

UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA

FACULTAD DE AGRONOMÍA

CARACTERIZACIÓN DE SEIS CULTIVARES DE ZANAHORIAS

(Daucus carota, L.), CRUDAS Y COCIDAS AL VAPOR,
POR COLOR Y CONTENIDO Y BIOACCESIBILIDAD *in vitro*
DE β – CAROTENOS Y MINERALES

por

Fernanda Isabel ZACCARI VEIGA

TESIS presentada como uno de los
requisitos para obtener el título de
Magister en Ciencias Agrarias
Opción: Ciencias Vegetales

MONTEVIDEO
URUGUAY
2010

Tesis aprobada por:

Ph.D. Jorge Eduardo Arboleya Dufour

Ph.D. Guillermo Alesio Galván Vivero

Ph.D. Daniel Vázquez Peyronel

Fecha: 9 de diciembre de 2010

Autor: Fernanda Isabel Zaccari Veiga

Directora: Dra. María Cristina Cabrera Bascardal

AGRADECIMIENTOS

Agradezco al grupo de trabajo del Laboratorio de Nutrición y Calidad de Alimentos, de la Facultad Agronomía y al grupo del laboratorio de Nutrición y Fisiología de la Facultad Ciencias por el apoyo humano recibido para la ejecución del trabajo.

Una especial mención para la Dra. Cristina Cabrera por sus aportes académicos durante la realización de la maestría, así como por su apoyo permanente para realizar innovaciones y emprender nuevos enfoques de estudio para la Facultad de Agronomía.

Muchas gracias a Ana Ramos, Roxana Las y Giovanni Galieta por su colaboración en los análisis químicos realizados, y a las “colegas de la casa Horticultura” que fueron colaboradoras en esta etapa de estudio en la maestría.

¡Gracias a Ale y Manu por la paciencia que me han tenido!

TABLA DE CONTENIDO

	Página
PÁGINA DE APROBACIÓN.....	II
AGRADECIMIENTOS.....	III
LISTA DE CUADROS Y FIGURAS.....	VII
RESUMEN.....	IX
SUMMARY.....	X
 1. <u>INTRODUCCIÓN</u>.....	 1
 2. <u>ANTECEDENTES</u>.....	 5
2.1 LAS ZANAHORIAS, UN ALIMENTO COMÚN.....	5
2.1.1 <u>Origen de las zanahorias</u>.....	5
2.1.2 <u>Producción y consumo en Uruguay</u>.....	6
2.2 LA VALORACIÓN DE LAS ZANAHORIA DESDE UNA	
PERSPECTIVA NUTRICIONAL	6
2.2.1 <u>Los carotenos y el color de las zanahorias</u>.....	7
2.2.2 <u>Que son los carotenoides</u>.....	9
2.2.3 <u>Propiedades físicas y químicas de los carotenoides</u>	10
2.2.4 <u>Estabilidad de los carotenoides</u>	12
2.2.5 <u>Bioaccesibilidad y efectos beneficiosos de los carotenoides</u>	13
2.2.6 <u>Macro y microminerales en las zanahorias</u>	14
2.2.7 <u>Requerimientos de minerales en la dieta humana</u>	17
2.2.8 <u>Bioaccesibilidad de los minerales y efecto beneficioso</u>	
<u>en la salud</u>	17
 3. <u>MATERIALES Y MÉTODOS</u>.....	 18
3.1 DESCRIPCIÓN DEL MATERIAL GENÉTICO	18
3.1.1 <u>Material vegetal</u>	18
3.1.2 <u>Preparación de las muestras..</u>.....	18
3.2 CARACTERIZACIÓN FÍSICA-QUÍMICA DE LOS	
MATERIALES VEGETALES	19

	Página
3.2.1 <u>Determinación de materia seca</u>	19
3.2.2 <u>Determinación del color</u>	19
3.2.3 <u>Determinación del contenido de sólidos solubles totales</u>	20
3.2.4 <u>Determinación del contenido de β-carotenos totales</u>	21
3.2.4.1 Extracción de β -carotenos en muestras crudas y cocidas.....	21
3.2.4.2 Cuantificación de β -carotenos totales.....	21
3.2.5 Determinación del contenido de Ca, Mg, Cu y Zn totales.....	22
3.2.5.1 Preparación de la muestra para medir minerales totales	22
3.2.5.2 Cuantificación de Ca, Mg, Cu y Zn totales	22
3.3 CARACTERIZACIÓN NUTRICIONAL DE LOS MATERIALES VEGETALES.....	23
3.3.1 <u>Contenido de β-carotenos y minerales bioaccesibles</u>	23
3.3.1.1 Procedimiento experimental de bioaccesibilidad <i>in Vitro</i> . 23	
3.3.1.2 Extracción de β -caroteno de las digestas.....	24
3.3.1.3 Cuantificación de β -carotenos bioaccesibles.....	25
3.3.1.4 Cuantificación de minerales bioaccesibles.....	25
3.4 DISEÑO EXPERIMENTAL Y ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	26
4. <u>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</u>	27
4.1 CARACTERIZACIÓN FÍSICA-QUÍMICA DE LAS ZANAHORIAS....	27
4.1.1 <u>Materia seca</u>	27
4.1.2 <u>Color del Floema y Xilema</u>	29
4.1.2.1 Luminosidad (L*) del floema y xilema.....	29
4.1.2.2 Tono (ángulo hue) del floema y xilema.....	32
4.1.2.3 Saturación (Croma) del floema y xilema.....	34

	Página
4.1.3 <u>Contenido de sólidos solubles totales</u>	36
4.1.4 <u>Contenido de β-carotenos totales</u>	38
4.1.4.1 Contenido de β -carotenos totales en peso fresco.....	38
4.1.4.2 Contenido de β -carotenos totales en peso seco.....	41
4.1.5 <u>Correlación entre el tono promedio (ángulo hue)</u> <u>y el contenido de β-carotenos</u>	42
4.1.6 <u>Contenido de Ca, Mg, Cu y Zn totales</u>	43
4.1.6.1 Contenido de Ca total.	43
4.1.6.2 Contenido de Mg total.	45
4.1.6.3 Contenido de Cu total.	47
4.1.6.4 Contenido de Zn total.	48
 4.2 CARACTERIZACIÓN NUTRICIONAL DE LOS MATERIALES VEGETALES	50
4.2.1 <u>Contenido de β-carotenos bioaccesibles</u>	50
4.2.2 <u>Contenido de minerales bioaccesibles</u>	54
4.2.2.1 Contenido de Ca bioaccesible.	54
4.2.2.2 Contenido de Mg bioaccesible.....	57
4.2.2.3 Contenido de Zn bioaccesible.	59
 5. <u>CONCLUSIONES</u>	62
 6. <u>BIBLIOGRAFÍA</u>	64
 7. <u>ANEXOS</u>	79

LISTA DE CUADROS Y FIGURAS

Cuadro No.	Página
1. Contenido total de α carotenos y β -carotenos (mg/100g fresco) en diferentes cultivares de zanahorias anaranjadas crudas.....	8
2. Recomendaciones dietarias de ingesta diaria (RDA) y nivel superior de ingesta tolerable (UL) de calcio, magnesio, cobre y zinc (mg/día).....	17
Figura No.	
1. Contenido de materia seca (%) de seis materiales genéticos de zanahoria, crudas y cocidas.....	27
2. Luminosidad del floema (A) y xilema (B) de seis materiales genéticos de zanahoria, crudas y cocidas.	31
3. Tono (ángulo hue) del floema (A) y xilema (B) de seis materiales genéticos de zanahorias crudas y cocidas.	33
4. Saturación (Croma) del floema (A) y xilema (B) de seis materiales genéticos de zanahoria, crudas y cocidas.	35
5. Contenido de sólidos solubles totales (°Brix) de seis materiales genéticos de zanahoria, crudas y cocidas.	37
6. Contenido de β -carotenos totales (mg/100g peso fresco) de seis materiales genéticos de zanahoria, crudas y cocidas.	39
7. Contenido de β -carotenos totales (mg/100g peso seco) de seis materiales genéticos de zanahoria, crudas y cocidas.	42
8. Contenido de Ca total mg/ 100 g fresco de seis materiales genéticos de zanahoria, crudas y cocidas.	44
9. Contenido de Mg total mg/ 100 g fresco de seis materiales genéticos de zanahoria, crudas y cocidas.	45

Figura No.

10. Contenido de Cu total (mg/ 100 g fresco) en seis materiales genéticos de zanahorias crudas y cocidas.	47
11. Contenido de Zn total (mg/ 100 g fresco) de seis materiales genéticos de zanahoria, cruda y cocida.....	49
12. Bioaccesibilidad de β -carotenos (%) de seis materiales genéticos de zanahoria, crudas y cocidas y dos tamaños de partículas: (A) pulpeado (partículas de 3-8 mm), y (B) homogeneizado (partículas < 1 mm).....	51
13. Bioaccesibilidad de calcio (%) en seis materiales genéticos de zanahoria, crudas y cocidas y dos tamaños de partículas: (A) pulpeado (partículas de 3-8 mm), y (B) homogeneizado (partículas < 1 mm).....	55
14. Bioaccesibilidad de magnesio (%) de seis materiales genéticos de zanahorias, crudas y cocidas y dos tamaños de partículas: (A) pulpeado (partículas de 3-8 mm), y (B) homogeneizado (partículas < 1 mm).....	58
15. Bioaccesibilidad de zinc (%) de seis materiales genéticos de zanahoria, crudas y cocidas y dos tamaños de partículas: (A) pulpeado (partículas de 3-8 mm), y (B) homogeneizado (partículas < 1 mm).....	60

RESUMEN

Los productores prefieren cultivares comerciales de zanahorias frente a los materiales genéticos locales por ser estos pobres en su calidad comercial (color del xilema amarillo). Hasta ahora no se han estudiado parámetros de calidad nutricional de zanahorias consumidas en Uruguay, que sin embargo pueden ser herramientas para la valorización de las zanahorias *criollas*. El objetivo de este trabajo fue caracterizar cuatro materiales genéticos locales (“Becaria”, “CRS”, “González” y “Rodríguez”) y dos cultivares comerciales (“Kuroda” y “Brasilia”) en variables fisico-químicas (color, materia seca, sólidos solubles totales, contenido total de β -carotenos, Ca, Mg, Cu y Zn) y nutricionales (bioaccesibilidad de β -carotenos, Ca, Mg y Zn), en zanahorias crudas y cocidas al vapor, y evaluar el efecto del tamaño de partícula (pulpeado 3-8 mm, u homogeneizado: < 1 mm) en la bioaccesibilidad de dichos nutrientes. El cultivar comercial “Kuroda” tuvo más materia seca (12,1%), color anaranjado del xilema (60 °hue) y floema (59 °hue) y contenido de β -carotenos (7,9 mg/100 g peso fresco). Los materiales locales Rodríguez y González, con tono menos anaranjado, tienen contenidos de β -carotenos de 6,0 y 6,1 mg/100 g peso fresco. La cocción al vapor incrementó el contenido de β -carotenos extraídos de las zanahorias locales CRS y Brasilia (29% y 75%) y bajó un 23% en Rodríguez. No se encontraron diferencias entre materiales genéticos crudos en contenido de Ca (33,5 mg/100 g promedio). Las zanahorias locales y Brasilia crudas tuvieron más contenido de Mg que Kuroda, a la vez que en Becaria se determinó el más alto contenido de Cu y Zn. La cocción determinó pérdida del contenido de Ca (21%) y Cu (55%), y no modificó el contenido de Mg y Zn. La bioaccesibilidad de β -carotenos de las zanahorias crudas y pulpeadas fue muy baja (<0,5% del total) y se incrementó 4 a 10 veces con la cocción al vapor. El menor tamaño de partícula incrementó la bioaccesibilidad 16 veces en zanahorias crudas y la cocción la aumentó tres veces. La bioaccesibilidad del Ca y Zn aumentó con la cocción al vapor, pero no tuvo efecto sobre el Mg. El tamaño de partícula homogeneizado aumentó la bioaccesibilidad un 20% en Ca, 17% en Mg y 10% en Zn respecto del pulpeado.

Palabras clave: zanahoria, caroteno, cocción, tamaño de partícula, bioaccesibilidad

SUMMARY

CHARACTERIZATION OF SIX LANDRACES OF CARROTS (*Daucus carota*, L.), RAW AND STEAMED, BY COLOR, β -CAROTENE AND MINERAL CONTENT AND *in vitro* BIOACCESSIBILITY

Growers prefer marketable carrot cultivars than local genetic materials due to poor marketable quality (yellow xylem colour). Carrots nutritional parameters consumed in Uruguay have not been studied, in spite of being potential tools for the appreciation of this product. This study characterized four local carrot landraces ("Becaria", "CRS", "González" and "Rodríguez") and two marketable cultivars ("Kuroda" and "Brasilia") in physical-chemical variables (colour, dry matter, total soluble solids, total content of β -carotene, Ca, Mg, Cu and Zn) and nutritional variables (bioaccessibility of β -carotene, Ca, Mg and Zn), of raw and steamed carrots, and evaluated the effect of particle size (pulped: 3-8 mm, or homogenized: < 1 mm) in the bioavailability of those nutrients. Kuroda cultivar had the highest dry matter (12.1%), orange xylem (60° hue), phloem (59° hue), and β -carotene content (7.9 mg/100 g weight fresh). González and Rodríguez landraces, with a low orange tone, had a β -carotene content of 6.0 and 6.1 mg/100 g fresh weight. Steaming increased the content of β -carotene extracted from local carrot Brasilia and CRS (29% and 75%) and decreased 23% in Rodríguez. No differences were found between raw carrots in Ca content (average 33.5 mg/100g). Raw local carrots and Brasilia had more Mg content than Kuroda, while Becaria was higher in Cu and Zn. Steamed caused loss of Ca (21%) and Cu (55%), and did not change Mg and Zn content. The bioaccessibility of β -carotene in raw and pulped carrot was very low (<0.5%), steaming increased it 4 to 10 times. Smaller particle size increased the bioaccessibility of β -carotene 16 times, while cooking increased it 3 times. The bioaccessibility of Ca and Zn increased with steam cooking, but had no effect on Mg. Homogenized particle size increased the bioaccessibility by 20% in Ca, 17% in Mg, and 10% in Zn compared to pulping.

Key words: carrot, carotene, cooking, particle size, bioaccessibility

1. INTRODUCCIÓN

El consumo de zanahorias en nuestro país es de 7,2 kg/habitante/año, mayoritariamente como oferta de raíz anaranjada entera y fresca (INE, 2008). Los materiales genéticos de zanahorias locales integran alrededor del 10% de las zanahorias que se comercializan en nuestro país. Las *zanahorias del país* denominadas comúnmente también como *zanahorias criollas*, se obtienen a partir de materiales genéticos introducidos que fueron cultivados y seleccionados por varios años por los productores. La obtención de su propia semilla adaptada a condiciones locales del ambiente y manejo han dado origen a las *poblaciones locales* (Galván, *et al.*, 2005; Rachetti, 2006). Comercialmente, las zanahorias locales han sido desplazadas por las deficiencias, que presenta la calidad comercial para el consumidor, debido, fundamentalmente al color amarillo-verde del xilema. Los cultivares e híbridos tipo “Kuroda”, de producción nacional o importadas, han sustituido la oferta de los materiales locales (Galván *et al.*, 2005). Sin embargo, sigue siendo de interés recuperar, proteger y mejorar los materiales genéticos locales por su rendimiento y rusticidad, adaptándose a las siembras de verano tolerando las altas temperaturas (Galván *et al.*, 2005; Rachetti, 2006).

Este interés generó varios estudios en los últimos años, que se han centrado fundamentalmente en los aspectos productivos, con énfasis en el “rescate” y mejoramiento de materiales genéticos locales adaptados a nuestras condiciones ambientales y sistemas de producción del tipo familiar. Los objetivos de estos trabajos han sido maximizar el rendimiento y los atributos externos de las zanahorias (color, forma, tamaño) que hacen a la aceptación del consumidor actual (Galván *et al.*, 2005; Rachetti, 2006).

Por lo tanto, la selección que los productores nacionales han realizado en estas zanahorias locales se ha basado en los atributos generales de calidad externa, como largo y forma de raíz, y en algunos casos por color interno y espesor del xilema, no habiendo referencias de estudios de calidad nutricional en nuestro país.

Es importante destacar que las zanahorias, al igual que otras hortalizas, desempeñan un papel muy importante en el equilibrio de la dieta humana, especialmente por su composición en vitaminas, minerales y otros compuestos fitoquímicos, caracterizándose además por ser pobres en grasa, y ricas en fibra dietética y en pectinas. El interés por el valor nutritivo de las hortalizas, y en particular por la zanahoria (Rock *et al.*, 1998) se ha visto estimulado por la prevalencia de diversas enfermedades degenerativas que a nivel mundial se han incrementado. El aumento de enfermedades cardiovasculares, obesidad, diabetes, anemia, ceguera, presión arterial y varios tipos de cáncer se han atribuido en parte, a un bajo consumo de frutas y hortalizas (WHO/FAO, 2003; Nishida *et al.*, 2004).

Los estudios de calidad nutricional de las zanahorias, principalmente las variedades comerciales, muestran que tienen alto contenido de β -carotenos (Fraser y Bramley, 2004; Failla *et al.*, 2008), que estos pueden variar con factores físicos y ambientales (Rock *et al.*, 1998), y además tienen alta capacidad antioxidante (Nicolle *et al.*, 2004). En general se ha relacionado el color anaranjado fuerte con alto contenido de carotenoides destacándose α y β carotenos (Simon y Wolff, 1987; Bradley y Rhodes, 1969). El α y β -carotenos son precursores de la vitamina A, tienen acción antioxidante, y son necesarios en el mantenimiento de la salud humana (Warman y Havard, 1997, Rodríguez-Amaya, 1999a; Stahl y Sies, 1999; Asplund, 2002; Kiokias y Gordon 2004; Krinsky y Johnson, 2005). Las zanahorias contienen además macro y macrominerales, los cuales pueden contribuir al balance de éstos y a cubrir deficiencias de la dieta, principalmente en niños y mujeres embarazadas (FBN/OIM, 2002).

Es también de interés en estudios de calidad nutricional de las zanahorias no solo cuantificar estos nutrientes, carotenos y minerales, sino además, determinar también su biodisponibilidad para asegurar el aporte real a la nutrición humana.

Conocer los cambios que podría implicar el procesamiento en la cantidad y biodisponibilidad de esos nutrientes en las zanahorias pero también en los aspectos físicos es del mayor interés en un estudio de calificación nutricional de este alimento, ya que se ha reportado que el proceso de cocción altera significativamente la composición física y química y la funcionalidad de los compuestos nutricionales (Zhang y Hamauzu, 2004). De Pee y West (1996) y Fraser y Bramley (2004) citan que hay al menos nueve factores que influyen en la biodisponibilidad de los carotenoides: la especie de carotenoides, las vinculaciones moleculares, la cantidad que se consume en una comida, la matriz a la cual se incorpora el carotenoide, efectores y bioconectores de la absorción, estado nutricional del huésped, factores genéticos, factores relacionados con el huésped y las interacciones.

En la investigación mundial, se han ya incorporado en el mejoramiento genético, tanto de frutas como de hortalizas, atributos que hacen a la vida útil, características organolépticas (sabor, aroma, textura) y parámetros de calidad nutricional y funcional (Abott, 1999; Kader, 2003; Surles *et al.*, 2004; Carbone *et al.*, 2008). Se ha reportado que los materiales genéticos difieren significativamente en composición y calidad nutricional, por efectos tan importante como lo son el manejo del cultivo y las formas de preparación (Warman y Havard, 1997; Rodríguez-Amaya, 1999a). Estudiar los atributos nutricionales de las zanahorias locales es un aporte al conocimiento de la calidad nutricional de esta hortaliza producida y consumida en el país, podría ser una herramienta de valorización de los materiales genéticos locales y contribuir al proceso de mejoramiento genético local.

Objetivos

El estudio que realizamos en esta tesis pretende generar información respecto de la calidad nutricional y funcional en las zanahorias que se producen y comercializan, con énfasis en la comparación entre las poblaciones locales y las comerciales. El estudio incluye además, los cambios provocados por un proceso simple de cocción. Antes de abordar los aspectos metodológicos del estudio se presenta una breve revisión de antecedentes.

El objetivo principal fue caracterizar cuatro materiales genéticos locales de zanahorias y dos cultivares comerciales, por atributos físicos y nutricionales, y determinar los cambios inducidos por el procesamiento en los atributos físicos y nutricionales.

Los objetivos específicos fueron:

- Determinar el contenido de β -carotenos, calcio, magnesio, cobre y zinc total en los seis materiales genéticos de zanahorias con dos formas de preparación, cruda y cocida al vapor.
- Determinar la bioaccesibilidad *in vitro* de los β -carotenos, calcio, magnesio y zinc en los materiales genéticos y su variación con el procesamiento y tamaño de partícula.
- Determinar la correlación entre el color de las zanahorias y el contenido de β -carotenos en función del material genético.

2. ANTECEDENTES

2.1 LAS ZANAHORIAS, UN ALIMENTO COMÚN

2.1.1 Origen y clasificación de las zanahorias

La zanahoria (*Daucus carota* L.) es un alimento común, perteneciente a la familia de las *Apiaceae*, conocida anteriormente como *Umbelliferae*. Esta familia tiene más de 250 géneros y 3000 especies de las cuales *Daucus carota* L. var. *sativus* Hoffm. es la especie comercialmente más difundida (Rubatzky *et al.*, 1999).

El origen y la domesticación de las umbelíferas se asocian a la región del Mediterráneo y Asia Central, conociéndose también especies sudamericanas como *Daucus montans* y *Daucus montevidens* (Rubatzky *et al.*, 1999; Rachetti, 2006).

Mundialmente, la zanahoria es uno de los cultivos hortícolas más extendidos, siendo China, Rusia, Estados Unidos, Uzbekistan, Polonia, Reino Unido, Ucrania, y Japón los países que abarcan el 50% de la superficie de producción, comercializada la mayor parte para su consumo en forma fresca (FAOSTAT-Agriculture, 2008).

Las zanahorias cultivadas han sido clasificadas en dos tipos: las *orientales* (*Asiáticas*) y las *occidentales*. Las zanahorias *orientales* son raíces púrpuras y amarillas, reportándose como centro primario de diversidad Afganistán y Türkistan (Asia Central), con evidencias de su cultivo desde el Siglo X. Las zanahorias *occidentales* son raíces anaranjadas, amarillas rojas o blancas. En la región de Anatolian en Turquía se generó hibridación natural, considerándose ésta zona como un centro secundario de diversidad. A su vez, una hipótesis del origen de las zanahorias anaranjadas es que éstas serían consecuencia de la selección de agricultores de la región de los Países Bajos durante los siglos XVII y XVIII (Rubatzky *et al.*, 1999).

2.1.2 Producción y consumo en Uruguay

El cultivo de zanahorias en Uruguay es el cuarto rubro hortícola, en superficie y volumen, después de la papa, el tomate y la cebolla. La cultivan 527 productores en 1748 ha con un rendimiento promedio de 13 t/ha. La producción se concentra en un 78% en la zona sur del país, en el departamento Canelones, y en la zona litoral norte principalmente en el departamento de Salto (MGAP/DIEA/DIGEGR, 2010). La producción tiene como destino el abastecimiento del consumo nacional, incorporándose a la oferta zanahorias importadas desde Argentina y Brasil. Los cultivares comercializados son en un 90% cultivares e híbridos de origen extranjero, que por su calidad, particularmente por el color uniforme anaranjado del floema y xilema, han sustituido a las zanahorias *criollas*. Las zanahorias *criollas o del país*, son materiales genéticos que han sido seleccionados y mantenidos por los productores locales y pueden llegar a formar parte del 30% de las zanahorias comercializadas en otoño e invierno dentro del Mercado Modelo de Montevideo. El consumidor en nuestro país demanda zanahorias de color anaranjada, con poco xilema y sabor dulce para su consumo en su mayoría entera y fresca (Galván *et al.*, 2005; JUNAGRA/DIEA/DGSA/CAMM, 2007).

2.2 LA VALORACIÓN DE LAS ZANAHORIA DESDE UNA PERSPECTIVA NUTRICIONAL

Las zanahorias se han valorado tradicionalmente desde una perspectiva de atributos físicos (color, forma), mientras que la valorización nutricional se ha basado casi exclusivamente en la presencia de carotenos (Rock *et al.*, 1998; Krinsky y Johnson, 2005) y recientemente en relación a las pectinas (Lemmens *et al.*, 2009). Por otro lado, la composición de minerales y en particular aquellos de interés para la salud de la población de menor edad o en situaciones fisiológicas particulares, se ha estudiado pero no explotado como elemento de valorización (Warman y Havard, 1997).

En esta revisión haremos énfasis en dos tipos de micronutrientes, los carotenos y su relación con el color, así como en los minerales y su relación con la salud. En ambos casos haremos particular énfasis en los aspectos de biodisponibilidad y su relación con los tratamientos térmicos.

2.2.1 Los carotenos y el color de las zanahorias

La cantidad de carotenos en vegetales es muy variable dependiendo del material genético o cultivar, forma de cultivo, de la temperatura y contenido de agua en el suelo, estado de madurez en el momento de cosecha, momento de consumo, así como de las condiciones de almacenamiento y forma de preparación (Southon y Faulks, 2003). Los principales carotenoides en zanahorias de color anaranjado son β -carotenos, α -carotenos y luteína siendo los dos primeros los dominantes en una relación promedio de 2:1 respectivamente. Las zanahorias anaranjadas tienen un 45% a 80% de β -carotenos acompañado de α -carotenos. Los dos constituyen un 95% de los carotenoides (Baranska *et al.*, 2006). Southon y Faulks (2003) citan en zanahoria cruda rangos de 1,1 a 64,0 mg/100 g fresco de β -carotenos, 0,53 a 36,0 mg/100 g fresco de α -carotenos y 0,27 mg/100 g fresco de luteína.

Simon y Wolff (1987) cuantificaron durante tres años siete materiales genéticos de zanahorias provenientes de tres regiones de Estados Unidos, obteniendo valores desde 4,2 a 35,6 mg de β -carotenos/100 g fresco, correspondiendo al 65% y 67% respectivamente del total de carotenos.

En el Cuadro 1 se puede observar el contenido de α y β -carotenos cuantificado en trabajos de investigación para diferentes cultivares.

Cuadro 1: Contenido total de α carotenos y β -carotenos (mg/100 g fresco) en diferentes cultivares de zanahorias anaranjadas crudas.

Cultivar	α carotenos	β -carotenos	Referencia
B6274	3,2	5,2	Simon y Wolff (1987)
B9692	6,6	11,7	Simon y Wolff (1987)
HCM	20,6	25,1	Simon y Wolff (1987)
Cellobunch	3,3 a 3,9	8,9 a 12,5	Warman y Havard (1987)
Beta 3 (SM-III)	0,98	1,76	Almeida-Muradian <i>et al.</i> (1997)
Brasilia (ADB)	1,69	2,79	Almeida-Muradian <i>et al.</i> (1997)
Nantes	1,7	3,3	Godoy y Rodríguez-Amaya (1988)
sd	—	11,6	Ben-Amotz y Fishler (1998)
sd	5,2	13,0	O'Neill <i>et al.</i> (2001)
Nantes	3,5	6,5	Niizu y Rodríguez-Amaya (2005)
Mokum	—	6,3	Niizu y Rodríguez-Amaya (2005)
New Kuroda	—	3,6	Nicole <i>et al.</i> (2004)
Nantes	—	9,6	Olives Barba <i>et al.</i> (2006)

sd = zanahorias sin identificar el cultivar

Warman y Havard (1997) no encontraron diferencias entre los sistemas de producción convencional y orgánica respecto del contenido de carotenos. Sólo en uno de los tres años de estudio fue mayor el contenido de carotenos de las zanahorias provenientes de la forma de cultivo convencional frente a las zanahorias provenientes del cultivo orgánico.

Las zanahorias cultivadas y consumidas mayoritariamente en los países occidentales son de color anaranjado dado por su contenido en β y α - carotenos. Sin embargo se consumen en otras regiones del mundo zanahorias de color amarillo ricas en xantofilas, raíces rojas con contenido alto de licopeno, y raíces púrpuras debido al contenido alto de antocianinas (Rubatzky *et al.*, 1999; Nicolle *et al.*, 2004).

2.2.2 ¿Qué son los carotenoides?

Los carotenoides son más de 600 pigmentos que se encuentran ampliamente distribuidos en la naturaleza. Estos pigmentos son producidos por los vegetales, algunas algas (*Dunaliella salina*) y hongos (*Blakeslea trispora*) (Sánchez *et al.*, 1999). En vegetales los carotenoides se encuentran en los diferentes órganos, semillas, raíces, tallos, brotes, hojas, flores y frutos, coloreándolos desde el tono amarillo naranja hasta el más intenso rojo. Los carotenoides pigmentan además la piel (epidermis, escamas y plumas), huevos, carne de algunas aves, peces e invertebrados marinos (camarones, cangrejos y langostas) y deben ser provistos por la dieta ya que no pueden ser sintetizados *de novo* (Rodríguez-Amaya, 1999; Bramley, 2003; Breithaupt, 2004; Rodríguez-Bernaldo de Queiroz, 2006). En las plantas los carotenoides tienen dos funciones esenciales, son accesorios a los pigmentos de la fotosíntesis y son fotoprotectores. En general se ubican en la membrana de los tilacoides en los cloroplastos asociados en la estructura unidos a proteínas. En el caso de los β -carotenos en las raíces de zanahoria y los licopenos en los tomates, se encuentran unidos a estructuras semi-cristalinas derivadas de los cromoplastos o cloroplastos. Los carotenoides lipofílicos pueden encontrarse asociados con las estructuras lipídicas subcelulares y en uniones proteicas. La complejidad de la matriz tiene implicancias en la extracción, el análisis y el comportamiento durante la digestión (Southon y Faulks, 2003). Los carotenoides además de aportar color a los alimentos, poco más de un 10% de ellos son precursores de la vitamina A, con esencial rol en procesos fisiológicos y se les atribuye propiedades físicas-bioquímicas-fisiológicas como sustancias fotoquímicas, también denominadas sustancias, nutraceuticas o bioactivas (Olson, 1989 a y b; Astorg, 1997; Temple, 2000).

