

Evaluación de la capacidad antioxidante y compuestos bioactivos de pimiento morrón (*Capsicum annuum* L.) de diferentes colores

C.E. Cortés-Estrada¹, T. Gallardo-Vázquez¹, G. Osorio-Revilla², E. Castañeda-Pérez³, y D.M. Hernández-Martínez^{1*}.

1 Departamento de Biofísica, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional, Prolongación de Carpio y Plan de Ayala s/n, Col. Santo Tomás, alcaldía Miguel Hidalgo, CP. 11340, Ciudad de México, México. **2** Departamento de Ingeniería Bioquímica, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional, Av. Wilfrido Massieu Esq. Cda. Miguel Stampa s/n, C.P.07738, alcaldía Gustavo A. Madero, Ciudad de México, México. **3** Facultad de Ingeniería Química, Universidad Autónoma de Yucatán, Periférico Norte, Km 33.5, Tablaje Catastral 13615, Col. Chuburná de Hidalgo Inn, CP. 97203, Mérida, Yucatán, México. *dhernandezmar@ipn.mx

RESUMEN: Los pimientos son de las verduras más populares debido a la combinación de color, sabor y contenido nutricional. Sin embargo, diferentes colores de pimiento tienen diferentes valores de capacidad antioxidante. El objetivo del estudio fue evaluar los compuestos bioactivos y los sólidos solubles totales (SST) de pimiento morrón verde, rojo, naranja y amarillo, para determinar el efecto del tipo de color en la actividad antioxidante (ABTS y DPPH). Se analizaron 45 pimientos de cada color. Se obtuvieron los compuestos fenólicos totales (CFn), el contenido de ácido ascórbico (CAs), el contenido de β -caroteno (CCa), la capacidad antioxidante (ensayos ABTS y DPPH) y el parámetro de SST. Se utilizó el análisis de componentes principales (PCA) para analizar los resultados. Además, se consideró una caracterización espectral por espectroscopia FT-MIR. Los resultados muestran una diferencia significativa en los compuestos bioactivos. Los métodos ABTS y DPPH tuvieron entre ellos un bajo coeficiente de correlación de Pearson de 0.36. La correlación entre CFn y ABTS fue de 0.512. En conclusión, CFn y CCa son los principales contribuyentes a la capacidad antioxidante por ABTS en pimiento amarillo, naranja y rojo, y existe una fuerte correlación entre DPPH y el CAs en pimiento verde.

Palabras clave: Capacidad antioxidante, espectroscopia FT-MIR, pimiento morrón.

ABSTRACT: Sweet peppers are one of the most popular vegetables due to the combination of colour, flavor, and nutritional content. However, different color-type peppers have different antioxidant capacities. The objective of the study was to evaluate bioactive compounds and total soluble solids (SST) of green, red, orange and yellow sweet peppers, in order to determine the colour type effect on antioxidant activity (ABTS and DPPH assays). Forty-five peppers of each color-type were analyzed. The total phenolic compounds (CFn), ascorbic acid content (CAs), β -carotene content (CCa), antioxidant capacity (ABTS and DPPH assays), and the quality parameter of SST were obtained. Principal component analysis (PCA) was used to analyze the data. Moreover, a spectral characterization by FT-MIR spectroscopy was considered. The results show a significant difference on bioactive compounds in peppers. ABTS and DPPH methods had a low Pearson correlation coefficient of 0.36 among them. However, the correlation between CFn and ABTS was 0.512. In conclusion, CFn and CCa are the mayor contributor to ABTS antioxidant capacity in red, orange and yellow peppers, and there is a strong correlation between DPPH and CAs in green peppers.

Keywords: Antioxidant capacity, FT-MIR spectroscopy, sweet Pepper.

Área: Frutas y hortalizas

INTRODUCCIÓN

Los pimientos morrones son de las verduras más populares del mundo debido a la combinación de color, sabor y contenido nutricional. El color es el atributo más apreciado por los consumidores, incluso puede afectar el precio del pimiento. El pimiento varía en color a través de su maduración, inicia en el verde y cambia a naranja, rojo o amarillo en las etapas maduras. Los pimientos son una buena fuente de vitaminas, pro-vitaminas y compuestos antioxidantes, contienen altos niveles de vitamina C y carotenoides (β - y α -caroteno y β -criptoxantina) que son pro-vitamina A (Chuah *et al.*,

2008). Además, los pimientos morrones son ricos en polifenoles como los flavonoides (Blanco-Ríos et al., 2013). La ingesta de estos compuestos bioactivos tiene particular importancia debido a sus propiedades antioxidantes. El consumo de antioxidantes ha sido reconocido como un factor para prevenir el desarrollo de afecciones degenerativas como el cáncer, las enfermedades cardiovasculares, las cataratas, la diabetes, el Alzheimer y el Parkinson. Además, su consumo estimula el sistema inmunológico y retrasa el proceso de envejecimiento (Chuah *et al.*, 2008; Blanco-Ríos *et al.*, 2013). Es importante destacar que los pimientos morrones de diferentes colores tienen distintos compuestos bioactivos y se espera, por lo tanto, que presenten diferentes valores de capacidad antioxidante.

