un 83% de ascorbato reducido (Figura 4.6).

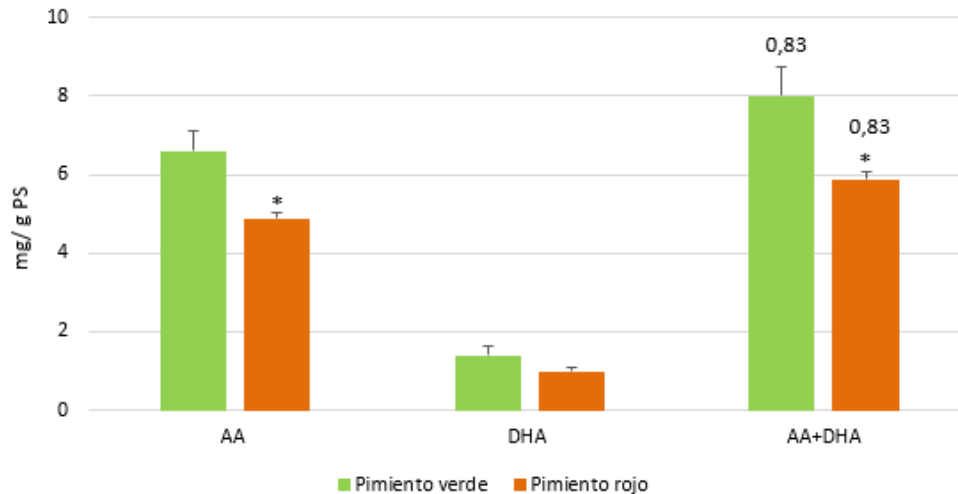


Figura 4.6. Contenido de ácido ascórbico (AA), ácido dehidroascórbico (DHA) y total (AA+DHA), en pimiento verde y rojo (mg/g PS). Las columnas representan la media \pm error estándar ($n=5$) y el asterisco (*) indica diferencias significativas entre ambas hortalizas. En la parte superior de las columnas de AA+DHA se muestra el ratio AA/(AA+DHA) para ambas hortalizas.

Hortalizas de flor: brócoli, coliflor y alcachofa

En el caso del brócoli, la mayor parte del ácido ascórbico se encuentra en su forma oxidada, sobre todo en la flor, donde se aprecian diferencias significativas con respecto al tallo, tanto en el ascorbato reducido como en el oxidado. Esto se observa también en la diferencia estadística en los ratios AA/AA total entre ambos órganos, siendo este significativamente mucho menor en la flor (Figura 4.7).

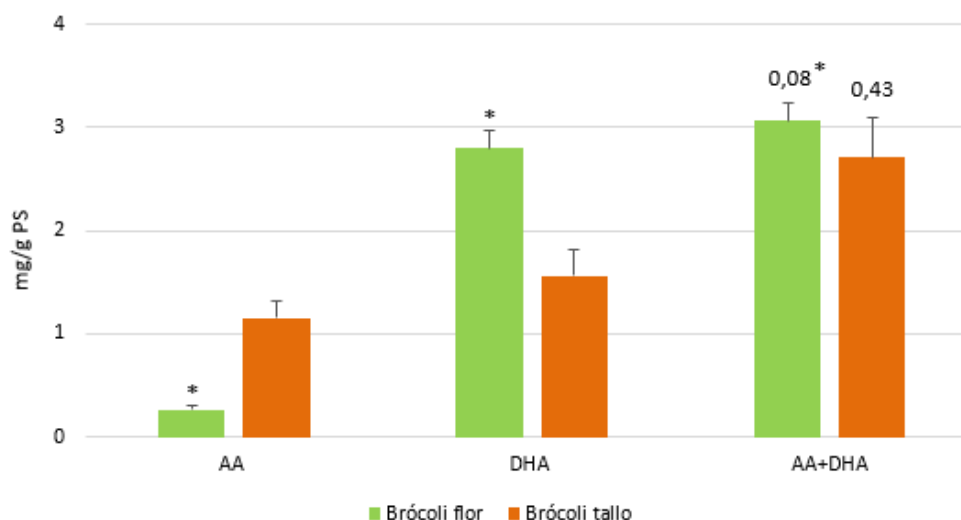


Figura 4.7. Contenido de ácido ascórbico (AA), ácido dehidroascórbico (DHA) y total (AA+DHA), en flor y tallo de brócoli (mg/g PS). Las columnas representan la media \pm error estándar ($n=5$) y el asterisco (*) indica diferencias significativas entre la flor y el tallo. En la parte superior de las columnas de AA+DHA se muestra el ratio AA/(AA+DHA) para ambos órganos.

En cuanto a la coliflor, los niveles de ascorbato reducido se encuentran por debajo del límite de detección de la técnica, el cual es de $0,75 \mu\text{mol/g PS}$, equivalente a $0,13 \text{ mg/g PS}$, por lo que el ratio AA/AA total no se puede calcular con exactitud, aunque en función de los resultados obtenidos, este ratio tendrá valores muy inferiores a los del brócoli o el pimiento. Por otra parte, se han detectado niveles de ascorbato en su forma oxidada, sin embargo, no se encuentran diferencias significativas entre ambos órganos de la hortaliza (Figura 4.8).

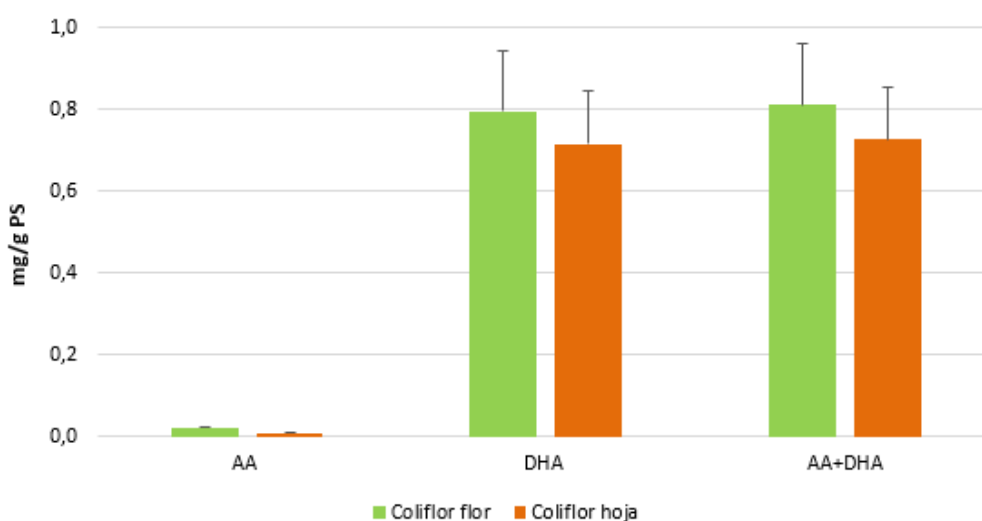


Figura 4.8. Contenido de ácido ascórbico (AA), ácido dehidroascórbico (DHA) y total (AA+DHA), en flor y hoja de coliflor (mg/g PS). Las columnas representan la media \pm error estándar (n=5).

