



## USO DE FTIR-HATR Y ANÁLISIS MULTIVARIABLE PARA EL SEGUIMIENTO DE LA DEGRADACIÓN DE COMPUESTOS BIOACTIVOS DURANTE EL SECADO DE PIMIENTO ROJO

## USE OF FTIR-HATR COUPLED TO MULTIVARIATE ANALYSIS TO MONITOR THE DEGRADATION OF BIOACTIVE COMPOUNDS DURING DRYING OF RED PEPPER

E. Castañeda-Pérez<sup>1</sup>, G.I. Osorio-Revilla<sup>1\*</sup>, T. Gallardo-Velázquez<sup>2</sup> y J.B. Proal-Nájera<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Ingeniería Bioquímica, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, IPN. Prolongación de Carpio y Plan de Ayala S/N. Col. Santo Tomás. CP. 11340, DF México.

<sup>2</sup>Departamento de Biofísica, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, IPN. Prolongación de Carpio y Plan de Ayala S/N. Col. Santo Tomás. CP 11340, DF México.

<sup>3</sup>Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional, CIIDIR-Durango, Instituto Politécnico Nacional. Calle Sigma S/N, Col. 20 de Nov. II. CP 34220, Durango, Dgo. México.

Recibido 3 de diciembre de 2012; Aceptado 22 de abril de 2013

### Resumen

El uso de espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier con reflectancia total atenuada horizontal (FTIR-HATR) acoplada a análisis multivariable permitió dar seguimiento a la degradación de compuestos bioactivos durante el secado de pimiento morrón rojo en un secador de charolas. Los espectros FTIR obtenidos a diferentes tiempos y temperaturas de secado mostraron variación entre ellos, lo que dio pie a la posibilidad de evaluar los cambios experimentados por los componentes bioactivos del pimiento rojo a lo largo del proceso por un método quimiométrico. El modelo quimiométrico se construyó basado en la correlación de diferentes parámetros de calidad evaluados a diferentes tiempos de secado y los espectros FTIR correspondientes. El modelo se desarrolló utilizando el algoritmo PLS (Partial Least Square) el cual mostró la mejor correlación entre los componentes y las imágenes espectrales obteniendo valores de  $R^2$  mayores de 0.99 en todas las propiedades analizadas. Se encontraron etapas críticas del proceso, donde serían necesarios cambios en las condiciones de operación para preservar la calidad del producto. Tiempos de secado mayores a aquellos necesarios para producir una humedad final en el producto de 0.1 b.s., ocasionaron una degradación excesiva en todos los parámetros analizados (carotenoides, ácido ascórbico, fenoles totales y actividad antioxidante).

*Palabras clave:* FTIR-HATR, quimiometría, secado, degradación, compuestos bioactivos.

### Abstract

The use of Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR) coupled to multivariate analysis made possible to monitor the degradation of bioactive compounds during the drying process of red pepper in a tray dryer. The FTIR spectra were obtained at different drying times and temperatures and showed variation among them. This behavior provided the possibility of assessing the degradation of functional compounds present in red pepper along the drying process by a chemometric model. The chemometric model obtained, correlated the quality parameters considered at different drying times and the corresponding FTIR spectra, and was developed with the PLS algorithm, which showed the best correlation between the bioactive compounds and the spectral images, obtaining  $R^2$  values greater than 0.99 for all properties analyzed. Critical regions during the drying process were identified where change in the operating conditions could be performed to preserve the product quality. Drying times larger than those required to give final product moisture of 0.1 d.b. caused severe degradation in all analyzed parameters (carotenoids, ascorbic acid, total phenols and antioxidant activity).

*Keywords:* FTIR-HATR, chemometrics, drying, degradation, bioactive compounds.

\*Autor para la correspondencia. E-mail: gosorio@encb.ipn.mx  
Tel. 52-55-57-29-60-00 ext. 62305, Fax 52-55-57-29-60-00

## 1 Introducción

Durante el proceso de secado de alimentos se producen cambios que pueden ser estructurales o químicos que afectan las propiedades nutritivas u organolépticas del producto, los cuales dependen entre otros factores de las condiciones de operación utilizadas durante el proceso (temperatura y tiempo de aireación) (Flores, 2007).

Al respecto, algunos autores han reportado el efecto del proceso de secado en la calidad de productos alimenticios indicando los valores de la propiedad analizada al inicio y al final del tratamiento, reportando sus resultados como porcentajes de retención de una sola propiedad (Arslan y Özcan, 2011; Mínguez-Mosquera y Hornero-Méndez, 1994; Ergünes y Tarhan, 2006; Orikasa y col., 2008). Pocos son los trabajos que reportan el seguimiento de la degradación de nutrientes durante el proceso de secado. Marfil y col. (2008) describieron la cinética de degradación del ácido ascórbico en cinco puntos durante el secado de tomate a diferentes condiciones de proceso. Kaymak-Ertekin y Gedik (2005), analizaron el oscurecimiento y la pérdida de tiosulfonato como medidas de calidad en el secado de cebolla, éste estudio lo llevaron a cabo analizando entre tres y cinco puntos durante el tratamiento. Goula y col. (2006) describieron la cinética de pérdida de licopeno durante el secado de pulpa de tomate considerando sólo cinco puntos durante el proceso.

Las técnicas analíticas utilizadas para evaluar la calidad o la degradación de los alimentos que son sometidos al secado suelen ser laboriosas y representan metodologías lentas y en algunas ocasiones extremadamente complejas que pueden involucrar un gran número de datos o variables. Sin embargo, en este tema han surgido nuevas formas de llevar a cabo estos análisis, tal es el caso de los métodos quimiométricos usando análisis estadístico multivariable basado en espectroscopia infrarroja FTIR-HATR, que pueden simplificar enormemente el trabajo (Sun, 2009).

La espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier con reflectancia total atenuada horizontal (FTIR-HATR) es uno de los métodos más populares utilizados en años recientes para analizar y detectar componentes de interés. En este respecto Amador-Hernández y col. (2011) reportan la aplicación de esta técnica en el seguimiento de reacciones fotocatalíticas de una gran cantidad de compuestos orgánicos.

Particularmente, en la región del espectro infrarrojo medio (MID) se pueden observar cambios

en las bandas de absorción asociadas con la adición de algunos compuestos o la degradación de otros por algún tratamiento dado. En la región infrarroja MID, los grupos funcionales de las moléculas contenidas en los alimentos son identificadas por el incremento o decremento de picos en el espectro (Meza-Márquez y col. 2012). La espectroscopia infrarroja acoplada a análisis multivariable ofrece un número de ventajas importantes sobre los métodos químicos tradicionales: no es destructiva, es rápida, disminuye el uso de reactivos tóxicos y perjudiciales para el medio ambiente, es un método no invasivo, requiere una mínima cantidad de muestra y la precisión de la predicción es generalmente alta (Cozzolino y col., 2006). Esta técnica ha sido utilizada en la detección de adulterantes en miel (Gallardo-Velázquez y col., 2009), carne molida (Meza-Márquez y col. 2010), para predecir el contenido de ácidos grasos en margarinas (Hernández-Martínez y col., 2010), para detectar clenbuterol en carne (Meza-Márquez y col. 2012) y para determinar el tipo de uvas en vinos (Cozzolino y col., 2011) entre otros.