El nombre genérico de los carotenoides tiene su origen en los primeros aislamientos realizados en una extracción de raíces de zanahorias (*Daucus carota*) por Wackernroder en 1831 en forma de cristales de compuestos hidrocarbonados. Fue en 1907 que se estableció la fórmula $C_{40}H_{56}$ (Paterson *et al.*, 1939; Rodríguez-Amaya,

1999b; Bramley, 2003). Químicamente, los carotenoides son cadenas de tetraterpenos, (C_{40}), simétricos, lineales, y formados por ocho unidades isopropenoides de cinco carbonos ordenados de modo que se invierte en el centro. El rasgo estructural distintivo de los carotenoides son los dobles enlaces conjugados (enlace C–C simple y dobles alternados, cadenas poliénicas). Es esta parte de la molécula el llamado cromóforo, donde se absorbe la luz visible (480-780 nm) dándole la característica de pigmentos con gran capacidad de coloración. Siete enlaces dobles conjugados son necesarios para que un carotenoide produzca color, siendo más intenso al incrementarse el número de enlaces conjugados. La ciclación en la estructura baja el tono y la saturación del color (Paterson *et al.*, 1939; Rodríguez-Amaya, 1999a; Bramley, 2003; Meléndez *et al.*, 2007). Los carotenoides se dividen en dos grandes grupos según su estructura química, los hidrocarbonados llamados carotenos y los oxigenados denominados xantofilas. Los carotenos predominantes son el α y β -caroteno y el licopeno; mientras que en las xantofilas se destaca la zeaxantina, luteína, α y β -cryptoxantina, cantaxantina y astaxantina (Stahl y Sies, 1999). Las xantofilas tienen funciones oxigenadas de las cuales las más comunes son las grupo hidroxilo (OH), y epoxi (epóxidos 5,6- 5,8-); y otros grupos como aldehídos (CHO), ceto (C=O) carboxi (COOH), carbometoxi (COOMe) y metoxi (OMe). El esqueleto básico de los carotenoides puede cambiar por diversas formas como hidrogenación, dehidrogenación, ciclación, oxidación, migración del doble enlace, acortamiento, extensión de la cadena, reordenamiento, isomerización, funciones hidrogenadas introducidas o por combinación de procesos dando una diversidad muy amplia de estructuras (Rodríguez-Amaya, 1999b; Bramley, 2003; Kiokias y Gordon, 2004).

2.2.3 Propiedades físicas y químicas de los carotenoides

La estructura de los carotenonides les permiten absorber luz, capturar oxígeno singlete, isomerizarse (*cis/trans*, E/Z) y oxidarse muy fácilmente. Los carotenoides son liposolubles e insolubles en agua, se unen a superficies hidrófobas y bloquean reacciones

mediadas por radicales libres. Se disuelven en solventes grasos como acetona, alcohol etílico (EtOH), tetrahidrofurano (THF) y cloroformo (Hart y Scott, 1995; Meléndez-Martínez *et al.*, 2004; Rodríguez-Amaya *et al.*, 2008). Los carotenoides son sensibles a altas temperaturas. El β -caroteno pierde levemente sus propiedades a temperaturas entre 50 °C y 100 °C y se destruye a 150 °C. Los carotenos y la vitamina A en medios neutros y básicos son más estables mientras que en pH ácidos son altamente inestables (Hart y Scott, 1995; Rodríguez-Amaya, 1999b; Prior y Guohua, 2000; Klein y Kurilich, 2000; Bramley, 2003; Kiokias y Gordon, 2004). En la naturaleza, en vegetales, el β -caroteno, y el licopeno se encuentran en más de un 90% en la forma *trans* al igual que la mayor parte de estos carotenoides encontrados en el plasma sanguíneo. En los tejidos se ha encontrado entre un 20 a 40% más de la forma *cis* que en el plasma (Clevidence *et al.*, 2000; Rodríguez-Bernaldo de Queirós, 2006). La acción y efectos biológicos de los carotenoides es la capacidad antioxidante mediante la reducción de la actividad de especies reactivas del oxígeno (ROS) con o sin radicales libres, y otras especies reactivas (RS). Incluyen las ROS con radicales que contiene oxígeno con pares de electrones como ser el superóxido ($O^{\cdot-}$), hydroxil ($OH^{\cdot}$), hidroperoxil ($HOO^{\cdot}$), peroxil ($ROO^{\cdot}$), alkoxyl ($RO^{\cdot}$) y RS que contiene oxígeno con impares de electrones, que no son radicales libres como peróxido de hidrógeno (H_2O_2), y lípido hidroperoxido ($ROO-H$). Hay otras especies reactivas (RS) en el cuerpo que incluyen óxido nítrico ($NO^{\cdot}$) y anión peroxinitrito ($ONOO^{\cdot}$) (Prior y Guohua, 2000; Kiokias y Gordon, 2004). La bioactividad de los carotenoides se vincula con la capacidad que estas moléculas tienen accionando mecanismos que disminuyen el envejecimiento celular, incrementan la comunicación intercelular, reducen el impacto de diferentes fuentes de estrés celular, e inhiben o detienen la generación de células cancerígenas. Varios autores citan una correlación muy fuerte en la reducción de enfermedades como cáncer de piel, de próstata, de estómago, páncreas e intestino, así como prevención de enfermedades cardiovasculares, arterioesclerosis, fibrogénesis hepática, eritema inducida por la luz solar, papiloma persistente en humanos, enfermedades degenerativas a veces asociadas el envejecimiento como daño neuronal, degeneración macular relativa a la edad, formación

de cataratas; además de intervenir en la calcificación de los huesos, el crecimiento, el sistema inmunológico y en el funcionamiento de los pulmones (Ziegler, 1989; Klein y Kurilich, 2000; Swefelt y Rosario, 2000; Wargovich, 2000; Southon y Faulks, 2003; Kiokias y Gordon, 2004).

2.2.4 Estabilidad de los carotenoides

Los carotenoides se degradan rápidamente en presencia de la luz y las temperaturas altas, y se oxidan en presencia de oxígeno (Meléndez-Martínez *et al.*, 2004 a y b). Es por ello que la forma de preparación del alimento, respecto de tiempo y temperatura de cocción son parte de los factores que modifican el contenido de carotenos en los alimentos. Existe una percepción de que los carotenoides se destruyen con el proceso de calor involucrado en la cocción de los vegetales. Sin embargo las pérdidas son mínimas con una cocción moderada y en algunos casos son más bioaccesibles luego de la cocción, debido a que el calor permite la liberación de los carotenos que están dentro de la matriz celular. Asimismo, no siempre los vegetales frescos tienen mayor valor nutricional que sus productos procesados ya que depende del nutriente y de las características de la matriz en la cuales se encuentra (Clevidence *et al.*, 2000; Jiménez *et al.*, 2004; Koca y Karadeniz, 2008; Lemmens *et al.*, 2009). A modo de ejemplo, Almeida-Muradian *et al.* (1997) no encontraron pérdidas en la cantidad de carotenos en zanahorias “Brasilia” (ADB) y Beta 3 (SM-III) al realizar tratamientos térmicos de 5 g de zanahorias hervida (10 min) y cocida en microondas (7 min). Similar efecto encontraron Uquiche-Carrasco y Cisnero-Zevallos (2002) al realizar escaldado (50 °C; 30 s) en zanahorias. Por el contrario, trabajos realizados en hojas de serraja (*Sonchus oleraceus* L.) y apio (*Apium graveolens* L.) determinaron pérdidas de 21 a 11% de carotenos respectivamente cuando las hojas fueron hervidas (10 min) o cocidas (7 min) en microonda (Almeida-Muradian *et al.*, 2000).

2.2.5 Bioaccesibilidad y efectos beneficiosos de los carotenoides

Según Southon y Faulks (2003) el tipo y la cantidad de fitoquímicos presentes en los alimentos pueden tener influencia muy limitada con la calidad nutricional de esos alimentos y en su contribución a la salud humana. Esto es debido a que:

- solo una porción de los compuestos de esos alimentos puede ser absorbida y utilizada por el cuerpo humano
- los componentes nativos presentes antes de la digestión pueden no tener la forma química en la cual son expuestos en los tejidos humanos y luego digeridos, así como en la etapa previa y posterior al metabolismo de absorción
- la heterogeneidad genética de las poblaciones humanas resultar en diferencias individuales en la absorción, en el metabolismo y/o la extensión y velocidad del tejido.

El método de digestión *in vitro* estima la máxima cantidad de carotenoides liberados, no necesariamente micelarizados en la matriz del alimento, que en óptimas condiciones fisiológicas y dietarias pueden ser absorbidas por la mucosa humana (Hedré et al., 2002a).

La recomendación de requerimientos diario de β -carotenos para una mujer es de 8 mg/día, 11 mg/día para un hombre y 5 mg/día para un niño (FNB/OIM, 2002). Un alto consumo de β -carotenos produce carotenodermia, juzgado como un efecto cosmético pero no adverso. En trabajos realizados en hombres y mujeres no fumadoras ni alcohólicas, la ingesta de 25 mg/día de carotenos bajó fuertemente la aparición de adenomas. Sin embargo en estudios realizados en población fumadora y en trabajadores con amianto se encontró incremento de cáncer de pulmón con consumo de β -carotenos de 20 mg/día (Krinsky y Jhonson, 2005).

2.2.6 Macro y microminerales en las plantas

Los macro y micro minerales resultan indispensables para la normal actividad de las células, para los procesos vitales. Desempeñan un papel relevante en el organismo, pues están implicados en la formación de tejidos como huesos y dientes, regulan la transmisión neuro-muscular, la permeabilidad de las membranas celulares y el equilibrio ácido-base, y actúan en la síntesis de las hormonas y en los sistemas enzimáticos regulando el metabolismo. El organismo es incapaz de sintetizar los minerales y debe tomarlos de su medio ambiente. Aquellos minerales que se requieren en cantidades superiores a los 100 mg/día son denominados macrominerales (calcio, fósforo, magnesio, azufre, sodio, cloro y potasio) ó macroelementos, y aquellos que sólo se precisan en muy pequeñas cantidades, incluso en cantidad infinitesimal son los microminerales (hierro, iodo, cromo, zinc, cobre, manganeso, cobalto, molibdeno y selenio), oligoelementos o elementos traza. El aporte de los vegetales en minerales en la dieta en general, es bajo, pero constituyen un complemento para los requerimientos diarios (WHO/FAO, 2003).

El calcio es uno de los minerales más abundante en los vegetales. Es constituyente de las paredes celulares formando uniones con las pectinas, además de estar involucrado en la permeabilidad de la membrana celular y la comunicación intercelular (Marchener, 2006). El calcio ubicado en las paredes celulares forma complejos con las pectinas que tienen implicancias en el mantenimiento de la textura de los vegetales. La textura es una característica de interés en la calidad organoléptica y de la comercialización de frutas y hortalizas. La presencia de calcio inhibe la acción de la poligalacturonasa, que actúa en la degradación de las paredes celulares. Un mayor contenido de calcio en los órganos de los vegetales puede contribuir a disminuir el desarrollo de enfermedades causadas por hongos (Poovaiah, 1986). La mayor parte del calcio (50 a 90%) forma parte de las paredes celulares, en las paredes externas de la membrana plasmática, el retículo endoplasmático y las vacuolas. El calcio hidrosoluble en su mayoría está en las vacuolas. El aumento del aporte de calcio en cultivos vegetales

provoca en muchas especies el incremento de la proporción de oxalato de calcio que dependiendo de la especie puede acumularse en los espacios extracelulares o ser retenida en las vacuolas (Marchener 2006).

En la nutrición humana el calcio es un elemento esencial, asociado durante la niñez a un buen desarrollo del sistema óseo. A la vez actúa en el organismo en la contracción muscular, la transmisión del impulso nervioso la coagulación sanguínea, la reducción de células pre-cancerígenas en la mucosa del colon y reducción de riesgos de cáncer pulmonar, así como en minimizar riesgos de fragilidad y fractura de huesos y reducción de osteoporosis (Barrer-Lux y Heany, 1994; Miller y Weaver, 1994; Hallfrisch *et al.*, 2000; Camara *et al.*, 2005; Ramos, 2007).

El magnesio en las plantas está muy vinculado a la fotosíntesis por formar parte de la molécula de clorofila. Además, el magnesio activa más de 300 enzimas en procesos de biosíntesis, en la respiración celular y en la transmisión de información genética. El magnesio está involucrado en el mantenimiento del pH celular y del balance catiónico. En las hojas, un 60 a 90% del magnesio está en forma soluble en agua y un 5 a 10% en uniones de pectatos ó precipitado como sales escasamente solubles en la vacuola (Rubatzky *et al.*, 1999; Marchener, 2006; Ramos, 2007).

En el ser humano el Mg también está involucrado en la transmisión del potencial eléctrico a través del nervio y de las membranas musculares. El 65-70% del Mg corporal se halla en el hueso, el 35% en el músculo, el 15% en otros tejidos blandos y 1% en el fluido extracelular. La deficiencia de Mg produce enfermedades neuromusculares, defectos en la secreción de hormonas e hipocalcemia, determina frecuentemente en diabéticos factores insulino-resistente agravando la patología, aumenta inflamaciones y reacciones alérgicas así como síntomas de ansiedad, stress y depresión (Rayssiguier, 2004).

El cobre juega un rol en la fisiología celular como cofactor catalizador en muchas reacciones redox unidad de las enzimas que actúan en el crecimiento y desarrollo. El cobre forma parte de las proteínas que actúan en la transferencia de

electrones y en peroxidasas y oxidasas. En los vegetales la deficiencia de cobre reduce la producción de ligninas. En la savia de las raíces y en la savia del xilema más del 98-99% del cobre está presente en forma complejada (Marchener 2006).

En el hombre la deficiencia de Cu lleva a osteoporosis y fragilidad ósea, problemas reproductivos y cardíacos, pobre crecimiento, anemia, diarrea e incrementa la sensibilidad a enfermedades (FBN/OIM, 2002; Goodman *et al.*, 2004; Ramos, 2007). La deficiencia en Cu reduce la capacidad de neutrófilos aislados para matar levaduras. En caso de hipocuprosis severa se puede llegar a una pérdida de 20 a 40 kg de peso por animal y por ciclo productivo (Goodman *et al.*, 2004; Ramos, 2007).

El zinc es requerido para el mantenimiento de la integridad de la membrana protegiendo los lípidos y proteínas integrantes de la membrana contra daños oxidativos. Interviene también en la síntesis de proteínas y de carbohidratos (Marchener 2006). Las funciones metabólicas del zinc están basadas en su fuerte tendencia a formar complejos tetraédricos con ligandos a N-, O-, y particularmente a S-. Por lo tanto, el zinc y el azufre juegan ambos un rol funcional y estructural ya que catalizan las reacciones enzimáticas y forman parte de la molécula de enzimas. En el hombre el Zn es esencial en el crecimiento y desarrollo normal, así como en el desarrollo del sistema inmunológico. Su deficiencia en la dieta de los niños produce serios problemas de salud, incrementa las enfermedades infecciosas y puede provocar impedimentos en las funciones cognitivas. A su vez así como una dosis menor a la requerida produce problemas serios en la salud humana, la ingesta de una dosis superior a lo requerido también produce problemas crónicos como dolores de cabeza y estómago (Rosado, 1998; Camara *et al.*, 2005).

2.2.7 Requerimientos de minerales en la dieta humana

En el Cuadro 2 se resumen los requerimientos diarios de algunos minerales en la que deben ser aportadas en el alimento para el desarrollo de una vida saludable.

Cuadro 2: Recomendaciones dietarias de ingesta diaria (RDA) y nivel superior de ingesta tolerable (UL) de calcio, magnesio, cobre y zinc (mg/día).

	Niño 4 a 5 años	Mujer ≥19años	Hombre ≥19años	UL
Calcio	800	1200	1200	2500
Magnesio	240	320	420	3000
Cobre	0,44	0,90	0,90	1,00
Zinc	5	8	11	40

FBN/OIM (2002); Iyaka (2007).

2.2.8 Bioaccesibilidad de los minerales y efecto beneficioso en la salud

Los macro y macrominerales que forman parte de las células vegetales deben salir de dicha estructura para aumentar su bioaccesibilidad y se pierden fácilmente mediante la cocción en agua. Los mecanismos que modifican físicamente o químicamente la pared celular, como la temperatura o el triturado de los alimentos, permiten liberar los minerales de la estructura celular.

Sin embargo la presencia de fibras y particularmente los fitatos producen la quelatación con algunos minerales como el Zn, Cu, Mg y en uniones menos fuertes con el Ca. Los complejos que se forman entre minerales y fitatos son secuestradores de los minerales haciéndoles menos bioaccesibles (Riedl *et al.*, 1999). Asimismo, agentes antiquelatantes como los ácidos orgánicos e inorgánicos, que bajan el pH, mejoran la bioaccesibilidad de los minerales mencionados.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 DESCRIPCIÓN DEL MATERIAL GENÉTICO

3.1.1 Material vegetal

Los materiales genéticos de zanahorias evaluados fueron las poblaciones locales “Becaria”, “González”, “Rodríguez”, “CRS” y los cultivares comerciales “Brasilia-RL” (Sakata, Brasil) y “Kuroda” (Olhens Enke, Dinamarca). La clasificación de los materiales genéticos, en población local o cultivar comercial, se realizó de acuerdo a IFIS (2005). La población “CRS” es una selección masal realizada desde 2003 en el Centro Regional Sur de la Facultad de Agronomía (Progreso, Canelones) a partir de una población local de un productor (Sr. Medina). Las raíces fueron cosechadas en un estudio comparativo de materiales genéticos de zanahorias sembrados el 14 de marzo 2007 y cosechados el 2 de agosto de 2007 en el Centro Regional Sur (CRS) de la Facultad de Agronomía. Las raíces fueron lavadas manualmente para eliminar la tierra adherida, clasificadas y seleccionadas libres de defectos de acuerdo a Barboza *et al.* (2002). Se acondicionaron en cámara de frío a 0 °C y 95% de humedad relativa (HR) hasta realizar los análisis correspondientes.

3.1.2 Preparación de las muestras

Para cada material genético se seleccionaron muestras de 30 zanahorias sin defectos visibles, y se agruparon en tres repeticiones con diez raíces por repetición. En cada zanahoria se realizaron cuatro cortes en la zona central longitudinal de la raíz obteniéndose tres cilindros de 8 a 10 mm de espesor. Inmediatamente después del corte se determinó color, sólidos solubles totales y materia seca. También enseguida del corte y la cocción se guardaron las muestras crudas y cocidas en freezer (-20 °C) hasta su análisis químico. La cocción se realizó inmediatamente al corte en una vaporera

doméstica exponiendo los cilindros al vapor por 20 min La temperatura de las zanahorias cocidas fue de 45 a 50 °C medida con un termómetro de pulpa digital (Yidu, China), escala -50 a 125 ± 0,1 °C. La consistencia de los cilindros cocidos al vapor fue similar a la consistencia “al dente”.

3.2 CARACTERIZACIÓN FÍSICO-QUÍMICA DE LOS MATERIALES VEGETALES

3.2.1 Determinación de materia seca

Se preparó una muestra compuesta, a partir de 10 zanahorias por repetición, de cada cultivar y forma de preparación. Se pesó una muestra fresca de alrededor de 15 g por repetición y se secó en estufa (Blue.M., EUA) con ventilación cenital a 105 °C hasta peso constante de acuerdo a AOAC (1990). La muestra se obtuvo de la zona central de la raíz, realizando tres repeticiones por muestra. Se calculó el porcentaje de materia seca (%MS) de cada muestra de la siguiente manera:

$$\text{Materia Seca (\%)} = (\text{peso seco muestra} / \text{peso fresco muestra}) \times 100$$

3.2.2 Determinación del color

El color fue medido por colorimetría, mediante el sistema CIE-Lab según Voss (1992) y MacDougall (2002), utilizando un colorímetro (Minolta CR-10, Japón), D65, 10°, 8 mm apertura. Se determinaron las variables L^* (Luminosidad, 0 = negro a 100 = blanco), a^* (-a = verde, a = rojo) y b^* (-b = amarillo, b = azul). Se calculó la saturación del color (Croma) y el tono (ángulo Hue) con las siguientes ecuaciones:

Tono (ángulo hue)

$$h^{\circ} = \tan^{-1} b^{*}/a^{*} = \text{arco tangente } (b^{*}/a^{*})$$

$$\text{Si } a^{*} > 0 \text{ y } b^{*} \geq 0 \rightarrow h^{\circ} = \text{arco tangente } (b^{*}/a^{*})$$

$$\text{Si } a^{*} < 0 \rightarrow h^{\circ} = 180^{\circ} + \text{arco tangente } (b^{*}/a^{*})$$

$$\text{Si } a^{*} > 0 \text{ y } b^{*} < 0 \rightarrow h^{\circ} = 360^{\circ} + \text{arco tangente } (b^{*}/a^{*})$$

$$h^{\circ} = 0 \text{ si } a^{*} = 0 \text{ y } b^{*} = 0$$

$$h^{\circ} = 90 \text{ si } a^{*} = 0 \text{ y } b^{*} > 0$$

$$h^{\circ} = 270 \text{ si } a^{*} = 0 \text{ y } b^{*} < 0$$

Saturación del color (Croma)

$$\text{Croma} = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$$

El color externo y el color interno de las zanahorias crudas y cocidas se midieron sobre la zona central y longitudinal, en el xilema y floema, en diez raíces, dos mediciones por raíz, para cada repetición. Con el objetivo de establecer una relación entre contenido total de carotenos, en el xilema y floema confundidos, y el tono del color de la zanahoria, se promedió el tono del xilema y del floema como si éstos representaran el color de una mezcla de xilema y floema en forma de puré.

3.2.3 Determinación del contenido de sólidos solubles totales

Los sólidos solubles totales se determinaron con un refractómetro manual (ATAGO ATC-1E, Japón) escala 0 a $32 \pm 0,2$ °Brix, auto compensado por temperatura. Las mediciones se realizaron, en el jugo extraído por compresión, mediante una prensa de ajo doméstica, de los cilindros crudos y cocidos cortados de cada raíz. Los valores se expresaron en grados Brix.

3.2.4 Determinación del contenido de β -carotenos totales

La extracción y cuantificación de β -carotenos totales fueron realizadas en el Laboratorio de Calidad de Alimentos de la Facultad de Agronomía de acuerdo a Szpylka y De Veris (2005) con modificaciones.

3.2.4.1 Extracción de β -carotenos en muestras crudas y cocidas

Se tomaron 2 a 3 g de la muestra compuesta a la que se agregó butilato-hidroxi-tolueno (BHT) al 1% y 25 ml de solución de extracción tetrahidrofurano y metanol (Mallinckrodt Baker, USA en una proporción 1:1 v/v). Se agitó durante 20 minutos a 500 r.p.m en un agitador magnético (Quimis®, Brasil). Se filtró con papel Whatman N°1 y sobre el precipitado se realizaron extracciones sucesivas de forma análoga a la anterior, hasta pérdida de color. Los volúmenes obtenidos en cada extracción fueron registrados. El procedimiento se realizó al resguardo de la luz.

3.2.4.2 Cuantificación de β -carotenos totales

Se cuantificó la cantidad de β -carotenos por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), (Spectral Series P100, Thermo Separations Products, EUA), utilizando el estándar de β -caroteno tipo II (Sigma-Aldrich, 95%, EUA), una columna C₃₀ YMCTM Carotenoid S-5; 4,6 μ m x 250 mm (Waters, EUA), termostatzada a 30 °C. La fase móvil consistió en etanol (J.T.Baker, México), metanol (Mallinckrodt Baker, USA), y tetrahidrofurano (Mallinckrodt Baker, USA, en una proporción 75:20:5 v/v/v), todos ellos con calidad HPLC, utilizando un flujo de 1 ml/min y una alícuota de la solución de extracción de 20 μ l. La detección se realizó utilizando un detector de absorbancia UV-visible (UV-2000 SpectralSytem®, EUA), a una longitud de onda de 450 nm. Todas las extracciones fueron filtradas mediante filtros de 0,45 μ m (Millex®-

LCR, 25 mm de diámetro) previo a ser inyectadas. Los resultados se expresaron en mg de β -carotenos /100 g peso fresco.

3.2.5 Determinación del contenido de Ca, Mg, Cu y Zn totales

3.2.5.1 Preparación de la muestra para medir minerales totales

La preparación de las muestras de zanahorias crudas y cocidas se realizaron según AOAC (1990), Jorhem (2000) y Ramos *et al.* (2009). Se incineraron 15 g de muestra fresca en una Mufla (4800 Furnace, Barnstead/Thermolyne) a 550 °C por 24 hs con rampa de temperatura. Las cenizas se trasvasaron en un matraz, se humedecieron con agua desionizada y se agregaron 2 ml de HNO₃ 1 M. La preparación se calentó hasta ebullición y se dejó evaporar. Se agregaron 2 ml de HNO₃ 1 M, se redujo el volumen y a continuación se agregaron 2 ml de HCl 6 M y se redujo volumen. Por último se agregaron nuevamente 2 ml de HNO₃ 1 M y se redujo el volumen. Se enfrió y se filtró con papel Whatman 40, sin cenizas, en matraz de 50 ml, enrasando con agua desionizada. Se realizó en igual forma un blanco. La solución se guardó en frío a 5 °C hasta posterior determinación.

3.2.5.2 Cuantificación de Ca, Mg, Cu y Zn totales

En las soluciones ácidas se cuantificó calcio (Ca), magnesio (Mg), cobre (Cu) y zinc (Zn) por espectro de absorción atómica, con llama, utilizando un espectrofotómetro de Absorción Atómica (AAAnalyst 300, Perkin Elmer). Las cuantificaciones fueron realizadas de acuerdo a Ramos *et al.* (2009) y Cabrera *et al.* (2010) en el laboratorio de Fisiología y Nutrición de la Facultad de Ciencias, Universidad de la República. Las curvas estándar se prepararon con agua desionizada (resistividad < 18 M Ω cm⁻¹) inmediatamente antes de utilizarla a partir de las soluciones madre correspondientes. Los estándares para absorción atómica utilizados en las soluciones madre fueron Sigma C-

5649, Mallinckrodt H549KLKH-P, Fluka 32101 y Fluka 96457, para Ca, Mg, Cu y Zn respectivamente. El blanco, los estándares y las muestras para las determinaciones de Ca y Mg contenían un 45% v/v de una solución de lantano (1% p/v, La₂O₃, Fisher Scientific Company 0-3357). Los parámetros de medición fueron longitudes de onda de 422,7 nm, 285,2 nm, 324,8 nm y 213,9 nm para Ca, Mg, Cu y Zn respectivamente con *slit* de 0,70 mm. Los rangos de las curvas estándar para cada uno de ellos correspondieron a 0,5 a 2,0 mg de Ca/l; 0,15 a 0,60 mg de Mg/l; 2,0 a 5 mg Cu/l y 0,15 a 2 mg de Zn/l. Los resultados se expresan en mg del mineral/100 g de peso fresco.

3.3 CARACTERIZACIÓN NUTRICIONAL DE LOS MATERIALES VEGETALES

3.3.1 Contenido de β -carotenos y minerales bioaccesibles

3.3.1.1 Procedimiento experimental de bioaccesibilidad *in vitro*

Las muestras de zanahorias crudas y cocidas congeladas fueron dejadas a temperatura ambiente durante 15 minutos previo a la digestión *in vitro*. Se sometieron a dos procedimientos que tuvieron como objetivo final obtener dos tamaños de partículas:

1. Un procedimiento de reducción de tamaño mediante un mortero y pilón de vidrio simulando la masticación humana, lo cual permitió obtener una preparación que denominaremos “*pulpeado*” con un tamaño de partícula de 3 a 8 mm.
2. Un procedimiento de homogenización con batidora doméstica (Licuomaxir, TurboVarimix Fagor B455M) en la función turbo durante 10 s lo cual permitió obtener un puré, que denominaremos “*homogeneizado*”, con tamaño de partícula <1 mm. En 1 y 2 se utilizó una regla milimetrada para determinar el tamaño de partícula predominante.

Inmediatamente al pulpeado u homogeneizado se realizó la digestión *in vitro* de acuerdo a Hedrén *et al.* (2002 a) con modificaciones. Se tomaron alícuotas de 15 g de la muestra

agregando 10 ml de agua desionizada con L-(+)-Ácido ascórbico (1% p/v, J.T.Baker); aceite de canola comestible¹ (20% peso seco); DL- α -tocoferol (1% p/v, Roche); 0,1 ml de ácido clorhídrico (HCl 12 M, J.T.Baker); 1 ml de solución de pepsina porcina (50 mg/ml, Sigma) en HCl 0,1 M. Se homogenizó agitando manualmente y se puso a incubar en un baño con agua (New Brunswick G76D, EUA) a 37 °C con movimiento orbital a 140 oscilaciones/min, durante 1 h. Al finalizar esta etapa, se subió el pH a 6 con 10 ml de solución de buffer citrato (pH 5,5) y 2 ml de carbonato de sodio (NaHCO₃ 0,8 M). Se agregaron 2 ml de una preparación de pancreatina porcina (20 mg, Sigma-Aldrich) y bilis porcina (0,1 g, Sigma®) en 2 ml de carbonato de sodio (NaHCO₃ 0,1 M), y aminoglucosidasa (30 μ l, Sigma-Aldrich). Se midió el volumen final ajustándolo hasta 40 ml con agua destilada. Inmediatamente se volvió a incubar en idénticas condiciones a la anterior durante 2 h. Al finalizar la digestión *in vitro* los frascos se pusieron en freezer (-20 °C) durante 5 min para detener el proceso de digestión. Se filtró con papel de filtro sin cenizas (Whatman N° 40) y se midió el total de volumen obtenido de la digesta.

3.3.1.2 Extracción de β -carotenos de las digestas

La extracción de β -carotenos de las digestas se realizó de acuerdo a Hedrén *et al.* (2002 b) con modificaciones. Se colocaron en una bola de decantación 10 ml del líquido de digestión y 3 ml de una solución salina de cloruro de sodio y agua destilada (NaCl 25% p/v). Se agregaron 8 ml de etanol (J.T.Baker, México) y 6 ml de hexano (Mallinckrodt Baker, USA), estabilizado con BTH 0,1% p/v, ambos solventes con calidad HPLC. Se agitó fuertemente y se separó la fase acuosa (inferior) de la fase de extracción (superior). Se midió el volumen de la fase de extracción. La fase acuosa fue nuevamente extraída con 3 ml de etanol y 3 ml de hexano estabilizado con BHT 0,1% p/v. El proceso se

¹ Aceite de canola o colza (*Brassica napus*). PURILEV® Brasil www.cargil.com.ve

reiteró hasta que la fase acuosa fue incolora. Se midió el total del volumen de extracción obtenido.