Al igual que ocurre con la coliflor, la electroforesis capilar en la alcachofa no ha detectado el contenido de ácido ascórbico reducido, por lo que el ratio ascorbato reducido: ascorbato total no se puede calcular con exactitud. Se han obtenido valores de DHA, siendo mayores en la parte exterior, aunque sin diferencias significativas entre ambas partes de la hortaliza. A su vez, se puede observar que los valores obtenidos para la alcachofa son muy bajos en comparación con el resto de hortalizas (Figura 4.9).

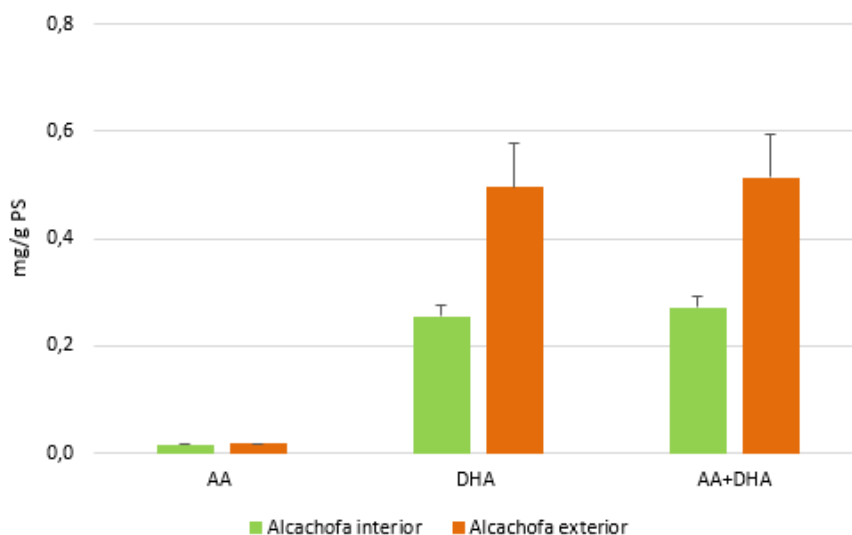


Figura 4.9. Contenido de ácido ascórbico (AA), ácido dehidroascórbico (DHA) y total (AA+DHA), en el interior y exterior de alcachofa (mg/g PS). Las columnas representan la media \pm error estándar (n=5).

Hortalizas de hoja: acelga y lechuga

En cuanto a las hortalizas de hoja, los valores de ácido ascórbico en la lechuga se encuentran por debajo del límite de detección, en su forma tanto reducida como oxidada. En el caso de la acelga, se han analizado la hoja y el tallo, pero únicamente se han obtenido valores de dehidroascorbato en la hoja, por lo que el ratio AA/AA total no se ha podido calcular con exactitud. Puede apreciarse que los niveles de DHA observados en la acelga son muy inferiores a los del resto de hortalizas analizadas (Figura 4.10).

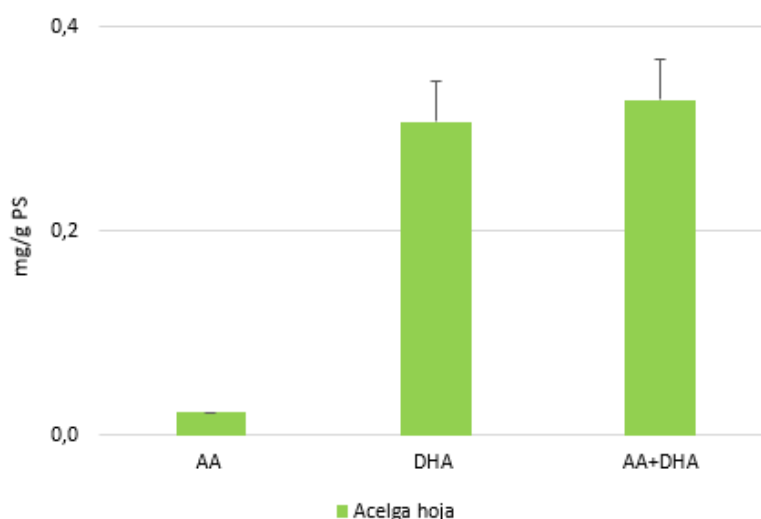


Figura 4.10. Contenido de ácido ascórbico (AA), ácido dehidroascórbico (DHA) y total (AA+DHA), en hoja de acelga (mg/g PS). Las columnas representan la media \pm error estándar (n=5).

5. DISCUSIÓN

¿Son comparables las distintas TCA?

La nutrición ha sido siempre, y sigue siendo en la actualidad, un tema muy importante para la salud. Necesitamos la energía y los nutrientes almacenados en los alimentos, por lo que es fundamental que se encuentren en la cantidad y calidad necesaria. Se aprecia, cada vez más, un creciente interés por la relación entre la dieta y las enfermedades crónicas degenerativas, sin embargo, a veces se generan mitos en torno a los alimentos y sus propiedades, que pueden llevar a engaño o confusión del consumidor. Por esta razón es primordial informar a la población sobre aspectos dietéticos y nutricionales, momento en el que adquieren protagonismo las Tablas de Composición de Alimentos (TCA) (Moreiras et al., 2006). Una TCA consiste en un conjunto de datos de composición de los principales alimentos disponibles en un determinado ámbito geográfico. Contiene información sobre el contenido de energía, agua, carbohidratos, proteínas, lípidos, fibra, minerales y vitaminas de numerosos alimentos tanto frescos como procesados, y normalmente se refiere a 100 gramos de porción comestible (Farran et al., 2003). Las TCA no son útiles solamente para los consumidores sino también para organismos encargados de programar una política alimentaria, investigadores en nutrición y tecnología de alimentos, profesionales de la sanidad, industria y restauración (Moreiras et al., 2006).

Existen numerosas tablas de composición de alimentos y en este trabajo se han analizado las tablas elaboradas por Farran et al. (2003) del CESNID, por Salunkhe y Kadam (2004) y por Moreiras et al. (2006). A partir de este análisis, se han escogido como referencia para nuestro estudio las tablas del CESNID, comparándolas a su vez con la información obtenida en RedBEDCA, donde se encuentra el CESNID entre sus miembros. Actualmente, la información de todas las tablas de composición de alimentos de Europa está integrada en un banco de datos perteneciente al proyecto EUROFOODS de la UE, y se ha utilizado metodología estandarizada que permite la comparación de las TCA entre países (Moreiras et al., 2006).

Oficialmente se distinguen dos métodos para la elaboración de las tablas, directo e indirecto. Los valores obtenidos a través del método directo son resultado de los análisis llevados a cabo para la creación de bases de datos, y tiene como ventaja la generación de datos altamente fiables debido a los procedimientos de muestreo, análisis y control de calidad. El método indirecto, por el contrario, utiliza datos tomados de publicaciones bibliográficas o estudios de laboratorio no publicados, por lo que hay un menor control en la calidad de los datos. Se utiliza principalmente cuando estos recursos están limitados o cuando los alimentos provienen de otros países donde están disponibles los datos necesarios. También existe el método combinado, en el

que los alimentos más destacados se analizan directamente y los valores de aquellos alimentos con menor importancia se toman de otras fuentes (Greenfield y Southgate, 2003; Farran et al., 2003). Otro de los aspectos a tener en cuenta son los tipos de datos, cuyas fuentes pueden ser valores analíticos originales, valores estimados a partir de un alimento parecido o de otra forma del mismo alimento, valores calculados derivados de los ingredientes y con los factores de corrección determinados, o valores prestados de otras bases de datos cuya referencia original no está disponible (Greenfield y Southgate, 2003).