Sinelli y col. (2011) utilizaron la espectroscopia infrarroja cercana (NIR) como una herramienta para dar seguimiento al proceso de secado combinado osmótico-aire de arándanos. Estos autores concluyeron que la espectroscopia infrarroja NIR es una herramienta adecuada para la implementación de sistemas de control para el secado combinado osmótico-aire de varios alimentos. Sin embargo la espectroscopia NIR muestra algunas desventajas al aplicarse en alimentos, esto es debido a que los anchos picos que se generan pueden ser confundidos por las grandes cantidades de agua y azúcar presentes en la muestra, característica que limita el análisis de estas variables (Cozzolino y col., 2006). Por el contrario la región media (MID) del espectro infrarrojo ha sido utilizada con éxito para la cuantificación de estos parámetros (Gallardo-Velázquez y col. 2009). En este estudio se utilizó pimiento morrón rojo (*Capsicum annuum* L.) por ser una fuente rica en compuestos bioactivos antioxidantes como carotenoides, compuestos fenólicos y vitamina C. El pimiento morrón rojo o paprika (cuando está deshidratado y en polvo) es uno de los condimentos o especias más importante y es apreciado principalmente por el color, el cual es debido a la presencia de carotenoides cuyo contenido está relacionado a la variedad y a factores tecnológicos (Di Scala y Capriste, 2008).

Di Scala y Capriste (2008) describieron la cinética de degradación del ácido ascórbico y de carotenoides

totales durante el secado de pimiento morrón rojo, sin embargo ellos también analizaron sólo cinco puntos durante el tratamiento de secado.

Es importante crear nuevas metodologías que sean capaces de predecir un gran número de propiedades con rapidez, precisión y con una pequeña cantidad de muestra para hacer posible el control de las condiciones de operación del proceso de secado con aire caliente para que de manera simultánea se identifiquen áreas críticas durante el desarrollo del proceso a manera de modificarlas para reducir la pérdida de los compuestos bioactivos en el producto.

El objetivo del presente trabajo fue desarrollar un modelo quimiométrico basado en espectroscopia infrarroja FTIR-HATR para llevar a cabo el seguimiento de la degradación de compuestos bioactivos (carotenoides amarillos y rojos, fenoles totales, ácido ascórbico y capacidad antioxidante) presentes en el pimiento morrón rojo durante el proceso de deshidratación.

## 2 Materiales y métodos

### 2.1 Materia prima

Pimiento morrón rojo (*Capsicum annuum* L.) procedente de la Central de Abastos de la Ciudad de México, que cumple con las condiciones para el uso de la marca oficial "México Calidad Suprema" en pimiento (PC-122-2005), algunas de las cuales son: debe ser firme, bien desarrollado y de apariencia lisa y brillante, color rojo uniforme, ausencia de defectos como grietas, pudriciones y quemaduras de sol entre otras.

### 2.2 Preparación de la muestra

Antes del proceso de secado, el pimiento morrón se lavó, se cortó el pedúnculo y la parte inferior, se eliminó el corazón y las semillas y la pulpa se extendió y cortó en cubos de aproximadamente 8mm por lado. Los cubos fueron escaldados en  $\text{CaCl}_2$  al 4% (p/p) a  $75^\circ\text{C}$  por 3 minutos, posteriormente fueron enfriados al chorro de agua y escurridos durante 10 minutos de acuerdo a Ramesh y col. (2001). Finalmente los cubos fueron deshidratados en un secador de charolas con flujo de aire paralelo a las charolas a las temperaturas de  $60$  y  $70^\circ\text{C}$  a una velocidad de flujo de aire de  $1.5$  m/s.

### 2.3 Equipo de secado

Consistió en un secador de charolas de laboratorio, con un área transversal de  $30\text{cm}^2$ , equipado con un soplador de jaula de ardilla de 1HP de potencia y un banco de resistencias con un control proporcional derivativo para controlar la temperatura del aire de secado. Las charolas se encontraban soportadas en una balanza, la cual permitió la determinación de la curva de secado mediante el registro de la pérdida de peso. Al secador se le adaptó un sistema de linearización de flujo del aire para asegurar que todas las charolas recibieran el mismo tratamiento.

### 2.4 Métodos analíticos

Para poder determinar el espectro infrarrojo MID de las muestras eliminando el traslapamiento de bandas ocurrido por la gran banda de los grupos OH del agua, todas las muestras fueron secadas al vacío a  $50^\circ\text{C}$  por 48 horas, pulverizadas y tamizadas en malla 200 a un diámetro de partícula no mayor de  $0.073$  mm. Todas las determinaciones se llevaron a cabo con las muestras en polvo. Se verificó que no existían diferencias significativas ( $P > 0.05$ ) en el contenido de los compuestos analizados antes y después de ser deshidratados al vacío.

El contenido de carotenoides fue determinado de acuerdo reportado por Cui y col. (2004). Muestras de  $0.5$  g de pimiento morrón en polvo fueron mezclados y macerados con  $100$  ml de éter de petróleo/acetona (1:1 v/v) con  $1$  g de arena (lavada con ácido y seca) en un mortero hasta que el tejido quedó incoloro. El extracto se filtró y se transfirió a un embudo de separación que contenía  $50$  ml de agua desionizada. El embudo fue agitado y la fase acuosa descartada. Esta operación se repitió hasta la eliminación de la acetona. Se añadieron cristales de sulfato de sodio anhidro para eliminar el agua remanente de la fase etérea. Se transfirió a un matraz aforado y se ajustó con éter de petróleo para su cuantificación. La concentración de carotenoides fue determinada cuantitativamente por su absorbancia y debido a que en el extracto se encontraron dos picos principales, uno a  $450$  nm y otro a  $475$  nm, donde según Rodríguez-Amaya (2001) se encuentran la mayoría de los carotenoides amarillos y rojos respectivamente, se decidió cuantificar la fracción amarilla como mg de  $\beta$ -caroteno por  $g_{ss}$  y la fracción roja como mg equivalente de licopeno por  $g_{ss}$ . Esto último se decidió debido a que si bien, el licopeno no es el carotenoide rojo mayoritario en el pimiento morrón rojo, está reportado en la literatura su

presencia y cuantificación (Navarro y col., 2006., Abu-Zahra, 2011 y Ghasemnezhad y col., 2011), además de que el estándar puede ser conseguido fácilmente. Las curvas de calibración fueron obtenidas usando *all-trans-β*-caroteno y licopeno, los cuales fueron adquiridos de Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO, USA).