El objetivo del estudio fue evaluar el efecto del color del pimiento morrón en la capacidad antioxidante (ensayos ABTS y DPPH), compuestos bioactivos tales como compuestos fenólicos (CFn), contenido de ácido ascórbico (CAs), contenido de β -caroteno (CCa) y sólidos solubles totales (SST) del pimiento morrón verde, rojo, naranja y amarillo tipo California (*Capsicum annuum* L.). Adicionalmente, se realizó una caracterización espectral de los pimientos morrón mediante espectroscopia FT-MIR.

MATERIALES Y MÉTODOS

Muestras

Cuarenta y cinco pimientos rojos, 45 verdes, 45 naranjas y 45 amarillos fueron adquiridos en diferentes mercados y supermercados de la Ciudad de México. Todas las muestras cumplieron con las especificaciones de la marca oficial “México Calidad Suprema” (PC-022-2005). Las muestras fueron analizadas en triplicado.

Preparación de los extractos

Los pimientos morrón fueron lavados con agua corriente, el pericarpio se cortó en trozos pequeños. Luego, se pesaron 60 g, se molieron en un procesador de alimentos y se centrifugaron a 3500 rpm por 20 minutos para obtener el jugo. Se calculó el rendimiento del extracto en porcentaje.

Determinación de compuestos bioactivos

Las muestras se analizaron por triplicado mediante ensayos espectrofotométricos. El contenido total de fenoles (CFn) se determinó por el método de Singleton & Rossi (1965) y se calculó como mg equivalentes de ácido gálico (GAE)/ g de peso seco. El contenido de ácido ascórbico (CAs) se midió mediante el método de Ranganna (Ranganna, 1986) y se expresó como mg de ácido ascórbico/ g de peso seco. El contenido de β -caroteno (CCa) se determinó mediante el método de la Association of Vitamin Chemists (1966), y se calculó como μ g β -caroteno/ g de peso seco.

Determinación de capacidad antioxidante

La capacidad antioxidante de las muestras se analizó mediante el uso del radical DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo) (Brand-Williams *et al.*, 1995) y por el radical ABTS (ácido 2,2-azino-bis-3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico) (Re *et al.*, 1999). Se utilizó Trolox para cuantificar la capacidad antioxidante, y esta se expresó, en ambos métodos, como μ moles equivalentes de Trolox / g de peso seco.

Parámetro de calidad

La determinación de sólidos solubles totales (SST) se llevó a cabo en un refractómetro de acuerdo con la norma de referencia NMX-FF-015-1982.

Análisis estadístico y multivariado

Los valores obtenidos para CFn, CAs, CCa, DPPH, ABTS y SST se analizaron utilizando ANOVA de una vía con prueba de Tukey ($p < 0.05$). Por otra parte, aplicó el análisis de componentes principales

(PCA) para analizar los datos. Se empleó el software Minitab Statistical Software versión 16.1.0 (State College, PA, EE. UU.) para realizar los análisis.

Análisis por espectroscopia FT-MIR

Los espectros de las muestras se adquirieron utilizando un espectrómetro de infrarrojo medio por transformada de Fourier (FT-MIR) (Spectrum GX, PerkinElmer). Aproximadamente 2 ml de muestra se colocaron sobre el accesorio de reflectancia total atenuada (ATR). Los espectros se obtuvieron por triplicado en un rango de número de onda de 4000-800 cm^{-1} a una resolución de 4 cm^{-1} .

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La **Tabla I** resume los valores analíticos de los compuestos bioactivos, la capacidad antioxidante y los SST de pimienta verde, roja, naranja y amarilla. Se encontró una diferencia significativa ($p < 0.05$) entre los parámetros de los diferentes colores de pimienta morrón.

