

(S4-P22)

## EVOLUCIÓN DE COMPUESTOS BIOACTIVOS DURANTE LA MADURACIÓN DEL TOMATE

JAVIER GARCÍA-ALONSO<sup>(1)</sup>, KARIN JACOB<sup>(1)</sup>, M. DOLORES INIESTA<sup>(1)</sup>, M. CARMEN<sup>(1)</sup> MARTÍNEZ, GASPAR ROS<sup>(1)</sup> y M. JESÚS PERIAGO<sup>(1)</sup>

<sup>(1)</sup>Departamento de tecnología de los Alimentos, Nutrición y Bromatología  
Área de Conocimiento Nutrición y Bromatología. Facultad de Veterinaria  
Universidad de Murcia, Campus de Espinardo, 30071-MURCIA  
Telf/Fax: 0034 968 36 47 98, E-mail: [fjgarcia@um.es](mailto:fjgarcia@um.es)

**Palabras clave:** licopeno – isomerización – folatos – polifenoles – vitamina C

### RESUMEN

El tomate contiene diferentes clases de compuestos bioactivos, mayoritariamente antioxidantes, tales como carotenoides, ácido ascórbico (vitamina C) y compuestos fenólicos, los cuales se asocian con los efectos beneficiosos para la salud atribuidos al consumo de este fruto. Además, aunque en cantidades menores, el tomate contiene folatos, que también desempeñan importantes funciones en el organismo. El objetivo del presente estudio ha sido estudiar la evolución del contenido de los principales compuestos bioactivos de tomates en función del grado de madurez. Para ello se utilizaron tomates de la variedad Ronaldo, cultivados en el campo de Cartagena por el Departamento de Producción de la empresa Tropicana Alvalle, S.L. Los tomates se clasificaron en función del grado de madurez, analizando su contenido en carotenoides, ácido ascórbico y folatos por HPLC, y su contenido en compuestos fenólicos y actividad antioxidante total por técnicas espectrofotométricas.

En lo que respecta al contenido en carotenoides, observamos que el contenido en licopeno y  $\beta$ -caroteno incrementaron a medida que maduraban los frutos, mientras que la luteína experimentó una disminución durante el proceso de maduración. En el caso del licopeno observamos un aumento del grado de isomerización (aparición de formas *cis*), un fenómeno que desde un punto de vista nutricional podría resultar ventajoso, ya que los isómeros *cis* parecen ser mejor absorbidos a nivel intestinal aumentando por tanto la biodisponibilidad del licopeno. El contenido en ácido ascórbico disminuyó a lo largo de la maduración mientras que en el caso de los folatos, compuestos fenólicos y actividad antioxidante total, los mayores niveles se observaron en los estadios intermedios de la maduración (rosa y rojo luminoso). Estos resultados ponen de manifiesto claras diferencias en la evolución de los principales compuestos bioactivos del tomate y revelan que no todas estas sustancias alcanzan su máxima concentración en la madurez completa del fruto.

## CHANGES IN BIOACTIVE COMPOUNDS DURING TOMATO RIPENING

**Keywords:** lycopene - isomerization - folates – polyphenols – vitamin C

### ABSTRACT

Tomato is the second-most important crop in Europe and its consumption has been associated with a decrease in the incidence of major chronic diseases, such as cardiovascular disease and certain types of cancer. The beneficial effects of tomato consumption have been generally attributed to the fact that it provides an optimal mix of bioactive compounds such as carotenoids, tocopherols, vitamin C and phenolic compounds. In addition, although in lower amounts, tomato also contains folates which play a key role in human metabolism and therefore deserve further investigation. The bioactive compound profile of tomatoes can be affected by pre-harvest factors - cultivar, cultural practices or the ripening stage at harvest - that might determine their nutritional value and so their feasibility for the development of tomato products with increased health benefits. For this reason, the aim of this work was to study the effect of the ripening stage on the bioactive compound pattern of tomatoes. For that, we used tomato c.v. Ronaldo supplied by Tropicana-Alvalle S.L and grown in Cartagena (Murcia, Spain).

