

Original

Influencia del procedimiento culinario sobre la biodisponibilidad del licopeno en el tomate

F. Perdomo, F. Cabrera Fránquiz, J. Cabrera y L. Serra-Majem

Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Facultad de Ciencias de la Salud. Las Palmas de Gran Canaria. España.

Resumen

Fundamento y objetivo: Estudio de intervención para determinar la influencia del procedimiento culinario del tomate sobre la biodisponibilidad del licopeno.

Población y método: El estudio fue realizado sobre una muestra constituida por 15 individuos que participaron de forma voluntaria. La determinación de los niveles de licopeno en las muestras sanguíneas de los pacientes se realizó mediante la técnica de HPLC.

Resultados: La ingestión del producto fresco triturado no modifica, en forma significativa, los niveles de licopeno en sangre de los sujetos de la muestra. Tanto la trituración con aceite de oliva como el tratamiento térmico del tomate en combinación con aceite de oliva incrementaron, significativamente, los niveles de licopeno plasmático.

Conclusiones: La biodisponibilidad del licopeno depende del procesado del producto. La asociación con ácidos grasos así como que el tratamiento térmico del tomate aumentan su biodisponibilidad.

(Nutr Hosp. 2012;27:1542-1546)

DOI:10.3305/nh.2012.27.5.5908

Palabras clave: *Licopeno. Tomate. HPLC. Estudio de intervención.*

INFLUENCE OF COOKING PROCEDURE ON THE BIOAVAILABILITY OF LYCOPENE IN TOMATOES

Abstract

Background and objective: The aim of this study was to evaluate the influence of raw and processed tomato consumption on plasma lycopene concentration in healthy volunteers. A cross-over dietary intervention study was employed.

Patients and methods: Fifteen healthy subjects were included in the study. Plasma lycopene concentration was assayed by HPLC.

Results: Raw crushed tomato consumption did not significantly influence plasma lycopene concentration. Consumption of raw crushed tomato with olive oil and cooked tomatoes with olive oil, significantly increased blood lycopene levels.

(Nutr Hosp. 2012;27:1542-1546)

DOI:10.3305/nh.2012.27.5.5908

Key words: *Lycopene. Tomato. HPLC. Interventional study.*

Introducción

El licopeno se encuentra en una serie limitada de alimentos entre los que destaca el tomate, del cual procede más del 80% del licopeno total consumido en la dieta occidental, reflejando sus niveles plasmáticos el consumo de dicho fruto o productos derivados. La cantidad de licopeno presente en el tomate depende de la variedad del fruto y es modificada por los procesos de transformación a los que es sometido en la manufacturación y el cocinado. Así, se sabe que el calentamiento

del producto antes de su ingesta y la combinación con lípidos mejora su absorción^{1,2}.

Diversos estudios han establecido una vinculación entre la protección del organismo frente a determinadas patologías y la presencia en el mismo de unos adecuados niveles de licopeno^{3,4,5,6,7,8,9,10,11}. El nivel plasmático medio de este carotenoide está determinado por muchas variables que interactúan, tales como la composición estacional de la dieta, la preparación de los alimentos, los factores determinantes de la absorción lipídica y los mecanismos de control de la captación y el metabolismo tisular. Sin embargo, las concentraciones plasmáticas individuales fluctúan poco a lo largo del tiempo, excepto cuando hay cambios drásticos en la ingesta o alteraciones fisiopatológicas especiales.

Aún quedan por conocer muchos aspectos de su biodisponibilidad que podrían explicar mejor sus propiedades^{12,13}. En el presente trabajo y con el objetivo de ampliar los datos relativos a la biodisponibilidad del

Correspondencia: Félix Cabrera Fránquiz.
Universidad de Las Palmas de Gran Canaria.
Facultad de Ciencias de la Salud.
Dr. Pasteur, s/n.
35016 Las Palmas de Gran Canaria. España.
E-mail: fcabrera@dcc.ulpgc.es

Recibido: 17-IV-2012.

Aceptado: 21-VI-2012.

licopeno, se compara a través de un estudio de intervención en una muestra poblacional, el efecto de la ingesta de diferentes formas culinarias del tomate sobre los niveles plasmáticos del carotenoide.

