

Extracción de oleorresina de chile habanero (*Capsicum chinense*) y evaluación de sus propiedades antifúngicas

S. Frías-Estrella¹, A. A. Lira-Vargas¹, C. Moreno-Ramos¹, M.A. Trejo-Márquez^{1*}, S. Pascual-Bustamante¹

¹Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, Laboratorio de Postcosecha de Productos Vegetales, Centro de Asimilación Tecnológica, Jiménez Cantú s/n, San Juan Atlámica, C.P. 54729, Cuautitlán Izcalli, Edo. De México, México.

Autor responsable: andreatrejo2009@unam.mx

RESUMEN: Los hongos son responsables de elevadas pérdidas postcosecha en alimentos, se estiman que son del orden del 5-25% en países desarrollados y 20-50% en países en desarrollo. Desde hace tiempo se ha reconocido que los extractos vegetales tienen compuestos fungitóxicos; por lo que el objetivo del presente estudio es el extraer oleorresina del chile habanero en tres niveles de maduración y evaluar el efecto en el crecimiento micelial de hongos de almacén. Los chiles fueron seleccionados en tres estados de madurez: verde, amarillo y naranja. Las oleorresinas fueron extraídas por maceración, Soxhlet y extracción asistida por ultrasonido. Las pruebas *in vitro* realizadas fueron a 200, 600 y 1000 ppm de capsaicina y se evaluó su efecto en el crecimiento micelial de *Aspergillus sp.*, *Fusarium sp.*, y *Penicillium sp.* Los resultados mostraron que la extracción asistida por ultrasonido y el estado de madurez del chile habanero en color naranja presentó un mejor rendimiento con respecto a los demás tratamientos. El mayor efecto antifúngico se encontró para *Fusarium sp.* y *Penicillium sp.* Se concluye que las oleorresinas extraídas de chile habanero pueden ser utilizadas como agente antifúngico con aplicación como tratamiento postcosecha para el control de enfermedades de productos vegetales.

Palabras clave: Chile habanero, oleorresina, postcosecha.

ABSTRACT: Fungi are responsible for high post-harvest food losses, some sources estimate that these losses are in the order of 5-25% in developed countries and 20-50% in developing countries. For a long time it has been recognized that vegetable extracts have fungicidal compounds, in order to study the extract of habanero pepper as growth inhibitor of warehouse fungi were evaluated different extraction treatments of oleoresins in 3 levels of maturation. The oleoresins were extracted by maceration, Soxhlet and ultrasound-assisted extraction. The *in vitro* tests were performed at 200, 600 and 1000 ppm of capsaicin and their effect on the mycelial growth of *Aspergillus sp.*, *Fusarium sp.*, and *Penicillium sp.* The results showed that the extraction assisted by ultrasound and the state of maturity of the habanero pepper in orange color presented a better performance with respect to the other treatments. The highest antifungal effect was found for *Fusarium sp.* and *Penicillium sp.* It is concluded that the oleoresins extracted from habanero pepper can be used as an antifungal agent with application as postharvest treatment for the control of diseases of vegetable products.

Keywords: Oleoresins, pepper, post-harvest.

Área: Microbiología y biotecnología

INTRODUCCIÓN

Los chiles se han usado ampliamente a lo largo de los años como conservante y especia para agregar sabor a las preparaciones alimenticias. Se cultivan en todo el mundo, Asia es la que más produce, seguida por México y los Estados Unidos.

Aunque el uso principal de los chiles es en los alimentos, además del uso de sus compuestos extraíbles, como las oleorresinas de los pimientos, que se utilizan como colorantes y tintes para cosméticos y prendas de vestir (Santamaria *et al.*, 2000; Huntrods, 2008). Los chiles, como el habanero (*Capsicum chinense*) son una fuente rica de un valioso fitoquímico, la capsaicina.

La capsaicina (trans-8-metil-N-vanilil-6-nonenamida), es un alcaloide o capsaicinoide constituido por un vainilloide, una amida y una cadena lateral hidrófoba, es el componente principal picante e irritante de los pimientos (Xing *et al.*, 2006).

