

## DETERMINACION DEL PERFIL DE COMPUESTOS VOLATILES EN PIMIENTONES DEL DEPARTAMENTO SANTA MARIA

*Arjona, Mila.<sup>1</sup>; Amaya, Susana.<sup>1</sup> Ahumada Celia.<sup>2</sup>*

<sup>1</sup> Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad Nacional de Catamarca Av. Belgrano 300. 4700 - Catamarca. E-mail: milarj2002@yahoo.com.ar

<sup>2</sup> Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Nacional de Catamarca. Maestro Quiroga y Av. Belgrano. 4700 - Catamarca.

## DETERMINATION OF VOLATILE COMPOUNDS PROFILE IN PAPRIKA OF SANTA MARIA DISTRICT

### **SUMMARY**

Varieties of *Capsicum annuum* are widely grown all over the world as spices, mostly used because of their colour and flavor. However, recent research centers also in its aroma as a crucial parameter. Paprika from the region of Santa Maria district in Catamarca, Argentina, is manufactured by a special grinding, soft and slow drying with traditional methods at ambient temperature. This makes dried pepper keep all its natural components, contributing to organoleptic features exclusive of its zone of origin. This work has as its objectives to determine the profile of major volatile components characteristic of paprika grown in the region of Santa Maria district. Volatile components were isolated through a combination of techniques from extractive methodologies with a headspace-gas chromatography with mass spectrometry. Have been identified 22 major volatile compounds, among them: Sesquiterpenes:  $\alpha$ -curcumene;  $\alpha$ -cubebene,  $\alpha$ -calacorene, cadalene,  $\alpha$ -cadinene, allo-aromadendrene, germacrene D; Monoterpene:  $\beta$ -cimene. Aldehydes: cumaldehyde, hexanal, safranal,  $\beta$ -cyclocitral. Ketones: p-methyl acetophenone,  $\beta$ -ionone, p-cymene. Acids: linoleic acid. Esters: methyl palmitate, methyl linoleate. Lactone: benzofuranone. Epoxide: B-sclareloxiide and aromatic hydrocarbon: neophytadiene. Results obtained indicated that Santa Maria paprikas are characterised by an important presence of terpenes and in a minor proportion oxygenated components, being the most represented those derived from lipids as linoleic acid and esters. Most of these volatile components are formed in the drying process and are closely related to variety and edafoclimatic conditions in the region.

**KEY WORDS:** volatile components, *Capsicum annuum*, paprika.

## RESUMEN

Variedades de *Capsicum annuum* son la más cultivadas en todo el mundo como especias y se utilizan principalmente por su color y sabor. Sin embargo, la investigación actual se centra también en el aroma como un parámetro importante. El pimentón del departamento Santa María (Catamarca) se manufactura mediante un proceso especial de: molienda, secado suave y lento, con los métodos tradicionales de secado a temperatura ambiente. Esto hace posible que el pimiento seco mantenga sus componentes naturales que contribuyen a características organolépticas exclusivas de la zona de origen. El presente trabajo tiene como objetivo determinar el perfil de los compuestos volátiles mayoritarios característicos de los pimentones cultivados en el departamento de Santa María. Los compuestos orgánicos volátiles (COVs) fueron aislados por una combinación de técnicas a partir de metodologías extractivas por método headspace - cromatografía gaseosa (HS-CG) acoplado a espectrometría de masas (CG-MS). Han sido identificados 22 compuestos volátiles mayoritarios, entre ellos: Sesquiterpenos:  $\alpha$ -curcumeno;  $\alpha$ -cubebeno,  $\alpha$ -calacoreno, cadaleno,  $\alpha$ -cadineno, allo-aromadendreno, germacreno D; Monoterpeno:  $\beta$ -cimeno. Aldehídos: cumaldheído, hexanal, safranal,  $\beta$ -cyclocitral. Cetonas: p-metil acetofenona,  $\beta$ -ionona, p-cimeno. Ácido: ácido linoleico. Ésteres: palmitato de metilo, linoleato de metilo. Lactona: benzofuranona. Epóxido: B-esclarelóxido y Hidrocarbonado Aromático: naftadieno. Los resultados obtenidos indicaron que los pimentones de esta región se caracterizan por una importante presencia de terpenos y en menor proporción compuestos oxigenados siendo los más representados los derivados de los lípidos como ácido linoleico y ésteres. La mayoría de estos COVs se forman durante el proceso de secado y están muy relacionado a la variedad y condiciones edafoclimáticas de la región.

