

PRESENCIA DE MELATONINA EN ALIMENTOS DE ORIGEN VEGETAL

Antia Verde Rodríguez
e- mail: averde@alumnos.uvigo.es

Trabajo Fin de Grado

Resumen

Tutores:

- Mercedes Gallardo Medina^{*1}

- Jesús M. Miguez Miramontes^{*2}

Departamento de Biología Vegetal
y Ciencias del Suelo¹

Departamento de Biología

Funcional y Ciencias de la Salud²

Facultad de Biología

Universidad de Vigo.

El presente estudio forma parte de un trabajo de una investigación cuyo objetivo es caracterizar la presencia de melatonina en vegetales y en alimentos de origen vegetal. Esta molécula tiene un carácter hormonal reconocido en animales, pero su presencia en vegetales conlleva interés debido, entre otros, a su potencial antioxidante. Los datos aportados en este estudio demuestran que existe una cantidad relevante de melatonina en legumbres y frutos secos y que su consumo puede ofrecer importantes beneficios al organismo.

INTRODUCCIÓN

Importancia fisiológica de los vegetales de la dieta

Hoy en día existe un gran consenso de que la ingesta de frutas y vegetales es muy importante para mantener una buena salud. Son alimentos vegetales aquellos que proceden de partes comestibles de algunas plantas, y básicamente se pueden dividir en dos grupos:

- a) hortalizas y frutas;
- b) cereales, verduras y semillas.

Las hortalizas y frutas proporcionan a la dieta elevadas cantidades de proteínas, carbohidratos y vitaminas (especialmente de los grupos A, C y E), así como minerales de gran relevancia tales como calcio y hierro. Los cereales, las verduras y las leguminosas son fuente importante de proteína vegetal y contribuyen a la formación y mantenimiento de los tejidos del organismo. Los cereales son ricos en glúcidos y suponen un gran aporte de vitaminas del grupo B. Las leguminosas, por su parte, son una de las fuentes de proteína más valiosas y complementan muy bien a las proteínas de origen animal. Además, proporcionan la mayoría de las vitaminas del grupo B (especialmente B1 y niacina), así como minerales y fibra.

Al margen de su aporte nutricional, los vegetales presentes en la dieta son importantes por el aporte de antioxidantes al organismo. Los antioxidantes son sustancias que tienen la capacidad de retardar o prevenir la oxidación de otras moléculas cuando son expuestas a un agente oxidante. El proceso de oxidación implica la transferencia de electrones de una sustancia al agente oxidante, lo que puede llevar a producir radicales libres, que son elementos capaces de existir de forma independiente y que contienen uno o más electrones libres o no apareados. La mayoría de los radicales libres son inestables y químicamente muy reactivos por lo que comienzan reacciones en cadena que pueden llegar a dañar los componentes celulares, incluido el ADN (Apel & Hirt, 2004).

La presencia de antioxidantes permite contrarrestar tanto la formación de radicales libres como los efectos derivados de los mismos. En la actualidad se conocen cientos de tipos de antioxidantes, aunque no todos actúan de la misma forma ni con la misma capacidad. Los antioxidantes pueden ser exógenos o endógenos; los endógenos son producidos por el mismo organismo como un mecanismo de defensa intrínseco, e incluyen las enzimas y coenzimas súper oxido dismutasas, catalasas, peroxidasas, GSH y el ácido úrico. Los antioxidantes exógenos están formados por elementos de la dieta de origen natural o que

son añadidos como complemento alimenticio. Las verduras y frutas contienen más antioxidantes que cualquier otro elemento natural de la dieta, sobre todo por su aporte de vitaminas (A, C y E) con potentes propiedades antioxidantes. Su aporte mineral también contribuye a la capacidad de lucha contra la formación de radicales libres con elementos como el selenio o el zinc, que son importantes para el funcionamiento de los enzimas antioxidativos. Otro grupo importante de antioxidantes de origen vegetal son los polifenoles, que incluyen las antocianinas, las flavonas y el resveratrol. Por último, se incluye el amplio grupo de los carotenoides que tienen como elementos más destacados el licopeno y el β -caroteno (Wootton-Beard & Ryan, 2011).

