

**Informe científico 2016-2017**

**Prof. Principal Horacio Tournier**

**Director: Prof. Dr. Hèctor O. Buschiazzo**



provincia de buenos aires  
comisión de  
investigaciones científicas  
Calle 526 e/ 10 y 11 1900 La Plata  
Tel. Fax: (0221) 421 7374 / 6205 int.143  
D.E.: perapoyo@cic.gba.gov.ar

PERSONAL DE APOYO A LA  
INVESTIGACION Y DESARROLLO

INFORME PERIODO: 2016 - 2017

1. APELLIDO: **TOURNIER**

Nombre(s): **Horacio Alfio**

Título(s): Farmacéutico y Lic. Farmacia y Bioquímica

Dirección Electrónica: horaciotournier@gmail.com

2. OTROS DATOS

INGRESO: Categoría: Adjunto

Mes: enero

Año: 1980

ACTUAL: Categoría: Principal

Mes: agosto

Año: 1991

3. PROYECTOS DE INVESTIGACION EN LOS CUALES COLABORA

A) Evaluación de la capacidad antioxidante de productos naturales o derivados de los mismos.

A1) Determinación del contenido de vitamina C, polifenoles y actividad antioxidante en bebidas no alcohólicas de uso popular

4. DIRECTOR

Apellido y Nombre (s): Buschiazzo, Héctor O.

Cargo Institución: Profesor Extraordinario Consulto. Fac. Cs. Médicas UNLP.

Dirección: Calles 60 y 120 S/N° Ciudad: La Plata

C. P.: 1900 Prov.: Bs. As. Tel.: 421 69 32 Dirección Electrónica:

5. LUGAR DE TRABAJO

Institución: Universidad Nacional de La Plata

Dependencia: Cátedra de Farmacología Básica. Facultad de Ciencias Médicas

Dirección: Calles 60 y 120

Ciudad: La Plata C. P.: 1900 Prov.: Bs. As. Tel: 421 6932

**7. Propósito general.**

Este trabajo es parte de un proyecto general que pretende evaluar distintas propiedades farmacológicas, toxicológicas o nutricionales de productos naturales o derivados de los mismos de uso frecuente en la población argentina..

**Mi participación en el proyecto se explicita a continuación**

**7 A1.Introducción**

Como habíamos planteado con anterioridad, existe evidencia sobre los beneficios del consumo de dietas ricas en frutas y vegetales y de una moderada cantidad de vinos tintos en situaciones de salud asociadas a la producción de riesgo oxidativo (enfermedad

cardiovascular, diabetes, inflamación, enfermedades degenerativas) <sup>(1,2)</sup>. Estos efectos protectores se atribuyen a la presencia en los productos consumidos popularmente, de compuestos con reconocida actividad antioxidante (vitamina C y polifenoles) <sup>(3)</sup>.

Actualmente, se encuentran en el mercado alimentario productos, que resaltan sus propiedades nutritivas y antioxidantes. Con anterioridad hemos informado sobre el contenido de vitamina C (ácido ascórbico) y la capacidad antioxidante total (**CAT**) de jugos naturales (**JN**) obtenidos de frutas (naranjas, limones, pomelos, manzanas); bebidas refrigeradas derivadas de la expresión esas frutas, ya preparadas para consumir (**JR**) y bebidas derivadas de concentrados frutales (**JC**).

En los marbetes de tales productos no se declara si los mismos contienen polifenoles, hecho de importancia para completar la información sobre el valor nutricional de los mismos. En el período anterior se comenzó con la evaluación del contenido de polifenoles de los diferentes productos y en este período se continuó con la evaluación de dicho contenido y de vitamina C y actividad antioxidante en nuevas muestras de los productos citados.

## **7 A2 Metodología**

**Muestras : (JN)** Todos los frutos fueron adquiridos en comercios de la zona. Los frutos fueron exprimidos a temperatura ambiente, los líquidos obtenidos fueron centrifugados a 4000rpm 10 minutos (Biofuge Hereus) y analizados en el mismo día de su obtención. Se procesaron 3 pools de 2 frutos cada uno.