**PALABRAS CLAVES:** Compuestos volátiles, *Capsicum annuum*, Pimentón

## INTRODUCCIÓN

Variedades de *Capsicum annuum* son la más cultivadas en todo el mundo como especias (Govindarajan, 1986) y se utilizan principalmente por su color y sabor. Sin embargo, la investigación actual se centra también en el aroma como un parámetro importante. Buttery *et al.* (1969) identificaron cerca de 60 compuestos volátiles en pimientos verdes (*C. annuum* var. *grossum*), entre los que se identificaron un alquil-metoxi-pirazina, ésta y otras

alquilmetoxipirazinas son compuestos característicos del perfil del género *Capsicum* (Murray y Whitfield, 1975).

Volátiles en *Capsicum annuum* se han identificado en fresco y en seco, los efectos de la maduración y la alteración del tejido sobre la composición de los volátiles han sido determinado por Whitfield y Last (1991).

Van Ruth *et al.* (1994, 1995) fueron probablemente los primeros en determinar los compuestos volátiles de pimientos secos. Identificaron aldehídos Strecker como acetaldehído (AA), 2-metilpropanal (2-MP), 2-metilbutanal (2-MB), y 3-metilbutanal (3-MB) en pimientos procesados. La formación de estos aldehídos indica que la reacción de Maillard se produjo durante el proceso de secado. Además, estos autores identifican el sulfuro de dimetilo (DMS) y 6-metil-5-hepten-2-ona en pimientos secos. DMS se produce a través de la hidrólisis de la S-metilmetionina (SMM), un aminoácido que se encuentra típicamente en muchas plantas (Kovatscheva y Popova, 1997) y la 6-metil-5-hepten-2-ona es conocida como un producto de degradación de licopeno (Cole y Kapur, 1957).

Las principales clases de volátiles aislados en pimentón, que contribuyen principalmente en su aroma y flavor son: ésteres como el etil acetato, aldehídos metilados ramificados (1,3- y 2,2-butanodiol, 3-metilbutanal, 2-metilpropanal), ácido como el acético y fenol (dimetoxifenol). Otros como cetonas, aldehídos cíclicos y aromáticos, alcoholes, compuestos nitrogenados, hidrocarburos aromáticos, alquenos y alcanos están también presentes. La 2-metoxi-3-isobutilpirazina, es característica del pimiento fresco, (Mateo *et al.*, 1997; Vidal *et al.*, 2001; Vidal-Aragón *et al.*, 1998, 2005).

El estado de madurez y el tipo de procesado por ejemplo el secado al humo de La Vera (Cáceres, España), o procesos oxidativos, originan fracciones aromáticas características, como derivados del furano, el 1,2-dimetoxibenceno, cetonas cíclicas, e hidrocarburos de peso molecular superior al 1-Hindeno (Vidal *et al.*, 2001; Vidal-Aragón *et al.*, 1998, 2005).

El Pimentón de la región de Santa María se manufactura mediante un proceso especial de molienda, secado suave y lento con los métodos tradicionales de secado a temperatura ambiente. Esto hace posible que el pimiento seco mantenga sus componentes naturales, al mismo tiempo que contribuyen a determinadas características organolépticas que son muy apreciados por los consumidores y son exclusivos de la zona de origen, variedad, y condiciones edafoclimáticas de la región.

En el marco de lo expuesto anteriormente el presente trabajo tiene como objetivo determinar el perfil de los compuestos volátiles mayoritarios característicos de los pimentones cultivados en la región del departamento Santa María.

## **MATERIAL Y MÉTODO**

Se colectaron muestras de establecimientos de producción de pimentón. Los compuestos volátiles fueron analizados por una combinación de técnicas a partir de metodologías extractivas por método headspace cromatografía gaseosa (HS-CG) y extracción con hexano, se analizaron por cromatografía gaseosa y espectrometría de masa (CG-MS).