3.3.1.3 Cuantificación de β -carotenos bioaccesibles

La cuantificación de β -carotenos totales en las digestas se realizó como en el ítem 3.2.4. Para el cálculo de β -carotenos bioaccesibles se procedió de la siguiente forma:

$$\beta\text{-carotenos bioaccesibles (\%)} = \frac{\text{mg } \beta\text{-carotenos en la digesta}}{\text{mg } \beta\text{-carotenos inicial}} \times 100$$

3.3.1.4 Cuantificación de minerales bioaccesibles

La cuantificación de Ca y Mg se realizó en la digesta filtrada con papel de filtro Whatman N° 40 sin cenizas, con 45% v/v de una solución de lantano (1% p/v). La cuantificación del Cu y Zn se realizó en el líquido de digestión filtrado. Para la cuantificación por espectrofotometría de absorción atómica con llama se siguieron los mismos procedimientos descritos en el ítem 3.2.5.

$$\text{Minerales bioaccesibles (\%)} = \frac{\text{mg mineral en la digesta}}{\text{mg mineral total inicial}} \times 100$$

3.4 DISEÑO EXPERIMENTAL Y ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El diseño experimental fue completamente al azar, con un arreglo factorial de seis materiales genéticos de zanahorias (Becaria, Brasilia, CRS, González, Kuroda, Rodríguez), dos forma de preparación (cruda y cocida) y dos tamaños de partículas (pulpeado y homogenizado), con tres repeticiones por tratamiento. Los datos obtenidos de materia seca, color, y sólidos solubles fueron analizados mediante un análisis de varianza (ANOVA) de dos factores comprendiendo material genético y preparación (cruda y cocida), seguido de una comparación de medias por el test de Tukey ($P \leq 0,05$). Además se utilizó un ANOVA de una vía, seguido de la comparación de medias por el test Tukey-Kramer ($P \leq 0,05$) para comparar entre materiales genéticos las dos formas de preparación (crudo o cocido). Dentro de cada material genético se comparó el efecto de la preparación mediante el test de Student pareado ($P \leq 0,05$).

Se realizó un análisis de la relación entre la variable tono promedio y el contenido de β -carotenos totales de las zanahorias crudas y cocidas, mediante el cálculo de coeficiente de correlación de Pearson ($P < 0,05$).

Los datos de β -carotenos, minerales totales y bioaccesibles fueron analizados por un ANOVA de tres factores comprendiendo tamaño de partícula, material genético y formas de preparación ($P \leq 0,05$), seguido de una comparación de medias por el test de Tukey ($P \leq 0,05$). Además se utilizó un ANOVA de una vía y la comparación de medias por el test Tukey-Kramer ($P \leq 0,05$) para comparar entre materiales genéticos las dos formas de preparación (crudo o cocido). Dentro de cada material genético se comparó el efecto de la preparación mediante el test de Student pareado ($P \leq 0,05$).

Las análisis estadísticos fueron procesados en el programa InfoStat (2004)/Versión 2007p.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 CARACTERIZACIÓN FÍSICA-QUÍMICA DE LAS ZANAHORIAS

4.1.1 Materia seca

Los materiales genéticos de zanahorias estudiadas presentaron distintos valores de materia seca tanto crudas ($P < 0,0001$) como cocidas ($P \leq 0,014$). En las zanahorias locales y el cultivar comercial “Brasilia” se obtuvo similar contenido de materia seca, de 9,4 a 10,4% en crudo y de 9,6 a 10,0% en las cocidas (Figura 1).

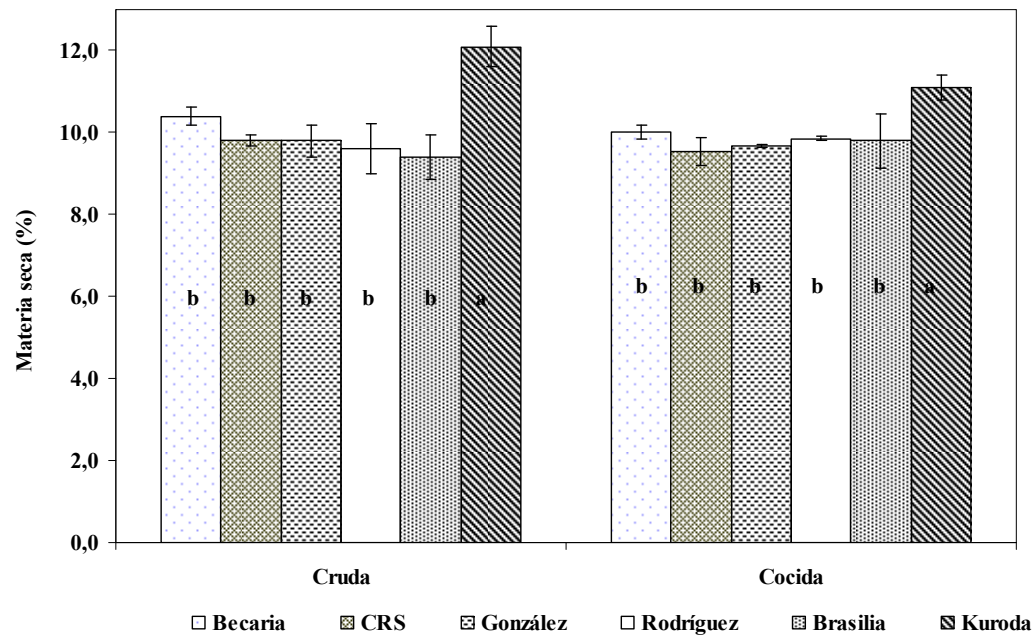


Figura 1: Contenido de materia seca (%) de seis materiales genéticos de zanahorias, crudas y cocidas. Los datos representan la media $\pm$ DEM de $n = 6$. Letras minúsculas diferentes en cada columna indican medias diferentes significativamente según un ANOVA de una vía y test de Tukey y Kramer ($P \leq 0,05$) para los materiales genéticos dentro de cada forma de preparación, crudo o cocido. Letras mayúsculas diferentes sobre cada columna indican medias diferentes significativamente según test de Student para muestras pareadas ($P \leq 0,05$) crudas y cocidas para cada material genético.

El cultivar comercial “Kuroda” es el que presentó mayor contenido de materia seca (12,1% cruda y 11,1% cocida) respecto de los demás cultivares (Figura 1). La cocción al vapor no modificó el contenido de materia seca de las zanahorias estudiadas ($P \geq 0,1967$) resultando nuevamente que “Kuroda” mantuvo el mayor contenido de materia seca. El mayor contenido de materia seca en “Kuroda” podría implicar un mayor contenido de fibras, dado que gran parte de la materia seca son los componentes de la estructura de la pared celular, que son fibras (celulosa, hemicelulosa y polisacáridos pépticos, siendo un 45 a 55%). El protoplasma constituido por la membrana celular, el citoplasma y el núcleo celular (8 a 10%) contarían también dentro de lo que se define como materia seca. Se puede inferir que el contenido de fibra en “Kuroda” podría explicar las diferencias en el contenido de materia seca obtenido (Bao y Chang, 1994). Nuestros resultados mostraron también un resultado coincidente con Faulks y Southon (2005) donde la cocción al vapor no alteró el contenido de materia seca cuantificado. Kalichevsky *et al.* (1992), Georget *et al.* (1998), Aguilar *et al.* (1999) y Faulks y Southon (2005) reportaron que la cocción mediante hervor (por inmersión en agua en ebullición) produce una alta retención de agua en las zanahorias dado el alto contenido de pectinas en la composición de las paredes celulares de las mismas, lo cual no sucede con la cocción al vapor. Sería de interés comparar diferentes tipos de cocción para extraer más conclusiones.

Los valores de materia seca obtenidos en las zanahorias crudas en este trabajo son similares a los que se reportaron, para otras zanahorias (*Daucus carota* L.), por Bang *et al.*, (1954); Rodríguez-Amaya, (1999a); Georget *et al.*, (2002) y Tsukakoshi *et al.*, (2009). El menor contenido de agua en la zanahoria está relacionado a una menor actividad de agua, menor actividad microbiana, mayor conservación, y mayor estabilidad de los carotenoides (Uquiche-Carrasco y Cisneros-Zevallos, 2002; Sulaeman *et al.*, 2003; Klaiber, *et al.*, 2005; Ragaert *et al.*; 2007).

Estas cualidades permiten potenciar diferencialmente las variedades de zanahorias para diferentes fines de procesamiento. En este sentido, las variedades locales y el cultivar “Brasilia” presentaron contenido mayor de agua lo cual podría influir negativamente en la conservación en el material sin procesamiento. Por otro lado, el cultivar “Kuroda” sometido a una cocción por hervor podría tener retención de agua por contener probablemente mayor cantidad de pectinas.

4.1.2 Color del floema y xilema

4.1.2.1 Luminosidad (L*) del floema y xilema

La variable luminosidad (L*) va desde el valor 0 (negro) a 100 (blanco) e indica la claridad del color del material evaluado (Voss, 1992). Las zanahorias crudas presentaron diferencias estadísticas entre los materiales genéticos ($P < 0,0008$) para la variable luminosidad medida en el floema (Figura 2, A), siendo más luminosos los floemas de las zanahorias locales con valores L* de 54,7 a 56,9. Sin embargo, estas diferencias en la luminosidad del floema no se observaron cuando las zanahorias fueron cocidas ($P \geq 0,3379$) con valores de L* entre 50,3 y 50,7. A su vez, la luminosidad del xilema (Figura 2 B) en las zanahorias crudas fue similar entre los materiales genéticos estudiados ($P \geq 0,3649$), mientras que en las zanahorias cocidas el xilema del cv. “Kuroda” fue menos brillante que “Rodríguez” ($P < 0,0082$; Figura 2, B). El proceso de cocción, disminuyó la luminosidad de las zanahorias, tanto del xilema como del floema, coincidiendo con los resultados obtenidos por Patras *et al.* (2009) en zanahorias blanqueadas y esterilizadas (121 °C, 3 y 15 min) y con Uquiche-Carrasco y Cisneros-Zevallos (2002) en zanahorias escaldadas a 50 °C, 30 s en solución de 1% de ácido cítrico.

Las diferencias encontradas entre los materiales genéticos locales y comerciales evaluados, pueden deberse a que difieren tanto en el contenido de agua, en la composición de las paredes celulares y en componentes del contenido celular que estarían involucrados en el pardeamiento enzimático (Patras *et al.*, 2009; Cisneros-Zevallos *et al.*, 1995).

La luminosidad en las zanahorias procesadas es una variable de calidad apreciada por el consumidor, siendo un indicador de frescura y de mínimo tiempo de preparación del alimento (Simon y Lindsay, 1983; Abott, 1999; Patras *et al.*, 2009). Zanahorias con menor cantidad de agua y mayor cantidad de fibras tenderían a ser de color menos brillantes (Howard *et al.*, 1996). Cisneros-Zevallos *et al.* (1995) han estudiado que la deshidratación parcial de las células superficiales produce cambios de color hacia una mayor apariencia blanca y menor brillo en las zanahorias peladas, cortadas o con mínimo proceso. Algunos factores involucrados en la pérdida de brillo y de tono en el color de frutas y hortalizas cortadas son el pardeamiento enzimático y la presencia de lignina (Bolin y Huxsol, 1991; Bolin, 1992; Cisneros-Zevallos *et al.*, 1995). Por otro lado, los componentes que forman parte de las paredes celulares en la raíz de la zanahoria (pectina, lignina) podrían tener un efecto en el brillo (Uquiche-Carrasco y Cisneros-Zevallos, 2002), que no fueron medidos en este trabajo.

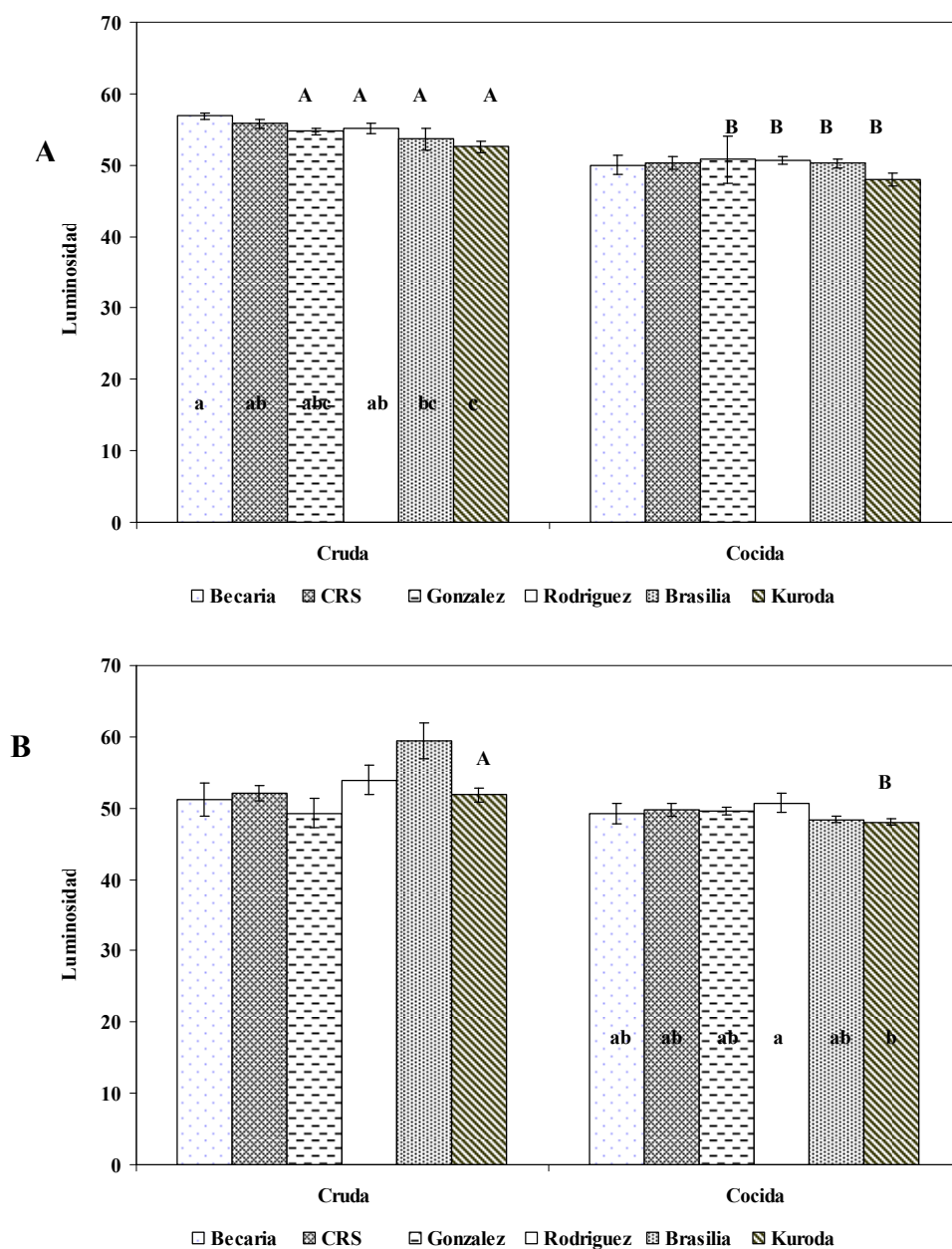


Figura 2: Luminosidad del floema (A) y xilema (B) de seis materiales genéticos de zanahoria, crudas y cocidas. Letras minúsculas diferentes en cada columna indican medias diferentes significativamente según un ANOVA de una vía y test de Tukey y Kramer ($P \leq 0,05$) para los materiales genéticos dentro de cada forma de preparación, crudo o cocido. Letras mayúsculas diferentes sobre cada columna indican medias diferentes significativamente según test de Student para muestras pareadas ($P \leq 0,05$) crudas y cocidas para cada material genético.

4.1.2.2 Tono (ángulo hue) del floema y xilema

El tono de color, expresado como ángulo hue, toma valores desde 0° a 360° que en el círculo corresponde 45° al color anaranjado, 90° amarillo, 180° verde y 270° azul (Voss, 1992). El tono que caracteriza el color anaranjado de las zanahorias está dado por la concentración y distribución de carotenos en el floema y xilema (Paterson *et al.*; 1939; Baranska *et al.*, 2006). Los materiales genéticos estudiados se diferenciaron por el tono del floema ($P < 0,0001$) y del xilema ($P < 0,0001$), (Figura 3). Las zanahorias locales y el cultivar comercial “Brasilia”, tuvieron tonos de floema más anaranjados (65,4° a 67,8°) que en el xilema (70,9° a 78,0°) de las raíces crudas (Figura 3A y 3B). En “Kuroda” se registró un tono más anaranjado que el resto de las zanahorias, siendo muy similar el tono del floema (58,7°) y el xilema (60,3°). En las zanahorias cocidas se obtuvo el mismo resultado que crudas, donde “Kuroda” tuvo muy similar el tono del floema (61,1°) y del xilema (65,7°), siendo menos anaranjadas las zanahorias locales y “Brasilia” con tono en floema entre 68,8° y 74,1° y tono de xilema entre 78,7° y 83,8°.

La cocción al vapor incrementó el valor hue, indicando una reducción del tono anaranjado presente en las zanahorias lo que podría estar evidenciando destrucción de carotenos. Sin embargo, como se discutirá más adelante, la cantidad de carotenos extraídos en las zanahorias luego del proceso de cocción fue mayor respecto de las muestras crudas. Esto sugiere que el cambio de tono en las zanahorias estudiadas estaría explicado por la degradación por oxidación de carotenos localizados superficialmente (Mirza y Morton, 1977; Uquiche-Carrasco y Cisneros-Zevallos, 2002) y/o el incremento de otros metabolitos, como compuestos fenólicos, producidos en los tejidos superficiales de las muestras de zanahorias estudiadas (Patras *et al.*, 2009).

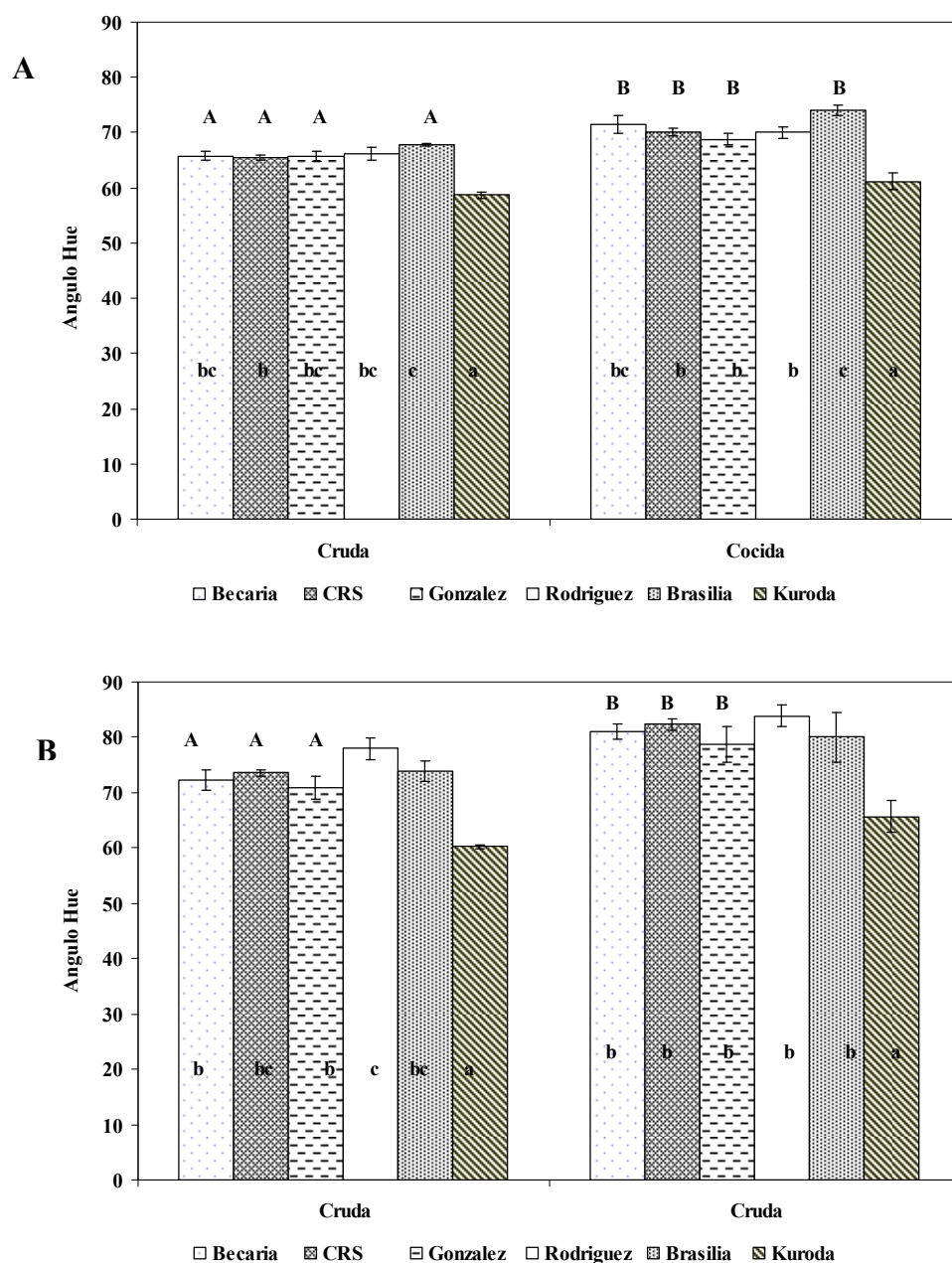


Figura 3: Tono (ángulo Hue) del floema (A) y xilema (B) de seis materiales genéticos de zanahorias crudas y cocidas. Letras minúsculas diferentes en cada columna indican medias diferentes significativamente según un ANOVA de una vía y test de Tukey y Kramer ($P \leq 0,05$) para los materiales genéticos dentro de cada forma de preparación, crudo o cocido. Letras mayúsculas diferentes sobre cada columna indican medias diferentes significativamente según test de Student para muestras pareadas ($P \leq 0,05$) crudas y cocidas para cada material genético.

Las coloraciones amarillas o marfiles pueden ser debidas a la presencia de flavonoles, flavonas, calconas, flavononas e isoflavononas. Se ha observado que muchos de estos compuestos carecen de color en estado natural pero pueden convertirse en compuestos coloreados bajo determinadas condiciones durante la manipulación y el procesado de los vegetales (Martínez-Valverde *et al.*, 2000; Patras *et al.*, 2009). Turkmen *et al.* (2005) observaron que los fenoles totales en espinaca, arvejas, bróccoli, puerro, morrón, zapallos, fueron más fácilmente extraídos luego de diferentes tratamientos térmicos (hervido, 5 min; microondas, 1 min; cocido al vapor, 7,5 min), explicado en parte por el efecto de la temperatura de cocción en las paredes celulares (pectinas y celulosa) donde se encuentran los compuestos fenólicos.

4.1.2.3 Saturación (Croma) del floema y xilema

La variable saturación del color, expresada mediante el cálculo de Croma, indica la intensidad que tiene el tono del color tomando valor desde menos saturado (0) a más saturado (60). En las zanahorias crudas estudiadas, tanto en el floema como en el xilema, se observaron diferencias entre materiales genéticos en la saturación del color ($P < 0,0001$ y $P \leq 0,0013$) (Figura 4). A su vez se observaron valores menores de saturación en el xilema (34,7 a 44,1) que en el floema (41,7 a 49,2). El floema con mayor saturación fue el del cultivar “Kuroda” (49,2) seguida de “Becaria” (47,3), “CRS” (46,8) y “Rodríguez” (45,5) Figura 4 A, mientras que en el xilema la mayor saturación del color se observó también en “Kuroda” (43,7) Figura 4 B.

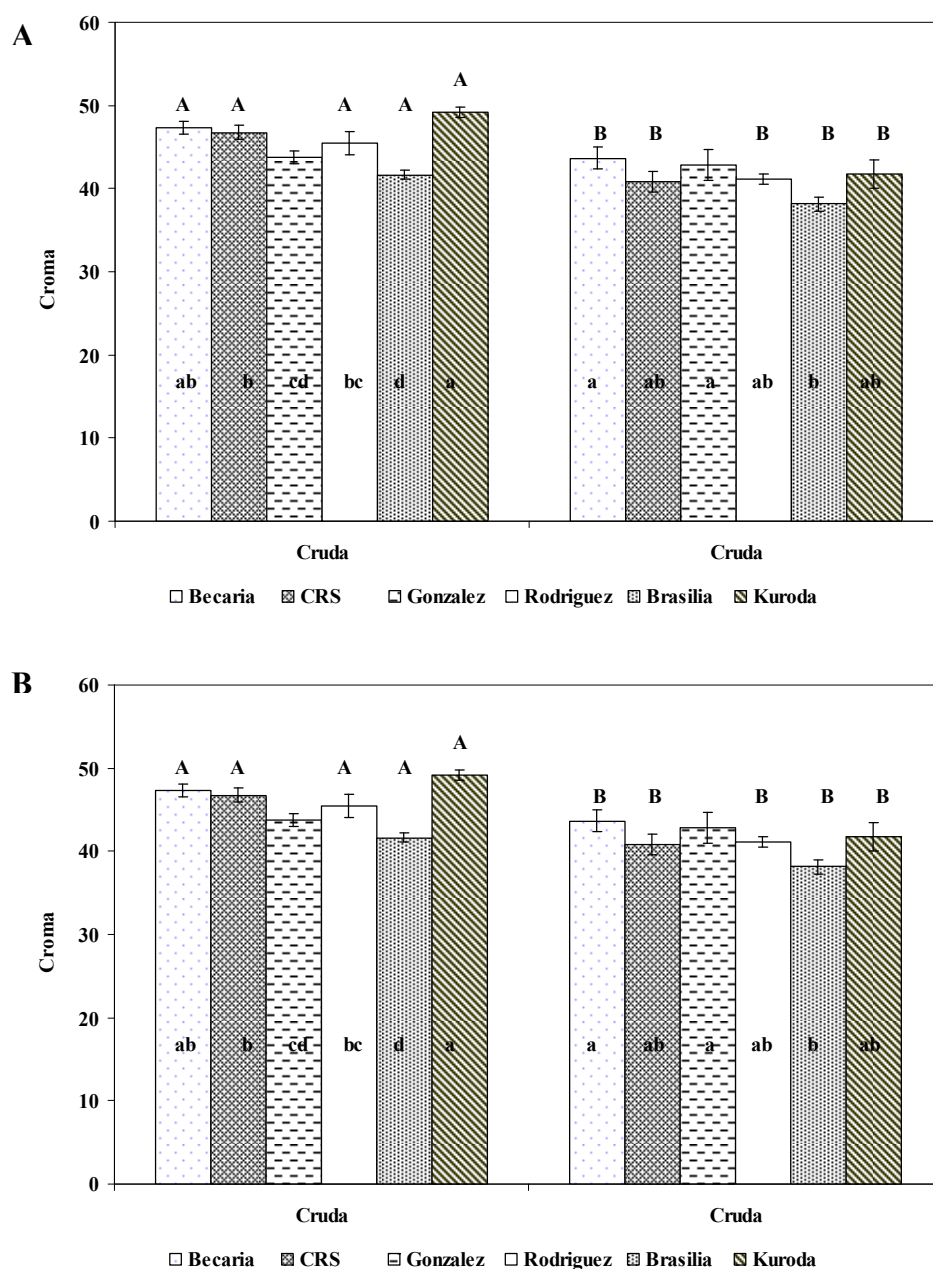


Figura 4: Saturación (Croma) del floema (A) y xilema (B) de seis materiales genéticos de zanahoria, crudas y cocidas. Letras minúsculas diferentes en cada columna indican medias diferentes significativamente según un ANOVA de una vía y test de Tukey y Kramer ($P \leq 0,05$) para los materiales genéticos dentro de cada forma de preparación, crudo o cocido. Letras mayúsculas diferentes sobre cada columna indican medias diferentes significativamente según test de Student para muestras pareadas ($P \leq 0,05$) crudas y cocidas para cada material genético.

Este resultado probablemente es debido a que la concentración de carotenos están mayoritariamente distribuidos en el floema (Baranska *et al.*, 2006) y a que los materiales locales y “Brasilia” tienen además el xilema de color menos anaranjados con tonalidades amarillas (Galván *et al.*, 2005; Rachetti, 2006). Las zanahorias cocidas también presentaron diferencias entre sí tanto en el floema ($P \leq 0,046$) como en el xilema ($P \leq 0,0007$). Similar diferencia entre los materiales evaluados se determinó en las zanahorias cocidas, reduciéndose, respecto de las crudas, en promedio un 9% del valor Croma en el floema ($P \leq 0,0046$) y un 7% en el xilema ($P \leq 0,0007$). La cocción tuvo un efecto muy significativo ($P < 0,0001$) en la reducción del valor Croma. Similar resultado ha sido reportado en zanahorias escaldadas y procesadas a 121 °C durante 3 y 15 minutos (Pratas *et al.*, 2009), y en brócoli (Zhang y Hamauzu, 2004), debido probablemente al proceso de oxidación no enzimático, a la lignificación y a la deshidratación superficial de las zanahorias durante la preparación. A su vez estos autores adujeron que los procesos térmicos producen alteraciones físicas, bioquímicas, en composición y en la fisiología, jugando un papel fundamental en los compuestos fenólicos que se liberan más simplemente. Los cambios de composición de otros componentes celulares, así como modificaciones en la distribución de los carotenos, pueden estar explicando la reducción de la intensidad del tono de color anaranjado, a pesar que se cuantificó en zanahorias cocidas una mayor cantidad de β -carotenos totales.

4.1.3 Contenido de sólidos solubles totales

La cantidad de sólidos solubles totales (SST) en las zanahorias crudas fue diferente entre los materiales genéticos evaluados ($P < 0,0001$) Figura 5. El cultivar comercial “Kuroda” presentó mayor cantidad de SST, 9,3 °Brix, que el resto de las zanahorias, mientras que “Brasilia” y las zanahorias locales fueron similares entre sí con un contenido de SST entre 7,0 y 7,4 °Brix. Las zanahorias cocidas también se diferenciaron estadísticamente ($P < 0,0001$) teniendo las zanahorias locales y el cultivar “Brasilia” menor cantidad de SST, 7,5 a 8,6 °Brix, que “Kuroda”, 10,1 °Brix.

