

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA**  
**CENTRO DE TECNOLOGIA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E**  
**TECNOLOGIA DE ALIMENTOS**

**VÂNIA MARIA BARBOZA DA SILVA**

**PIMENTAS DO GÊNERO *Capsicum*: CONSTITUINTES**  
**QUÍMICOS E POTENCIAL ANTIOXIDANTE**

**JOÃO PESSOA – PB**

**2017**

**VÂNIA MARIA BARBOZA DA SILVA**

**PIMENTAS DO GÊNERO *Capsicum*: CONSTITUINTES  
QUÍMICOS E POTENCIAL ANTIOXIDANTE**

**JOÃO PESSOA – PB**

**2017**

**VÂNIA MARIA BARBOZA DA SILVA**

**PIMENTAS DO GÊNERO *Capsicum*: CONSTITUINTES  
QUÍMICOS E POTENCIAL ANTIOXIDANTE**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Centro de Tecnologia, Universidade Federal da Paraíba, em cumprimento aos requisitos para obtenção do Título de Doutor em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup>. Antônia Lúcia de Souza

JOÃO PESSOA – PB

2017

S586p

SILVA, Vânia Maria Barboza da.

Pimentas do Gênero *Capsicum spp.*: constituintes químicos e potencial antioxidante

Vânia Maria Barboza da Silva. – João Pessoa-PB: 2017.

77 fl.: il.

Orientadora: Antônia Lúcia de Souza

Tese (Doutorado) – UFPB / CT

1. Química Verde. 2. Pimentas *Capsicum*. 3. Ressonância Magnética Nuclear. 4. Termogravimetria. 5. Antioxidantes.

UFPB/BC

CDU: 664 (043)

VÂNIA MARIA BARBOZA DA SILVA

PIMENTAS DO GÊNERO *Capsicum*: CONSTITUINTES  
QUÍMICOS E POTENCIAL ANTIOXIDANTE

Defesa de doutorado apresentada em 12 de setembro de 2017.

BANCA EXAMINADORA

  
Prof.ª Dr.ª. Antônia Lúcia de Souza

Orientadora

Prof.ª Dr.ª . Marciane Magnani

Examinadora Interna

Prof.ª Dr.ª. Neide Queiroz

Examinadora Externa

Prof.ª Dr.ª. Jailane de Souza Aquino

Examinadora Externa

  
Prof. Dr. Roberto Sassi

Examinador Externo

## **DEDICATÓRIA**

À memória da minha mãe (\*27/11/1947 – †29/11/2011), pois ela nunca mediu esforços para que eu não parasse de estudar.

Aos meus filhos, pois é por eles e para eles que luto e não desisto...

## AGRADECIMENTOS

Ao meu Deus, o único digno de honra, de glória e de louvor. Por tudo o que tem feito em minha vida, pelas oportunidades e pelas lutas que me tornaram mais forte, por sempre estar comigo.

Aos meus pais, José Barbosa da Silva e Josefa Carneiro da Silva (*in memoriam*), pelo amor, incentivo, dedicação e pelos desafios que aceitaram enfrentar para que fosse possível esta minha vitória.

Ao meu esposo, Geanderson Clayton, que aceitou conviver com uma mulher que faz dos estudos seu passatempo e lazer, sem abrir mão da alegria de ser a rainha do lar.

Aos meus filhos, Beatriz e Baruc, pelo amor, compreensão, pelas contribuições com as tarefas domésticas, pelas histórias solicitadas antes de dormir que foram meus momentos de descanso algumas vezes, pelas dúvidas que me fazem querer aprender mais, pelas horas ausentes, muitas vezes dentro de casa, mas presa ao computador.

Às minhas irmãs e cunhados, Vilma e Fabiano, Verônica e Josinaldo, que sempre me apoiaram, pelas palavras de incentivo, amor e orações constantes. Vilma, especialmente, por ser minha companheira nos estudos desde a infância. Quando pensamos que seguiríamos caminhos opostos, o Senhor nos juntou novamente: eu, Nutricionista e ela, Engenheira de Alimentos. A rotina do laboratório ficou mais fácil com sua experiência e ajuda.

Aos meus sogros, Amaro e Maria Eterna, pela ajuda sempre, pela torcida, pela compreensão, pelas orações.

Aos meus sobrinhos, Lucas, Letícia e Benjamin, pois fazem parte da inspiração. Quero que meu esforço seja referência para as futuras gerações da nossa família.

Ao Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos (PPGCTA) da Universidade Federal da Paraíba, pela oportunidade de realização deste doutorado.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela bolsa concedida.

A pesquisadora e orientadora Profa. Dra. Antônia Lúcia de Souza, sobremaneira por ter aceitado na conclusão desta caminhada de tese comigo. Por sua objetividade em resolver problemas, pelas ideias que me mostraram que vale a pena reformar conceitos, desde que a essência seja preservada. Muito obrigada, em especial por ter sido instrumento de Deus para mudar meu caminho. Graças a seu incentivo, adiei a defesa da tese e, em um mês de preparo, a conquista da aprovação em um concurso para professor adjunto. Que o Senhor lhe

recompense. Sua história inspira seus alunos e, principalmente, a atenção que dispensa a cada um.

Neste empreendimento, especialmente, quero agradecer ao Dr. Roberto Sassi, por ter me apresentado ao Prof. Dr. Antônio Gouveia de Souza, o qual se tornou meu orientador no início do doutorado, e a quem também sou muito agradecida, por abrir as portas do laboratório que coordenava (LACOM/UFPB). Também agradeço ao Prof. Dr. Roberto Sassi e a Profa. Dra. Cristiane Sassi, por terem disponibilizado o espaço para a realização de parte das análises deste trabalho (LARBIM/UFPB).

À Profa. Dra. Ângela Maria Tribuzy de Magalhães Cordeiro, por sua amizade, apoio à minha pesquisa e por ter me apresentado a orientadora que me permitiu concluir este trabalho.

Aos membros da banca, Profa. Dra. Marciane Magnani, Profa. Dra. Nataly Albuquerque dos Santos, Profa. Dra. Neide Queiroz, Profa. Dra. Jailane de Souza Aquino e Prof. Dr. Roberto Sassi, pelas correções e valiosas contribuições para o aperfeiçoamento desta pesquisa.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos (PPGCTA) pelos conhecimentos que adquiri nessa jornada.

Aos colegas do doutorado do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, pelo companheirismo e alegria.

Aos amigos do LACOM: Isabelle, Maristela, Anderson, Bruno, Raquel, Gabrielly, Dayene, Túlio, Lorêna, Rodrigo Aguiar, Jack, Renata, Elizeu, Sandro, Fernanda, Andreza, Laís, Alex, Denise, Mariana, pelo agradável convívio, disponibilidade em ajudar e pelo cafezinho. A Ana Rita, pela ajuda com as análises de Infravermelho.

Aos amigos do LARBIM: Vilma (minha irmã), Clediana, Jordana, Elizandra, Evandro, Viviane, Viviane Barros, Patrícia Sassi, Patrícia Petraglia, Luis, Nyelson, Roberta, Alerson e Katharina. Agradeço a todos vocês pelo apoio, alegria, companheirismo, ajuda nas minhas tarefas e boas conversas.

Aos Técnicos do LACOM e LARBIM, pela contribuição na realização deste trabalho.

Ao secretário do LACOM, Fernando, pela gentileza e alegria com que trata os alunos.

Às secretárias da PPGCTA, Lindalva e Fernanda, por facilitar a burocracia da vida acadêmica.

Às funcionárias do LACOM, Dona Jô, e do LARBIM, Marilza, que mantêm em ordem o ambiente de pesquisa.

Ao Dr. Ércules Epaminondas de Sousa Teotônio, coordenador do LCCQS que autorizou as análises de Termogravimetria; as quais foram realizadas pela técnica Lúcia Carvalho, e a quem sou grata pela realização das análises, torcida e orações.

Ao Professor Dr. Vicente Carlos de Oliveira Costa, do NUCAL, pelas análises de Ressonância Magnética Nuclear.

A Diretora Adailda e todas as pessoas envolvidas com o cuidado e ensino do Centro Educacional Conviver, onde minhas crianças viveram em tempo integral, durante todo o mestrado e a maior parte do doutorado, pela compreensão e paciência em acalantar meus filhos quando a saudade da mãe chegava.

Aos amigos do Centro de Educação da Polícia Militar da Paraíba, pelas contribuições que fortaleceram minha vida profissional, otimizando meu currículo como professora e pesquisadora, durante os dez anos de trabalho no Rancho (denominação da Unidade de Alimentação e Nutrição nos quartéis). Em especial ao Comandante-geral, Cel. Euller Chaves, pela oportunidade e atenção aos meus pedidos que fugiam de sua rotina; ao Maj. Pontes, Maj. Ligório, Sgt. Eliane, Sgt. Taís, Sgt. Uberlândio, pelo convívio, ensinamentos e amizade. Aos demais companheiros do serviço, onde alcançamos o número de mil e duzentos almoços por dia, durante cursos de formação de tropas especiais.

Aos meus amigos e irmãos em Cristo, pessoas mais chegadas e membros de igrejas por onde passo cumprindo o que Deus a mim determinou, que oram por minha vida e se alegram com minhas vitórias, especialmente: Pra. Maria do Socorro Fernandes Tavares; João Guimarães e Valquíria; Dona Ivonete e Irmão Lorenço; Nádia e Renan; Cleone e Zé Nilton; Pr. Paulo Márcio e Mis. Deuzivânia Santos; Eduardo e Patrícia; Cristine; Surama e tantos mais.

