

Termodegradación de carotenoides en el pimentón

Por A. Pérez Gálvez y J. Garrido Fernández

Departamento de Biotecnología de Alimentos. Instituto de la Grasa.
Avda. Padre García Tejero, 4, 41012 Sevilla.

RESUMEN

Termodegradación de carotenoides en el pimentón.

Pimentón comercial se somete a distintas temperaturas, desde 30 hasta 100°C para controlar el efecto del calor en los carotenoides de esta especia. Se encuentra una degradación de pigmentos, via isómeros *cis*, que para las temperaturas más bajas incrementan su concentración. A partir de los 70°C se observa una destrucción generalizada.

PALABRAS-CLAVE: Carotenoide – Isomerización – Pimentón – Termodegradación.

SUMMARY

Thermodegradation of carotenoids in paprika.

Commercial paprika is placed at different temperatures, from 30 up to 100°C in order to control the effect of heat in carotenoids of this spice. A degradation is found via *cis*-isomers, with a concentration increase at low temperature. There is, from 70°C, a great destruction in all pigments.

KEY-WORDS: Carotenoid – Isomerization – Paprika – Thermodegradation.

1. INTRODUCCIÓN

El pimentón es uno de los colorantes alimentarios naturales más ampliamente empleado. Su calidad como capacidad de producir color y como estabilidad en el tiempo está directamente relacionada con factores como variedad de fruto empleado en su elaboración, condiciones de cultivo, grado de madurez, fecha de recolección, etc., que van a condicionar, ya de entrada, las posibilidades de obtener un buen producto final (Almela *et al.*, 1991; Mínguez *et al.*, 1994a; Levy *et al.*, 1995). Otro aspecto, de gran importancia en este sentido, es el conjunto de tratamientos que se tienen que aplicar al fruto hasta llegar al pimentón, principalmente secado y molienda, en los cuales, el aire y el calor van a tener una presencia destacada.

Los hábitos artesanales o industriales concretos pueden afectar en mayor o menor grado a los carotenoides presentes en el producto acabado (Mínguez *et al.*, 1993a; Mínguez *et al.*, 1994b). Una vez conseguido el pimentón, con unas determinadas características, la forma de almacenamiento va a influenciar la degradación que pueda producirse en el tiempo, siendo los carotenoides amarillos, en condiciones normales, los que se descomponen más rápidamente (Mínguez *et al.*, 1992). La pérdida de pigmentos se acentúa con el incremento de la temperatura (Malchev *et al.*, 1982) y, por el contrario, aparecen en mayor extensión los compuestos de pardeamiento (Ramakrishnan y Francis, 1973) que llegan a enmascarar a los propios carotenoides.

La presencia de componentes protectores antioxidantes, tipo tocoferoles y ácido ascórbico (Daood *et al.*, 1996), pueden ejercer una acción muy positiva en el mantenimiento de la calidad del producto final, contrarrestando la acción de los factores degradativos. Por ello, es práctica habitual el añadir un cierto porcentaje de semilla del propio fruto, que con el aporte adicional de sustancias protectoras que ello conlleva permite una mejor conservación de las propiedades colorantes y nutritivas del triturado obtenido. Al mismo tiempo su alto contenido en lípidos confiere al producto final un aspecto más lustroso y un color más brillante.

El valor de provitamina A de los carotenoides con anillo de β -ionona, y el carácter protector frente a procesos cancerígenos de los carotenoides, hace que se preste una atención especial a estos pigmentos y el efecto que sobre ellos tienen las distintas etapas de procesado y conservación. Por otra parte, el empleo del pimentón en los distintos preparados alimenticios, caseros o industriales, puede situar a los carotenoides en condiciones propicias para su degradación termooxidativa. Una de las transformaciones más frecuentes de dichos carotenoides es la formación de isómeros *cis*, que puede ser producida por factores como luz y temperatura (Tsukida *et al.*, 1982; Marty *et al.* 1986) con la consiguiente pérdida del poder vitamínico. Si las condiciones se hacen drásticas entonces se producen reacciones rápidas hacia productos incoloros (Onyewu *et al.*, 1982).

