EVOLUTION OF CAPSAICINOIDS AND VOLATILE COMPOUNDS IN FERMENTED PASTES FROM JALAPEÑO AND SERRANO CHILI PEPPERS

(Evolución de los capsaicinoides y compuestos volátiles, presentes en pastas fermentadas de chile jalapeño y serrano)

Julisa Edith López Ramírez[a*], Estefany Hernandez Aguilera[a], Karina de la Rosa Silerio[a], Pedro Martín Mondragón Cortez[a].

[a]Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, A.C. Tecnología Alimentaria. Normalistas # 800 Colinas de la normal, Guadalajara, Jalisco, México. C.P. 44270.

* Julisa Edith López Ramírez: jelopez@ciatej.mx

Área del Conocimiento: Química de Alimentos.

ABSTRACT

The chili pepper (Capsicum) is a basic ingredient in Mexican food, their flavor and aroma are influenced by volatile compounds responsible for odor; and the capsaicinoids, responsible for the pungency. In this work, was analyzed the fermentation effect in evolution of major capsaicinoids and in the volatile compounds. The capsaicinoids (capsaicin and dihydrocapsaicin) by using high performance liquid chromatography (HPLC) using two fermented pastes from jalapeño and serrano chili peppers. On the other way, gas chromatography coupled with mass spectrometry (GC-MS) was used to evaluate volatile compounds. The results showed that capsaicinoids increased in fermented pastes from two varieties. Capsaicin was observed in the interval from 188.98 to 311.53 ppm and 107.39 to 195.80 ppm in jalapeño and serrano fermented pastes, respectively. While that dihydrocapsaicin was observed in the interval from 29.78 to 37.81 ppm and 15.11 to 28.86 ppm in jalapeño and serrano fermented pastes, respectively. By using GC-MS were identified 68 volatiles compounds in both fermented pastes. The compounds were classified in chemical family, and for example was observed that sulfuric compounds decreased while that the acids compounds increased in jalapeño and serrano peppers pastes. The results obtained in this work, could be used to select specific type of fermented paste to elaborate typical salsa with originals sensory and nutrimental properties.

Keywords: Capsaicinoids; volatile; cromatography; chili

RESUMEN

El chile (Capsicum) es un ingrediente básico en la comida mexicana, su sabor y aroma están fuertemente influenciadas por los compuestos volátiles responsables del olor; y los capsaicinoides, responsables de la pungencia o picor. En este trabajo, se evaluó el efecto de la fermentación en la evolución de los principales capsaicinoides y en los compuestos volátiles. Los capsaicinoides (capsaicina y dihidrocapsaicina) se evaluaron por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) utilizando dos pastas fermentadas de chile jalapeño y chile serrano. Por otro lado, se utilizó la cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS) para evaluar los compuestos volátiles. Los resultados mostraron que capsaicinoides aumentaron en las dos pastas fermentadas. La capsaicina se incrementó de 188,98 a 311,53 ppm y 107,39 a 195,80 ppm en las pastas de jalapeño y serrano respectivamente. Mientras que la dihidrocapsaicina se observó en el intervalo de 29.78 a 37,81 ppm y 15.11 a 28,86 ppm en las pastas jalapeño y serrano, respectivamente. Mediante el uso de GC-MS se identificaron 68 compuestos volátiles en ambas pastas fermentadas. Los compuestos fueron clasificados en familia química, en general, se observó que los compuestos azufrados disminuyeron, mientras que los compuestos ácidos se incrementaron en las pastas de jalapeño y serrano. Los resultados obtenidos en este trabajo, se podrían utilizar para seleccionar el tipo

específico de pasta fermentada para elaborar la salsa típica con originales sensoriales y las propiedades nutrimentales.

Palabras clave: Capsaicinoides; chile; volátiles; cromatografía

INTRODUCCIÓN

El chile (*Capsicum*), originario de América, es un condimento básico en los platillos típicos mexicanos, moles, salsas, adobos y dulces, también se utiliza como materia prima para elaborar champús, cremas y atomizadores para defensa personal, además, es usado como estimulante del apetito, cardiotónico, rubefaciente para artritis, carminativo y anti-hipertensivo. Estas propiedades son atribuidas a que son fuente de compuestos bioactivos, los cuales, tienen la capacidad de contrarrestar los efectos dañinos para la salud, es rico en polifenoles, provitamina A, vitamina C, carotenoides, antocianinas y capsaicinoides (Guadarrama L. y col., 2010 [1]).

