

# Comportamiento de ácidos cítrico, ascórbico y málico en tomate frente a tres sistemas de conservación

## Behaviour of citric acid, ascorbic acid and malic acid in tomato against three systems of conservation

Obradith Caicedo Orjuela<sup>1\*</sup>, Jesús Antonio Galvis Vanegas<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup> M.Sc, Docente investigadora Departamento de Ciencias Básicas, Facultad de Ingeniería, Universidad Libre, Bogotá Colombia.

\*obradith.caicedo@unilibrebog.edu.co

<sup>2</sup> Ph.D. Docente, Facultad de Ingeniería, Fundación Universitaria Agraria de Colombia, Bogotá-Colombia. \*jagalvisb@gmail.com

Fecha de recepción del artículo: 13/08/2012 Fecha de aceptación del artículo: 08/08/2012

### Resumen

En este estudio se evaluó el comportamiento de los ácidos ascórbico, cítrico y málico durante el almacenamiento de tomate larga vida (*Solanum lycopersicum* L.) mínimamente procesados, bajo diferentes condiciones de conservación. Rodajas de tomate fueron sometidas a inmersión en ácido ascórbico 150 y 300 ppm, ácido cítrico 250 y 500 ppm y baño de agua a 45 y 50 °C, posteriormente almacenados durante 9 días a 4 °C.

Los ácidos fueron extraídos con H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> 4.5 % v/v y analizados por HPLC con fase móvil H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pH 2.3 columna RP-C18 30 cm 4.6 mm DI 5µm, flujo 0.3 mL/min. Se evaluaron muestras en los días 0, 3, 6 y 9 de almacenamiento. Los resultados indicaron que el contenido de ácido ascórbico disminuye con el tratamiento de ácido cítrico 250 ppm y 50 °C. El contenido de ácido cítrico y málico no afecto con el tratamiento térmico o con ácido ascórbico.

### Palabras clave

Ácidos orgánicos, antioxidantes, HPLC, *Solanum lycopersicum* L.

### Abstract

In this study the behavior of ascorbic, citric and malic acids was evaluated during storage of long life

tomato (*Solanum lycopersicum* L.) minimally processed under different conservation conditions. Tomato slices were subjected to immersion in ascorbic acid of 150 and 300 ppm, citric acid of 250 and 500 ppm, and water bath at 45 and 50 °C during 9 days at 4 °C.

Acids were extracted with H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> at 4.5 %v / v and analyzed by HPLC with mobile phase pH 2.3 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> RP-C18 column, 30 cm 4.6 mm ID 5µm, flow 0.3 mL / min. Samples were evaluated at days 0, 3, 6 and 9 of storage. The results indicated that the ascorbic acid content decreases with citric acid treatment from 250 ppm to 50 °C. The content of citric and malic acids is not affected neither by heat treatment nor with ascorbic acid.

### Key words

Organic acids, antioxidants, HPLC, *Solanum lycopersicum* L.

### Introducción

El tomate es una de las hortalizas más difundidas a nivel mundial, dado que hace parte de la dieta de la población en general, siendo su principal uso en la preparación de ensaladas. A nivel industrial, su uso está orientado a la producción de salsas. Una de las razones por las cuales el consumo de tomate presenta gran demanda, es por sus propiedades

nutricionales y beneficios para la salud. El tomate es fuente de licopeno y compuestos que le confieren una importante actividad antioxidante [1], es rico en ácido cítrico y otros ácidos orgánicos, contiene azúcares simples y cerca de 400 compuestos volátiles que le confieren sabor y aroma[2].

