

“Humato Original”



Guía docente

**Estos materiales didácticos son para uso docente y de investigación.
Queda prohibida su comercialización o modificación.**

1. Notas al profesor:

Se recomienda empezar por la presentación, poniendo al alumnado en el papel de investigadores en una empresa encargada de detectar fraudes alimentarios. Tendrán que comprobar si el producto en cuestión, una variedad de tomate mejorada, contiene más pigmentos antioxidantes que otros. El taller práctico está diseñado para que el alumnado trabaje en grupos, de unas 5 personas.

Antes de empezar con la cromatografía, se recomienda que los distintos grupos trabajen para plantear la hipótesis, pero no que diseñen la técnica ni decidan sobre los controles, si esta y el concepto control es nuevo para ellos. Al finalizar la cromatografía, se recomienda dejar un tiempo a los grupos para que discutan los resultados, y luego expongan sus conclusiones al resto, para así discutirlos de forma crítica.

Tiempos:

- Realización de la práctica: 20-30 minutos.
- Reacción: 1 hora (durante la cual se puede volver a la presentación para hablar de concepto de mejora vegetal y la evolución de las técnicas a lo largo del tiempo).

2. "Humato Original": introducción

Recientemente habéis empezado a ver un nuevo tipo de tomate en los supermercados bajo el nombre "Humato". Viene acompañado de una agresiva campaña publicitaria que alaba sus propiedades nutricionales. Lo que más se destaca es su poder antienvjecimiento y anticancerígeno debido a su alto contenido en antioxidantes.

Vosotros pertenecéis a una empresa encargada de detectar fraudes alimentarios, y queréis comprobar si lo que dice la publicidad es cierto, así que os decidís a analizar unas muestras del nuevo tomate.

¿Qué son y cómo funcionan los antioxidantes?

Los antioxidantes son moléculas complejas que tienen un gran poder reductor, es decir, pueden donar electrones a otras moléculas para llevarlas a su estado reducido.

En condiciones normales, al obtener energía, las células no son 100% eficientes, y pueden liberar especies reactivas de oxígeno, abreviados ROS, como el ion superóxido (O₂⁻) o el agua oxigenada (H₂O₂). Las ROS tienen un gran poder oxidante, y tienen efectos tanto positivos como negativos. Dentro de los positivos, pueden inducir la expresión de genes de defensa, pero un exceso de ROS puede

inclinan la balanza hacia los efectos negativos. Por ejemplo, al oxidarse las proteínas LDL, que transportan lípidos desde los tejidos a la sangre, se favorece la deposición de grasa en las arterias. Otro ejemplo es la capacidad que tienen las ROS de dañar el ADN y el ARN y provocar mutaciones, lo que puede acabar desencadenando enfermedades, la proliferación incontrolada de células (tumor) o la muerte celular (apoptosis).

Las células tienen mecanismos para evitar esto, como son la producción de antioxidantes, que evitan la formación de ROS y son capaces de oxidarse a ellas mismas. La ingesta de alimentos antioxidantes puede contrarrestar, en parte, el exceso de ROS que se puede producir cuando el estrés ambiental de la célula aumenta (falta de nutrientes, exceso de producción de energía, falta de hidratación, daños por radiación UV), y así favorecer el funcionamiento normal del organismo.

Tipos de antioxidantes

Los antioxidantes son moléculas lipídicas o grasas (solubles en disolventes orgánicos como el etanol).

Una lista de los antioxidantes más importantes que nos podemos encontrar en los alimentos son:

- Ácido ascórbico (Vitamina C) → protege de la oxidación del ADN, es abundante en los cítricos, caquis, kiwis y verduras como los pimientos.
- α -Tocoferol (Vitamina E) → evita la oxidación de las membranas celulares, está presente en aceites vegetales, frutos secos y soja.
- Carotenoides:
 - Licopeno → protege de la oxidación sobre todo en la próstata y la vejiga, es abundante en los frutos de color rojo (tomate, sandía, pomelo rosa).
 - β -Caroteno (pro-Vitamina A) → protege las mucosas y participa en la visión, es abundante en las frutas y verduras de tonos naranjas (zanahoria, naranja, calabaza...).
 - Xantofilas → también participa en la visión, es de color amarillo y está presente en verduras como la espinaca, el brécol, el puerro, o en la yema de huevo y el plátano, así como en algunas flores comestibles (calabacín y calabaza).
- Flavonoides → tienen un gran poder antioxidante contra los ROS, algunos tipos como las antocianinas dan colores desde el rojo hasta el azul, pasando por el morado en moras, frambuesas, uvas, granadas y arándanos.