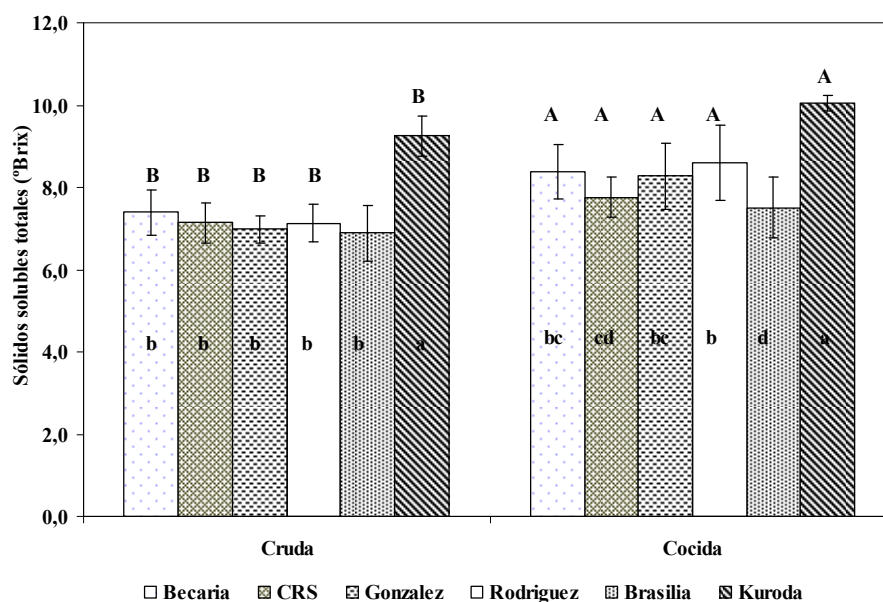


Figura 5: Contenido de sólidos solubles totales (°Brix) de seis materiales genéticos de zanahoria, crudas y cocidas. Letras minúsculas diferentes en cada columna indican medias diferentes significativamente según un ANOVA de una vía y test de Tukey y Kramer ($P \leq 0,05$) para los materiales genéticos dentro de cada forma de preparación, crudo o cocido. Letras mayúsculas diferentes sobre cada columna indican medias diferentes significativamente según test de Student para muestras pareadas ($P \leq 0,05$) crudas y cocidas para cada material genético.

La magnitud del aumento de los SST luego de la cocción fue diferente en cada material genético.

Las zanahorias locales “González” y “Rodríguez” cocidas aumentaron la cantidad de SST un 18,5% y 20,6%, mientras que en “Kuroda” y “CRS” el incremento fue menor de 8,6% y 8,7%, respectivamente. Sólo en la zanahoria comercial Brasilia no se produjo cambio en la cantidad de SST por la cocción. Los SST del jugo de zanahoria están compuestos por 70 a 80% de azúcares simples (sacarosa, fructosa y glucosa) además de ácidos orgánicos en forma libre o combinados con sales, ésteres o glucósidos. (Soujara, 2000; Alasalvar *et al.*, 2001; Uquiche-Carrasco y Cisneros-Zeballos 2002). A su vez, las paredes celulares constituidas por pectinas pueden degradarse por mecanismos enzimáticos, químicos o físicos como la temperatura, incrementando la cantidad de sólidos solubles.

La cocción al vapor provoca separación del protoplasto y las paredes celulares (Southon y Faulks, 2003), una modificación en la permeabilidad de la membrana y la solubilización de los componentes de la pared celular. El efecto de la temperatura en la solubilización de las pectinas puede estar explicando el incrementando de la cantidad de SST en las zanahorias cocidas. (Kalichevsky *et al.*, 1992; Georget *et al.*, 1998 y 2002).

Una mayor cantidad de SST en las zanahorias, asociada a los azúcares simples y otros nutrientes, son sustratos que favorecen la actividad microbiana que deterioran la calidad y conservación de las mismas. (Rolle y Chism, 1987; Bolin y Huxsol 1991; Bolin, 1992; Salveit, 1997; Barry-Ryan y O'Beirne, 1998; Pilon *et al.*, 2006; Ragaert *et al.*, 2007). El cultivar comercial “Kuroda” con contenido más alto de SST tiene probablemente mayor susceptibilidad al deterioro por microorganismos reduciéndose su conservación, y teniendo por ello desventajas en su utilización como materia prima en procesos industriales. Por el contrario, “Brasilia” probablemente tenga una composición más estable, que no sufre modificaciones con la cocción, lo que explicaría la misma cantidad de SST tanto crudo como cocido.

4.1.4 Contenido de β -carotenos totales

4.1.4.1 Contenido de β -carotenos totales en peso fresco

El contenido de β -carotenos totales fue significativamente diferente ($P < 0,0001$) entre los materiales genéticos tanto crudos como cocidos, entre las formas de preparación ($P \leq 0,007$), y en la interacción entre ambos factores ($P < 0,0001$). Los materiales genéticos crudos con mayor contenido de β -carotenos totales fueron “Kuroda” (7,9 mg/100 g peso fresco), seguido de las zanahorias locales “González” (6,1) y “Rodríguez” (6,0) (Figura 6). Los resultados obtenidos en los cultivares comerciales para zanahorias crudas fueron superiores a la cantidad obtenida por Almeida-Muradian *et al.* (1997) para “Brasilia” (2,1 mg/100 g fresco); y por Nicolle *et*

al. (2004) en “New Kuroda” (3,6 mg/100 g fresco). Luego de la cocción por vapor, las zanahorias con mayor contenido de β -carotenos totales fueron los cultivares comerciales “Kuroda” (7,8 mg) y “Brasilia” (6,6), seguido de la zanahoria local “González” (6,0) (Figura 6).

El proceso de cocción produjo una respuesta diferente en cada material genético sobre la cantidad de β -carotenos totales cuantificados. El contenido de β -carotenos totales no se modificó con la cocción de las zanahorias “Becaria”, “González” y “Kuroda”. Sin embargo, disminuyó un 23% en la zanahoria local “Rodríguez” y aumentó 29% en “CRS” y 75% en “Brasilia”.

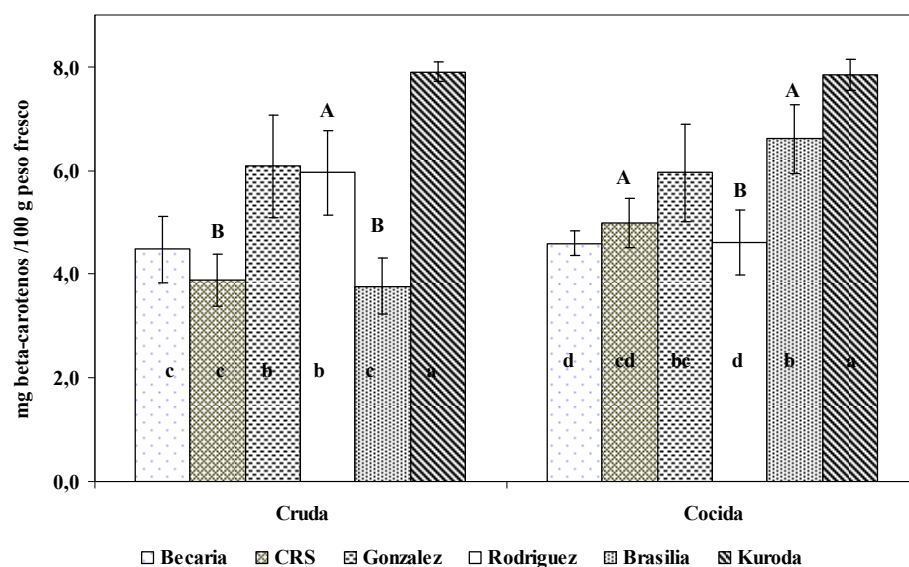


Figura 6: Contenido de β -carotenos totales (mg/100g peso fresco) de seis materiales genéticos de zanahoria, crudas y cocidas. Letras minúsculas diferentes en cada columna indican medias diferentes significativamente según un ANOVA de una vía y test de Tukey y Kramer ($P \leq 0,05$) para los materiales genéticos dentro de cada forma de preparación, crudo o cocido. Letras mayúsculas diferentes sobre cada columna indican medias diferentes significativamente según test de Student para muestras pareadas ($P \leq 0,05$) crudas y cocidas para cada material genético.

Las propiedades físicas de la matriz de los alimentos modifican la eficiencia física, enzimática y química de extracción de los β -carotenos (Zhang y Hamauzu, 2004). Los carotenos son compuestos muy hidrofóbicos y normalmente están asociados a las estructuras lipídicas de los organelos celulares. En las zanahorias, así como en el tomate, los β -carotenos se encuentran en estructuras semicristalinas en cromoplastos o cloroplastos celulares, asociados con las proteínas y/o en las membranas residuales (Paterson *et al.*, 1939; Baranska *et al.*, 2006, Hornero-Méndez y Mínguez-Mosquera, 2007; Patras *et al.*, 2009). La característica y constitución de la pared y membrana donde se localizan los β -carotenos son factores diferenciales entre materiales genéticos para su extracción (Faulks y Shouton, 2005; Lemmens *et al.*, 2009).

Por otro lado, la extracción de carotenos de los materiales vegetales es principalmente el resultado de la rotura de las células que ocurre durante la preparación, procesamiento y masticación del alimento. En particular, el calor moderado (45 a 55 °C) durante la preparación por cocción de los tejidos vegetales modifica la textura y provoca el ablandamiento de los mismos (Meléndez-Martínez *et al.*, 2004). El ablandamiento de las paredes celulares puede estar asociado principalmente con cambios en la estructura de las paredes celulares y en menor medida con daños en la membrana celular (Huang y Bourne, 1983; Rao y Lund, 1986; Ilker y Szczesniak, 1990; Bolin y Huxsoll, 1991; Lebovka *et al.*, 2004).

Los cambios en el volumen de la pared celular, disolución y despolimerización de pectinas y separación de las células, son los primeros mecanismos de desintegración tisular, inducidos naturalmente por procesos enzimáticos y fisiológicos durante el envejecimiento de los tejidos, así como por cocción y esterilización (Southon y Faulks, 2003). Asimismo, la temperatura modifica la tensión de las expansinas, proteínas sin actividad enzimática que unen las microfibrillas de las paredes celulares y rompen las uniones hidrogenadas de celulosas y xiloglucanos, pudiendo los espacios ser ocupados por agua mediante puentes de hidrógeno uniéndose a los hidroxilos del ácido galacturónico, mecanismo por el cual la pared celular pierde rigidez (Georget, *et al.* 1998; Brummell y Harpster, 2001; Georget *et al.*, 2002; Martínez y Cívello, 2008).

A nivel de las membranas celulares la temperatura también altera la permeabilidad selectiva de las mismas y desnaturaliza e inactiva proteínas enzimáticas esenciales. En consecuencia, la temperatura de cocción modifica las paredes celulares y las membranas de las células donde se encuentran los carotenoides, haciendo más eficiente el método de extracción utilizado (Granado *et al.*, 1992). Esto puede estar explicando el efecto muy significativo ($P \leq 0,007$) de incremento de los β -carotenos totales en las zanahorias cocidas. Similares resultados obtuvieron Patras *et al.* (2009) en zanahorias del cv. “Nairobi” hervidas a 121 °C durante 3 min, las cuales aumentaron 15% los carotenoides totales respecto del control sin cocción.

Sin embargo no todos los tejidos vegetales responden de igual forma frente a la temperatura, y el tratamiento térmico puede afectar negativamente la cantidad de carotenoides (Simon y Lindsay, 1983). Dietz *et al.* (1988) obtuvieron que la cocción al vapor de zanahorias permitió una retención de 83 y 139% de α y β -carotenos respectivamente, mientras que hervidas durante 30 min perdieron un 40% de los β -carotenos. Sin embargo, en la espinaca, en brócoli y en chauchas cocidas (3-5 min), preparadas en microondas (1,5-5 min) y hervidas (9 min) no se produjeron cambios importantes en la cantidad de carotenos (Khachick *et al.*, 1992). La temperatura, la forma (asado, al vapor, hervido) y el tiempo de cocción puede modificar la cantidad de β -carotenos del alimento (Meléndez-Martínez *et al.*, 2004 a y b). A su vez fue reportado que la degradación de los carotenos por temperatura puede ser causada por un efecto directo en la ruptura de la molécula o en una isomerización (*cis* a *trans*) la cual modifica la actividad biológica de los β -carotenos (Kopsell y Kopsell, 2006).

4.1.4.2 Contenido de β -carotenos totales en peso seco

El contenido de β -carotenos expresados cada 100 g de peso seco presentó similar tendencia al obtenido para esta variable en peso fresco. Las raíces crudas de materiales locales “Rodríguez” y “González” y el cultivar comercial “Kuroda”, tuvieron la mayor cantidad de β -carotenos (61,9; 62,3 y 65,5 mg/100g seco) (Figura 7). A su vez,

“Becaria”, “CRS” y “Brasilia” no se diferenciaron entre sí. El efecto del proceso de cocción sobre el contenido de β -carotenos presentó interacción muy significativa ($P < 0,0001$) con el material genético. Se observó que “Brasilia” y “CRS” aumentaron por la cocción la cantidad de β -carotenos en base seca 68 y 32% mientras que “Rodríguez” bajó un 25%.

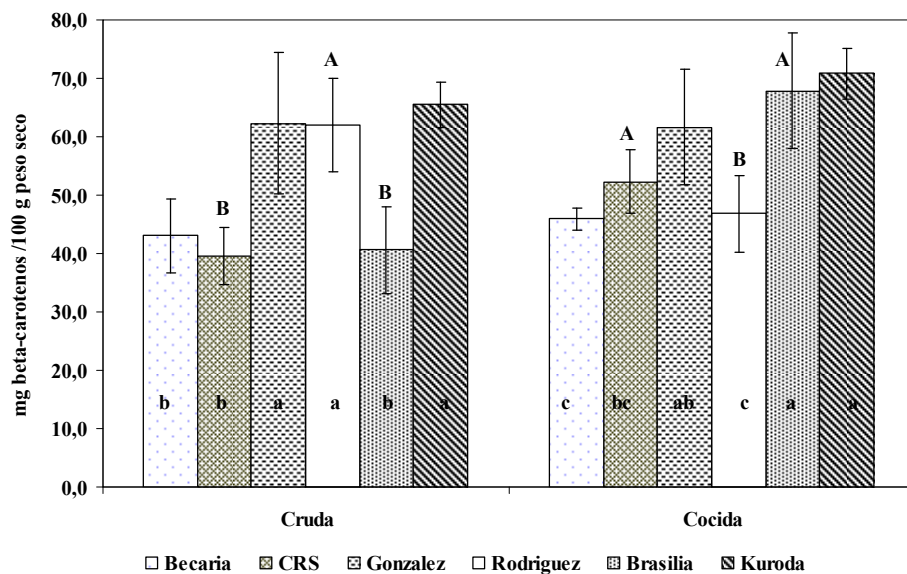


Figura 7: Contenido de β -carotenos totales (mg/100 g peso seco) de seis materiales genéticos de zanahoria, crudas y cocidas. Letras minúsculas diferentes en cada columna indican medias diferentes significativamente según un ANOVA de una vía y test de Tukey y Kramer ($P \leq 0,05$) para los materiales genéticos dentro de cada forma de preparación, crudo o cocido. Letras mayúsculas diferentes sobre cada columna indican medias diferentes significativamente según test de Student para muestras pareadas ($P \leq 0,05$) crudas y cocidas para cada material genético.

4.1.5 Correlación entre el tono promedio (ángulo hue) y el contenido de β -carotenos totales

El contenido de β -carotenos totales se correlacionó negativamente con la variable ángulo hue (tono promedio) en las zanahorias crudas ($-0,67$; $P < 0,0023$; $n = 3$) y cocidas ($-0,75$; $P < 0,0032$, $n = 3$). A menor valor de ángulo hue correspondió mayor contenido de β -carotenos. Estos resultados son coincidentes con los reportados por Bradley y Rhodes

(1969) en zanahorias anaranjadas y por Toujee *et al.*, (1998) en duraznos frescos y procesados (105 °C, 12 min). La estructura química del β -caroteno de once enlaces dobles conjugados con dos anillos alifáticos emite el color anaranjado con máxima absorción dentro del espectro visible en λ_{max} 450 nm (Meléndez-Martínez *et al.*, 2007). El tono anaranjado en las zanahorias es determinado por varios carotenos y xantofilas, de los cuales las zanahorias anaranjadas contienen mayoritariamente β -carotenos y α -carotenos, 43% a 71% y 17% a 22% de los carotenoides totales respectivamente (Simon y Wolff, 1987; Heinonen, 1990). Estos pigmentos se sintetizan y depositan mayoritariamente en el floema de las raíces (Baranska *et al.*, 2006).

4.1.6 Contenido de Ca, Mg, Cu y Zn totales

4.1.6.1 Contenido de Ca total

En las zanahorias crudas no se encontró diferencia en el contenido de calcio entre los materiales genéticos estudiados ($P \geq 0,5196$). La cantidad de calcio para todos los cultivares se situó entre 29,7 y 37,3 mg/100 g fresco (Figura 8). Por el contrario, en las zanahorias cocidas al vapor sí se hallaron diferencias significativas ($P \leq 0,0004$), siendo “González”, “Kuroda” y “Becaria” las zanahorias que tuvieron mayor cantidad de calcio total 37,9; 29,0 y 28,9 mg/100 g fresco, respectivamente. Sin embargo, la cocción al vapor provocó una disminución de la cantidad de calcio ($P \leq 0,0005$) de aproximadamente un 20% respecto de las zanahorias crudas. El contenido promedio de calcio de las zanahorias cocidas, 25,3 mg Ca/100 g fresco, fue significativamente menor respecto de las crudas, 31,9 mg Ca/100 g fresco. Marchner (2006); Georget *et al.* (2002) y Bush y Sze (1986), mencionan que el calcio se encuentra mayoritariamente en las paredes celulares cumpliendo una función estructural e involucrado en la permeabilidad de la membrana celular.

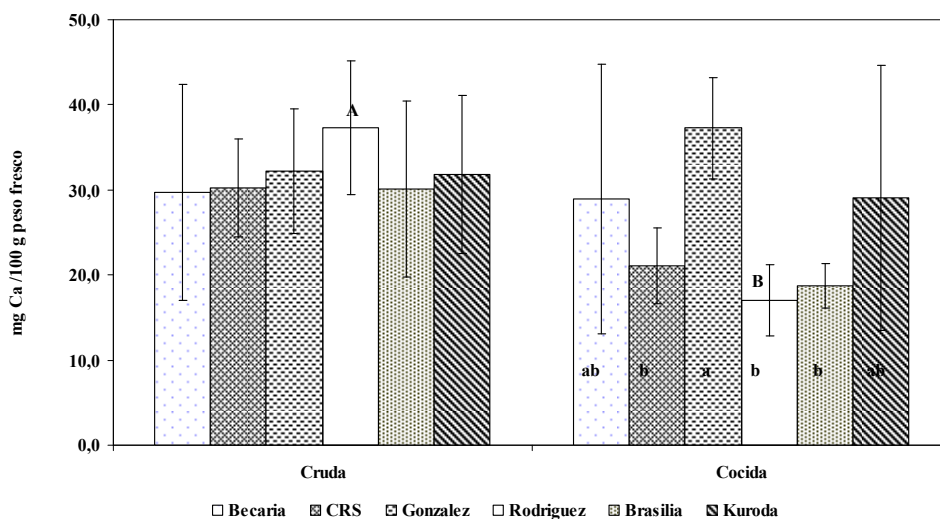


Figura 8: Contenido de Ca total (mg/ 100 g fresco) de seis materiales genéticos de zanahoria, crudas y cocidas. Letras minúsculas diferentes en cada columna indican medias diferentes significativamente según un ANOVA de una vía y test de Tukey y Kramer ($P \leq 0,05$) para los materiales genéticos dentro de cada forma de preparación, crudo o cocido. Letras mayúsculas diferentes sobre cada columna indican medias diferentes significativamente según test de Student para muestras pareadas ($P \leq 0,05$) crudas y cocidas para cada material genético.

A su vez, una baja proporción del Ca está soluble en las vacuolas y en mucha menor cantidad en el citoplasma. Las diferencias encontradas entre los cultivares de zanahorias cocidos respecto del contenido de Ca puede estar relacionada a diferencias de composición de la pared celular que a su vez son modificadas por la cocción. La temperatura de cocción deja libre el Ca que está en las uniones de las pectinas como pectatos de calcio, solubilizándose en el agua de cocción, siendo allí fácilmente perdidos (Georget *et al.*, 1998; Aguilar *et al.*, 1999; Georget *et al.*, 2002; Bryan y Jordan, 2006).

El contenido de calcio obtenido en las zanahorias crudas fue similar a los reportados por Warman y Havard (1997) en el cv. “Cellobunch” en sistemas de producción orgánica (34,6 mg/100 g) y convencional (34,0 mg/100 g), y por Nicolle *et al.* (2004) en otras variedades de zanahorias (27,2 a 44,9 mg/100 g).

4.1.6. 2 Contenido de Mg total

El contenido de magnesio fue muy diferente significativamente entre los materiales genéticos en las dos formas de preparación estudiadas (cruda $P \leq 0,0001$; cocida $P \leq 0,0001$). En los cultivares “Brasilia” y “González” se cuantificó la mayor cantidad de magnesio en la forma de preparación cruda, 12,2 y 13,1 mg/ 100 g fresco y en la preparación cocida, 12,9 y 14,6 mg/100 g fresco (Figura 9). A su vez, “Rodríguez” y “Kuroda” fueron los que tuvieron menor contenido de magnesio tanto en las muestras crudas, 9,3 y 6,7 mg/ 100 g fresco respectivamente como en las cocidas 9,0 y 5,4 mg/100 g fresco.

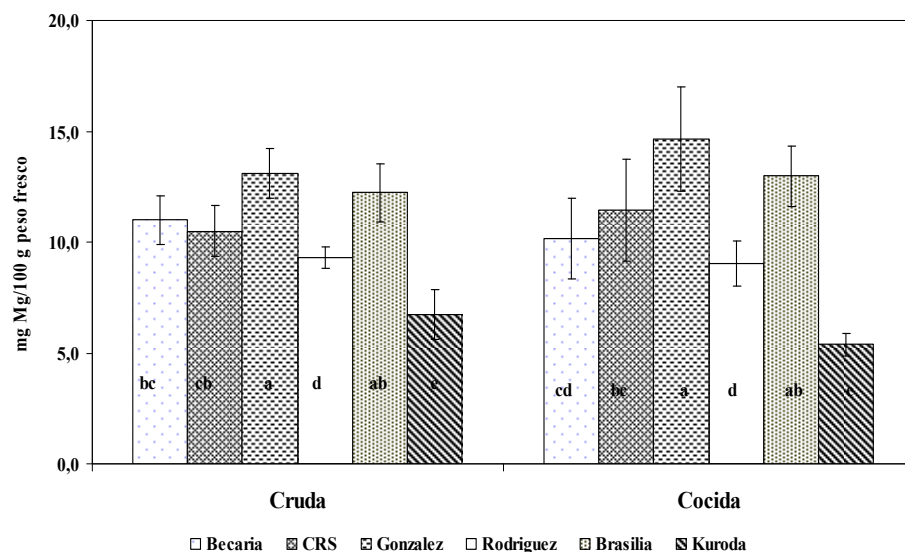


Figura 9: Contenido de Mg total (mg/ 100 g fresco) de seis materiales genéticos de zanahoria, crudas y cocidas. Letras minúsculas diferentes en cada columna indican medias diferentes significativamente según un ANOVA de una vía y test de Tukey y Kramer ($P \leq 0,05$) para los materiales genéticos dentro de cada forma de preparación, crudo o cocido. Letras mayúsculas diferentes sobre cada columna indican medias diferentes significativamente según test de Student para muestras pareadas ($P \leq 0,05$) crudas y cocidas para cada material genético.

En el análisis factorial se observó que la forma de preparación no modificó ($P \geq 0,6398$) el contenido de magnesio en los cultivares estudiados con valores medios de 10,5 mg Mg/100 g en las zanahorias crudas y de 10,6 mg Mg/100 g en las zanahorias cocidas.

El magnesio es parte de la molécula de clorofila siendo insoluble en agua, y encontrándose en forma soluble en la vacuola celular (Marchener, 2006). En las zanahorias locales se ha observado pigmentación amarilla y verde, éste último color probablemente debido a la clorofila presente en pequeñas cantidades en el xilema de las poblaciones locales (Rachetti, 2006), explicando en parte los resultados obtenidos. Por el contrario como fue analizado anteriormente, las raíces del cultivar comercial “Kuroda” crudas y cocidas, con color anaranjado uniforme del xilema y del floema y alto contenido de β -carotenos totales, fue el cultivar con menor contenido de Mg. A su vez, un mayor contenido de materia seca y acumulación de carbohidratos no estructurales (azúcares y almidón) se asociaron a menor contenido de Mg en las plantas (Marchener, 2006), coincidiendo con lo observado en este trabajo para el cultivar “Kuroda”.

La cocción al vapor mantuvo el contenido de Mg de las zanahorias cocidas (10,6 mg Mg/100 g fresco) muy similar a lo obtenido en crudas (10,4 mg Mg/100 g fresco). Según Kawashima y Valente Soares (2005) en espinaca de Nueva Zelanda (*Tetragonia expansa*), la pérdida de Mg se incrementó 20%, 36% y 55% al aumentar 5, 10 y 15 min el tiempo de escaldado. Bethke y Jansky (2008), al comparar tres variedades de papa (Superior, Red Norland y Russet Norkotah) remojada, triturada antes de hervir, sin cocción y hervida, obtuvieron una reducción del 50% de Mg en los tratamientos hervidos. En las zanahorias locales y comerciales evaluadas no se obtuvo pérdida de Mg con el proceso de cocción probablemente debido a la mayor estabilidad de la estructura celular y molecular en las cuales se encuentra este microelementos en las zanahorias.

El contenido de magnesio en las zanahorias crudas evaluadas se ubicó dentro de los rangos reportados por otros autores para otras variedades de zanahorias. Warman y

Havard (1997) obtuvieron valores de 10,5 a 15,7 mg de Mg/100 g fresco, mientras Nicolle *et al.* (2004) reportaron 8,0 a 15,1 mg/100 g fresco.

4.1.6.3 Contenido de Cu total

El contenido de cobre total fue diferente ($P < 0,0001$) entre los materiales genéticos crudos. Las zanahorias locales “Becaria” y “Rodríguez” tuvieron el mayor contenido de cobre (0,19 y 0,17 mg/100g fresca), seguidos de “CRS” (0,10 mg/10g fresca) y “Brasilia” (0,09 mg/100g fresca) (Figura 10). En la evaluación de zanahorias cocidas, los materiales genéticos no se diferenciaron entre sí ($P \geq 0,4895$) con contenidos desde 0,04 a 0,06 mg/100 g fresco. Se observó que la cocción al vapor disminuyó significativamente ($P < 0,001$) y en un 50% el contenido de cobre total de las zanahorias cocidas (0,05 mg/100g fresco) respecto de las crudas (0,11 mg/100 g fresco).

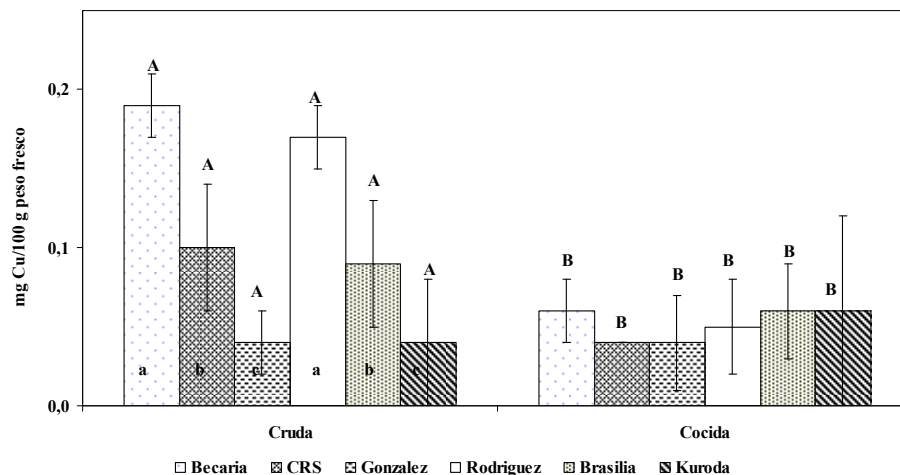


Figura 10: Contenido de Cu total (mg/ 100 g fresco) en seis materiales genéticos de zanahorias crudas y cocidas. Letras minúsculas diferentes en cada columna indican medias diferentes significativamente según un ANOVA de una vía y test de Tukey y Kramer ($P \leq 0,05$) para los materiales genéticos dentro de cada forma de preparación, crudo o cocido. Letras mayúsculas diferentes sobre cada columna indican medias diferentes significativamente según test de Student para muestras pareadas ($P \leq 0,05$) crudas y cocidas para cada material genético.

En la savia de las raíces, más del 98% del cobre está en forma de complejos con grupos pépticos y sulfhidrilos, y por tanto en muy poca cantidad libre en el citoplasma y en organelos celulares como Cu^{2+} y Cu^+ . Muchas de las funciones del cobre en las plantas es su participación como enzimas cúpricas en las reacciones redox (Marchener, 2006).

Warman y Havard (1997) obtuvieron valores de 0,62 a 0,84 mg Cu/100 g frescos en zanahorias evaluadas durante tres años en sistemas de producción convencional y orgánica. La temperatura y el tiempo de exposición a ésta, son factores que inhiben, cambian la función enzimática y destruyen las proteínas en las cuales está involucrado el cobre. Las modificaciones producidas por la cocción sobre las estructuras donde se encuentra el cobre pueden estar explicando la pérdida de este micro mineral en todas las zanahorias cocidas estudiadas. Similares resultados se obtuvieron en tres variedades de papa donde el cobre total se redujo al menos 50% luego de ser hervidas durante 10 min cuando las papas fueron previamente trituradas, y un 35% cuando fueron cortadas previamente en cubos (Bethke y Jansky, 2008). A su vez, Kawashima y Valente Soares (2005) en espinacas encontraron un 45% del Cu soluble, perdiéndose en el agua del proceso de blanqueado sólo un 9 a 14 % del Cu total.