Los polifenoles tienen actividad antioxidante, mientras que los flavonoides actividad anti-cancerígena. Los ácidos grasos de cadena corta, ayudan al metabolismo de los carbohidratos (Matsufuji H. 2008 [2]). Por otro lado los capsaicinoides, tienen actividad anti-microbiológica, antioxidante y efectos anticancerígenos (Cleeg M. *et al*., 2011 [3], Loeser J. *et al*., 2012 [4]). Los capsaicinoides, además de bioactivos, son los responsables de la pungencia y son de gran importancia para el sabor típico del chile, que junto con los compuestos volátiles juegan un papel muy importante en la percepción sensorial del mismo, su presencia y concentración da una identidad propia a cada variedad de chile.

Por otro lado, para conservar el chile se recurre diferentes procesos como el deshidratado (entero, en hojuelas o molido), elaboración de encurtidos o salmueras, la elaboración de pastas (que pueden ser fermentadas o no). Los alimentos fermentados son definidos como todos aquellos alimentos que han sido modificados, en una vía deseada por la actividad microbiana o enzimática. Estos alimentos son productos apetitosos que se preparan a partir de materia cruda o tratada térmicamente y que, mediante un proceso en el cual se incluyen microorganismos específicos, adquieren propiedades sensoriales características en cuanto a sabor, aroma, apariencia visual, textura y consistencia, además de una mayor vida de anaquel e inocuidad higiénica [5, 6].Los cambios que ocurren son causados por los metabolitos liberados por tales microorganismos, mismos que juegan un papel primario en la fermentación [7, 8, 9].En este estudio se pretende contribuir al conocimiento del efecto del proceso de fermentación en los dos principales capsaicinoides(capsaicina y la dihidrocapsaicina), así como su efecto en el perfil volátil., utilizando pastas fermentadas con *Lactobacillus plantarum* obtenidas de dos variedades de chile: Serrano y jalapeño.

METODOLOGÍA

Obtención de Muestras: Se obtuvo la pasta a partir del chile fresco, la cual se llevó a choque térmico (de 90°C /15 minutos a 4°C/5 minutos), se inoculó con *L. plantarum*, s e incubó a 32$\pm$3 C durante 24 h. Los muestreos se realizaron cada 4 h. Las muestras se almacenaron a -18°C hasta la medición cromatográfica.

Determinación de capsaicinoides. 5 g de muestra con 25 mL de etanol al 95% se agitaron durante 2 minutos, se llevaron a ultrasonido por 30 minutos y se centrifugaron durante 15 minutos a 7500 rpm. Se recuperó el sobrenadante para al análisis cromatográfico. Para la identificación de capsaicina y dihidrocapsaicina, la inyección de muestras fue de 100 µl (AutomuestreadorVarian Al ProStar 430-2) a un sistema de HPLC (Varian As ProStar 420-1) equipado con bombas (Varian Prostar 230), un detector UV-Vis

(Varian Prostar 325) a 284 nm de longitud de onda y una columna C18 que se mantuvo a 25ºC. Como fase móvil se manejó agua de grado HPLC (que contiene 1% de ácido acético) y acetonitrilo (Sigma-Aldrich) (50:50, v/v) a una velocidad de flujo de 1.0 ml/min siguiendo un gradiente de elusión acetonitrilo/agua 50:50; al minuto 2, 80:20; al minuto 8, 50:50 durante 7 minutos, con un tiempo de corrida total de 15 minutos.

Determinación de compuestos volátiles. 5 g de muestra con 10 mL de solvente (Metanol/isococtano 3:2) se agitó durante 3 minutos, se centrifugó a 5500 rpm durante 5 minutos, se recuperó el sobre nadante para el análisis cromatográfico. Condiciones cromatográficas: cromatógrafo de gases, HP 6890 series II, acoplado a un espectrómetro de masas HP 5973N, con una columna polar de 60 m x 0.25 mm x 0.25 µm. El horno fue programado a una temperatura inicial de 50 °C, mantenida durante 5 minutos, después se incrementó a razón de 5 °C/min, hasta 220 °C y se mantuvo por 20 minutos. La temperatura del inyector fue 220 °C y del detector 240 °C. El volumen de muestra inyectado fue de 0.5 µL utilizando un flujo de helio de 0.7 mL/min. Los compuestos fueron identificados utilizando la librería de espectros Nist 6.L.

RESULTADOS

Una vez obtenidas las muestras de las pastas fermentadas, se procedió a realizar el análisis instrumental, por un lado se evaluó la variación en las concentraciones de la capsaicina y dihidrocapsaicina, resultados obtenidos por medio de cromatografía líquida de alta resolución; y por otro lado, los resultados obtenidos debido a la fermentación, reflejado en los compuestos volátiles, evaluados mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas.