Material y métodos

Muestra poblacional

El estudio fue realizado sobre voluntarios sanos residentes en el municipio de las Palmas de Gran Canaria con edades comprendidas entre los 25 y 75 años, de nivel cultural y socioeconómico medio. El criterio elemental de selección de la muestra ha sido la disponibilidad y conformidad por parte de los individuos para su participación y el seguimiento del protocolo durante la totalidad de tiempo del estudio. La muestra inicial de 15 individuos (6 hombres y 9 mujeres), se redujo finalmente a 13 (4 hombres y 9 mujeres) como resultado del abandono del estudio por parte de algunos participantes al afrontar los periodos más largos de intervención y como una consecuencia de la reacción psicológica ante la extracción de sangre. Participó en el estudio, a modo excepcional, una gestante. El total de muestras sanguíneas procesadas fue 52.

Diseño del estudio

Estudio experimental de intervención simple, adoptando un diseño cruzado en el que todos los sujetos del estudio recibieron cada una de las intervenciones en periodos sucesivos, en orden no aleatorio y en el que las comparaciones son realizadas intraindividualmente y no entre sujetos.

El protocolo de actuación seguido para cada individuo de la muestra fue el siguiente:

1. Recogida de información, en forma individualizada y presencial, acerca de cada participante y aportación a los mismos de información referente al programa a seguir: objetivo del estudio, calendario de intervenciones, aspectos culinarios de cada intervención y calendario para extracción de sangre en laboratorio.
2. Seguimiento individual telefónico de cada participante, con recordatorios de los periodos de intervención y de lavado.
3. Suministro de producto a domicilio en la fecha precisa de cada intervención.

Fases de intervención

Se diferencian tres fases de intervención, cada una de las cuales comprende un periodo de 15 días: fase de ingesta de tomate natural triturado, considerando como tomate natural el fruto íntegro (porción de piel, pulpa

adherida y porción carnosa), fase de ingesta de tomate natural triturado suplementado con aceite de oliva (15 ml) y fase de ingesta de tomate natural cocinado suplementado con aceite de oliva (15 ml).

Cada fase de intervención fue precedida de una fase de lavado, de riguroso cumplimiento, consistente en un periodo de 15 días exento de tomates y productos derivados de este.

Cada sujeto de la muestra consumió durante cada una de las fases de intervención un total de 7 kg de tomate (500 ml de zumo/día, aproximadamente 7-8 tomates diarios), siendo el consumo total del grupo de 100 kg por intervención. En todas las intervenciones se utilizó exclusivamente la variedad de tomate "ISA" cultivada en las Islas Canarias, de calidad 1ª extra, tamaño "M" (57-67 mm) y estado de madurez M (maduro). El asesoramiento técnico y los contactos con los proveedores en el suministro de tomate fueron facilitados por la Granja Experimental del Cabildo de Gran Canaria.

Obtención de las muestras

Para la obtención de las muestras sanguíneas, se solicitó la colaboración de diferentes laboratorios de análisis clínicos de carácter no estatal, que fueron seleccionados en base a la facilidad de acceso a los mismos por parte de los sujetos de la muestra, la disposición para colaborar en el estudio y el compromiso de estricto cumplimiento, por parte del analista, del protocolo específico para el estudio.

La sangre extraída fue recogida en tubos Vacutainer secos con activador del coágulo y separador del suero (10 ml), que fueron protegidos de la luz. A continuación se centrifugaron a 3.000 r.p.m. y 4° C durante 15 minutos. Posteriormente y con una pipeta Pasteur el suero fue repartido en tubos de propileno de 3 ml que se taparon y fueron identificados con una etiqueta que incorporaba un código correspondiente a la fase de intervención, nombre del paciente y fecha de extracción. Inmediatamente después se almacenaron a -20° C.

Análisis de las muestras

Reactivos y estándares. El metanol de grado HPLC y el etanol absoluto de grado análisis fueron adquiridos en Panreac (Barcelona, España). En Scharlau (Barcelona, España) se adquirió el acetonitrilo y el diclorometano de grado HPLC. El hidroxitolueno butilado y el patrón de licopeno fueron suministrados por Sigma (Madrid, España) y el n-hexano de grado HPLC por Merck (Madrid, España).