In general, differences in the content of bioactive compounds were observed depending on the ripening stage. Carotenoids lycopene and  $\beta$ -carotene increased with ripening, whilst lutein decreased. Isomerisation of lycopene also increased with maturity. Unlike carotenoids, the folates, vitamin C and total phenols contents, as well as the total antioxidant activities were higher at the intermediate ripening stage. Overall, results confirm the highest levels of carotenoids in full-ripe tomatoes but showed that not all the biologically active compounds necessarily increase in tomatoes harvested at full ripeness.

### INTRODUCCIÓN

Estudios epidemiológicos han relacionado el consumo de tomate con una menor incidencia de algunas enfermedades crónicas tales como el cáncer o las enfermedades cardiovasculares. El tomate contiene diferentes clases de compuestos bioactivos, mayoritariamente antioxidantes, tales como carotenoides, ácido ascórbico (vitamina C) y compuestos fenólicos, los cuales se asocian con los efectos beneficiosos para la salud atribuidos al consumo de este fruto (Raffo et al., 2002). El licopeno es el carotenoide mayoritario en el tomate, >80% en el tomate completamente maduro, y contribuye a la coloración rojiza característica. El licopeno ha mostrado una elevada actividad antioxidante lo que ha despertado un gran interés por su estudio entre la comunidad científica. Además, el tomate contiene  $\beta$ -caroteno, que posee actividad provitamina A, y luteína que se asocia con un menor riesgo de cancer de pulmón. El tomate también ha despertado interés por ser una buena fuente de vitaminas C, E y polifenoles (Lenucci et al., 2006).

Aunque en cantidades menores, el tomate contiene folatos, que también desempeñan importantes funciones en el organismo. Los folatos son cofactores esenciales en reacciones de síntesis de aminoácidos (glicina, serina, metionina), purinas y timidilato. Las plantas y los microorganismos son capaces de sintetizarlos, pero los humanos carecen de esta capacidad de síntesis y por tanto deben incorporarlos a través de la dieta. Desde el punto de vista nutricional y de la salud, la deficiencia en folatos es un problema de índole mundial que se asocia con la espina bífida (defectos en la formación del tubo neural) y otras enfermedades

congénitas, anemia megaloblástica, enfermedades cardiovasculares y ciertos tipos de cáncer (de la Garza et al., 2007).

Sin embargo, el contenido en compuestos bioactivos puede verse afectado por diversos factores previos a la recolección. Entre ellos cabe destacar el estado de madurez en el que se recolecta el fruto (Arias et al., 2000; Raffo et al., 2002). Por ello, el objetivo del presente estudio ha sido estudiar la evolución del contenido de los principales compuestos bioactivos de tomates en función del grado de madurez. Tomates de la variedad Ronaldo, cultivados en el campo de Cartagena por el Departamento de Producción de la empresa Tropicana Alvalle, S.L. fueron clasificados en función del grado de madurez, analizando su contenido en carotenoides, ácido ascórbico y folatos por HPLC, y su contenido en compuestos fenólicos y actividad antioxidante total por técnicas espectrofotométricas.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### 1. Muestras.

Las muestras analizadas fueron tomates de la variedad Ronaldo suministrados por Tropicana-Alvalle S.L., en cuatro estados de maduración; verde, rosa, rojo luminoso y rojo intenso.

### 2. Determinaciones analíticas.

#### 2.1. Carotenoides.

La extracción de carotenoides se realizó por triplicado con 35 mL de una mezcla metanol:tetrahidrofurano (1:1) conteniendo un 0,1% de butil hidroxitolueno (BHT) como antioxidante. El extracto se filtró a vacío a través de papel Whatman n°5 y el solvente se evaporó en un rotavapor a 40°C. El extracto seco se resuspendió en 10 mL de mezcla metanol:éter tert-butilmetílico (1:1) antes de su análisis por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC). Para el análisis cromatográfico se empleó como fase móvil metanol:éter tert-butilmetílico, caudal 1,3 mL/min, en sistema de gradiente, tal y como se muestra en el cuadro siguiente:

Tiempo (min)	Metanol (%)	éter tert-butilmetílico (%)
0	90	10
35	55	45
45	40	60
56	40	60
60	90	10

La separación cromatográfica se realizó en un sistema Merck Hitachi equipado con una bomba L-2130, un detector de diodos en línea D-7455 HSM y una columna C30. Para la identificación de los carotenoides se emplearon patrones de licopeno, luteína y  $\beta$ -caroteno. Como patrón interno se empleó apo- $\beta$ -8'-carotenal (Böhm 2001; Seybold et al., 2004).