Para promover los beneficios del tomate, se hace necesario aumentar los canales de comercialización, así como implementar diferentes presentaciones del producto que lo hagan de fácil consumo. Las hortalizas mínimamente procesadas se han convertido en una buena alternativa de comercialización, sin embargo, este proceso puede generar cambios en la composición química del alimento. Procedimientos como corte e inmersión en vinagre, producen cambios en el color, disminuye el contenido de compuestos fenólicos y ácido ascórbico, y la inmersión en aceite disminuye el contenido de licopeno [3]. El almacenamiento de tomates frescos a 5 °C inhibe desarrollo de licopeno, mejora la actividad antioxidante, pero genera pérdida de peso [4]. Almacenamiento del tomate a temperaturas mayores (7 y 15 °C), permiten el incremento en la actividad antioxidante [5]. También se ha encontrado que el simple corte y almacenamiento a 5 °C, disminuye la actividad antioxidante respecto a tomates enteros [6].

Es evidente que cualquier proceso al que sea sometido el fruto de tomate, conlleva a cambios en la composición química del mismo, lo que se traduce en un cambio en el valor nutricional. Es por esto que se hace necesario establecer un sistema antioxidante apropiado que permita prolongar la vida útil del tomate “larga vida” (*Solanum lycopersicum* L) mínimamente procesado, conservando sus características fisicoquímicas, organolépticas, nutricionales y microbiológicas y de esta manera preservar su calidad, para lograr aceptabilidad en el mercado.

## **Materiales y métodos**

### **Material vegetal**

Se utilizó tomate larga vida (*Solanum lycopersicum* L.) híbrido milano, proveniente del municipio

de Fusagasugá (Cundinamarca). Los frutos fueron seleccionados en estado maduro, de tamaño uniforme (extra), libres de magulladuras y completamente sanos. Posteriormente fueron lavados y luego desinfectados con hipoclorito de sodio 20 ppm.

### **Propiedades fisicoquímicas**

Previo a someter los frutos a los diferentes tratamientos, estos fueron caracterizados teniendo en cuenta parámetros fisicoquímicos como porcentaje de acidez, pH, °Brix, índice de madurez y dureza [7].

### **Sistemas de conservación evaluados para prolongar la vida útil de tomate larga vida mínimamente procesado**

Con el fin de establecer el sistema de conservación apropiado para prolongar la vida útil de tomate mínimamente procesado, conservando sus propiedades fisicoquímicas, los tomates fueron cortados en rodajas de aproximadamente 5 mm y se sometieron por inmersión a cada uno de los tratamientos que se anotan en la Tabla 1. Se escurrieron y posteriormente se almacenaron a 4°C y 85 % HR en empaque de polietileno calibre 2.

### **Determinación del sistema cromatográfico adecuado para cuantificar ácidos orgánicos (ascórbico, cítrico y málico) en tomate variedad larga vida**

Con el propósito de establecer condiciones cromatográficas adecuadas para la cuantificación simultánea de los ácidos orgánicos, se evalúan dos tipos de columnas cromatográficas, RP-18, una de 5 cm de longitud y la otra de 30 cm. Como fases móviles  $H_3PO_4$  pH 4.0, pH 2.5 y  $H_2SO_4$  pH 2.3. Respecto a la longitud de onda se realizan lecturas a 215 nm, 210 nm, 245 nm y 260 nm. Adicionalmente se usan flujos entre 0.3 y 0.5 mL/min [1,8]. Una vez seleccionadas las condiciones cromatográficas, se evaluó la linealidad del sistemas para cada ácido en seis niveles de concentración

**Tabla 1.** Condiciones para evaluar tres sistemas de conservación en tomate larga vida mínimamente procesado

Tratamiento	Nivel	Tiempo de muestreo (días)	Tiempo de exposición (min)
Ácido ascórbico*	150 ppm	0, 3, 6 y 9	2
	300 ppm		2
Ácido cítrico*	250 ppm	0, 3, 6 y 9	2
	500 ppm		2
Temperatura	45 °C	0, 3, 6 y 9	1
	50 °C		1

\*Para estos tratamientos se trabajó a 20 °C.

y cada concentración se analizó por triplicado, usando patrones primarios.