La solución stock de licopeno puro fue preparada disolviendo, mediante agitación, 1 mg de licopeno en 3 ml de diclorometano y diluyendo posteriormente a 20 ml. con n-hexano. A continuación la solución fue almacenada en congelador a -20° C.

Preparación de la muestra. A 200 microlitros de muestra de plasma, se añadió 200 microlitros de etanol para desproteinizarla, se agitó durante 30 segundos, se añadió 300 microlitros de n-hexano y se agitó durante 1 minuto. A continuación se centrifugó a 900 r.p.m. durante 10 minutos. La capa orgánica fue transferida a otro tubo. Al tubo original se volvió a añadir 300 microlitros de hexano, volviendo a recuperar la capa orgánica. Se evaporó a sequedad bajo corriente de nitrógeno y por último, se redisolvió en 100 microlitros de diclorometano y 100 microlitros de fase móvil.

Equipo e instrumentación. Las muestras fueron analizadas mediante HPLC. El equipo utilizado fue un cromatógrafo marca Beckman con un sistema de bombas binario, detector UV-Vis e inyector manual con un bucle de muestra de 20 microlitros. La columna de separación utilizada fue Nova-Pak C18 de Waters, de 3,9 mm x 150 mm empaquetada con sílica de tamaño de partícula 4 micras.

El sistema de filtración utilizado para los disolventes fue de Millipore utilizando filtros con tamaño de poro de 0,45 micras. La desgasificación se realizó mediante un baño de ultrasonidos. El agua fue obtenida mediante un sistema de purificación Millipore Milli-Q.

La fase móvil consistió en metanol: acetonitrilo: diclorometano (55: 30: 15, V/V/V).

Los datos fueron volcados a tiempo real en un ordenador personal utilizando el programa System Gold para el tratamiento de los datos.

Resultados

Los datos obtenidos en las diferentes fases de intervención de ingesta de tomate (fig. 1) muestran, que como era de esperar, los niveles más bajos de licopeno se presentan en la fase de no ingestión (0,17 $\mu\text{mol/L}$). La trituración del fruto (zumo de tomate natural sin adición de aceite) no incrementa de forma significativa los niveles de licopeno en plasma con respecto a la fase de no ingestión (0,21 $\mu\text{mol/L}$). La trituración del tomate con aceite de oliva, alzó significativamente los niveles de licopeno en plasma (0,47 $\mu\text{mol/L}$) y fue la ingesta de tomate triturado con aceite de oliva y sometido a cocimiento térmico, la que proporcionó niveles máximos de licopeno en plasma (0,57 $\mu\text{mol/L}$).

No se observó relación significativa entre edad, sexo y niveles de licopeno en plasma.

Para comparar las diferencias de los niveles de licopeno entre todos los sujetos para las cuatro intervenciones se llevaron a cabo pruebas no paramétricas. El test de Friedman, que fue realizado al considerarse el más adecuado para nuestro estudio, mostró diferencias significativas entre las cuatro intervenciones ($p < 0,001$). Mediante el test de Wicolson, se analizaron las intervenciones dos a dos, hallándose diferencias significativas entre la fase de no ingestión de tomate y la fase de ingestión de tomate cocinado con aceite ($p = 0,006$); diferencias significativas se encontraron igualmente

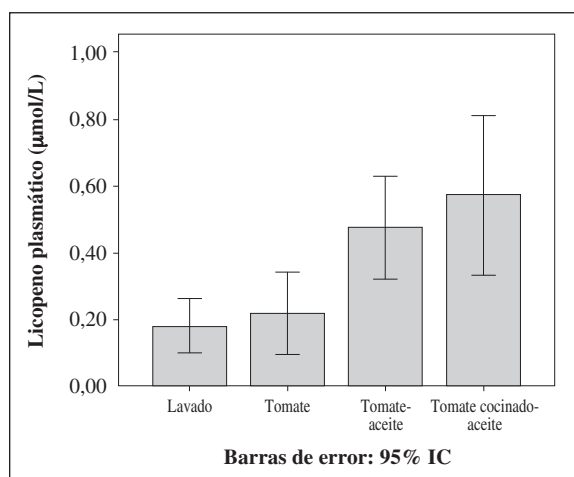


Fig. 1.—Niveles de licopeno plasmático en las diferentes fases de intervención.

entre la fase de no ingesta de tomate e ingesta de tomate triturado con aceite de oliva ($p = 0,002$). Asimismo, se encontró la existencia de diferencias estadísticamente significativas entre la ingesta de tomate triturado y la ingesta de tomate cocinado con aceite de oliva ($p = 0,013$). Paralelamente, mediante la prueba T se estudió la correlación de muestras relacionadas, apareciendo también diferencias significativas similares a las anteriormente descritas.