El contenido de ácido ascórbico fue determinado de acuerdo al método Robinson-Stotz (1945), el método se basa en la medición del grado de decoloración de una solución de 2,6, diclorofenol indofenol por el ácido ascórbico presente en la muestra y en la solución estándar de ácido ascórbico. Muestras de 0.5 g de pimiento morrón en polvo fueron homogenizadas con 25 ml de ácido metafosfórico 3% (v/v). El extracto fue centrifugado a 3000 rpm durante 15 minutos a temperatura ambiente. A 2 ml del líquido sobrenadante se le agregaron 2 ml de buffer de acetatos, 3 ml de solución de 2,6-diclorofenol indofenol y 15 ml de xileno en rápida sucesión. Se dejó que las fases se separaran y la fase acuosa fue retirada. Se adicionaron cristales de sulfato de sodio anhidro para eliminar el agua remanente. La absorbancia fue leída a 520 nm y los resultados fueron expresados como mg de ácido ascórbico por  $g_{ss}$ .

La cantidad de compuestos fenólicos totales en el extracto metanólico de las muestras, fue determinado por la capacidad de reducción del reactivo Folin-Ciocalteu (Quiroz-Reyes y col., 2013). Muestras de 0.5 g de pimiento morrón en polvo fueron homogenizadas en 25 ml de metanol al 80% (v/v). El extracto fue centrifugado a 3000 rpm y filtrado; 0.1 ml del filtrado fue mezclado con 0.5 ml de reactivo de Folin-Ciocalteu diluido al 50% y 7.9 ml de agua desionizada. La reacción fue incubada a temperatura ambiente durante 10 min. 1.5 ml de solución de carbonato de sodio al 20% fue agregada y mezclada. La mezcla fue incubada a temperatura ambiente durante 60 min. La absorbancia fue determinada a 760 nm. Ácido gálico fue utilizado como referencia estándar. El contenido fenólico total fue reportado como mg equivalentes de ácido gálico (GAE) por  $g_{ss}$ .

Para la actividad antioxidante fue utilizado el radical DPPH, utilizando el método de Brand-Williams citado por Kim y col. (2006) con algunas modificaciones. Muestras de 0.5 g de pimiento morrón en polvo fueron homogenizadas en ácido metafosfórico al 4% (p/v), 2.9 ml del radical DPPH disuelto en metanol acuoso al 80% fue añadido a 0.1 ml del extracto de la muestra, dejado en reposo en la oscuridad por 60 minutos, tiempo suficiente para que ya no hubiera cambios en la absorbancia. La

absorbancia fue medida a 517 nm. El porcentaje de inhibición fue calculado por la Ec. (1) donde  $Ab_{s1}$  es la absorbancia de la muestra y  $Ab_{s0}$  es la absorbancia del radical.

$$\% \text{Inhibición} = \frac{Ab_{s0} - Ab_{s1}}{Ab_{s0}} \times 100 \quad (1)$$

De acuerdo a Floegel y col. (2011) se construyó una curva de calibración en % de inhibición en función de la concentración de Trolox expresado como mg equivalentes de Trolox (TEAC) por  $g_{ss}$ .

Todos los análisis fueron realizados por triplicado y se presentan como el valor medio  $\pm$  la desviación estándar.

## 2.5 Curvas de secado

Las curvas de secado fueron obtenidas colocando lotes de 500 g de cubos de pimiento morrón rojo en las diferentes charolas del secador de laboratorio, soportadas en una balanza electrónica granataria con sensibilidad de 0.1 g (Acculab VI-4200). Los cubos de pimiento morrón rojo se secaron a 60 y 70°C, registrando la pérdida de peso a diferentes intervalos de tiempo que variaron desde 10 min al inicio del secado hasta 60 min en las últimas etapas del proceso (Doymaz y Pala, 2003), deteniendo el proceso cuando ya no hubo más variación en el peso de la muestra (equilibrio), con estos datos se construyeron las curvas de secado como humedad base seca ( $X_t$ ) en función del tiempo de secado (Treybal, 1988). Dada la variación del contenido de humedad inicial de los diferentes lotes y con fines de comparación, las curvas de secado también fueron expresadas como humedad adimensional ( $X_{\text{adimensional}}$ ), dividiendo cada valor de la humedad base seca entre la humedad base seca inicial. En corridas alternas realizadas bajo las mismas condiciones de operación que para la curva de secado, se tomaron muestras cada 30 minutos durante las primeras ocho horas de secado y a partir de ese momento cada 60 minutos hasta alcanzar la humedad en equilibrio para realizar las determinaciones analíticas y la obtención de los espectros respectivos.

## 2.6 Obtención de los espectros FTIR-HATR MID

Todos los espectros se obtuvieron de las muestras en polvo (como se describió en la sección 2.4) a temperatura ambiente en un espectrofotómetro PerkinElmer Modelo Spectrum GX FTIR (Norwalk,

CT, USA) equipado con un detector de sulfato deuterado y un accesorio de HATR con punta de diamante (Dura Sample IR-Technologies Danbury, USA). Los espectros se obtuvieron por triplicado y se promediaron. Se utilizaron 64 barridos con una resolución de  $4\text{ cm}^{-1}$  en la región espectral de  $4000\text{--}700\text{ cm}^{-1}$ . Los espectros de fondo (background) se obtuvieron al aire y se representaron en unidades de absorbancia. Las muestras en polvo fueron colocadas en el accesorio HATR hasta cubrir el cristal de diamante completamente, ejerciendo presión con el accesorio para tal efecto hasta el máximo permisible. Al final de cada determinación el cristal se limpió con detergente Extran® al 10%, enjuagado con agua destilada y secado con papel para limpieza de lentes. El cristal limpio se examinó visualmente para asegurarse de que ningún residuo de la muestra anterior fuera retenido en la superficie y se verificó con la obtención del espectro de fondo nuevamente de acuerdo al método modificado de Meza-Márquez y col. (2010).

### 2.7 Análisis multivariable para el seguimiento de la degradación del pimiento morrón rojo durante el secado

La correlación entre cada uno de los datos de referencia (concentración de analitos) y el espectro infrarrojo medio correspondiente, se determinó con el programa Spectrum Quant+ versión 4.51.02 (PerkinElmer, Inc.) utilizando el algoritmo PLS.

Para la construcción del modelo quimiométrico fue elegida la región espectral de la llamada “huella digital” ( $1800\text{--}900\text{ cm}^{-1}$ ) por representar la mayor variación con el tiempo de secado. Algunas regiones se consideraron blancas por carecer de información relevante para la calibración. Se realizaron algunos tratamientos a los espectros para eliminar la variación no deseada como cambios en la línea base, efectos de dispersión y efectos de factores externos. Antes del análisis estadístico se llevaron a cabo algunos pretratamientos como la aplicación de filtros ambientales ( $\text{CO}_2$  y  $\text{H}_2\text{O}$ ), filtro Savitzky-Golay con 13 puntos de suavizado y una normalización utilizando corrección de dispersión multiplicativa (MSC) que es una normalización de los datos espectrales que permite la separación de los efectos aditivos y multiplicativos (Martens y Naes, 1989).