3. Realización de la práctica

Pregunta a responder con la práctica: ¿Qué debéis hacer en vuestra empresa para saber si hay fraude alimentario en el “Humato”?

Tendréis que comprobar si el “Humato” contiene más antioxidantes que un tomate normal para saber si es cierta la publicidad.

Hipótesis: ¿qué esperáis encontrar?

Esperamos que sí, que el “Humato” tenga un mayor contenido en antioxidantes como las antocianinas (color morado) debido al color oscuro de este tomate y a lo que dice la publicidad.

Método: ¿cómo vais a hacerlo?

Nota: los antioxidantes se pueden separar por tamaño, y además son solubles en disolventes orgánicos.

La cromatografía nos permitirá separar los distintos pigmentos antioxidantes del tomate según su tamaño y solubilidad en el disolvente orgánico utilizado. En concreto, utilizaremos cromatografía en capa fina (papel), ya que así podremos visualizar los resultados sin necesidad de maquinaria. El disolvente utilizado será etanol, pero también sirve acetona u otro disolvente orgánico similar.

Diseño del experimento (¿qué muestras vais a utilizar? ¿vais a compararlas con alguna muestra control? ¿utilizaréis alguna muestra repetida (réplica)? ¿cómo haréis el experimento?)

Utilizaremos el tomate “Humato” y un tomate de ensalada típico para compararlos. Además, pondremos un tomate verde para observar cómo evolucionan los pigmentos a lo largo de la maduración del fruto.

Como control de clorofilas, servirán el tomate verde o una hoja de espinaca.

Como control de antocianinas, una mora será suficiente.

Utilizaremos 2-3 réplicas de cada tomate problema, y 1 de los controles.

Materiales que necesitaréis:

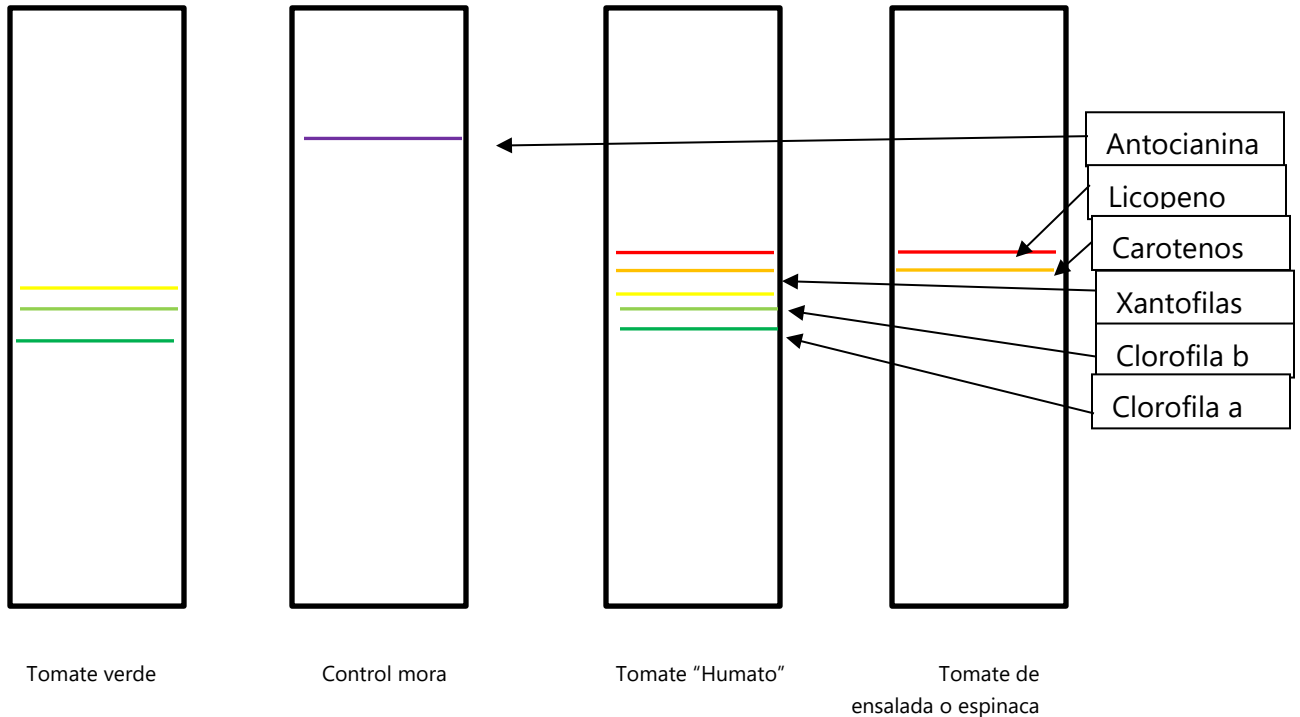
- Papel de filtro
- Mortero o batidora
- Vasos
- Tomate verde, tomate de ensalada maduro, tomate de la variedad Kumato, hojas de espinaca (control clorofilas), mora (control antocianinas)
- Etanol 96% (disolvente orgánico)