#### 2.2. Polifenoles.

Previamente a su análisis por colorimetría (Singleton y Rossi, 1956), los compuestos fenólicos fueron extraídos por un procedimiento de hidrólisis ácida/básica. Para la extracción, a 2 g de muestra se adicionó 1 mL de HCl 1 M, incubándose a 37°C durante 30 min en agitación. Posteriormente se adicionó 1 mL de NaOH (2 M en 75% metanol), incubándose igualmente a 37°C durante 30 min en agitación. Tras la incubación, se añadió 1 ml de ácido metafosfórico 0.75 M y tras agita durante 1 min se centrifugó durante 5 min a 5000 rpm. El sobrenadante se llevó a un matraz de 10 mL y el precipitado restante se resuspendió en 1 mL

de acetona:agua (1:1). Tras agitar y centrifugar (5000 rpm/5 min), los sobrenadantes se unieron en el matraz de 10 mL y se enrasó con mezcla acetona:agua. Para el análisis colorimétrico, 100  $\mu$ L de muestra se mezclaron con 500  $\mu$ L de reactivo Folin-Ciocalteu 0.2 N y 400  $\mu$ L de solución de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  2 M. Tras 2 horas de incubación se leyó la absorbancia a 750 nm en un espectrofotómetro Hitachi U-2000. Como patrón se utilizó ácido gálico.

### 2.3. Vitamina C.

La cuantificación de la vitamina C se realizó mediante HPLC en fase reversa, de acuerdo a la metodología descrita por Esteve (1995). Para ello, las muestras se extrajeron 50 mL de ácido metafosfórico al 1% y tras agitar durante 10 minutos, se procedió a su filtración. En primer lugar se utilizó un filtro de papel Whatman nº1, recogiendo el volumen que fue nuevamente filtrado utilizando un filtro Millipore de 0'45  $\mu$ m de tamaño de poro, 20  $\mu$ L del extracto resultante fueron inyectados en el HPLC. El análisis por HPLC se realizó en un equipo Merck Hitachi equipado con una bomba L-2130, un detector de diodos en línea D-7455 HSM, empleando una columna de fase reversa Lichospher 100 RP-18. Como fase móvil se utilizó tampón fosfato 0,1 M, pH 3,5, con un caudal de 1 mL/minuto. La Vitamina C presente en la muestra se cuantificó como ácido L-(+)-ascórbico a 245 nm.

### 2.4. Actividad antioxidante total.

La extracción de las muestras se realizó en agua destilada (2 g/10 mL) y la actividad antioxidante total de los extractos se analizó mediante dos métodos colorimétricos; el ensayo TEAC (capacidad antioxidante expresada en equivalentes Trolox) y el ensayo FRAP (capacidad reductora del hierro/poder antioxidante).

El ensayo TEAC (Miller et al., 1996) se basa en la captación del radical catión del ácido 2,2'-azino-di-[3-etilbenzotiazolinsulfónico] (ABTS) por los antioxidantes presentes en la muestra. Para producir el radical, se filtra una solución de ABTS en tampón fosfato pH 7,4 a través de  $\text{MnO}_2$ , filtrándose posteriormente usando un filtro de jeringa de 0,2  $\mu$ m. Para el análisis, la solución anterior de ABTS se diluye en tampón fosfato hasta alcanzar una absorbancia a 734 nm de 0,700 unidades de absorbancia. Posteriormente, 100  $\mu$ L de muestra se mezclan con 1 mL de solución diluida de ABTS y se determina la decoloración del ABTS a 734 nm tras 2 minutos de incubación. Como patrón se utiliza ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromán-2-ácido carboxílico Trolox.

