



CYTAL-ALACCTA 2019
Buenos Aires, 20 – 22 noviembre 2019

CONTENIDO DE ÁCIDOS FENÓLICOS EN GENOTIPOS DE BATATAS DE DIFERENTES REGIONES DE TUCUMÁN

Juliana Pazos¹, Graciela Corbino², Paula Zema¹, Julieta Gabilondo², Rodrigo Borioni³,
Laura Malec¹

¹ *Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales,
Departamento Química Orgánica. Buenos Aires, Argentina*

² *EEA INTA San Pedro. Ruta 9 km 170. Buenos Aires.*

³ *EEA INTA Famaillá. Ruta 301 km 32. Tucumán.*

E-mail: malec@qo.fcen.uba.ar

RESUMEN

La provincia de Tucumán se encuentra dentro de la tercera zona productora de batata de Argentina y se caracteriza por una amplia diversidad climática y edáfica. La raíz de batata (*Ipomoea batatas* (L.) Lam) presenta una gran variabilidad en su composición nutricional y contenido de compuestos bioactivos. En el presente trabajo se analizaron y compararon los contenidos de fenoles totales y de ácidos fenólicos individuales en raíces tuberosas de diferentes genotipos de batata cultivados en tres regiones de diferentes características agroecológicas de la provincia de Tucumán. De esta manera se busca identificar genotipos localmente adaptados con elevado contenido de estos compuestos bioactivos en los distintos ambientes. Se plantaron cuatro genotipos de batata (*Beauregard*, *Colorado INTA*, *Morada INTA* y *SP-950*) en las localidades de Amaicha del Valle, Famaillá y La Cocha. Transcurrido los 150 días desde la plantación, se realizó la cosecha tomando 10 raíces para cada genotipo y ambiente. Para analizar el contenido de fenoles totales y los ácidos fenólicos individuales, las batatas liofilizadas se extrajeron utilizando metanol: agua (80:20) como solvente. Los fenoles totales se determinaron mediante el reactivo de Folin-Ciocalteu y la identificación y cuantificación de los fenoles individuales se realizó por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) en fase reversa. Los datos obtenidos fueron sometidos a análisis de varianza (ANOVA). Los contenidos de fenoles totales variaron entre 2,1 y 16,5 mg de ácido clorogénico/g de muestra seca. El genotipo *SP-950* presentó valores significativamente mayores ($p < 0,05$) en las tres regiones estudiadas. Al comparar para cada genotipo las diferentes regiones, se observó que en la localidad La Cocha se obtuvieron los mayores contenidos de estos compuestos ($p < 0,05$). En base a estos resultados, se decidió analizar y comparar los ácidos fenólicos individuales en el genotipo *SP-950* en las distintas localidades, así como también en los tres genotipos provenientes de la localidad La Cocha. En todas las muestras estudiadas se identificaron el ácido clorogénico y su isómero (ácido 3- cafeoilquinico), así como también los isómeros del ácido dicafeoilquinico (ácidos 3,4-, 3,5- y 4,5 dicafeoilquinicos). En la mayor parte de los extractos se identificó también el ácido cafeico. En todas las muestras evaluadas los compuestos mayoritarios fueron los ácidos clorogénico y 3,5 dicafeoilquinico, los que constituyeron entre ambos entre el 77 y el 90% del total de los ácidos identificados. Al igual que en el contenido de los fenoles totales, el genotipo *SP-*

950 fue el que presentó una concentración significativamente mayor en ambos ácidos fenólicos. Al comparar el contenido de los ácidos individuales en todas las localidades para el genotipo *SP-950*, también se observó que la localidad La Cocha presentó los mayores valores. Por lo tanto, la combinación *SP-950/La Cocha* presentó la mayor concentración de fenoles totales y de los ácidos fenólicos mayoritarios.