Experimento (escribid aquí los pasos que vayáis realizando, así cualquiera podrá reproducir vuestro experimento)

1. Triturar las muestras de fruto en el mortero con 5-10 ml de etanol.
2. Recortar el papel de filtro en tiras alargadas (un par de centímetros más de la altura del vaso de precipitados).
3. Agujerear el papel de filtro a 1-1,5 cm de la parte superior.
4. Una vez los pigmentos tiñan la solución, coger un poco de pulpa o de piel (preferentemente piel), y ponerla a 1 cm del extremo de uno de los papeles de filtro.
5. Llenar con medio dedo de etanol el vaso de precipitados.
6. Atravesar el agujero del papel con un bolígrafo o lápiz e introducir el papel en el vaso de precipitados. Deberá estar en contacto con el etanol del vaso, pero sin tocar el trozo de piel y sostenerse gracias al bolígrafo.
7. Esperar 1 hora aproximadamente, a oscuras, o hasta que se vean los pigmentos completamente separados entre sí y el etanol haya subido hasta $\frac{3}{4}$ o más del papel.
8. Visualizar.

Observaciones (¿Has observado algo interesante durante la práctica? ¿Qué problemas has tenido y cómo los solucionaste?)

Resultados (¿Habéis observado algo interesante durante la práctica? ¿Qué problemas habéis tenido y cómo los habéis solucionado?)



Discusión de los resultados (¿Qué diferencias hay entre las muestras? ¿Son iguales todas las réplicas? ¿Han sido útiles los controles? ¿Qué pasa con la hipótesis inicial?)

El tomate verde y la hoja presentan solamente clorofilas y xantofilas como pigmentos que, además, son fotosintéticos, es decir, son los que participan principalmente en la fotosíntesis.

La mora presenta principalmente una banda de antocianinas, de un color morado-azulado, responsable de su alta actividad antioxidante.

El tomate maduro, como consecuencia de este proceso de maduración, además de estar más blando, ha perdido la clorofila y ha sintetizado licopeno y carotenos.

El tomate "Humato" presenta un fenotipo interesante; en vez de producir antocianinas como esperábamos, ha conservado la clorofila. Como el tomate maduro, tiene licopeno y β -caroteno.

Comparando ambos tipos de tomate, no podemos llegar a una conclusión sobre las diferencias en su poder antioxidante, ya que ambos tienen pigmentos diferentes y carecen de otros.

El siguiente paso sería hacer una cuantificación más detallada con un cromatógrafo, pero vosotros podéis investigar en Internet las propiedades de estos antioxidantes que hemos detectado y elaborar vuestras propias conclusiones. ¿Utilizaríais cada tipo de tomate para diferentes dietas o etapas de la vida? ¿Tiene la clorofila algún poder antioxidante? En ese caso, ¿qué tomate crees que será más antioxidante?

Conclusiones (¿Es veraz la publicidad del “Humato”? Elabora una pequeña nota de prensa comentando los resultados al público general.)