El contenido de capsaicinoides en pimientos aumenta con la maduración climática y climatérica de la fruta (Gnayfeed *et al.*, 2001; Estrada *et al.*, 2002) y la calidad de los compuestos extraídos, así como su actividad antioxidante se ve afectada por parámetros de procesamiento como separación, vapor escaldado, temperatura de extracción y secado (Ramesh *et al.*, 2001). La capsaicina posee propiedades antimicrobianas que abren puertas para explorar su potencial como inhibidor natural de microorganismos patógenos en los alimentos (Jones *et al.*, 1997; Dorantes *et al.*, 2000; Kurita *et al.*, 2002; Xing *et al.*, 2006).

Por ello se plantea extraer una oleoresina y evaluarlo como un fungicida o fungistático en hongos poscosecha, ya que, el uso de plaguicidas se incrementó en 2013, empleándose 37,455 toneladas de insecticidas; 31,195 toneladas de herbicidas y 42,223 toneladas de fungicidas en la superficie mexicana (Galvéz *et al.*, 2018). Siendo los fungicidas los más empleados para el control de plagas. Estos compuestos, al ser sustancias químicamente complejas, una vez aplicadas generan cambios, ya sea a nivel físico, químico y/o biológico. Dichas transformaciones pueden conducir a la generación de fracciones o a la degradación total de los compuestos que en sus diversas formas pueden afectar a los diferentes niveles de un ecosistema (Garrido *et al.*, 1998). Por lo que el objetivo del presente trabajo es

MATERIALES Y MÉTODOS

El chile habanero se seleccionó y clasificó con tres grados de maduración diferentes identificándolos por color verde, amarillo y naranja, posteriormente fueron lavados y desinfectados con hipoclorito de sodio al 3% v/v .

Extracción de oleoresina

Se evaluaron 3 métodos de extracción de oleoresina siguiendo el método de Giraldo *et al.*, (2009) con algunas modificaciones. En la extracción por maceración se modificó el método de Fernández (2007) y se trituraron 25g de chile habanero en 200mL de etanol al 95% y se dejó en agitación durante 15h a 20°C. Para realizar el baño de ultrasonidos se empleó el método de Casanova *et al.*, (2015) con algunas modificaciones, se trituraron 25 g de chile habanero en 200 mL de etanol al 95% que durante una hora se dejaron en un baño de ultrasonidos de 42kHz de frecuencia. Cada solución extracto fue filtrado para obtener la fase líquida, la cual fue evaporada empleando un rotavapor a 70°C y una presión de vacío de 30 lb/in^2 para obtener la fase oleosa del extracto; el cual siguiendo la técnica espectrofotométrica de Domínguez *et al.*, (2014) con algunas modificaciones se cuantificó la capsaicina en la oleoresina.

Obtención y aislamiento de Hongos

Para el aislamiento de *Aspergillus* sp., *Fusarium* sp. y *Penicillium* sp. se colocaron frutos en cámara húmeda a 25°C durante 24h. Posteriormente se preparó una solución de hipoclorito de sodio al 2.5%. Pasadas las 24h en cámara húmeda se inspecciona el fruto, se identificó el tejido dañado con los hongos respectivos, se hicieron varios cortes de 5x5mm de cada hongo, se sumergieron por 1min en la solución de hipoclorito de sodio y se sembraron en PDA y se incubaron por 7 días a 25°C.

Evaluación *in vitro*

Se agregó la oleoresina para obtener 0, 200, 600 y 1000 ppm de capsaicina, y se vertieron en cajas petrí junto con el agar PDA y se dejaron reposar por 24h para verificar la esterilidad del medio. Siguiendo la técnica de Kirby-Bauer se tomaron biodiscos de 5mm de cada hongo y se sembraron en sus respectivos medios, se dejaron reposar a 25°C y se registró su crecimiento micelial cada 24h durante 10 días. El porcentaje de halo de inhibición se determinara por la siguiente ecuación:

$$\%IM = 100 - \left(\frac{\text{Diámetro del crecimiento del hongo en el extracto}}{\text{Diámetro de crecimiento de hongo en el control}} \times 100 \right)$$