Palabras Clave: Batata, polifenoles, ácido clorogénico, ácidos dicafeoilquínicos

1. Introducción

Los compuestos antioxidantes actúan como eliminadores de radicales libres y/o inhibidores de las especies reactivas del oxígeno que se forman naturalmente durante el metabolismo humano. Las mismas pueden provocar daños en las proteínas, lípidos y ácidos nucleicos de las estructuras biológicas e inducir en el hombre una variedad de enfermedades crónicas relacionadas con el estrés oxidativo como cardiovasculares, cáncer y aquellas vinculadas con la degeneración neuronal (Elahi y Malata, 2006; Liu, 2013; Waris y Ahsan, 2006). Es por esto que en los últimos años se ha incrementado el interés por el consumo de alimentos de origen vegetal con un elevado contenido en compuestos antioxidantes. La batata, un cultivo de importancia a nivel mundial, es considerada una buena fuente de este tipo de compuestos (Nwosisi, Nandwani y Ravi, 2017).

Dentro de los compuestos antioxidantes en batatas, se destacan los fenólicos. Estos fueron por primera vez analizados en estos vegetales por Rudkin y Nelson (1947), quienes identificaron al ácido clorogénico como el mayoritario en estos tejidos. Este compuesto junto con los ácidos cafeico e isómeros del dicafeoilquínico fueron identificados como los compuestos fenólicos con mayor concentración en múltiples estudios posteriores realizados sobre raíces de este cultivo (Ishiguro, Yahara y Yoshimoto, 2007; Jung y col., 2011).

Análisis realizados en distintos cultivares de batatas demostraron que la composición y el contenido de los compuestos antioxidantes varían ampliamente entre los distintos genotipos (Lebot, Michalet y Legendre, 2016). Además de los factores genéticos, las diferencias pueden aparecer a causa de factores ambientales, como el tipo de suelo, temperatura, precipitaciones o radiación solar. El genotipo y sus interacciones con el medio influyen en la capacidad de adaptación y el rendimiento del cultivo (Mau y col., 2013).

En Argentina, la producción es de 340 mil t/año, estimándose unas 23 mil hectáreas cultivadas con un rendimiento promedio de 14,5 t/ha (FAOSTAT, 2017). La

región del NOA (Jujuy, Salta, Santiago del Estero y Tucumán) produce el 15 % del total de batata del país (Gauna y Zequeira, 2014). Según estimaciones del INTA Tucumán representa el 31 % de la producción del NOA distribuidas en 600 ha. En esta provincia la batata es cultivada principalmente en cuatro regiones agroecológicas caracterizadas por una amplia diversidad climática y edáfica. El rendimiento promedio en la provincia es inferior al nacional lo que podría estar asociado a prácticas de manejo inadecuadas y carencia de variedades localmente adaptadas. Por este motivo, es necesario identificar genotipos localmente adaptados e incrementar el rendimiento promedio, teniendo en cuenta los efectos de la interacción genotipo-ambiente.

El objetivo del presente trabajo fue estudiar y comparar tanto el contenido de polifenoles totales como los principales compuestos fenólicos en distintos genotipos de batata (*Beauregard*, *Colorado INTA*, *Morada INTA*, *SP-950*) cultivados en tres regiones de diferentes características agroecológicas de la provincia de Tucumán. De esta manera se busca reconocer los genotipos localmente adaptados con mayor contenido de estos compuestos bioactivos en los distintos ambientes, así como también identificar las regiones en las que se logren batatas con contenidos más elevados de compuestos antioxidantes.

2. Materiales y métodos

2.1. Preparación de muestras

Se utilizaron muestras de los genotipos *Beauregard* y *Colorado INTA*, de pulpa naranja, *Morada INTA* de pulpa amarilla con inclusiones naranjas y *SP-950* de pulpa amarilla con vetas violáceas. Cada uno de estos genotipos fue cultivado en distintas regiones de la provincia de Tucumán: Faimallá (FA), Aimacha del Valle (AM) y La Cocha (LC). De cada combinación cultivar-localidad se tomaron muestras de 10 raíces y se formó un pool utilizando un cuarto de cada una de sus pulpas. Las muestras una vez liofilizadas, se molieron y almacenaron a -20°C hasta su posterior análisis.

2.2. Métodos analíticos

Humedad: se determinó según el método AOAC: 920.151 (1990) por secado de la muestra en estufa de vacío (100 mmHg) a 70° C hasta obtener peso constante.

Polifenoles totales: Para cada una de las muestras se realizó una extracción con metanol 80% (v/v) durante 10 minutos a 50°C y el sobrenadante se separó por centrifugación, 15 minutos a 8500 rpm. Se repitió luego la extracción y se juntaron los sobrenadantes. Los extractos se obtuvieron por duplicado.