### **Técnicas y condiciones de extracción**

El muestreo de headspace es una forma de introducir compuestos volátiles asociados a una muestra sin el uso de extracción por solventes. En el headspace estático, la muestra es sellada dentro de un recipiente, calentada, y luego, una fracción de la atmósfera que rodea la muestra es tomada e inyectada al port de inyección del GC.

El muestreo de headspace dinámico es una técnica que utiliza el flujo de un gas carrier a través del recipiente con la muestra para aumentar el tamaño de la muestra del headspace, y como consecuencia la sensibilidad del método. En lugar de permitir que la muestra llegue al equilibrio en un contenedor cerrado, la muestra es calentada y la atmósfera del headspace es continuamente purgada fuera del recipiente a través de una trampa.

Así, los analitos son colectados, como en un análisis de purga y trampa, mientras el gas carrier es venteado. Luego la trampa es calentada y los componentes adsorbidos son enviados al GC para su análisis. Debido a que no se utilizaron solventes para preparar la muestra, no habrá pico del solvente, ni dilución de los compuestos de interés

### **Análisis cromatográfico, identificación y cuantificación**

El análisis cromatográfico y la cuantificación de los COVs se han realizado utilizando un cromatógrafo de gases (TRACE GC ULTRA; e identificados mediante detector de masa con trampa de iones (POLARIS Q) El análisis se realizó tomando muestras representativas de 2 g, con aplicación de temperatura (60°C) y en condiciones de agitación.

Los constituyentes volátiles fueron extraídos inyectando 1 ml del headspace estático al cromatógrafo de gases empleando columna HP- 5MS (5% fenilmetil siloxano entrecruzado, 30m x 0,25 mm ID, 0,25 mm de espesor.

Programa de temperatura: 35°C (isoterma durante 5min), hasta 280° (25° C.min<sup>-1</sup>) y se mantuvo a 280°C- 10 min. El gas portador fue helio (99,999%) a un caudal de 1mL.min<sup>-1</sup> La corriente iónica total se analizó por espectrometría de masas acoplado a un detector selectivo 5973 MS. Los espectros se han obtenido mediante ionización EI<sup>+</sup> a 70 eV con m/z entre 45 y 450 a 1s/scan e identificándolos por comparación con las bases de datos NIST/NBS y Wiley.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En las muestras analizadas se identificaron los siguientes grupos de compuestos volátiles (COVs) mayoritarios analizados por CG-MS (Cromatografía Gaseosa y Espectrometría de Masa) en Headspace.

### **Terpenos:**

#### *Sesquiterpenos:*

Grupo bisabolano:  $\alpha$ -curcumeno;

Grupo Cadinano:  $\alpha$ -cubebeno,  $\alpha$ -calacoreno, cadaleno,  $\alpha$ -cadineno,

Grupo Germacrano: allo-aromadendreno, germacreno D;

*Diterpeno:* neofitadieno

*Monoterpeno:* Grupo p-mentano :  $\beta$ -cimeno.

### **Compuestos oxigenados:**

*Aldehídos:* cumaldeído, safranal,  $\beta$ -cyclocitral.

*Cetonas:* p-metil acetofenona,  $\beta$ - ionona, p- cimeno-2,5- diona

*Acido:* ácido linoleico

*Esteres:* palmitato de metilo, Linoleato de metilo;

*Lactonas:* benzofuranona.