Además de diferir en el método de elaboración y en la obtención de los datos, las TCA presentan otra serie de diferencias, como son la cantidad de alimentos estudiados o la manera de clasificarlos dentro de cada grupo de alimentos. En el presente trabajo se han tratado las hortalizas, cuya clasificación más común es de acuerdo al órgano de la planta utilizado o consumido (Decreto 2484/1967). Según la fuente que se esté consultando puede no haber ningún tipo de distinción dentro del grupo de verduras y hortalizas, como ocurre con la Base de Datos RedBEDCA y, por otra parte, las tablas de composición pueden hacer distintas clasificaciones de los alimentos. Algunas fuentes pueden incluir una hortaliza en un determinado subgrupo, mientras que otras suponen dicha hortaliza en otro subgrupo dependiendo de la forma en la que se consume. Por ejemplo, el CAE y el CESNID incluyen la patata en el grupo de los tubérculos, mientras que Shalunke y Kadam (2004) la referencian como un tallo, y el CESNID considera el tomate como un fruto dentro de las hortalizas, mientras que en el CAE aparece en el grupo de las frutas. Este tipo de diferencias de clasificación es muy habitual entre las distintas bases de datos.

Resulta muy difícil encontrar dos tablas iguales, con los mismos alimentos y los mismos valores de nutrientes. A pesar de ello, todas las TCA contienen un índice con códigos asignados a los alimentos y la descripción de cada uno de ellos que, por lo general, es la misma (Moreiras et al., 2006). Los componentes reflejados son los mismos, así como la expresión de las unidades de cada componente, como la energía que se expresa en Kcal o kJ, proteínas, lípidos o carbohidratos que se expresan en g, y vitaminas y minerales en mg o μg dependiendo del compuesto. Del mismo modo, todos los valores se refieren a 100 g de porción comestible y se indica esta proporción por gramo de alimento (Farran et al., 2003; Moreiras et al., 2006).

En estos aspectos normativos, se puede concluir que las distintas tablas de composición de alimentos son muy coherentes entre sí, de manera que se puede utilizar y tomar como referencia cualquier TCA, teniendo en cuenta su manera de elaboración.

¿Qué niveles de ácido ascórbico tienen los distintos alimentos?

Uno de los elementos incluidos en las tablas de composición de alimentos es el ácido ascórbico, o vitamina C, debido a su gran interés nutricional. Es un metabolito esencial con alto poder antioxidante que desempeña numerosas funciones metabólicas y reguladoras en el organismo (Wickens, 2001; Frei et al., 2012; Karger y Basel, 2015; Ashor et al., 2015). Debido a que los humanos no somos capaces de sintetizar la vitamina C (Nishikimi et al., 1994), necesitamos adquirirla a través de los alimentos, y los principales suministradores de esta vitamina son las frutas y hortalizas (Shalunke y Kadam, 2004). Por este motivo, las TCA incluyen los contenidos de ácido ascórbico entre los parámetros analizados.

Según los datos reflejados en el informe del consumo de alimentación en España durante el año 2016, elaborado por MAPAMA (2017), la búsqueda de salud en la alimentación ha aumentado en los últimos seis años en los hogares españoles, a pesar del ritmo de vida actual y la tendencia de hogares de menor tamaño y sin hijos, que favorecen el consumo fuera del hogar. Se busca una dieta sana y equilibrada, sin renunciar al placer y la comodidad, y sin prescindir de la cocina tradicional. Destaca la importancia de los productos frescos, que suponen el 41% del volumen total consumido. Cabe mencionar que la Comunidad Foral de Navarra es una de las comunidades autónomas más intensivas en el consumo de frutas y hortalizas frescas, y de las que menos consumen estos alimentos transformados.

El consumo per cápita de frutas ha sido estable en relación al 2015 y el consumo medio de hortalizas ha llevado una evolución positiva. Con respecto a las hortalizas frescas, se aprecia un aumento del volumen en tomates, cebollas y pimientos mientras que judías verdes y lechugas son las hortalizas que más reducción de consumo han sufrido. En España consumimos de media por persona y año casi 40 kg más de frutas que de verduras y hortalizas frescas (MAPAMA, 2017). Por tanto, las hortalizas suponen una gran parte de nuestra ingesta de ácido ascórbico, si bien es cierto que obtenemos esta vitamina en mayor medida a través de las frutas. Esto es clave para la promoción de las hortalizas frescas, especialmente dirigido al consumidor final, a la hora de buscar alimentos con beneficios nutricionales que favorezcan el mantenimiento de nuestra salud.

En este estudio se ha comprobado que las tablas de composición de alimentos son coherentes unas con otras en cuanto a la tendencia que siguen los valores del ácido ascórbico en las hortalizas. A pesar de encontrar variabilidad en los datos de las diferentes tablas, todas las referencias analizadas coinciden de manera global en las hortalizas con mayor y con menor contenido de ácido ascórbico, y los valores se encuentran en rangos aproximados (Figuras 4.1, 4.2, 4.3 y 4.4). La hortaliza con mayor contenido en ácido ascórbico es el pimiento, con valores comprendidos entre 120 y

150 mg/100 g aproximadamente dependiendo de la variedad. Entre las hortalizas que presentan un menor contenido en ácido ascórbico se encuentra la zanahoria con un valor de 6-8 mg/100 g de porción comestible (Farran et al., 2003; Salunkhe y Kadam, 2004; Moreiras et al., 2006; BEDCA, 2003).

Como se ha comentado al inicio del trabajo, se suele atribuir el concepto de vitamina C especialmente a los cítricos, cuando disponemos a nuestro alcance de hortalizas con un gran contenido de ascorbato comparable al de los cítricos. Dependiendo del órgano que se trate, nos podemos encontrar con diferencias en los valores de ácido ascórbico. El grupo de inflorescencias y frutos es el que presenta mayor nivel medio de ácido ascórbico, seguido del grupo de hojas y tallos (Figura 4.5), aunque los valores difieren dentro de cada grupo (Farran et al., 2003). Al igual que ocurre con las hortalizas, existe una amplia variación en los niveles de vitamina C en las frutas dependiendo de las distintas investigaciones. Leong y Oey (2012) obtuvieron valores más altos de ácido ascórbico total en los pimientos e incluso en las zanahorias, en comparación con algunas frutas como los albaricoques, las cerezas o el melocotón, sugiriendo que las frutas de verano generalmente no son ricas en vitamina C. Las frutas que presentan mayor contenido de esta vitamina según un estudio realizado por Kevers et al. (2007) son el limón, la naranja, la fresa, el plátano y el kiwi, con unas concentraciones de entre 50 y 60 mg aproximadamente por cada 100 g de PF. En este mismo estudio se observó un valor de aproximadamente 165 mg AA/100 g PF para el pimiento rojo.

Por lo tanto, tras analizar los niveles de ascorbato que se muestran en las distintas hortalizas en las TCA, se puede decir que las tablas son coherentes a pesar de que sus metodologías pueden variar. En todas ellas se puede comprobar que la hortaliza con mayor contenido en vitamina C es el pimiento rojo, con valores muy superiores a la mayoría de hortalizas.

Contenido de ácido ascórbico en hortalizas de uso frecuente en Navarra

En este trabajo nos hemos centrado en analizar los contenidos de ácido ascórbico de un conjunto de hortalizas de uso frecuente en la Comunidad Foral de Navarra, que son pimiento rojo morrón, pimiento verde italiano, brócoli, coliflor, alcachofa blanca de Tudela, acelga y lechuga batavia.