La medición de polifenoles totales se realizó por triplicado en cada extracto con el reactivo de Folin-Ciocalteu según el método de Singleton y Rossi (1965) con ciertas modificaciones. A 250 μ L de extracto y 4 ml de agua destilada se le agregaron 250 μ L del reactivo de Folin-Ciocalteu. Luego de 3 minutos, se adicionaron 500 μ L de Na_2CO_3 1N, se mantuvieron 2 horas a temperatura ambiente y se leyó la absorbancia a 750 nm en espectrofotómetro UV/Vis Lambda 25 (Perkin Elmer, USA). La curva de calibración se efectuó utilizando concentraciones de ácido clorogénico desde 180 hasta 400 mg/L. El contenido total de polifenoles se informó como mg de ácido clorogénico /g base seca (bs).

Compuestos fenólicos individuales: La identificación y cuantificación de los compuestos fenólicos se realizó mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) en fase reversa según Padda y Picha (2007) con algunas modificaciones. Una alícuota de los extractos metanólicos se filtró por una membrana de 0,45 μ m. Se inyectaron 5 μ l de muestra en una columna ZORBAX Eclipse XDB-C18 (Agilent Technologies, Alemania), 4,6 x 250 mm, 5 μ m, usando un equipo Agilent 1200 Series (Agilent Technologies, Alemania). La fase móvil consistió en A: 0,1% ácido acético en solución acuosa; B: acetonitrilo en solución 0,1 % ácido acético (v/v) con un gradiente de B al 20% (0 a 10 min), de 20 a 30% (10 a 20 min) y de 30 a 50% (20 a 30 min) con un flujo de 0,7 ml/minutos. Los picos de los ácidos clorogénico (5-cafeoil-quínico), 3,5 dicafeoilquinico y cafeico se identificaron y cuantificaron comparando los tiempos de retención y las áreas con sus respectivos estándares. El pico del ácido 3- cafeoilquínico (isómero del ácido clorogénico) y de los isómeros 3,4- y 4,5-dicafeoilquínicos fueron asignados de acuerdo al orden de aparición reportado en bibliografía para similares sistemas cromatográficos y cuantificados por comparación con los estándares de los ácidos 5-cafeoilquínico y 3,5 dicafeoilquínico respectivamente (Jung y col., 2011). La detección se realizó a 320 nm usando un detector UV-VIS 1260 Infinity de onda múltiple.

2.3. Análisis estadísticos

Los datos experimentales se analizaron a través de análisis de varianza (ANOVA) mediante el test de Tukey ($p < 0,05$) utilizando el programa InfoStat versión 2018. Los resultados se informaron de acuerdo a su promedio \pm desviación estándar (DS). Las curvas de calibración y sus respectivos coeficientes de determinación fueron establecidos por análisis de regresión lineal.

3. Resultados y discusión

En la Tabla 1 figuran los contenidos de polifenoles totales/g bs para los cultivares *Beauregard*, *Colorado INTA*, *Morado INTA* y *SP-950* provenientes de las distintas localidades tucumanas Faimallá (FA), Aimacha del Valle (AM) y La Cocha (LC). Se puede observar que el genotipo *SP-950* presentó concentraciones significativamente superiores ($p < 0,05$) al resto de los cultivares en cada región. En la localidad LC se encontraron las mayores concentraciones para cada genotipo ($p < 0,05$), con excepción del *Beauregard*.

Tabla 1. Contenido de polifenoles totales expresados en mg de ácido clorogénico /g bs para los cultivares *Beauregard*, *Colorado INTA*, *Morada INTA* y *SP-950* de las localidades AM, FA y LC. (promedio \pm DS).

	<i>Beauregard</i>	<i>Colorado INTA</i>	<i>Morada INTA</i>	<i>SP-950</i>
AM	3,7 \pm 0,1 ^{bB}	3,3 \pm 0,3 ^{bBC}	3,1 \pm 0,2 ^{cC}	5,1 \pm 0,3 ^{cA}
FA	5,3 \pm 0,1 ^{aB}	2,1 \pm 0,2 ^{cD}	4,0 \pm 0,2 ^{bC}	9,5 \pm 0,2 ^{bA}
LC	3,5 \pm 0,2 ^{bD}	5,4 \pm 0,3 ^{aC}	6,9 \pm 0,4 ^{aB}	16,5 \pm 0,2 ^{aA}

Datos en la misma columna con diferentes letras minúsculas son significativamente diferentes ($p < 0,05$). Datos en la misma fila con diferentes letras mayúsculas son significativamente diferentes ($p < 0,05$).