4.1.6.4 Contenido de Zn total

Los materiales genéticos se diferenciaron en el contenido de zinc total tanto en la preparación cruda ($P \leq 0,0049$) como en la preparación cocida ($P < 0,0001$). Dentro de las zanahorias crudas, los cultivares “Kuroda” y Becaria con 1,03 y 1,00 mg Zn/ 100 g fresco fueron las zanahorias con más contenido de zinc total (Figura 11). En las zanahorias cocidas, “González” y “Brasilia” tuvieron el mayor contenido de Zn con 1,06 y 0,95 mg Zn/ 100 g fresco respectivamente, mientras que en la variedad comercial “Kuroda” se obtuvo el menor contenido de Zn (0,67 mg /100 g fresco). En el análisis factorial, se observó que la forma de preparación no tuvo efecto ($P \geq 0,1723$) en la cantidad de zinc total cuantificado en los materiales genéticos.

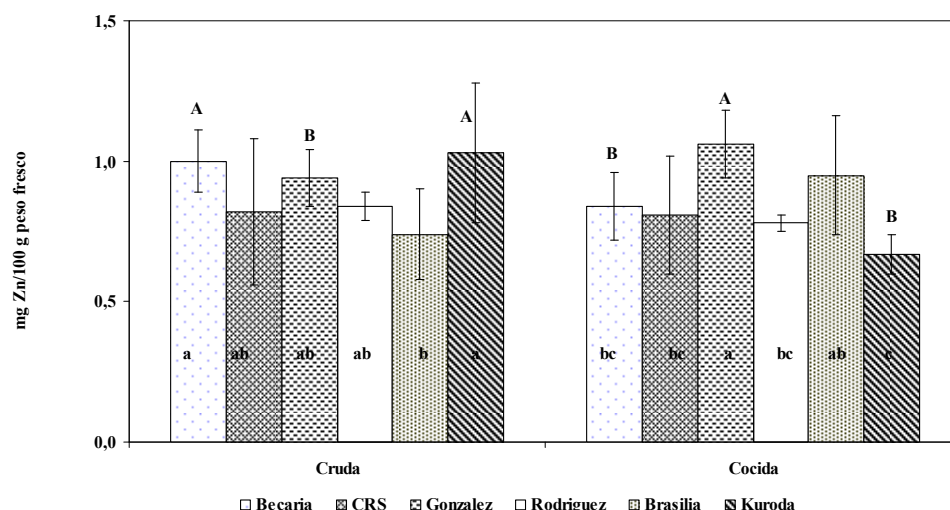


Figura 11: Contenido de Zn total (mg/ 100 g fresco) de seis materiales genéticos de zanahoria, cruda y cocida. Letras minúsculas diferentes en cada columna indican medias diferentes significativamente según un ANOVA de una vía y test de Tukey y Kramer ($P \leq 0,05$) para los materiales genéticos dentro de cada forma de preparación, crudo o cocido. Letras mayúsculas diferentes sobre cada columna indican medias diferentes significativamente según test de Student para muestras pareadas ($P \leq 0,05$) crudas y cocidas para cada material genético.

El contenido total de zinc en las zanahorias estudiadas, crudas y cocidas, fue superior a los obtenidos por Nicolle *et al.*, (2004) en 17 variedades de zanahorias crudas, que estuvieron en el rango de 0,18 a 0,39 mg de Zn/100g fresco. Scherz y Kirchhoff (2006) reportaron en trabajos realizados en varias regiones del mundo en zanahorias crudas un promedio de 0,27 mg Zn/100 g fresco con variación desde 0,31 a 0,56 mg Zn/100 g fresco. A su vez, estos mismos autores citaron en zonas contaminadas de Alemania contenidos de Zn en zanahorias de 0,43 mg Zn/100 g fresco.

En los vegetales, 60 a 85% de los compuestos a los cuales está unido el Zn son solubles en agua, y 80 a 90% de los iones de Zn se encuentran unidos en la fracción de moléculas de bajo peso molecular (Marchener, 2006). Kawashima y Valente Soares (2005) trabajando en espinaca de Nueva Zelandia (*Tetragonia expansa*) perdieron por lixiviación en el agua del proceso de blanqueamiento, 21%, 24% y 34% del Zn total, al aumentar el tiempo del proceso respectivamente 1min, 5 min y 15 min. Similar resultado probablemente sólo se manifestó en las zanahorias “Becaria” y “Kuroda”, que con el

proceso de cocción al vapor disminuyeron su contenido de Zn 16% y 35% respectivamente. Contrariamente, el material genético “González” aumentó con la cocción un 11% en contenido de Zn, lo que puede estar indicando en este cultivar la unión del Zn a compuestos no solubles en agua.

4.2 CARACTERIZACIÓN NUTRICIONAL DE LOS MATERIALES VEGETALES

4.2.1 Contenido de β -carotenos bioaccesibles

En las zanahorias pulpeadas y crudas la bioaccesibilidad de β -carotenos totales fue muy baja ($<0,50\%$ del contenido total). Los materiales genéticos difirieron entre sí ($P \leq 0,005$). En raíces crudas de las zanahorias locales “Rodríguez”, “Becaria” y del cultivar comercial “Brasilia”, se cuantificaron respectivamente valores de 0,38%, 0,21% y 0,36% de β -carotenos bioaccesibles (Figura 12). Sin embargo, la bioaccesibilidad de β -carotenos fue similar entre los materiales genéticos pulpeados cuando las zanahorias fueron cocidas al vapor ($P \geq 0,4206$) (Figura 12 A). En las zanahorias pulpeadas, la preparación por cocción al vapor permitió un aumento entre 4 y 10 veces respecto de la bioaccesibilidad “*in vitro*” de β -carotenos totales en las zanahorias crudas ($P \leq 0,0018$). En zanahorias homogeneizadas (Figura 12 B) la bioaccesibilidad de β -carotenos totales fue diferente entre los materiales genéticos estudiados crudos ($P \leq 0,0017$) y cocidos ($P \leq 0,0065$). Los materiales locales “CRS”, “Becaria” y “Rodríguez” homogeneizadas y crudas fueron los valores más altos de bioaccesibilidad de β -carotenos (3,79%, 3,66% y 3,58% respectivamente). En las zanahorias cocidas se destacaron “Becaria” (5,79%), “Rodríguez” (4,35%) y “González” (2,85%). En zanahorias homogeneizadas la forma de preparación no modificó la cantidad de β -carotenos bioaccesibles ($P \geq 0,8636$) siendo en crudas 2,31% y en cocidas 3,34% de β -carotenos bioaccesibles.

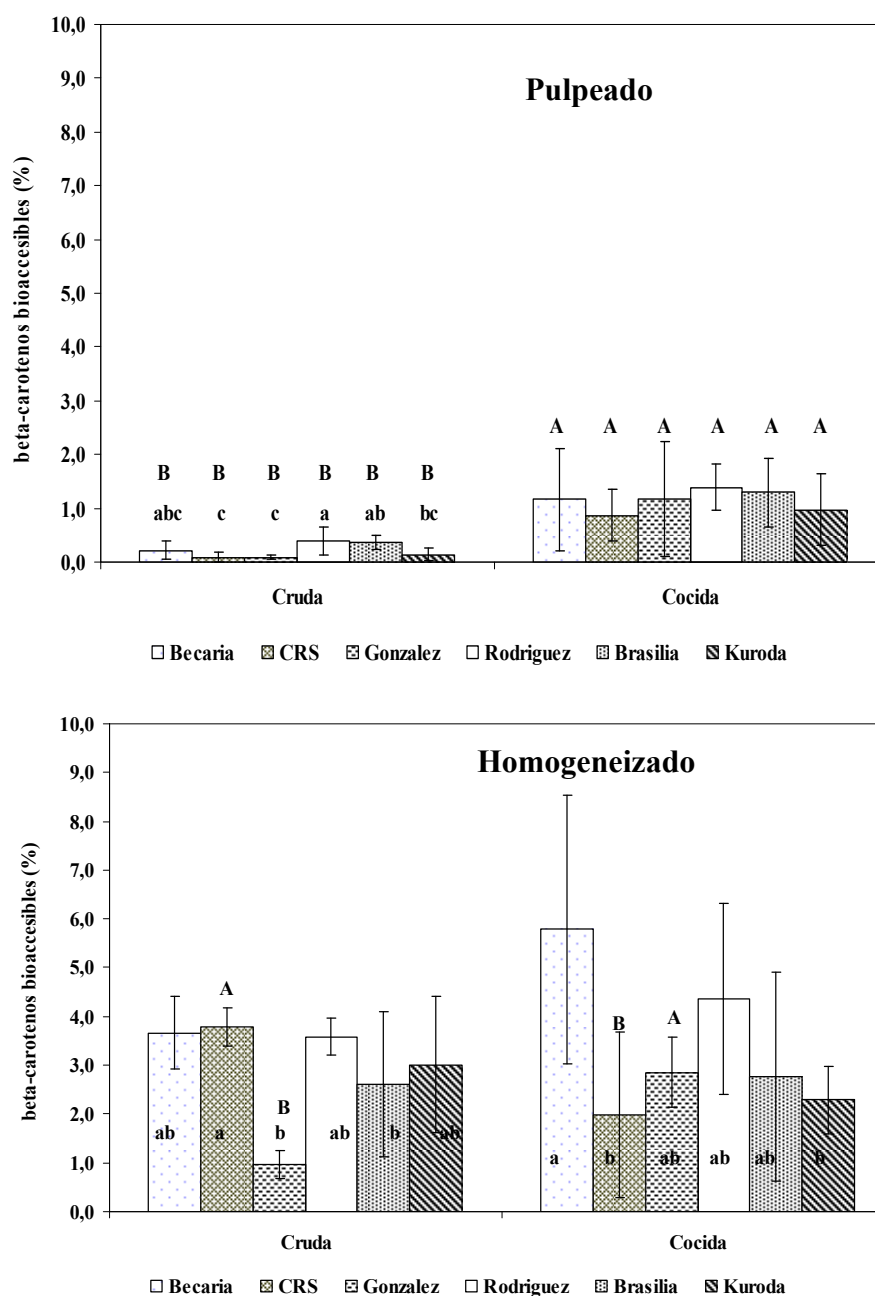


Figura 12: Bioaccesibilidad de β -carotenos (%) de seis materiales genéticos de zanahoria, crudas y cocidas y dos tamaños de partículas: (A) pulpeado (partículas de 3-8 mm), y (B) homogeneizado (partículas < 1 mm). Letras minúsculas diferentes en cada columna indican medias diferentes significativamente según un ANOVA de una vía y test de Tukey y Kramer ($P \leq 0,05$) para los materiales genéticos dentro de cada forma de preparación, crudo o cocido. Letras mayúsculas diferentes sobre cada columna indican medias diferentes significativamente según test de Student para muestras pareadas ($P \leq 0,05$) crudas y cocidas para cada material genético.

La bioaccesibilidad de β -carotenos totales fue significativamente modificada por el tamaño de partícula utilizado en la digestión ($P < 0,0001$). El incremento de la bioaccesibilidad de los β -carotenos por efecto del tamaño de partícula fue mayor para la forma cruda (16 veces) que para la preparación cocida (3 veces). En los materiales genéticos locales CRS y González se observó el cambio más importante en bioaccesibilidad de β -carotenos tanto por el tamaño de partícula como por la forma de preparación.

La bioaccesibilidad de los carotenos de los materiales vegetales es principalmente resultados de la rotura de las células que ocurre en la preparación, el tipo de procesamiento y la masticación del alimento (Zaripheh y Erdman, 2002; Zhang y Hamauzu, 2004). Las propiedades físicas de la matriz de los alimentos modifica la eficiencia física, enzimática y química de los procesos de digestión permitiendo liberar nutrientes potencialmente bioaccesibles. El tamaño reducido de las partículas de digestión tiene un efecto importante tanto para aumentar la extracción como para incrementar la biodisponibilidad de nutrientes en la digestión (Faulks y Shouton, 2005; Hornero-Méndez y Mínguez-Mosquera, 2007; Lemmens *et al.*, 2009). La biodisponibilidad de los β -carotenos en vegetales es 19% y 34% superior que en suplementos purificados (van het Hof, 2000). La cocción, el triturado y el agregado de aceite aumenta la bioaccesibilidad de los carotenos debido a los cambios físicos y bioquímicos que se producen en la pared celular, y al aumento de la micelarización, haciéndolos más accesibles a las enzimas de digestión (Huang y Bourne, 1983; Rao y Lund, 1986; Ilker y Szczesniak, 1990; Bolin y Huxsoll, 1991; Lebovka *et al.*, 2004). En este sentido, Veda *et al.* (2006) obtuvieron en zanahorias con 8,14 mg de β -carotenos/100 g fresco, mayor porcentaje de bioaccesibilidad de los β -carotenos posterior a la cocción por presión (24,5%) y sofreído (32,9%) respecto de las crudas (20,3%). El agregado de aceite (9% p/p) en la zanahorias sofreídas provocó un incremento del 63% de la bioaccesibilidad del caroteno. Hornero-Méndez y Mínguez-Mosquera (2007) hallaron, en zanahorias cv. “Nantesa”, mayor cantidad de β -carotenos transferidos en la digesta cruda (27%) que en la preparación hervida durante 15 min

(13%). Sin embargo el agregado de aceite de oliva en el proceso de digestión (5% y 10% p/p) tuvo un efecto positivo en la bioaccesibilidad de los β -carotenos en micelas, aumento en las zanahorias cocidas (65% y 80%) y en menor proporción en las crudas (35% y 65%). A su vez, Hedrén *et al.* (2002a) encontraron que la accesibilidad *in vitro* de los β -carotenos en zanahorias fue 39% luego de la cocción y con agregado de aceite (2% p/p). En similar trabajo realizado en vegetales crudos de hojas verdes y en zanahorias, la bioaccesibilidad de los β -carotenos fue de 18% y 21% respectivamente (Hedrén *et al.*, 2002 a y b). Rock *et al.* (1998) estudiando la biodisponibilidad de los β -carotenos totales en el plasma de mujeres que consumieron espinacas y zanahorias durante cuatro semanas, determinaron que la biodisponibilidad aumenta en promedio hasta tres veces cuando los vegetales son cocidos respecto de la preparación cruda.

Las zanahorias tienen un contenido comparativamente alto de fibra constituyendo ésta una barrera física y química del acceso enzimático a los β -carotenos. Esto puede estar explicando la baja bioaccesibilidad de los β -carotenos en zanahorias crudas evaluadas en este trabajo. A su vez, las diferencias observadas en la bioaccesibilidad de los β -carotenos entre los materiales genéticos estudiados, tanto crudos como cocidos, estarían evidenciando una composición diferente de las estructuras de la pared y de la membrana celular de las zanahorias para cada material genético. Por otro lado, los bajos porcentajes de bioaccesibilidad obtenidos en comparación con la literatura, pueden estar explicados en parte por que los protocolos de digestión *in vitro* utilizados por otros autores tienen pequeñas modificaciones que influyen en la bioaccesibilidad de los carotenos. Ha sido reportado en este sentido, el efecto de la matrix de estudio (Lemmens *et al.*, 2009), las formas de preparación de los alimentos (Hornero-Méndez y Mínguez-Mosquera., 2007), el agregado de aceite y el tamaño de la partícula de digestión (Hedrén *et al.*, 2002 a). Además, un mayor tiempo de digestión *in vitro* (digestión gástrica y/o intestinal), así como mayor agregado de bilis aumentaría el porcentaje de bioaccesibilidad de los carotenos (Garrett *et al.*, 1999; van het Hof *et al.*, 2000; Zaripheh y Erdamn, 2002; Blanquet-Diot *et al.*, 2009). Se debe considerar además que en los estudios de bioaccesibilidad se obtienen valores de comparación respecto de un testigo y

no valores absolutos (Stahl *et al.*, 2002; Parada y Aguilera, 2007; Failla *et al.*, 2008; Fernández-García, 2009).

4.2.2 Contenido de minerales bioaccesibles

4.2.2.1 Contenido de Ca bioaccesible

En zanahorias pulpeadas en mortero hasta obtener partículas de 3 a 8 mm, la bioaccesibilidad del Ca fue diferente entre los materiales genéticos dentro de cada forma de preparación (cruda $P \leq 0,0241$, cocida $P < 0,0001$). A su vez se observó el efecto de la forma de preparación ($P < 0,0001$) en la bioaccesibilidad del Ca. La bioaccesibilidad del Ca en las zanahorias crudas fue en promedio de 21% y en las zanahorias cocidas 62% (Figura 13). En la preparación cruda sólo se diferenciaron entre sí “Becaria” (23%) y “González” (15%). La zanahorias cocidas con menos del 50% del Ca bioaccesible fueron los cultivares “González” y “Kuroda”, mientras que en el resto de las zanahorias evaluadas se obtuvieron valores mayores de bioaccesibilidad (68% a 84%).

En las zanahorias homogeneizadas (partículas < 1 mm) no se encontraron diferencias en la bioaccesibilidad del Ca entre materiales genéticos crudos ($P \leq 0,4200$), y sí cuando se realizó cocción ($P < 0,0001$). Las zanahorias locales y “Brasilia”, homogeneizadas y cocidas, tienen 1,5 a 3 veces más bioaccesibilidad del Ca que la variedad comercial “Kuroda” (31%).

A su vez en las zanahorias homogeneizadas hubo también efecto de la forma de preparación ($P < 0,0001$) en la bioaccesibilidad del Ca con valor medio de 52% en las zanahorias crudas y de 76% en las cocidas.

La bioaccesibilidad del Ca se vio modificada con el tamaño de partícula ($P < 0,0001$). Se incrementó 1,5 veces en las zanahorias homogeneizadas respecto de las pulpeadas. Este incremento de la bioaccesibilidad del Ca, debido al tamaño de partícula de digestión, fue mayor en las zanahorias crudas (2,5 veces) que en las cocidas (1,2 veces).

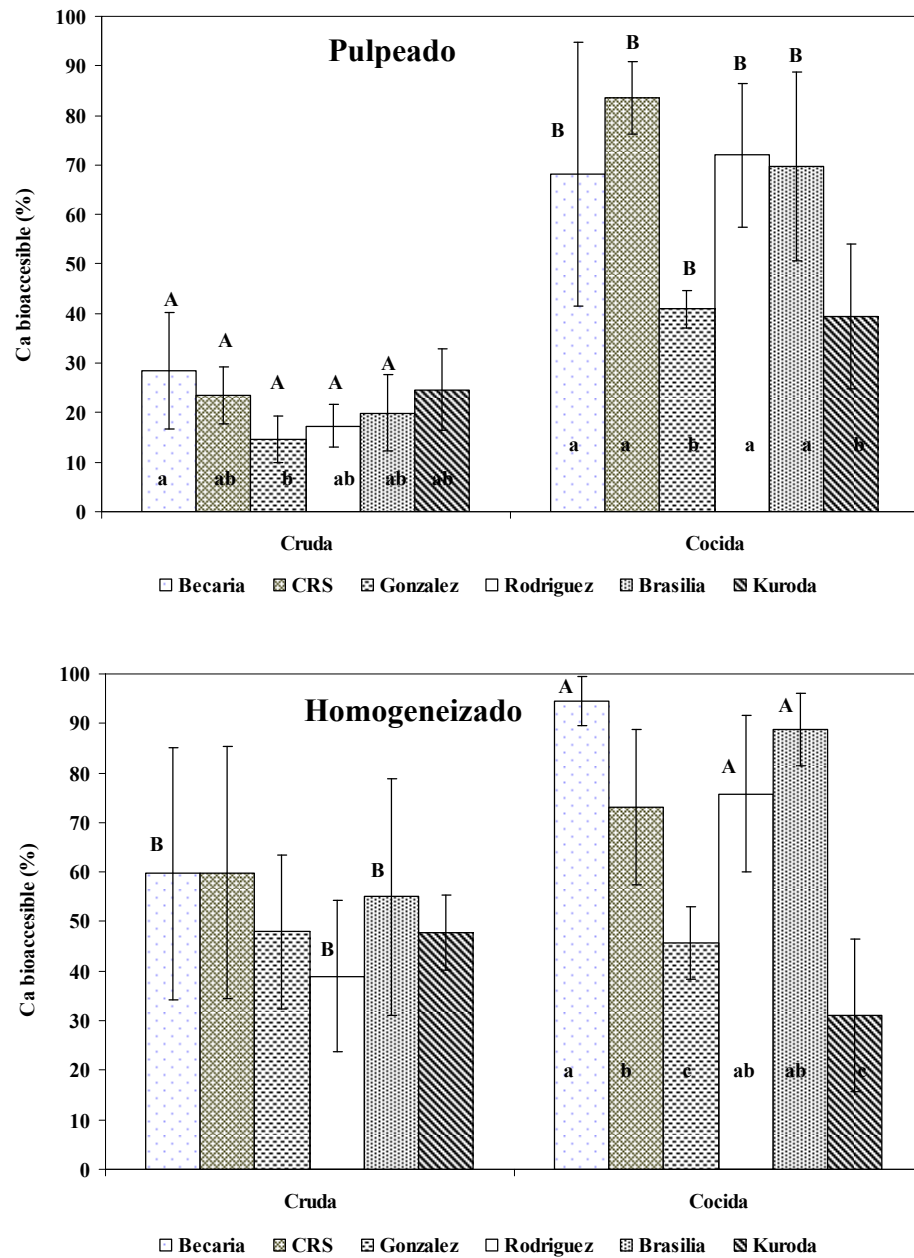


Figura 13: Bioaccesibilidad de calcio (%) en seis materiales genéticos de zanahoria, crudas y cocidas y dos tamaños de partículas: (A) pulpeado (partículas de 3-8 mm), y (B) homogeneizado (partículas < 1 mm). Letras minúsculas diferentes en cada columna indican medias diferentes significativamente según un ANOVA de una vía y test de Tukey y Kramer ($P \leq 0,05$) para los materiales genéticos dentro de cada forma de preparación, crudo o cocido. Letras mayúsculas diferentes sobre cada columna indican medias diferentes significativamente según test de Student para muestras pareadas ($P \leq 0,05$) crudas y cocidas para cada material genético.

Como ya fue mencionado en el ítem 4.1.6.1, el calcio en los tejidos vegetales se encuentra mayoritariamente inmovilizado en la pared celular en forma de pectatos de Ca en la laminilla media, y en menor cantidad en vacuolas (Marchener, 2006). La ruptura física de las células mediante el proceso de pulpeado y homogeneizado, y los cambios de los compuestos químicos que forman parte de la pared celular en consecuencia de la temperatura de cocción, contribuyen a aumentar la bioaccesibilidad del calcio.

Esta sinergia entre el tamaño de partícula y la cocción no fue de igual magnitud en todos los materiales genéticos, observándose que la variedad comercial “Kuroda” y en la población local “González” tuvieron menores incrementos del porcentaje de bioaccesibilidad del Ca comparados con los demás materiales genéticos. Probablemente la pared celular de estos cultivares tenga más retenido el Ca y/o mayor contenido de agentes naturales quelantes del Ca como los fitatos. Los fitatos son la forma de reserva de fósforo en las raíces y tubérculos de varios cultivos, en alcachofa y la alfalfa, que contienen de 15-23% del fósforo total en la forma de ácido fítico (Marchner, 2006). En otro sentido, si bien la acidez de las zanahorias es en general baja (pH 6 a 7), una bioaccesibilidad mayor en algunas cultivares de zanahoria puede ser explicado por las diferencias en contenido de ácidos orgánicos (malato, citrato, ascorbato), que podrían estar actuando como compuestos antiquelantes haciendo más disponible el Ca. A su vez, puede suponerse que en la etapa de simulación de la digestión gástrica (pH ácido) el calcio atrapado en los fitatos quedaría libre, pero al final de la simulación de la digestión intestinal (pH básico), el Ca puede ser nuevamente quelatado, retenido y en consecuencia integrar formas no bioaccesibles (Eklom *et al.*, 2003).

4.2.2.2 Contenido de Mg bioaccesible

En zanahorias pulpeadas la bioaccesibilidad de Mg fue diferente entre los materiales genéticos sólo en la forma de preparación cocida (cruda $P \geq 0,0526$, cocida $P \leq 0,0021$). La bioaccesibilidad del Mg en las zanahorias pulpeadas y crudas fue en promedio 56% y en las cocidas 61 % (Figura 14 A). Las zanahorias “CRS” y “Brasilia” luego del proceso de cocción fueron los que presentaron menor porcentaje de Mg bioaccesible (55% y 48% respectivamente). No se encontró efecto de proceso de preparación ($P \geq 0,1465$) en el contenido de Mg bioaccesible.

En zanahorias homogeneizadas (Figura 14 B) no se encontraron diferencias en la bioaccesibilidad de Mg entre los materiales genéticos dentro de cada forma de preparación (cruda $P \geq 0,0920$, cocida $P \geq 0,6525$). La bioaccesibilidad de Mg en las zanahorias homogeneizadas crudas fue 70% y en las cocidas 76%. Al igual que en las zanahorias pulpeadas, no se encontró efecto del proceso de la forma de preparación ($P \geq 0,1441$) en el contenido de Mg bioaccesible.

La bioaccesibilidad del Mg se modificó con el tamaño de partícula ($P < 0,0001$), incrementándose 1,3 veces en las zanahorias homogeneizadas (72%) respecto de las pulpeadas (56%).

La ubicación del Mg en un 85% en las vacuolas celulares, con un 60 a 90% extraíble en agua (Marchener, 2006), podría explicar la alta bioaccesibilidad de Mg obtenida en comparación con otros minerales. La reducción del tamaño de la partícula mediante la homogeneización permitió romper las células en mayor grado que el pulpeado, permitiendo una mayor bioaccesibilidad de Mg con el menor tamaño de partícula. A su vez, la cocción probablemente no tuvo un efecto relevante en la bioaccesibilidad del Mg debido a que solo un bajo porcentaje del Mg (10%) se encuentra unido a la pared celular y/o cloroplastos (Marchener, 2006). De igual forma que para el Ca, los fitatos probablemente presentes en las zanahorias pueden estar reteniendo parte del Mg y haciendo que no la totalidad de este macro mineral esté accesible luego del proceso de digestión estudiado.

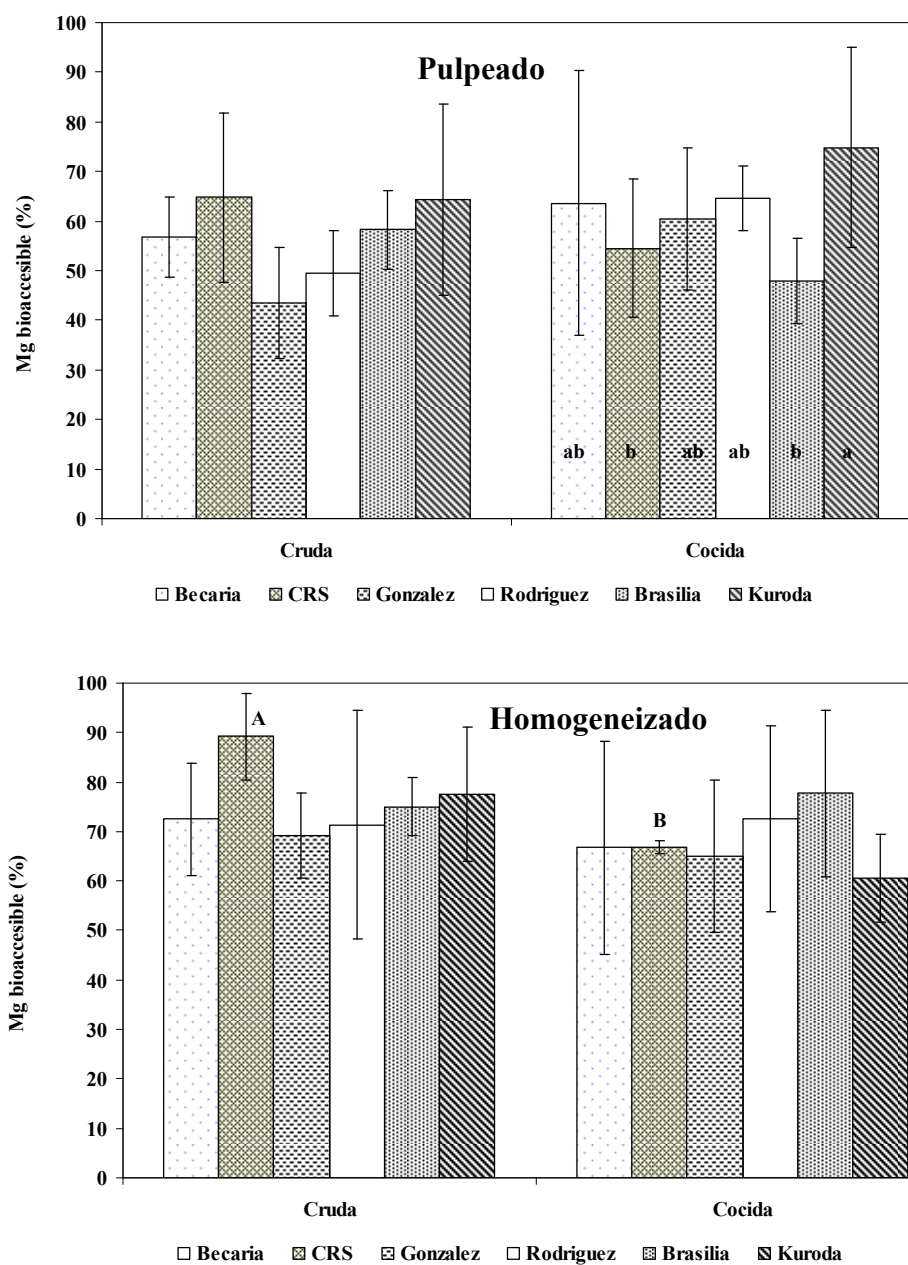


Figura 14: Bioaccesibilidad de magnesio (%) de seis materiales genéticos de zanahorias, crudas y cocidas y dos tamaños de partículas: (A) pulpeado (partículas de 3-8 mm), y (B) homogeneizado (partículas < 1 mm). Letras minúsculas diferentes en cada columna indican medias diferentes significativamente según un ANOVA de una vía y test de Tukey y Kramer ($P \leq 0,05$) para los materiales genéticos dentro de cada forma de preparación, crudo o cocido. Letras mayúsculas diferentes sobre cada columna indican medias diferentes significativamente según test de Student para muestras pareadas ($P \leq 0,05$) crudas y cocidas para cada material genético.