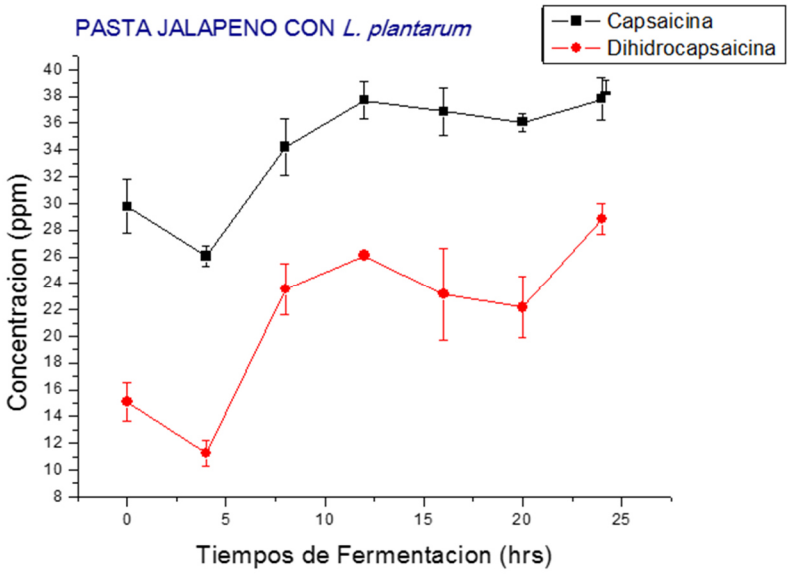

Figura 1.- Evolución de la capsaicina y dihidrocapsaicina, durante la fermentación de la pasta de chile jalapeño.

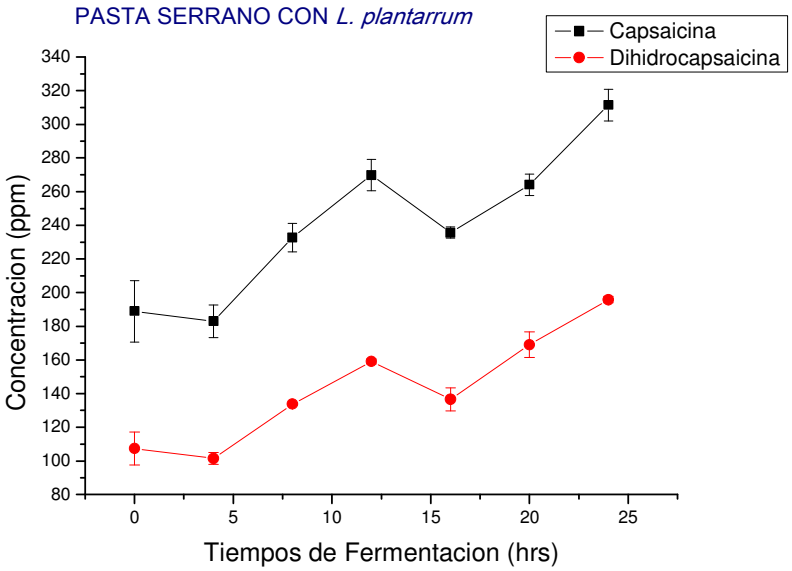

Figura 1.- Evolución de la capsaicina y dihidrocapsaicina, durante la fermentación de la pasta de chile serrano.

En la Tabla 1, se muestra el número de compuestos volátiles clasificados por familias, presentes en las pastas de chile jalapeño y Serrano en al inicio y final de la fermentación.

Tabla 1.Número de compuestos volátiles, presentes en las pastas de chile Jalapeño y serrano, a tiempo inicial y final de la fermentación.

Familias de compuestos químicos	Jalapeño		Serrano		Total
	Tiempo inicio	Tiempo final	Tiempo inicio	Tiempo final	
Acidos	8	10	7	9	9
Alcoholes	4	4	4	4	4
Aldehídos y cetonas	8	8	10	10	10
Azufrados	8	4	5	2	8
Esteres	5	5	5	5	5
Terpenos	10	10	10	10	10
Fenoles	1	2	2	2	2
Hidrocarburos	6	6	5	5	6
Diversos	14	14	12	12	14
Total compuetos					68

DISCUSIONES

En las Figuras 1 y 2, se puede observar la gráfica que indica el incremento de los capsaicinoides en función del tiempo de fermentación.

En las muestras de chile jalapeño (Figura 1), la capsaicina aumento su concentración de 29.79 ppm a 37.81 ppm a las 24 h de fermentación. Para la dihidrocapsaicina los valores encontrados fueron de 15.11 ppm a tiempo cero de fermentación y de 28.86 ppm a tiempo final. Para las muestras de chile serrano (Figura 2), de 188.98 ppm y 107.39 ppm a tiempo inicial de fermentación, y de 311.43 ppm y 195 ppm a tiempo final, para la capsaicina y dihidrocapsaicina respectivamente. Independientemente de la variedad de chile, las pastas sometidas a fermentación presentaron un incremento relativamente continuo, lo que hace suponer que no se forman durante el proceso, si no que se liberan durante el mismo, sin embargo, es importante señalar que están reportados como inhibidores de la fermentación [5].