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Con base en los resultados obtenidos, se demuestra que el grado de madurez del chile habanero tiene un efecto en la obtención de la oleoresina (Figura 1), que a su vez se ve reflejado en la cantidad de

capsaicina extraída (Figura 2) donde se relacionan tanto los métodos de extracción con el grado de madurez del chile habanero. Aunque no hay una diferencia significativa entre maceración en frío y baño de ultrasonido se observó que con respecto a soxhlet hay una menor extracción esto se debe a que el contacto entre las fases no es adecuado y por ende no hay una extracción óptima de los componentes. A diferencia de los otros dos métodos, con respecto a la maceración tiene un mayor tiempo de contacto con el disolvente lo que permite un mayor intercambio entre los componentes del tejido del chile y el etanol, por otra parte, en el baño de ultrasonido aumenta el contacto de las fases ya que al estar en una continua vibración aumenta la transferencia de masa y energía que favorecen la interacción de los compuestos ya que se produce un efecto de cavitación que favorece la liberación de sus compuestos lo que permite que los componentes que están en el tejido del fruto estén expuestos, según lo reportado por Casanova *et al.*, (2015). Con respecto al porcentaje de inhibición la oleorresina muestra un comportamiento gradual de inhibición, esto quiere decir que a mayor concentración de capsaicina mayor porcentaje inhibido. La prueba in vitro demuestra que la capsaicina o bien la oleorresina si tiene un efecto negativo en el crecimiento micelial del hongo.

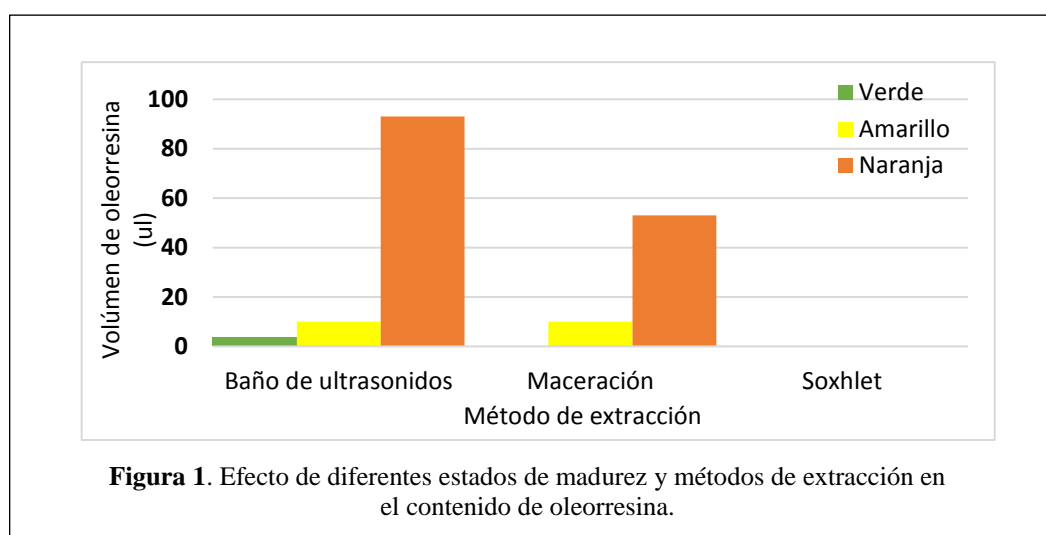
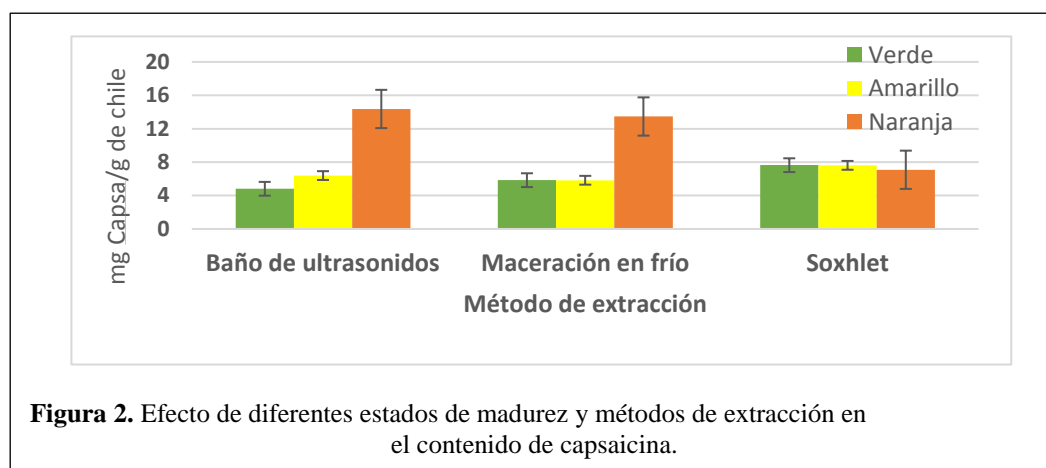