En base a estos resultados, se decidió analizar y comparar los ácidos fenólicos individuales en el genotipo *SP-950* en las distintas localidades, así como también en los tres genotipos provenientes de la localidad La Cocha.

En todas las muestras se identificaron el ácido clorogénico, el ácido 3-cafeoilquínico y los ácidos 3,4-, 3,5- y 4,5-dicafeoilquínicos (Tabla 2 y Tabla 3). En la mayor parte de los extractos se identificó también el ácido cafeico, el cual ha sido relacionado a mecanismos de defensa por parte de las batatas ante ciertos patógenos (Harrison y col., 2003). En todos los casos evaluados los compuestos mayoritarios fueron el ácido clorogénico y 3,5 dicafeoilquínico. Juntos constituyeron entre el 77 y 90% del total de los compuestos fenólicos identificados en los distintos casos estudiados.

Al igual que con el contenido de los fenoles totales, al estudiar los diferentes genotipos de la localidad LC (Tabla 2), se observó que el genotipo *SP-950* fue el que presentó una concentración más elevada en ambos compuestos mayoritarios. Del mismo

modo que con el contenido de fenoles totales, al comparar el contenido de los ácidos individuales en todas las localidades para el genotipo *SP-950* (Tabla 3), se observó que la localidad LC presento los mayores valores en las concentraciones de ácido clorogénico y 3,5 dicafeoilquinico.

Tabla 2. Contenido de los diferentes ácidos fenólicos en los cultivares estudiados en la localidad LC expresados en mg/g bs. (promedio \pm DS).

	LC			
	<i>SP-950</i>	<i>Morada INTA</i>	<i>Beauregard</i>	<i>Colorado INTA</i>
ácido 3-cafeoilquinico	0,3 \pm 0,1 ^a	0,10 \pm 0,03 ^a	0,10 \pm 0,03 ^a	0,08 \pm 0,02 ^a
Ac. clorogénico	2,8 \pm 0,4 ^a	1,9 \pm 0,1 ^{ab}	0,57 \pm 0,07 ^c	1,0 \pm 0,1 ^{bc}
Ac. cafeico	0,3 \pm 0,1 ^a	-	0,048 \pm 0,001 ^b	-
Ac. 4,5-dicafeoilquinico	0,24 \pm 0,07 ^a	0,21 \pm 0,04 ^{ab}	0,046 \pm 0,001 ^b	0,067 \pm 0,004 ^b
Ac. 3,5-dicafeoilquinico	2,6 \pm 0,6 ^a	0,88 \pm 0,07 ^b	0,29 \pm 0,05 ^b	0,70 \pm 0,09 ^b
Ac. 3,4-dicafeoilquinico	0,4 \pm 0,1 ^a	-	-	0,16 \pm 0,02 ^a

Datos en la misma fila con diferentes letras son significativamente diferentes ($p < 0,05$).

Tabla 3. Contenido de los ácidos clorogénico, 3- cafeoilquinico, cafeico y 4,5-, 3,5- y 3,4-dicafeoilquinicos en el cultivar *SP-950* de las localidades LC, AM y FA. Los valores están expresados en mg/g bs. (promedio \pm DS).

	<i>SP-950</i>		
	AM	FA	LC
ácido 3-cafeoilquinico	0,11 \pm 0,03 ^a	0,16 \pm 0,04 ^a	0,3 \pm 0,1 ^a
Ac. clorogénico	0,60 \pm 0,05 ^b	1,5 \pm 0,1 ^b	2,8 \pm 0,4 ^a
Ac. cafeico	0,12 \pm 0,01 ^a	0,15 \pm 0,05 ^a	0,3 \pm 0,1 ^a
Ac. 4,5 dicafeoilquinico	-	0,16 \pm 0,01 ^a	0,24 \pm 0,07 ^a
Ac. 3,5 dicafeoilquinico	0,46 \pm 0,04 ^b	1,2 \pm 0,1 ^{ab}	2,6 \pm 0,6 ^a
Ac. 3,4 dicafeoilquinico	0,09 \pm 0,01 ^b	0,173 \pm 0,002 ^{ab}	0,4 \pm 0,1 ^a

Datos en la misma fila con diferentes letras minúsculas son significativamente diferentes ($p < 0,05$).