4.2.2.3 Contenido de Zn bioaccesible

En las zanahorias pulpeadas la bioaccesibilidad de Zn fue diferente entre los materiales genéticos sólo en la forma de preparación cocida (cruda $P \geq 0,1322$, cocida $P \leq 0,0039$). La bioaccesibilidad del Zn en las zanahorias pulpeadas y crudas fue en promedio 6,9% y en las cocidas 7,2 % (Figura 15 A). En las zanahorias pulpeadas crudas se destacó la variedad comercial “Kuroda” teniendo un 12,7% de Zn bioaccesible. No hubo efecto del proceso de preparación ($P \geq 0,7159$) en el contenido de Zn bioaccesible.

En las zanahorias homogeneizadas (Figura 15 B) no se encontraron diferencias en la bioaccesibilidad de Zn entre los materiales genéticos dentro de cada forma de preparación (cruda $P \geq 0,2194$, cocida $P \geq 0,0731$). La bioaccesibilidad de Zn en las zanahorias homogeneizadas crudas fue 15,1% y en las cocidas 18,9%. Al igual que en las zanahorias pulpeadas, no se encontró efecto del proceso de preparación ($P \geq 0,0050$) en el contenido de Zn bioaccesible.

La bioaccesibilidad del Zn se modificó con el tamaño de partícula ($P < 0,0001$) incrementándose 2,4 veces en las zanahorias homogeneizadas (17,0%) respecto de las pulpeadas (7,1%). El tamaño de partícula de digestión fue el factor que determinó diferencias más importantes en la bioaccesibilidad del Zn en las zanahorias estudiadas.

El Zn en los vegetales tiene función estructural y catalítica de procesos enzimáticos estando muy vinculado a la síntesis de proteínas, y formando parte de aminoácidos como la histidina, glutamina y la asparagina. Muchas enzimas dependientes de zinc están involucradas en el metabolismo de los carbohidratos y en la permeabilidad de la membrana citoplasmática. Se ha estudiado la localización y las formas de ligamiento del Zn en semillas y granos, pero no de igual forma para los demás órganos de las plantas (Marchener, 2006).

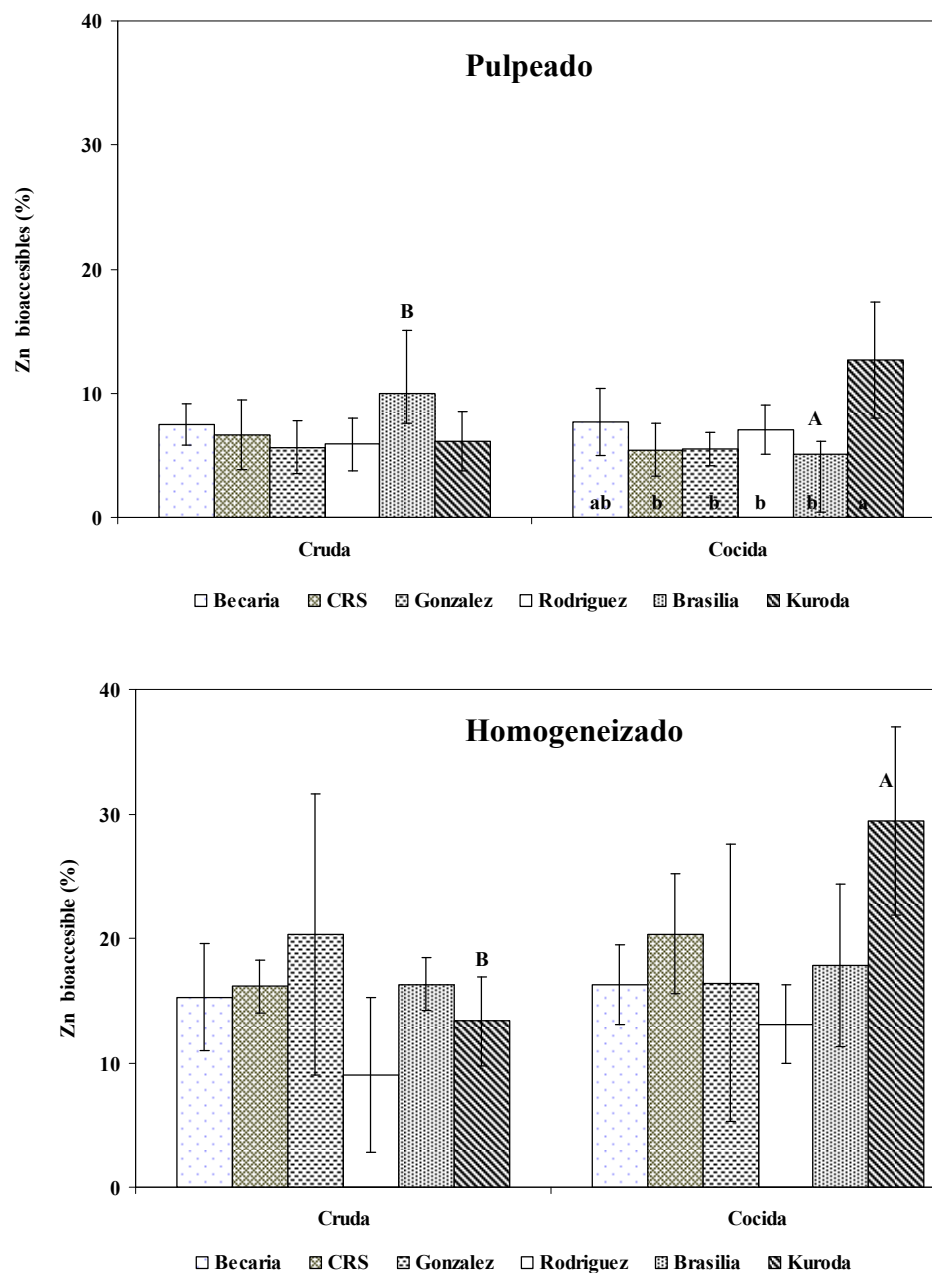


Figura 15: Bioaccesibilidad de zinc (%) de seis materiales genéticos de zanahoria, crudas y cocidas y dos tamaños de partículas: (A) pulpeado (partículas de 3-8 mm), y (B) homogeneizado (partículas < 1 mm). Letras minúsculas diferentes en cada columna indican medias diferentes significativamente según un ANOVA de una vía y test de Tukey y Kramer ($P \leq 0,05$) para los materiales genéticos dentro de cada forma de preparación, crudo o cocido. Letras mayúsculas diferentes sobre cada columna indican medias diferentes significativamente según test de Student para muestras pareadas ($P \leq 0,05$) crudas y cocidas para cada material genético.

Sahuquillo *et al.* (2003), en trabajos realizados en bioaccesibilidad de Zn, Fe y Ca, en poroto blanco, garbanzo y lentejas, encontraron que con similar contenido de Zn no necesariamente hay similar porcentaje de bioaccesibilidad de este micro mineral. A su vez, el aumento del tamaño de la muestra de digestión tuvo diferente magnitud en el incremento de la bioaccesibilidad del Zn. Esto podría estar relacionado a las diferencias de composición de las matrices de cada vegetal (May y Betts, 2000; Méndez *et al.*, 2005) particularmente diferencias en el contenido de ácidos fítico que tienen alta afinidad con el Zn, Ca y Mg. A su vez, Eklom *et al.* (2003) afirmaron que la complejización del Zn con el ácido fítico es mayor que con el Ca a pH 7,4, teniendo muy poco o ningún efecto en el incremento de la bioaccesibilidad del Zn la aplicación de antiquelantes como los ácidos cítrico y málico. Estos mismos autores mencionan que la complejización del metal con el ácido fítico depende del pH y de la presencia de otros metales. Esto podría explicar el menor porcentaje relativo de la bioaccesibilidad del Zn respecto de la bioaccesibilidad obtenida para el Ca y el Mg en nuestro trabajo.

5. CONCLUSIONES

Las zanahorias del cultivar comercial “Kuroda” presentaron mayor contenido de materia seca, sólidos solubles totales y contenido total de β -carotenos que los materiales genéticos locales y el cultivar comercial “Brasilia”.

La cocción al vapor redujo el tono anaranjado, el brillo y la saturación del color del floema y xilema de todos los materiales genéticos estudiados.

El contenido de β -carotenos de los materiales genéticos de zanahorias locales, crudas y cocidas fue similar al obtenido en el cultivar comercial “Brasilia”.

Los cultivares locales “Becaria”, “Rodríguez” y “González” son fuente interesante de β -carotenos y Zn debiéndose considerar la forma de preparación.

La cocción al vapor sólo determinó pérdida de β -carotenos en el cultivar “Rodríguez”, y aumentó los sólidos solubles totales en todas las zanahorias evaluadas a excepción del cultivar comercial “Brasilia”.

El tono anaranjado de las zanahorias y el contenido de β -carotenos totales presentó una correlación de 67 % en zanahorias crudas y de 75% en las zanahorias cocidas.

El contenido de magnesio fue mayor en los materiales genéticos locales, tanto crudas como cocidas.

La cocción al vapor determinó pérdida del contenido total de calcio y de cobre, y no modificó el contenido de magnesio y de zinc.

La bioaccesibilidad de β -carotenos en zanahorias crudas y pulpeadas fue muy baja (<0,5%), incrementándose con la cocción al vapor y con el tamaño de partícula homogenizado.

La cocción al vapor aumentó además la bioaccesibilidad del calcio en zanahorias pulpeadas y homogeneizadas, así como la bioaccesibilidad del zinc en zanahorias homogeneizadas, no teniendo efecto en la bioaccesibilidad del magnesio.

El menor tamaño de partícula de digestión, homogeneizado, incrementó la bioaccesibilidad del calcio del magnesio y del zinc.

El consumo de 100 g de zanahorias locales y de las variedades comerciales estudiadas, crudas o cocidas al vapor aportaría 75% al 100% del requerimiento diario de β -carotenos, y el 13% a 21 % del requerimiento diario de zinc de un niño.

Los resultados obtenidos en este trabajo son originales en el país, y permiten valorizar el aporte de la zanahoria en la dieta humana, y en particular, revalorizar los materiales genéticos locales en contenido de β -carotenos totales y contenido de macro y microminerales (calcio, magnesio, cobre y zinc). Asimismo, este trabajo ha permitido conocer el efecto de la cocción al vapor y la reducción del tamaño de partícula en los componentes nutricionales y en su bioaccesibilidad en las zanahorias consumidas en nuestro país. La información aquí generada puede aportar en el desarrollo de nuevos cultivares dentro de las líneas de trabajo de mejoramiento genético, así como valorar y mejorar el procesamiento de zanahorias locales en la industria de alimentos.

6. BIBLIOGRAFÍA

- Abott, J. A. 1999. Quality measurement of fruits and vegetables. *Postharvest Biology and Technology*. 15: 207–225.
- Aguilar, C. N.; Reyes, M. L.; de la Graza, H.; Contreras-Esquivel, J.C. 1999. Revisión. Aspectos bioquímicos de la relación entre el escaldado TB-TL y la textura de vegetales procesados. *Revista de la Sociedad Química de México*. 43 (2): 54-62.
- Alasalvar, C.; Grigor, J. M.; Zhang, D.; Quantick, P.C.; Shahidi, F. 2001. Comparison of volatiles, phenolics, sugars, antioxidant vitamins, and sensory quality of different colored carrot varieties. *Journal Agricultural Food Chemistry*. 49: 1410-1416.
- Almeida-Muradian, L.B.; Popp, V.; Farias, M.P. 1997. Provitamin A activity Brazilian carrots: leaves and roots, raw and cooked and their chemical composition. *Ciência e Tecnologia do Alimento*. 17(2): 120-124.
- Almeida-Muradian, L.B.; Venderline, D.W.; Sasaki, R. 2000. Provitamin A activity or raw and cooked Brazilian leaves. *Ciência e Tecnologia do Alimento*. 20 (2): 151-153.
- AOAC. 1990. Association of Official Analytical Chemists. *Official Methods of Analysis* (15th) ed. Arlington, VA. p 69.
- Asplund, K. 2002. Antioxidant vitamins in the prevention of cardiovascular disease: a systematic review. *Journal of Internal Medicine*. 252: 372-392.
- Astorg, P. 1997. Food Carotenoids and cancer prevention: an overview of current research. *Trends in Food Science and Technology*. 8: 406-413.
- Bao, B.; Chang, K.C. 1994. Carrot pulp chemical composition, color, and water-holding capacity as affected by blanching. *Journal of Food Science*. 59 (6): 1159–1161.
- Baranska, M.; Baranski, R.; Schultz, H.; Nothnagel, T. 2006. Tissue-specific accumulation of carotenoids in carrot roots. *Planta*. 224: 1028-1037.
- Barboza, R.; Pacheco, P.; Pérez, A. 2002. Relevamiento de precios mayoristas de frutas y hortalizas frescas. *Manual de procedimientos. Manual de referencias técnicas por producto*. Intendencia Municipal de Montevideo. Comisión Administradora

- del Mercado Modelo. Área producción y comercialización. Serie: Trabajos Técnicos. Noviembre de 2002. 64p.
(<http://www.mercadomodelo.net/trabajo/trabajo1.pdf>)
- Barrer-Lux ,J.M.; Heany, R.P. 1994. The role of calcium intake in preventing bone fragility, hypertension and certain cancers. *Journal of Nutrition*. 124: 1406S-1411S.
- Barry-Ryan, C.; O'Beirne, D. 1998. Quality and shelf-life of fresh-cut carrot slices as affected by slicing method. *Journal Food Science*. 63: 541-856.
- Ben-Amotz, A.; Fishler, R. 1998. Analysis of carotenoids with emphasis on 9-cis β -carotene in vegetables and fruits commonly consumed in Israel. *Food Chemistry*. 62:(4) 515-520.
- Bethke, P.C.; Jansky, S. H. 2008. The effects of boiling and leaching on the content of potassium and other minerals in potatoes. *Journal of Food Science*. 73 (5): H80-H85.
- Blanquet-Diot, S.; Soufi, M.; Rambeau, M.; Rock, E.; Alric, M. 2009. Digestive satability of xanthophylls exceeds taht of carotenes as studied in a dynamic in vitro gastrointestinal system. *The Journal of Nutrition. Nutrient Physiology, Metabolism and Nutrient-Nutrient Interactions*. 139 (5): 876-883.
- Bolin, H. R.; Huxsol, C.C. 1991. Control minimally processed carrot (*Daucus carota*) surface discoloration caused by abrasion peeling. *Journal of Food Science*. 56 (2): 416-418.
- Bolin, H.R. 1992. Retardation of surface lignification on fresh peeled carrots. *Journal of Food Processing and Preservation* 16: 99-103.
- Bradley, G., Rhodes, B. 1969. Carotens, xanthophylls and color in carrots varieties and lines as affected by growing temperatures. *Journal American Society of Horticultural Science*. 94:63-65.
- Bramley, P. 2003. The genetic enhancement of phytochemicals: the case of carotenoids. Chapter 13. *In* *Phytochemical Functional Foods*. Johnson, I.T.. (Editor). Cambridge., GBR: Woodhead Publishing, Limited. pg 253 - 179.

- Breithaupt, D. E. 2004. Simultaneous HPLC determination of carotenoids used as food coloring additives: applicability of accelerated solvent extraction. *Analytical, Nutritional and Clinical Methods. Food Chemistry*. 86: 449-456.
- Brummell, D.A.; Harpster, M.H. 2001. Cell wall metabolism in fruit softening and quality and its manipulation in transgenic plants. *Plant Molecular Biology*. 47: 311–340.
- Bryant, G.; Jordan, R. 2006. Effect of different cooking waters on calcium content of certain vegetables. *Journal of Food Science*. 13 (4): 308-314.
- Bush, D. R.; Sze, H. 1986. Calcium Transport in Tonoplast and Endoplasmic Reticulum Vesicles Isolated from Cultured Carrot Cells. *Plant Physiology*. 80:549-555.
- Cabrera, M.C.; Ramos, A.; Saadoun, A.; Britos, G. 2010. Selenium, copper, zinc, iron and manganese content of seven meat cuts from Hereford and Bradford steers fed pasture in Uruguay. *Meat Science*. 84: 518-528.
- Camara, F.; Amaro, M.A.; Barbera, R.; Clemente, G. 2005. Bioaccessibility of minerals in school meals: Comparison between dialysis and solubility methods. *Food Chemistry*. 92: 481–489.
- Carbone, F.; Mourgues, F.; Perrotta, G.; Rosati, C. 2008. Advances in functional research of antioxidants and organoleptic traits in berry crops. *BioFactors*. 34: 23–36.
- Chai, W.; Liebman, M. 2005. Effect of different cooking methods on vegetable oxalate content. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 53 (8): 3027–3030.
- Cisneros-Zevallos, L.; Salveit, M. E.; Krochta, J.M. 1995. Mechanism of surface white discoloration of peeled (minimally processed) carrots during storage. *Journal of Food Science*. 60 (2): 320-333.
- Clevidence, B.; Paetau, I.; Smith, C.JR. 2000. Bioavailability of carotenoids from vegetables. *HortScience* 35(4): 585-588.
- De Pee, S.; West, C. E. 1996. Dietary carotenoids and their role in combating vitamin A deficiency: a review of the literature. *European Journal of Clinical Nutrition*. 50 (3): S38-S53.

- Dietz, J. M.; Sachi, S.K.; Erdman, J. 1988. Reverses phase HPLC analysis of α - and β -carotene from selected raw and cooked vegetables. *Plant Food Human Nutrition*. 38:333-341.
- Eklom, P.; Virkki, L.; Ylien, M.; Johansson, L. 2003. The effect of phytic acid and some natural chelating agents on the solubility of mineral elements in oat bran. *Food Chemisrty*. 80: 165-170.
- Failla, M. L.; Huo, T.; Takkar, S. 2008. *In vitro* screening of relative bioaccessibility of carotenoids from foods. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*.17(S1): 200-2003.
- FAOSTAT-Agriculture. 2008. <http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx>. Extraído en Setiembre 2009.
- Faulks, R. M., Southon, S. 2005. Challenges to understanding and measuring carotenoid bioavailability. *Biochimica et Biophysica Acta*. 1740: 95-100.
- FBN/OIM. 2002. Food and Nutritional Board (FBN) - Institute of Medicine (IOM). Dietary reference intakes for Vitamin A, Vitamin K, Arsenic, Boron, Chromium, Copper, Iodine, Iron, Manganese, Molybdenum, Nickel, Silicon, Vanadium, and Zinc. NATIONAL ACADEMY PRESS 2101 Constitution Avenue, N.W. Washington,DC http://books.nap.edu/openbook.php?record_id=10026&page=R1 Julio 2009.
- Fernández-García, E.; Carvajal-Lérída, I.; Pérez-Gálvez, A. 2009. *In vitro* bioaccessibility assessment as a prediction tool of nutritional efficiency. *eNutrition Research*.29: 751-760
- Fraser, P.D.; Bramley, P.M. 2004. The biosynthesis and nutritional uses of carotenoids. Review. *Progress in Lipid Research* 43: 228–265.
- Galván, G.; González, H.; Vilaró, F. 2005. Estado actual de la investigación en poblaciones locales de hortalizas en Uruguay y su utilización en el mejoramiento. *Agrociencia* 9(1-2):115-122.

- Garrett, D. A.; Failla L. M.; Sarama, R. J. 1999. Development of an *in vitro* digestion method to assess carotenoid bioavailability from meals. *Journal Agricultural Food Chemistry*. 47 (10): 4301–4309.
- Georget, D.M.R.; Smith, A.C.; Waldron, K.W.. 2002. Dynamic mechanical thermal analysis of cell wall polysaccharides extracted from lyophilised carrot *Dacus carota*. *Carbohydrate Polymers*. 48: 277-286.
- Georget, D.M.R.; Smith, A.C.; Waldron, K.W. 1998. The thermomechanical properties of carrot cell wall material. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 78: 73-80.
- Godoy, H.T.; Rodríguez-Amaya, D.B. 1998. Occurrence of cis-isomers of provitamins A in Brazilian vegetables. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 46: 3081–3086.
- Goodman, V. L.; Brewer, G. J.; Merajver, S. D. 2004. Copper deficiency as an anti-cancer strategy. *Endocrine-Related Cancer*. 11: 255–263.
- Granado, F.; Olmedilla, B.; Blanco, I.; Rojas-Hidalgo, E. 1992. Carotenoid composition in raw and cooked Spanish vegetables. *Journal Agricultural Food Chemistry*. 40:2135-2140.
- Hallfrisch, J.; Veillon, C.; Patterson, K.; Hill, A.; Benn, I.; Holiday, B.; Burns, R.; Zhonnie, S.; Price, F.; Sorenson, A. 2000. Bone related mineral content of water samples collected on the Navajo reservation. *Toxicology*. 149: 143-148.
- Hart, D. J.; Scott, K.J. 1995. Development and evaluation of an HPLC method for analysis of carotenoids in foods, and the measurement of carotenoid content of vegetables and fruits commonly consumed in the UK. *Food Chemistry* 54:101-111.
- Hedén, E.; Díaz, V.; Svanberg, U. 2002a. Estimation of carotenoid accessibility from carrots determined by an *in vitro* digestion method. *European Journal of Clinical Nutrition*. 56:425 - 430.

- Hedrén, E.; Mulkozi, G.; Svanberg, U. 2002b. In vitro accessibility of carotenes from green leafy vegetables cooked with sunflower oil or red palm oil. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*. 53 (6): 445–453.
- Heinonen, M. I. 1990. Carotenoids and Provitamin A activity of carrot (*Daucus carota* L.) cultivars. *Journal Agricultural Food Chemistry*. 38: 609-612.
- Hornero-Méndez, D.; Mínguez-Mosquera, M.I. 2007. Bioaccessibility of carotenes from carrots: Effect of cooking and addition of oil. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*. 8: 407-412.
- Howard, L.R.; Braswell, D.D; Asewlage J. 1996. Chemical composition and color of strained carrots as affected by processing. *Journal of Food Science*. 61 (2): 327-330.
- Huang, Y.T.; Bourne, M.C. 1983. Kinetics of thermal softening of vegetables. *Journal of Texture Studies*. 14:1-9.
- IFIS. 2005. International Food Information Service. *Dictionary of Food Science and Technology*. Blackwell Publishing Ltd. Oxford. 471 p.
- Ilker, R.; Szczesniak, A. S. 1990. Structural and chemical bases for texture of plant foodstuffs. Review paper. *Journal of Texture Studies*. 21:1-36.
- INE. 2008. Encuesta Nacional de Gastos e Ingresos de los Hogares 2005-2006. Los alimentos y bebidas en los hogares. Instituto Nacional de Estadística. Montevideo. Uruguay. 103 p.
- Infostat, 2004. Infostat, versión 2007p. Grupo InfoStat, FCA. Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. 318 p.
- Iyaka, Y. A. 2007. Concentration of Cu and Zn in some fruits and vegetables commonly available in north-central zone of Nigeria. *Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry*. EJEAFChe. http://ejeafche.uvigo.es/component/option,com_docman/task,doc_view/gid,276/ Extraído en Mayo 2009.

- Jiménez, M.E.; Zambrano, M.L.; Aguilar, M. R. 2004. Estabilidad de pigmentos en frutas sometidas a tratamiento con energía de microondas información tecnológica. 15 (3): 61-66.
- Jorhem, L. 2000. Determination of metals in foods by atomic absorption spectrometry after dry ashing; NMKL collaborative study. Journal of AOAC international. 83(5): 1204-1211.
- JUNAGRA/DIEA/DGSA/CAMM. 2007. El Observatorio Granjero. Calidad de la oferta de zanahoria. Diciembre 2007. 3p. <http://www.mercadomodelo.net/observatorio/zanahor.pdf> Extraído en junio 2008.
- Kader, A. 2003. A perspective on postharvest horticulture (1978–2003). Hortscience. 38 (5): 1004-1008.
- Kalichevsky, M.; Jaroszkiewicz, E.; Ablett, S.; Blanshard, J.; Lillford, P. 1992. The glass transition of amilopectin measured by DSC, DMTA and NMR. Carbohydrate Polymers. 18:77-88.
- Kawashima, L. M.; Valente Soares, L. M. 2005. Efeito do tempo de branqueamento na extração seletiva de elementos minerais do substituto de espinafre (*Tetragonia expansa*) comumente empregado no Brasil. Ciência e Tecnologia de Alimentos 25 (3): 419-424.
- Khachick, F.; Goli, M. B.; Beecher, G. R.; Holden, J.; Lusby, W. R.; Tenorio, M. D.; Barrera, M. R.. 1992. Effect of Food Preparation on Qualitative and Quantitative Distribution of Major Carotenoid Constituents of Tomatoes and Several Green Vegetables. J. Agric. Food Chem. 40:390-398.
- Kiokias, S.; Gordon, M. H. 2004. Antioxidant properties of carotenoids In Vitro and In Vivo. Foods Reviews International Vol:20 N°2 pp 99 – 121.
- Klaiber, R.G.; Baur, S.; Wolf, G.; Hammes, W.P.; Carle, R. 2005. Quality minimally processed carrots as affected by water washing and chlorination. Innovative Food Science and Emerging Technologies. 6:351-362.

- Klein, B. P.; Kurilich, A.C. 2000. Processing effects on dietary antioxidants from plant foods. *HortScience* 35 (4):580-584.
- Koca, N.; Karadeniz, F. 2008. Changes of bioactive compound and anti-oxidant activity during cold storage of carrots. *International Journal of Food Science and Technology*. 43: 2019-2025.
- Kopass-Lane, L. M.; Warthesen, J.J. 1995. Carotenoid photostability in raw spinach and carrots during cold storage. *Journal of Food Science*. 60 (4): 773-776.
- Kopsell D.A., Kopsell D. E. 2006. Review. Accumulation and bioavailability of dietary carotenoid in vegetable crops. *Trends in Plant Science*. 11(10): 499- 507.
- Krinsky, N. I.; Johnson, E.J. 2005. Carotenoid actions and their relation to health and disease. *Molecular Aspects of Medicine*. 26: 459-516.
- Lebovka, N.I., Praporscic, I.; Vorobiev, E. 2004. Effect of moderate thermal and pulsed electric field treatments on textural properties of carrots, potatoes and apples. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*. 5: 9-16.
- Lemmens, L.; Van Buggenhout, S.; Oey, I.; Van Loey, A., Hendrickx, M. 2009. Towards a better understanding of the relationship between the β -carotene in vitro bio-accessibility and pectin structural changes: A case study on carrots. *Food Research International*. 42: 1323-1330.
- MacDougall, D.B. 2002. Colour measurement of food: principles and practice. In: Colour in food. Improving quality. Ed. By D.B. Mac Dougall. CRS Press,LLC. USA. 378 p
- Ma, J.; Betts, N. 2000. Zinc and copper intakes and their major food source for older adults in the 1994-96 continuing survey of food intakes by individuals (CSFII). *Journal of Nutrition*. 130: 2838-2843.
- Marchener, H. 2006. Mineral nutrition of higher plants. 2nd. ed. London : Academic Press. 889 p.
- Martínez, G. A.; Civello, P. M. 2008. Effect of heat treatments on gene expression and enzyme activities associated to cell wall degradation in strawberry fruit. *Postharvest Biology and Technology*. 49: 38–45.

- Martínez-Valverde, I.; María Jesús Periago, M.J.; Ros, G. 2000. Significado nutricional de los compuestos fenólicos de la dieta. Archivos Latinoamericanos de Nutrición. 50 (1):5-18.
- MeléndezMartínez, A. J.; Britton, G.; Vicario, I. M.; Heredia, F. J. 2007. Relationship between the colour and the chemical structure of carotenoid pigments. Food Chemistry. 1001: 1147-1150.
- Meléndez-Martínez, A. J.; Vicario, I. M.; Heredia, F. J. 2004 a. Importancia nutricional de los pigmentos carotenoides. Archivos Latinoamericanos de Nutrición. 54 (2): 149-155.
- Meléndez-Martínez, A. J.; Vicario, I. M.; Heredia, F. J. 2004 b. Estabilidad de los pigmentos carotenoides en los alimentos. Archivos Latinoamericanos de Nutrición. 54 (2): 209-215. ISSN 0004-0622.
- Méndez, R. O.; Bueno, K.; Campos, N.; López, D.; Wyatt, J.; Ortega, M. I. 2005. Contenido total y disponibilidad *in vitro* de hierro y zinc en alimentos de mayor consumo en Sonora y Oaxaca, México. Archivos Latinoamericanos de Nutrición. 55 (2):187-193.
- MGAP/DIEA/DIGEGR. Ministerio de Agricultura y Pesca/Dirección de Estadística Agropecuaria/Dirección General de la Granja. 2010. Encuestas Hortícolas 2009. Zonas Sur y Litoral Norte. Serie Encuestas N° 290. Junio, 2010. Montevideo. Uruguay. 30p.
- Miller, G.D.; Weaver, C.N. 1994. Required versus Optimal Intakes: A Look at Calcium. Symposium: Required versus Optimal Intakes: A Look at Calcium. Journal of Nutrition. 124: 1404S-1405S.
- Mirza, S.; Morton, I. D. 1977. Effect of different types of blanching on the colour of sliced carrots. Journal of the Science of Food and Agriculture. 28 (11): 1035-1039.
- Nicolle, C.; Simon, G.; Rock, E.; Amouroux, P.; Rémésy, C. 2004. Genetic variability influences carotenoid, vitamin, phenolic, and mineral content in white, yellow,

- purple, orange, and dark-orange carrot cultivars. *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 129: 523 - 529.
- Niizu, P.; Rodríguez-Amaya, D. B. 2005. New data on the carotenoid composition of raw salad vegetables. *Journal of Food Composition and Analysis*. 18: 739-749.
- Nishida, C.; Uauy, R.; Kumanyika, S.; Shetty, P. 2004. The Joint WHO/FAO Expert Consultation on diet, nutrition and the prevention of chronic diseases: process, product and policy implications. *Public Health Nutrition*: 7(1A), 245–250.
- Olives Barba, A.; Camara Hurtado, M.; Sanchez Marta, M.; Ruiz, F.; Lopez Saenz de Tejada, M. 2006. Application of a UV-vis detection –HPLC method for a rapid determination of lycopene and β -carotene in vegetables. *Food Chemistry*. 95: 328-336.
- Olson, J.A. 1989a. Biological actions of carotenoids. *Journal of Nutrition*. 119: 94 - 95.
- Olson, J.A. 1989b. 1989b. Provitamin A function of carotenoids: The conversion of β -carotene into Vitamin A. *Journal of Nutrition*. 119: 105-108.
- O'Neill, M.; Carroll, Y.; Coridan, B.; Olmedilla, B.; Granado, F.; Blanco, I.; Van der Berg, H.; Hininger, I.; Rousell, A.; Chopra, M.; Smit, S.; Thurnham, D. 2001. An European carotenoid database to assess carotenoid intakes and its use in a five country comparative study. *British Journal Nutrition*. 85 (4): 499-507.
- Parada, J.; Aguilera, J. M. 2007. Food microstructure affects the bioavailability of several nutrients. *Journal of Food Science*. 72(2), R21–R32.
- Paterson, W. J.; Hughes, J.S.; Payne, L.F. 1939. The carotenoids pigments. Occurrences, properties, Methods of determination and metabolism by the hen. *Technical Bulletin 46. Agricultural Experimental Station. Kansas State College of Agriculture and Applied Science. Manhattan, Kansas*. 66 pg.
- Patras, A.; Tiwari, B. K.; Brunton, N.P.; Butler, F. 2009. Modelling the effect of different sterilisation treatments on antioxidant activity and colour of carrot slices during storage. *Food Chemistry*. 114: 484–491.
- Pilon, L.; Oetterer, M.; Gallo, C.R.; Spoto, M.H.F. 2006. Vida útil de cenoura e pimentão minimamente processados. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*. 26(1): 150-158.

