

O. Fayos¹, M. Savirón², C. Mallor¹, G.F. Barbero³, J. Orduna², A. Garcés-Claver¹

¹ Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria de Aragón (CITA), Avenida Montañana 930, 50059, Zaragoza, España

² ICMA-CEQMA, Facultad de Ciencias, CSIC-Universidad de Zaragoza. 50009, Zaragoza, España

³ Grupo "Investigación Químico Analítica en Vitivinicultura y Agroalimentación", Departamento de Química Analítica, Facultad de Ciencias, Universidad de Cádiz, Campus Universitario del Río San Pedro, Apdo. 40, 11510 Puerto Real (Cádiz). Campus de Excelencia Internacional Agroalimentario (CeIA3)

INTRODUCCIÓN

Los capsinoides, compuestos análogos de los capsinoides (responsables del picor de los frutos de pimiento), son específicos del género *Capsicum*. Tanto capsinoides como capsinoides exhiben efectos beneficiosos sobre la salud ya que son potentes antioxidantes, analgésicos, anticancerígenos, etc. Los capsinoides presentan la ventaja de que no son picantes, lo que los hace más atractivos como nutraceuticos. Los capsinoides se encuentran, de forma natural, únicamente en algunas variedades de pimiento y en concentraciones muy bajas. La extracción de estos compuestos minoritarios se convierte en un punto crítico para el desarrollo de un método analítico que permita su identificación y cuantificación.

Este trabajo ha tenido como objetivo la optimización del protocolo de extracción de capsinoides a partir de matrices vegetales.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se prepararon dos muestras a partir de frutos de pimiento de las especies *Capsicum chinense* y *C. frutescens*, respectivamente. A los frutos maduros, liofilizados y molidos se les añadió la concentración conocida de 100 μ M del estándar 4-hidroxi-3-metoxibenzil pentanoato (O5C; m/z 261,1097). Estas dos muestras fueron utilizadas para evaluar los protocolos de extracción que se muestran en la Tabla 1.



Tabla 1. Condiciones de la extracción de capsinoides de los diferentes protocolos probados.

PROTOCOLO	EXTRACTO	DISOLVENTE	O5C	EXTRACCIÓN	CONDICIONES	RESUSPENDER
Han et al. 2012 ¹	300 mg fruto liofilizado	acetato de etilo: acetona (6:4) (3 ml)	adición 30 μ l (100 μ M)	agitación 24h 37 $^{\circ}$ C	centrifugar 5 min a 620g, evaporar 2ml sobrenadante	0,5ml metanol:agua (60:40) y filtrar 0,45 y 0,22 μ m
Lang et al. 2009 ²	300 mg fruto liofilizado	acetato de etilo (3 ml)	adición 30 μ l (100 μ M)	agitación (60rpm) 1 h 30 $^{\circ}$ C	centrifugar 5 min a 620g, evaporar 2ml sobrenadante	0,5ml metanol:agua (60:40) y filtrar 0,45 y 0,22 μ m
Wahyuni et al. 2011 ³	300 mg fruto liofilizado	metanol (3 ml)	adición 30 μ l (100 μ M)	15 min, baño ultrasonidos	centrifugar 5 min a 620g, evaporar 2ml sobrenadante	0,5ml metanol:agua (60:40) y filtrar 0,45 y 0,22 μ m
Garcés-Claver et al. 2006 ⁴	300 mg fruto liofilizado	Acetonitrilo (3 ml)	adición 30 μ l (100 μ M)	16 min, baño ultrasonidos	centrifugar 15 min a 16000g, evaporar 2ml sobrenadante	0,5ml metanol:agua (60:40) y filtrar 0,45 y 0,22 μ m

Mediante el análisis de HPLC/ESI-MS²(QTOF) se comparó el área, la intensidad y el tiempo de retención del pico del estándar 100 μ M O5C con los obtenidos al analizar el pico de 100 μ M O5C añadido en los extractos de pimientos de las dos especies de *Capsicum*.

RESULTADOS

Se analizaron el área y la intensidad de los picos correspondientes: i) al estándar O5C 100 μ M (Fig. 1a) y ii) al O5C 100 μ M adicionado a las muestras de los extractos de los frutos de *Capsicum chinense* y *C. frutescens* (Fig. 1b, c, d y e).

Los protocolos de Hang et al. (2012) y Lang et al. (2009) (Fig. 1b, para *C. chinense*; y 1d, para *C. frutescens*) permitieron obtener áreas e intensidades del pico correspondientes al O5C similares (100%) a la obtenida para el pico del estándar O5C. Lo que indica que en ambos métodos la extracción ha permitido la recuperación de todo el estándar adicionado.

Mediante el protocolo descrito por Garcés-Claver et al. (2006) el % de área del pico O5C obtenido fue del 63% respecto de la del pico del estándar O5C, y utilizando el descrito por Wahyuni et al. (2011), el % del área del pico O5C obtenido fue del 34%, en el mejor de los casos (Fig. 1c, para el extracto de *C. chinense*). Por tanto estos dos métodos de extracción fueron descartados.

Finalmente, se seleccionó el protocolo descrito por Lang et al. (2009) dada la mayor afinidad⁵ y estabilidad de los capsinoides con el disolvente utilizado en este método, el acetato de etilo, así como, por la rapidez del protocolo.