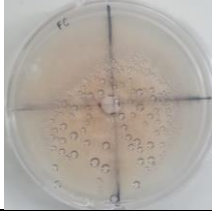
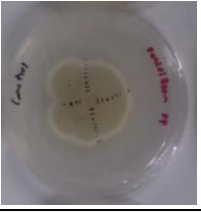
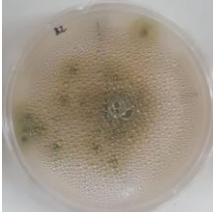
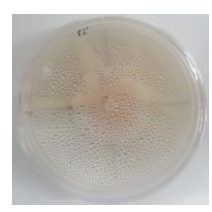




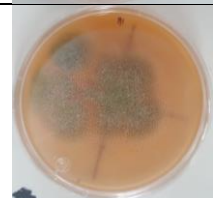
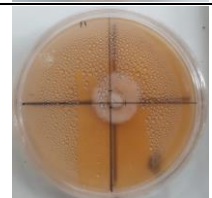
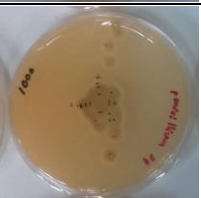
Gráfico 1: mg de capsaicina por gramo de chile con respecto a mL de extracto etanólico



En la tabla I se observa que la concentración mínima inhibitoria en el extracto fue de 200ppm de capsaicina este efecto inhibitorio se resalta en *Fusarium sp.* con un comportamiento similar con el

Penicillium sp. por otra parte, el *Aspergillus sp.* no muestra este efecto siendo la concentración mínima inhibitoria 1000ppm, aunque hay un contraste con Moreno *et al.*, (2011); reportan que para *Aspergillus sp.* la concentración mínima inhibitoria está dada a partir de 400ppm de capsaicina.

Tabla I: Crecimiento micelial de hongos de almacenamiento.

	<i>Aspergillus sp.</i>	<i>Fusarium sp.</i>	<i>Penicillium sp.</i>
Control			
200ppm			
600ppm			
1000ppm			

CONCLUSIONES

La extracción asistida por ultrasonido y el estado de madurez del chile habanero en color naranja presentó una mayor extracción con respecto a los demás tratamientos, se identificó que hay un efecto inhibitorio en el crecimiento de *Fusarium sp.* y *Penicillium sp.*

AGRADECIMIENTOS

El presente trabajo fue financiado por el proyecto PAPIIT (IT202419) Aplicación de tratamientos de ultrasonido, campos eléctricos y cocción solar en el procesamiento de productos hortofrutícolas típicos de México.

