

Efecto de la maduración y el secado en el contenido de carotenoides pro-vitamina A en chile (*Capsicum annuum* var. *Anaheim*)

Silvia Y. Moya¹, Luis A. Mejía², Elvira González de Mejía³ y Francisco A. Vázquez⁴

Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A.C. (CIAD, A.C.)
Hermosillo, Sonora, México.

RESUMEN. Se determinó el contenido de los principales carotenoides biológicamente activos (α -, β -, gama-caroteno y β -criptoxantina), para conocer el aporte de vitamina A en chile «verde» (*Capsicum annuum* var. *Anaheim*) durante el proceso tradicional de maduración y secado. La técnica analítica usada fue cromatografía líquida de alta resolución, empleando una columna Novapack ODS-RPC18 y acetonitrilo/metanol/tetrahidrofurano (58v:35v:7v) como fase móvil. Los valores de actividad vitamínica A fueron 75.4 ± 5.8 , 310.2 ± 52.7 y 3102.9 ± 11.0 μg de ER/100 g de porción comestible, para chile inmaduro, maduro y seco, siendo significativamente diferentes ($p < 0.05$) aún cuando se compararon en base seca (7.2 ± 0.8 , 51.1 ± 2.4 y 55.3 ± 1.2 μg de ER/g peso seco). Beta-Caroteno representó alrededor del 95% de la actividad total, y se sintetizó más rápidamente que los carotenoides restantes, durante la maduración. El contenido máximo alcanzado en los niveles de carotenoides se observó a los 14 días después de cosechado, los valores obtenidos fueron 26.3 ± 1.9 , 24.4 ± 2.3 y 170.9 ± 22 $\mu\text{g/g}$ peso seco, para β -criptoxantina, α -caroteno y β -caroteno respectivamente y disminuyeron posteriormente. Con los resultados del estudio puede concluirse que durante la maduración del chile verde (*Capsicum annuum* var. *Anaheim*) sigue la síntesis de carotenoides y las condiciones de secado permiten que ésta continúe.

SUMMARY. Effect of ripening and drying on pro-vitamin A carotenoids content in pepper (*Capsicum annuum* var. *Anaheim*). The content of the principal carotenes with biological activity (α -, β -, gamma-carotene and β -criptoxantine) in green pepper (*Capsicum annuum* var. *Anaheim*) was determined in order to investigate the vitamin A content during the traditional process of ripening and drying. The analytical technique used was high pressure liquid chromatography (HPLC) with a Novapack C₁₈ column and acetonitrile/methanol/tetrahydrofuran (58V:35V:7V) as a mobile phase. The results showed differences in vitamin A activity of 7.2 ± 0.8 , 51.1 ± 2.4 and 55.3 ± 1.2 μg of RE/g dry matter for immature, mature and dry pepper fruit respectively ($p < 0.05$). Approximately 95% of total activity was due to β -carotene being synthesized faster than the other carotenes under study during the ripening process. Total vitamin A activity reached its highest value at 14 days after harvest (2738.8 ± 128.6 μg RE/100 g of edible portion), with a decrease in activity with time.

INTRODUCCION

Los carotenoides representan al más amplio grupo de pigmentos naturales, están químicamente relacionados a los compuestos terpenos y terpenoides y son sintetizados *de novo* únicamente en las plantas aunque se encuentran también en los animales que los adquieren a través de la dieta (1).

El organismo humano es capaz de absorber, modificar y almacenar a los carotenoides; esto es importante por la conocida conversión de algunos carotenoides en retinol (vitamina A).

- 1 Investigadora Asociada, Dirección de Nutrición, CIAD, A.C.
- 2 Investigador Titular, Dirección de Nutrición, CIAD, A.C. Actualmente: Director de Nutrición para América Latina. Kellogg's Co. Apartado Postal 78, Querétaro, México.
- 3 Investigador Titular, Departamento de Ciencia y Tecnología de Alimentos, CIAD, A.C. Actualmente, Directora del Postgrado en Alimentos. Facultad de Química. Universidad de Querétaro. México.
- 4 Técnico Académico de Nutrición, CIAD, A.C.

De los 500 carotenoides conocidos, alrededor del 10% pueden ser convertidos en vitamina A (2) y principalmente α -, β -caroteno y β -criptoxantina tienen actividad vitamínica A significativa (3). Esta conversión *in vivo* juega un papel muy importante en los países en desarrollo ya que los vegetales contribuyen a cubrir el requerimiento de vitamina A. Además existen evidencias recientes sobre el efecto protector de los carotenoides al desarrollo de cáncer (4,5).