Este trabajo tiene como objetivo estudiar las modificaciones que pueden experimentar los carotenoides de un pimentón en condiciones de oxidación térmica según diferentes temperaturas. Los resultados que se obtienen pueden ser de gran interés en el sentido de orientar hacia qué derivados tienden a transformarse los pigmentos del pimentón en función del aporte térmico suministrado.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Materia prima

El estudio se llevó a cabo partiendo de muestras de unos 10 gramos de pimentón, en placas Petri, las cuales se colocan en estufa y en ausencia de luz a las temperaturas respectivas de 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 y 100°C. El período de calentamiento se fija en 7 días ya que se ha observado, por experiencias previas, que es el tiempo más corto para que, a las temperaturas inferiores, empiecen ya a producirse cambios medibles en los pigmentos.

2.2. Extracción y saponificación de pigmentos

Muestras de un gramo de pimentón se extraen varias veces con acetona (RPA) usando un homogeneizador (Polytron Ultra-Turrax modelo T-25) hasta que los filtrados se recogen sin color. Los extractos se reúnen en un embudo de decantación de 500 ml y se adicionan 100 ml de éter etílico (RPA). Suficiente cantidad de disolución acuosa de NaCl al 10% (p/v) se añade para separar las fases y transferir los pigmentos al éter. Esta solución se trata con Na₂SO₄ anhidro al 2% (p/v) para eliminar toda el agua.

A continuación, a la fase etérea, se adicionan 50 ml de KOH en MeOH al 10% (p/v) y β -Apo-8'-carotenal para la posterior cuantificación. La mezcla se agita periódicamente y el tiempo de reacción fijado es de una hora, transcurrida la cual se añade solución acuosa de NaCl al 10%. Se continúan los lavados hasta que las aguas resultantes alcancen la neutralidad. Si estas aguas de lavado retuvieran pigmentación, ésta se recuperaría con éter etílico, y se unirían a la fase orgánica madre. Seguidamente se filtra por lecho de Na₂SO₄ sólido y se evapora el éter en rotavapor (Büchi modelo R-110) hasta sequedad. El residuo sólido se recoge en acetona (grado HPLC) y se conserva a -20°C para su posterior análisis por HPLC.

2.3. Análisis por cromatografía líquida

La separación y cuantificación de pigmentos se llevó a cabo en un cromatógrafo líquido Waters modelo 600E equipado con bomba cuaternaria y detector de diodos array modelo 996. La columna empleada es una C₁₈ de fase reversa con relleno Spherisorb ODS 2,250*4mm d.i. (Hewlett-Packard). El tamaño de partícula es de 5µm. Una precolumna del mismo material se utiliza para proteger la columna principal. El inyector empleado es Rheodyne modelo 7125 con loop de 20 µl de volumen.

Las condiciones cromatográficas empleadas son las descritas por Mínguez Mosquera y Hornero Méndez (1993), que se resumen a continuación. Sistema en gradiente formado por acetona-agua (75:25) durante 5 minutos, subida lineal hasta 95:5 en 5 minutos, condiciones isocráticas durante 7 minutos, gradiente convexo hasta 100:0 en 5 minutos, y vuelta a las condiciones iniciales en 5 minutos de forma lineal. La velocidad de flujo es de 1,5 ml/min. y la longitud de onda del detector de 450 nm.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Ensayos previos llevados a cabo por un período de 7 días y a 30°C, pusieron de manifiesto que no se detectan modificaciones que puedan considerarse como tales, sino más bien variaciones propias de distintos análisis. Por tal motivo se toma esta temperatura como referencia inicial de la materia prima. En la Tabla I se presentan los valores medios obtenidos en la concentración individual de cada pigmento controlado y en el total carotenoide, a las ocho temperaturas de la experiencia. Puede observarse desde la temperatura de 30 a 60°C un incremento claro de los isómeros *cis* de capsanteno, de zeaxanteno y de β -caroteno mientras el resto de pigmentos experimenta un descenso casi generalizado, con ligeras oscilaciones de mantenimiento. La explicación a estas modificaciones se puede fundamentar en el hecho de que los pigmentos en su forma más estable adquieren la configuración «all trans», pero por efecto de calor moderado algunos se isomerizan a sus formas *cis* en una extensión comparable a la energía absorbida. No obstante, el conjunto de pigmentos presenta una disminución progresiva en su concentración, que se ve reflejada en el cómputo del total. Hay dos pigmentos que se presentan como los más lábiles al calor; mutatoxanteno que ya no se detecta a los 70 grados y violaxanteno que desaparece después de tratar a 100 grados. El resto, aunque con niveles muy disminuidos, al final aún siguen manteniendo su presencia.