En el procedimiento PLS hay dos etapas, la primera es la calibración que se llevo a cabo con 27 muestras y la segunda es la validación donde se pone a prueba la validez de la calibración. En este

trabajo se utilizó una validación externa conformada por cuatro muestras a diferentes tiempos de secado que si bien estuvieron dentro del intervalo considerado en la calibración no formaron parte de la matriz de calibración. La evaluación de los resultados de calibración fue estimada calculando el error estándar de calibración (SEC) y el error estándar de predicción (SEP), ambos indicadores han sido ampliamente explicados por otros autores (Meza-Márquez y col., 2010).

## 3 Resultados y discusión

### 3.1 Curvas de secado

En el proceso industrial de obtención de paprika, la deshidratación del pimiento morrón rojo se lleva a cabo hasta un contenido de humedad de aproximadamente 10% b.h. (9.9% b.h) (Topuz y col., 2011) que equivale a  $X_t = 0.1$  b. s. Sin embargo en el presente trabajo las curvas de secado y la determinación de los compuestos bioactivos se llevó hasta el equilibrio (3% b.s. a  $60^\circ\text{C}$  y 1.8% b.s. a  $70^\circ\text{C}$ ) para obtener la variabilidad requerida en el desarrollo del modelo quimiométrico.

En las Figs. 1a y 1b, se presentan las curvas de secado obtenidas para cada una de las temperaturas utilizadas. La humedad de equilibrio ( $X_t = 0.03\text{ kgH}_2\text{O/kg}_{ss}$ ) para la temperatura de  $60^\circ\text{C}$  se alcanzó a los 600 min de secado y para la temperatura de  $70^\circ\text{C}$  la humedad de equilibrio ( $X_t = 0.018\text{ kg H}_2\text{O/kg}_{ss}$ ) se alcanzó en 480 min de secado. Como se puede apreciar en la Fig. 1b, el aumento en la temperatura del aire de secado produjo un aumento en la velocidad de evaporación de agua, propiciando un secado más rápido a  $70^\circ\text{C}$ . En ambas temperaturas ( $60$  y  $70^\circ\text{C}$ ) se observa un periodo constante (Fig. 1a) que se extiende por 75 min para  $60^\circ\text{C}$  y por 60 min para  $70^\circ\text{C}$  probablemente debido al escalde, ya que otros autores (Akpınar y col., 2003) no escaldaron y no reportan un periodo constante. Éste es seguido de un periodo decreciente gobernado por mecanismos internos de difusión de la humedad hasta que se alcanza el equilibrio.

### 3.2 Compuestos bioactivos

En la Fig. 2 se presentan los resultados obtenidos del análisis de los diferentes compuestos bioactivos considerados, en función del contenido de humedad base seca ( $X_t$ ) del producto a las dos temperaturas utilizadas.

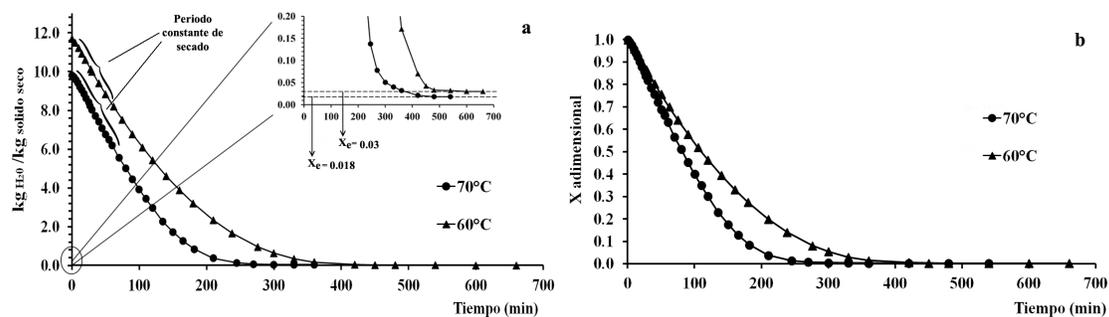


Fig. 1. Curvas de secado de pimienta roja obtenidas en secador de charolas a 60°C y 70°C.