À equipe da Escola de Educação Básica da UFPB: Marlúcia Cabral (Diretora), Prof<sup>a</sup> Sandra (Beatriz – 4º ano/ Tarde), Prof<sup>a</sup> Tereza (Baruc – Infantil IV/ Tarde), Verônica Silva, Ada, Michel (Secretaria), Érica Nóbrega (Nutricionista), Erika Martins (Nutricionista), à equipe da cozinha, e todos os demais funcionários que acolheram minhas crianças nos últimos meses deste trabalho.

A uma amiga, faço um agradecimento à parte. Sem ela, teria sido impossível, pois no início do doutorado era com quem podia contar, quando meu pequeno príncipe precisava de colo, pois só tinha três meses quando submeti o projeto de doutorado. A você, Leidyjane Alves Batista, a quem não posso dizer apenas obrigada. As palavras certas são: “Deus te recompense”.

A todos que contribuíram direta ou indiretamente para a viabilização, desenvolvimento e conclusão desta tese.

**MUITO OBRIGADA!**

## EPÍGRAFE

Deus nunca perde o controle!

“E sabemos que todas as coisas contribuem juntamente para o bem daqueles que amam a Deus, daqueles que são chamados segundo o seu propósito.” Romanos 8:28

## RESUMO

As pimentas do gênero *Capsicum* apresentam como característica sensorial a pungência, decorrente da presença dos capsaicinoides, principalmente da capsaicina. Estas substâncias possuem atividades biológicas dentre as quais a proteção contra processos oxidativos. Embora estas pimentas sejam consumidas no mundo inteiro, poucos trabalhos têm reportado um estudo completo da composição nutricional, dos compostos bioativos e do efeito de extratos de pimentas em óleos comestíveis. Neste contexto, esta pesquisa apresenta a composição nutricional das três pimentas *Capsicum* mais consumidas no Brasil: pimenta malagueta (*C. frutescens*), pimenta de cheiro (*C. chinense*) e pimenta dedo de moça (*C. baccatum*); a composição dos ácidos graxos determinada por Cromatografia Gasosa (CG) usando a transesterificação indireta; o uso da química verde obtendo extratos com solventes de baixa toxicidade, avaliação do potencial antioxidante através da determinação do teor de fenólicos totais pelo método Folin-Ciocalteu; avaliação da eficiência antioxidante empregando os métodos ABTS, FRAP e DPPH; investigação do conteúdo de capsaicinoides através das técnicas espectroscópicas Infravermelho (IV) e Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN <sup>1</sup>H); determinação do efeito da adição dos extratos hidroalcoólicos das pimentas na estabilidade oxidativa do óleo de soja usando o método Rancimat e estudo do comportamento térmico dos extratos por Termogravimetria (TG) no modo não isotérmico. Os resultados obtidos mostraram que o teor de proteína nas pimentas variou de (0,11 ± 0,03 a 1,73 ± 0,06%), o teor de lipídios de (0,39 ± 0,05 a 0,83 ± 0,04%) e de carboidratos de (4,56 ± 0,05 a 9,96 ± 0,05%) g/100 g de amostra. O perfil de ácidos graxos mostrou uma composição semelhante das três pimentas no teor do ácido palmítico (C16:0): 20% em *C. frutescens* e 23% em *C. baccatum* e em *C. chinense*. O ácido graxo linoleico (C18:2) foi majoritário nas três pimentas e apenas *C. chinense* exibiu teor considerável de ômega-3  $\alpha$ -linolênico (14%). A quantificação do teor de fenólicos totais variou de 19,95 ± 0,25 a 38,98 ± 0,46 mg EAG.g<sup>-1</sup> de extrato, com valor mais expressivo para o extrato etanol/água (8:2) da pimenta *C. frutescens*. A avaliação da capacidade antioxidante pelos métodos DPPH e ABTS, mostrou que a água foi o solvente mais efetivo na extração dos antioxidantes, e o valor de EC<sub>50</sub> nos extratos aquosos das três pimentas variou de 57,49 ± 0,51 a 110,66 ± 0,58 e de 34,28 ± 0,51 a 138,63 ± 0,33  $\mu$ g/mL de extrato respectivamente. O melhor resultado nestas análises foi obtido para a pimenta *C. frutescens*. Pelo método FRAP, os extratos com maior capacidade antioxidante foram os obtidos com a mistura etanol/água (80:20) para as três pimentas, com *C. frutescens* e *C. baccatum* não diferindo estatisticamente e exibindo os melhores resultados 175,48 ± 0,77 e 175,70 ± 0,38  $\mu$ M Trolox.g<sup>-1</sup> de extrato respectivamente. As técnicas IV e RMN <sup>1</sup>H exibiram resultados que corroboraram entre si quanto à maior expressão de capsaicina no extrato etanol/água (80:20) da pimenta *C. frutescens*. Os valores dos períodos de indução oxidativa obtidos no método Rancimat mostraram que os extratos etanol/água (80:20) das três pimentas aumentaram a estabilidade do óleo de soja na concentração de 200 mg.kg<sup>-1</sup> e o extrato da pimenta *C. frutescens* foi o mais eficiente. As composições dos extratos com o antioxidante sintético *tert*-Butilhidroquinona (TBHQ) mostraram sinergismo e a composição (100 mg.kg<sup>-1</sup> TBHQ + 100 mg.kg<sup>-1</sup> *C. baccatum*) se mostrou mais efetiva do que o TBHQ na concentração de 200 mg.kg<sup>-1</sup>, a máxima permitida em óleos comestíveis no Brasil. A análise termogravimétrica mostrou que os extratos etanol/água (80:20) apresentaram a primeira etapa de perda de massas em temperaturas próximas a 200 °C, mostraram que não houve volatilização das substâncias presentes nos extratos na temperatura do teste Rancimat.

**Palavras chaves:** Pimentas *Capsicum*, perfil de ácidos graxos, composição nutricional, capsaicinoides, atividade antioxidante, estabilidade oxidativa.

## ABSTRACT

Peppers of the genus *Capsicum* present as a sensorial characteristic the pungency, due to the presence of capsaicinoids, mainly of capsaicin. These substances have biological activities, among them protection against oxidative processes. Although these peppers are consumed worldwide, few studies have reported a complete study of nutritional composition, bioactive compounds and the effect of pepper extracts on edible oils. In this context, this research presents the nutritional composition of the three *Capsicum* peppers most consumed in Brazil: malagueta (*C. frutescens*), cheiro (*C. chinense*) and dedo de moça (*C. baccatum*); the composition of fatty acids determined by Gas Chromatography (GC) using indirect transesterification; the use of green chemistry to obtain extracts with solvents of low toxicity, evaluation of the antioxidant potential through the determination of the total phenolic content by the Folin-Ciocalteu method; evaluation of antioxidant efficiency using the ABTS, FRAP and DPPH methods; investigation of the content of capsaicinoids by spectroscopic techniques Infrared (IV) and Nuclear Magnetic Resonance of Hydrogen ( $^1\text{H}$  NMR); determination of the effect of the addition of the hydroalcoholic extracts of the peppers on the oxidative stability of the soybean oil using the Rancimat method and study of the thermal behavior of the extracts by Thermogravimetry (TG) in non-isothermal mode. Results showed that the protein content in the peppers varied from  $(0.11 \pm 0.03$  to  $1.73 \pm 0.06\%)$ , the lipid content of  $(0.39 \pm 0.05$  to  $0.83 \pm 0.04\%)$  and carbohydrate  $(4.56 \pm 0.05$  to  $9.96 \pm 0.05\%)$  g / 100 g sample. O perfil de ácidos graxos mostrou uma composição semelhante das três pimentas no teor do ácido palmítico (C16:0): 20% em *C. frutescens* e 23% em *C. baccatum* e em *C. chinense*. Linoleic fatty acids (C18: 2) were the majority in the three peppers and only *C. chinense* exhibited considerable omega-3  $\alpha$ -linolenic content (14%). The quantification of the total phenolic content ranged from  $19.95 \pm 0.25$  to  $38.98 \pm 0.46$  mg EAG.g $^{-1}$  extract, with the most significant value for the ethanol / water extract (8: 2) of the pepper *C. frutescens*. The evaluation of the antioxidant capacity by the DPPH and ABTS methods showed that water was the most effective solvent in the extraction of antioxidants, and the EC50 value in the aqueous extracts of the three peppers ranged from  $57.49 \pm 0.51$  to  $110.66 \pm 0.58$  and  $34.28 \pm 0.51$  to  $138.63 \pm 0.33$   $\mu\text{g}$  / mL extract respectively. The best result in these analyzes was obtained for *C. frutescens* pepper. From the FRAP method, the extracts with the highest antioxidant capacity were obtained with the ethanol / water mixture (80:20) for the three peppers, with *C. frutescens* and *C. baccatum* not differing statistically and showing the best results  $175.48 \pm 0$ , 77 and  $175, 70 \pm 0.38$   $\mu\text{M}$  extract Trolox.g $^{-1}$ , respectively. Techniques IV and  $^1\text{H}$  NMR showed results that corroborated each other regarding the higher expression of capsaicin in the ethanol / water (80:20) extract of *C. frutescens* pepper. The values of the oxidative induction periods obtained in the Rancimat method showed that the ethanol / water extracts (80:20) of the three peppers increased the stability of the 200 mg.kg $^{-1}$  soybean oil and the pepper extract *C. frutescens* was the most efficient. The extracts composition with the synthetic antioxidant tert-Butylhydroquinone (TBHQ) showed synergism and the composition (100 mg.kg $^{-1}$  TBHQ + 100 mg.kg $^{-1}$  *C. baccatum*) showed to be more effective than the TBHQ in the concentration of 200 mg.kg $^{-1}$ , the maximum allowed in edible oils in Brazil. The thermogravimetric analysis showed that the ethanol / water extracts (80:20) presented the first step of mass loss at temperatures close to 200 °C, showed that there was no volatilization of the substances present in the extracts at the temperature of the Rancimat test.