### Extracción de ácidos orgánicos (ascórbico, cítrico y málico) a partir de tomate variedad larga vida

La extracción simultánea de los ácidos orgánicos a partir de las muestras de tomate, se realizó teniendo en cuenta las variables que se indican en la tabla 2, tomando como base la metodología reportada en la literatura [9]. Todos los tratamientos se evaluaron usando 2 g de tomate y como solución de extracción H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> 4.5 % v/v. Una vez obtenidos los extractos, se cuantificaron los ácidos por HPLC, según las condiciones establecidas previamente.

**Tabla 2.** Parámetros evaluados para la extracción de ácidos orgánicos a partir de tomate larga vida.

Parámetro evaluado	Tratamiento 1	Tratamiento 2
Volumen de solución de extracción (mL)	5	10
Tiempo de extracción (min)	3	5

### Análisis estadísticos

Los análisis realizados a lo largo de la investigación, fueron el resultado de triplicados. Los datos obtenidos se analizaron usando un análisis de varianza y prueba de rango múltiple P = 0,05 con el programa Stat graphics plus 5.1®.

## Resultados y discusión

### Caracterización de las propiedades fisicoquímicas del tomate

En la Tabla 3 se reportan los resultados obtenidos en la determinación de parámetros fisicoquímicos de los tomates usados para el estudio. Con base en la relación entre °Brix y acidez, se clasificaron según el índice de madurez.

**Tabla 3.** Propiedades fisicoquímicas de los tomates utilizados en el estudio.

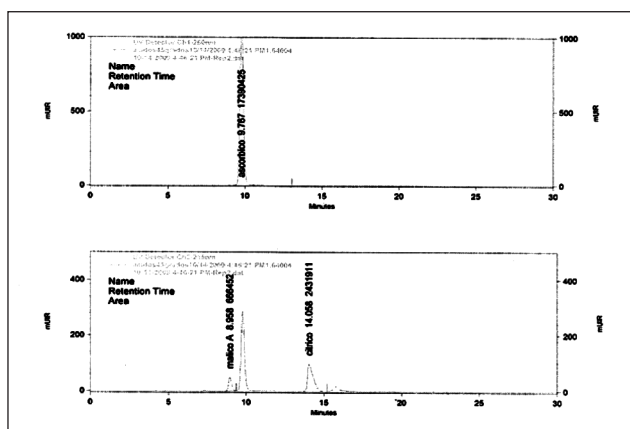
Propiedad	Resultado
Color	Orange red N 30 A* brillante con puntos amarillos
Textura	Firme, lisa y brillante
Acidez % ácido cítrico	<b>Promedio: 0.28</b> DS: 0.0 CV: 0.0
pH	<b>Promedio: 4.2</b> DS: 0,052 CV: 1,2
°Brix	<b>Promedio: 4.1</b> DS: 0.12 CV: 2.8
Índice de madurez	<b>Promedio: 14.28</b>
Dureza Kg/cm <sup>2</sup>	<b>Promedio: 2.3</b> DS: 0,27 CV: 12.0

\* Determinado según carta de colores Royal Society Canadá.

## Sistema cromatográfico para la cuantificación de ácidos ascórbico, cítrico y málico en muestras de tomate larga vida

Las condiciones que permitieron obtener picos cromatográficos adecuadamente resueltos y en tiempos de retención relativamente cortos para la cuantificación de cada ácido fueron: Columna RP-C18 30 cm 4.6 mm DI 5 $\mu$ m, fase móvil H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pH 2.3, longitud de onda 260 nm para ascórbico y 215 nm para ácido cítrico y málico, flujo 0.3 mL/min, volumen de inyección 20  $\mu$ L, temperatura ambiente. Los tiempos de retención fueron: ácido ascórbico 9.7 min, ácido cítrico 14.0 min y ácido málico 8.9 min como se observa en la Figura 1.

**Figura 1.** Perfil cromatográfico de ácidos orgánicos de extracto de tomate



El intervalo lineal se estableció en las siguientes concentraciones: ácido ascórbico entre 0.017 y 0.36 mg/mL, ácido cítrico entre 0.070 y 2.7 mg/mL y ácido málico entre 0.022 y 0.83 mg/mL.