BIBLIOGRAFIA

- Casanova J., Yah P., Bacab R., Briceño D. y Cruz I., 2014. *Aportaciones al estudio de las ciencias biotecnológicas y alimentarias: Extracción de capsaicina asistida por ultrasonidos en chile habanero fresco*. UJAT, Villahermosa, 440p.
- Domínguez I., Beristain C., Díaz R. y Vázquez A. 2015. Degradación de carotenoides y capsaicina en el complejo de inclusión molecular de oleoresina de chile habanero (*CapsicXIangum chinense*) con β -ciclodextrina, *CyTA - Journal of Food*, 13:1, 151-158,

- Dorantes, L., Colmenero, R., Hernandez, H., Mota, L., Jaramillo, M.E., 2000. Inhibition of growth of some foodborne pathogenic bacteria by *Capsicum annum* extracts. *Int. J. Food Microbiol.* 57, 125–128.
- Estrada, B., Bernal, M.A., Diaz, J., Pomar, F., Merino, F., 2002. Capsaicinoids in vegetative organs of *Capsicum annum* L. in relation to fruiting. *J. Agric. Food Chem.* 50, 1188–1191.
- Fernández J., 2007. Extracción convencional de oleoresina de pimentón dulce y picante. En: *Generalidades, composición, proceso e innovaciones y aplicaciones, Grasas Y Aceites* 58, 252-263
- Gálvez, G., Sánchez M., Parra F., García J., Aviña G., Santos S. 2018. Plaguicidas en la agricultura mexicana y potenciales alternativas sustentables para su sustitución. *Biológico Agropecuario* 7, 1977-1991
- Garrido T., Costa J., Fraile E., Orejudo J., Niñerota A., Ginebreda L., Olivilla M. F. 1998. *Análisis de la presencia de plaguicidas en diversos acuíferos de Cataluña. Jornadas sobre la contaminación de las aguas subterráneas: un problema pendiente.* Valencia, España. 7.
- Giraldo F., Gil M., Alzate L., Restrepo A., Millan L., Ordoñez A., Restrepo C., 2009. Comparación de métodos de extracción de oleoresina de páprika (*Capsicum annum* L.) convencionales con una tecnología amigable al medio ambiente, *Producción + Limpia* 4, 17-26.
- Gnayfeed, M.H., Daood, G.H., Biacs, P.A., Alcaraz, C.F., 2001. Content of bioactive compounds in pungent spice red pepper (paprika) as affected by ripening and genotype. *J. Sci. Food Agric.* 30, 1580–1585.
- Huntrods, D., 2008, Bell and chili peppers profile. Agricultural Marketing Resource Center, Iowa State University. Disponible en: http://www.agmrc.org/commodities_products/vegetables/bell_and_chili_peppers_profile.cfm (consulta: 06.03.18).
- Jones, N.L., Shabib, S., Sherman, P.M., 1997. Capsaicin as an inhibitor of the growth of the gastric pathogen *Helicobacter pylori*. *FEMS Microbiol. Lett.* 146, 223–227.
- Kurita, S., Kitagawa, E., Kim, C., Momose, Y., Iwahashi, H., 2002. Studies on the antimicrobial mechanism of capsaicin using yeast DNA microarray. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 66, 532–536.
- Moreno S., Salcedo S., Cárdenas M., Hernández J. y Núñez M., 2012. Efecto antifúngico de capsaicina y extractos de chile piquín (*Capsicum annum* l. var. *aviculare*) sobre el crecimiento *in vitro* de *aspergillus flavus*, *POLIBOTÁNICA* 34, 191-204.
- Ramesh, M.N., Wolf, W., Tevini, D., Jung, G., 2001. Influence of processing parameters on the drying of spice paprika. *J. Food Eng.* 49, 63–72.
- Santamaria, R.I., Reyes-Duarte, M.D., Barzana, E., Fernando, D., Gama, F.M., Mota, M., Lopez-Munguia, A., 2000. Selective enzyme mediated extraction of capsaicinoids and carotenoids from chili guajillo puya (*Capsicum annum* L.) using ethanol as solvent. *J. Agric. Food Chem.* 48, 3063–3067.
- Xing, F., Cheng, G., Yi, K., 2006. Study on the antimicrobial activities of the capsaicin microcapsules. *J. Appl. Polym. Sci* 102, 1318–1321.