Los resultados de ácido ascórbico total obtenidos mediante electroforesis capilar han sido expresados por peso seco para poder comparar el contenido en las distintas hortalizas independientemente de su contenido hídrico. En las tablas de composición de alimentos, el contenido de vitamina C aparece expresado como mg por cada 100 g de porción comestible, puesto que tienen un uso nutricional. Con vistas a poder comparar los resultados experimentales con los presentados en las TCA, los datos

obtenidos experimentalmente se transformaron a las unidades presentadas en las tablas de composición.

Como ya se ha comentado al inicio de la discusión, existen diferentes métodos para elaborar las tablas de composición de alimentos que causan diferencias entre ellas. Las tablas tomadas como referencia en este trabajo se han elaborado mediante el método indirecto o meta-análisis, a partir de datos ya existentes obtenidos a través de otros estudios e investigaciones, revisados y seleccionados para mostrar valores fiables y representativos (Farran et al., 2003; AESAN/BEDCA, 2010). No todos los autores habrán utilizado el mismo método de análisis para determinar el ácido ascórbico teniendo, por tanto, límites de detección y posibles errores distintos debido a que influyen factores como la preparación de la muestra, la extracción del antioxidante y su conservación, así como las condiciones del método y del equipo utilizados. Entre los métodos de análisis de ácido ascórbico más utilizados se encuentran la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), la detección electroquímica que mide simultáneamente ácido ascórbico, DHA, isómeros y derivados, los ensayos colorimétricos basados en la reducción de Fe(III) a Fe(II), la detección fluorométrica y quimioluminiscente, técnicas de espectrometría de masas basadas en la alta absorción UV del ascorbato, y métodos enzimáticos que miden su actividad biológica (Johnston et al., 2007). En este trabajo se han realizado los análisis mediante el método de electroforesis capilar, comúnmente utilizado para determinar AA y GSH (Davey et al., 1996; Choi y Jo, 1997; Herrero-Martínez et al., 2007).

La tendencia que siguen los resultados experimentales es la misma que en las TCA analizadas, siendo el pimiento la hortaliza con más contenido en vitamina C y la alcachofa la que menos, en cuanto a las hortalizas estudiadas (Figura 4.2). En la base de datos BEDCA no aparecen valores de composición para el pimiento verde ni para el brócoli. Una de las diferencias principales es que, en este caso, el pimiento verde contiene más vitamina C que el pimiento rojo, mientras que en las tablas de composición sucede lo contrario (Figura 5.1). Sin embargo, observando los resultados de las tablas de Moreiras et al. (2006) se puede comprobar que el pimiento morrón contiene 81 mg de ácido ascórbico (Figura 4.3), un valor más cercano a nuestro resultado para el pimiento rojo analizado (99 mg de AA/100 g PF).

Tanto en el brócoli como en la alcachofa se han obtenido valores muy próximos a los de referencia, siendo algo superiores en la alcachofa (Figura 5.1). Los dos órganos estudiados en el brócoli se consideran partes comestibles, sin embargo, la parte comestible de la alcachofa suele ser la compuesta por las hojas interiores y no por las exteriores. En cuanto a la coliflor, la inflorescencia en peso seco aporta más ascorbato total que la hoja (Figura 4.8), pero al presentar mayor contenido hídrico, su valor desciende cuando se trata de la hortaliza en fresco. Teniendo en cuenta que la parte

comestible es la flor y no la hoja, el valor de referencia para la coliflor supone más del doble que el dato obtenido experimentalmente, siendo 50 mg/100 g de porción comestible según CESNID frente a 20 mg de ascorbato en la inflorescencia (Figura 5.1).

Por otra parte, en las hortalizas de hoja analizadas no se pudieron detectar valores representativos para la lechuga, y en la acelga se obtuvieron datos en la hoja pero no en el tallo, siendo el contenido de ascorbato bastante menor que en las tablas de composición, con 8 mg frente a 35 mg AA/100 g PF (Figura 5.1).

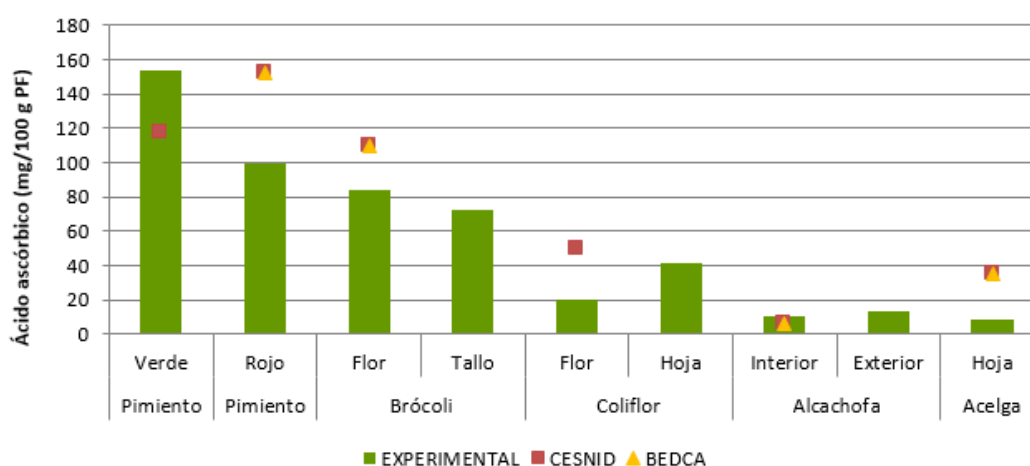


Figura 5.1. Contenido de vitamina C en las diferentes hortalizas estudiadas y comparación con los valores de referencia de CESNID y BEDCA

Otra de las incertidumbres de las tablas de composición es que no especifican la variedad de hortaliza o el tejido escogido como muestra, lo que podría explicar del mismo modo que los valores difieran entre los análisis realizados en el presente estudio y los obtenidos en las diferentes fuentes. Nicoletto et al. (2016), en un estudio sobre antioxidantes en diferentes variedades de brócoli italiano, pudo comprobar que el contenido de antioxidantes varía considerablemente según la parte de la planta analizada. En este caso se determinó el ácido ascórbico mediante espectrometría de fluorescencia, y los resultados también fueron algo más bajos que los registrados en las referencias de otros cultivos. Esta variabilidad se explica, además de por factores genéticos, por las diferentes condiciones climáticas en las que crecieron las plantas de dicho estudio.

También se pueden esperar variaciones del contenido de vitamina C en los alimentos debido a diversos factores pre y post cosecha (Salunkhe y Kadam, 2004; EFSA, 2013; FAO/WHO, 2001). El contenido de ácido ascórbico en frutas y hortalizas, así como su estabilidad durante el procesado, está influido por el clima y la zona geográfica de los cultivos, las prácticas agrícolas, el estado de madurez en la recolección, las condiciones

de almacenamiento y los posteriores tratamientos (Potter y Hotchkiss, 1995; Ordóñez et al., 1998). El crecimiento y desarrollo de la planta regula el contenido de ácido ascórbico, que se incrementa al principio hasta llegar a su máximo, y luego decrece a lo largo de su desarrollo, como ocurre en hortalizas de raíz como la zanahoria (Wang et al., 2015). Se ha comprobado que los tejidos de plantas más jóvenes suelen tener concentraciones más altas que los tejidos más maduros, y durante el posterior almacenamiento, estos últimos pierden el ácido ascórbico más rápido, posiblemente porque las plantas jóvenes son más eficientes en el reciclaje de ascorbato (Dewhirst et al., 2017). De la misma forma, se ha observado en frutas como algunos cítricos, que la vitamina C tiende a decrecer con la maduración (Magwaza et al., 2017).