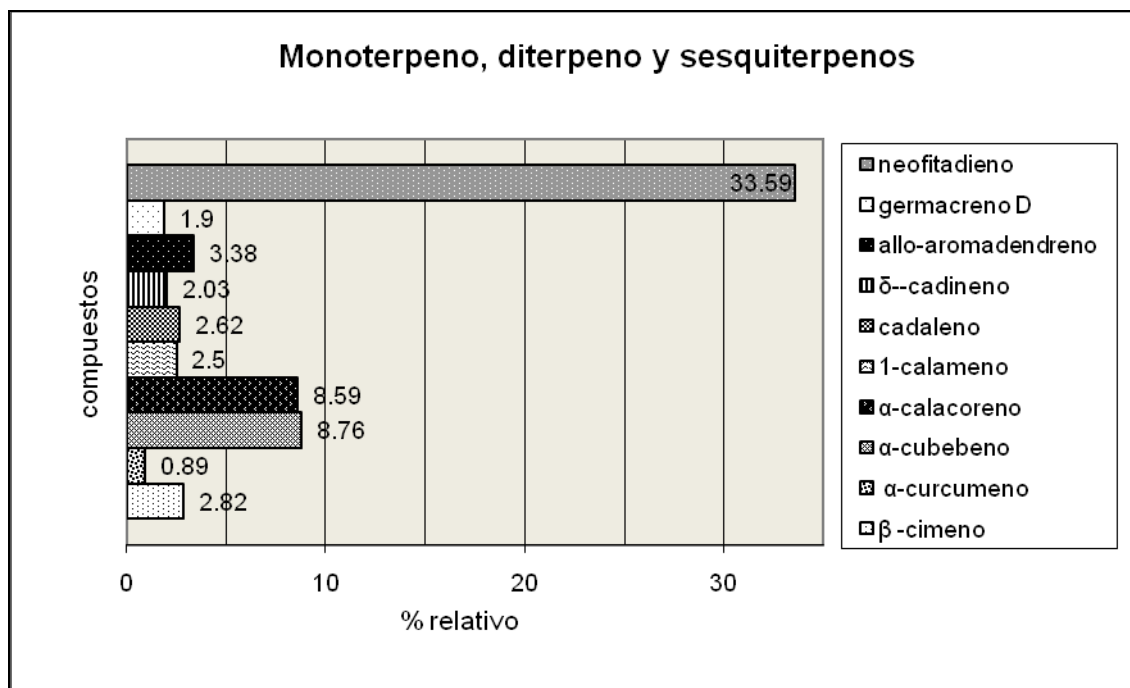
*Epoxido:* B- sclarelóxido

*Hidrocarbonado Aromático:* naftaleno

La proporción relativa de los COVs determinados se presenta en los siguientes gráficos. El grupo de monoterpeno, diterpeno y sesquiterpenos se muestra en la figura 1.

En el gráfico se observa que los terpenos más importantes son neofitadieno con un 33,59% de proporción relativa, seguida por  $\alpha$ - cubebeno 8,76 % y  $\alpha$ -calacoreno 8,59 %.

La presencia de terpenos es importantes en pimientos verdes y es probable que estos compuestos se evaporen durante el secado como ha sido señalado por Luning *et al.* (1995), que encontró una disminución en estos compuestos después de secar los pimientos. La interesante presencia de terpenos en las muestras analizadas en cuanto a su proporción y diversidad puede estar directamente relacionada a la forma de secado tradicional que se utiliza, suministrando condiciones apropiadas para que la pérdida de estos volátiles no se produzca, y otro factor puede ser el estado de madurez del fruto antes del secado.