En México, el chile (*Capsicum annuum*) es una hortaliza de uso tradicional en la dieta, por lo que se considera que el aporte de vitamina A es significativo. En la encuesta realizada en el Noroeste de México (6), el chile se encontró dentro de los veinte alimentos más frecuentemente consumidos, con un consumo habitual de 40 g/día. Más recientemente, en el estudio de Canasta de Consumo de Alimentos del Estado de Sonora (7), el chile «verde» (*Capsicum annuum* var. *Anaheim*) inmaduro ocupó el quinto lugar de las hortalizas consumidas, con un 13% de las personas encuestadas que consumieron habitualmente 16 g/día. En el estudio antes referido (7), se encontró que el 7.3% de las personas consumieron 17 g de chile seco por día, ocupando el décimo lugar de las hortalizas. Como puede observarse, es una práctica común el consumo de esta variedad de chile en su estado maduro-seco. El tiempo de almacenamiento del chile una vez seco es variable, sin embargo generalmente es consumido en los primeros meses después del secado.

El chile que se destina a ser secado, se cosecha una vez que ha empezado a madurar en la planta, posteriormente es colocado en ristra y expuesto al calor ambiental y a la luz solar. Este proceso es efectuado en los meses de Junio a Agosto, en los cuales se alcanzan temperaturas ambientales hasta de 45°C.

En el estudio realizado por Candela, y colaboradores (8) se considera que los chiles (*Capsicum annuum*) constituyen un buen modelo para el estudio de carotenogénesis durante la maduración, por la capacidad de esta hortaliza para continuar este proceso después de cosechado y por los marcados cambios cuantitativos y estructurales que suceden durante la maduración. Se encontró además que en chiles recientemente cosechados, los contenidos de β -caroteno y β -criptoxantina se incrementaron alrededor de los 30 días y posteriormente disminuyeron rápidamente. En los chiles almacenados por dos semanas (en cámara oscura a 15°C) se encontraron valores menores de estos carotenoides con respecto a los recién cosechados. Lee (9) cuantificó los cambios en el contenido de carotenoides de zanahoria durante el crecimiento y almacenamiento post-cosecha (2°C y 90% humedad relativa), encontrando un aumento lento en el contenido de equivalentes de retinol hasta los 100 días, pero disminuyendo posteriormente.

Con respecto al procesamiento de secado, los valores reportados de retención de carotenoides varían ampliamente entre estudios. Speck y colaboradores (2) encontraron un 50% de retención de β -caroteno y 49% de actividad vitamínica A en semillas de amaranto después de dos días de secado al sol. Por el contrario Desrosier y colaboradores (10) encontraron que

los carotenos se retuvieron completamente (>100%) durante la deshidratación casera de chiles (Bell var. USA).

Debido a que los carotenoides presentan diferente actividad biológica es necesario cuantificarlos separadamente para conocer su aporte real de vitamina A. Mejía y colaboradores (22) han sugerido reevaluar los datos de carotenoides y vitamina A de vegetales en las tablas de composición de alimentos, utilizando metodologías capaces de separar y cuantificar estos compuestos y considerando la forma habitual de consumo.

Con el presente estudio se aporta información sobre los cambios en los carotenoides precursores de vitamina A (α -, β -, gama-caroteno y α -criptoxantina) en chile «verde» (*Capsicum annuum* var. *Anaheim*) durante la maduración y secado, separados y cuantificados por cromatografía de líquidos de alta resolución.

MATERIALES Y METODOS

Metodología

La descripción de los reactivos, preparación de las soluciones estándar, la preparación de la muestra, se describió en el artículo publicado por Mejía y colaboradores (11). En donde se utilizó un cromatógrafo de líquidos de alta resolución Varian 5000 con detector de longitud de onda variable (Varian UV-50) y estación integradora de datos (Vista CDS 401) (Varian Instrument Division, Palo Alto CA). El sistema consistió en una precolumna Whatman (2.1 mm diámetro interno x 7 cm de longitud) con empaque pelicular ODS-RPC18 de tamaño de partícula 5 μ m (Whatman Inc. Clifton N.J.) y una columna Novapack C18 (3.9 mm diámetro interno x 15 cm de longitud) (Waters Associates, Milford, M.A.) empacada con el mismo material. El sistema de solventes empleado fue una mezcla de acetonitrilo/ metanol/ tetrahidrofurano (THF) (58v:35v:7v) a un flujo de 1 mL/min. Los análisis se llevaron a cabo entre 25 y 30°C y la detección se hizo a 458 nm. La muestra fue introducida con una válvula *Rheodyne* 7125 (Rheodyne Inc, Cotati Ca, USA) equipado con un reservorio externo de 10 μ L.