Teniendo en cuenta todos los factores comentados, consideramos que los contenidos determinados experimentalmente en las hortalizas de la huerta navarra, concuerdan con los presentados en las tablas de composición de alimentos.

El ratio ascorbato reducido: ascorbato total es diferente en las distintas hortalizas

En los análisis realizados, también se ha estudiado el ratio de ascorbato reducido: ascorbato total para determinar el comportamiento de este compuesto en cada hortaliza. Se ha observado un bajo ratio AA/(AA+DHA) en todas las muestras excepto en el pimiento, tanto el verde como el rojo, que han obtenido un 83% de ácido ascórbico reducido con respecto al total (Figuras insertadas 4.6, 4.7, 4.8, 4.9, 4.10). Este hecho también se observó en el estudio realizado por Leong y Oey (2012), cuya conclusión fue la posible existencia de agentes o inhibidores de la oxidación del ácido ascórbico en los pimientos, que protegen a la vitamina C contra su oxidación durante la extracción del compuesto. Tanto en la flor como en el tallo del brócoli, ambas partes comestibles, la mayoría del ácido ascórbico se ha obtenido en forma de dehidroascorbato, con un ratio más bajo en el tallo que en la flor. En el caso de la coliflor, la alcachofa y la acelga, únicamente se han obtenido valores de DHA, por lo que no es posible analizar el ratio AA/(AA+DHA) de una manera representativa. A pesar de ello, se puede afirmar de manera global que los valores de ácido ascórbico total obtenidos en estas tres hortalizas están constituidos principalmente por su forma oxidada.

En las células vegetales, el ratio ascorbato reducido:total es fundamental para la protección de la planta, y la conversión del ascorbato reducido a dehidroascorbato conlleva la pérdida de su función antioxidante (Zechmann, 2011). En las células humanas, este ratio entre ambas formas es siempre muy alto, porque si el DHA no se reduce de nuevo a ascorbato, se transforma en sus productos de degradación. Al ingerir una fruta o verdura, el ascorbato y el dehidroascorbato se liberan en el tracto

intestinal (Halliwell y Gutteridge, 2015; Ramírez et al., 2017). El ácido ascórbico se absorbe a través de dos transportadores específicos dependientes de sodio, SVTC1 y SVTC2 (*sodium-dependent vitamin C transporters*), mediante un transporte saturable y dependiente de la concentración. Por otro lado, el DHA se absorbe a través de transportadores de glucosa más inespecíficos, que pueden transportar también ascorbato, por lo que es posible que ambas moléculas compitan. El reciclaje de dehidroascorbato a ascorbato es dependiente de GSH y NADH, fuentes de poder reductor. Esta dependencia puede suponer un problema en personas enfermas, como se ha podido comprobar en un estudio con ratones con bajos niveles de glutatión. Su esperanza de vida aumentaba al administrar ascorbato, en cambio no sobrevivían con dehidroascorbato, lo que confirma la relación directa entre el ácido ascórbico y el glutatión (Halliwell y Gutteridge, 2015).

Actualmente se conocen muchas funciones biológicas y químicas de la vitamina C en el organismo humano, basadas principalmente en su capacidad reductora. Presenta dos papeles principales en la célula, como antioxidante general y como cofactor de numerosas reacciones que requieren cobre o hierro reducido (Ramírez et al., 2017; Macknight et al., 2017).

Debido a que estimula la síntesis de colágeno, la vitamina C juega un papel importante en la curación y regeneración de heridas (Naidu, 2003). La acción principal de la vitamina C sobre el hierro es el aumento de la absorción diaria de hierro no hémico (Hallberg et al., 1987; Naidu, 2003), mediante la reducción del núcleo reactivo del átomo de hierro del estado férrico (Fe^{3+}) al estado ferroso (Fe^{2+}), con la consecuente oxidación del ácido ascórbico (Figura 5.1). El hierro reducido es requerido por una enzima dioxigenasa (2-OGDO) para hidroxilar residuos de prolina del colágeno que forman fibras de colágeno estables, y por otras enzimas para diferentes funciones como la desmetilación de ADN o de histonas (Macknight et al., 2017).

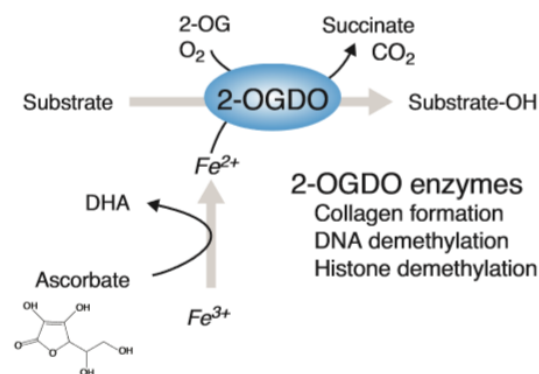


Figura 5.2. Importancia del ascorbato para la actividad de Fe^{2+} dependiente de enzimas 2-OGDO. Extraído de Macknight et al., 2017

La peroxidación de lípidos está implicada en el desarrollo de arteriosclerosis, y se ha demostrado en numerosos estudios *in vitro* que la vitamina C protege frente a la oxidación de las lipoproteínas de baja densidad (LDL) provocada por diferentes tipos de estrés oxidativo, incluyendo la acción de los metales. Esta propiedad se debe a la capacidad del ascorbato de captar especies reactivas de oxígeno y de nitrógeno, evitando el ataque a las LDL (Naidu, 2003; Ramírez et al., 2017). Estudios de suplementación realizados en fumadores han demostrado que la vitamina C inhibe la adhesión de los monocitos al endotelio vascular, impidiendo así la inactivación del óxido nítrico y favoreciendo la vasodilatación (Ramírez et al., 2017). Ashor et al. (2015) realizaron ensayos *in vivo* con suplementación de vitamina C y observaron una reducción de la concentración total de colesterol en participantes menores de 52 años y de la concentración de LDL en participantes sanos. También se observó que los fumadores necesitaban una dosis de vitamina C superior a la requerida por los no fumadores para obtener el mismo efecto.

En los últimos años se ha prestado especial atención a la relación entre el ácido ascórbico y el cáncer, existiendo numerosas hipótesis. Entre ellas se encuentra la creencia de que la síntesis de colágeno previene que los tumores invadan otros tejidos, que la vitamina C neutraliza los radicales libres antes de producir daño en el ADN, o incluso que actúa como prooxidante ayudando a los radicales libres propios a destruir los tumores en sus estados tempranos (Naidu, 2003). Huang et al. (2001) demostraron que el DHA puede cruzar la barrera hematoencefálica, dando una neuroprotección contra la isquemia cerebral mediante el aumento de los niveles de antioxidantes en el cerebro.