## Metodología para la extracción simultánea de ácidos orgánicos a partir de muestras de tomate larga vida

La metodología para extraer ácidos cítrico, ascórbico y málico, a partir de tomate larga vida fueron: tomar aproximadamente 20 g de tomate congelado; homogeneizar en licuadora durante 1 min; pesar aproximadamente 2 g de esta muestra y

añadir 5 mL de solución extractora (H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> 4.5 % v/v); agitar 3 min en vórtex a 3000 rpm; centrifugar durante 10 min a 4500 rpm; tomar el sobrenadante y filtrar por membrana de tamaño de poro 0.45  $\mu$ m e inyectar en el cromatógrafo.

## Evaluación del contenido de ácidos cítrico, ascórbico y málico de las muestras de tomate sometidas a los diferentes sistemas de conservación durante el almacenamiento

### Contenido de ácido ascórbico

En la Tabla 4 se muestra el contenido de ácido ascórbico en tomate larga vida mínimamente procesado, durante el almacenamiento bajo los sistemas ácido cítrico 250 y 500 ppm y calentamiento a 45 y 50 °C.

Los resultados indican que en las muestras de tomates sometidos al tratamiento con ácido cítrico 250 ppm, así como en las muestras sometidas a calentamiento a 50 °C, no hay diferencias estadísticamente significativas dentro de cada tratamiento en el contenido de ácido ascórbico. Sin embargo, se observa una tendencia a disminuir a lo largo del almacenamiento; este comportamiento indicaría que bajo estas condiciones, se inhibe la producción endógena del ácido y adicionalmente que éste se va degradando. La degradación del ácido como consecuencia del calentamiento, coincide con lo reportado por otros autores, [10] quienes encontraron que a temperatura por encima de las usadas en procesos de pasteurización, el contenido de ácido ascórbico disminuyó.

En las muestras sometidas a tratamiento con ácido cítrico 500 ppm y 45 °C, se observa aumento en el contenido de este ácido a lo largo del almacenamiento; lo que indicaría que no se inhiben los procesos metabólicos que dan lugar a la producción del ácido. Por otro lado se ha reportado que el tratamiento de tomate con temperaturas de hasta 45 °C, antes del almacenamiento, reduce significativamente el daño fisiológico por frío, lo

**Tabla 4.** Contenido de ácido ascórbico en tomate larga vida expresado en mg/100 g de material vegetal. AA: ácido ascórbico. AC: ácido cítrico. SD: desviación estándar.

Día	AC 250 ppm	SD	*	AC 500 ppm	SD	*	45°C	SD	*	50°C	SD	*
0	6.9	1.2	a	2.8	0.1	a	3.7	0.7	a	7.5	0.5	a
3	3.4	0.6	b	1.2	0.1	a	5.0	0.6	c	6.0	0.8	a
6	2.6	0.5	b	4.0	0.6	b	11.2	1.3	b	3.3	0.1	b
9	2.6	0.3	b	8.1	1.6	c	10.2	0.8	d	3.9	0.2	a

\*Letras iguales significan que no hay diferencias estadísticamente significativas dentro de los tratamientos.

que se traduce en la estabilidad de metabolitos como el ácido ascórbico [11].

Respecto al comportamiento del ácido ascórbico frente al tratamiento con ácido cítrico, se observó que a mayor concentración de ácido cítrico, aumenta el contenido de ascórbico. Este comportamiento coincide con lo reportado por Yueming *et al.* (2004) [12], quien encontró que al tratar hortalizas frescas cortadas, con dos concentraciones de ácido cítrico, las que se trataron con mayor concentración del ácido, conservaron sus propiedades físicas y químicas entre ellas, el contenido de ácido ascórbico, dado que a concentración alta de ácido cítrico, se inhibe la acción enzimática de polifenoloxidasas.