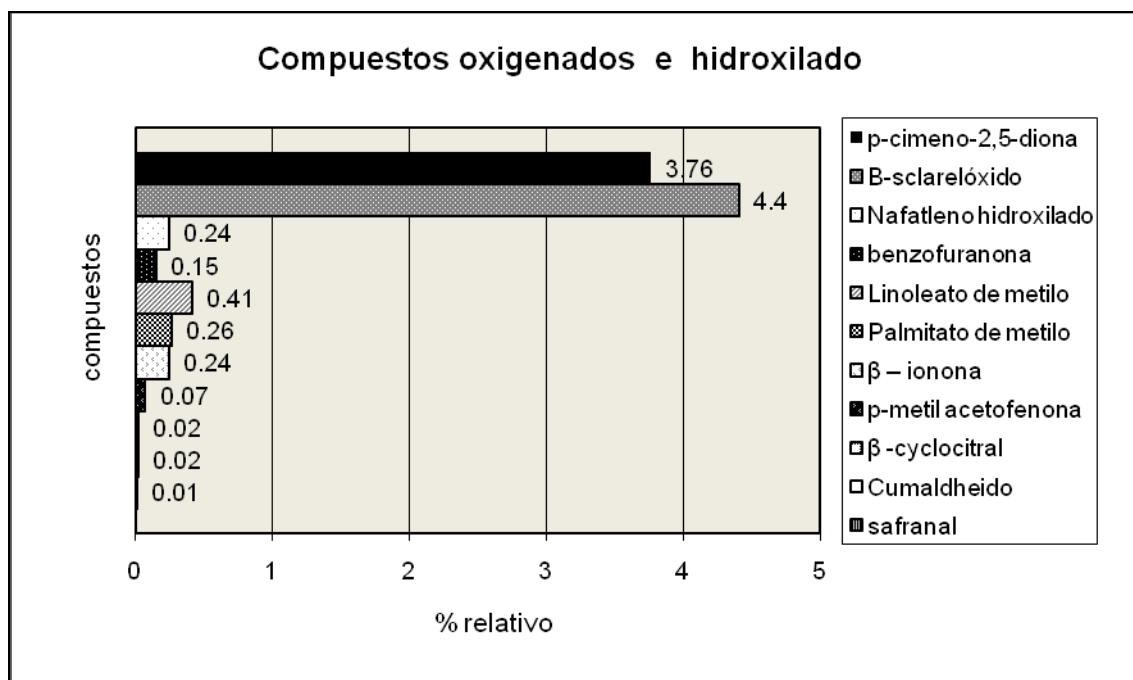
**FIGURA N° 1:** Porcentaje relativo de monoterpeno, diterpeno y sesquiterpenos analizados por CG-MS en Headspace en pimentones del Departamento Santa María.

Nuestros resultados presentan diferencias en cuanto a la presencia de terpenos en pimentones españoles de la región de La Vera.

La presencia de carotenos en el pimiento rojo es de importancia en la identificación de compuestos orgánicos volátiles. El  $\beta$ -caroteno es el más característico, su cadena polienica se somete fácilmente a oxidación con la formación de productos cíclicos y productos no cíclicos que contienen a menudo grupos funcionales oxigenados en un anillo o un trimetilciclohexano con grupo funcional oxigenado en una cadena alílica. Así, la presencia de 1,2-dihidro-1,1,6-trimetilnaftaleno, 1,2,3,4-tetrahidro-1,1,6-trimetilnaftaleno,  $\beta$ -ionona,  $\alpha$ -ionona, 2,6,6-trimetilciclohexanona, y  $\beta$  cyclocitral sugiere que el  $\beta$ -caroteno puede ser considerado como su precursor.

La figura 2 muestra el porcentaje relativo de compuestos oxigenados e hidroxilados tales como aldehídos cetonas, ácidos, ésteres, lactonas, epóxido y compuestos hidroxilados. Se observa que los de mayor porcentaje relativo es el B-esclarelóxido 4, 4%, p-cimeno- 2,5 diona 3,76% y linoleato de metilo 0,41 %. En general la presencia de compuestos oxigenados es pobre comparado con el porcentaje relativo del grupo de terpenos.

La mayoría de estos compuestos oxigenados como aldehídos y cetonas son considerados como carotenos derivados. Safranal también puede ser considerado como un caroteno derivado (Weeks, 1986).



**FIGURA N° 2:** Porcentaje relativo de compuestos oxigenados: aldehídos, cetonas, ésteres, lactonas, epóxido y compuesto hidroxilado analizados por CG-MS en Headspace en pimentones del departamento Santa María

Igualmente, podría explicarse teniendo en cuenta lo expresado por Wu y Liou, (1986), que plantea que compuestos insaturados como C5-C6 aldehídos y alcoholes son generalmente producidos en pimientos frescos por la acción enzimática sobre la interrupción del tejido y se observaron en bajos niveles de porcentaje relativo en las muestras de pimentón. Además podría ocurrir una inactivación térmica de la lipoxigenasa y otras enzimas durante el secado, como fue sugerido por Luning *et al.* (1995).

La presencia de benzaldehído y sus compuestos volátiles relacionados pueden ser expuestos como productos de hidrólisis de glucósidos (Buttery y Ling, 1993).