Tabla I
Evolución de la concentración individual y total de pigmentos (mg/kg) encontrada en un pimentón almacenado durante 7 días a distintas temperaturas

(Valores medios, n=3)

Pigmento	Temperatura							
	30°C	40°C	50°C	60°C	70°C	80°C	90°C	100°C
Capsorrubeno	258,49	214,78	201,67	186,09	177,04	121,05	68,72	46,15
Violaxanteno	219,95	172,70	149,26	136,66	136,08	55,18	19,79	nd
Epóxido-5,6-capsanteno	144,83	125,88	128,06	110,87	97,95	64,14	29,15	16,40
Capsanteno	1675,49	1709,94	1557,14	1485,52	1262,06	883,00	384,34	220,61
9 y 13 cis-capsanteno	334,30	326,98	389,37	397,04	263,90	243,50	178,80	77,54
Mutatoxanteno	51,52	40,87	38,88	24,91	nd ^a	nd	nd	nd
Capsoluteína	302,32	285,31	272,37	257,22	200,83	135,93	63,76	31,45
Zeaxanteno	372,06	366,10	323,09	314,88	267,10	186,23	83,57	47,10
Cis-zeaxanteno	37,99	41,27	56,20	60,32	29,41	21,82	15,74	3,75
β-criptoxanteno	324,40	322,53	300,98	307,00	229,77	158,45	64,51	29,36
β-caroteno	404,68	369,20	318,16	294,53	217,67	143,73	58,03	24,16
Cis-β-caroteno	39,40	48,54	56,68	66,53	38,50	22,09	17,46	15,35
Totales	4113,90	3983,22	3752,98	3616,67	2920,31	2025,07	983,85	511,86

^and: no detectado

Como se observa, para las temperaturas más bajas (30, 40 y 50°C), las variaciones no tienen gran importancia para el período de tiempo que se controla. Para 40 grados el efecto es todavía pequeño, no obstante es el primer punto en que se empiezan a producir cambios en la concentración de pigmentos. Esto evidencia que el color del pimentón, en cuanto a presencia de pigmentos se refiere, tiene una estabilidad muy aceptable ya que permite un almacenamiento, a temperatura ambiente y a medio plazo, sin condiciones especiales de refrigeración. Para temperaturas más elevadas ya sí se aprecia claramente una pérdida de la estabilidad carotenoide, como queda patente, de forma global, en el descenso de concentración que experimenta el total de pigmentos. Por tanto, la capacidad colorante disminuye, y su pérdida se hace más intensa a medida que se eleva la temperatura.

Centrando nuevamente la atención en los pigmentos mencionados anteriormente, isómeros cis de capsanteno, de zeaxanteno y de β-caroteno, en temperaturas bajas e intermedias (30, 40, 50 y 60°C), se produce un incremento en el valor absoluto de concentración que se hace máximo en torno a los 60 grados y a partir de ahí comienza a disminuir. Algunos autores (Pesek *et al.*, 1990) han encontrado que en soluciones orgánicas modelo de β-caroteno, a temperaturas suaves, se produce un equilibrio entre este pigmento y sus correspondientes 9 y 13 isómeros cis. En

muestras reales y complejas, como en el pimentón, la situación es bien distinta y no comparable directamente. En la práctica tendrán lugar dos reacciones fundamentales: una de isomerización, ya comentada, y otra más general de oxidación por hidroperóxidos, ya que la matriz en que se encuentran los pigmentos es rica en ácidos grasos. Dicha reacción transcurre vía radicales libres (Goldman *et al.*, 1983), y da lugar a productos incoloros.

En la figura 1 se ofrecen los cromatogramas de los extractos pigmentarios correspondientes al pimentón que no experimenta cambios (muestra sometida a 30°C) y al que se somete a la temperatura de 60°C. Se aprecia como efectivamente los isómeros cis (picos 4', 4'', 7' y 9'), adquieren una mayor importancia relativa (que también lo es en valor absoluto en relación a los valores de partida) respecto al resto de pigmentos. Con β-caroteno y zeaxanteno la posibilidad de diferenciar distintos isómeros del mismo pigmento no se consigue ya que todos eluyen en un solo pico. Para isómeros de capsanteno los cromatogramas muestran cierta separación y a lo largo de la experiencia sí se puede apreciar una evolución desde una mayor cantidad del isómero 13 cis al principio, equiparación en la zona de temperaturas medias (en torno a los 60 grados) y superación por el isómero 9 cis en las temperaturas altas. Es decir, 9 cis capsanteno se forma en mayor extensión, a medida que se incrementa la temperatura.