En los últimos años se han descubierto en algunos alimentos otros antioxidantes no nutrientes, como es el caso de la melatonina. Esta molécula puede cruzar fácilmente las membranas celulares y la barrera hematoencefálica y posee poderosas propiedades antioxidantes (Reiter *et al.*, 1996). A diferencia de otros antioxidantes, la melatonina no experimenta un ciclo redox, es decir, no experimenta la reducción y la oxidación repetidas veces, sino que cuando es oxidada forma varios productos finales estables una vez ha reaccionado con radicales libres.

Teniendo en cuenta lo expuesto anteriormente, se puede concluir que la forma más natural de suplir los antioxidantes para proteger al organismo del efecto oxidativo producido por los radicales libres, es el consumo de alimentos ricos en vitaminas, carotenoides y otras sustancias que tienen función antioxidante, incluyendo la melatonina.

La melatonina: una hormona animal presente en vegetales

La melatonina (N-acetil-5-metoxitriptamina) es una neurohormona descubierta hace más de 50 años en la glándula pineal de los mamíferos, en la cual está presente en elevadas concentraciones (Lerner *et al.*, 1958). Inicialmente se creyó que esta estructura endocrina era la única en la que tenía lugar la síntesis de melatonina y desde la que se liberaba a la circulación sanguínea. Sin embargo, estudios posteriores demostraron que también está presente en otros tejidos tales como la retina, los ovarios, el tracto digestivo y las células del sistema inmune, entre otros (Huether, 1993), sugiriéndose que en varias de esas localizaciones podría tener lugar la síntesis de la hormona aunque con niveles muy inferiores a los presentes en la glándula pineal. Además, se ha demostrado que la producción de melatonina no es algo exclusivo de los mamíferos, ya que ocurre en todos los órdenes de vertebrados, así como en muchas especies de invertebrados (Hardeland, 1999).

Síntesis de melatonina y papel fisiológico

El mecanismo bioquímico implicado en la síntesis de melatonina comienza con la hidroxilación del aminoácido L-triptófano mediante la enzima L-triptófano hidroxilasa, formándose 5-hidroxitriptófano, el cual se transforma por la acción de la enzima aminoácido aromático descarboxilasa en serotonina, principal precursor de la melatonina. En los órganos productores de melatonina, la serotonina es acetilada por la arilalquilamina N-acetiltransferasa formándose entonces N-acetilserotonina que será metilada de forma inmediata dando lugar a la melatonina (Reiter, 1991).

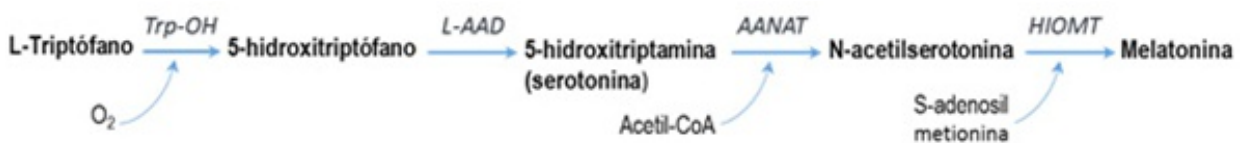


Figura1. Esquema de la ruta de la síntesis de melatonina en vertebrados. Trp-OH: Triptófano hidroxilasa; L-AAD: L-aminoácido descarboxilasa; AANAT: arilalquil amino N-acetiltransferasa; HIOMT: hidroxindoI-O-metiltransferasa

De entre las características fisiológicas de la melatonina destaca la ritmicidad diaria de sus niveles, dado que tanto a nivel de la glándula pineal como en el plasma sanguíneo, se detectan elevadas concentraciones de melatonina durante la noche y muy bajas durante el día (Reiter, 1991). Esto llevó a que muchos estudios se orientasen a investigar el posible papel regulador de esta molécula en los procesos rítmicos del organismo, tales como la reproducción en especies estacionales, la regulación de la síntesis de hormonas hipofisarias o la regulación del comportamiento, entre otros. Ya desde un primer momento se apostó por una función hormonal para la melatonina, y de hecho ésta fue totalmente demostrada al descubrirse la existencia de varios tipos de receptores para esta hormona, que median sus efectos fisiológicos a distintos niveles del organismo (Pévet, 2003).