CONCLUSIÓN

De los métodos de extracción evaluados, se ha seleccionado el descrito por Lang et al. (2009) para la extracción de capsinoides a partir de frutos de pimiento.

REFERENCIAS

- ¹Han, K. et al. (2012). Mol. Breed. 31:537-548; ²Lang, Y. et al. (2009). Plant J. 59:953-961; ³Wahyuni, Y. et al. (2011). Phytochemistry, 72:1358-1370; ⁴Garcés-Claver, A. et al. (2006). J. Agric. Food Chem. 54:9303-9311; ⁵Sutoh, K. et al. (2001). J. Agric. Food Chem. 49: 4026-4030.

AGRADECIMIENTOS

Esta investigación ha sido financiada por el proyecto INIA-FEDER (RTA2011-00118-C02-01) y por el A16 – GA.

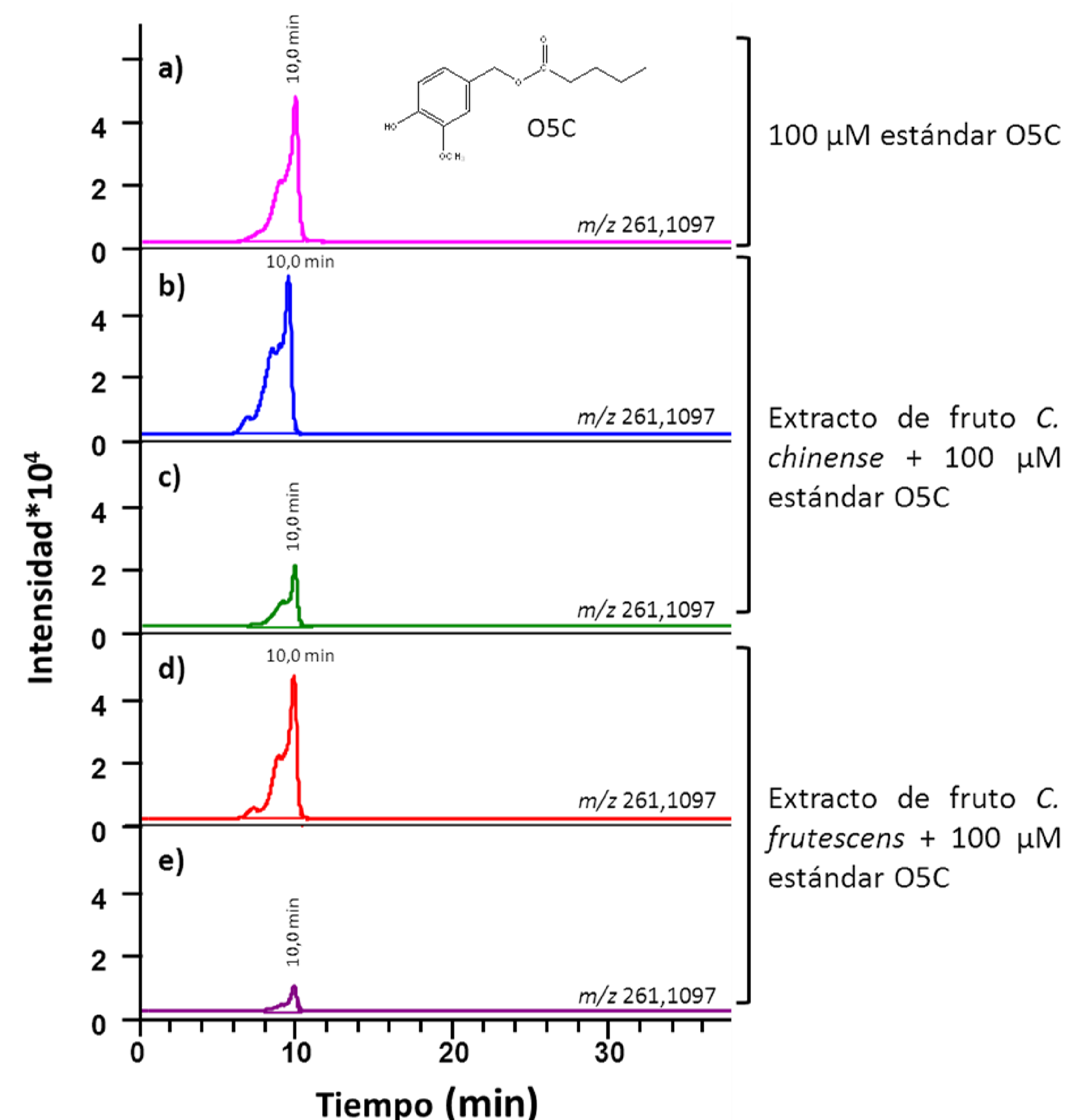


Fig. 1. Cromatogramas de HPLC/ESI-MS²(QTOF) extraídos a m/z 261,1097 de a) estándar 100 μ M O5C; b) de un extracto de fruto de *C. chinense* extraído mediante el protocolo de Lang et al. (2009); c) de un extracto de fruto de *C. chinense* extraído mediante el protocolo Wahyuni et al. (2011); d) de un extracto de fruto de *C. frutescens* extraído mediante el protocolo de Lang et al. (2009); y e) de un extracto de fruto de *C. frutescens* extraído mediante el protocolo de Wahyuni et al. (2011).