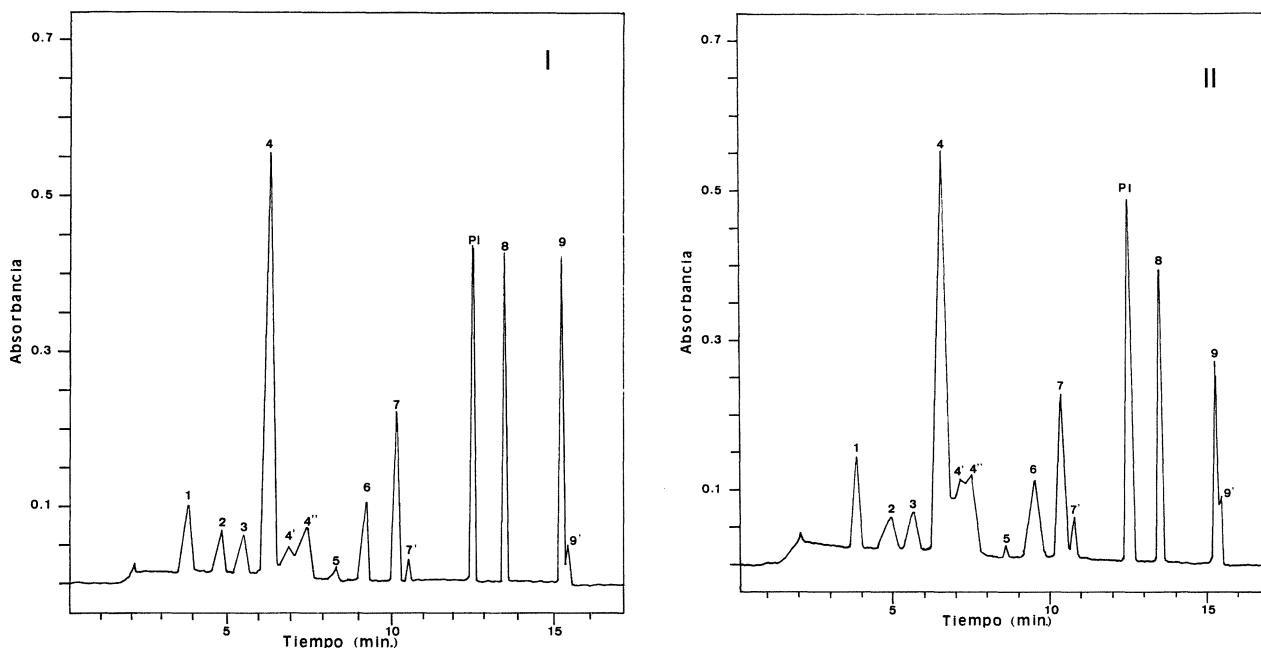


Figura 1

Cromatograma de HPLC obtenido a partir del extracto saponificado de pigmentos procedente de pimentón almacenado durante 7 días a I) 30° C y II) 60 °C. Pigmentos considerados: 1, capsorrubeno; 2, violaxanteno; 3, epóxido 5-6 de capsanteno; 4, capsanteno; 4', 9-cis capsanteno; 4'', 13-cis capsanteno; 5, mutatoxanteno; 6, capsoluteína; 7, zeaxanteno; 7' cis zeaxanteno; PI, Patrón Interno: β -apo-8'-carotenal; 8, β -criptoxanteno; 9, β -caroteno; 9', cis β -caroteno