4. Conclusiones

Se pudo observar que el genotipo resultó un factor determinante para el contenido de los compuestos fenólicos ya que en todas las regiones el cultivar *SP-950* presentó los mayores valores. Sin embargo, el ambiente también constituyó una variable relevante, siendo La Cocha la localidad en la que se encontraron concentraciones superiores de compuestos fenólicos para la mayor parte de los genotipos estudiados. De esta forma, la combinación *SP-950-LC* presentó la mayor concentración de fenoles totales y de los ácidos fenólicos mayoritarios.

5. Agradecimientos

Los autores agradecen el apoyo financiero de la Universidad de Buenos Aires y del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria.

6. Referencias

- A.O.A.C., Association of the Official Analytical Chemists, (1990). Official Methods of the Association of the Official Analytical Chemists. 14° Edición. Editorial Horwitz, Washington, DC, USA.
- Elahi, M.M., Malata, B.M. (2006). Free radicals in blood: evolving concepts in the mechanism of ischemic heart disease. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 450, 78-88.
- FAOSTAT (Statistics division of Food and Agriculture Organization of the United Nations) [base de datos consultada en línea]. [Fecha de acceso en agosto de 2019]. Disponible en: <http://www.fao.org/faostat/en/?#data/QC>
- Gauna, P.I., Zequeira, L. (2014). Buenas practicas agricolas en batata. Publicaciones INTA. [Fecha de acceso en agosto de 2019]. Disponible en: https://inta.gob.ar/sites/default/files/script-tmp-inta-buenas_prticas_agrecolas_en_cultivo_de_batata.pdf
- Harrison, H.F., Peterson, J.K., Snook, M.E., Bohac, J.R., Jackson, D.M. (2003). Quantity and potential biological activity of caffeic acid in sweet potato [*Ipomoea batatas* (L.) Lam.] storage root periderm. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 2843–2848.
- Ishiguro, K., Yahara, S., Yoshimoto, M. (2007). Changes in polyphenols content and radical-scavenging activity of sweetpotato (*Ipomoea batatas* L.) during storage at optimal and low temperatures. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55, 10773–10778.
- Jung, J., Lee, S., Kozukue, N., Levin, C., Friedman, M. (2011). Distribution of phenolic compounds and antioxidative activities in parts of sweet potato (*Ipomoea batata* L.) plants and in home processed roots. *Journal of Food Composition and Analysis*, 24, 29–37.
- Lebot, V., Michalet, S., Legendre, L. (2016). Identification and quantification of phenolic compounds responsible for the antioxidant activity of sweet potatoes with different flesh colours using high performance thin layer chromatography (HPTLC). *Journal of Food Composition and Analysis*, 49, 94-101.
- Liu, R.H. (2013). Dietary Bioactive Compounds and Their Health Implications. *Journal of Food Science*, 78, 18-25.
- Mau, Y. S., Ndiwa, S. S. A., Arsa, I. G. B., Oematan, S. S. (2013). Growth and yield stability of sweet potato clones across four locations in east Nusa Tenggara. *Agrivita Journal of Agriculture Sciences*, 35(1), 95-102.
- Nwosisi, S., Nandwani, D., Ravi, R. (2017). Bioactive Compounds in Organic Sweetpotato. *Journal of Advances in Molecular Biology*, 1(2), 81-90.

- Padda, M.S., Picha, D.H. (2007). Methodology optimization for quantification of total phenolics and individual phenolic acids in sweetpotato (*Ipomoea batatas* L.) roots. *Journal of Food Science*, 72, 412–416.
- Rudkin, G.O., Nelson, J.M. (1947). Chlorogenic Acid and Respiration of Sweet Potatoes. *Journal of the American Chemical Society*, 69, 1470-1475.
- Singleton, V. L.; Rossi, J. A. Jr. (1965). Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16, 144-158.
- Waris, G. Ahsan, H. (2006). Reactive oxygen species: Role in the development of cancer and various chronic conditions. *Journal of Carcinogenesis*, 11, 5-14.