### Contenido de ácido málico

Contenido de ácido málico en tomate “larga vida” mínimamente procesado, sometido a tratamiento con ácido cítrico 250 y 500 ppm, ácido ascórbico 150 y 300 ppm y calentamiento de 45 y 50 °C se muestran en la Tabla 5. Los resultados indicaron que el contenido de ácido málico permaneció constante a lo largo del almacenamiento en todos los tratamientos; es decir, que durante los diferentes tratamientos, posiblemente se inhibe la producción del ácido sin que este se deteriore como consecuencia de los mismos. Sin embargo, se hace necesario un estudio que permita establecer que la velocidad de degradación no sea la misma que la de síntesis.

**Tabla 5.** Contenido de ácido málico en tomate larga vida expresado en mg/100 g de material vegetal. AA: ácido ascórbico. AC: ácido cítrico. SD: desviación estándar

Día	AA 150 ppm	SD	*	AA 300 ppm	SD	*	AC 250 ppm	SD	*	AC 500 ppm	SD	*	45°C	SD	*	50°C	SD	*
0	48.1	1.4	a	38.94	1.97	a	45.4	4.3	a	52.7	4.0	a	38.3	8.4	a	24.7	2.8	a
3	31.2	1.0	b	38.15	5.83	a	44.5	7.6	a	42.6	4.1	a	52.4	0.0	a	37.7	2.0	b
6	40.9	0.4	a	27.94	1.88	a	28.6	0.7	b	32.2	1.5	a	40.4	4.1	a	25.7	0.5	a
9	48.2	1.5	a	34.75	3.73	a	51.3	4.0	a	35.4	4.6	a	38.3	6.7	a	19.5	1.0	a

\*Letras iguales significan que no hay diferencias estadísticamente significativas dentro de los tratamientos.

### Contenido de ácido cítrico

El contenido de ácido cítrico en tomate “larga vida” mínimamente procesado, sometido a tratamiento

con ácido ascórbico 150 y 300 ppm y temperatura (45 y 50 °C), se muestran en la Tabla 6.



**Tabla 6.** Contenido de ácido cítrico en tomate larga vida expresado en mg/100 g de material vegetal. AA: ácido ascórbico. AC: ácido cítrico. SD: desviación estándar

Día	AA 150 ppm	SD	*	AA 300 ppm	SD	*	45°C	SD	*	50°C	SD	*
0	259.5	6.0	a	324.6	13.8	a	345.6	13.3	a	438.8	17.3	a
3	250.0	8.7	a	244.0	46.9	a	369.3	51.4	a	394.2	49.8	a
6	188.2	5.3	a	232.3	9.3	a	332.1	7.4	a	449.7	6.0	a
9	290.1	11.0	a	397.6	64.5	a	181.5	22.3	a	356.0	2.7	a

\* Letras iguales significan que no hay diferencias estadísticamente significativas dentro de los tratamientos.

Los resultados indicaron que no hay diferencias estadísticamente significativas dentro de los tratamientos a lo largo del almacenamiento. Esto indicaría que posiblemente todos los tratamientos inhiben la producción del ácido a lo largo del almacenamiento y además, que este no se degrada. Sin embargo, existen reportes donde se ha encontrado que el ácido ascórbico adicionado al alimento tiene efectos negativos sobre pigmentos como antocianinas [13].

Al comparar el contenido de cada ácido se evidenció que el ácido cítrico se encuentra en mayor proporción, mientras que el ácido ascórbico se presenta en menor cantidad. Estos resultados están acorde con algunos reportes. Ordoñez *et al* (2009) [14].

## Conclusiones

Este estudio permitió establecer que el contenido de ácidos cítrico y málico fue estable frente a los tres tratamientos de conservación evaluados. Respecto al contenido de ácido ascórbico, se encontró que este se afecta positivamente frente al tratamiento con ácido cítrico 500 ppm y 45 °C; con los demás tratamientos el contenido disminuye a lo largo del almacenamiento.