En la figura 2 se representan, según ajuste polinomial, los cambios de concentración como porcentaje de retención para las distintas temperaturas de los pigmentos menos estables, capsorrubeno, violaxanteno y mutatoxanteno. Esta forma de representación permite, de una manera inmediata, poder comparar el comportamiento de los pigmentos entre sí, ya que de hacerlo a escala de concentración directa se perdería mucha visión de los cambios ocurridos en los componentes minoritarios, debido al efecto amortiguador sobre ellos de los componentes mayoritarios. A bajas temperaturas las modificaciones no son muy elevadas, acelerándose ostensiblemente hasta llegar a los 100 grados. Por otro lado, en la figura 3 se ofrece la secuencia seguida por los isómeros de capsanteno, de zeaxanteno y de β -caroteno. Las variaciones al alza ocurridas para cis-zeaxanteno y cis- β -caroteno en los primeros valores de temperatura se pueden considerar como espectaculares, ya que incrementan su concentración en más del 50%. La separación de las formas 9 cis y 13 cis de capsanteno a veces no se obtiene de forma óptima, lo cual no permite una integración adecuada que posibilite su cuantificación de forma separada. Por ello se opta por dar un valor conjunto por el que se obtiene una cadencia conjunta en los valores, más acorde con la realidad.

Estos datos ponen de manifiesto que el calor produce en una primera etapa la formación preferente de isómeros y a mayor temperatura la oxidación de todos los pigmentos y su paulatina desaparición. La degradación de pigmentos con la temperatura es una reacción en cadena que acontece a todos los carotenoides pero que en función de las características de cada uno de ellos, o las etapas por las que transcurre en cada caso particular, estas transformaciones serán puestas de manifiesto con mayor o menor facilidad. Atendiendo a los datos de la tabla I, es la temperatura de 60 grados donde mejor puede observarse y estudiarse el efecto en la formación de isómeros cis en los carotenoides del pimentón. A menos temperatura esta transformación podría ser muy lenta para seguirla con claridad, y a mayor temperatura el efecto del calor sería cada vez más acusado y se tendrían productos de isomerización en concentraciones cada vez más pequeñas frente a las reacciones degradativas a compuestos incoloros y que seguramente no responden ya a una verdadera secuencia en el camino degradativo de los carotenoides del pimentón.

Si se consideran pigmentos individuales incluyendo los respectivos isómeros, cuando éstos están presentes (figura 4), hay que hacer notar que capsanteno más isómero, zeaxanteno más isómero y β -criptoxanteno mantienen, aproximadamente, el nivel de con-

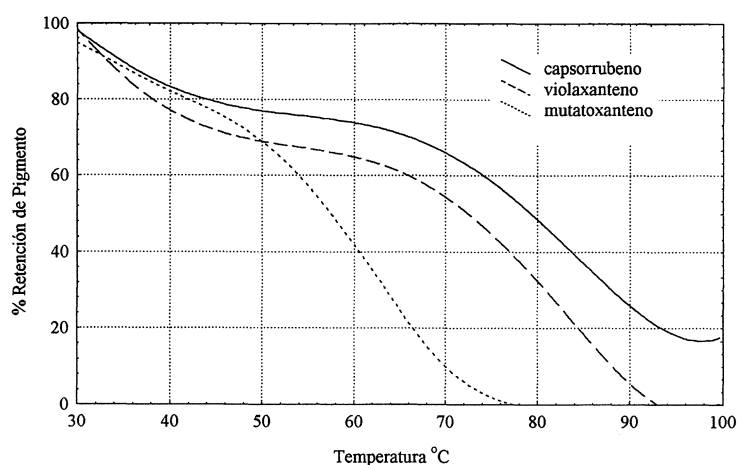


Figura 2
Efecto de la temperatura en los carotenoides más lábiles del pimentón, capsorrubeno, violaxanteno y mutatoxanteno, según ajuste polinomial del orden 4

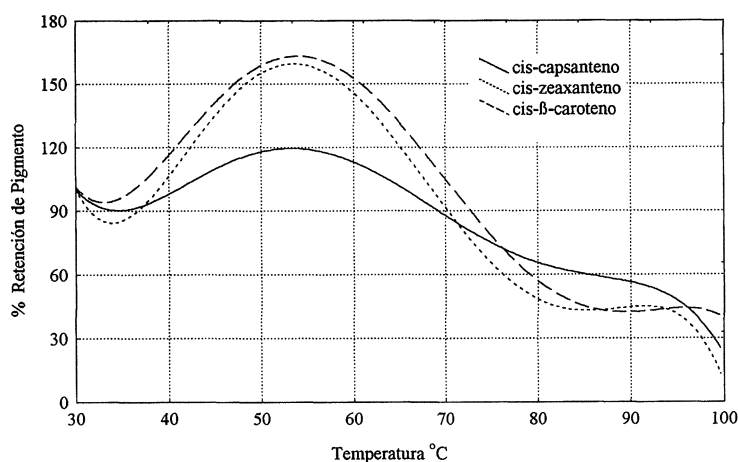


Figura 3
Efecto de la temperatura en la isomerización de capsanteno, zeaxanteno y β-caroteno, según ajuste polinomial de orden 4