**JR y JC** se adquirieron en los supermercados de la zona, se ensayaron en forma directa, previa centrifugación como se indicó, con las diluciones que correspondieren. Las determinaciones se realizaron con una anticipación de al menos 4-5 meses del vencimiento indicada en los envases. (Tabla 1)

**Determinación del contenido de Vitamina C** Método espectrofotométrico utilizando Diclorofenol indofenol (DCPI) como reactivo. <sup>(4)</sup> Básicamente el método consiste en determinar la disminución de la absorbancia del DCPI por acción de la muestra en estudio. La disminución de la coloración es directamente proporcional a la concentración de ácido ascórbico de la muestra. Se toma como referencia una curva estándar utilizando concentraciones variables de ácido ascórbico (25-125 µl de una solución de 100 µg/mL del ácido) en buffer citrato-acetato de sodio (55g de citrato de sodio en 120 mL H<sub>2</sub>O y ácido acético glacial hasta pH 4,1.) y solución de DCPI 0,04%. (75 µL).

**Determinación del contenido de Fenole totales** : Método de Folin Ciocalteu <sup>(5)</sup>.

Los resultados se expresan como mg/dLequivalentes de ácido ascórbico (**AA**) y ácido gálico (**AG**) respectivamente tomando como referencia las curvas de calibración correspondientes.

**Actividad antioxidante: Reacción con el radical 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolin-6-sulfonato de amonio (ABTS•+))** <sup>(6)</sup>

La decoloración de radical catiónico ABTS•+ (cromóforo verde) es proporcional a la capacidad donante de hidrógeno de un compuesto o extracto en estudio. El radical ABTS•+ se produce por reacción entre ABTS (3,5 mM) y persulfato de potasio (1,25 mM) en agua bidestilada. Se ajusta la absorbancia a 0,7 unidades a 730 nm con PBS y la actividad antioxidante se evalúa midiendo el cambio de absorbancia de la solución de ABTS •+. Los resultados se expresan como EAA (equivalentes de ácido ascórbico) / dL o g de la muestra.

Todas las determinaciones se efectuaron utilizando un espectrofotómetro Beckman DU 640.

Tabla 1.

Tipo de bebida	Nombre comercial	Elaboradas por	Almacenamiento en comercios
Jugos naturales ( <b>JN</b> ) -naranjas (Jujuy) -limones (Tucuman) -pomelos (E.Rios)		Cosechadas en las provincias citadas y procesadas en La Plata	Sin almacenamiento. Obtenidos por expresión y utilizados el mismo día de su obtención
Jugos “exprimidos y refrigerados” ( <b>JR</b> )	<i>Citric</i> naranja Purosol Naranja y pomelo <i>Tropicana</i> naranja y manzana	Est. El Carmen (Tucuman)  Record CD SA (E.Rios)	Mantenidos a 4°C en envases tetrapack
Jugos provenientes de concentrados ( <b>JC</b> )	<i>Cepita del valle</i> Naranja y manzana  <i>Baggio</i> Naranja y manzana	Coca Cola Femsa (M. Grande, Bs As.)  RPB SA (E.Rios – Mendoza)	Mantenidos pasteurizados a temperatura ambiente en envases tetra pack

### 7. A3 Resultados (ver Tabla 2)

Todas las muestras analizadas contenían vitamina C y polifenoles en valores significativos y similares a los valores referenciales<sup>(7)</sup> y en concordancia con los antes determinados. En **JN**, naranja mostró el mayor contenido de Vitamina C y de actividad antioxidante con niveles de polifenoles similares a otros jugos. En **JR**, Tropicana naranja mostro el mayor contenido de Vit.C, polifenoles y actividad antioxidante. En **JC**, la actividad antioxidante de Cepita fue mayor que Baggio aunque con similares contenidos de polifenoles y vitamina C.

Los contenidos de Vitamina C determinados no coinciden en algunos casos con lo declarado en los marbetes debido probablemente a la estandarización de los mismos. Como conclusión en este estudio comparativo entre los diferentes tipos de bebidas no alcohólicas, se puede afirmar que todas poseen actividad antioxidante en modelos *in vitro*. Esta actividad podría estar relacionada a los contenidos, tanto de vitamina C como de polifenoles. En los envases de los productos comerciales solo figura el contenido de Vitamina C, dato que es constante a pesar de analizar diferentes partidas. Es muy probable que el contenido de vitamina C declarado sea consecuencia del propio contenido y/o del agregado de ácido ascórbico como agente antioxidante. No se declara el contenido de polifenoles por lo que se podría sugerir que tales contenidos fueran incorporados en los marbetes como información complementaria de sus valores nutricionales.