Es importante la β-ionona presente en pimentón porque es un indicador del calentamiento durante el secado. Nuestros resultados presentan bajos porcentajes relativos de este compuesto. Asimismo el hexanal es un producto de oxidación enzimática o autooxidación del ácido linoleico, nuestros resultados no lo detectaron por lo que se supone que los procesos de autooxidación durante el secado son mínimos.

Con el nivel de metodología utilizada no se detectó pirazinas, hexanal y alcoholes. En general, aunque pirazinas están presentes en pequeñas cantidades en muestras naturales, su contribución a el aroma de estas muestras es muy considerable, su fuente es la reacción de Maillard por ejemplo tetrametilpirazina (Parliment, 1989).

Los COVs siguientes son los derivados de lípidos: ácido linoleico con un porcentaje de 76,37 %, palmitato de metilo 0,41 % y linoleato de metilo 0,26%. Cabe aclarar que el ácido linoleico no se muestra en el gráfico por su elevado porcentaje. El origen de ácido linoleico, la sustancia más abundante detectada en las muestras de pimentón se explica por su elevado contenido en la semilla que a su vez ejerce una acción antioxidante favoreciendo la estabilidad de los pigmentos del pimentón (Daood *et al.*, 1989). Asimismo estos resultados confirmarían que durante el proceso de secado utilizado en esta región, la degradación autooxidativa del ácido linoleico es mínima. Por otra parte, las sustancias antioxidantes como polifenoles, flavonoides, carotenoides y ácido ascórbico presente en el pimentón (Aguirrezábal, 1993; Palic *et al.*, 1993; Lee *et al.*, 1995) probablemente ejercen un efecto de restricción en la formación de productos de degradación autooxidativa.

## **CONCLUSIONES**

Los pimentones del departamento Santa María se caracterizan por una importante presencia de terpenos siendo los más representados el neofitadieno con un 33,59%,  $\alpha$ -cubebeno 8,76 % y  $\alpha$ -calacoreno 8,59 % y en menor proporción compuestos oxigenados siendo los más representados los derivados de los lípidos como ácido linoleico y ésteres.

En conclusión el perfil de COVs identificados permite afirmar que está directamente relacionado al sistema tradicional de secado, la variedad y condiciones edafoclimáticas, aportando un flavor particular que definen los pimentones de la región.

Algunos de los COVs determinados fueron reportados en otras variedades españolas.

## **AGRADECIMIENTO**

Al Laboratorio de Química Orgánica de la Facultad de Bioquímica, Química y Farmacia de la UNT por la provisión del CG/MS y asistencia en el análisis de volátiles.

## **BIBLIOGRAFIA**

- AGUIRREZABAL, M. M. 1993. *Efecto de diversos ingredientes en la elaboración del chorizo*, PhD thesis, University of León. :95-118 and 200-206.