centración en las primeras temperaturas, para luego bajar. En cambio, en el caso de β-caroteno más isómeros el descenso de concentración se produce de forma inequívoca desde el primer momento. En los dos casos restantes, no mencionados hasta ahora, capsanteno 5,6 epóxido y capsoluteína, esta concentración baja desde el inicio también, con mayor o menor intensidad.

Parece desprenderse de los datos recogidos que existe un comportamiento diferenciado en relación con la temperatura para cada uno de los componentes carotenoides del pimentón. Se produce, por un lado, una transformación de pigmentos a sus respectivos isómeros y, por otro lado, un relativo mantenimiento de los niveles de concentración globales para algunos de los carotenoides. Pero no hay que olvidar que, en todo

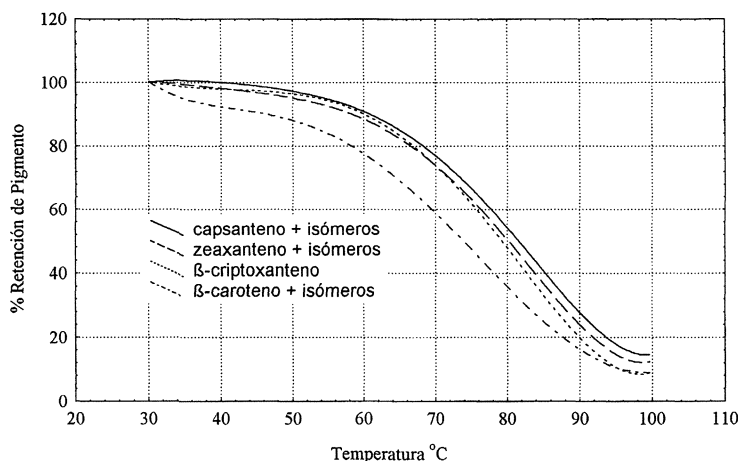


Figura 4
Efecto de la temperatura en la concentración de los pigmentos mayoritarios del pimentón, capsanteno, zeaxanteno, β -caroteno (junto con sus correspondientes isómeros) y β -criptoxanteno, según ajuste polinomial del orden 4

caso, tiene lugar degradación a componentes incoloros, es decir, pérdida neta de pigmentos. Luego en consonancia con todo ello, tendrá que haber descensos importantes en algunos pigmentos, que sean los que marquen el descenso global encontrado. Una alternativa, no contemplada aquí es que pudieran generarse interconversiones de unos pigmentos a otros (al margen de las isomerizaciones ya comentadas), lo cual justificaría también el descenso más ralentizado de unos pigmentos respecto a otros.

Sin considerar posibles interconversiones, se produce pérdida sustancial de concentración en todos los tramos para algunos carotenoides. Así ocurre con capsorrubeno, violaxanteno y mutatoxanteno (estos dos últimos llegan incluso a desaparecer). Una característica común a los tres para tener muy en cuenta es que estos carotenoides representan estados avanzados de oxigenación y, por tanto, muy proclives a que posteriores oxidaciones den lugar a rotura de moléculas con la consiguiente pérdida de coloración. En la medida en que prevalezca uno u otro paso para una determinada reacción parcial se producirá un incremento relativo de algún componente en particular aunque siempre en el sentido de una pérdida clara en el total de pigmentos presentes.

4. CONCLUSIONES

Como resumen y compendio a lo expuesto anteriormente se pueden establecer las siguientes conclusiones:

1.^a Se muestran evidencias de que la reacción de termodegradación de los carotenoides del pimentón

transcurre con un paso intermedio de formación de isómeros *cis*.

2.^a Se encuentra que una temperatura en torno a 60°C es la más adecuada para observar el efecto del calor en la formación de isómeros *cis*, en los carotenoides del pimentón, ya que es cuando la proporción relativa de estos derivados de transformación se hace más patente.