Aunque el papel de la melatonina en el sistema circadiano es el más estudiado, se sabe que esta molécula también ejerce acciones protectoras en el organismo. La melatonina parece actuar como un agente estimulador de la respuesta inmune (Carrillo-Vico et al., 2004) y además posee una potente capacidad antioxidante, la cual puede ejercerse de dos formas:

a) Directa: la melatonina provoca un aumento de la actividad de compuestos antioxidantes, tales como el glutatión, mientras que a nivel mitocondrial incrementa la eficiencia de la cadena de transporte electrónico, lo que produce una reducción de la formación de radicales libres.

b) Indirecta: la melatonina reduce la formación de radicales libres mediante la estimulación de enzimas antioxidantes y disminuye la actividad de enzimas pro-oxidativos (Rodríguez et al., 2004)

Presencia de melatonina en plantas y en la dieta vegetal.

Aunque tradicionalmente se asoció la melatonina con el mundo animal, ya en la década de 1990 aparecieron referencias a la presencia de melatonina en organismos fotoautótrofos unicelulares. Progresivamente se ensayaron diversas metodologías de extracción y detección que permitieron demostrar la existencia de la melatonina en una gran variedad de organismos vegetales, tales como, bacterias y algas fotosintéticas, levaduras, hongos y plantas superiores (Hardeland, 1999; Reiter *et al.*, 2007). Todo ello lleva a afirmar que la presencia de melatonina en plantas es universal, dada la amplitud de especies vegetales en que ha sido detectada. Asimismo, está presente en diferentes tejidos de todas las plantas estudiadas, incluyendo hojas, tallos, raíces, frutos y semillas. Los niveles de melatonina difieren mucho entre especies y variedades de la misma planta, incluso para una misma planta entre sus diferentes órganos (raíz, tallo, semillas, etc.) abarcando desde picogramos (pg) a microgramos (µg) por gramo de tejido (Van Tassel, *et al.*, 2001; Paredes *et al.*, 2009).

La presencia de melatonina en productos de origen vegetal ha llevado a hipotetizar que su ingesta puede conllevar un aumento de la concentración de la hormona en sangre, con un efecto potencialmente beneficioso para el organismo debido a su capacidad antioxidante y a su efecto regulador sobre el sistema circadiano (García-Parrilla *et al.*, 2009). Estudios recientes han demostrado que una amplia variedad de productos de la dieta mediterránea poseen cantidades elevadas de melatonina y que ésta podría ser uno de los constituyentes que contribuyese a los beneficios de esta dieta en términos de salud. En este sentido se ha detectado la presencia de melatonina en cereales (avena, maíz, etc.), frutas (tomate, naranja, fresa, plátano, cereza, uva, etc.), aceite de oliva, legumbres, vino y carnes blancas, entre otros (Paredes *et al.*, 2009; Iriti *et al.*, 2010; van Tassel *et al.*, 2001). Para algunos de estos alimentos también se ha demostrado tanto en estudios con humanos como en roedores, que su ingesta produce un incremento de los niveles de melatonina en sangre (Reiter *et al.*, 2005; Sae-Teaw *et al.*, 2012). No obstante, las concentraciones de melatonina detectadas en estos productos vegetales varían mucho, por lo que es necesario profundizar tanto en la variedad de productos a estudiar como en los propios procedimientos analíticos que pudieran condicionar los niveles detectados de esta molécula (García-Parrilla *et al.*, 2009).

El presente estudio se enmarca en una investigación que trata de ampliar el conocimiento sobre la presencia de melatonina en muchos de los vegetales y frutas que ingerimos, incluyendo las diferentes

variedades comerciales que existen de los mismos y que están disponibles para el consumidor. En concreto, el trabajo presente tuvo por objetivo detectar y cuantificar los niveles de melatonina en dos tipos de alimentos vegetales de consumo habitual: las legumbres y los frutos secos.

MATERIAL Y MÉTODOS

Material vegetal

En el trabajo experimental se utilizó material vegetal de dos tipos: por un lado, distintos frutos secos, tales como nuez (*Juglans regia* L.), almendra (*Prunus dulcis*), pistacho (*Pistacea vera* L.), calabaza (*Curcubita* sp.), avellana (*Corylus avellana*), cacahuete (*Arachis hypogaea*) y anacardo (*Anacardium occidentale*), todos ellos obtenidos de fuentes comerciales. En el caso de la nuez, se incluyeron ejemplares de tres variedades de nuez: *Pizarro* (España), *Franquette* (Francia), *Hartley* (California, Estados Unidos). Además, se incluyó una variedad de nuez de procedencia autóctona (A Estrada, Galicia) y otra de procedencia iraní. Una vez en el laboratorio, los frutos se mantuvieron a 20-25°C y permanecieron aislados de la luz directa.