A pesar de la propiedad tan importante del ácido ascórbico como antioxidante, se ha encontrado en ciertas situaciones un efecto prooxidante debido a que, al reducir metales como el hierro o el cobre, pueden generar estrés oxidativo en presencia de oxígeno, causando la oxidación de lípidos, ADN o proteínas (Naidu, 2003; Ramírez et al., 2017). Además, se requieren bajas concentraciones de vitamina C para actuar como prooxidante si la concentración de metales en el medio es elevada (Ramírez et al., 2017).

Muchas veces el ácido ascórbico actúa de manera conjunta con otros antioxidantes. Como ya se ha comentado al inicio del trabajo, el ácido ascórbico determina las reservas de vitamina E y ésta a su vez protege a los carotenoides (Romero et al., 1990). El ácido ascórbico puede reciclar el α -tocoferol, el mayor antioxidante liposoluble, de su radical tocoferoxyl (Benzie et al., 1999). Tanto la vitamina E como los carotenoides ejercen efectos protectores contra algunos cánceres, ya sea individualmente o junto con la vitamina C (Naidu, 2003). El glutatión regenera el ascorbato en las células (Ishikawa y Shigeoka, 2008) y además se ha demostrado que las concentraciones de

glutación y de ascorbato tienen una correlación directa en los linfocitos humanos. Un aumento en la concentración de ascorbato incrementa el glutatión en los tejidos y viceversa (Lenton et al., 2000). Los flavonoides, otros potentes antioxidantes, incrementan o estabilizan la actividad biológica del ácido ascórbico (Kadam y Salunkhe, 2004).

No hay que tener en cuenta únicamente los niveles de ácido ascórbico o el ratio de ascorbato reducido: ascorbato total en las células. Es necesario conocer otros aspectos como la cantidad total que se absorbe una vez consumido y su actividad vitamínica. Por ejemplo, la bioaccesibilidad de los compuestos bioactivos de los cítricos depende de si se digieren habiendo consumido la pieza de fruta o en forma de zumo (Aschoff et al., 2015). De Ancos et al. (2017) observaron que la concentración de ácido ascórbico en el zumo de ciertas variedades de naranja y mandarina era significativamente superior que en la pulpa. Se simuló una digestión gastrointestinal *in vitro* para determinar la bioaccesibilidad, y el ácido ascórbico contenido en la pulpa resultó estar un 22% más biodisponible que el del zumo, hecho demostrado también por otros autores como Aschoff et al. (2015). Sin embargo, la fracción absorbida total en ambas formas resultó ser aproximadamente la misma. Estos resultados han demostrado la alta estabilidad de la vitamina C durante el proceso de digestión, aunque también depende de la especie y variedad de cítrico, la forma en la que se digiere y las condiciones de almacenamiento. Es importante también la actividad vitamínica que tenga el ácido ascórbico en esa fracción absorbida, que depende a su vez de otros factores como la presencia de grasa o fibra, el tipo de procesado o la cantidad consumida. En el caso de los cítricos, se ha comprobado que el ácido ascórbico de la pulpa ejerce una mayor actividad vitamínica una vez absorbido, que el contenido en el zumo (De Ancos et al., 2017).

También es importante conocer la capacidad antioxidante, que está altamente correlacionada con la cantidad de compuestos fenólicos del alimento. La mayoría de las frutas con alta capacidad antioxidante también tienen un alto nivel de vitamina C, como la fresa, o el pimiento en el caso de las hortalizas, aunque no siempre ocurre. Por ejemplo, el kiwi es de las frutas con mayor contenido de ácido ascórbico, pero es de las que menor actividad antioxidante total poseen, y las espinacas o el brócoli presentan una concentración de esta vitamina menor, con una actividad antioxidante total bastante elevada, debido a la concentración de otros antioxidantes (Kevers et al., 2007). Los alimentos ricos en ácido ascórbico también suelen contener compuestos que favorecen la síntesis de glutatión como cistina, cisteína y metionina (Lenton et al., 2000). La lechuga y la acelga, hortalizas de hoja, son ricas en vitamina A y ácido fólico (García-Villanova, 2017). Los pimientos maduros son ricos en carotenoides, especialmente el pimiento rojo (Mateos et al., 2013; García Villanova, 2017) y, tanto maduros como inmaduros, contienen alta concentración de compuestos fenólicos

(Mateos et al., 2013). Los vegetales crucíferos, como el brócoli o la coliflor, contienen gran cantidad de compuestos antioxidantes, especialmente glucosinolatos, que no están presentes en otros vegetales. Los glucosinolatos y los ácidos fenólicos son dos de los compuestos bioactivos más abundantes e importantes en el brócoli (Nicoletto et al., 2016), además de vitamina A y ácido fólico (García-Villanova, 2017).

Cabe mencionar que, la estabilidad y funcionalidad de los compuestos fitoquímicos en el cuerpo humano varían, dependiendo de la cantidad, la especie, los enlaces entre moléculas, su localización en la matriz alimentaria, y la presencia de otros compuestos bioactivos en las frutas y hortalizas (Leong y Oey, 2012).

Conociendo las numerosas funciones del ácido ascórbico tanto en plantas como en el organismo humano, queda clara la importancia de mantener la molécula en su estado reducido para ejercer su poder antioxidante en las células.

6. CONCLUSIONES

- Las TCA utilizadas en este estudio comparten unas características generales comunes que las hace coherentes entre sí y facilita el uso de cualquiera de ellas en estudios nutricionales. Sin embargo, en este análisis hemos observado diferencias entre las distintas TCA en relación al modo de elaboración, que puede ser directo o indirecto, así como al tipo de alimentos que incluyen y la clasificación que utilizan de los mismos.
- A pesar de las diferencias entre las TCA, los niveles de ascorbato que se muestran de las distintas hortalizas son similares en todas las tablas siendo el pimiento rojo la hortaliza con mayor contenido en vitamina C, con valores muy superiores a la mayoría de hortalizas.
- Los contenidos de ácido ascórbico determinados experimentalmente en las hortalizas de la huerta navarra concuerdan con los presentados en las tablas de composición de alimentos.

Entre las hortalizas de fruto, el pimiento verde italiano analizado mostró niveles superiores a los presentados por las tablas de CESNID, mientras que el pimiento rojo morrón mostró niveles menores a los que presentan las tablas de CESNID y BEDCA. A pesar de estas diferencias, ambos tipos de pimientos mostraron los niveles de ascorbato más altos entre todas las hortalizas analizadas.

En cuanto a las hortalizas de flor, los niveles de ascorbato determinados en el brócoli, la coliflor y la alcachofa fueron muy similares a los presentados por las TCA, siendo el brócoli la hortaliza con mayor contenido de ascorbato y la alcachofa la de menor contenido.

Las hortalizas de hoja, como la acelga y la lechuga, mostraron los niveles más bajos de ascorbato entre todas las hortalizas analizadas, siendo estos valores bastante inferiores a los presentados en las TCA.

- El estado redox del ascorbato fue muy diferente en las distintas hortalizas analizadas. El pimiento rojo y verde presentaban la mayor parte de ascorbato en estado reducido y por lo tanto mostraron un alto ratio ascorbato reducido:total. En cambio, las hortalizas de flor y hoja analizadas presentaban la mayor parte del ascorbato en estado oxidado. Se ha demostrado que ambas formas de ascorbato ejercen una función vitamínica, sin embargo, su absorción se realiza de forma diferente, lo que podría condicionar su función en el organismo.