El ensayo FRAP (Benzie y Strain, 1996) se basa en la reducción de un complejo de hierro y tripiridil-s-triazina. A bajo pH y en presencia de antioxidantes (reductores), la forma férrica del complejo hierro-tripiridil-triazina ( $\text{Fe}^{\text{III}}$ -TPTZ), se reduce a su forma ferrosa ( $\text{Fe}^{\text{II}}$ -TPTZ). El complejo reducido posee una coloración azul intensa que presenta su máxima absorción a 593 nm. Los valores de capacidad antioxidante se obtienen comparando los cambios en la absorbancia, a 593 nm, de las mezclas de reacción en que están presentes las muestras, con mezclas que contienen soluciones patrón de concentraciones conocidas de  $\text{FeSO}_4$ . La aparición del color indicará la capacidad reductora de la muestra, que será proporcional a la concentración de antioxidantes en la misma.

### 2.5. Folatos.

Para la determinación de folatos se siguió la metodología descrita por Vatheristo et al. (1997). Los estándares utilizados fueron: Ácido Fólico (PGA) obtenido por Sigma Chemical, España, y la forma sintética del 5- metiltetrahidrofolato (5- MTHF), Metafolin<sup>®</sup> (Merck KGaA, Darmstadt, Alemania) y los reactivos empleados los siguientes:

*Ches-Hepes*: 50mM Ches/50 mM Hepes a pH 7.85 (ajustado con KOH 6%) conteniendo 2% de ascorbato L (+) sódico y 2-mercaptoetanol 10 mM.

*Solución de purificación:* se disolvió 4'0827 g de  $K_2HPO_4$  en 100 ml de agua Milli-Q, y se ajustó el pH a 7 para posteriormente añadirle 100  $\mu$ l de 2-mercaptoetanol.

*Solución de elución:* se diluyó 0'4102 g de acetato sódico, 5 g de cloruro sódico y 0'5 g de ácido ascórbico en 50 ml de agua Milli-Q.

*Tampón fosfato 30 mM pH 2.2:* diluir 4.08 g de  $PO_4KH_2$  en un litro de agua Milli-Q ajustando el pH a 2.2 con la solución de 2 ml de  $PO_4H_3$ /litro de agua Milli-Q.

*Extracción de folatos:* La preparación de las muestras y los estándares se debe realizar en condiciones de reducida luminosidad y evitando el contacto con el aire, preferiblemente bajo atmósfera de nitrógeno a fin de proteger los compuestos folatos. Se tomaron de 10 a 12 g de muestra y se le adicionó 25 ml de tampón Ches-Hepes (Sigma-Aldrich), 50mM Ches/50 mM Hepes (ajustado pH 7,85 con KOH) y conteniendo 2% de ascorbato sódico y de 2-mercaptoetanol 10 mM. Se homogeneizaron las muestras, sometiendo a cada muestra a atmósfera de nitrógeno durante 10 segundos. Los tubos se introdujeron en un baño en ebullición durante 10 minutos, manteniendo el baño en agitación constante. Tras este tiempo, las muestras fueron enfriadas inmediatamente en hielo. Una vez frías, se homogeneizaron y transfirieron a matraces de 50 ml donde se enrasaron con tampón de extracción.

*Purificación de los folatos:* Se tomó 5-10 ml de extracto de cada una de las muestras a cuantificar y se pasaron por filtros de 0,45  $\mu$ m de tamaño de poro con lecho de polipropileno, de 25 mm de diámetro). Posteriormente a la filtración las muestras fueron purificadas para una mejor cuantificación, empleando columnas de afinidad o cartuchos (columnas LiChrolut®, para extracción en fase sólida intercambio fuerte de aniones (SAX), 500 mg). Se lavaron los cartucho con hexano (2 veces), seguido de metanol, agua Mili-Q y finalmente se hace pasar el tampón pH 7,0 (solución de purificación). Se vertieron entonces las muestras en los cartuchos y se les dejó pasar lentamente a través de estos. Antes de que acabaran de pasar las muestras se lavaron con agua Mili-Q las paredes del cartucho. Posteriormente, se les añadió entre 2 y 2,5 ml de solución de elución para ser recogidos en viales previamente pesados. El volumen recogido será la muestra a cuantificar en HPLC.