Tabla I. Contenido de compuestos bioactivos, capacidad antioxidante y SST de pimienta morrón en base seca.				
Parámetro	Color de pimienta			
	Verde	Rojo	Naranja	Amarillo
Humedad, %	91.79±3.72 ^a	89.32±2.21 ^a	86.33±2.88 ^b	86.60±3.10 ^b
CFn, mg GAE/ gss	6.83±1.93 ^c	10.25±1.71 ^a	8.75±1.7 ^b	9.01±2.31 ^b
CAs, mg ácido ascórbico /gss	5.02±0.66 ^a	3.36±1.20 ^b	3.71±0.45 ^b	3.57±0.57 ^b
CCa, $\mu\text{g } \beta\text{-caroteno /gss}$	0.21±0.11 ^c	0.85±0.62 ^a	0.45±0.24 ^b	0.31±0.18 ^b
DPPH, $\mu\text{moles Trolox /gss}$	5.28±0.70 ^a	4.87±0.68 ^b	4.03±0.77 ^c	4.27±0.54 ^c
ABTS, $\mu\text{moles Trolox /gss}$	51.01±19.97 ^b	65.56±7.65 ^a	48.08±11.4 ^b	48.4±4.82 ^b
SST, %	5.20±0.78 ^c	8.42±1.5 ^a	8.20±0.88 ^b	7.30±0.82 ^{bc}
Rendimiento de extracto, %	32.2±3.12 ^b	38.6±3.25 ^a	37.64±3.31 ^a	37.42±4.47 ^a

Los valores se expresan como promedio del triplicado \pm SD. Las medias con letras diferentes, en la misma fila, difieren significativamente ($p < 0.05$). gss - gramos de peso seco, GAE-equivalente de ácido gálico.

Los resultados mostraron mayor CFn en pimienta amarilla y roja que en verde debido a que los compuestos fenólicos aumentan con el estado de maduración. Estos resultados concuerdan con lo informado por Ghasemnezhad *et al.*, (2011).

Los pimientos morrón de color naranja, amarillo, verde y rojo son una excelente fuente de ácido ascórbico, ya que contribuyen en un 56.4%, 53.5%, 45.9% y 39.8% de la recomendación diaria (IDR 90 mg/día). En orden descendente, contienen 50.79±6.16, 48.14±7.7, 41.28±5.5 y 35.85±12.85 mg de ácido ascórbico/100 g de peso fresco, respectivamente. En base seca, el pimienta verde es el de mayor CAs.

El CCa es más alto en pimienta roja, naranja y amarillo que en el pimienta verde, no se encontraron diferencias significativas entre los pimientos morrón de color naranja y amarillo. También se encontró que el pimienta rojo tiene los valores más altos de SST, ya que estos aumentan con la maduración debido a que el contenido de azúcares se incrementa (Ghasemnezhad *et al.*, 2011).

En la **Tabla I** se observa que la capacidad antioxidante con ABTS muestra el siguiente orden: rojo > verde > amarillo > naranja, pero solo el rojo muestra diferencia significativa con respecto a los otros pimientos. En relación al DPPH se obtuvo el siguiente orden: verde > rojo > amarillo > naranja. Estos resultados sugieren precaución al interpretar las capacidades antioxidantes de diferentes ensayos. De hecho, los ensayos deben ser complementarios (Fotakis *et al.*, 2012).

El PCA se llevó a cabo con el propósito de conocer la relación entre las variables (CFn, CAs, CCa, DPPH, ABTS y SST). Por otra parte, para establecer la relación entre las variables y los diferentes colores del pimiento morrón. El PCA es un procedimiento de reducción de variables, reduce el espacio de un mayor número de variables (seis en el presente trabajo) a un nuevo espacio con un menor número de variables denominadas

componentes principales que sintetizan la información de las muestras y las variables para una mejor comprensión. La **Figura 1** muestra la gráfica de cargas y puntuaciones (biplot) del PCA con dos componentes principales. Además, los coeficientes de correlación de Pearson entre los parámetros se muestran en la **Tabla II**.

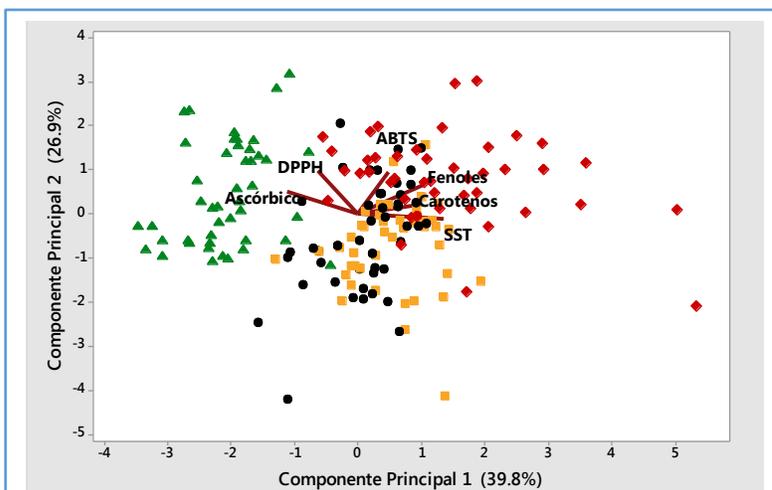


Figura 1. Análisis de componentes principales (biplot) de los parámetros de pimiento verde ▲ (n=45), rojo ◆ (n=45), naranja ■ (n=45), y amarillo ● (n=45).