7. BIBLIOGRAFÍA

AESAN/BEDCA. (2010). *Base de Datos Española de Composición de Alimentos v1.0.* Obtenido de <http://www.bedca.net/>

Alonso, B. O., Lorenzo, F. G. (2013). Módulo II: Ingesta de energía, nutrientes y otros componentes de la dieta. Estatus. En Fundación Española de la Nutrición (FEN), *Libro Blanco de la nutrición en España* (págs. 145-155). Ed: FEN.

Asada, K. (2006). Production and scavenging of reactive oxygen species in chloroplasts and their functions. *Plant Physiology*, 141, 391-396.

Aschoff, J. K., Kaufmann, S., Kalkan, O., Neidhart, S., Carle, R., Schweiggert, R. (2015). In vitro bioaccessibility of carotenoids, flavonoids, and vitamin C from differently processed oranges and orange juices (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63, 578-587.

Ashor, A., Siervo, M., Willis, N., van der Velde, F., Mathers, J. (2015). Systematic review and meta-analysis of randomised controlled trials testing the effects of vitamin C supplementation on blood lipids. *Clinical Nutrition*, 35, 626-637.

Benzie, I. F., Chung, W. Y., Strain, J. J. (1999). "Antioxidant" (reducing) efficiency of ascorbate in plasma is not affected by concentration. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 10, 146-150.

Carr, A. C., Bozonet, S. M., Pullar, J. M., Simcock, J. W., Vissers, M. C. (2013). Human skeletal muscle ascorbate is highly responsive to changes in vitamin C intake and plasma concentrations. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 97, 800-807.

Carr, A., Frei, B. (1999). Does vitamin C act as a pro-oxidant under physiological conditions? *The FASEB Journal*, 13, 1007-1024.

Choi, O. K., Jo, J. S. (1997). Determination of L-ascorbic acid in foods by capillary zone electrophoresis. *Journal of Chromatography A*, 781, 435-443.

Dalton, D. (1995). Antioxidant defenses of plants and fungi. En S. Ahmad, *Oxidative Stress and Antioxidant Defenses in Biology* (págs. 298-355). New York: Chapman and Hall.

Davey, M. W., Bauw, G., Van Montagu, M. (1996). Analysis of ascorbate in plant tissues by high-performance capillary zone electrophoresis. *Analytical Biochemistry*, 239, 8-19.

Davey, M., Dekempeneer, E., Keulemans, J. (2003). Rocket-powered high-performance liquid chromatographic analysis of plant ascorbate and glutathione. *Analytical Biochemistry*, 316, 74-81.

Directiva 2008/100/CE de la comisión de 28 de octubre de 2008 por la que se modifica la Directiva 90/496/CEE del Consejo, relativa al etiquetado sobre propiedades nutritivas de los productos alimenticios, en lo que respecta a las cantidades diarias recomendadas, los factores de conversión de la energía y las definiciones.

De Ancos, B., Cilla, A., Barberá, R., Sánchez-Moreno, C., Cano, M. P. (2017). Influence of orange cultivar and mandarin postharvest storage on polyphenols, ascorbic acid and antioxidant activity during gastrointestinal digestion. *Food Chemistry*, 225, 114-124.

Decreto 2484/1967, de 21 de septiembre, por el que se aprueba el texto del Código Alimentario Español.

Dewhirst, R., Clarkson, G., Rothwell, S., Fry, S. (2017). Novel insights into ascorbate retention and degradation during the washing and post-harvest storage of spinach and other salad leaves. *Food Chemistry*, 233, 237-246.

EFSA NDA Panel (EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies). (2013). Scientific Opinion on Dietary Reference Values for vitamin C. *EFSA Journal*, 11, 3418-3468.

FAO/WHO (Food and Agriculture Organization of the United Nations/World Health Organization). (2001). Human Vitamin and Mineral Requirements: Report of a joint FAO/WHO expert consultation. Bangkok, Thailand.

Farran, A., Zamora, R., Cervera, P. (2003). Tablas de composición de alimentos del CESNID. McGraw-Hill/Interamericana y Edicions Universitat de Barcelona.

Foyer, C. H., Gomez, L. D., Heerden, P. D. (2005). Glutathione. En N. Smirnoff, *Antioxidants and Reactive Oxygen Species in Plants* (págs. 1-24). UK: Blackwell Publishing Ltd.

Frei, B., Birlouez-Aragon, I., Lykkesfeldt, J. (2012). Author's Perspective: What is the optimum intake of Vitamin C in Humans? *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 52, 815-829.

García-Villanova, B. (2017). Hortalizas y productos hortícolas. En A. Gil, *Tratado de Nutrición* (Tercera Edición). Tomo III: Composición y calidad nutritiva de los alimentos (págs. 171-202). Madrid: Editorial Médica Panamericana.

Gest, N., Gautier, H., Stevens, R. (2013). Ascorbate as seen through plant evolution: the rise of a successful molecule? *Journal of Experimental Botany*, 64, 33-53.

Gest, N., Page, D., Birtic, S., Gouble, B., Gilbert, L., Garchey, C., . . . Stevens, R. (2010). Response of the fruit antioxidant system to the post-chilling period in two different tomato lines. *Functional Plant Science and Biotechnology*, 4, 76-83.

Guyton, A., Hall, J. (2000). *Tratado de Fisiología Médica (Décima Edición)*. México: Ed. McGraw-Hill Interamericana.

Hallberg, L., Brune, M., Rossander-Hulthen, L. (1987). Is there a physiological role of vitamin C in iron absorption? *Annals of the New York Academy of Sciences*, 498, 324-332.

Halliwell, B., Gutteridge, J. M. (2015). Chapter 4. Antioxidants from the diet. En *Free Radicals in Biology and Medicine* (págs. 153-161). Oxford University Press.

Herrero-Martínez, J., Simó-Alfonso, E., Ramis-Ramos, G., Deltoro, V., Catalayud, A., Barreno, E. (2000). Simultaneous Determination of L-Ascorbic Acid, Glutathione and Their Oxidized Forms in Ozone-Exposed Vascular Plants by Capillary Zone Electrophoresis. *Environmental Science & Technology*, 34, 1331-1336.

Huang, J., Agus, D. B., Winfree, C. J., Kiss, S., Mack, W. J., McTaggart, R. A., . . . Connolly, E. S. (2001). Dehydroascorbic acid, a blood-brain barrier transportable form of vitamin C, mediates potent cerebroprotection in experimental stroke. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 98, 11720-11724.

Ishikawa, T., Shigeoka, S. (2008). Recent advances in ascorbate biosynthesis and the physiological significance of ascorbate peroxidase in photosynthesizing organisms. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 72, 1143-1154.

Jesse, F., Gregory, I. (2000). *Química de los alimentos (Segunda Edición)*. Zaragoza: Editorial Acribia, S.A.

Johnston, C., Steinberg, F., Rucker, R. (2007). Ascorbic Acid. En J. Zempleni, R. Rucker, D. McCornick, & J. Suttie, *Handbook of Vitamins (Fourth Edition)* (págs. 489-520). New York: CRC Press, Taylor & Francis Group.

Kadam, S., Salunkhe, D. (2004). Las hortalizas en la nutrición humana. En D. Salunkhe, y S. Kadam, *Tratado de ciencia y tecnología de las hortalizas* (págs. 711-720). Zaragoza: Ed. Acribia, S.A.