Por otro lado, se usaron diversos tipos de semillas de la familia de las leguminosas (Fam. Fabaceae) habituales en nuestra dieta, como es el caso de la lenteja (*Lens culinaris* Medik), el guisante (*Pisum sativum* L.), la alubia blanca (*Phaseolus vulgaris* L.), el garbanzo (*Cicer arietinum* L.; variedad denominada *Pedrosillano*), la soja verde (*Vigna radiata* L.) y las variedades de judía negra y blanca (*Phaseolus vulgaris* L.; variedades *Tolosana* y *Cocco Blanc enana*, respectivamente). Todas ellas se obtuvieron de fuentes comerciales o directamente del recolector, como fue el caso de la alubia blanca o el garbanzo pedrosillano que fueron adquiridos directamente a productores tras su cosecha en el campo. El almacenaje de dichas semillas se realizó a temperatura de 4°C y en oscuridad.

Procesamiento y extracción de muestras

Frutos secos

El material de los frutos secos es complejo para el análisis debido a su gran contenido oleoso, lo que dificultó el procesamiento inicial. En el caso de la nuez, se procedió a la rotura del endocarpio y a la extracción de la semilla, lo cual no fue necesario en el resto de los frutos secos (almendra, avellana, piñón, etc.). En todos ellos se pesó un gramo del material vegetal que se trituró en mortero con 7 mL de una disolución de hexano:metanol:agua (3:3:1 v:v), hasta obtener la completa disgregación del tejido. Los homogenados se pasaron a tubos y se mezclaron durante 10 min mediante un agitador orbital, tras lo que se centrifugaron a 4400 rpm durante 30 min, a 20°C. Tras ello se eliminó por aspiración la fase de hexano y se tomó un volumen de 1 mL del sobrenadante o fase hidroalcohólica (metanol/agua). Esta fase se secó en un sistema de speed-vac (Eppendorf Concentrator plus) a 30°C, durante aproximadamente 2 horas y 30 min, tras lo cual se procedió a resuspender las muestras en 300 µL de tampón fosfato 0.1 M pH 6.4.

La extracción final de la melatonina se llevó a cabo mediante cloroformo, solvente usado de forma rutinaria para dicho proceso (Muñoz et al., 2009). A cada tubo de muestra se le añadió 1 mL de cloroformo, se agitó durante 2 min y se centrifugó a 10.000 rpm durante 5 min. Tras ello, se eliminó la fase acuosa mediante aspiración y a la fase clorofórmica restante se le añadieron 250 µL NaOH 0.1 N, se agitó durante 1 min y se centrifugó en las mismas condiciones descritas anteriormente. Se eliminó de nuevo la fase acuosa y el solvente orgánico se secó durante 30 min en el speed-vac a 30°C. Una vez que las muestras estuvieron completamente secas, se resuspendieron en 100 µL de una solución de metanol:agua al 50% (v:v), se agitaron durante 1 min y se filtraron a través de filtros de 0.20 µm de tamaño de poro. Un volumen de 10 µL de cada muestra se utilizó para el análisis en HPLC.

Legumbres

Para la extracción de la melatonina contenida en las semillas de leguminosa se procedió al pesado de

2.5 gramos de cada una de ellas y a continuación a su trituración en molinillo eléctrico. Tras ello se depositaron en un mortero junto con 7.5 mL de acetonitrilo al 5% acidificado con ácido fórmico (pH 2.5), procediéndose a su homogenización hasta formar una mezcla que se trasladó a tubos de centrifuga. Estos se centrifugaron a 4400 rpm durante 25 minutos, a una temperatura de 4°C, lo que permitió obtener un sobrenadante del que se tomaron alícuotas de 1 mL que fueron almacenadas a -80°C. En el día del análisis, se procedió a mezclar el sobrenadante (1 ml) con cloroformo (4 mL) en tubos de centrifuga herméticos y se continuó la extracción de modo similar a lo indicado para los frutos secos. Finalmente las muestras se secaron en speed vac y se resuspendieron mediante agitación en 100 µL de acetonitrilo 5% acidificado con ácido fórmico. Una alícuota de 20 µL de cada muestra se usó para el análisis en HPLC.