**Keywords:** *Capsicum* peppers, fatty acid profile, nutritional composition, capsaicinoids, antioxidant activity, oxidative stability.

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABTS	2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid)
ANOVA	Análise de variância
AOAC	<i>Official Methods of Analysis</i>
AOCS	<i>American Oil Chemists' Society</i>
ATR	Attenuated Total Reflectance
BHA	Butil-hidroxi-anisol
BHT	Butil-hidroxi-tolueno
C23:0	Ácido Tricosanóico
CE <sub>50</sub>	Concentração eficiente para reduzir em 50% a concentração inicial de DPPH radical
CG	Cromatografia Gasosa
CI50	Concentração inibitória, sinônimo de CE <sub>50</sub>
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
CLUE	Cromatografia Líquida de Ultra Eficiência
DNS	Ácido 3,5-dinitrosalicílico
DPPH	Radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazila
DSC	Calorimetria exploratória diferencial
DTA	Análise Térmica Diferencial
DTG	Termogravimetria Derivada
EAG	Equivalente de ácido gálico
EDTA	Etilenodiaminotetracético
EGD	Detecção de gás desprendido
FIA	Flow Injection Analysis
FRAP	Poder Antioxidante de Redução do Ferro
FT	Transformada de Fourier
GP	Galato de propila
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Ácido Sulfúrico
IUPAC	União Internacional de Química Pura e Aplicada
LDL	Lipoproteína de baixa densidade
MeOH	Metanol
MeOH-d <sub>4</sub>	Metanol Deuterado
PI	Período de Indução

RMN <sup>1</sup> H	Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio
SHU	Unidades de Calor Scoville (ou Scoville heat units)
TEAC	Atividade antioxidante equivalente ao Trolox
TBHQ	<i>terc</i> -Butil-hidroquinona
TG	Termogravimetria
TPTZ	2, 4, 6 – Tri (2-piridil) – 1,3,5 - triazina
TROLOX	6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-ácido carboxílico
UAE	Ultrasonic Assisted Extraction

## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – GRUPOS FUNCIONAIS DA MOLÉCULA DE CAPSAICINA: (A) PORÇÃO FENÓLICA; (B) PORÇÃO AMÍDICA E (C) CADEIA LATERAL HIDROFÓBICA .....	26
FIGURA 2 - PIMENTA MALAGUETA ( <i>CAPSICUM FRUTESCENS</i> ) .....	27
FIGURA 3 - PIMENTA DE CHEIRO ( <i>CAPSICUM CHINENSE</i> ) .....	28
FIGURA 4 - PIMENTA DEDO DE MOÇA ( <i>CAPSICUM BACCATUM</i> ) .....	29

## LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - CLASSIFICAÇÃO TAXONÔMICA DO GÊNERO <i>CAPSICUM</i> .....	21
TABELA 2 - ESPÉCIES E VARIEDADES DO GÊNERO <i>CAPSICUM</i> CONFORME O GRAU DE DOMESTICAÇÃO .....	21
TABELA 3 - ESPÉCIES DE PIMENTAS DOMESTICADAS E SEUS NOMES POPULARES .....	22
TABELA 4: ESTRUTURAS QUÍMICAS DOS PRINCIPAIS CAPSAICINOIDES .....	23

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	18
<b>2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA</b> .....	20
2.1 GÊNERO <i>CAPSICUM</i> .....	20
2.1.1 HISTÓRICO.....	20
2.1.2 CLASSIFICAÇÃO DO GÊNERO .....	20
2.1.3 CULTIVO DE PIMENTAS <i>CAPSICUM</i> NO BRASIL .....	22
2.2 CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS DO GÊNERO <i>CAPSICUM</i> .....	23
2.2.1 CAPSAICINOIDES .....	23
2.2.1.1 EXTRAÇÃO, QUANTIFICAÇÃO E IDENTIFICAÇÃO .....	24
2.2.2 CAPSAICINA.....	25
2.5 PIMENTAS <i>CAPSICUM</i> MAIS CONSUMIDAS NO BRASIL .....	26
2.5.1 <i>CAPSICUM FRUTESCENS</i> .....	26
2.5.2 <i>CAPSICUM CHINENSE</i> .....	27
2.5.3 <i>CAPSICUM. BACCATUM</i> .....	29
<b>3 MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	30
3.1 MATERIAL VEGETAL .....	31
3.2 REAGENTES QUÍMICOS E PADRÕES .....	31
3.4 DETERMINAÇÃO DO PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS.....	32
3.5 OBTENÇÃO DOS EXTRATOS HIDROALCOÓLICOS .....	32
3.6 TEOR DE FENÓLICOS TOTAIS .....	33
3.7 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE .....	33
3.7.1 SEQUESTRO DO CÁTION RADICAL 2,2'-AZINOBIS-(3-ETILBENZOTIAZOLINA-6-ÁCIDO SULFÔNICO) – (ABTS).....	33
3.7.3 ATIVIDADE SEQUESTRADORA DO RADICAL 2,2-DIFENIL-1-PICRIL-HIDRAZILA (DPPH). 34	
3.8 IDENTIFICAÇÃO DE CAPSAICINA NOS EXTRATOS .....	34
3.8.1 RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR DE HÍDROGÊNIO .....	34
3.8.3 INFRAVERMELHO .....	34
3.9 PERFIL TÉRMICO DOS EXTRATOS (TG/DTA/DTG) .....	35
3.10 ESTABILIDADE OXIDATIVA PELO MÉTODO RANCIMAT .....	35
3.12 ANÁLISES ESTATÍSTICAS.....	35
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	36
<b>ARTIGO 1</b> COMPOSIÇÃO NUTRICIONAL E AVALIAÇÃO DA EFICIÊNCIA DA QUÍMICA VERDE NA EXTRAÇÃO DOS ANTIOXIDANTES DE PIMENTAS <i>CAPSICUM</i> .....	45
<b>ARTIGO 2</b> EXTRATOS HIDROALCOÓLICOS DE <i>CAPSICUM CHINESE</i> , <i>CAPSICUM FRUTESCENS</i> E <i>CAPSICUM BACCATUM</i> : CONTEUDO DE CAPSAICINOIDES, PERFIL TÉRMICO E AVALIAÇÃO DO EFEITO ANTIOXIDANTE NO ÓLEO DE SOJA .....	63

## 1 INTRODUÇÃO

Pimentas são vegetais amplamente utilizados na culinária mundial. Quando ingeridas dão ao paladar humano a sensação de ardência e/ou queimação apreciada por muitos consumidores.

Dois famílias botânicas apresentam espécies cujos frutos exibem estas características sensoriais: a família *Piperaceae*, gênero *Piper*, com espécies que possuem em sua composição química a substância piperina; e a família *Solanaceae*, representada pelo gênero *Capsicum*, caracterizado por exibir pimentas coloridas, que possuem entre os seus constituintes químicos, os capsaicinoides (ARROWSMITH et al., 2012; ARTÍNEZ et al., 2015).

O gênero *Capsicum* é constituído por cerca de 30 espécies conhecidas. Destas, cinco são domesticadas: *C. annum*, *C. baccatum*, *C. chinense*, *C. frutescens* e *C. pubescens* e as demais são consideradas selvagens (ISLAM et al., 2015). De acordo com dados históricos, o gênero é originário das Antilhas e das Américas do Sul e Central, e durante os grandes descobrimentos marítimos foi disseminado para o continente Europeu e da lá para a Ásia e África. Ao longo da disseminação as espécies foram recebendo várias denominações como pimenta dedo-de-moça, pimenta tabasco, pimentão, piri-piri, entre outros (PERRY et al., 2007; CASTRO et al., 2011; BOSLAND e VOTAVA, 2012).

O Brasil possui uma grande variedade de pimentas *Capsicum*. O cultivo é concentrado no pequeno produtor, o que dificulta o conhecimento da produção total do país. Entretanto, estima-se um valor em torno de 75 mil toneladas por ano e as variedades mais cultivadas são a pimenta malagueta (*C. frutescens*), pimenta dedo de moça (*C. baccatum* var. *pendulo*) e pimenta de cheiro (*C. Chinense*) (PEREIRA et al., 2015).

Em relação ao consumo no Brasil, três pimentas se destacam: a pimenta malagueta, pimenta dedo de moça e a pimenta de cheiro. A pimenta malagueta tem elevado grau de pungência. É nativa da bacia Amazônica brasileira e a mais consumida no Brasil. É usada tanto na culinária quanto na medicina popular (LUÍS et al., 2011; FREIRE et al., 2016). A pimenta de cheiro, por sua vez, é considerada a mais brasileira das pimentas. É uma pimenta de pungência mais suave do que a pimenta malagueta, sendo cultivada principalmente nas regiões Centro-Oeste e Norte (DE VASCONCELOS et al., 2012; TONON, 2012). A pimenta dedo de moça é mais consumida nas regiões Sudeste e Sul. Possui uma pungência intermediária entre as duas pimentas anteriormente mencionadas. É usada de diversas formas. Quando desidratada se transforma em flocos e recebe a denominação de pimenta “calabresa” (CARVALHO et al., 2009; GONZÁLEZ-ZAMORA et al., 2013b).