Respecto a los compuestos volátiles, en la Tabla 1 se puede observar el número de compuestos por familia y su variación al inicio y final de fermentación. Se observa que compuestos como los alcoholes, los terpenos, los ésteres, no cambiaron durante el proceso; otros solo cambiaron por variedad, como los aldehídos y cetonas, los fenoles, hidrocarburos y los de naturaleza diversa, en otros se observa que cambiaron por variedad y por tiempo de fermentación como los ácidos, y lo compuestos sulfurados.
A continuación se mencionan algunos de los compuestos volátiles encontrados en las muestras analizadas: Ácidos: Acético, propanoico, butírico, hexanoico, octanoico, decanoico, dodecanoico, tretranoico, octadecanoico. Alcoholes: Metanol, etanol, 1-octen-3-ol, 3,6-nonadienol. Aldehídos y cetonas: 2-pentenal, hexanal, 2-hexenal, 4-heptenal, heptanal, 2-heptenal, benzaldehído, 2,4-heptadienal, 2-octenal, 2,6-nonadienal. Azufrados: Butil heptadecil sulfato, pentil tetradecil sulfato, 4-(Metiltio)-2-tiol, 2-(metiltio)-4-tiol, Ditiol, 2-Mercapto-4-heptanol, 4-Hepteno-2-tiol, 2-heptanetiol. Esteres: Metil salicilato, etil 2-metilbutanoato, etil 4-metilpentanoato, 4-metilpentil pentanoato, hexil-2-metil butirato. Terpenos: Terpineol, murolol, linalol, mentol, gama-terpineno, alfa-terpineol, alfa pineno, mirceno, humuleno, isocariofileno. Fenoles: Guaiacol, eugenol.

CONCLUSIONES

Para el chile serrano se cuantificó 188.98 ppm de capsaicina y 107.39 ppm de dihidrocapsaicina en pasta sin fermentar y 311.53 ppm y 195.80 ppm de capsaicina y dihidrocapsaicina respectivamente en pasta fermentada. Para el chile jalapeño, se encontró 29.78 ppm de capsaicina y 15.11 ppm de dihidrocapsaicina en pasta sin fermentar y en pasta fermentada fue de 37.81 ppm de capsaicina y 28.86 ppm de dihidrocapsaicina. La fermentación permitió una mejor detección de los capsaicinoides y permitió identificar algunos cambios en compuestos volátiles.

REFERENCIAS

[1] Guadarrama L., Beltrán L., Dorantes A., Jaramillo F. (2010). Influencia de las Condiciones de Extracción en la Obtención de Pigmentos de Chile (Capsicum annuum L. grossum sendt.) XVIIII Congreso Nacional de Ingeniería Bioquímica XVIIII. Clave: ALI288AND20091222

[2] Matsufuji H. (2008). Chemical Structures and Antioxidant Activity of Natural Food Colorants Department of Food Science and Technology, College of Bioresource Sciences, Nihon University Foods Food Ingredients J. Jpn., Vol. 213, No.6.

[3] Clegg M.E., Golsorkhi M., Henry C.J. (2011). Combined medium-chain triglyceride and chilli feeding increases diet-induced thermogenesis in normal-weight humans. European Journal of Nutrition. Loeser J. et al.,2012 Chili zur Therapie der Trigeminusneuralgie.Schmerz26:435–437.

[4]Loeser J., Pilgram B., Dagtekin O. (2012). Chili zur Therapie der Trigeminusneuralgie.Schmerz26:435–437.

[5] Messens, W., De Vuyst, L. (2002). Inhibitory substances produced by Lactobacilli isolated from sourdoughs-a review. Intertational Journal of food microbiology. 72:31-43.

[6] Schneider, R., Fernandez, F.J. Aguilar, M.B., Guerrero-Legarreta, I., Alpuche-Solis, A., Ponce-Alquicira E. (2006). Patrial characterization of a class llapediocin produced by Pediococcus parvulus 133 strain isolated from meat (Mexican “chorizo”). Food Control. 17:909-915.

[7] Pederson, C. S., Albury, M.N. (1955). The influence of salt and temperature on the microflora of sauerkraut fermentation. Food Technology, 8(1), 1-5.

[8] Deshpande, S.S., Salunkhe, D.K. (2000). Fermented grain legumes, seeds and nuts. A global perspective. New York: FAO Agricultural Services Bulletin No.142.

[9] Dokken, L., Schmindt, B. (2003). Fermentation in the Food Industry: An Introduction to Biotechnology: Biotechnology workshop for teachers. Wisconsin: University of Wisconsinriver Falls.