*Análisis de folatos por HPLC:* Previamente al análisis, el sistema debía ser estabilizado, por lo que se hacía pasar un gradiente de acetonitrilo y tampón potasio fosfato 30 mM, pH 2,2. Las condiciones iniciales del gradiente para la fase móvil fueron 6 % de Acetonitrilo y un 94 % de tampón fosfato que se mantuvieron de manera isocrática durante los primeros 6 minutos. Posteriormente la concentración del Acetonitrilo fue en aumento lineal hasta un 25 % durante 20 minutos. El tiempo de adquisición de datos fue de 30 minutos y el volumen de inyección fue de 40  $\mu$ l. La absorbancia de todos los folatos en elución fue monitorizada por un detector de ultravioleta y uno de fluorescencia. El ácido fólico únicamente es visible en el rango de ultravioleta., a una longitud de onda de 290 nm, y Metafolin® se detecta tanto en fluorescencia como en ultravioleta, aunque únicamente fue detectado por fluorescencia por su mayor sensibilidad, con unos valores de excitación y emisión de 280 nm y 350 nm respectivamente. La identificación de los picos se basó en el tiempo de retención, comparando los pico en fluorescencia y ultravioleta de los patrones con los de nuestras muestras problema.

### 3. Análisis estadístico.

Para el tratamiento de datos se utilizó el paquete estadístico SPSS 11.0. Las diferencias entre medias se analizaron mediante ANOVA, tomando como límite de significación se el 5%.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La **Figura 1** muestra la evolución de los carotenoides detectados en el análisis cromatográfico. Tal y como puede observarse, el carotenoide mayoritario en el tomate fue el licopeno, el cual alcanza valores superiores a los 100 mg/kg de peso fresco en el estado de madurez total. En cuanto a la evolución del contenido en licopeno, se observa una clara tendencia a aumentar a medida que el fruto se acerca a la madurez completa. En particular, el aumento más destacable se observa cuando empieza a materializarse la coloración rojiza del fruto. Una tendencia similar se observa en el caso de los isómeros *cis* del licopeno, los cuales son ya detectables en el estado de madurez intermedio caracterizado por la coloración rosácea del fruto. También muestra esta misma tendencia el contenido en  $\beta$ -caroteno, el cual alcanza su máxima concentración en el estado de madurez total. Por el contrario, la luteína muestra un comportamiento opuesto ya que la mayor concentración se encuentra en los tomates verdes, disminuyendo progresivamente a medida que el fruto madura. Resultados similares han sido descritos por otros autores en tomates de las variedades *Cherry* (Raffo et al., 2002) y *Laura* (Arias et al., 2000), aunque estos autores se centran fundamentalmente en el estudio del licopeno y el  $\beta$ -caroteno y no presentan información relativa a la evolución del contenido en luteína.

La **Tabla 1** muestra la evolución de la actividad antioxidante total, polifenoles, vitamina C y folatos, en función del estado de maduración. En este caso observamos que la evolución de estos parámetros difiere de la observada en el caso de los carotenoides, ya que estos en general aumentan en los estados intermedios de la maduración. Así por ejemplo se observa una estrecha relación entre el comportamiento de la actividad antioxidante total y la evolución de los niveles de compuestos fenólicos y vitamina C, ya que estos compuestos bioactivos son los principales contribuidores a los valores de actividad antioxidante por ambos métodos (Rice-Evans et al., 1997; Prior et al., 2005). En el estudio de Raffo et al. (2002) se describe un comportamiento similar de los principales antioxidantes hidrosolubles (compuestos fenólicos y vitamina C), los cuales muestran valores más elevados en los estadios intermedios de la maduración, lo que se traduce, al igual que en nuestro estudio, en un aumento de la actividad antioxidante total en dichos estadios y por tanto en valores más bajos de actividad en el estado verde y maduro.

En cuanto al contenido en folatos, la única forma detectada en el análisis cromatográfico fue el 5-metiltetrahidrofolato (5-MTF), el cual mostró un comportamiento similar al del resto de compuestos bioactivos hidrosolubles. No obstante, su contribución a la actividad antioxidante del tomate debe ser investigada en mayor profundidad ya que se encuentra en cantidades inferiores ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) a las del resto de compuestos bioactivos.

## CONCLUSIONES

Nuestros resultados ponen de manifiesto claras diferencias en la evolución de los principales compuestos bioactivos del tomate y revelan que no todas estas sustancias alcanzan su máxima concentración en la madurez completa del fruto.