Análisis de melatonina mediante HPLC con detección de fluorescencia.

Se utilizó una técnica de cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC) con detección de fluorescencia. El equipo cromatográfico estuvo formado por un módulo HPLC Hewlett-Packard serie 1100 equipado con bomba cuaternaria (módulo HP G1311A) conectada a un sistema de desgasificación (módulo HP G1322A) y a una válvula de inyección de muestra (HP C13228A; 20 µL), todo ello acoplado a un detector de fluorescencia (módulo HP G131A) en el que se fijaron las longitudes de onda necesarias para la detección de melatonina (280 nm de excitación y 340 nm de emisión). La separación de la melatonina se realizó mediante una columna de fase inversa de la marca Phenomenex (Kinetex C18, 7.5 cm ancho x 2.6 µm de diámetro, 100 Å de diámetro de poro) y bajo la influencia de un gradiente de fase móvil formada por la mezcla de dos soluciones: A: acetonitrilo:agua (60:40 v:v) y ácido fórmico 0.1%; B: agua con ácido fórmico 0.1%. Durante el análisis ambas soluciones se mezclaron de forma programada, de tal manera que se comenzó el análisis (0 min) con una proporción de 15% de A y 85% de B, alcanzando en el minuto 15 del análisis, la proporción de 60% de A y 40% de B. Desde el minuto 15 al minuto 20, la proporción de la mezcla se programó de forma que se retornó a los porcentajes iniciales. Todo el análisis se realizó a temperatura ambiente y con un flujo de 1 mL/min. Finalmente, la señal generada por el detector fue adquirida gracias al sistema informático HP1100 ChemStation que también facilitó la integración de los picos cromatográficos.

RESULTADOS

Aspectos metodológicos

En el estudio se realizaron distintas pruebas para la puesta a punto de los métodos de extracción de melatonina y de la metodología de HPLC. En el caso de la preparación de la muestra, los métodos de procesado y extracción que se han descrito anteriormente dieron buenos resultados en términos de linealidad de respuesta ante diferentes concentraciones de melatonina presentes en las muestras y reproducibilidad entre los días de análisis. En el caso de los frutos secos, el rendimiento del proceso de extracción con la mezcla hexano:metanol:agua fue de aproximadamente el 60%, mientras que para las legumbres (extracción directa en cloroformo) el porcentaje de recuperación ascendió al 91%. Por otro lado, en la Figura 2 se muestra un ejemplo de cromatograma obtenido a partir de la inyección de un patrón de melatonina (A) y de un extracto de garbanzo, en los que se puede apreciar la buena resolución de la técnica empleada y la no existencia de interferencias en el tiempo de retención de melatonina (aprox. a 8.6 min).

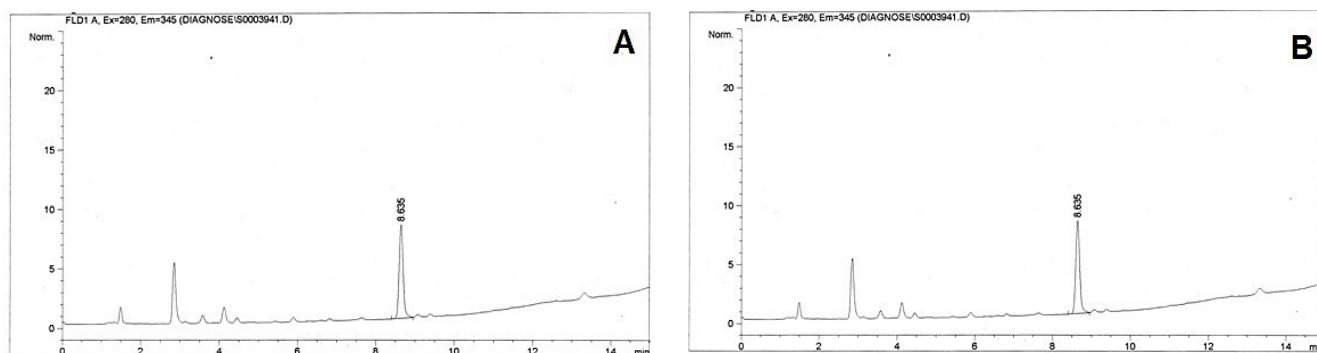


Figura 2. Cromatogramas obtenidos mediante la técnica de HPLC en gradiente. (A) patrón de melatonina (200 pg); (B) extracto de muestra de garbanzo.