- Poovaiah, B.W., 1986. Role of calcium in prolonging the storage life of fruits and vegetables. *Food Technology*. 40: 86–89.
- Prior, R.; Guohua, C. 2000. Antioxidant phytochemicals in fruits and vegetables: diet and health implications. *HortScience*. 35 (4): 588-592.
- Rachetti, M. 2006. Colecta, caracterización y evaluación agronómica de poblaciones locales de zanahoria (*Daucus carota* L.) cultivadas en el sur de Uruguay. Tesis de Grado. Facultad de Agronomía. Universidad de la República. Montevideo. Uruguay. 80p.
- Ragaert, P.; Devlieghere, F.; Debevere, J. 2007. Role of microbiological and physiological spoilage mechanisms during storage of minimally processed vegetables. *Postharvest Biology and Technology* 44: 185–194.
- Ramos, A 2007. Variación estacional, solubilidad potencial, ruminal e intestinal de macro y micro minerales de la alfalfa (*Medicago sativa* L.). Estudio *in vitro* e *in situ*. Tesis de Maestría en Ciencias Biológicas. Facultad de Ciencias. Montevideo. Uruguay. 84p.
- Ramos, A; Cabrera, M.C.; del Puerto, M.; Saadoun, A. 2009. Minerals, haem and non-haem iron contents of rhea meat. *Meat Science* 81:116-119.
- Rao, M. A.; Lund, D. B. 1986. Kinetics of thermal softening of foods – a review. *Journal of Food Processing and Preservation*. 10: 311-329.
- Rayssiguier, Y, 2004. Les mineraus. Le magnesium revisité. pg. 111-121. En Produits végétaux, micronutriments et santé. Cahiers de Nutrition preventive. Volume 1. INRA, CRNH., Université d'été de Nutrition. 239 p.
- Riedl, J.; Linseisen, J.; Hoffman, J.; Wolfram, G. 1999. Some dietary fibers reduce the absorption of carotenoids in women. *Journal of Nutrition*. 129: 2170-2176.
- Rock, C.L.; Lovalvo, J. L.; Emenhiser, G.; Ruffin, M.T.; Flatt, S.W., Schartz, S.J. 1998. Bioavailability of β -carotene is low in raw than in processed carrots and spinach in women. *Journal of Nutrition*. 128: 913-916.

- Rodríguez-Amaya, D. B. 1999a. Carotenoides y Preparación de Alimentos: La retención de los carotenoides, provitamina A en alimentos preparados, procesados y almacenados. OMNI .USAID. JSI. 99 pg.
- Rodríguez-Amaya, D. 1999b. Changes in carotenoids during processing and storage of foods. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*. 49: (1-S):38-47.
- Rodríguez-Amaya, D.B.; Kimura, M.; Godoy, H.T.; Amaya-Farfan, J. 2008. Updated Brazilian database on food carotenoids: Factors affecting carotenoid composition. *Critical Review. Journal of Food Composition and Analysis*. 21: 445-463.
- Rodríguez-Bernaldo de Queirós; Costa, H.S. 2006. Analysis of carotenoids in vegetable and plasma samples: A review. *Study Review. Journal of Food Composition and Analysis*. 19: 97-111.
- Rolle, R.S.; Chism, G.W. 1987. Physiological consequences of minimally processes fruits and vegetables. *Journal Food Quality*. 10: 157-177.
- Rosado, J. L. 1998. Zinc deficiency and its functional implications. *Salud Pública Mexicana*. 40:181-191.
- Rubatzky, V. E.; Quiros, C. F.; Simon, P. W. 1999. Carrots and related vegetable Umbelliferae. CABI Publishing. 297p.
- Sahuquillo A., Barberá R., Farré R. 2003. Bioaccessibility of calcium, iron and zinc from three legume samples. *Nahrung*. 47(6): 438-441.
- Salveit, M. 1997. Physical and physiological changes in minimally processes fruits vegetables: En: *Phytochemistry of fruit and vegetables*. Tomás-Barbearán, F.A. University Press, Oxford 205-220.
- Sánchez, A.; Flores-Cotera, L. B.; Langley, E.; Martín, R.; Maldonado, G.; Sánchez, G. 1999. Carotenoides: Estructura, función; biosíntesis, regulación, y aplicaciones. *Revista Latinoamericana de Microbiología*. 41: 175-191
- Scherz, H.; Kirchhoff, E. 2006. Trace elements in foods: Zinc contents of raw foods—A comparison of data originating from different geographical regions of the world. *Critical Review. Journal of Food Composition and Analysis*. 19: 420–433.

- Simon, P.W.; Lindsay, R.C. 1983. Effect processing upon objective and sensory variables of carrots. *Journal of American Society of Horticultural Science*. 108: 923-931.
- Simon, P.W.; Wolff, X.Y. 1987. Carotenes in typical and dark orange carrots. *Journal Agricultural Food Chemistry*. 35: 1017-1022.
- Soujara, T. 2000. Variation in sugar content and composition of carrot storage roots at harvest and during storage. *Scientia Horticulturae*. 85:1-19.
- Southon, S.; Faulks, R. 2003. Carotenoids in food: bioavailability and functional benefits. Chapter 7. In *Phytochemical Functional Foods*. Johnson, I.T.. (Editor). Cambridge., GBR: Woodhead Publishing, Limited. pg 117-127.
- Stahl, W.; Sies, H. 1999. Carotenoids: Occurrence, Biochemical Activities and Bioavailability. Chapter 13. En *Antioxidant Food Supplements in Human Health*. Edited by: Lester Packer, Midori Hiramatsu and Toshikazu Yoshikawa ISBN: 978-0-12-543590-1 Academic Press. pg 183-202.
- Stahl, W.; van den Berg, H.; Arthur, J.; Bast, A.; Dainty, J.; Faulks, R. M., Gärtner, M.; Haenen, G., Hollman, P., Holst, B.; Kelly, J. F.; Polidori, M.C.; Catherine Rice-Evans, C.; Southon, S.; van Vliet, T.; Viña-Ribes, J.; Williamson, G.; Astley, S. B. 2002. Bioavailability and metabolism. *Molecular Aspects of Medicine*. 23(1–3), 39–100.
- Sulaeman, A; Giraud, D.w.; Keeler, L.; Taylor, S.L.; Driskell, J.A. 2004. Effect of moisture content of carrot slices on the fat content, carotenoid content, and sensory characteristics of deep-fried carrot chips. *Journal of Food Science*. 69 (6): C450-C455.
- Surles, R.; Weng, N.; Simon, P.W.; Tanumihardjo, S.A. 2004. Profiles and Consumer Sensory Evaluation of Specialty Carrots (*Daucus carota* L.) of Various Colors. *Journal Agricultural Food Chemistry*. 52: 3417-3421.
- Swefelt, R.L.; Rosario B.A. 2000. The role of lipid peroxidation in storage disorders of fresh fruits and vegetables. *HortScience* 35(4) 375-379

- Szpylka, J., DeVries, J.W. 2005. Determination of Carotene in Supplements and Raw Materials by Reversed-Phase High Pressure Liquid Chromatography: Collaborative Study. *Journal of AOAC International*. 88 (5):1279-1291.
- Temple, N. J. 2000. Antioxidants and disease: more questions than answers. *Nutritional Research*. 20(3): 449-459
- Tourjee, K. R.; Barret, D.; Romero, M.; Gradziel, T. 1998. Measuring fresh color variability among processing Clignstones peach genotypes differing in carotenoid composition. *Journal of American Society from Horticultural Science*. 123 (3): 433-437.
- Tsukakoshi, Y.; Naito, S.; Nobuaki Ishida, n.; Yasui, A. 2009. Variation in moisture, total sugar, and carotene content of Japanese carrots: Use in sample size determination. *Journal of Food Composition and Analysis* 22: 373–380.
- Turkmen, N.; Sari, F.; Velioglu, S. 2005. The effect of cooking methods on total phenolics and antioxidant activity of selected green vegetables. *Food Chemistry*. 93: 713-718.
- Uquiche-Carrasco, E.; Cisneros-Zevallos, L. 2002. Efecto del escaldado y recubrimiento higroscópico sobre la calidad de zanahorias (*Daucus carota* var. Chantenay) precortadas durante el almacenamiento. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*. 52 (2): 187-192.
- van het Hof, K. H.; West, C.E.; Weststrate, J.A., Hautvast, J.G.A.J. 2000. Dietary factors that affect the bioavailability of Carotenoids. *Journal of Nutrition*. 130: 503-506.
- Veda, S.; Kamath, A.; Platel, K.; Begum, K.; Srinivasan, K. 2006. Determination of bioaccessibility of β -carotene in vegetables by *in vitro* methods. *Molecular Nutrition and Food Research*. Vol 50 (11): 1047-1052.
- Voss, D.H. 1992. Relating colorimeter measurement of plant color to the Royal Horticultural Society Color Chart. *HortScience*. 27 (12):1256-1260.
- Wargovich, M.J. 2000. Anticancer properties of fruits and vegetables. *HortScience* 35 (4):573-575.

- Warman, P R.; Havard, K. A. 1997. Yield, vitamin and mineral contents of organically and conventionally grown carrots and cabbage. *Agricultural Ecosystems & Environment*. 61: 155-162.
- WHO/FAO. 2003. Diet, Nutrition and the Prevention of Chronic Diseases. Report of a Joint WHO/FAO Expert Consultation. WHO Technical Report Series 916, Geneva. World Health Organization /Food and Agriculture Organization of the United Nations. 150p.
- Zaripheh, S.; Erdman, J.W. Jr. 2002. Factors that influence the bioavailability of xanthophylls. *Journal Nutrition*. 132: 531S-534S.
- Zhang, D.; Hamauzu, Y. 2004. Phenolics, ascorbic acid, carotenoids and antioxidant activity of broccoli and their changes during conventional and microwave cooking. *Food Chemistry*. 88: 503–509.
- Ziegler, R.G. 1989. A review of epidemiologic evidence that carotenoids reduce the risk of cancer. *Journal of Nutrition*. 119: 116-122.

7. ANEXO

Artículo para enviar a la revista Agrociencia.

Caracterización por color, contenido y bioaccesibilidad *in vitro* de β -carotenos de las zanahorias locales y comerciales producidas en Uruguay.

Zaccari, F. ¹; Cabrera, C. ²; Ramos, A. ² y Las, R. ².

1 Grupo Disciplinario Poscosecha. Departamento de Producción Vegetal.

2 Nutrición y Calidad de Alimentos. Departamento de Producción Animal.

Universidad de la República. Facultad de Agronomía.

Av. Garzón. 780. CP 12900. Montevideo, Uruguay.

Correo electrónico: fzaccari@fagro.edu.uy

Título abreviado: Color, contenido y bioaccesibilidad de β -carotenos de zanahorias.

Resumen

La caracterización de las variedades de zanahorias tradicionalmente se ha realizado en base al color, forma de la raíz, y otros atributos de interés comercial evaluados visualmente. Los componentes nutricionales han sido menos estudiados y son considerados actualmente necesarios y de importancia para la salud del consumidor. El objetivo de este trabajo fue caracterizar las zanahorias producidas y comercializadas en Uruguay, incluyendo materiales genéticos locales (“Becaria”, “CRS”, “González” y “Rodríguez”) y cultivares comerciales (“Kuroda” y “Brasilia”), por color (L^* , hue, Croma) y contenido total de β -carotenos en zanahorias crudas y cocidas al vapor. Se determinó además la bioaccesibilidad *in vitro* de los β -carotenos para cada material genético y el efecto del tamaño de partícula (pulpeado: 3-8 mm; y homogeneizado: < 1 mm). Los materiales genéticos “Rodríguez” y “González” crudos tuvieron 6,0 y 6,1 mg de β -carotenos /100g peso fresco respectivamente y “Kuroda” 7,9. En las zanahorias cocidas, “CRS” y “Brasilia” aumentó 29% y 75% los β -carotenos extraídos. La cocción disminuyó el tono anaranjado de las zanahorias, el brillo y la saturación del color. La bioaccesibilidad de β -carotenos de las zanahorias crudas y pulpeadas fue muy baja (<0,5%), incrementándose 4 a 10 veces con la cocción al vapor. Las zanahorias pulpeadas tuvieron bioaccesibilidad 16 veces mayor que las homogeneizadas cuando crudas y 3 veces en las cocidas. Una ingesta de 100g de zanahorias crudas o cocidas, aportaría los requerimientos diarios de β -carotenos para un niño.

Palabras clave: zanahoria, caroteno, cocción, tamaño de partícula, bioaccesibilidad.

Summary

Color characterization, content and bioaccessibility *in vitro* of β -carotene from landraces and commercial carrots produced in Uruguay.

The characterization of varieties of carrots has been usually made on the basis of color, root shape and other attributes of commercial interest visually evaluated. Nutritional components were less evaluated, and are currently considered necessary and relevant to consumer health. The aims of this study were to characterize carrot landraces (“Becaria”, “CRS”, “González”, “Rodríguez”) and cultivars (“Kuroda” and “Brasilia”) in color (L^* , hue, Chrome), total content of β -carotene and its bioaccessibility in raw and steamed roots, and the effect of two particle sizes (pulped: 3-8 mm; and homogenized: < 1 mm) on the bioaccessibility of this nutrient. Raw roots of “Rodríguez” and “González” had 6.0 y 6.1 mg/100g fresh weight and “Kuroda” 7.9. Raw carrots of “CRS” and “Brasilia” rose 29% and 75% extracted β -carotene. β -carotene bioaccessibility in raw pulped carrots were very low (<0,5%), increasing with steaming 4 to 10 times. Small particle size had bioaccessibility 16 times higher than large particle size for raw carrots, and 3 times for steaming. This research showed that an intake of 100g of raw or cooked carrots would provide the daily requirement of β -carotene for a child.

Index words: carrot, carotene, cooking, particle size, bioaccessibility.

Introducción

El consumo de zanahorias en Uruguay es de 7,2 kg/habitante/año, mayoritariamente como oferta de raíz anaranjada entera y fresca (INE, 2008). Los cultivares de zanahorias locales integran alrededor del 10% de las zanahorias que se comercializan en nuestro país, a la vez que los cultivares e híbridos tipo “Kuroda”, de producción nacional o importadas, han sustituido parcialmente la oferta de materiales locales (Galván *et al.*, 2005). Las zanahorias locales han sido desplazadas debido a deficiencias en su calidad comercial, fundamentalmente el color amarillo-verde del xilema o núcleo central de la raíz. Las *zanahorias del país* denominadas comúnmente también como *zanahorias criollas*, se originaron a partir de materiales genéticos introducidos que fueron cultivados y seleccionados por varios años por los productores locales. Esta práctica ha permitido obtener semillas adaptadas a condiciones locales del ambiente y manejo, dando origen a las *poblaciones locales* (Galván, *et al.*, 2005; Rachetti, 2006). Es de interés el rescate y mejoramiento de los materiales genéticos locales por su rendimiento y rusticidad. Se adaptan a las siembras de verano tolerando las altas temperaturas, con un enfoque productivo en los sistemas de producción del tipo familiar (Galván *et al.*, 2005; Rachetti, 2006). Introducir el estudio de atributos nutricionales de las zanahorias locales es un aporte al conocimiento de la calidad de las zanahorias consumidas en el país como alimento. A la vez, podría ser una herramienta de valorización de los materiales genéticos locales y potenciar su utilización en el mejoramiento genético nacional.

La zanahoria, al igual que otras frutas y hortalizas, desempeña un papel muy importante en el equilibrio de la dieta humana, especialmente por su composición en vitaminas, minerales y otros compuestos fitoquímicos. Se caracteriza además por ser pobre en grasa y rica en fibra dietética. El interés por el valor nutritivo de las frutas y hortalizas se ha visto estimulado por la prevalencia de diversas enfermedades degenerativas que a nivel mundial se han incrementado. El aumento de enfermedades cardiovasculares, obesidad, diabetes, anemia, ceguera, presión arterial, y varios tipos de cáncer se han atribuido al consumo de dietas con baja o nula incorporación de frutas y hortalizas (Nishida *et al.*, 2004). La recomendación de requerimientos diario de β -carotenos para una mujer mayor a 19 años es de 8 mg/día, 11 mg/día para un hombre mayor a 19 años, y 5 mg/día para un niño entre 4 a 8 años (FNB/IOM, 2002).

Estudios de calidad nutricional de la zanahoria mostraron que tiene alto contenido de β -carotenos (Fraser y Bramley, 2004; Failla *et al.*, 2008), que estos pueden variar con factores físicos y ambientales (Rock *et al.*, 1998), y que además tienen un alto contenido de antioxidantes (Nicolle *et al.*, 2004). En general se ha relacionado un color anaranjado fuerte con alto contenido de carotenoides destacándose α y β carotenos (Simon y Wolff, 1987; Bradley y Rhodes, 1969). Los α y β carotenos son precursores de la vitamina A, tienen reconocida acción como antioxidantes, y como los minerales son esenciales porque actúan en el mantenimiento de la salud humana (Warman y Havard, 1997; Rodríguez-Amaya, 1999; Stahl y Sies, 1999; Kiokias y Gordon 2004; Krinsky y Johnson, 2005).

La presencia de un nutriente en un alimento no asegura la totalidad de su biodisponibilidad. La biodisponibilidad se define como la fracción de un nutriente ingerido que llega al cuerpo para su utilización en las funciones fisiológicas o para su almacenamiento. Hay estudios que confirman que el proceso de cocción altera significativamente la composición física y química y la funcionalidad de compuestos nutricionales (Zhang y Hamauzu, 2004). Fraser y Bramley (2004) cita que al menos nueve factores influyen en la biodisponibilidad de los carotenoides: la especie de carotenoides, las uniones moleculares, la cantidad que se consume en una comida, la matriz del alimento, modificadores de la absorción (grasas y pectinas), estado nutricional del huésped, factores genéticos, factores relacionados con el huésped y las interacciones. Los objetivos de este trabajo fueron caracterizar materiales genéticos locales (“Becaria”, “CRS”, “González” y “Rodríguez”) y cultivares comerciales (“Kuroda” y “Brasilia”) de zanahoria en el contenido total de β -carotenos con dos formas de preparación (crudas y cocidas al vapor), evaluar el efecto del tamaño de partícula en la bioaccesibilidad de dichos nutrientes, y determinar si existe correlación entre el color de las zanahorias y el contenido de β -carotenos.

Materiales y métodos

Material vegetal

Los materiales genéticos de zanahorias evaluados fueron las poblaciones locales “Becaria”, “González”, “Rodríguez”, “CRS”, y los cultivares comerciales “Brasilia-RL” (Sakata, Brasil) y “Kuroda” (Olhsens Enke, Dinamarca). La clasificación de los

materiales genéticos, en población local o cultivar comercial, se realizó de acuerdo a IFIS (2005). La población “CRS” es una selección masal realizada desde 2003 en el Centro Regional Sur de la Facultad de Agronomía (Progreso, Canelones) a partir de una población local de un productor (Medina). Las raíces fueron cosechadas en un estudio comparativo de materiales genéticos de zanahorias sembrados en marzo y cosechados en agosto, en el Centro Regional Sur (CRS) de la Facultad de Agronomía. Las raíces fueron lavadas manualmente para eliminar la tierra adherida, clasificadas y seleccionadas libres de defecto de acuerdo a Barboza *et al.* (2002). Se acondicionaron en cámara de frío (0 °C y 95% de HR) hasta realizar los análisis correspondientes en fresco.

Preparación de las muestras

Fueron seleccionadas en cada material genético 30 zanahorias sin defectos visibles, y se agruparon en tres grupos de 10 raíces por repetición. En cada zanahoria se realizaron cuatro cortes en la zona central longitudinal de la raíz obteniéndose tres cilindros de 8 a 10 mm de espesor. Inmediatamente después del corte se determinó el color. A su vez, enseguida del corte y la cocción se guardaron las muestras crudas y cocidas en freezer (-20 °C) en espera de las determinaciones de las variables químicas y nutricionales. La cocción se realizó inmediatamente después del corte en una vaporera doméstica exponiéndose al vapor por 20 min. La temperatura de las zanahorias cocidas fue de 45 a 50 °C medida con un termómetro de pulpa digital (Yidu, China), escala -50 a 125 ± 0,1 °C. La consistencia de los cilindros cocidos al vapor fue similar a la consistencia “al dente”.

Determinación del color

El color fue medido por colorimetría, mediante el sistema CIE-L*a*b* utilizando un colorímetro (Minolta CR-10, Japón), D65, 10°, 8 mm apertura. Se determinaron las variables L^* (Luminosidad, 0 = negro a 100 = blanco), a^* (-a = verde, a = rojo) verde y b^* (-b = amarillo, b = azul). Se calculó la saturación del color (Croma) y el tono (ángulo hue) con las siguientes ecuaciones: $\text{Croma} = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$ y $\text{ángulo hue} = \arctan(b^*/a^*)$. El color externo y el color interno de las zanahorias crudas y cocidas se midieron, por duplicado, sobre la zona central y longitudinal, en el xilema y floema, en 10 raíces para cada repetición. Con el objetivo de establecer una relación entre el contenido total de carotenos, en el xilema y floema confundidos, y el tono del color de la zanahoria, se promedió el tono del xilema y del floema como si éstos representaran el color de una mezcla de xilema y floema en forma de puré.

Determinación del contenido de β -carotenos totales

La extracción y cuantificación de β -carotenos totales fueron realizadas en el Laboratorio de Calidad de Alimentos de la Facultad de Agronomía de acuerdo a Szpylka y De Vries (2005) con modificaciones. Se utilizó como solución de extracción tetrahidrofurano (Mallinckrodt Baker, USA), y metanol (Mallinckrodt Baker, USA). Se cuantificó la cantidad de β -carotenos por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC, Spectral Series P100, Thermo Separations Products, EUA), utilizando el estándar de β -caroteno tipo II (Sigma-Aldrich, 95%), una columna C30 YMCTMCarotenoid S-5; 4,6 μm x 250

mm (Waters, EUA), termostatzada a 30 °C. La fase móvil consistió en etanol (J.T.Baker, México), metanol y tetrahidrofurano (Mallinckrodt Baker, USA), todos ellos calidad HPLC, en una mezcla 75:20:5 v/v/v utilizando un flujo de 1 ml/min y una alícuota de la solución de extracción de 20 µl. La detección se realizó utilizando un detector de absorbancia UV-visible (UV-2000 SpectralSytem®, EUA), a una longitud de onda de 450 nm. Todas las extracciones fueron filtradas mediante filtros de 0,45 µm (Millex®-LCR, 25 mm de diámetro) previo a la inyección en el HPLC. Los resultados se expresaron en mg de β-carotenos /100 g peso frescos.

Determinación “in vitro” de la bioaccesibilidad

Las muestras de zanahorias crudas y cocidas congeladas fueron dejadas a temperatura ambiente durante 15 minutos previo a la digestión *in vitro*. Se sometieron a dos procedimientos que tuvieron como objetivo final obtener dos tamaños de partículas. Se redujo el tamaño mediante un mortero y pilón de vidrio simulando la masticación humana obteniendo un pulpeado (tamaño de partícula de 3 a 8 mm), y se realizó homogenización con batidora doméstica (Licuomaxir, TurboVarimix Fagor B455M) en la función turbo durante 10 s lo cual permitió obtener un puré (tamaño de partícula <1 mm). Inmediatamente al pulpeado u homogeneizado se realizó la digestión *in vitro* de acuerdo a Hedrén *et al.* (2002) con modificaciones. La extracción de β-carotenos del líquido de digestión se realizó de acuerdo a Hedrén *et al.* (2002) con modificaciones, utilizando etanol (J.T.Baker, México) y hexano (Mallinckrodt Baker, USA), estabilizado con butil hidroxitolueno 0,1% p/v. El proceso se reiteró hasta que la fase acuosa fue

incolora. La cuantificación de β -carotenos totales en el líquido de digestión se realizó como en el ítem de determinación de β -carotenos. Para el cálculo de β -carotenos bioaccesibles se procedió de la siguiente forma:

$$\% \beta\text{-carotenos bioaccesibles} = \frac{\text{mg } \beta\text{-carotenos en la digesta}}{\text{mg } \beta\text{-carotenos inicial}} \times 100$$

Diseño experimental

El diseño experimental fue completamente al azar, con un arreglo factorial de seis materiales genéticos de zanahorias, dos forma de preparación (cruda y cocida) y dos tamaños de partículas (pulpeado y homogenizado), con tres repeticiones por tratamiento. Los datos de color fueron analizados mediante un análisis de varianza (ANOVA) de dos factores comprendiendo material genético y preparación (cruda y cocida), seguido de una comparación de medias por el test de Tukey ($P \leq 0,05$). Además se utilizó un ANOVA de una vía, seguido de la comparación de medias por el test Tukey-Kramer ($P \leq 0,05$) para comparar entre materiales genéticos para el material crudo o cocido. Dentro de cada material genético se comparó el efecto de la preparación mediante el test de Student pareado ($P \leq 0,05$). Se realizó un análisis de la relación entre la variable tono promedio y el contenido de β -carotenos totales de las zanahorias crudas y cocidas, mediante el cálculo de coeficiente de correlación de Pearson ($P < 0,05$).

Los datos de β -carotenos totales y β -carotenos bioaccesibles fueron analizados por un ANOVA de tres factores comprendiendo tamaño de partícula, material genético y

preparación ($P \leq 0,05$), seguido de una comparación de medias por el test de Tukey ($P \leq 0,05$). Además se utilizó un ANOVA de una vía y la comparación de medias por el test Tukey-Kramer ($P \leq 0,05$) entre materiales genéticos para material crudo o cocido. Dentro de cada material genético se comparó el efecto de la preparación mediante el test de Student pareado ($P \leq 0,05$). Los análisis estadísticos fueron procesados en el programa InfoStat (2004)/Versión 2007p.

Resultados y discusión

Color de las zanahorias

La luminosidad en las zanahorias es una variable de calidad apreciada por el consumidor siendo un indicador de frescura y de mínimo tiempo de preparación del alimento (Simon y Lindsay, 1983; Patras *et al.*, 2009). Las zanahorias crudas presentaron diferencias estadísticas entre los materiales genéticos ($P < 0,0008$) para la variable luminosidad medida en el floema, siendo más luminosos los floemas de las zanahorias locales (Cuadro 1). Sin embargo, estas diferencias no se observaron en la luminosidad del floema cuando las zanahorias fueron cocidas ($P \geq 0,3379$). A su vez, la luminosidad del xilema en las zanahorias crudas fue similar entre los materiales genéticos estudiados ($P \geq 0,3649$), mientras que en las zanahorias cocidas el xilema o cilindro central de “Kuroda” fue menos brillante que el xilema de “Rodríguez” ($P < 0,0082$).