En el caso del licopeno observamos un aumento del grado de isomerización (aparición de formas *cis*), un fenómeno que desde un punto de vista nutricional podría resultar ventajoso, ya que los isómeros *cis* parecen ser mejor absorbidos a nivel intestinal aumentando por tanto la biodisponibilidad del licopeno.

Futuros trabajos de nuestro grupo abordarán el estudio más detallado de la isomerización del licopeno durante el procesado del tomate, así como la contribución de los folatos a la actividad antioxidante del tomate fresco y procesado.

### **AGRADECIMENTOS**

A la Unión Europea por la financiación del proyecto integrado LYCOCARD (VI Programa Marco de la UE). A Tropicana-Alvalle S.L. por la proporcionar las muestras analizadas en el presente estudio. Al Ministerio de Educación y Ciencia por la Acción Complementaria CGL2006-26965-E/ALI. A la Fundación Séneca de la CARM y Fondo Social Europeo por la beca de investigación de MD Iniesta y K Jacob.

## BIBLIOGRAFÍA

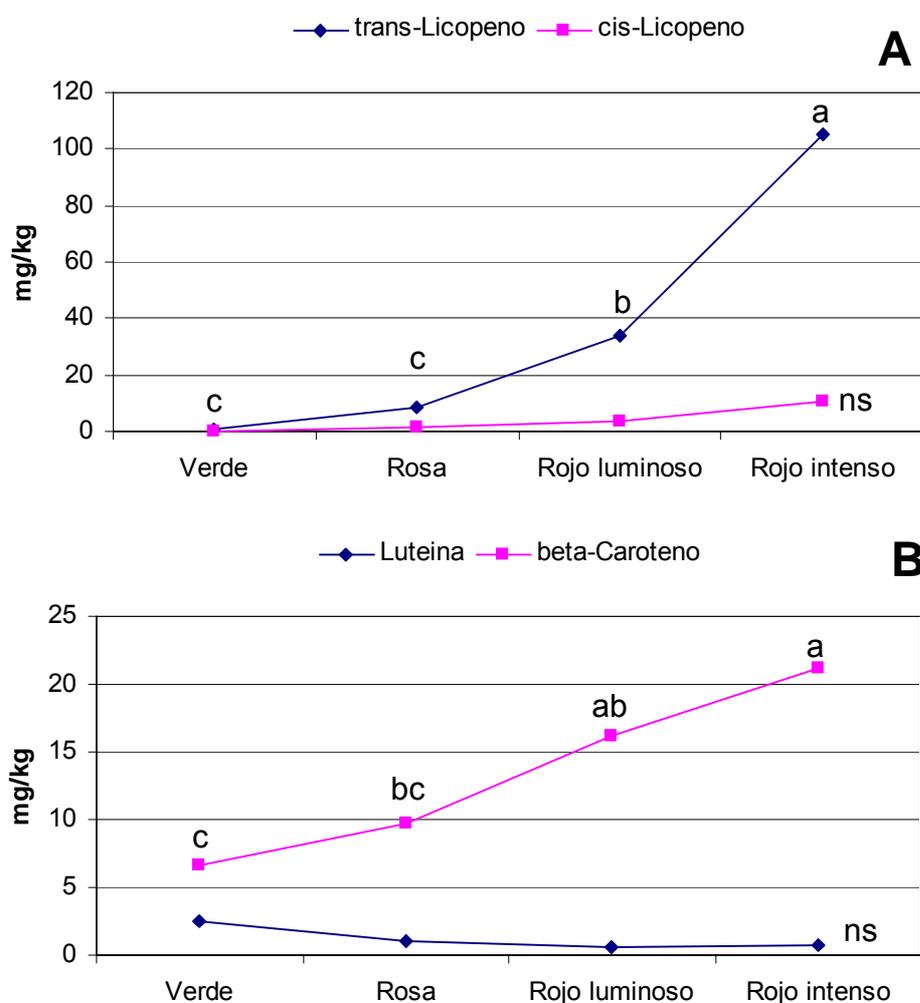
- Arias R, Lee TC, Logendra L, Janes H. 2000. Correlation of lycopene measured by HPLC with the L\*, a\*, b\* color readings of a hydroponic tomato and the relationship of maturity with color and lycopene content. *J Agric Food Chem* **48**: 1697-1702
- Benzie IFF, Strain JJ. 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. *Anal Biochem.* **239**:70-76
- Böhm V. 2001 Use of column temperature to optimise carotenoid isomer separation by C30 high performance liquid chromatography. *J Sep Sci* **24**: 955-959
- De la Garza RI, Gregory JF, Hanson AD. 2007. Folate biofortification of tomato fruit. *Plant Biol.* **104**:4218-4222
- Esteve, MJ, Farré R, Frígola A, López JC, Romera JM, Ramírez M, Gil A. 1995. Comparison of voltammetric and high performance liquid chromatographic methods for ascorbic acid determination in infant formulas. *Food Chem.* **52**:99-102
- Lenucci MS, Cadinu D, Taurino M, Piro G, Dalessandro G. 2006. Antioxidant Composition in Cherry and High-Pigment Tomato Cultivars. *J Agric Food Chem.* **54**:2606-2613
- Miller NJ, Sampson J, Candeias LP, Bramley PM, Rice-Evans CA. 1996. Antioxidant activities of carotenes and xanthophylls. *Fed Eur Biochem Soc Lett.* **384**:240-242
- Prior RL, Wu X, Schaich K. 2005. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *J Agric Food Chem.* **53**:4290-4302
- Raffo A, Leonardi C, Fogliano V, Ambrosino P, Salucci M, Gennaro L, Burgianesi R, Giuffrida, Quaglia G. 2002. Nutritional value of Cherry tomatoes (*Lycopersicon esculentum* C.v. Naomi F1) harvested at different ripening stages. *J Agric Food Chem* **50**: 6550-6556
- Rice-Evans CA, Miller NJ, Paganga G. 1997. Antioxidant properties of phenolic compounds. *Trends Plant Sci* **2**:152-159
- Seybold C, Fröhlich K, Bitsch R, Otto K, Böhm V. 2004. Changes in contents of carotenoids and vitamin E during tomato processing. *J Agric Food Chem* **52**: 7005-7010
- Singleton VL, Rossi JAJr. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am J Enol Vitic.* **16**:144-158
- Vahteristo L, Ollilainen V, Varo P. 1997. Liquid chromatographic determination of folate monoglutamates in fish, meat, egg, and dairy products consumed in Finland. *JAOAC* **80**:373-378