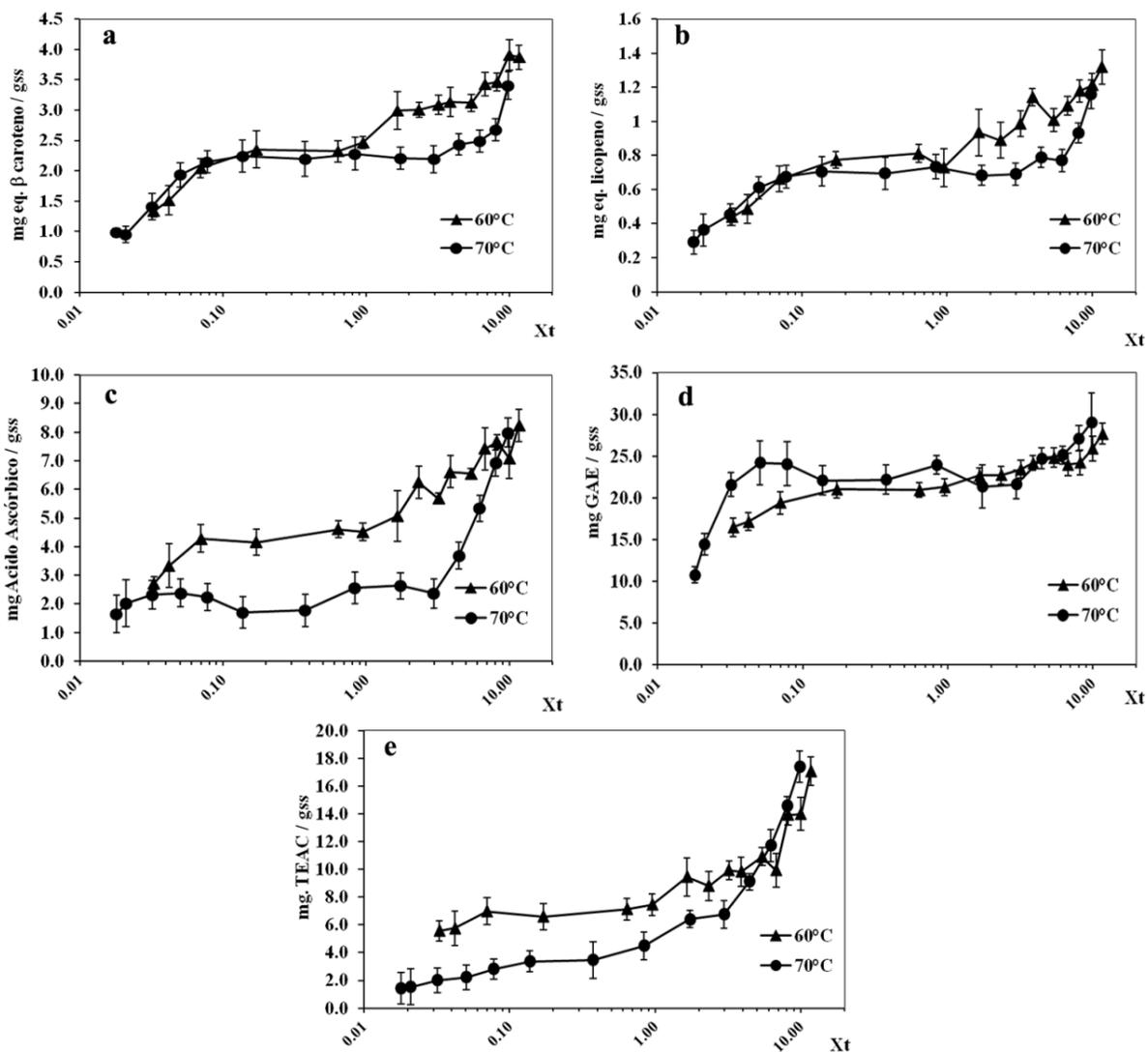


Fig. 2. Degradación con respecto a la humedad base seca de: a) Equivalentes de  $\beta$ -caroteno, b) Equivalentes de licopeno, c) ácido ascórbico, d) fenoles totales y e) capacidad antioxidante.

Como se puede apreciar en esta figura, la velocidad de degradación con respecto a  $X_t$  tanto de la fracción amarilla de los carotenoides, expresada como  $\beta$ -caroteno (Fig. 2a), como la fracción roja expresada como licopeno (Fig. 2b), sigue un comportamiento similar para cada una de las temperaturas utilizadas.

En las Fig. 2a y 2b se puede observar que la degradación tanto de carotenoides amarillos como rojos es mayor a 60 que a 70°C desde el inicio del secado hasta que se alcanza una humedad base seca de 1, a partir de la cual el contenido de carotenoides se estabiliza a un valor independiente de la temperatura hasta que alcanza una  $X_t$  de 0.1. Al reducir la humedad del producto por debajo de  $X_t = 0.1$  se provoca nuevamente una marcada degradación hasta que se logra el equilibrio.

Un comportamiento similar ocurre con la degradación del ácido ascórbico como se puede observar en la Fig. 2c, en la cual se muestra que el efecto del incremento de la temperatura del aire afecta drásticamente la degradación de este compuesto bioactivo. Nuevamente se presenta una estabilización del contenido de ácido ascórbico desde  $X_t = 1.0$  hasta  $X_t = 0.1$  pero en este caso el valor del ácido ascórbico a 60°C es mayor que el que se observa a 70°C. A contenidos de humedad menor a  $X_t = 0.1$  la degradación se incrementa hasta lograr la humedad de equilibrio, esto es debido a que en las últimas etapas del secado el material se encuentra a una temperatura cercana a la temperatura del proceso y se emplean largos periodos de tiempo para disminuir pequeños porcentajes de humedad provocando así una mayor degradación por temperatura (Viveros-Contreras y col., 2013).

Con respecto a la degradación de los compuestos fenólicos totales, la Fig. 2d muestra que la degradación de estos compuestos prácticamente no depende de la temperatura de secado y que su pendiente de cambio es considerablemente menor que para ácido ascórbico o carotenoides, estabilizándose a un valor de entre 20 y 23 mg GAE/ $g_{ss}$  para cualquiera de las dos temperaturas utilizadas desde una  $X_t = 3$  hasta  $X_t = 0.1$ . Nuevamente para un contenido de humedad menor a  $X_t = 0.1$  la degradación de fenoles totales se incrementa drásticamente hasta la humedad de equilibrio.

Con respecto a la pérdida de capacidad antioxidante, la Fig. 2e, muestra que ésta se pierde rápidamente para cualquiera de las dos temperaturas utilizadas hasta una  $X_t = 5$ , a partir de la cual la pérdida de capacidad antioxidante a 60°C es considerablemente menor a la obtenida a 70°C. Para

la temperatura de 60°C la capacidad antioxidante se mantiene prácticamente constante a un valor aproximado de 7.0 mg TEAC/ $g_{ss}$  desde una  $X_t = 1$  hasta una  $X_t = 0.1$ , a partir de la cual comienza nuevamente a degradarse a mayor velocidad. A la temperatura de 70°C, la pérdida de capacidad antioxidante continúa con la misma pendiente desde una  $X_t = 3$  hasta que se alcanza la humedad en equilibrio. La pérdida de capacidad antioxidante sigue una tendencia similar a la degradación de ácido ascórbico, lo cual concuerda con lo publicado por Kim y col. (2006) quienes reportan que en el pimiento morrón rojo la capacidad antioxidante está mayormente ligada al ácido ascórbico que al contenido de compuestos fenólicos.

Como se puede apreciar de la discusión anterior y de la información de las gráficas de la Fig. 2 la humedad base seca del producto no debe ser menor a  $X_t = 0.1$  pues a contenidos de humedad menores la degradación de compuestos bioactivos se incrementa considerablemente. Este valor de humedad concuerda con el valor de humedad de la paprika comercial que es reportada por Topuz y col., (2011) como 9.9% b.h. ( $X_t = 0.1$ ). Osuna-García y Wall (1997) reportan que este contenido de humedad retarda la destrucción de pigmentos debido a que las moléculas de agua remanentes cubren los sitios activos de los sólidos secos formando una película protectora contra la oxidación, por lo que una humedad base seca final de secado de 0.1 en el pimiento morrón rojo disminuye la velocidad de oxidación y degradación, lo cual concuerda con los resultados del presente trabajo.

De los datos anteriores se puede ver la enorme importancia de controlar las condiciones de secado durante la operación para lograr un producto con la máxima calidad y cantidad de compuestos bioactivos en el producto final, lo cual requiere del análisis de éstos compuestos a lo largo del secado de una manera rápida y confiable, que puede realizarse con el uso de métodos quimiométricos como se muestra a continuación.

### 3.3 Espectros FTIR

Las bandas del espectro FTIR-HATR de pimiento morrón rojo representan todos los grupos funcionales presentes en las moléculas que constituyen esta hortaliza como son los carotenoides, compuestos fenólicos, ácido ascórbico, etc. Todos ellos contribuyen con sus grupos funcionales (-C=O, -C-C-, -CH, -CH<sub>2</sub>, -CH<sub>3</sub>, -OH) al espectro total (Rodríguez-Amaya, 2001). La Fig. 3 presenta un

ejemplo de la variación de los espectros del pimienta

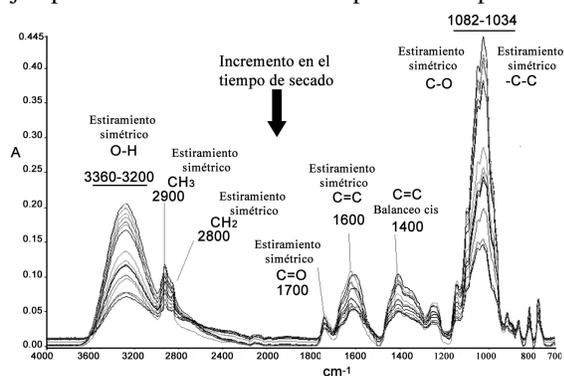


Fig. 3. Variación del espectro FTIR-HATR del pimienta roja durante el secado a 60°C.