El tono de color, expresado como ángulo hue, toma valores desde 0° a 360° , correspondiendo en el círculo 45° al color anaranjado, 90° amarillo, 180° verde y 270° azul (Voss, 1992). El tono que caracteriza el color anaranjado de las zanahorias es

generado por la concentración y distribución de carotenos en el floema y xilema (Paterson *et al.*, 1939; Barabska *et al.*, 2006). Los materiales genéticos estudiados se diferenciaron por el tono del floema ($P < 0,0001$) y del xilema ($P < 0,0001$) (Cuadro 1). Las raíces crudas de zanahorias locales y del cultivar comercial “Brasilia”, tuvieron tonos más anaranjados en el floema (corteza) que el xilema o cilindro central (71° a 78° hue), coincidiendo con los resultados obtenidos en poblaciones locales por Rachetti (2006). A su vez en la variedad comercial “Kuroda” se registró tono más anaranjado que el resto de las zanahorias, siendo muy similar el tono del floema y del xilema. En las zanahorias cocidas se obtuvo similar resultado (Cuadro 1). El proceso de cocción al vapor incrementó el valor del ángulo hue, indicando una reducción del tono anaranjado presente en las zanahorias lo que podría estar evidenciando destrucción de carotenos y/o producción de nuevos metabolitos que determinan modificaciones en el tono. Sin embargo, como se discutirá más adelante, la cantidad de carotenos extraídos en las zanahorias luego del proceso de cocción fue mayor respecto de las muestras crudas. Esto sugiere que el cambio de tono en las zanahorias estudiadas estaría explicado por la degradación por oxidación de carotenos localizados superficialmente (Cisneros-Zevallos *et al.*, 1995; Uquiche-Carrasco y Cisneros-Zevallos, 2002) y/o el incremento de otros metabolitos, como compuestos fenólicos producidos en los tejidos superficiales de las

Cuadro 1. Luminosidad (L*), tono (° hue) y saturación (Croma) del floema y del xilema en seis materiales genéticos de zanahorias

Material genético	Floema					
	Cruda L*	Cocida L*	Cruda °hue	Cocida °hue	Cruda Croma	Cocida Croma
<i>Poblaciones locales</i>						
Becaria	56,9 ± 0,5 aA	50,0 ± 1,4 A	65,8 ± 0,8 abA	71,5 ± 1,6 abB	47,3 ± 0,8 abA	43,7 ± 1,4 aB
CRS	55,8 ± 0,7 abA	50,3 ± 0,9 A	65,4 ± 0,5 bA	70,2 ± 0,7 bB	46,8 ± 0,8 bA	40,8 ± 1,2 aB
Gonzalez	54,7 ± 0,4 abcA	50,8 ± 3,3 B	65,7 ± 1,0 abA	68,8 ± 1,0 bB	43,8 ± 0,8 cdA	42,8 ± 1,9 aB
Rodríguez	55,2 ± 0,8 abA	50,6 ± 0,6 B	66,2 ± 1,2 abA	70,0 ± 1,0 bA	45,5 ± 1,3 bcA	41,1 ± 0,6 aB
<i>Cultivares comerciales</i>						
Brasilia	53,6 ± 1,6 bcA	50,3 ± 0,6 B	67,8 ± 0,3 aA	74,1 ± 1,0 aB	41,7 ± 0,5 dA	38,2 ± 0,9 bB
Kuroda	52,6 ± 0,8 cA	48,0 ± 0,9 B	58,7 ± 0,6 cA	61,2 ± 1,6 cA	49,2 ± 0,6 aA	41,7 ± 1,7 aB
<i>Xilema</i>						
<i>Poblaciones locales</i>						
Becaria	51,3 ± 2,3 A	49,2 ± 1,4 abA	72,3 ± 1,9 bB	81,0 ± 1,5 aA	36,2 ± 4,1 bA	35,8 ± 3,0 bA
CRS	52,1 ± 1,1 A	49,7 ± 0,9 abA	73,6 ± 0,6 abB	82,3 ± 1,1 aA	35,5 ± 0,8 bA	33,8 ± 0,2 cbA
Gonzalez	49,3 ± 2,0 A	49,6 ± 0,5 abA	70,9 ± 2,1 bB	78,8 ± 3,2 aA	35,2 ± 1,3 bA	33,6 ± 0,9 cbA
Rodríguez	54,0 ± 2,0 A	50,7 ± 1,4 aA	78,0 ± 2,0 aA	83,8 ± 2,0 aA	38,0 ± 1,0 bA	35,1 ± 2,4 cbA
<i>Cultivares comerciales</i>						
Brasilia	59,4 ± 2,5 A	48,4 ± 0,5 abA	73,8 ± 1,9 abB	80,0 ± 4,5 aA	34,7 ± 2,1 bA	30,2 ± 1,2 cB
Kuroda	51,8 ± 1,0 A	48,0 ± 0,4 bB	60,3 ± 0,4 c A	65,7 ± 2,9 bA	44,1 ± 1,6 aA	40,0 ± 1,2 aA

Medias ± DEM. Letras minúsculas diferentes indican medias diferentes significativamente según un ANOVA de una vía y test de Tukey y Kramer ($P \leq 0,05$) para los materiales genéticos dentro de cada forma de preparación (crudo o cocido). Letras mayúsculas diferentes indican medias diferentes significativamente según test de Student para muestras pareadas ($P \leq 0,05$) crudas y cocidas para cada material genético.

zanahorias estudiadas (Patras *et al.*, 2009). Las coloraciones amarillas o marfiles pueden ser debidas a la presencia de flavonoles, flavonas, calconas, flavononas e isoflavononas. Se ha observado que muchos de estos compuestos carecen de color en estado natural pero pueden convertirse en compuestos coloreados bajo determinadas condiciones durante la manipulación y el procesado de los vegetales (Martínez-Valverde *et al.*, 2000; Patras *et al.*, 2009).

La variable saturación del color, expresada mediante el cálculo de Croma, indica la intensidad que tiene el tono del color tomando valor desde menos saturado (0) a más saturado (60). En las zanahorias crudas estudiadas, tanto en el floema como en el xilema se observaron diferencias en la saturación del color ($P < 0,0001$ y $P \leq 0,0013$). El floema con mayor saturación fue el del cultivar “Kuroda” seguido de “Becaria”, “CRS” y “Rodríguez”, mientras que en el xilema la mayor saturación del color se midió en “Kuroda” (Cuadro 1). A su vez se observaron valores menores de saturación en el xilema que en el floema. Este resultado probablemente es debido a que la concentración de carotenos están mayoritariamente en el floema (Baranska *et al.*, 2006) y a que los materiales locales y “Brasilia” tuvieron además el xilema de color menos anaranjados con tonalidades amarillas (Galván *et al.*, 2005; Rachetti, 2006). La cocción tuvo un efecto muy significativo ($P < 0,0001$) en la reducción del valor Croma (Cuadro 1). Similar resultado ha sido reportado en zanahorias escaldadas y procesadas a 121 °C durante 3 y 15 minutos (Pratas *et al.*, 2009), y en brócoli (Zhang y Hamauzu, 2004) debido probablemente al proceso de oxidación no enzimático, a la lignificación y a la deshidratación superficial de las zanahorias durante la preparación.

A su vez estos autores adujeron que los procesos térmicos producen alteraciones físicas, bioquímicas, en composición y en la fisiología, jugando un papel fundamental en el comportamiento no uniforme de los compuestos fenólicos que se liberan más simplemente.

Contenido de β -carotenos totales

El contenido total de β -carotenos totales fue diferente ($P < 0,0001$) entre los materiales genéticos tanto crudos como cocidos y entre estas dos formas de preparación ($P \leq 0,007$), observándose interacción entre ambos factores ($P < 0,0001$) (Figura 1). Los materiales genéticos crudos con mayor contenido de β -carotenos totales fueron “Kuroda” (7,9 mg/100 g peso fresco), seguidos de las zanahorias locales “González” (6,1) y “Rodríguez” (6,0). Los resultados obtenidos en los cultivares comerciales crudos fueron superiores a la cantidad obtenida por Almeida-Muradian et al. (1997) para “Brasilia” (2,1 mg/100 g fresco); y por Nicolle et al. (2004) para “New “Kuroda” (3,6 mg/100 g fresco). Luego de la cocción por vapor, las zanahorias con mayor contenido de β -carotenos totales fueron los cultivares comerciales “Kuroda” (7,8 mg) y “Brasilia” (6,6), seguido de la zanahoria local “González” (6,0).

El proceso de cocción produjo una respuesta diferente en cada material genético sobre la cantidad de β -carotenos totales cuantificados (Figura 1). El contenido de β -carotenos totales no se modificó con la cocción en “Becaria”, “González” y “Kuroda”, sin embargo disminuyó un 23% en la zanahoria local “Rodríguez” y aumentó 29% y 75% en los cultivares “CRS” y “Brasilia”.

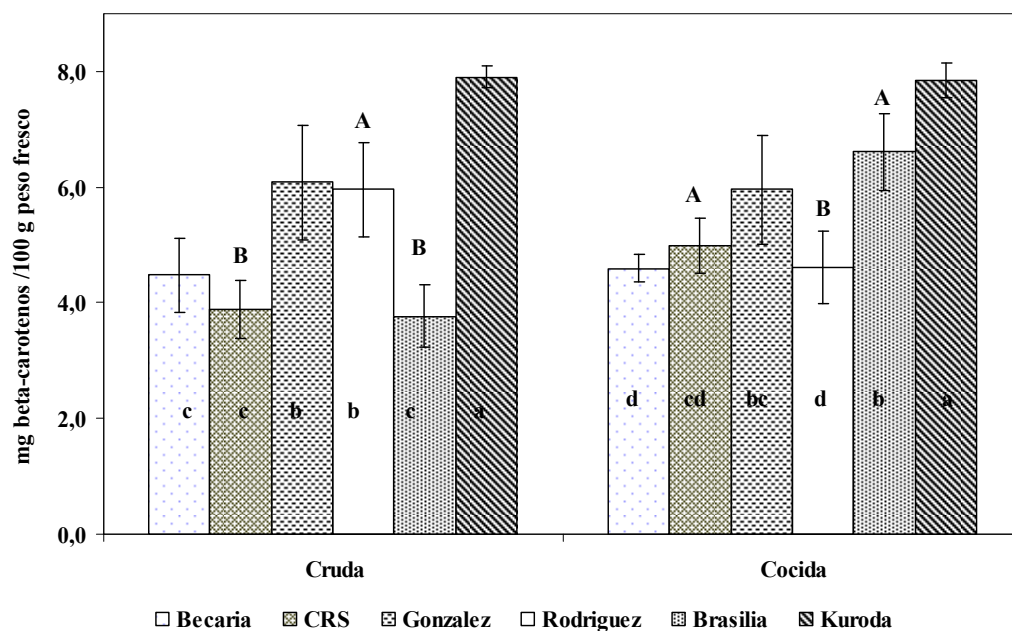


Figura 1 Contenido de β -carotenos totales (mg/100g peso fresco) de seis materiales genéticos de zanahoria, crudas y cocidas. Letras minúsculas diferentes en cada columna indican medias diferentes significativamente según un ANOVA de una vía y test de Tukey y Kramer ($P \leq 0,05$) para los materiales genéticos dentro de cada forma de preparación, crudo o cocido. Letras mayúsculas diferentes sobre cada columna indican medias diferentes significativamente según test de Student para muestras pareadas ($P \leq 0,05$) crudas y cocidas para cada material genético

La característica y constitución de la pared y membrana donde se localizan los β -carotenos es uno de los factores diferenciales entre materiales genéticos para su extracción (Shouton y Faulks, 2003; Lemmens *et al.*, 2009). Por otro lado, la extracción de carotenos de los materiales vegetales es principalmente el resultado de la rotura de las células que ocurre durante la preparación, procesamiento y masticación del alimento. En particular, el calor moderado (45 a 55 °C) durante la preparación por cocción de los tejidos vegetales modifica la textura y provoca el ablandamiento de los mismos (Meléndez-Martínez *et al.*, 2004).

El ablandamiento de las paredes celulares puede estar asociado principalmente a cambios en la estructura de las paredes celulares y en menor medida a daños en la membrana celular (Rao y Lund, 1986; Huang y Bourne, 1983; Ilker y Sczesniak, 1990; Bolin y Huxsoll, 1991; Lebovka *et al.*, 2004).

Los cambios en el volumen de la pared celular, disolución y despolimerización de pectinas y separación de las células, son los primeros mecanismos de desintegración tisular, inducidos naturalmente por procesos enzimáticos y fisiológicos durante el envejecimiento de los tejidos, así como por cocción y esterilización (Southon y Faulks, 2003). En consecuencia la temperatura de cocción modifica las paredes celulares y la membrana de las células donde se encuentran los carotenoides, haciendo más eficiente el método de extracción utilizado (Granado *et al.*, 1992). Esto podría explicar el significativo ($P \leq 0,007$) incremento de los β -carotenos totales en las zanahorias cocidas en comparación con las raíces crudas. Similares resultados obtuvieron Patras *et al.*, (2009) en zanahorias cv. “Nairobi” hervida a 121 °C durante 3 min las cuales aumentaron 15% los carotenoides totales respecto del control sin cocción. Sin embargo no todos los tejidos vegetales responden de igual forma frente a la temperatura, y el tratamiento térmico puede afectar negativamente la cantidad de carotenoides (Simon y Lindsay, 1983).

Correlación entre el tono del color y el contenido de β -carotenos totales

El contenido de β -carotenos totales se correlacionó negativamente con la variable ángulo hue (tono promedio) en las zanahorias crudas (-0,67; $P < 0,0023$; $n = 3$) y cocidas (-0,75;

$P < 0,0032$; $n = 3$). A menor valor de ángulo hue corresponde mayor contenido de β -carotenos. El tono anaranjado en las zanahorias es determinado por varios carotenos y xantofilas, de los cuales las zanahorias anaranjadas contienen mayoritariamente β -carotenos y α -carotenos, 43% a 71% y 17% a 22% de los carotenoides totales respectivamente (Heinonen, 1990 y Simon y Wolff, 1987). Estos pigmentos se sintetizan y depositan mayoritariamente en el floema de las raíces (Baranska *et al.*; 2006). Estos resultados son coincidentes con los reportados por Bradley y Rhodes (1969) en zanahorias anaranjadas, y por Tourjee *et al.* (1998) en duraznos frescos y procesados (105 °C, 12 min).

Bioaccesibilidad de β -carotenos totales

En las zanahorias pulpeadas y crudas la bioaccesibilidad de β -carotenos totales fue muy baja ($< 0,5\%$ del contenido total), diferenciándose estadísticamente los materiales genéticos entre sí ($P \leq 0,005$) (Figura 2). En las raíces crudas de las zanahorias locales “Rodríguez”, “Becaria” y en el cultivar comercial “Brasilia”, se cuantificaron respectivamente valores de 0,38%, 0,21% y 0,36% de β -carotenos bioaccesibles. Sin embargo la bioaccesibilidad de β -carotenos no fue diferente entre los materiales genéticos pulpeados cuando las zanahorias fueron cocidas al vapor ($P \geq 0,4206$). En las zanahorias pulpeadas, la preparación por cocción al vapor permitió un aumento entre 4 y 10 veces respecto de la bioaccesibilidad “*in vitro*” de β -carotenos totales en las zanahorias crudas ($P \leq 0,0018$).

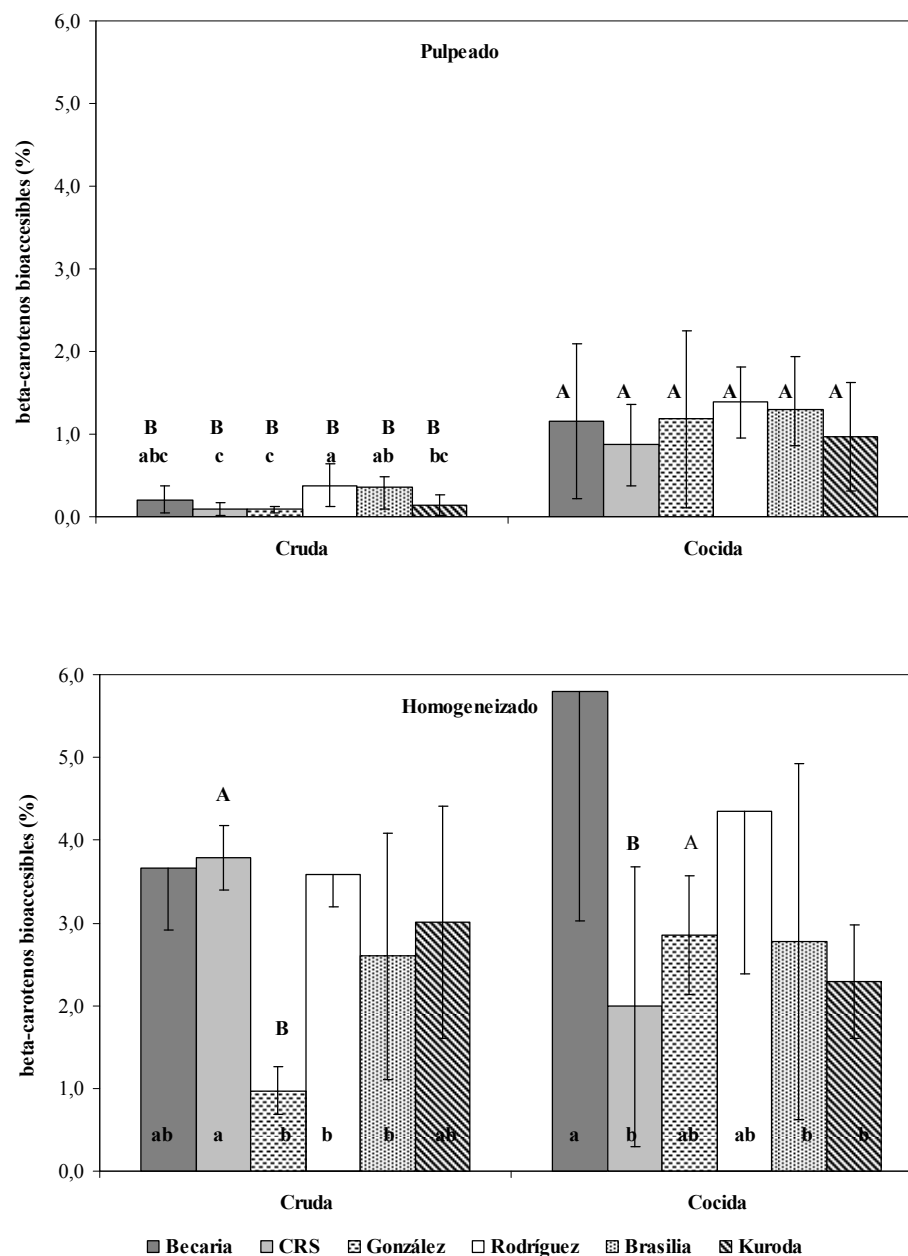


Figura 2 Bioaccesibilidad de β -carotenos (%) en seis materiales genéticos de zanahorias, crudas y cocidas al vapor, y dos tamaños de partículas: (A) pulpeado (3 a 8 mm) y (B) homogeneizado (< 1 mm). Medias $\pm$ DEM. Letras minúsculas en las columnas indican medias diferentes significativamente según un ANOVA de una vía y test de Tukey y Kramer ($P \leq 0,05$) para los materiales genéticos dentro de cada proceso (crudo o cocido). Letras mayúsculas sobre las columnas indican medias diferentes significativamente según test de Student para muestras pareadas ($P \leq 0,05$) crudas y cocidas para cada material genético.

En zanahorias homogeneizadas la bioaccesibilidad de β -carotenos totales fue diferente entre los materiales genéticos estudiados crudos ($P \leq 0,0017$) y cocidos ($P \leq 0,0065$). Los materiales locales “CRS”, “Becaria” y “Rodríguez” homogeneizadas y crudas fueron los valores más altos de bioaccesibilidad de β -carotenos (3,79%, 3,66% y 3,58% respectivamente). En las zanahorias cocidas se destacaron “Becaria” (5,79%), “Rodríguez” (4,35%) y “González” (2,85%). Dentro del tamaño de partícula homogeneizada la forma de preparación, cruda o cocida, no modificó la cantidad de β -carotenos bioaccesibles ($P \geq 0,8636$) siendo en raíces crudas 2,31% y en raíces cocidas 3,34% de β -carotenos bioaccesibles.

La bioaccesibilidad de β -carotenos totales si fue significativamente modificada por el tamaño de partícula utilizado en la digestión ($P < 0,0001$) (Figura 2). El incremento de la bioaccesibilidad de los β -carotenos por efecto del tamaño de partícula fue mayor para la forma cruda (16 veces) que para la preparación cocida (tres veces). En los materiales genéticos locales “CRS” y “González” se observa la modificación más importante en bioaccesibilidad de β -carotenos, tanto por el tamaño de partícula como por la forma de preparación. La bioaccesibilidad de los carotenos de los materiales vegetales es principalmente resultados de la rotura de las células que ocurre en la preparación, el tipo de procesamiento y la masticación del alimento (Zhang y Hamauzu, 2004).

Las propiedades físicas de la matriz de los alimentos modifican la eficiencia física, enzimática y química de los procesos de digestión permitiendo liberar nutrientes potencialmente bioaccesibles. El tamaño reducido de las partículas de digestión tiene un efecto importante tanto para aumentar la extracción como para incrementar la

biodisponibilidad de nutrientes en la digestión (Shouton y Faulks, 2003; Lemmens et al., 2009). De este trabajo se desprende que una ingesta de 100g de zanahorias de 100 g de zanahorias locales y de las variedades comerciales estudiadas, crudas o cocidas al vapor, aportaría 75% al 100% del requerimiento diario de β -carotenos de un niño.

Conclusiones

Los materiales genéticos locales de zanahorias y el cultivar “Brasilia” tienen menor color anaranjado del floema y del xilema que el cultivar “Kuroda”. El consumo de 100 g de las zanahorias evaluadas, crudas o cocidas, aportarían al menos un 75% del requerimiento diario de β -carotenos de un niño. Se encontró una correlación alta entre el tono anaranjado (menor ángulo hue) y el contenido de β -carotenos ($r = 0,67$ crudas, $r = 0,75$ cocidas). La bioaccesibilidad de los β -carotenos en las zanahorias crudas fue muy baja. La cocción al vapor aumentó la bioaccesibilidad cuatro a diez veces dependiendo del material genético. A su vez, el menor tamaño de partícula de digestión (homogeneizado) incrementó la bioaccesibilidad de los β -carotenos, siendo el efecto más importante en las zanahorias crudas que en las cocidas al vapor.

Los resultados obtenidos en éste trabajo permiten valorizar el aporte de la zanahoria en la dieta humana, y en particular, revalorizar los materiales genéticos locales en contenido de β -carotenos totales. Asimismo, ha permitido conocer el efecto de la cocción al vapor y la reducción del tamaño de partícula en los componentes nutricionales y en su bioaccesibilidad en las zanahorias producidas en el país. Estos

resultados pueden aportar a la creación de nuevos cultivares y a valorar y a mejorar el procesamiento de zanahorias locales en la industria de alimentos.

Agradecimientos

Al grupo de trabajo del Laboratorio de Nutrición & Calidad de Alimentos, Facultad Agronomía, y del Laboratorio de Nutrición & Fisiología, Facultad Ciencias, por el apoyo en la ejecución del trabajo y los aportes académicos realizados. Este trabajo es parte de la Tesis de Maestría en Ciencias Agrarias, y fue parcialmente financiado por el FPTA 246.

Bibliografía

- Baranska, M.; Baranski, R.; Schultz, H.; Nothnagel, T. 2006. Tissue-specific accumulation of carotenoids in carrot roots. *Planta*. 224: 1028-1037.
- Barboza, R.; Pacheco, P.; Pérez, A. 2002. Relevamiento de precios mayoristas de frutas y hortalizas frescas. Manual de procedimientos. Manual de referencias técnicas por producto. Intendencia Municipal de Montevideo. Comisión Administradora del Mercado Modelo. Área producción y comercialización. Serie: Trabajos Técnicos. Noviembre de 2002. pp 64. (<http://www.mercadomodelo.net/trabajo/trabajo1.pdf>)
- Bolin, H. R.; Huxsol, C.C. 1991. Control minimally processed carrot (*Daucus carota*) surface discoloration caused by abrasion peeling. *Journal of Food Science*. 56 (2): 416-418.

- Bradley, G., Rhodes, B. 1969. Carotens, xanthophylls and color in carrot varieties and lines as affected by growing temperatures. *Journal American Society of Horticultural Science*. 94:63-65.
- Cisnero-Zevallos, L.; Salveit, M. E.; Krochta, J.M. 1995. Mechanism of surface white discoloration of peeled (minimally processed) carrots during storage. *Journal of Food Science*. 60 (2): 320-333.
- Failla, M. L.; Huo, T; Takkar, S. 2008. In vitro screening of relative bioaccessibility of carotenoids from foods. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*.17(S1): 200-2003.
- FNB/IOM. 2002. Food and Nutritional Board (FNB)-Institute of Medicine (IOM). Dietary reference intakes for Vitamin A, Vitamin K, Arsenic, Boron, Chromium, Copper, Iodine, Iron, Manganese, Molybdenum, Nickel, Silicon, Vanadium, and Zinc. National Academy Press. 2101 Constitution Avenue, N.W. Washington, DC. 773 pg.
- Fraser, P.D.; Bramley, P.M. 2004. The biosynthesis and nutritional uses of carotenoids. Review. *Progress in Lipid Research* 43: 228–265.
- Galván, G.; González, H.; Vilaró, F. 2005. Estado actual de la investigación en poblaciones locales de hortalizas en Uruguay y su utilización en el mejoramiento. *Agrociencia*. 9 (1-2):115-122.
- Granado, F.; Olmedilla, B.; Blanco, I.; Rojas-Hidalgo, E. 1992. Carotenoid compositional in raw and cooked Spanish vegetables. *Journal Agricultural Food Chemistry*. 40:2135-2140.

- Hedén, E.; Diaz, V.; Svanberg, U. 2002. Estimation of carotenoid accessibility from carrots determined by an in vitro digestion method. *European Journal of Clinical Nutrition*. 56:425 - 430.
- Heinonen, M. I. 1990. Carotenoids and Provitamin A activity of carrot (*Daucus carota* L.) cultivars. *Journal Agricultural Food Chemistry*. 38: 609-612.
- Huang, Y.T.; Bourne, M.C. 1983. Kinetics of thermal softening of vegetables. *Journal of Texture Studies*. 14:1-9.
- IFIS (International Food Information Service), 2005. *Dictionary of Food Science and Technology*. Blackwell Publishing Ltd. Oxford. 471 pg.
- Ilker, R.; Szczesniak, A. S. 1990. Structural and chemical bases for texture of plant foodstuffs. Review paper. *Journal of Texture Studies*. 21:1-36.
- INE. 2008. *Encuesta Nacional de Gastos e Ingresos de los Hogares 2005-2006. Los alimentos y bebidas en los hogares*. Instituto Nacional de Estadística. Montevideo. Uruguay. 103 pg.
- InfoStat. 2004. *Infostat, versión 2007p*. Grupo InfoStat, FCA. Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. 318 pg .
- Kiokias, S., Gordon, M. H. 2004. Antioxidant properties of carotenoids In Vitro and In Vivo. *Foods Reviews International*. 20 (2): 99 - 121.
- Krinsky, N. I.; Johnson, E.J. 2005. Carotenoid actions and their relation to health and disease. *Molecular Aspects of Medicine*. 26: 459.

- Lebovka, N.I., Praporscic, I.; Vorobiev, E. 2004. Effect of moderate thermal and pulsed electric field treatments on textural properties of carrots, potatoes and apples. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*. 5: 9-16.
- Lemmens L.; Van Buggenhout, S.; Oey, I.; Van Loey, A., Hendrickx, M. 2009. Towards a better understanding of the relationship between the β -carotene in vitro bio-accessibility and pectin structural changes: A case study on carrots. *Food Research International*. 42: 1323-1330.
- Martínez-Valverde, I.; María Jesús Periago, M.J.; Ros; G. 2000. Significado nutricional de los compuestos fenólicos de la dieta. *Archivos Latinamericanos de Nutrición*. 50 (1):5-18.
- Meléndez-Martínez, A. J.; Vicario, I. M.; Heredia, F. J. 2004. Importancia nutricional de los pigmentos carotenoides. *Archivos Latinamericanos de Nutrición*. 54 (2): 149-155.
- Nicolle, C.; Simon, G.; Rock, E.; Amouroux, P.; Rémésy, C. 2004. Genetic variability influences carotenoid, vitamin, phenolic, and mineral content in white, yellow, purple, orange, and dark-orange carrot cultivars. *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 129: 523 - 529.
- Nishida, C.; Uauy, R.; Kumanyika, S.; Shetty, P. 2004. The Joint WHO/FAO Expert Consultation on diet, nutrition and the prevention of chronic diseases: process, product and policy implications. *Public Health Nutrition*: 7(1A), 245–250.
- Paterson, W. J.; Hughes, J.S.; Payne, L.F. 1939. The carotenoids pigments. Occurrences, properties, Methods of determination and metabolism by the hen. Technical

- Bulletin 46. Agricultural Experimental Station. Kansan State College of Agriculture and Applied Science. Manhattan, Kansas. 66 pg.
- Patras, A.; Tiwari, B. k.; Brunton, N.P.; Butler, F. 2009. Modelling the effect of different sterilisation treatments on antioxidant activity and colour of carrot slices during storage. Food Chemistry. 114: 44 (3): 185-194.
- Rachetti, M. 2006. Colecta, caracterización y evaluación agronómica de poblaciones locales de zanahoria (*Daucus carota*, L.) cultivadas en el sur de Uruguay. Tesis de Grado. Facultad de Agronomía. Universidad de la República. Montevideo. Uruguay. 80p.
- Rao, M. A.; Lund, D. B. 1986. Kinetics of thermal softening of foods – a review. Journal of Food Processing and Preservation. 10: 311-329.
- Rock, C.L.; Lovalvo, J. L.; Emenhiser, G.; Ruffin, M.T.; Flatt, S.W., Schartz, S.J. 1998. Bioavailability of β -carotene is low in raw than in processed carrots and spinach in women. Journal of Nutrition. 128: 913-916.
- Rodríguez-Amaya, D.1999. Changes in carotenoids during processing and storage of foods. Archivos Latinoamericanos de nutrición. 49: (1-S):38-47.
- Simon, P.W.; Wolff, X.Y. 1987. Carotenes in typical and dark orange carrots. Journal Agricultural Food Chemistry. 35: 1017-1022.
- Simon, P.W.; Lindsay, R.C. 1983. Effect processing upon objective and sensory variables of carrots. Journal of American Society of Horticultural Science. 108: 923-931.

- Southon, S.; Faulks, R. 2003. Carotenoids in food: bioavailability and functional benefits. Chapter 7. Pg 117 - 127. In Phytochemical Functional Foods. Johnson, I.T.. (Editor). Cambridge., GBR: Woodhead Publishing, Limited.
- Stahl, W.; Sies, H. 1999. Carotenoids: Occurrence, Biochemical Activities and Bioavailability. Chapter 13. pg 183-202. En Antioxidant Food Supplements in Human Health. *Edited by: Lester Packer, Midori Hiramatsu and Toshikazu Yoshikawa* ISBN: 978-0-12-543590-1 Academic Press.
- Szpylka, J., DeVries, J.W. 2005. Determination of carotene in supplements and raw materials by reversed-phase high pressure liquid chromatography: collaborative study. Journal of AOAC International. Vol 88 (5):1279-1291.
- Tourjee. K. R.; Barret, D.; Romero, M.; Gradziel, T. 1998. Measuring fresh color variability among processing Clignstones peach genotypes differing in carotenoid composition. Journal of American Society from Horticultural Science. 123 (3): 433-437.
- Uquiche-Carrasco, E.; Cisneros-Zevallos, L. 2002. Efecto del escaldado y recubrimiento higroscópico sobre la calidad de zanahorias (*Dacus carota* var. Chantenay) precortadas durante el almacenamiento. Archivos Latinoamericanos de Nutrición. 52 (2): 187-192.
- van het Hof, K. H.; West, C.E.; Weststrate, J.A., Hautvast, J.G.A.J. 2000. Dietary factors that affect the bioavailability of Carotenoids. Journal of Nutrition. 130: 503-506.

- Voss, D.H. 1992. Relating colorimeter measurement of plant color to the Royal Horticultural Society Color Chart. *HortScience*.27 (12):1256-1260.
- Warman, P R.; Havard, K. A. 1997. Yield, vitamin and mineral contents of organically and conventionally grown carrots and cabbage. *Agricultural Ecosystems & Environment*. 61: 155-162.
- Zhang, D.; Hamauzu, Y. 2004. Phenolics, ascorbic acid, carotenoids and antioxidant activity of broccoli and their changes during conventional and microwave cooking. *Food Chemistry*. 88: 503–509.