Procedimiento de muestreo

Aunque la muestra fue adquirida en un mercado local (Hermosillo, Sonora), se obtuvo información acerca de su procedencia. La muestra consistió en siete kilogramos de chile «verde» (*Capsicum annuum* var. *Anaheim*) (Figura 1) que fueron cosechados en el mes de Junio en un campo agrícola de Ciudad Obregón, Sonora, un día antes de la compra. Todas las muestras se encontraban en estado inmaduro y se dejó madurar y secar, atendiendo a la forma habitual en que este proceso es llevado a cabo, esto es a la intemperie y sin protección contra la luz y calor. Las determinaciones de carotenos se efectuaron los días 1, 3, 5, 7, 11, 14, 16 y 18 después de cosechado.

FIGURA 1
Chile "verde" (*Capsicum annuum* var. *Anaheim*)

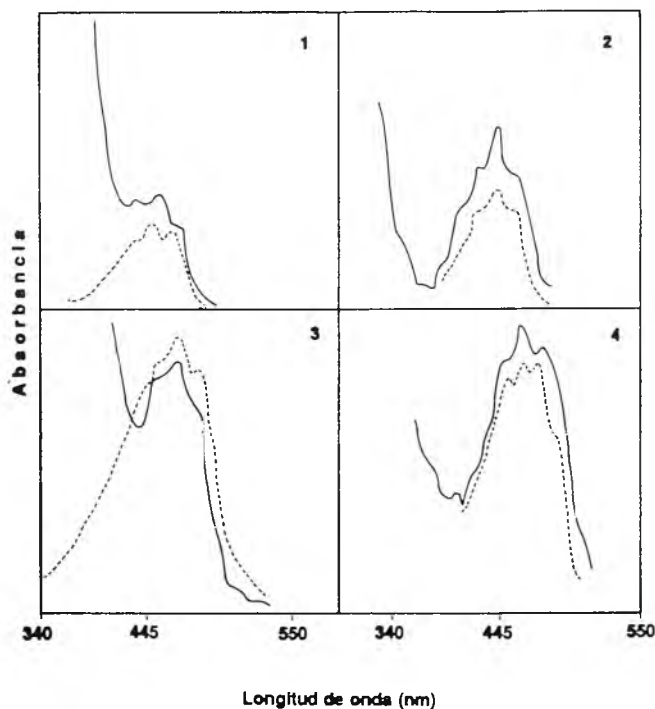


Identificación de los picos cromatográficos

Los picos de los carotenoides de las muestras fueron analizados cualitativamente por: a) los tiempos de retención obtenidos con estándares por cromatografía de líquidos; b) técnica de adición de estándar a las muestras y (c) colección de las fracciones correspondientes a los picos de interés del cromatograma. Se evaporó el solvente bajo atmósfera de nitrógeno y en obscuridad, las fracciones secas se reconstituyeron en aproximadamente 2 mL de THF, se determinó el espectro de absorción en un rango de 550 nm a 340 nm (Espectrómetro Perkin Elmer Lambda 3A UV/VIS; Perkin Elmer, Norwalk, CT) y finalmente se comparó con su estándar correspondiente, sometido al mismo tratamiento (Figura 2).

FIGURA 2

Espectros de absorción de 1) α caroteno, 2) β -criptoxantina, 3) β -caroteno y 4) gama-caroteno en THF de chile "verde" (*Capsicum annuum* var. *Anaheim*) (—) y los estándares correspondientes (-----).



Análisis de datos

La actividad vitamínica A se calculó como equivalente de retinol de acuerdo a las normas establecidas por la Organización Mundial de la Salud (WHO) (12), dividiendo los contenidos de β -caroteno entre seis y la suma de α -, gama-carotenos y β -criptoxantina entre doce; sumando posteriormente estos valores para obtener los equivalentes de retinol totales. Los porcentajes de recomendación dietética, se calcularon en base a las recomendaciones de las «Metas nutricionales y guías de alimentación para América Latina» (13).