morrón rojo a diferentes tiempos de deshidratación a 60°C; en esta figura se muestra la variación en las diferentes bandas del espectro conforme se incrementa el tiempo de secado y por lo tanto la degradación de los compuestos bioactivos. El total de los espectros obtenidos de las 27 muestras que conformaron el conjunto de calibración, fueron utilizados junto con los correspondientes valores de los parámetros analizados para la elaboración del modelo quimiométrico. Los espectros de la Fig. 3 muestran las diferencias en absorbancia debido al cambio en la concentración de los principales grupos funcionales de los compuestos bioactivos en las diferentes bandas del espectro. Se puede observar claramente una disminución en los grupos metilo y metileno en 2900 y 2800  $\text{cm}^{-1}$  respectivamente, dobles enlaces  $\text{-C=C-}$  en 1600 y 1400  $\text{cm}^{-1}$ , dobles enlaces  $\text{-C=O}$  en 1700  $\text{cm}^{-1}$ , así como los grupos  $\text{-CO}$  y  $\text{-C-C}$  de carbohidratos de 1082-1034  $\text{cm}^{-1}$  (Bolio-López y col. 2013; Kacuráková y col., 2000) con el tiempo de secado.

### 3.4 Modelo quimiométrico para el seguimiento de la degradación del pimienta morrón rojo durante el secado

El modelo quimiométrico se optimizó para obtener los valores más bajos del error estándar de calibración (SEC), de predicción (SEP) y el más alto coeficiente de determinación  $R^2$ . La Tabla 1 muestra el número óptimo de factores, coeficiente de determinación ( $R^2$ ) y error SEC para la etapa de calibración así como el coeficiente de determinación ( $R^2$ ) y error SEP para la etapa de validación. Un parámetro importante del algoritmo PLS es el número de factores que se incluyen en el modelo de calibración. El

objetivo principal de los factores es el de transformar los datos que comprenden mediciones de un gran número de propiedades o “variables” (mediciones de absorbancia espectral en varios cientos de frecuencias de infrarrojo) en un nuevo conjunto de datos de un tamaño más manejable. Las variables transformadas se conocen como factores o “scores” y están ordenados de tal manera que los primeros contienen la información más relevante expresada en los datos originales.

### 3.5 Validación externa

Como se indicó anteriormente el conjunto de validación externa estuvo conformado por cuatro muestras con sus respectivos espectros FTIR y valores analíticos, seleccionados al azar dentro del intervalo considerado pero externos a la matriz de datos de calibración del modelo quimiométrico obtenido.

Una vez que se obtuvieron los espectros de las muestras externas, se ingresaron al modelo quimiométrico desarrollado para predecir las variables que fueron calibradas. Es importante hacer notar que el tiempo máximo para la obtención de la composición de los compuestos bioactivos fue de aproximadamente 10 min desde que se coloca la muestra en polvo sobre el HATR hasta obtener los resultados de predicción. La Tabla 2 muestra los valores reales y los valores predichos por el modelo optimizado incluyendo parámetros estadísticos que califican qué tan bien se está llevando a cabo la predicción. La relación de residuales representa la capacidad de modelar las características de la muestra con el número de factores considerados y su valor debe ser menor a 3 indicando que la varianza del espectro desconocido es similar a la varianza residual de la matriz espectral. El error residual es una medida del error asociado con el valor de la propiedad calculada por el modelo y su valor debe ser menor a 3. Finalmente la distancia de Mahalanobis representa la similitud espectral de la muestra externa al modelo con el promedio de la matriz de las imágenes espectrales y su valor debe ser menor a 1 (PerkinElmer, 1991).

Como se puede observar en la Tabla 2, los valores reales de los diferentes parámetros analizados para las cuatro muestras externas, coinciden cercanamente con los valores predichos por el modelo y todos los parámetros estadísticos anteriormente mencionados están dentro de los límites establecidos, por lo que el modelo es confiable para predecir los parámetros considerados durante la deshidratación de pimienta morrón rojo sin importar las condiciones de operación, requiriendo únicamente su imagen espectral.

Tabla 1. Parámetros estadísticos del modelo quimiométrico optimizado.

| Propiedad<br>[mg/g <sub>ss</sub> ] | No. Factores <sup>a</sup> | Calibración     |                  | Validación      |                  |
|------------------------------------|---------------------------|-----------------|------------------|-----------------|------------------|
|                                    |                           | R <sup>2b</sup> | SEC <sup>c</sup> | R <sup>2b</sup> | SEP <sup>d</sup> |
| Eq. $\beta$ -caroteno              | 10                        | 0.9986          | 0.1594           | 0.9986          | 2.59             |
| Eq. Licopeno                       | 10                        | 0.9997          | 0.0048           | 0.9987          | 0.1138           |
| Ac. Ascórbico                      | 11                        | 0.9991          | 0.086            | 0.9998          | 1.919            |
| Fenoles totales como GAE           | 10                        | 0.9964          | 0.1475           | 0.9997          | 2.698            |
| Capacidad antioxidante como TEAC   | 8                         | 0.9936          | 0.3305           | 0.9973          | 2,743            |

<sup>a</sup> Numero óptimo de factores.

<sup>b</sup> Coeficiente de determinación ( $R^2$ ) lo más cercano posible a 1.

<sup>c</sup> Error estándar de Calibración (SEC) debe ser lo más bajo posible y no exceder de 3.

<sup>d</sup> Error estándar de Predicción (SEP) debe ser lo más bajo posible, su valor no debe exceder de 3.

GAE Equivalentes de ácido gálico

TEAC Capacidad antioxidante en equivalentes de Trolox

Tabla 2. Validación externa del modelo quimiométrico optimizado.