3.^a A partir de 70°C, se aprecia claramente un efecto degradativo de pérdida de pigmentos muy acusado, aspecto éste que debería ser muy tenido en cuenta durante el proceso de secado industrial de cara a la calidad final del pimentón.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido realizado gracias a la financiación aportada por la CICYT (proyecto ALI 94-0777) a la cual los autores expresan su agradecimiento.

BIBLIOGRAFÍA

- Almela, L., López-Roca, J., Candela, M., y Alcázar, M. (1991). —«Carotenoid Composition of New Cultivars of Red Pepper for Paprika».— *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **39**, 1606-1609.
- Daood, G., Vinkler, M., Márkus, F., Hebshi, E., y Biacs, P. (1996). —«Antioxidant Vitamin Content of Spice Red Pepper (paprika) as Affected by Technological and Varietal Factors».— *Food Chemistry* **55**, 365-372.

- Goldman, M., Horev, B., y Saguy, I. (1983). – «Decolorization of β -Carotene in Model Systems Simulating Dehydrated Foods. Mechanism and Kinetic Principles». – Journal of Food Science **48**, 751-754.
- Levy, A., Harel, S., Palevitch, D., Akiri, B., Menagem, E., y Kanner, J. (1995). – «Carotenoid Pigments and β -Carotene in Paprika Fruits (*Capsicum Spp.*) with Different Genotypes». – Journal of Agricultural and Food Chemistry **43**, 362-366.
- Malchev, E., Ioncheva, N., Tanchev, S., y Kalpakchieva, K. (1982). – «Quantitative Changes in Carotenoids during the Storage of Dried Red Pepper and Red Pepper Powder». – Die Nahrung **26**, 415-420.
- Marty, C., y Berset, C. (1986). – «Degradation of trans- β -Carotene During Heating in Sealed Glass Tubes and Extrusion Cooking». – Journal of Food Science **51**, 698-702.
- Mínguez Mosquera, M.I., Jarén Galán, M., y Garrido Fernández, J. (1992). – «Color Quality in Paprika». – Journal of Agricultural and Food Chemistry **40**, 2384-2388.
- Mínguez Mosquera, M.I., Jarén Galán, M., y Garrido Fernández, J. (1993a). – «Effect of Processing of Paprika on the Main Carotenes and Esterified Xanthophylls Present in the Fresh Fruit». – Journal of Agricultural and Food Chemistry **41**, 2120-2124.
- Mínguez Mosquera, M.I. y Hornero Méndez, D. (1993b). – «Separation and Quantification of the Carotenoid Pigments in Red Peppers (*Capsicum annuum* L), Paprika, and Oleoresin by Reversed-Phase HPLC». – Journal of Agricultural and Food Chemistry **41**, 1616-1620.
- Mínguez Mosquera, M.I. y Hornero Méndez, D. (1994a). – «Formation and Transformation of Pigments During the Fruit Ripening of *Capsicum annuum* Cv. Bola and Agridulce». – Journal of Agricultural and Food Chemistry **42**, 38-44.
- Mínguez Mosquera, M.I., Jarén Galán, M., y Garrido Fernández, J. (1994b). – «Influence of the Industrial Drying Processes of Pepper Fruits (*Capsicum annuum* Cv. Bola) for Paprika on the Carotenoid Content». – Journal of Agricultural and Food Chemistry **42**, 1190-1193.
- Onyewu, P., Daun, H., y Ho, C. (1982). – «Formation of Two Thermal Degradation Products of β -Carotene». – Journal of Agricultural and Food Chemistry **30**, 1147-1151.
- Pesek, C., Warthensén, J., y Taoukis, P. (1990). – «A Kinetic Model for Equilibration of Isomeric β -Carotenes». – Journal of Agricultural and Food Chemistry **38**, 41-45.
- Ramakrishnan, T., y Francis, F. (1973). – «Color and Carotenoid Changes in Heated Paprika». – Journal of Food Science **38**, 25-28.
- Tsukida, K., y Saiki, K. (1982). – «Separation and Determination of cis/trans- β -carotenes by High-performance Liquid Chromatography». – Journal of Chromatography **245**, 359-364.

Recibido: Septiembre 1997

Aceptado: Octubre 1997