Karger, S., Basel, A. G. (2015). New Reference Values for Vitamin C Intake. *Annals of Nutrition & Metabolism*, 67, 13-20.

Kevers, C., Falkowski, M., Tabart, J., Defraigne, J., Dommès, J., Pincemail, J. (2007). Evolution of Antioxidant Capacity during Storage of Selected Fruits and Vegetables. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55, 8596-8603.

Lenton, K. J., Therriault, H., Cantin, A. M., Fülöp, T., Payette, H., Wagner, J. R. (2000). Direct correlation of glutathione and ascorbate and their dependence on age and season in human lymphocytes. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 71, 1194-1200.

Leong, S., Oey, I. (2012). Effects of processing on anthocyanins, carotenoids and vitamin C in summer fruits and vegetables. *Food Chemistry*, 133, 1577-1587.

Locato, V., Cimini, S., Gara, L. D. (2013). Strategies to increase vitamin C in plants: from plant defense perspective to food biofortification. *Frontiers in Plant Science*, 4, Article 152.

Macknight, R. C., Laing, W. A., Bulley, S. M., Broad, R. C., Johnson, A. A., Hellens, R. P. (2017). Increasing ascorbate levels in crops to enhance human nutrition and plant abiotic stress tolerance. *Current Opinion in Biotechnology*, 44, 153-160.

Magwaza, L., Mditshwa, A., Tesfay, S., Opara, U. (2017). An overview of preharvest factors affecting vitamin C content of citrus fruit. *Scientia Horticulturae*, 216, 12-21.

Mateos, R. M., Jiménez, A., Román, P., Romojaro, F., Bacarizo, S., Leterrier, M., . . . Palma, J. M. (2013). Antioxidant Systems from Pepper (*Capsicum annum* L.): Involvement in the Response to Temperature Changes in Ripe Fruits. *International Journal of Molecular Sciences*, 14, 9556-9580.

Moreiras, O., Carbajal, A., Cabrera, L., Cuadrado, C. (2006). Tablas de composición de alimentos. Madrid: Ediciones Pirámide (Grupo Anaya, S.A.).

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

Naidu, K. (2003). Vitamin C in human health and disease is still a mystery? An overview. *Nutrition Journal*, 2, (sin pp).

Nicoletto, C., Santagata, S., Pino, S., Sambo, P. (2016). Antioxidant characterization of different italian broccoli landraces. *Horticultura Brasileira*, 34, 074-079.

Nishikimi, M., Fukuyama, R., Minoshima, S., Shimizu, N., Yagi, K. (1994). Cloning and chromosomal mapping of the human nonfunctional gene for L- gulonoy-lactone oxidase, the enzyme for L-ascorbic acid biosynthesis missing in man. *The Journal of Biological Chemistry*, 296, 13685-13688.

Noctor, G., Foyer, C. (1998). ASCORBATE AND GLUTATHIONE: Keeping Active Oxygen Under Control. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 49, 249-279.

Ordóñez, J., Cambero, M., Fernández, L., García, M. L., García de Fernando, G., de la Hoz, L., Selgas, M. (1998). *Tecnología de los Alimentos. Volumen 1: Componentes de los alimentos y procesos*. Madrid: Editorial síntesis.

Potter, N., Hotchkiss, J. (1995). Capítulo 4: Aspectos nutritivos de los constituyentes alimentarios. En *Ciencia de los alimentos* (págs. 53-75). Zaragoza: Editorial Acribia, S.A.

Ramírez, M. C., Pulido, M., Díaz, J. (2017). Vitaminas con función antioxidante (vitaminas C y E) y coenzima Q. En A. Gil, *Tratado de Nutrición. Tomo I: Bases fisiológicas y bioquímicas de la nutrición (Tercera Edición)*. (págs. 333-352). Madrid: Editorial Médica Panamericana, S.A.

Romero, D., Villalva, M., Mur, M., Cabeza, F., Guerrero, L., Simal, E. (1990). Importancia de los antioxidantes en la alimentación humana. *Medicina Clínica*, 94, 69-75.

Real Decreto 1669/2009, de 6 de noviembre, por el que se modifica la norma de etiquetado sobre propiedades nutritivas de los productos alimenticios, aprobada por el Real Decreto 930/1992, de 17 de julio.

Salunkhe, D. K., Kadam, S. S. (2004). Introducción. En D. Salunkhe, y S. Kadam, *Tratado de ciencia y tecnología de las hortalizas* (págs. 1-10). Zaragoza: Ed. Acribia, S.A.

Salunkhe, D. K., Bolin, N. R., Reddy, N. R. (1991). *Storage, Processing, and Nutritional Quality of Fruits and Vegetables. Volume 1: Fresh Fruits and Vegetables (Second Edition)*. CRC Press, Boca Ratón, FL.

Sandström, B. (2001). Micronutrient interactions: effects on absorption and bioavailability. *British Journal of Nutrition*, 85, 181-185.

Santos, P. H., Silva, M. A. (2008). Retention of Vitamin C in Drying Processes of Fruits and Vegetables - A Review. *Drying Technology*, 26, 1421-1437.

Serra-Majem, L., Ribas-Barba, L., Salvador, G., Jover, L., Raido, B., Ngo, J., Plasencia, A. (2007). Trends in energy and nutrient intake and risk of inadequate intakes in Catalonia, Spain (1992-2003). *Public Health Nutrition*, 10, 1354-1367.

Smirnoff, N. (2005). Ascorbate, tocopherol and carotenoids: metabolism, pathway engineering and functions. En N. Smirnoff, *Antioxidants and Reactive Oxygen Species in Plants* (págs. 53-86). UK: Blackwell Publishing Ltd.

Smirnoff, N., Conklin, P. L., Loewus, F. A. (2001). Biosynthesis of ascorbic acids in plants: a renaissance. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 52, 437-467.

Spínola, V., Llorent-Martínez, E., Castilho, P. (2014). Determination of vitamin C in foods: current state of method validation. *Journal of Chromatography A*, 1369, 2-17.

Standing Committee on the Scientific Evaluation of Dietary Reference Intakes. (2000). *Dietary Reference Intakes for vitamin C, vitamin E, selenium and beta carotene, and other carotenoids*. Food and Nutrition Board, Instituto de Medicina de Washington. Washington, DC: National Academy Press.

Steiner, A., Middleton, S. (1991). Vitaminas. En *Fisiología humana (Cuarta Edición)* (págs. 184-188). Santiago de Chile: Editorial Universitaria.

Tóth, S. Z., Schansker, G., Garab, G. (2013). The physiological roles and metabolism of ascorbate in chloroplasts. *Physiologia Plantarum*, 148, 161-175.

Wang, G., Xu, Z., Wang, F., Li, M., Tan, G., Xiong, A. (2015). Regulation of ascorbic acid biosynthesis and recycling during root development in carrot. *Plant Physiology and Biochemistry*, 94, 10-18.

Wickens, G. E. (2001). Chapter 8. Human and Animal Nutrition. En *Economic Botany. Principles and Practices* (págs. 127-150). The Netherlands: Kluwer Academic Publishers.

Zechmann, B. (2011). Subcellular distribution of ascorbate in plants. *Plant Signaling & Behavior*, 6 , 360-363.

Zechmann, B., Stumpe, M., Mauch, F. (2011). Immunocytochemical determination of the subcellular distribution of ascorbate in plants. *Planta*, 233, 1-12.