Los datos fueron analizados mediante un análisis de varianza de un factor, para comparar los estados de maduración y se aplicó la prueba de rango múltiple de Tukey, cuando se encontraron diferencias. La velocidad de síntesis se obtuvo calculando las pendientes en el intervalo del comportamiento lineal de las curvas del contenido de carotenoides ($\mu\text{g/g}$) con respecto al tiempo (días). Para comparar las pendientes de las curvas de síntesis de los carotenos individuales se aplicó el análisis de covarianza (14).

RESULTADOS Y DISCUSION

Efecto de la maduración sobre el contenido de carotenoides

Los compuestos eluyen en la columna separadamente, en base a sus diferencias en polaridades, de tal forma que los que salen primero y absorben a 458 nm corresponden a los de mayor polaridad, principalmente xantofilas.

En los extractos de chile inmaduro (Figura 3a) se identificaron solamente los picos correspondientes a β -, α -caroteno y clorofila b, que eluye junto con β -criptoxantina haciendo difícil su cuantificación, esto no es muy importante ya que los contenidos de β -criptoxantina en las primeras etapas de maduración son muy bajos (11).

Los cromatogramas de chile maduro y maduro-seco (figuras 3b y 3c) muestran además la aparición de otros picos correspondientes a carotenoides que han sido sintetizados «*de novo*» en la planta después de cosechados. Entre los picos encontrados se identificaron gama-caroteno (11.5 min) y β -criptoxantina (4.5 min) que al desaparecer la clorofila b con la maduración y el incremento por la síntesis, se hace posible su identificación y cuantificación.

En la Figura 4, se presenta un cromatograma de la separación de los estándares puros y los tiempos de retención obtenidos en el sistema: β -criptoxantina, gama-caroteno, α -caroteno y β -caroteno.

En la Tabla 1 se presenta la actividad vitamínica A total, calculada a partir de los carotenoides individuales, donde se encontraron diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los estados de maduración, y estas diferencias se mantuvieron al expresarse en base seca. Considerando la actividad vitamínica A total de chile maduro-seco ($3103 \mu\text{gER}/100\text{g}$) y su consumo habitual ($17 \text{ g/día} = 1 \text{ cucharada}$) (7) se cubre el 53% de la recomendación para un hombre adulto (18-65 años) y hasta el 83% para una mujer en el mismo rango de edad (13).

Los contenidos de los carotenoides individuales fueron estadísticamente diferentes ($p < 0.05$) entre el chile inmaduro y maduro, lo cual es de esperarse ya que después de cosechados

los vegetales continúan los procesos de maduración, de los cuales la carotenogénesis no es la excepción (8).

FIGURA 3

Cromatogramas típicos de extractos de chile (a) inmaduro, (b) maduro y (c) maduro-seco. 1) β -criptoxantina (4.2 min); 2) γ -caroteno (11.5 min); 3) α -caroteno (14.5 min) y 4) β -caroteno (15.5 min). Las condiciones cromatográficas están descritas en el texto