| Propiedad<br>[mg/g <sub>ss</sub> ] | Valor<br>real | Valor<br>predicho | Relación de<br>residuales <sup>a</sup> | Error<br>residual <sup>b</sup> | Distancia<br>Mahalanobis. <sup>c</sup> |
|------------------------------------|---------------|-------------------|--|--------------------------------|--|
| EQ $\beta$ -caroteno               | 3.02          | 3.055             | 0.2721                                 | 0.01765                        | 0.8228                                 |
| EQ Licopeno                        | 0.98          | 0.9885            | 0.4697                                 | 0.0106                         | 0.8976                                 |
| Ac. Ascórbico                      | 6.63          | 6.618             | 0.8501                                 | 0.1956                         | 0.753                                  |
| Fenoles totales como GAE           | 24.36         | 24.66             | 1.081                                  | 0.3158                         | 0.6184                                 |
| Capacidad antioxidante TEAC        | 10.34         | 10.6              | 0.6286                                 | 0.7036                         | 0.7574                                 |
| EQ $\beta$ -caroteno               | 1.90          | 1.978             | 1.394                                  | 0.01548                        | 0.3928                                 |
| EQ Licopeno                        | 0.63          | 0.6331            | 1.813                                  | 0.009055                       | 0.3348                                 |
| Ac. Ascórbico                      | 1.408         | 1.413             | 0.6606                                 | 0.1811                         | 0.4849                                 |
| Fenoles totales como GAE           | 23.81         | 23.73             | 1.907                                  | 0.3052                         | 0.4959                                 |
| Capacidad antioxidante TEAC        | 7.38          | 7.429             | 1.137                                  | 0.6746                         | 0.5747                                 |
| EQ $\beta$ -caroteno               | 3.15          | 3.093             | 1.184                                  | 0.2788                         | 0.4726                                 |
| EQ Licopeno                        | 1.10          | 1.138             | 1.036                                  | 0.01248                        | 0.5693                                 |
| Ac. Ascórbico                      | 6.62          | 6.768             | 1.241                                  | 0.1771                         | 0.4152                                 |
| Fenoles totales como GAE           | 24.27         | 24.22             | 0.8677                                 | 0.318                          | 0.6435                                 |
| Capacidad antioxidante TEAC        | 9.36          | 9.106             | 0.8365                                 | 0.6804                         | 0.6108                                 |
| EQ $\beta$ -caroteno               | 1.28          | 1.287             | 0.9968                                 | 0.2907                         | 0.614                                  |
| EQ Licopeno                        | 0.42          | 0.4537            | 1.141                                  | 0.01215                        | 0.4808                                 |
| Ac. Ascórbico                      | 7.44          | 7.51              | 0.2246                                 | 0.1972                         | 0.7837                                 |
| Fenoles totales como GAE           | 25.12         | 24.9              | 0.1175                                 | 0.3202                         | 0.6702                                 |
| Capacidad antioxidante TEAC        | 7.36          | 7.622             | 0.5992                                 | 0.6763                         | 0.5856                                 |

a: Relación de residuales: Su valor debe ser menor a 3.

b: Error Residual: Debe ser menor a 3.

c Distancia de Mahalanobis: Su valor debe ser menor a 1.

GAE: Equivalentes de ácido gálico

TEAC: Capacidad antioxidante en equivalentes de Trolox

Esto proporciona la posibilidad de comparar el efecto de las condiciones de operación e incluso tipo de secadores sobre la calidad del pimiento morrón rojo durante el proceso de secado, lo que permitirá

seleccionar aquellas que ofrezcan la mayor calidad del producto terminado.

## Conclusiones

Los compuestos bioactivos evaluados como indicadores de calidad del pimiento morrón rojo durante su deshidratación, indican que dependiendo de la temperatura de operación y humedad final del producto, pueden verse afectados considerablemente disminuyendo la calidad del producto terminado, por lo que estas condiciones deben ser cuidadosamente seleccionadas y programadas para evitar etapas críticas que produzcan una degradación excesiva de los compuestos bioactivos para mejorar la calidad del pimiento morrón rojo deshidratado.

La variación de los espectros FTIR-MID del pimiento rojo, tanto con el tiempo como con la temperatura de operación, durante el proceso de secado, hizo posible el desarrollo de un modelo quimiométrico capaz de predecir con gran precisión el contenido de los parámetros analizados en muestras externas con una excelente correlación en un tiempo máximo de 10 min partiendo de las muestras en polvo, lo que proporciona la posibilidad de aplicar estos modelos a la deshidratación del pimiento morrón rojo en diferentes secadores y evaluar tanto el efecto de éstos como de las condiciones de operación sobre la calidad del producto, para seleccionar los más adecuados.

## Agradecimientos

Agradecemos ampliamente el apoyo financiero de la Secretaría de Estudios de Posgrado e Investigación del Instituto Politécnico Nacional de México (SIP-IPN) y del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) para la realización de ésta investigación.

## Nomenclatura

|             |  |
|-------------|--|
| $Abs_0$     | absorbancia del radical DPPH   |
| <i>b.h.</i> | base húmeda  |
| <i>b.s.</i> | base seca  |
| FTIR-HATR   | espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier con reflectancia total atenuada horizontal |
| GAE         | equivalentes de ácido gálico   |

|                    |   |
|--------------------|---|
| $g_{ss}$           | gramos de sólido seco                                       |
| MID                | infrarrojo medio  |
| MSC                | corrección de dispersión multiplicativa                     |
| NIR                | infrarrojo cercano  |
| <i>nm</i>          | nanómetros  |
| PLS                | mínimos cuadrados parciales (Partial Least Square)          |
| $R^2$              | coeficiente de determinación                                |
| SEC                | error estándar de calibración                               |
| SEP                | error estándar de predicción                                |
| TEAC               | equivalentes de Trolox                                      |
| $X_e$              | humedad de equilibrio, ( $kgH_2O/kg_{ss}$ )                 |
| $X_0$              | humedad base seca inicial ( $kgH_2O/kg_{ss}$ )              |
| $X_t$              | humedad base seca al tiempo <i>t</i> , ( $kgH_2O/kg_{ss}$ ) |
| $X_{adimensional}$ | humedad adimensional  |

## Referencias

- Abu-Zahra, T.R. (2011). Influence of agricultural practices of fruit quality of bell pepper. *Pakistan Journal of Biological Science* 14, 876-881.
- Akpınar, E.K., Bicer, Y. y Yildiz, C. (2003). Thin layer drying of red pepper. *Journal of Food Engineering* 59, 99-104.
- Amador-Hernández, J., Velázquez-Manzanares, M., Anaya, G.E. y Enríquez, R. (2011). Seguimiento en tiempo real de la degradación de compuestos orgánicos mediante procesos fotocatalíticos heterogéneos con  $TiO_2$ : Revisión. *Revista Mexicana de Ingeniería Química* 10, 471-486.
- Arslan, D. y Özcan, M.M. (2011). Dehydration of red bell-pepper (*Capsicum annuum* L.) change in drying behavior, color and antioxidant content. *Food and Bioprocess Processing* 89, 504-513.
- Bolio-López, G.I., Veleza, L., Valadez-González, A. y Owen, Q. (2013). Weathering and biodegradation of polylactic acid composite reinforced with cellulose whiskers. *Revista Mexicana de Ingeniería Química* 12, 143-153.
- Cozzolino, D., Cynkar, W., Janik, L., Damberg, R.G. y Gishen, M. (2006). Analysis of grape and wine by near infrared spectroscopy - A review. *Journal of Near Infrared Spectroscopy* 14, 279-289.