Niveles de melatonina en frutos secos

Los niveles de melatonina medidos en las diferentes variedades de nuez se muestran en la Tabla 1. Tal y como se puede observar, existe una fuerte variación en los niveles de melatonina, siendo la nuez California la que presentó los máximos valores (alrededor de 3.6 ng/g de tejido), seguida de la variedad autóctona gallega (alrededor de 2.5 ng/g tejido). Las demás variedades analizadas mostraron niveles por debajo de 1.5 ng/g de tejido.

Tabla 1. Niveles de melatonina en nueces de diferentes variedades comerciales o procedencias. Los datos representan la media \pm EEM de 3-6 muestras

| Nuez (variedad o procedencia) | Melatonina (pg/g peso seco) |
|----------------------------------|-----------------------------|
| Nuez, variedad <i>California</i> | 3669 \pm 1404 |
| Nuez, variedad <i>Pizarro</i> | 1086 \pm 164 |
| Nuez variedad <i>Francia</i> | 1402 \pm 193 |
| Nuez, procedencia autóctona | 2531 \pm 897 |
| Nuez de procedencia iraní | 419 \pm 12 |

Con respecto a los demás frutos secos que se usaron en el estudio (Tabla 2) se observaron niveles de melatonina que fueron en general inferiores a los de la nuez y oscilaron en un rango de 1400 pg/g (castaña) a 200 pg/g de tejido (anacardo). En orden decreciente, el contenido de melatonina en los diferentes tipos de frutos secos se situó así: castaña > almendra > pistacho > piñón > cacahuete > avellana > calabaza > anacardo.

Tabla 2. Niveles de melatonina medidos en diferentes tipos de frutos secos. Los datos representan la media \pm EEM. Entre paréntesis se indica el número de muestras analizadas.

| Fruto seco | Melatonina (pg/g peso seco) | Fruto seco | Melatonina (pg/g peso seco) |
|------------|-----------------------------|------------|-----------------------------|
| Avellana | 369 \pm 186 (n=7) | Castaña | 1417 \pm 334 (n=4) |
| Pistacho | 990 \pm 385 (n=7) | Piñón | 747 \pm 112 (n=3) |
| Almendra | 1064 \pm 356 (n=7) | Calabaza | 533 \pm 162 (n=7) |
| Cacahuete | 589 \pm 339 (n=6) | Anacardo | 208 \pm 59 (n=6) |

Niveles de melatonina en legumbres

En la Figura 3 se presentan los valores de melatonina obtenidos en distintas semillas secas de un grupo variado de leguminosas. Como podemos observar los niveles oscilaron en un amplio rango, desde los 600 pg/g en el caso del garbanzo, hasta los 80 pg/g obtenidos para la variedad de judía negra. El resto de semillas mostraron niveles de melatonina intermedios de aproximadamente 200 pg por gramo de peso seco.

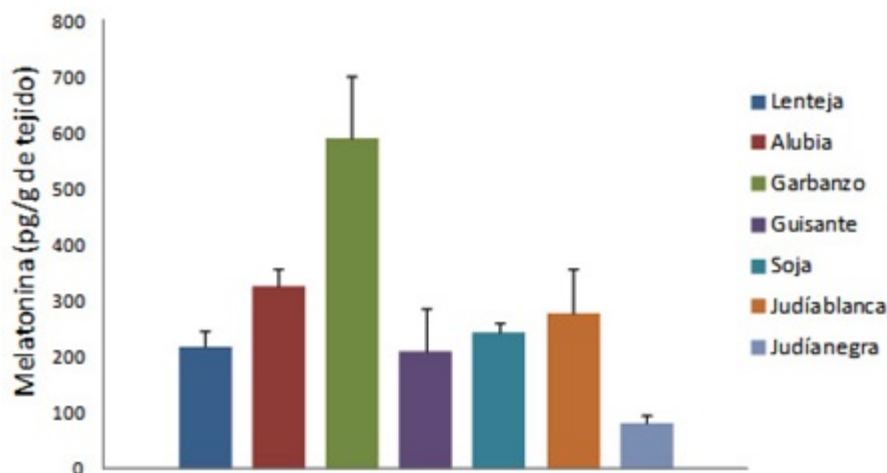


Figura 3. Contenido de melatonina en las distintas semillas de leguminosas estudiadas. Las barras representan la media \pm SEM de 6 muestras en todos los casos, excepto en garbando donde el número de réplicas fue de 12.