## TABLAS Y FIGURAS

**Tabla 1.** Evolución de la actividad antioxidante total y compuestos bioactivos con el grado de madurez.

Estado de madurez	TEAC (mmol Trolox/kg)	FRAP (mmol Fe <sup>2+</sup> /kg)	Polifenoles (mg/kg)	Vitamina C (mg/kg)	5-MTF (µg/kg)
<i>Verde</i>	0,52 ± 0,02 <sup>c</sup>	1,40 ± 0,07 <sup>c</sup>	312,00 ± 8,14 <sup>b</sup>	0,00 ± 0,00 <sup>d</sup>	135,56 ± 13,74 <sup>c</sup>
<i>Rosa</i>	1,03 ± 0,20 <sup>a</sup>	2,04 ± 0,05 <sup>b</sup>	326,82 ± 3,54 <sup>a</sup>	100,44 ± 1,01 <sup>a</sup>	180,54 ± 5,87 <sup>b</sup>
<b>Rojo luminoso</b>	1,07 ± 0,03 <sup>a</sup>	2,35 ± 0,03 <sup>a</sup>	324,00 ± 2,64 <sup>a</sup>	67,52 ± 0,20 <sup>b</sup>	201,73 ± 16,63 <sup>a</sup>
<b>Rojo intenso</b>	0,80 ± 0,03 <sup>b</sup>	1,41 ± 0,13 <sup>c</sup>	286,63 ± 7,09 <sup>c</sup>	45,84 ± 3,58 <sup>c</sup>	172,54 ± 7,66 <sup>b</sup>

Superíndices distintos dentro de cada columna indican diferencias significativas (LSD 5%).



**Figura 1.** Evolución de los carotenoides en función del estado de maduración. (A). Evolución de los isómeros cis y trans del licopeno. (B). Evolución de los carotenoides luteina y β-caroteno. Letras diferentes indican diferencias significativas (LSD 5%). (ns), no significativo.