- Cozzolino, D., Cynkar, W.U., Shah, N. y Smith, P. (2011). Multivariate data analysis applied to spectroscopy: Potential application to juice and fruit quality. *Food Research International* 44, 1888-1896.
- Cui, Z. W., Xu, S.Y. y Sun, D. W. (2004). Effect of microwave-vacuum drying on the carotenoids retention of carrot slices and chlorophyll retention of Chinese chive leaves. *Drying Technology* 22, 563-575.
- Di Scala, K. y Capriste, G. (2008). Drying kinetics and quality changes during drying of red pepper. *LWT Food Science and Technology* 41, 789-795.
- Doymaz, I y Pala, M. (2002). Hot-air Drying characteristics of red pepper. *Journal of Food Engineering* 55, 331-335.
- Ergünes, G. y Tarhan, S. (2006). Color retention of red peppers by chemical pretreatments during greenhouse and open sun drying. *Journal of Food Engineering* 76, 446-452.
- Floegel, A., Kim, D., Chung, S., Koo, S. y Chun, O. (2011). Comparison of ABTS/DPPH assays to measure antioxidant capacity in popular antioxidant-rich US foods. *Journal of Food Composition and Analysis* 24, 1043-1048.
- Flores N.C. (2007). *Drying Foods Food and Nutrition Publications*. E-322 Drying Foods. New Mexico State University.
- Gallardo-Velázquez, T., Osorio-Revilla, G., Zúñiga de Loa, M. y Rivera-Espinoza, Y. (2009). Application of FTIR-HATR spectroscopy and multivariate analysis to the quantification of adulterants in Mexican honeys. *Food Research International* 42, 313-318.
- Ghasemnezhad, M., Sherafati, M. y Payvast, G.A. (2011). Variation in phenolic compounds, ascorbic acid and antioxidant activity of five coloured bell pepper (*Capsicum annum*) fruits at two different harvest times. *Journal of Functional Foods* 3, 44-49.
- Goula, A.M., Adamopoulos, K.G., Chatzitakis, P.C. y Nikas, V.A. (2006). Prediction of lycopene degradation during a drying process of tomato pulp. *Journal of Food Engineering* 74, 37-46.
- Hernández-Martínez, M, Gallardo-Velázquez, T. y Osorio-Revilla, G. (2010). Rapid characterization and identification of fatty acids in margarines using horizontal attenuate total reflectance Fourier transform infrared spectroscopy (HATR-FTIR). *European Food Research and Technology* 231, 321-329.
- Kacuráková, M., Capek, P., Sasinková, V., Wellner, N. y Ebringerová, A. (2000). FT-IR study of plant cell wall model compounds: pectic polysaccharides and hemicelluloses. *Carbohydrate Polymers* 43, 195-203.
- Kaymak-Ertekin, F. y Gedik, A. (2005). Kinetic modelling of quality deterioration in onions during drying and storage. *Journal of Food Engineering* 68, 443-453.
- Kim, S., Lee, K.W., Park, J., Lee, H.J. y Hwang, I.K. (2006). Effect of drying in antioxidant activity and changes of ascorbic acid and color by different drying and storage in Korean red pepper (*Capsicum annum* L.). *International Journal of Food Science and Technology* 41, 90-95.
- Marfil, P.H.M., Santos, E.M. y Telis, V.R.N. (2008). Ascorbic acid degradation kinetics in tomatoes at different drying conditions. *LWT Food Science and Technology* 41, 1642-1647.
- Martens, H., y Naes, T. (1989). *Methods for calibration: Assessment, validation and choice of calibration methods; pretreatment and linearization. Multivariate calibration*. Chichester, UK: John Wiley y Sons Ltd.
- Meza-Márquez, O.G., Gallardo-Velázquez, T. y Osorio-Revilla, G. (2010). Application of mid infrared spectroscopy with multivariate analysis and soft independent modeling of class analogies (SIMCA) for the detection of adulterant in minced beef. *Meat Science* 86, 511-519.
- Meza-Márquez, O.G., Gallardo-Velázquez, T., Osorio-Revilla, G. y Dorantes-Álvarez, L. (2012). Detection of clenbuterol in beef meat, liver and kidney by mid-infrared spectroscopy (FT-Mid IR) and multivariable analysis. *International Journal of Food Science and Technology* 47, 2342-2351.

- Mínguez-Mosquera, M.I. y Hornero-Mendez, D. (1994). Comparative study of the effect of paprika processing on the carotenoids in peppers (*Capsicum annuum*) of the *Bola* and *Agridulce* varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 42, 1555-1500.
- Navarro, J.M., Flores, P., Garrido, C., Martínez, V. (2006). Changes in the contents of antioxidant compounds in pepper fruits at different ripening stages, as affected by salinity. *Food Chemistry* 96, 66-73.
- Orikasa, T., Wu, L., Shiina, T. y Tagaka, A. (2008). Drying characteristics of kiwifruit during hot air drying. *Journal of Food Engineering* 85, 303-308.
- Osuna-García, J. A. y Wall, M. M. (1997). Prestorage moisture content affects color loss of ground paprika (*Capsicum annuum* L.) under storage. *Journal of Food Quality* 21, 251-259.
- PC-022-2005 (2005). Pliego de condiciones para el uso de la marca oficial México calidad suprema en pimiento morrón. México. Bancomext.
- PerkinElmer. (1991). *Quant+*. Software for quantitative multicomponent analysis using Chemometric methods. Massachusetts, USA: PerkinElmer LLC.
- Quiroz-Reyes, C.N., Aguilar-Méndez, M.A., Ramírez-Ortíz, M.E. y Ronquillo-De Jesús, E. (2013). Comparative study of ultrasound and maceration techniques for the extraction of polyphenols from cocoa beans (*Theobroma cacao* L.). *Revista Mexicana de Ingeniería Química* 12, 11-18.
- Ramesh, M.N., Wolf, W., Trevini, D. y Jung, G. (2001). Influence of processing parameters on the drying of spice paprika. *Journal of Food Engineering* 49, 63-72.
- Robinson, W.B. y Stotz, E. (1945). The indophenol-xylene extraction method for ascorbic acid and modification for interfering substances. *The Journal of Biological Chemistry* 160, 217-225.
- Rodríguez-Amaya, D.B. (2001). *A Guide to Carotenoid Analysis in Foods*. OMNI Washington, D. C.
- Sinelli, N., Casiraghi, E., Barzaghi, S., Brambilla, A. y Giovanelli, G. (2011). Near infrared (NIR) spectroscopy as a tool for monitoring blueberry osmo-air dehydration process. *Food Research International* 44, 1427-1433.
- Sun, D.W. (2009). *Infrared Spectroscopy for Food Quality Analysis and Control*. Pp. 424. Elsevier, Amsterdam, Netherlands
- Topuz, A., Dincer, C., Özdemir, K. S., Feng, H. y Kushad, M. (2011). Influence of different drying methods on carotenoids and capsaicinoids of paprika (Cv., Jalapeno). *Food Chemistry* 129, 860-865.
- Treybal, R. E. (1988). *Operaciones de Transferencia de Masa*. Pp. 730-742, Editorial Mc. Graw Hill. 2ª. Edición, México, D.F.
- Viveros-Contreras, R., Tellez-Medina, D.I., Perea-Flores, M. J., Alamilla-Beltran, L., Cornejo-Mazon, M., Beristain-Guevara, C. I., Azuara-Nieto, E y Gutierrez-López, G. F. (2013). Encapsulation of ascorbic acid into calcium alginate matrices through coacervation coupled to freeze-drying. *Revista Mexicana de Ingeniería Química* 12, 29-39