- BUTTERY, R. G.; SEIFERT, R. M.; GUADAGNI, D. G.; and LING, L. C. 1969. Characterization of some volatile constituents of bell peppers. *J. Agric. Food Chem.* 17, 1322-1327.
- BUTTERY, R. G.; LING, L. C. 1993 Volatile Components of Tomato Fruit and Plant Parts. Relationship and Biogenesis. Teranishi, R., Buttery, R. G., Sugisawa, H., Eds.; *Bioactive Volatile Compounds from Plants*; ACS Symposium Series 525; American Chemical Society: Washington, DC. :23-34
- COLE, E. R.; KAPUR, N. S. 1957. The Stability of Lycopene. I. Degradation by Oxygen. *J. Sci. Food Agric.* 8, 360-365.
- DAOOD, H.; BIACS, P. 1986. Evidence for the presence of lipoxygenase and hydroperoxide-decomposing enzyme in red pepper seeds. *Acta Aliment.* 15, 319-328.
- GOVINDARAJAN, V. S. 1986. *Capsicum* - Production, Technology, Chemistry, and Quality- Part II. Processed Products, Standards, World Production and Trade. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 23, 207-288.
- KOVATSCHEVA, E. G.; POPOVA, J. G.; VORKOMMEN VON S. 1977. Methylmethionin in Pflanzen und in tierischen Produkten und dessen Beständigkeit während der Lagerung. *Die Nahrung* 21 (6), 465-472.
- LEE, Y.; HOWARD, L. R.; and VILLALON, B. 1995. Flavonoids and antioxidant activity of fresh pepper (*Capsicum annuum*) cultivars. *J. Food Sci.* 60, 473-476.
- LUNING, P. A.; EBBENHORST-SELLER, T. and DE RIJK, T. 1995. Effect of hot-air drying on flavour compounds of bell peppers (*Capsicum annuum*). *J. Sci. Food Agric.* 68, 355-365.
- LUNING, P. A.; CAREY, A. T.; ROOZEN, J. P.; WICHERS, H. J. 1995. Characterization and Occurrence of Lipoxygenase in Bell Peppers at Different Ripening Stages in Relation to the Formation of Volatile Flavor Compounds. *J. Agric. Food Chem.* 43, 1493-1500.
- MATEO, J.; AGUIRREZABAL, M.; DOMINGUEZ, C. and ZUMALACARREGUI, J. M. 1997. Volatile compounds in Spanish paprika. *J. Food Comp. Anal.*, 10, 225-232.
- MURRAY, K. E.; WHITFIELD, F. B. 1975. The Occurrence of 3-Alkyl-2-methoxypyrazines in Raw Vegetables. *J. Sci. Food Agric.*, 26, 973-986.
- PALIC, A.; KRIZANEC, D., and DIKANOVIC-LUCAN, Z. 1993. The antioxidant properties of spices in dry fermented sausages. *Fleischwirtschaft.* 73, 670-672.
- PARLIMENT, T. H.; CROTEAU, R., 1986. *EDS Biogenesis of Aromas*, ACS Symposium Series 317; American Chemical Society: Washington, DC; :157-166.
- PHILLIP, T.; NAWAR, W. W., and FRANCIS, F. J. 1971. The nature of fatty acids and capsanthin esters in paprika. *J. Food Sci.* 36, 98-100.

- R. BUTTERY, R. G.; SUGISAWA, H., 1993. *Bioactive Volatile Compounds from Plants*; ACS Symposium Series 525; American Chemical Society: Washington, DC.:23-34.
- VAN RUTH, S. M.; ROOZEN, J. P. 1994. Gas chromatography/sniffing port analysis and sensory evaluation of commercially dried bell peppers (*Capsicum annuum*) after rehydration. *Food Chem.*, 51, 165-170.
- VAN RUTH, S. M.; ROOZEN, J. P.; COZIJNSEN, L. 1995. Volatile compounds of rehydrated French beans, bell peppers and leeks. Part 1. Flavor release in the mouth and in three mouth model systems. *Food Chem.*, 53, 15-22
- VIDAL, M.C.; CABANILLAS, J.; LOZANO, M.; MONTERO DE ESPINOSA, V. y VALDES, E. 2001. Evolución de la fracción aromática de pimientos de las variedades Jaranda y Jariza durante la maduración. *Alim. Equip.Tecnol.*, 20, 115-121.
- VIDAL-ARAGON, M.C.; LOZANO, M. and MONTERO DE ESPINOSA, V. 2005. Evolution of the aromatic fraction in red pepper for paprika during La Vera Region traditional drying process. *J. Food Qual.*, 28, 211-221.
- VIDAL-ARAGON, M.C.; SABIO, E.; LOZANO, M. y MONTERO DE ESPINOSA, V. 1998. Identificación de la fracción volátil del pimentón de La Vera mediante espacio de cabeza dinámico y CG/EM. *Alimentaria*, 293, 27-32.
- WHITFIELD, F. B.; LAST, J. H. 1991. Vegetables. In *Volatile Compounds in Foods and Beverages*; Maarse et al., Eds.; Dekker: New York, 1991; pp 203-281.
- WU, C. M., and LIOU, S. E. 1986. Effect of tissue disruption on volatile constituents of bell peppers. *J.Agric. Food Chem.* 34, 770-772.