	CFn	CCa	CAs	SST
ABTS	0.512	0.146	0.049	0.135
DPPH	0.079	0.025	0.531	0.404

De acuerdo con la **Figura 1**, se puede ver que CFn y CCa son los principales contribuyentes a la capacidad antioxidante por ABTS en el pimiento amarillo, naranja y rojo. Sin embargo, CAs se relaciona principalmente con el DPPH en pimiento morrón verde. Los resultados coinciden con lo reportado por Floegel *et al.*, (2011). El hallazgo refleja los diferentes mecanismos en los que se basan los métodos ABTS y DPPH. Vale la pena mencionar que los métodos ABTS y DPPH tuvieron un bajo coeficiente de correlación de Pearson de $r = 0.36$ entre ellos, esto también coincide con lo reportado por Floegel *et al.*, (2011).

Por otro lado, los SST se correlacionan fuertemente con CCa en el pimiento rojo (**Figura 1**). Además, CFn se correlaciona positivamente con CCa y SST en pimiento rojo, naranja y amarillo y negativamente con CAs en pimiento verde. Las últimas afirmaciones pueden explicarse por el hecho de que CFn y SST aumentan y CAs disminuye con la maduración (Ghasemnezhad *et al.*, 2011; Blanco-Ríos *et al.*, 2013).

La **Figura 2** muestra los espectros FT-MIR de pimientos morrones de 4 colores en la región del infrarrojo medio. La interpretación de bandas de adsorción fue de acuerdo a Sócrates (2001).

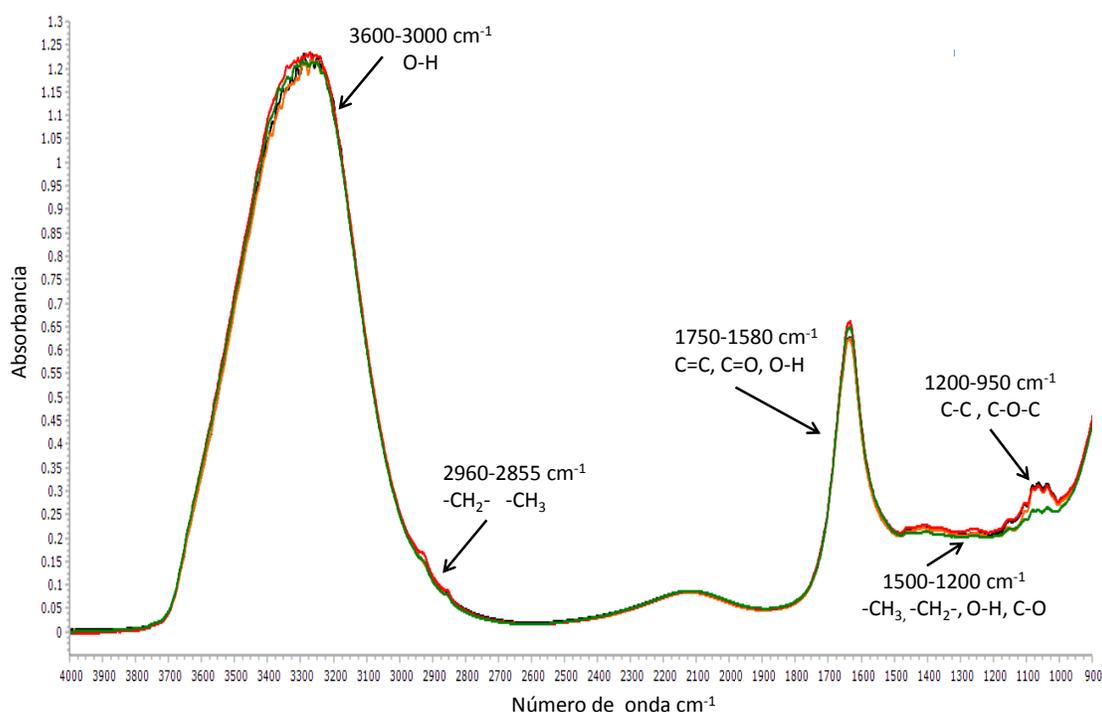


Figura 2. Espectro FT-MIR de pimienta morrón verde —, rojo —, naranja — y amarillo — en la región de 4000-900 cm^{-1} .