Discusión

En relación con el diseño del estudio y en lo que se refiere al número de participantes, es de destacar que la realización del ensayo se lleva a cabo sobre un único sujeto. Se trata de un diseño cruzado donde un único individuo es sometido sucesivamente a la intervención estudiada y a la intervención control, cada una por un breve período de tiempo y en múltiples ocasiones. Es importante señalar que al ser cada individuo su propio control, la variabilidad es menor que la que se presenta al establecer comparaciones entre individuos diferentes, con la consiguiente ventaja de que se necesita menor tamaño de muestra. Sin embargo, en este último caso, la duración del estudio se prolonga pues tras cada intervención debe existir un periodo libre o periodo de lavado, que permita eliminar el efecto de la intervención anterior antes de proceder con la siguiente.

Las diferencias en los niveles sanguíneos de licopeno, que se observan en los resultados del trabajo, podrían ser explicados considerando que el calentamiento de los productos facilita la disociación de los complejos carotenoide-proteína y dispersa los agregados cristalinos. Además, el licopeno natural que se encuentra mayoritariamente en la forma trans, es transformado por el calentamiento en sus isómeros cis (5-cis, 9-cis, 13-cis, 15-cis), que son mucho mejor absorbidos por el organismo. Efecto similar es producido por el triturado del tomate¹⁴.

Los procesos de isomerización inducida por el calor tienen también lugar en el organismo por acción de la isomerasa tisular, sobre todo en el suero y tejido prostático³. De hecho, se ha podido analizar que la proporción de isómeros cis es del 5-10% en los alimentos, del 50% en la sangre, y del 80% en el tejido prostático. No obstante, aún se desconoce la importancia de este hecho, quedando por determinar la posibilidad de que el patrón de isómeros cis pueda reflejar la participación del licopeno en reacciones biológicas específicas.

Por otro lado las diferencias encontradas también pueden ser relacionadas con el hecho de que la combinación con lípidos de la dieta facilita la disolución del licopeno y mejora su absorción, de tal forma que el licopeno del tomate se absorbe más eficientemente cuando el fruto se calienta en combinación con una grasa absorbible¹⁵.

Algunos carotenoides de la dieta, como el beta-caroteno, constituyen una importante fuente de vitamina A aunque la mayoría de ellos, entre los que se encuentra el licopeno, carecen de actividad provitamina A y sus efectos biológicos han de ser atribuidos a otros mecanismos de acción. La existencia de datos analíticos relativos a la distribución de los carotenoides en los diferentes tejidos y las evidencias experimentales que indican que estas sustancias funcionan como agentes antioxidantes y modificadores de los procesos inflamatorios¹⁵, permiten fundamentar la hipótesis de la existencia de mecanismos biológicos por los cuales estas sustancias naturales pueden disminuir el riesgo de padecimiento de ciertas enfermedades.

En el caso concreto del licopeno su estructura química, caracterizada por un elevado número de dobles enlaces, origina una alta capacidad de neutralización de radicales libres de oxígeno¹⁶ siendo considerado actualmente como uno de los más potentes antioxidantes¹⁷. Este efecto se observa de forma más intensa a nivel de la membrana celular, en la que tiende a localizarse dado el carácter extremadamente hidrófobo de su molécula.