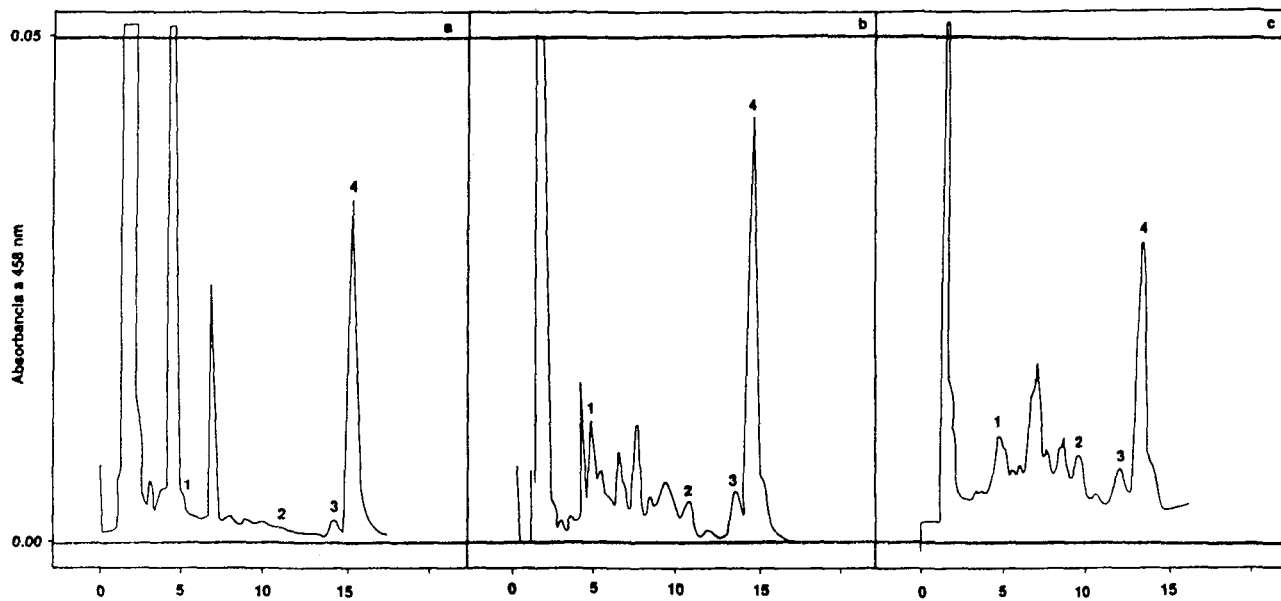
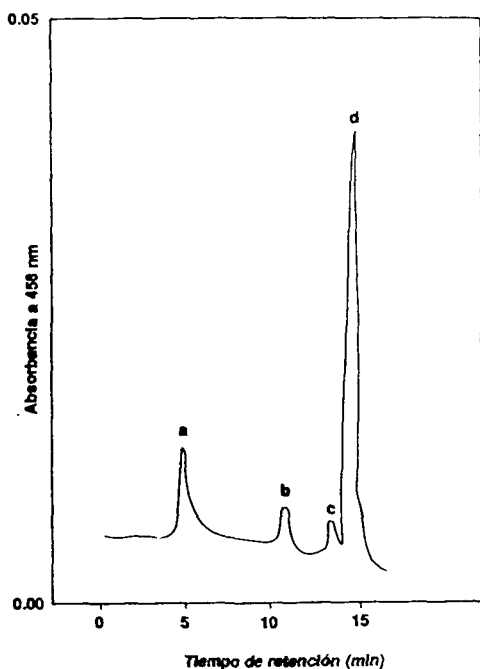


FIGURA 4

Separación de los estándares de carotenoides a) β -criptoxantina, b) γ -caroteno, c) α -caroteno y d) β -caroteno. Columna: Novapack C18; Fase móvil: acetonitrilo/metanol/tetrahidrofurano (58v/35v/7v); Flujo: 1 mL/min; Presión: 30 atm; Temperatura: 27°C.



Curva de síntesis de carotenoides durante la maduración y secado

El contenido máximo alcanzado en los niveles de carotenoides se observó a los 14 días después de cosechado, los valores obtenidos fueron 26.3 ± 1.9 , 24.4 ± 2.3 y 170.9 ± 22 $\mu\text{g/g}$ peso seco, para β -criptoxantina, α -caroteno y β -caroteno respectivamente (Figura 5). Para γ -caroteno se observaron aumentos hasta el quinto día después de la cosecha (14.0 ± 2.0 $\mu\text{g/g}$ peso seco), permaneciendo estable hasta el noveno día, a partir de este tiempo no fue detectable (límite de detección = 0.001 mg/mL) (Figura 5).

La velocidad de síntesis se obtuvo calculando las pendientes en el intervalo del comportamiento lineal de las curvas del contenido de carotenoides ($\mu\text{g/g}$) con respecto al tiempo (días) (Figura 5). Dado a que se tienen cuatro grupos de datos correspondientes a cada carotenoide, y además calculadas sus ecuaciones de regresión lineal simple, se compararon las pendientes de las regresiones, mediante un análisis de covarianza para probar la homogeneidad de pendientes. Se encontraron diferencias significativas ($p < 0.05$) entre la pendiente de la curva de síntesis de β -caroteno y las de β -criptoxantina, α - y γ -caroteno. Con esto se obtuvo que β -caroteno se sintetiza a una razón de 13.4 $\mu\text{g/g/día}$, mientras que β -criptoxantina, α - y γ -caroteno, se sintetizan a 2.04, 2.4 y 1.8 $\mu\text{g/g/día}$ respectivamente.