DISCUSIÓN

La presencia de melatonina en plantas ha sido objeto de numerosos estudios en una amplia variedad de especies y en diferentes partes de la planta (Manchester et al., 2000; Kolar & Machackova, 2005; Reiter et al., 2007). Para su cuantificación se han empleado diferentes técnicas, tales como radioinmunoensayo, enzimoimmunoensayo y cromatografía de alta resolución (líquidos y gases). En este estudio se procedió a la adaptación de las técnicas de medida de melatonina mediante HPLC aplicadas previamente en animales (Muñoz et al., 2009), lo que ha permitido establecer un método de gran sensibilidad y buena linealidad en la respuesta a un amplio rango de concentraciones de melatonina, lo que permite su aplicación a diferentes tipos de muestras. Dada la complejidad del tejido analizado, se hizo necesario un procesamiento de las muestras con solventes orgánicos que, por un lado tengan capacidad de recuperar la melatonina de la muestra y, por otro lado, contribuyan a su aislamiento. En el caso de los frutos secos (especialmente en la nuez) el solvente que presentó los mejores resultados fue la mezcla de hexano:metanol:agua seguido por una extracción en cloroformo, mientras que para las legumbres, se usó directamente el cloroformo para la extracción de la melatonina. En general se obtuvieron cromatogramas limpios y el rendimiento del proceso de extracción fue elevado (alrededor del 60% para frutos secos, 90% para legumbres) lo que añadió precisión al análisis de muestras.

Los niveles de melatonina detectados en la nuez presentaron una fuerte variabilidad entre muestras, aunque los valores medios fueron similares a los descritos por otros autores (Reiter et al., 2005). Asimismo, hemos constatado que existe una gran variabilidad según la variedad de nuez estudiada. Entre las nueces más comunes a nivel comercial, la de la variedad *Hartley* (California) fue la que presentó mayores niveles de melatonina, seguido por una variedad no catalogada de nuez autóctona. Estas diferencias entre tipos de nuez pueden ser debidas a la propia constitución del vegetal, aunque también es posible que influyan el momento anual de recolección, el tiempo pasado desde la cosecha o las condiciones de conservación. También hemos determinado la presencia de melatonina en otros frutos secos, tales como la avellana, el piñón, la castaña, el cacahuete, etc., todos ellos conteniendo menores concentraciones de melatonina que la nuez.

Con respecto a las semillas de leguminosas (lenteja, alubia, garbanzo, guisante, soja verde, judía negra y judía blanca), todas mostraron presencia de melatonina, situándose los niveles entre 80 pg y 600 pg/g de peso seco. Las semillas de garbanzo (variedad *pedrosillano*) fueron las que mostraron valores más elevados mientras que la judía negra presentó los más bajos.

La melatonina es una molécula con alto poder antioxidante (Paredes *et al.*, 2009) lo que ha llevado a muchos autores a especular con la importancia que puede tener el aporte de melatonina debido al consumo de productos vegetales, especialmente de aquellos presentes en la dieta mediterránea rica en verduras y frutas, y ampliamente reconocida por sus propiedades saludables. Los estudios relativos a la importancia que puede tener la dieta vegetal rica en melatonina para los niveles de melatonina presentes en el organismo humano son todavía muy escasos (Sae-Teaw *et al.*, 2012) y a nivel experimental, se ha descrito que el aporte de frutos secos en la dieta administrada a roedores provocó un aumento de los niveles circulantes de melatonina, en relación con animales alimentados con dieta estándar, paralelamente a un aumento de la capacidad antioxidante en el plasma sanguíneo (Reiter *et al.*, 2005; Sae-Teaw *et al.*, 2012). A tenor de los datos del presente estudio, y teniendo en cuenta que los vegetales y frutos secos pueden estar presentes en grandes cantidades en una dieta humana normal, se concluye que el contenido en melatonina tanto en frutos secos como en las legumbres de la dieta puede ser relevante como fuente exógena de antioxidantes para el organismo, con los correspondientes efectos beneficiosos para la salud.