En los últimos años se han realizado diferentes estudios epidemiológicos en los que se presta especial atención a los factores de tipo dietético y que apoyan el efecto protector que tienen los carotenoides en general y el licopeno en particular frente a enfermedades crónico-degenerativas, fundamentalmente cáncer y enfermedad cardiovascular^{4,5,6,7,8,9,10,11,18,19,20,21,22,23,24,25}. Es también pertinente señalar, que en las últimas décadas ha crecido el interés por el estudio de aquellas patologías que pueden estar ligadas a factores nutricionales, muchas de ellas de carácter crónico y que constituyen verdaderos problemas de salud pública en los países industrializados. En estos casos, determinados indicadores bioquímicos permiten predecir el riesgo de padecer una enfermedad, independientemente de que sus niveles estén determinados por la ingesta dietética o por otros factores, siempre que se haya podido poner en evidencia la asociación entre el riesgo de desarrollar una enfermedad y la presencia de déficit subclínicos, o, al contrario, de cifras por encima de los valores reco-

mendados. Son numerosos los estudios sobre el estado nutricional que se han llevado a cabo en nuestro país, pero sólo cabe mencionar los realizados en Cataluña²⁶, en el País Vasco²⁷ y la Encuesta Nutricional de la Comunidad Canaria²⁸ como referencia de estudios nutricionales de base poblacional que incluyan la valoración bioquímica. La Encuesta Nutricional de la Comunidad Canaria se llevó a cabo sobre una muestra representativa de la población, en este caso todos los habitantes del Archipiélago, y en ella fue valorado el estado nutricional desde los puntos de vista dietético, clínico, antropométrico y bioquímico.

Disponer de datos precisos referentes a la biodisponibilidad de los carotenoides, contribuye a la adquisición de un mayor control sobre los factores dietéticos y elementos operativos adicionales, potencialmente efectivos en la prevención de determinadas enfermedades. En este sentido, los datos que se presentan en este trabajo, en relación al licopeno, constituyen una importante aportación que permite llegar a la conclusión de que la biodisponibilidad del licopeno del tomate depende prioritariamente de la asociación con ácidos grasos, así como que el tratamiento térmico del producto maximiza su biodisponibilidad. Estos datos son comparables, en líneas generales, a otros trabajos desarrollados y corroboran los resultados obtenidos en la mencionada Encuesta Nutricional de la Comunidad Canaria. Sin embargo, en el presente trabajo son incluidos aspectos de la biodisponibilidad del licopeno, en relación con un tipo concreto de alimento y su procesado. En ello consiste la originalidad y principal contribución del estudio realizado.

Referencias

1. Gartner C, Stahl W, Sies H. Lycopene contents of tomatoes and tomato products and their contribution to dietary lycopene. *Am J Clin Nutr* 1997; 66: 116-122.
2. Sies H, Stahl W. Lycopene: antioxidant and biological effects and its bioavailability in the human. *Proc Soc Exp Biol Med* 1998; 218: 121-124.
3. Clinton SK, Emenhiser C, Scharztz SJ, Bostwick DG, Williams AW, Morore BJ, et al. Cis-trans lycopene isomers, carotenoids and retinol in the human prostate. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1996; 5: 823-833.
4. Franceschi S, Bidoli E, La Vecchia C, Talamini R, D'Avanzo B, Negri E. Tomatoes and risk of digestive-tract cancers. *Int J Cancer* 1994; 59: 181-184.
5. Giovannucci E. Tomatoes, tomato-based products, lycopene, and cancer: review of the epidemiologic literature. *J Natl Cancer Inst* 1999; 91: 317-331.
6. Kohlmeier L, Kark JD, Gómez-Gracia E, Martin BC, Steck SE, Kardinaal AFM et al. Lycopene and myocardial infarction risk in the EURAMIC study. *Am J Epidemiol* 1997; 146: 618-626.
7. Levy J, Bosin E, Feldman B, Giat Y, Miinster A, Danilenko M et al. Lycopene is a more potent inhibitor of human cancer cell proliferation than either alpha-tocopherol or beta-carotene. *Nutr Cancer* 1995; 24: 257-266.
8. Nagasawa H, Mitamura T, Sakamoto S, Yamamoto K. Effect of lycopene on spontaneous mammary tumor development in SHN virgin mice. *Anticancer Research* 1995; 15: 1173-1178.
9. Okajima E, Tsutsumi M, Ozono S, Akai H, Denda A, Nishino H, et al. Inhibitory effect of tomato juice on rat urinary bladder carcinogenesis after N-butyl-N-(4-hydroxybutyl)nitrosamine initiation. *Jpn J Cancer Res* 1998; 89: 22-26.