Flavonoides, ácidos fenólicos, vitaminas, carotenoides e capsaicinoides constituem os principais metabólitos secundários das pimentas do gênero *Capsicum*. Os capsaicinoides são os constituintes químicos responsáveis pela pungência e juntamente com os demais compostos químicos conferem às pimentas potente atividade antioxidante, o que tem atribuído a estas, ações na prevenção de doenças cardiovasculares e de certos tipos de cânceres. A capsaicina e a dihidrocapsaicina são os capsaicinoides mais abundantes nas pimentas. Estima-se que estas duas substâncias representem de 80 a 90% dos capsaicinoides encontrados nas pimentas (CHEN; KANG, 2013; WAHYUNI et al., 2013; MOKHTAR et al., 2016; DE VASCONCELOS et al., 2012; KHAN; AHMAD; AHMAD, 2014; SUN; XIONG; ZHU, 2016).

Capsaicinoides são substâncias insolúveis em água, extraíveis principalmente com solventes de baixa polaridade como hexano, clorofórmio e acetona. Alguns estudos têm reportado o uso de solventes de polaridade elevada como o etanol e a água na extração destas substâncias, apesar da discrepância de polaridade que evidentemente afeta o rendimento do processo de extração. Porém, a segurança no uso destes solventes aliada a economia de custos, constituem um bom argumento mais importante do que os rendimentos mais baixos (SANTOS et al., 2015; DONG et al., 2014; GONZÁLEZ-ZAMORA et al., 2013; MEGHVANSI et al., 2010; HURSEL, 2010).

Neste contexto, este trabalho teve como objetivo utilizar etanol, água e suas combinações na obtenção de extratos de três variedades de pimentas *Capsicum*: pimenta malagueta (*C. frutescens*), pimenta de cheiro (*C. chinense*) e pimenta dedo de moça (*C. baccatum*) e avaliar a eficiência destes solventes de polaridade elevada, mas de baixa toxicidade, na extração dos capsaicinoides objetivando tornar os extratos aplicáveis a óleos comestíveis como aditivos antioxidantes.

## 2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

### 2.1 GÊNERO *CAPSICUM*

#### 2.1.1 Histórico

Os primeiros registros arqueológicos sobre as pimentas do gênero *Capsicum* foram realizados no México e remetem há aproximadamente nove mil anos. De acordo com relatos históricos a cultura destes frutos se dava de forma associada com o cultivo de outras espécies, um tipo muito comum de consórcio dos povos pré-colombianos (BÜTTOW et al., 2010; SANTOS).

A partir do século XVI, houve uma propagação global dos vegetais encontrados nas novas terras, que lotavam os porões dos navios europeus. As pimentas receberam diversos nomes populares, como ardidas, dedo-de-moça, piri-piri, tabasco, jalapeño, pimentão e pimenta-doce. A comercialização e uso destas plantas alcançou o mundo antigo, sendo consideradas as primeiras especiarias americanas a fazer parte de pratos e solos europeus, africanos e asiáticos. (SANTOS; BRACHT; CONCEIÇÃO, 2012).

Apesar da relevância das especiarias orientais, principalmente no que diz respeito ao impacto econômico, as novas espécies americanas, transformaram-se em mercadorias de grande valor econômico, com destaque para as pimentas *Capsicum* (SANTOS; BRACHAT; CONCEIÇÃO, 2013).

Posteriormente houve um aumento acentuado do consumo de pimentas *Capsicum* no mundo inteiro. Vários fatores são responsáveis por isto: a versatilidade em preparações culinárias, a migração de povos com diferentes hábitos alimentares e a necessidade da própria indústria de alimentos em oferecer novos produtos oriundos de fontes naturais. Recentemente estes frutos tem despertado interesse como alimentos funcionais e em diversas áreas da medicina, principalmente no tratamento da dor e no controle da obesidade (SRINIVASAN, 2015; DO RÊGO; FINGER; DO RÊGO, 2016).

#### 2.1.2 Classificação do gênero

O americano Arthur Cronquist ocupou-se da sistemática de plantas. Apresentou uma versão do seu sistema em 1968, depois em 1981, com alterações em 1988. O Sistema de

Cronquist é dividido em duas classes amplas, as plantas mono e dicotiledôneas. As ordens relacionadas estão colocadas em subclasses. O sistema, como descrito em 1981, tem 321 famílias e 64 ordens. A classificação taxonômica do gênero *Capsicum* está exposto na Tabela 1 (BARKLEY, 1996; ROMAN, 2010):

**Tabela 1** - Classificação taxonômica do gênero *Capsicum*

Reino:	<b>Plantae</b>
Divisão:	<b>Spermatophyta</b>
Classe:	<b>Magnoliopsida</b>
Ordem:	<b>Solanales</b>
Família:	<b><i>Solanaceae</i></b>
Gênero:	<b><i>Capsicum</i></b>

Fonte: (BARKLEY, 1996)

A grande diversidade de forma, tamanho e cor dos frutos de *Capsicum*, além da variedade morfológica, motivou o agrupamento em espécie, variedade e cultivar. Além dessas classificações, as pimentas também podem ser agrupadas em complexos de espécies, que reúnem os indivíduos passíveis de cruzamento entre si. Atualmente, existem três complexos com estas características (BOSLAND; VOTAVA, 2012):

1. *C. annuum*, que inclui as espécies *C. annuum*, *C. frutescens* e *C. chinense*;
2. *C. baccatum*, formado apenas pela espécie *C. baccatum* var. *pendulum*;
3. *C. pubescens*, também constituído de somente uma espécie, *C. pubescens*.

Com relação à condição de cultivo, a classificação do gênero é feita em espécies domesticadas e semidomesticadas, Tabela 2 (QIN et al., 2014; PATEL et al., 2016).

**Tabela 2** - Espécies e variedades do gênero *Capsicum* conforme o grau de domesticação

<b>Espécies domesticadas</b>	<b>Espécies semidomesticadas</b>
<i>C. annuum</i> L. var. <i>annuum</i>	<i>C. annuum</i> var. <i>glabriusculum</i> (Dunal) Eshbaugh & Smith
<i>C. baccatum</i> var. <i>pendulum</i> (Wild) Eshbaugh	<i>C. baccatum</i> L. var. <i>baccatum</i>
<i>C. chinense</i> Jacquin	<i>C. baccatum</i> L. var. <i>praetermissum</i> (Heiser & Smith) Hunziker
<i>C. frutescens</i> L.	<i>C. chinense</i> Jacquin
	<i>C. frutescens</i> L.
	<i>C. cardenasii</i> Heiser & Smith
	<i>C. chacoense</i> Hunziker
	<i>C. eximium</i> Hunziker
	<i>C. tovari</i> Eshbaugh, Smith & Nickrent

Fonte: Adaptado de (AGRONOMIA et al., 2011; AGUIAR, 2015)

A denominação silvestre para as pimentas *Capsicum* se deve ao fato de que muitas apresentam mecanismo de dormência de suas sementes, como é o caso da pimenta cumari (*C. baccatum* var. *praetermissum*). Essa dormência é endógena, resultado de fitormônios que inibem sua germinação. Por outro lado as espécies domesticadas não apresentam esta dormência (TEWKSBURY, NABHAN, 2001; BARCHENGER; BOSLAND, 2016). A Tabela 3 apresenta as principais espécies domesticadas e de uso popular (TONON, 2012).

**Tabela 3** - Espécies de pimentas domesticadas e seus nomes populares

<b>Espécies domesticadas</b>	<b>Nomes populares</b>
<i>C. annuum</i>	Pimentão, Cayenne, Culiacan, Serrano, Guajillo
<i>C. frutescens</i>	Malagueta, Tabasco
<i>C. chinense</i>	Pimenta de Cheiro, Bhut Jolokia, Trinidad Moruga Scorpion, Habanero, Murupi
<i>C. baccatum</i> var. <i>pendulum</i>	Pimenta-dedo-de-moça, Cumari
<i>C. pubescens</i>	Rocoto

Fonte: Adaptado de (TONON, 2012)

### 2.1.3 Cultivo de pimentas *Capsicum* no Brasil

No Brasil, as pimentas *Capsicum* são cultivadas desde o Rio Grande do Sul até o Estado de Roraima. Goiás, São Paulo, Minas Gerais, Ceará e Rio Grande do Sul são os principais produtores. O cultivo segue o modelo de agricultura familiar e de integração pequeno agricultor-agroindústria. Os dados sobre a produção e comercialização de pimentas são escassos e as informações disponíveis não expressam a realidade do comércio desses frutos, visto que grande parte da produção é comercializada em mercados regionais e locais que não fazem parte das estatísticas (CARVALHO et al., 2014; JÚNIOR et al., 2015; PAULUS et al., 2015).