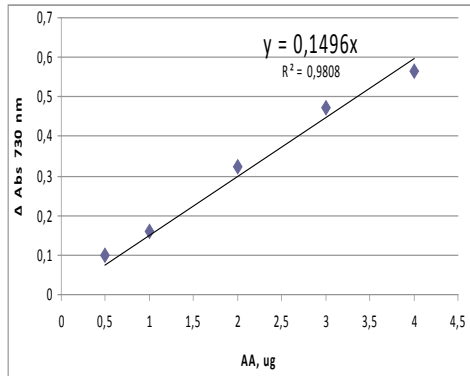
#### **Referencias**

- 1.- Gutteridge, J.M., & Halliwell, B. (1994). Oxygen-derived species: their relation to human disease and environmental stress. *Environ Health Perspec* 102 Suppl 10: 5-12.
- 2.- Aruoma, O.I, Bahorun., T & Jen, L.S. (2003). Neuroprotection by bioactive components in medicinal and food plant extracts. *Mutat Res* 544: 203-215.
- 3.- Rakesh Sharma (2014) Polyphenols in Human Health and Disease. *En Diverse disease and physiological states modified by polyphenols*. Chapter 59. Elsevier Inc. All rights reserved.
- 4.- Sripakdee, T., Sriwicha, A., Jansam, N., Mahachai, R. and Chanthai, S. (2015) Determination of total phenolics and ascorbic acid related to an antioxidant activity and thermal stability of the Mao fruit juice. *International Food Research Journal* 22(2): 618-624
- 5.- 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
- 6.- Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. (1999). *Free Rad. Biol. Med.* 26: 1231-1237.

7.- Chanson-Rolle,A., Braesco, V., Chupin, J., Laurence Bouillot. L. Nutritional Composition of Orange Juice: A Comparative Study between French Commercial and Home-Made Juices. Food and Nutrition Sciences (2016), 7, 252-261.

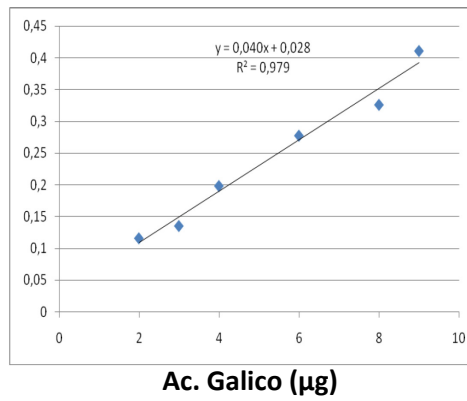
**Curvas de calibración**

**ABTS**



**Polifenoles**

Abs.760nm



**DCPI**

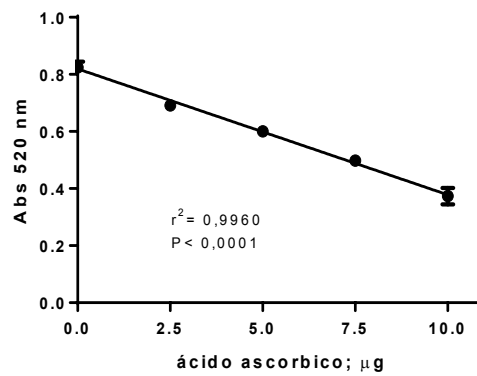


Tabla 2

Los valores son promedios  $\pm$  DS. \*  $P < 0.01$  para cada grupo y cada tipo de ensayo