TABLA 1
CONTENIDO DE CAROTENOIDES Y ACTIVIDAD VITAMINICA A TOTAL EN TRES ESTADOS DE MADURACION DE CHILE "VERDE" (*CAPSICUM ANNUUM VAR. ANAHEIM*)

	β-criptoxantina		Gama-caroteno		α-caroteno		β-caroteno		Actividad vitamínica A Total	
	μg/100 g	μg/g PS ¹	μg/100g	ug/g PS	μg/100g	ug/g PS	μg/100g	μg/g PS	μg ER/100g	μg ER/gPS
Verde ²	ND ³	ND	ND	ND	28.5 ^a	3.6 ^a	436.4 ^a	55.7 ^a	75.4 ^a	7.2 ^a
					±4.0	±0.5	±7.2	±4.0	±5.8	±0.8
Maduro ²	184.5 ^a	16.2 ^a	80.7 ^a	7.1 ^a	118.9 ^b	10.4 ^b	1239.3 ^b	108.8 ^b	310.2 ^b	51.1 ^b
	±17.1	±1.5	±14.9	±1.3	±8.3	±0.8	±51.9	±4.6	±52.7	±2.4
Maduro Seco ²	1655.5 ^b	19.7 ^b	3260.1 ^b	36.6 ^b	2434.6 ^c	26.4 ^c	15210.1 ^c	169.8 ^c	3102.9 ^c	55.3 ^c
	±329.0	±2.1	±1047.0	±11.7	±234.1	±1.2	±406.4	±4.8	±11.0	±1.2

1 PS= Peso Seco

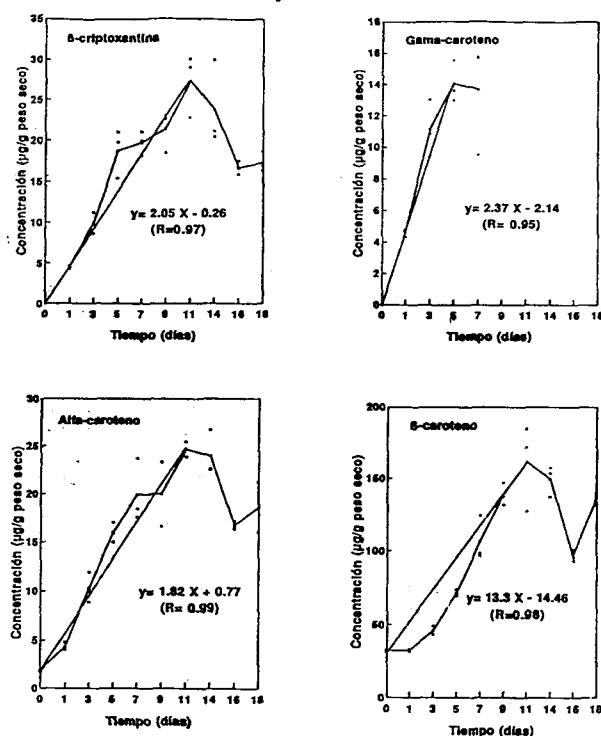
2 Cada dato representa X ±D.E. de tres detrmnaciones por triplicado (9 inyecciones).

3 ND=No Detectable (límite de detección 0.001 mg/mL)

a-c Las medidas con diferente superíndice en cada columna, son significativamente diferentes (p<0.05)

FIGURA 5

Variación en el contenido de carotenoides en chile verde (*Capsicum annuum var Anaheim*) durante la maduración y secado



Estos resultados concuerdan con los estudios de Desrosier y colaboradores (10), ya que encontraron incremento en el contenido de carotenoides en chile (Bell var. USA). De igual forma, Candela y colaboradores (8) observaron este comportamiento; sin embargo encontraron valores más bajos en los chiles almacenados. Es importante resaltar que el análisis en el estudio mencionado anteriormente se realizó después de dos semanas de almacenamiento y fue precisamente en este período de tiempo (14 días) en el que se observó el inicio en la disminución de los carotenoides en el presente estudio.

Con los resultados del estudio puede concluirse que durante la maduración el chile verde (*Capsicum annuum var. Anaheim*) sigue la síntesis de carotenoides. Las condiciones de secado permiten que ésta continúe, lo cual puede deberse a que el chile contiene además de los carotenoides hidrocarbonados, las xantofilas (oxigenados) (11) que son más susceptibles a la oxidación, sufriendo más pérdidas en estas que en los carotenoides hidrocarbonados (15).