La banda de 3600–3000 cm^{-1} está asignada a la vibración de estiramiento del grupo O-H del agua y los compuestos fenólicos. Las bandas entre 2960-2855 cm^{-1} se deben al estiramiento asimétrico y simétrico de metilos (-CH₃) y metilenos (-CH₂-). La banda entre 1750–1580 cm^{-1} corresponde a la superposición de las vibraciones de carbonilo, C=C y sobretono de O-H. La región de 1500 a 800 cm^{-1} se denomina región de la huella digital porque esta región es característica de cada muestra. Contiene picos que surgen de deformaciones complejas de las moléculas. En esta región se observó la flexión asimétrica de -CH₂- y -CH₃ entre 1448-1444 cm^{-1} . Las bandas en la región 1410-1310 cm^{-1} corresponden a la deformación O-H y la vibración de estiramiento C-O de los fenoles. Las bandas en la región 1280-1200 cm^{-1} corresponden al estiramiento C-O y las torsiones fuera de plano de O-H de los ácidos carboxílicos. Finalmente, las bandas en la región entre 1200–950 cm^{-1} se asignaron a los picos de absorción de vibración de estiramiento de C-O-C, C-O y C-C. Las diferencias espectrales entre los pimientos morrón se encontraron en la región entre 1500-950 cm^{-1} , donde algunas bandas están ausentes en el pimienta verde y con diferente intensidad en los pimientos rojos, naranjas y amarillos (Figura 2).

CONCLUSIONES

Los compuestos bioactivos de pimienta verde, rojo, naranja y amarillo mostraron diferencias significativas. Los pimientos morrón mostraron una capacidad antioxidante mucho mayor detectada por el ensayo ABTS. Se obtuvo una baja correlación entre los ensayos ABTS y DPPH ($r = 0.36$). Existe una fuerte correlación entre ABTS y CFn o CCA en pimientos morrón amarillo, naranja y rojo, y una fuerte correlación entre DPPH y CAs en pimientos morrón verde. Las diferencias espectrales entre los pimientos morrón se encontraron principalmente en la región entre 1500-950 cm^{-1} .

BIBLIOGRAFÍA

- Association of Vitamin Chemists Inc. 1966. *Methods of Vitamin Assay*. 3rd Ed. New York: Interscience Publishers.
- Blanco-Ríos, A.K., Medina-Juárez, L.A., González-Aguilar, G.A., & Gámez-Meza, N. 2013. Antioxidant activity of the phenolic and oily fractions of different sweet peppers. *J Mex Chem*, 57(2), 137-143.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E., & Berset, C. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Food Sci Technol*, 28, 25-30.
- Chuah, A.M., Lee, Y.C., Yamaguchi, T., Takamura, H., Yin, L.J., & Matoba, T. 2008. Effect of cooking on the antioxidant properties of coloured peppers. *Food Chem*, 111, 20-28.
- Floegel, A., Kim, D.O., Chung, S.J., Koo, S.I., & Chun, O.K. 2011. Comparison of ABTS/DPPH assays to measure antioxidant capacity in popular antioxidant-rich US foods. *J Food Compos Anal*, 24, 1043-1048.
- Fotakis, C., Christodouleas, D., Zervou, M., Papadopoulos, K., & Calokerinos, A.C. 2012. Classification of Wines Based on Different Antioxidant Responses to Spectrophotometric Analytical Methods. *Analytical Letters*, 45(5-6), 581-91.
- Ghasemnezhad, M., Sherafati, M., & Payvast, G.A. 2011. Variation in phenolic compounds, ascorbic acid and antioxidant activity of five coloured bell pepper (*Capsicum annum*) fruits at two different harvest times. *J Funct Foods*, 3 (1), 44-49.
- PC-022-2005. 2005. Pliego de condiciones para el uso de la marca oficial México calidad suprema en pimiento morrón. México. Bancomext.
- Ranganna, S. 1986. *Handbook of Analysis and Quality Control for Fruits and Vegetable Products*. New Delhi: Tata McGraw Hill Publishing.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic Biol Med*, 26(9-10), 1231-1237.
- Singleton, V.L., & Rossi, J.A. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am J Enol Vitic*, 16, 144-158.
- Socrates, G. 2001. *Infrared and Raman characteristic group frequencies: Tables and charts*. Chichester: John Wiley and Sons.