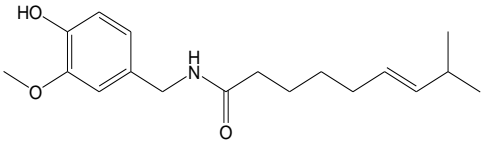
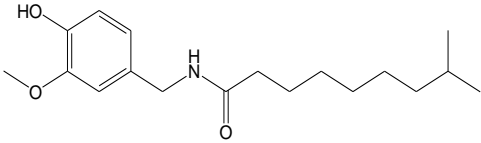
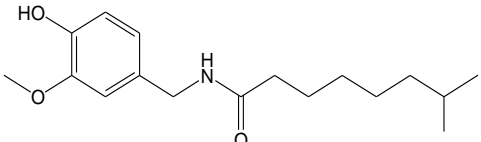
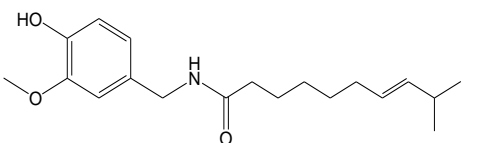
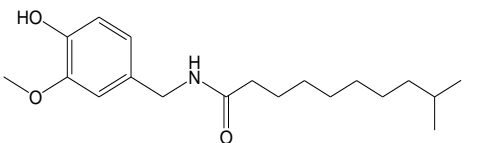
Dados da Food and Agriculture Organization posicionam as exportações das pimentas *Capsicum* entre as especiarias mais comercializadas no mundo. No Brasil, entre os anos de 2010 e 2014 a produção destes frutos responderam por aproximadamente 3.500 toneladas anuais. Em relação ao consumo mundial destas pimentas, as informações supõem 1,11 (g per capita/ dia) no mesmo período (FAO et al., 2017).

## 2.2 CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS DO GÊNERO *CAPSICUM*

### 2.2.1 Capsaicinoides

Os capsaicinoides são alcaloides e os principais representantes deste grupo de metabólitos secundários são a capsaicina e a dihidrocapsaicina, que respondem por mais de 90% da pungência das pimentas. Na Tabela 4 estão apresentadas as estruturas químicas dos principais capsaicinoides (ROLLYSON et al., 2014; ISLAM et al., 2015).

**Tabela 4:** Estruturas químicas dos principais capsaicinoides

Capsaicinoides	Estrutura química
<p><b>Capsaicina</b> (<i>trans</i> 8-metil-N-navinila-6-nonenamida) <math>C_{18}H_{27}NO_3</math></p>	
<p><b>Dihidrocapsaicina</b> (8-metil-N-navinila-nonenamida) <math>C_{18}H_{29}NO_3</math></p>	
<p><b>Nordihidrocapsaicina</b> (7-metil-N-navinila-octamida) <math>C_{17}H_{27}NO_3</math></p>	
<p><b>Homocapsaicina</b> (<i>trans</i> 9-metil-N-navinila-7-decanamida) <math>C_{19}H_{29}NO_3</math></p>	
<p><b>Homodihidrocapsaicina</b> (9-metil-N-navinila-decanamida) <math>C_{19}H_{27}NO_3</math></p>	

Fonte: Adaptado de (LU; HO; HUANG, 2016)

Estruturalmente os capsaicinoides são amidas formadas pela condensação da vanililamina e uma porção da cadeia lateral dos ácidos graxos. As diferenças estruturais entre

os capsaicinoides são definidas pela natureza desta cadeia lateral, que varia de 9 a 11 carbonos com um número de ligações duplas variável em diferentes posição ao longo da cadeia. A concentração dos capsaicinoides nas pimentas depende do genótipo, da maturidade dos frutos e das condições de cultivo (MARIA DE LOURDES REYES-ESCOGIDO; GONZALEZ-MONDRAGON; VAZQUEZ-TZOMPANTZI, 2011; GONZÁLEZ-ZAMORA et al., 2013; CAPORASO et al., 2013).

#### 2.2.1.1 *Extração, quantificação e identificação*

Nas últimas décadas foram desenvolvidos vários métodos de extração de capsaicinoides. A extração por solvente tem sido o método mais empregado e os principais solventes utilizados tem sido metanol, acetonitrila, clorofórmio, hexano, acetato de etila, acetona e etanol (COSTA et al., 2010; TIAN et al., 2013; LETTERS, 2015; LU; HO; HUANG, 2016; BĂBEANU, 2016).

De acordo com a literatura os meios de extração mais utilizados são a maceração, agitação magnética, extração enzimática, micro-ondas, extração auxiliada por ultrassom, Soxhlet, fluido supercrítico e extração por líquidos pressurizados. Destacam-se a extração assistida por ultrassom (UAE) e a extração por fluido supercrítico (SFE) como sendo as mais eficientes e limpas. Embora o SFE utilize um solvente limpo e não tóxico, sua aplicabilidade na indústria é dificultada pelo uso de aparelhos complexos e caros e pelo baixo rendimento. A extração usando ultrassom em conjunto com o Soxhlet tem se mostrado bastante eficiente, pois a etapa de sonicação provoca o rompimento das paredes celulares dos materiais vegetais, aumento o contato do solvente com o material facilitando o processo de extração (CHANTAI et al., 2012; SANTOS et al., 2013; BARBERO et al., 2015). A temperatura, tempo de extração, volume de solvente, e a quantidade de amostra também interfere na eficiência da extração (LETTERS, 2015; BĂBEANU, 2016)

As técnicas mais utilizadas para identificar capsaicinoides são cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) e cromatografia gasosa (CG). A cromatografia líquida de alta eficiência com detecção ultravioleta (UV) também pode ser utilizada; contudo, devido à complexidade da matriz e semelhança estrutural entre os capsaicinoides, não é uma técnica aplicável. Para tornar a determinação dos capsaicinoides mais adequada, utiliza-se cromatografia líquida ou gasosa acoplada a técnicas mais seletivas tais como a espectrometria de massa (HA et al., 2010; ABDULLAH et al., 2011; CHANTAI et al., 2012; SGANZERLA et al., 2014).

A cromatografia líquida de ultra eficiência (CLUE) é conhecida por ser limpa para o meio ambiente. A análise é rápida e o consumo de solvente da fase móvel é menor do que na CLAE convencional. Recentemente, o método CLUE acoplado à espectrometria de massa foi adotado em muitas áreas de alimentos, por ser uma técnica mais rápida, de resolução aprimorada e de maior sensibilidade (HA et al., 2010; BAE et al., 2012b; HUANG; LIU; CHEN, 2014).

Estas técnicas, embora eficientes, são onerosas e laboriosas, além de destruírem as amostras analisadas. As técnicas espectroscópicas, por outro lado, são rápidas, não requerem etapas laboriosas de preparação das amostras, utilizam pequenas quantidades de amostras e consomem baixa quantidade de solventes, com respostas aceitáveis quando comparadas às técnicas cromatográficas (DOMÍNGUEZ-MARTÍNEZ et al., 2014; LIM et al., 2015). As técnicas espectroscópicas mais usadas são as espectroscopias na região do ultravioleta (UV-visível), na região do infravermelho (IV) e a espectroscopia de ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN  $^1\text{H}$ ) e de carbono-13 (RMN  $^{13}\text{C}$ ) (SGANZERLA et al., 2014) MEZA-MÁRQUEZ; GALLARDO-VELÁZQUEZ; OSORIO-REVILLA, 2010; DOMÍNGUEZ-MARTÍNEZ et al., 2014; KUMAR; CUMBAL, 2016; QUIÑONES-ISLAS et al., 2013).

Na última década a RMN  $^1\text{H}$  tem se mostrado uma técnica bastante eficiente no estudo da qualidade de alimentos, seja na quantificação de certos metabólitos, ou seja, na identificação e na investigação destes. Trata-se de uma técnica rápida e simples, capaz de fornecer resultados confiáveis, reprodutíveis e que permitem a contraprova (NAZARI et al., 2007). Tem sido pouco usada na investigação de capsaicínides nas pimentas, porém tem sido amplamente utilizada em estudos com outros vegetais (EDMOND; ORTER, 2003) (PAULI; JAKI; LANKIN, 2012).

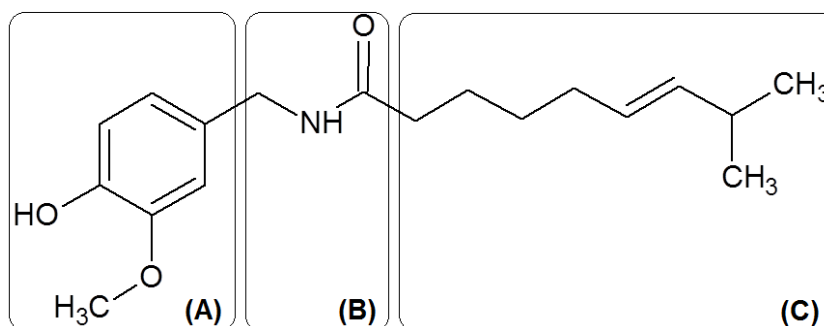
### 2.2.2 Capsaicina

A capsaicina recebeu esta denominação em 1876 por Tresh. Sua estrutura molecular foi determinada em 1919 por Nelson e Dawson, quando isolada da oleorresina de um fruto do gênero *Capsicum* (GOMES; FREITAS, 2014).

A figura 1 apresenta a estrutura química da capsaicina (*trans*-8-metil-N-vanilil-6-nonenamida) dividida em três regiões de acordo com seus grupos funcionais: (A) que corresponde à função fenólica, (B) a porção amídica e (C) que representa a cadeia lateral hidrofóbica. A função antioxidante está indicada pela porção A, a característica de pungência pela porção B e a interação com os receptores vanilídeos pela porção C (MARIA DE

LOURDES REYES-ESCOGIDO; GONZALEZ-MONDRAGON; VAZQUEZ-TZOMPANTZI, 2011).