Bebida	Nombre comercial y Vit.C declarado (mg/200 mL)	Contenido de Vit.C (obtenido) (mg AA/dL)	Contenido de polifenoles (mgEAG/dL)	ABTS (mg EAA./ dL)
<b>JN</b> Naranja Limòn Pomelo Mandarina	-----	53.9 $\pm$ 5.3 (n= 6)* 36.9 $\pm$ 3.9 (n=5) 36.7 $\pm$ 1.4 (n=4) 18.8 $\pm$ 1.8 (n=3)	58.2 $\pm$ 6.2 (n=6) 30.6 $\pm$ 4.7 (n= 4)* 58.7 $\pm$ 1.5 (n= 3) 51.2 $\pm$ 1.6 (n=3)	EAA/ dL 79.3 $\pm$ 2.1* (n=6) 59.5 $\pm$ 1.6 (n= 3) 59.3 $\pm$ 2.0 (n=3) 48.2 $\pm$ 5.2 (n=3)
<b>JR</b>	Citric Naranja (69) Pomelo ( 64 ) Purosol Naranja (67) Pomelo (60) Tropicana Naranja (50) Manzana (ND)	31.5 $\pm$ 4.4 (n=6) 40.8 $\pm$ 3.8 (n=4) 24.3 $\pm$ 4.3 (n=4) 20.0 $\pm$ 3.8 (n = 4) 61.8 $\pm$ 6.6 (n=3)* 16.2 $\pm$ 1.4 (n=3)	65.8 $\pm$ 7.3 (n=4) 74.6 $\pm$ 1.5 (n=3) 59.2 $\pm$ 3.3 (n=3) 46.7 $\pm$ 4.5 (n=3) 78.2 $\pm$ 13.9 (n=3) 24.5 $\pm$ 2.3 (n=3)	86.6 $\pm$ 3.8 60.5 $\pm$ 1.5 80.8 $\pm$ 4.7 (n= 3) 66.9 $\pm$ 3.2 (n=3) 142.3 $\pm$ 5.5 * No determinado
<b>JC</b>	Cepita Naranja (45) Baggio Naranja (13)	41.7 $\pm$ 4.9 (n=5) 35.3 $\pm$ 3.3 (n=5)	63.8 $\pm$ 9.1 (n=4) 55.8 $\pm$ 6.2 (n=3)	83.3 $\pm$ 6.7 (n=4)* 63.1 $\pm$ 8.2 (n=3)

## 8. OTRAS ACTIVIDADES

### 8.1 Publicaciones (manuscrito para su publicación)

#### Estudio comparativo de la capacidad antioxidante y el contenido de polifenoles de vinos Malbec provenientes de diferentes regiones vitivinícolas de la República Argentina

Horacio Tournier<sup>a\*</sup>; Daniel Fioravanti<sup>b</sup> y Guillermo Schinella<sup>a,b</sup>

<sup>a)</sup>CIC, Pcia de Buenos Aires, <sup>b)</sup> Cátedra de Farmacología Básica, Facultad de Ciencias Médicas, UNLP, La Plata, Argentina.

#### Resumen

En este trabajo se comparó la actividad antioxidante total (CAT) y el contenido de fenoles totales y antocianinas de vinos Malbec producidos en 5 provincias ubicadas en diferentes regiones vitivinícolas de la República Argentina. La metodología aplicada incluyó ensayos *in vitro* y *ex vivo* basados en la captación de radicales libres estables (ABTS y DPPH), la reducción del Fe (III) del reactivo FRAP y la protección de la peroxidación lipídica de muestras de plasma humano. Los resultados muestran que: a) Todos vinos estudiados mostraron muy buena CAT en los distintos modelos utilizados, b) No existe diferencia significativa en el contenido de fenoles totales (FT) entre los Malbec de las regiones estudiadas, c) El nivel de antocianinas es mayor en el Malbec de Neuquén, d) Se observa una leve aunque significativa diferencia entre los vinos de Mendoza y la Rioja con respecto a los de Salta y Neuquén siendo la CAT mayor en los últimos, e) La CAT de los vinos Malbec no se correlaciona con su contenido de fenoles totales y el mayor contenido de antocianinas en el Malbec neuquino podría ser, en parte, responsable de su mayor capacidad para atrapar radicales libres y f) Los vinos Malbec de las diferentes regiones mostraron similar capacidad y potencia para inhibir la peroxidación lipídica del plasma humano, inducida por cobre. Se debe tener en cuenta que además de las diferentes características de las regiones vitivinícolas, los diferentes cultivos y procesos productivos están sometidos a otras variables, por lo que se requiere un análisis de cada cosecha para establecer los valores paramétricos que determinan la CAT de cada vino.