10. A. Koul, N. Arora and L. Tanwar. Lycopene mediated modulation of 7, 12 dimethylbenz (A) anthracene induced hepatic clastogenicity in male Balb/c mice. *Nutr Hosp* 2010; 25 (2): 304-310
11. Valero MA, Vidal A, Burgos R, Calvo F, C. Martinez C, Luengo L M, Cuerda C Meta-análisis del papel del licopeno en la diabetes mellitus tipo 2. *Nutr Hosp* 2011; 26 (6): 1236-1241.
12. Djuric Z, Powell LC. Antioxidant capacity of lycopene-containing foods. *Int J Food Sci Nutr* 2001; 52: 143-149.
13. Shi J, Le Maguer M. Licopeno en el tomate: Propiedades químicas y físicas afectadas por el tratamiento de las comidas. Southern Crop Protection and Food Research Center, Agricultura, Ontario, Canadá 2000.
14. Van het Hof KH, de Boer BC, Tijburg LB, Lucius BR, Zijp I, West CE, et al. Carotenoid bioavailability in humans from tomatoes processed in different ways determined from the carotenoid response in the triglyceride-rich lipoprotein fraction of plasma after a single consumption and plasma after four days of consumption and in plasma after four days of consumption. *J Nutr* 2000; 130: 1189-1196.
15. Biesalski HK. Evidence from intervention studies. *Bibl Nutr Dieta* 2001; 55: 92-134.
16. Sies H, Stahl W. Vitamins E and C, betacarotene, and other carotenoids as antioxidants. *Am J Clin Nutr* 1995; 62: 1315S-1321S.
17. Miller NJ, Sampson J, Candeias LP, Bramley PM, Rice Evans CA. Antioxidant activities of carotenes and xanthophylls. *FEBS Lett* 1996; 384: 240-246.
18. Agarwal S, Rao AV. Tomato lycopene and low density lipoprotein oxidation: a human dietary intervention study. *Lipids* 1998; 33: 981-984.
19. De stefani E, Boffetta P, Brennan P, Deneo-Pellegrini H, Carzoglio J, Ronco A et al. Dietary carotenoids and risk of gastric cancer: a case-control study in Uruguay. *Eur J Cancer Prev* 2000; 9: 329-334.
20. Dorgan FF, Sowell A, Swason CA, Potischman N, Miller R, Schussler N, et al. Relationship of serum carotenoids, retinol, alpha-tocopherol, and selenium with breast cancer risk: results from a prospective study in Columbia, Missouri (United States). *Cancer Causes Control* 1998; 9: 89-97.
21. Giovannucci E, Ascherio A, Rimm EB, Stampfer MJ, Colditz GA, Willet WC. Intake of carotenoids and retinol in relation to risk of prostate cancer. *J Natl Cancer Inst* 1995; 87: 1767-1776.
22. Giugliano D. Dietary antioxidants for cardiovascular prevention. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2000; 10: 38-44.
23. La Vecchia C. Mediterranean epidemiological evidence on tomatoes and prevention of digestive tract cancers. *Proc Soc Exp Biol Med* 1997; 218: 125-128.
24. Pool-Zobel BL, Bub A, Muller H, Willowski I, Rechkemmer G. Consumption of vegetables reduces genetic damage in humans: first results of a human intervention trial with carotenoid-rich foods. *Carcinogenesis* 1997; 18: 1847-1850.
25. Schoonover LL. Oxidative stress and the role of antioxidants in cardiovascular risk reduction. *Prog Cardiovasc Nurs* 2001; 16: 30-32.
26. Serra Majem L, Ribas Barba L. (eds). Trends in Nutrition Status in Catalonia, Spain (1992-2003). *Public Health Nutr* 2007; 10 (11A): 1339-1414
27. Aranceta J, Pérez C, Marzana I, Eguileor I, González de Galdeano L & Sáenz de Buruaga I: Encuesta de Nutrición de la Comunidad Autónoma Vasca. Tendencias de Consumo Alimentario, Indicadores Bioquímicos y Estado Nutricional de la Población Adulta. Vitoria: Servicio de Publicaciones Gobierno Vasco 1995.
28. Serra Majem L (ed). Evaluación del estado nutricional de la población canaria (1997-98). *Arch Latinoamer Nutr* 2000; 50: 1-70.