**Figura 1** – Grupos funcionais da molécula de capsaicina: (A) porção fenólica; (B) porção amídica e (C) cadeia lateral hidrofóbica



Fonte: Adaptado de (MARIA DE LOURDES REYES-ESCOGIDO; GONZALEZ-MONDRAGON; VAZQUEZ-TZOMPANTZI, 2011)

As diferentes partes estruturais da molécula da capsaicina dão característica anfífilica à substância. Quanto a caracterização física, trata-se de um sólido incolor, inodoro e cristalino, com ponto de fusão de 62-65 °C e massa molar de 305,4 g/mol (MARIA DE LOURDES REYES-ESCOGIDO; GONZALEZ-MONDRAGON; VAZQUEZ-TZOMPANTZI, 2011; NEILL et al., 2012; CHUNG; CAMPBELL, 2016).

## 2.5 PIMENTAS *CAPSICUM* MAIS CONSUMIDAS NO BRASIL

No Brasil, entre as pimentas *Capsicum* mais consumidas estão as espécies *C. frutescens*, *C. chinense* e *C. baccatum* e suas variedades.

### 2.5.1 *Capsicum frutescens*

*C. frutescens* é originária da bacia Amazônica brasileira. Trata-se de pimentas picantes, com frutos pequenos, medindo de 1,5 a 3 cm (Figura 2), de formato alongado e de coloração vermelha quando maduros. É a pimenta mais conhecida e consumida no Brasil. Apresentam cruzamentos com as espécies *C. annuum*, *C. baccatum* e *C. chinense*. (TONON, 2012).

A pimenta malagueta é uma *C. frutescens* bastante conhecida em todo o Brasil. Na crença popular, a pimenta malagueta é conhecida como a única que ‘não faz mal pra saúde’ ou ‘não faz mal pra ninguém’. Muito usada na medicina popular como estimulante do apetite, e antipirética. Na culinária, costuma ser usada para o preparo de molhos e conservas e em uma infinidade de pratos (LUÍS et al., 2011; FREIRE et al., 2016).

**Figura 2** - Pimenta Malagueta (*Capsicum frutescens*)



Fonte: Autoria própria

Várias pesquisas têm sido desenvolvidas com *C. frutescens* visando o aprimoramento genético, com frutos com melhores qualidades de fitonutrientes e mais atraentes. É a pimenta mais utilizada em molhos e conservas (ORNELAS-PAZ et al., 2010; CARVALHO et al., 2013; REBOUÇAS; VALVERDE; TEIXEIRA, 2013; SANTOS et al., 2013; CHUICHULCHERM et al., 2013; LOIZZO et al., 2013; PAULO; SILVA; MARTÍNEZ, 2014; SANTOS et al., 2015; FREIRE et al., 2016).

### 2.5.2 *Capsicum chinense*

A *Capsicum chinense* é a mais brasileira das espécies domesticadas e caracteriza-se pelo aroma acentuado dos seus frutos (Figura 3). São conhecidas como pimenta de Cheiro, Pimenta de Bode, Cumari do Pará, Murupi, Habanero e Biquinho (DE VASCONCELOS et al., 2012).

**Figura 3** - Pimenta de Cheiro (*Capsicum chinense*)



Fonte: Autoria própria

Esta espécie apresenta frutos com uma expressiva variedade de tamanho, forma e cor. O que implica em uma ampla variabilidade genética para a espécie em questão. Destacam-se os frutos de tom amarelo-leitoso, amarelo-claro, amarelo-forte, alaranjado, salmão, vermelho e até preto. Os centros de diversidades concentram-se na bacia Amazônica (TONON, 2012).

Apreciada principalmente nas regiões Centro Oeste e Norte do país, como tempero de arroz, saladas e peixes, especialmente por seu aroma forte e característico com pungência ausente ou suave, apesar da existência de frutos com pungência alta, a exemplo da pimenta 'Habanero', muito popular no México e da pimenta Bhut Jolokia, considerada a pimenta *Capsicum* mais picante do mundo, obtida por cruzamentos e originária da Índia (BORGES-GÓMEZ et al., 2010; DOMENICO; COUTINHO; GODOY, 2012).

Na região Centro-Oeste, é mais comum o cultivo da pimenta 'Bode', que tem frutos arredondados de cor amarela ou vermelha quando maduros, e da 'Cumari do Pará', que possui frutos ovalados de coloração amarela quando maduros. Ambas possuem pungência e aroma característicos que as distinguem das demais. A pimenta 'Murupi', cultivada nos estados do Amazonas e Pará, possui coloração amarela e o aroma das pimentas 'De Cheiro' e 'Bode' (TONON, 2012). Esta pimenta estimula pesquisas que favorecem o conhecimento da diversidade dos frutos, no que se refere às características odoríferas, propriedade que dar destaque à espécie (CHINN; SHARMA-SHIVAPPA; COTTER, 2010; BUTCHER et al., 2012; GIUFFRIDA et al., 2013; LILLYWHITE; SIMONSEN; UCHANSKI, 2013; DE AGUIAR et al., 2014; SGANZERLA et al., 2014; ANANTHAN; SUBHASH; LONGVAH, 2016).

### 2.5.3 *Capsicum. baccatum*

A espécie *C. baccatum* é nativa dos Andes (Peru e Bolívia), conhecida como “aji” em alguns países da América do Sul. É bastante cultivada em todo o continente sul americano, mas também é encontrada nos Estados Unidos, Índia e Costa Rica. Cruzam esporadicamente com *C. annuum*, *C. chinense* e *C. frutescens* (TONON, 2012).

São plantas arbustivas, com cerca de 1 m de altura, os frutos são alongados, de uma coloração vermelha expressiva quando maduros, podendo alcançar de 8 a 10 cm de comprimento (Figura 4), cuja pungência varia de suave a mediana (CARVALHO et al., 2009).

**Figura 4** - Pimenta Dedo de Moça (*Capsicum baccatum*)



Fonte: Autoria própria

Recebe denominações diferentes conforme a região: Dedo de Moça, “Chifre de Veado” variedades que apresenta frutos grandes. Também é chamada de pimenta “Vermelha” ou “Calabresa”, quando desidratada e usada na forma de flocos. É uma das mais consumidas no Brasil, principalmente nos estados do Rio Grande do Sul, São Paulo e Goiás (CARVALHO et al., 2009; GONZÁLEZ-ZAMORA et al., 2013b).

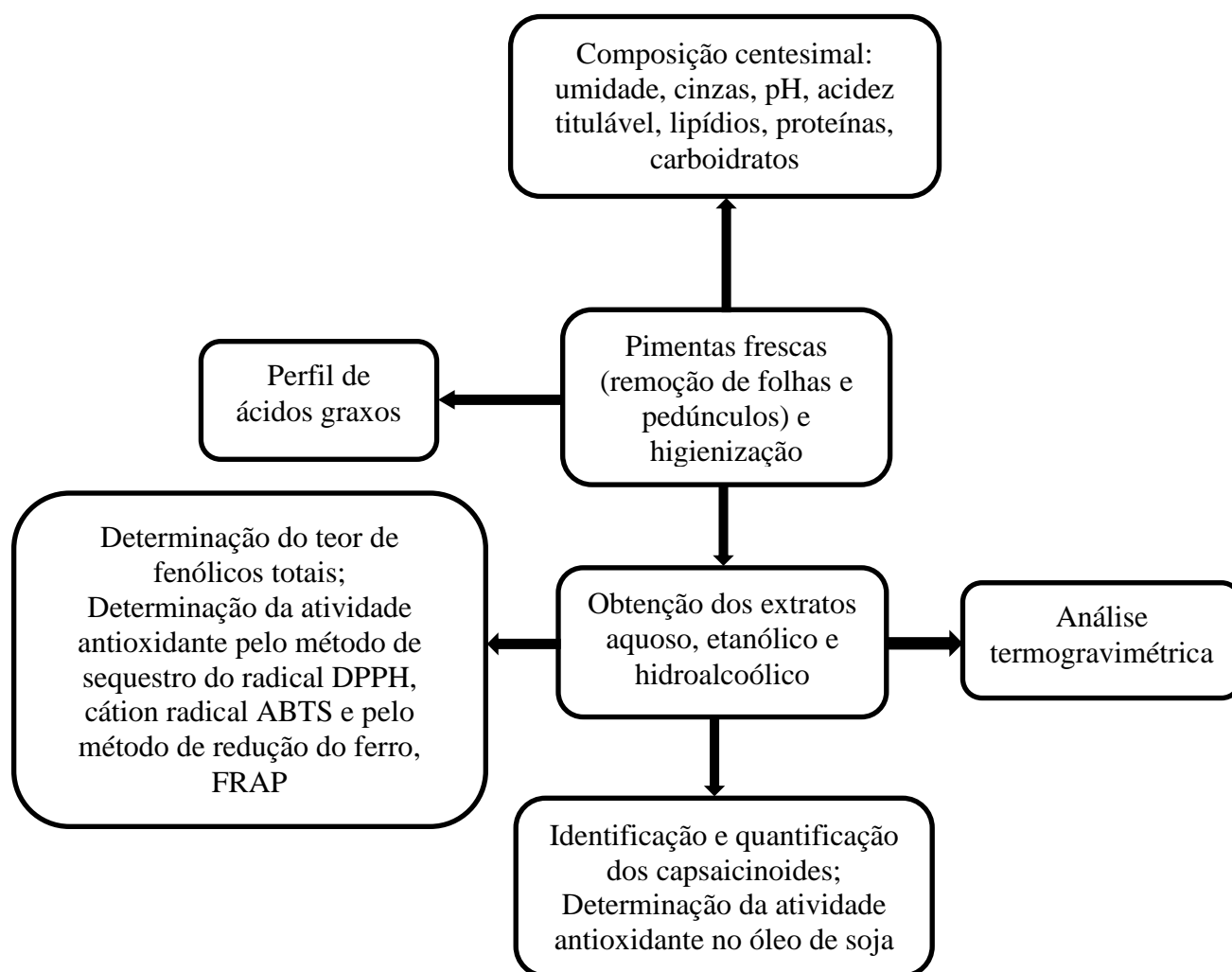
*C. baccatum* é utilizada de diversas maneiras: *in natura*, na forma de molhos, conservas, geleias, desidratadas e consumidas em flocos. Seu destaque está na sua pungência mediana, que atrai consumidores não tão adeptos de pimentas mais fortes (SORA et al., 2015; JORGE; VERONEZI; PEREIRA, 2016; DO RÊGO; FINGER; DO RÊGO, 2016).