Por lo tanto, como método adecuado para preservar la composición química del fruto y prolongar la vida útil del tomate mínimamente procesado, se recomienda el tratamiento con ácido cítrico 500 ppm o inmersión en agua a 45 °C.

Adicionalmente, se evidenció que los cambios que experimenta el tomate mínimamente procesado, al

ser sometido a los diferentes tratamientos, pueden afectar la composición química del alimento; lo que se traduce en cambios en el contenido nutricional. Como consecuencia, al seleccionar un método de conservación, se hace necesario tener en cuenta no solamente los resultados desde el punto de vista microbiológico o sensorial, sino a nivel nutricional.

## Agradecimientos

Los autores expresan sus agradecimientos a las siguientes entidades:

- Cooperativa de Trabajo Asociado para el Desarrollo Integral del Tequendama – COOMUTSOA.
- Fundación Endesa.
- Ministerio de Agricultura.
- Fundación Universitaria Agraria de Colombia - UNIAGRARIA.

## Referencias

1. Hernández, M., Rodríguez, E.M., Díaz. C. (2008). Chemical composition of tomato (*Lycopersicon esculentum*) from Tenerife, the Canary Islands, *Food Chemistry*, 106, 1046–1056.
2. Thybo, A. K., Edelenbos, M., Christensen, L.P., Sorensen, J. N., Thorup, K. (2006). Effect of organic growing systems on sensory quality and chemical composition of tomatoes. *LWT-Food Science and Technology*, 39, 835–843.

3. Sahlin, E., Savage, G.P., Lister, C.E. (2004). Investigation of the antioxidant properties of tomatoes after processing, *Journal of Food Composition and Analysis*, 17, 635–647.
4. Javanmardi, J., Kubota, C. (2006). Variation of lycopene, antioxidant activity, total soluble solids and weight loss of tomato during postharvest storage, *Postharvest Biology and Technology*, 41, 151–155.
5. Toor, R., Savage, G. (2006). Changes in major antioxidant components of tomatoes during post-harvest storage, *Food Chemistry*, 99, 724–727.
6. Lana, M., Tijssens, L.M.M. (2006). Effects of cutting and maturity on antioxidant activity of fresh-cut tomatoes, *Food Chemistry*, 97, 203–211.
7. Bernal, I. (1993). Análisis de alimentos. 1era ed. Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales. Bogotá, D.C., Colombia.
8. Rodríguez, A., Lage, M., Hernandez, J. (2009). HPLC analysis of organic acids using a novel stationary phase, *Talanta*, 78, 643–646.
9. Hernández, Y., Lobo, G., González, M. (2006). Determination of vitamin C in tropical fruits: A comparative evaluation of methods, *Food Chemistry*, 96, 654–664.
10. Pérez, D., García, A., García, V., Iniestra, M., Jacob, K., Sánchez, M., Ros, G., Periago, M. (2009). Changes in bioactive compounds and antioxidant activity during homogenization and thermal processing of tomato puree, *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 10, 179–188.
11. Yang, J., Fu, M.R., Zhao, Y.Y., MAO, L-C. (2009). Reduction of Chilling Injury and Ultrastructural Damage in Cherry Tomato Fruits After Hot Water Treatment, *Agricultural Sciences in China*, 8(3): 304-310.
12. Yueming, J., Litao, P., Jianrong, L. (2004). Use of citric acid for shelf life and quality maintenance of fresh-cut Chinese water chestnut, *Journal of Food Engineerin*, 63, 325–328.
13. Meléndez, A., Vicario, I., Heredia, I., (2009). Effect of ascorbic acid on deterioration of carotenoids and colour in ultrafrozen orange juice. *Journal of Food Composition and Analysis*, 22, 295–302.
14. Ordóñez, L.E., Vázquez, L., Arbones, E., Romero, M.A. (2009). The influence of storage time on micronutrients in bottled tomato pulp, *Food Chemistry*, 112, 146–149.