Por otro lado Desrosier y colaboradores (10) señalan que la presencia de antioxidantes naturales (vitamina C) previenen la degradación oxidativa de carotenos en chiles. Bradley (16) reportó 110 mg/100g (base húmeda) de vitamina C en chiles (*Capsicum*) considerándolo como una buena fuente de esta vitamina.

Los valores para vitamina A en chile, reportados en las tablas de composición de alimentos están sobreestimados

(11), ya que las técnicas colorimétricas usadas anteriormente, no son capaces de diferenciar los carotenoides con actividad biológica. Con el uso de la cromatografía líquida de alta resolución, en este estudio se separaron, identificaron y cuantificaron los principales carotenoides precursores de vitamina A durante la maduración y secado de chile verde (*Capsicum annum* var *Anaheim*) la cual es la principal forma en que esta variedad de chile se consume en el noreste de México. Estos resultados son importantes para contribuir a mejorar las bases de datos sobre composición de alimentos, objetivo de INFOODS (International Network of Food Composition Data) y de su grupo regional LATINFOODS.

AGRADECIMIENTOS

Este proyecto fue realizado bajo el patrocinio de la Secretaría de Educación Pública (SEP).

Se agradece a Productos Roche de México, S.A. por proporcionar los estándares de β -criptoxantina y gamma-caroteno. A José Antonio Ponce por la elaboración del material gráfico.

REFERENCIAS

- Goddwin TW. Metabolism, Nutrition and Function of Carotenoids. *Ann Rev Nutr.* 6:273. 1986.
- Speek A.J., Speek-Saichua S & Schreurs WHP. Total Carotenoid and β -Carotene Contents of Thai Vegetables and the Effect of Processing. *Food Chem* 27:245. 1988.
- Simpson K. Relative value of carotenoids as precursors of vitamin A. *Proc Nutr Soc* 42:7. 1983.
- Stähelin HB., Gey Kf, Eichholzer M & Lüdin E. Carotene and cancer prevention: the Basel Study. *Am J Clin Nutr.* 53:265S. 1991.
- Ziegler RG. Vegetables, fruits, and carotenoids and the risk of cancer. *Am J. Clin Nutr* 53:251S. 1991.
- Valencia ME, Jardines RP, Noriega E., Cruz R., Grijalva I., Peña C. The use of 24 hour recall data from nutrition surveys to determine food preference, availability and food composition baskets in populations. *Nutr Rep Int* 28:815. 1983.
- Valencia ME., Hoyos LC, Ortega MI, Palacios MR, Atondo JL, Ballesteros MN y Juver F. Canasta de consumo de Alimentos del Estado de Sonora. Reporte técnico DN-91-02. 1991.
- Candela ME., López M & Sabater F. Carotenoids from *Capsicum annum* fruits: changes during ripening and storage. *Biología Plantarum* 26:410-414. 1984.
- Lee CY. Changes in carotenoid content of carrots during growth and post-harvest storage. *Food Chem* 20:285-293. 1986.
- Desrosiers T., Smyrl TG & Paquette G. Retention of carotene in green peppers and peaches after a home dehydration process. *Can Inst. Food Sci Technol* 18: 144-149. 1985.
- Mejía LA, Hudson E. de Mejía E. & Vazquez FA. Carotenoid content and vitamin A activity of some common cultivars of mexican peppers (*Capsicum annum*) as determined by HPLC. *J Food Sci* 53:1448-1451. 1988.
- WHO. Organización Mundial de la Salud. Carencia de vitamina A y xeroftalmía Serie de Informes Técnicos N° 590, pag. 12. Ginebra, Suiza. 1976.
- Bengoia JM., Torún B., Béhar M. & Scrimshaw NS. Metas nutricionales y guías de alimentación para América Latina. Bases para su desarrollo. *Arch Latinoamer Nutr.* 38:402. 1988.
- Zar J. Biostatistical Analysis. Second ed. Prentice Hall, Englewood Cliffs NJ. pag: 163, 186, 263, 292. 1984.
- Khachif F & Beecher GR. Rebuttal on quantification of major carotenoids in raw fruits and vegetables by HPLC. *J Agric Food Chem* 35:850. 1987.
- Bradley GA. Fruits and Vegetables as World Sources of Vitamin A and C. *HortScience* 7:3. 1972.

Recibido: 29-03-1993

Aceptado: 07-02-1994