### 3 MATERIAIS E MÉTODOS

Os procedimentos e ensaios deste estudo foram realizados no Campus I da Universidade Federal da Paraíba, nos seguintes laboratórios: Laboratório de Combustíveis e Materiais (LACOM), Laboratório de Ambientes Recifais e Biotecnologia com Microalgas (LARBIM), Laboratório de Compostos de Coordenação e Química de Superfície (LCCQS) e no Núcleo de Caracterização e Análise da Universidade Federal da Paraíba (NUCAL). O perfil de ácidos graxos por Cromatografia Gasosa foi realizada no Laboratoire des Sciences de l'Environnement Marin (LEMAR), Technopole Brest Iroise, Plouzané, France.

O Fluxograma 1, apresenta as etapas do trabalho.

**Fluxograma 1** – Etapas de realização dos procedimentos e análises



### 3.1 MATERIAL VEGETAL

As pimentas Malagueta, de Cheiro e Dedo de Moça foram adquiridas em feiras livres na cidade de João Pessoa-Paraíba, Brasil.

Inicialmente, foram selecionados e escolhidos apenas os frutos maduros para o estudo. Foram removidos folhas e pedúnculos e feita a higienização com água corrente. Os frutos limpos foram acondicionados em sacos plásticos e armazenados em refrigerador para as etapas seguintes, 3 Kg de cada pimenta ao final do processo.

### 3.2 REAGENTES QUÍMICOS E PADRÕES

Os padrões de capsaicina, ácido gálico, radical 2,2 difenil-1-picril-hidrazila (DPPH), ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico (TROLOX), 2,4,6-Tris (2-piridil)-s-triazina (TPTZ), o antioxidante sintético *terc*-butil hidroquinona (TBHQ) e o solvente metanol deuterado foram obtidos da Sigma-Aldrich (Sigma Co., USA). O reagente Folin-Ciocalteu foi adquirido da Merck. E os demais solventes usados neste trabalho foram obtidos da F. MAIA. Todos os produtos químicos e solventes utilizados neste estudo foram de grau analítico, de acordo com seus fornecedores.

### 3.3 COMPOSIÇÃO CENTESIMAL

Os frutos *Capsicum* selecionados e tratados na etapa anterior foram triturados em liquidificador doméstico a 3550 rpm de rotação, em temperatura ambiente, durante 3 min. O material resultante de cada pimenta foi utilizado para as análises de composição centesimal.

As análises de umidade, cinzas, pH e acidez titulável foram determinados pelo método oficial de análises, normatizado pela AOAC (2012). O teor de lipídios foi determinado pelo método de extração a frio de acordo com metodologia de BLIGH & DYER (1959) com pequenas modificações. A quantificação das proteínas foi determinada de acordo com LOWRY et al. (1951). E a quantificação dos hidratos de carbono foi realizada em açúcares solúveis total e redutor pelo método DNS ou Método do Ácido Dinitrossalicílico (MILLER, 1959).

### 3.4 DETERMINAÇÃO DO PERFIL DE ÁCIDOS GRAXOS

O material vegetal utilizado neste procedimento foi submetido a um prévio tratamento que consistiu na trituração das pimentas *in natura*, seguida da secagem completa em estufa com circulação de ar forçada a 40 °C. Após secas as pimentas foram maceradas até a formação de pó e o material utilizado para a determinação da composição de ácidos graxos em Cromatografia Gasosa (CG) usando a transesterificação direta seguindo a metodologia de HARTMAN & LAGO adaptado à micro escala conforme descrito por (MENEZES et al., 2015). Uma quantidade de 20 mg do pó de cada pimenta foi colocadas em tubos de ensaios, seguido da adição de 23 µg do padrão de ácido tricosanoico (C23:0) e 800 µL de ácido sulfúrico mais metanol (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>-MeOH) a 4% (v/v). A adição destas soluções se deu em atmosfera inerte. A mistura reacional foi posta em banho-maria por 10 min a 100 °C e em seguida posta em repouso, até alcançar a temperatura de 25 °C. Foram adicionados 800 µL de n-hexano grau analítico seguido de centrifugação. Recolhida a fase orgânica e analisada em um cromatógrafo gasoso (COSTA et al., 2015; DUDOGNON et al., 2014; SOUDANT et al., 1995).

A identificação e quantificação dos ésteres de ácidos graxos foram realizadas por normalização das áreas dos ésteres metílicos, expressos em percentual de área (AUED-PIMENTEL et al., 2005; HARTMAN; LAGO, 1973).

### 3.5 OBTENÇÃO DOS EXTRATOS HIDROALCOÓLICOS

Para a obtenção dos extratos, foram utilizadas 10 de cada pimenta na forma de pó, obtidas em tratamento semelhante ao do item 3.4; e 100 mL dos solventes água, etanol e suas combinações binárias nas proporções etanol/água 0:100, 20:80, 50:50 e 80:20, 100:0 no total de cinco extratos para cada pimenta. As extrações foram feitas por agitação da mistura extrato/solvente em uma mesa agitadora modelo TE-420 Incubadora a 200 rpm a 40 °C em um tempo de agitação de 60 min. Após filtração para a remoção do material vegetal, o solvente residual foi removido em rotaevaporador à pressão reduzida. Os traços de solventes foram removidos pela exposição dos extratos em estufa de circulação de ar forçado a 40 °C. Após este tratamento, os extratos secos foram pesados e acondicionados em recipientes de vidro âmbar, armazenados em refrigerador até o momento das análises.

### 3.6 TEOR DE FENÓLICOS TOTAIS

O teor de fenólicos totais foi determinado pelo método colorimétrico Folin-Ciocalteu com pequenas modificações (ROSSI; SINGLETON, 1965). Inicialmente uma alíquota de 30  $\mu\text{L}$  de cada extrato foi transferida para um tubo de ensaio, adicionado 60  $\mu\text{L}$  do reagente Folin-Ciocalteu e 2640  $\mu\text{L}$  de água destilada. A mistura foi agitada durante 1 min. Em seguida, 180  $\mu\text{L}$  de uma solução de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  a 15% foram adicionados à mistura e agitados por 30 segundos, resultando na concentração final de 100  $\mu\text{g. mL}^{-1}$ . Após repousar por 2 h na ausência da luz, a absorbância das amostras foi lida em um espectrofotômetro UV-vis da Shimadzu, modelo UV-2550 a 760 nm. O teor de fenólicos totais foi determinado por interpolação da absorbância das amostras contra uma curva de calibração construída com padrões de ácido gálico (1 a 15  $\mu\text{g. mL}^{-1}$  em etanol) e expressos como miligramas equivalente do ácido gálico por grama dos extratos.

### 3.7 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

#### 3.7.1 Sequestro do cátion radical 2,2'-azinobis-(3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico) – (ABTS)

A determinação da AAT pela captura de radicais ABTS foi realizada a partir da reação de uma solução reserva de ABTS e uma solução de persulfato de potássio que foi mantida no escuro durante 16 horas. Esta mistura foi diluída com álcool etílico até alcançar uma absorbância de  $0,70 \pm 0,05$  nm a 734 nm. Misturou-se uma alíquota de 30  $\mu\text{L}$  de cada amostra com 3 mL de ABTS e manteve-se no escuro durante 6 minutos. A absorbância foi medida a 734 nm. Utilizou-se uma solução de Trolox como padrão (0,025g de Trolox em álcool etílico). A atividade antioxidante foi expressa em  $\mu\text{M}$  Trolox/100 g da amostra (SÁNCHEZ-MORENO; LARRAURI; SAURA-CALIXTO, 1998).

#### 3.7.2 Capacidade antioxidante pelo método de redução do ferro (FRAP)

O poder de redução do ferro pelos extratos foi determinado de acordo com o método proposto por BENZIE; STRAIN (1996). Primeiro, transferiu-se 90  $\mu\text{L}$  da amostra para tubos de ensaio e adicionou-se 270  $\mu\text{L}$  de água destilada e 2,7 mL de reagente FRAP (combinação de 25 mL de tampão acetato 0,3 M; 2,5 mL de uma solução de TPTZ 10 mM e

2,5 mL de uma solução aquosa de cloreto férrico 20 mM). Esta mistura foi mantida em banho-maria durante 30 minutos a 37°C e a absorbância foi medida a 595nm. Os resultados foram expressos como  $\mu\text{M}$  Trolox/mg.