BIBLIOGRAFÍA

- Apel, K., Hirt, H. (2003) Reactive oxygen species: Metabolism, oxidative stress, and signal transduction. *Annu. Rev. Plant Biol.* 55: 373-399.
- Carrillo-Vico, A., Calvo, J.R., Abreu, P., Lardone, P.J., García-Maurino, S., Reiter, R.J., Guerrero, J.M. (2004). Evidence of melatonin synthesis by human lymphocytes and its physiological significance: possible role as intracrine, autocrine, and/or paracrine substance. *FASEB J.* 18: 537-539.
- García-Parrilla, M.C., Cantos, E., Troncoso, A.M. (2009). Analysis of melatonin in foods. *J. Food Comp. Anal.* 22: 177-183.
- Hardeland, R. (1999). Melatonin and 5-methoxytryptamine in non-metazoans. *Reprod. Nutr. Dev.* 39:399-408.
- Huether, G. (1993) The contribution of extrapineal sites of melatonin synthesis to circulating melatonin levels in higher vertebrates. *Experientia* 15: 665-670.
- Iriti, M., Varoni, E.M., Vitalini, S. (2010). Melatonin in traditional mediterranean diets. *J. Pineal Res.* 49:101-105.
- Kolar, J., Machackova, I. (2005). Melatonin in higher plants: occurrence and possible functions. *J. Pineal Res.* 39: 333-341.
- Lerner, A.B., Case, J.D., Takahashi, Y., Lee, T.H., Mori, W. (1958). Isolation of melatonin, the pineal gland factor that lightens melanocytes. *J. Am. Chem. Soc.* 80: 2587
- Manchester, L.C., Tan, D.X., Reiter, R.J., Park, W., Monis, K., Qi, W. (2000). High levels of melatonin in the seeds of edible plants: possible function in germ tissue protection. *Life Sci.* 67: 3023-3029.
- Muñoz, J.L.P., Ceinos, R.M., Soengas, J.L., Míguez, J.M. (2009). A simple and sensitive method for determination of melatonin in plasma, bile and intestinal tissues by high performance liquid chromatography with fluorescence detection. *J. Chromatogr. B* 977: 2173-2177.
- Paredes, S.D., Korkmaz, A., Manchester, L.C., Tan, D.X., Reiter, R.J. (2009). Phytomelatonin: a review. *J. Exp. Bot.* 60: 57-69.
- Pévet, P. (2003). Melatonin: from seasonal to circadian signal. *J. Neuroendocrinol.* 15: 422-426.
- Reiter, R.J. (1991). Pineal melatonin: cell biology of its synthesis and of its physiological interactions. *Endocr. Rev.* 12: 151-180.
- Reiter, R.J. (1996). Functional aspects of the pineal hormone melatonin in combating cell and tissue damage induced by free radicals. *Eur. J. Endocrinol.* 134: 412-420.
- Reiter, R.J., Tan, D.X. (2002). Melatonin: an antioxidant in edible plants. *Ann. N Y. Acad. Sci.* 957: 341-344.
- Reiter, R.J., Manchester, L.C., Tan, D.X. (2005). Melatonin in walnuts: influence on levels of melatonin and total antioxidant capacity of blood. *Nutrition* 21: 920-924.

- Reiter, R.J., Tan, D.X., Manchester, L.C., Simopoulos, A.P., Maldonado, M.D., Flores, L.I, Terron, M.P. (2007). Melatonin in edible plants (phytomelatonin): Identification, concentrations, bioavailability and proposed functions. *World Rev. Nutr. Diet.* 97: 211-230.
- Rodríguez, C., Mayo, J.C., Sainz, R.M., Antolín, I., Herrera, F., Martín, V., Reiter, R.J. (2004). Regulation of antioxidant enzymes: a significant role for melatonin. *J. Pineal Res.* 36: 1-9.
- Sae-Teaw, M., Johns, J., Johns, N.P., Subongkot, S. (2012). Serum melatonin levels and antioxidant capacities after consumption of pineapple, orange, or banana by healthy male volunteers. *J. Pineal Res.* 55: 58-64.
- Van Tassel, D.L., Roberts, N., Lewy, A., O'Neill, S.D. (2001). Melatonin in plant organs. *J Pineal Res.* 31:8-15.
- Wootton-Beard, P.C., Ryan, L. (2011) Improving public health?: The role of antioxidant-rich fruit and vegetable beverages. *Food Res. Int.* 44: 3135-3148.