### 3.7.3 Atividade sequestradora do radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazila (DPPH)

O radical DPPH• foi quantificado pelo método proposto por Brand-Williams et al., com algumas modificações. Este método baseia-se na captura do DPPH• pelos antioxidantes presentes na amostra, que resulta em um decréscimo da absorbância a 515 nm (BRAND-WILLIAMS; CUVELIER; BERSET, 1995). Alíquotas de 0,3 mL da solução dos extratos mais 2,7 mL da solução estoque de DPPH. (Solução estoque: 2,4mg de DPPH foi dissolvido em metanol e o volume completado com metanol para 100 mL em um balão volumétrico). Foram incubados em temperatura ambiente, em local escuro por 30 minutos e a absorbância mensurada a 515 nm. Os resultados foram expressos em % AAT (atividade antioxidante total). Foi preparada uma curva padrão com solução de Trolox em diferentes concentrações. Os resultados foram expressos em % moles / g amostra em base seca.

## 3.8 IDENTIFICAÇÃO DE CAPSAICINA NOS EXTRATOS

### 3.8.1 Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio

Para a análise de investigação de capsaicina nos extratos das pimentas, foram utilizadas 20 g de cada extrato dissolvidos em 0,5 mL de metanol deuterado (MeOH-d<sub>4</sub>). Os espectros de RMN <sup>1</sup>H foram registados a 499,58 MHz em MeOH-d<sub>6</sub>. As análises de RMN <sup>1</sup>H foi realizadas em um espectrômetro Varian DRX-500. Foram feitas 8 repetições de varreduras e o tempo de aquisição foi 2,05 segundos. Para critérios de comparação utilizou-se o espectro de RMN <sup>1</sup>H da capsaicina pura, obtida nas mesmas condições experimentais, porém utilizando 5 mg da mesma.

### 3.8.3 Infravermelho

Os espectros de absorção na região do infravermelho (IV) foram obtidos em um espectrofotômetro de infravermelho por transformada de Fourier, modelo FTIR Prestige-21,

marca Shimadzu, onde as amostras foram analisadas pelo método de ATR (Attenuated Total Reflectance) com varredura na região de 600 a 4000  $\text{cm}^{-1}$ .

### 3.9 PERFIL TÉRMICO DOS EXTRATOS (TG/DTA/DTG)

As curvas termogravimétricas dos extratos foram obtidas em um analisador térmico simultâneo TG-DTA Shimadzu, modelo DTG-60H, utilizando atmosfera de ar sintético com fluxo de 50  $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ , na razão de aquecimento de 10  $^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ . Foram utilizadas aproximadamente 10 mg das amostras em cadinhos de alumina, e a faixa de temperatura variou de 25 – 1000  $^{\circ}\text{C}$ , para os testes não isotérmicos. As análises usando a condição isotérmica seguiram as mesmas condições de atmosfera e quantidade de amostra. A taxa de aquecimento foi de 10  $^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$  até o sistema atingir 100  $^{\circ}\text{C}$ , seguindo taxa de 2  $^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$  até atingir 110  $^{\circ}\text{C}$ , temperatura de análise isotérmica.

### 3.10 ESTABILIDADE OXIDATIVA PELO MÉTODO RANCIMAT

A estabilidade oxidativa das amostras de óleo de soja aditivadas com os extratos das pimentas foi determinada em um equipamento 873 Biodiesel Rancimat, da Metrohm. As análises foram feitas conforme metodologia da AOCS Cd 12b-92 (AOCS PRESS, 2009), utilizando 2 g de amostra, temperatura de 110  $^{\circ}\text{C}$  e fluxo de ar 10  $\text{L}\cdot\text{h}^{-1}$ . Os resultados foram expressos como período de indução (PI) em horas, determinado a partir do ponto de inflexão da curva de condutividade da água *versus* tempo, registrada pelo software do equipamento.

### 3.12 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Os resultados foram expressos na forma de média  $\pm$  desvio padrão, utilizando-se análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey para identificar diferenças significativas entre as médias ( $p \leq 0,05$ ). Todas as análises foram realizadas em triplicata ( $n = 3$ ). Os dados foram tratados no Programa ACTION 2.4 (2012).

## REFERÊNCIAS

- ABDULLAH, Z. et al. Determination of Capsaicin and Dihydrocapsaicin in Capsicum Fruit Samples using High Performance Liquid Chromatography. p. 8919–8929, 2011.
- ACTION. Versão 2.4. Licença Pública geral. São Carlos. **ESTATCAMP**, v. Versão 2.4, 2012.
- AGRONOMIA, P. D. E. P. E. M. et al. CAMPUS JATAÍ Capsicum chinense Jacq . COLETADOS NO SUDOESTE CAMPUS JATAÍ PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA Capsicum chinense Jacq . COLETADOS NO SUDOESTE. 2011.
- AGUIAR, A. C. DE. VALORIZAÇÃO DE PIMENTAS Capsicum NATIVAS DO BRASIL COM USO DE TECNOLOGIA. **UNICAMP, Tese**, v. 1, p. 161, 2015.
- ANANTHAN, R.; SUBHASH, K.; LONGVAH, T. Capsaicinoids, amino acid and fatty acid profiles in different fruit components of the world hottest Naga king chilli (Capsicum chinense Jacq). **Food Chemistry**, v. 2013, 2016.
- ANASTAS, P. T.; WARNER, J. C. Green Chemistry: Theory and Practice. **Oxford University Press, New York**, 1998.
- AOAC. Official methods and recommended practices of the American Oil Chemists" Society. p. 1b–89, 2009.
- AOAC. Official Methods of analysis of AOAC International. **Washington, DC.: AOAC International**, v. 19. ed., 2012.
- AOCS PRESS. Official Methods and Recommended Practices os the American Oil Chemists' Society: Fats, Oils and Lipid Related Analytical Methods. v. Champaign, n. 6ed., 2009.
- ARROWSMITH, S. et al. Research Article: Effects of salt stress on capsaicin content, growth, and fluorescence in a Jalapeño cultivar of Capsicum annuum (Solanaceae). 2012.
- ARTÍNEZ, C. A. M. et al. A L A T E C RETACEOUS P I P E R ( P I P E R A C E A E ) F R O M C O L O M B I A A N D D I V E R S I F I C A T I O N P A T T E R N S F O R T H E G E N U S 1. v. 102, p. 273–289, 2015.
- AUED-PIMENTEL, S. et al. Saturated fatty acids in foodstuffs: comparison of procedures in gas chromatographic analysis. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v. 64, n. 2, p. 167–172, 2005.
- BĂBEANU, N. EXTRACTION AND ANALYTICAL METHODS OF CAPSAICINOIDS - A REVIEW. v. XX, 2016.
- BAE, H. et al. Variation of antioxidant activity and the levels of bioactive compounds in lipophilic and hydrophilic extracts from hot pepper ( Capsicum spp .) cultivars. **Food Chemistry**, v. 134, n. 4, p. 1912–1918, 2012a.

- BAE, H. et al. Extraction efficiency and validation of an HPLC method for flavonoid analysis in peppers. **Food Chemistry**, v. 130, n. 3, p. 751–758, 2012b.
- BARBERO, G. F. et al. Capsaicinoid contents in peppers and pepper-related spicy foods. **International Journal of Food Properties**, v. April, p. 37–41, 2015.
- BARCHENGER, D. W.; BOSLAND, P. W. Scientia Horticulturae Exogenous applications of capsaicin inhibits seed germination of *Capsicum annuum*. **Scientia Horticulturae**, v. 203, p. 29–31, 2016.
- BARKLEY, T. M. On the contribution of Arthur Cronquist to botanical science at The New York Botanical Garden. v. 48, n. 3, p. 372–375, 1996.
- BENNETT, D. J.; KIRBY, G. W. Constitution and biosynthesis of capsaicin. **Journal of the Chemical Society C. Organic**, p. 442–446, 1968.
- BENZIE, I. F.; STRAIN, J. J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: the FRAP assay. **Analytical Biochemistry**, v. 239, p. 70–76, 1996.
- BLIGH, E. G.; DYER, W. J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology**, v. 37, p. 911–917, 1959.
- BORGES-GÓMEZ, L. et al. Capsaicinoids in Habanero Pepper (*Capsicum chinense* Jacq.) Under Various Humidity and Nutritional Conditions Lizette. **Sociedad Mexicana de la Ciencia del Suelo**, v. 28, p. 35–41, 2010.
- BOSLAND, P. W.; VOTAVA, E. J. Pepper vegetable and spice capsicums. **Cambridge: CABI**, v. 2nd ed., 2012.
- BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Food Science and Technology**, v. 28, p. 25–30, 1995.
- BUTCHER, J. D. et al. Environmental and Genotypic Variation of Capsaicinoid and Flavonoid Concentrations in Habanero (*Capsicum chinense*) Peppers. v. 47, n. 5, p. 574–579, 2012.
- BÜTTOW, M. V. et al. Diversidade genética entre acessos de pimentas e pimentões da Embrapa Clima Temperado. **Ciência Rural**, v. 40, n. 6, p. 1264–1269, 2010.
- CAPORASO, N. et al. Capsaicinoids, antioxidant activity, and volatile compounds in olive oil flavored with dried chili pepper (*Capsicum annuum*). p. 1–9, 2013.
- CARVALHO, A. V. et al. Caracterização de Genótipos de Pimentas *Capsicum* spp. Durante a Maturação. **EMBRAPA Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento**, v. 90, 2014.
- CARVALHO, S. I. C. DE et al. “BRS Mari”: nova cultivar de pimenta dedo-de-moça para processamento. **Nova cultivar**, v. 27, p. 571–573, 2009.
- CARVALHO, S. I. C. DE et al. “BRS Mari”: nova cultivar de pimenta dedo-de-moça para

processamento. v. 1, n. 2, p. 85–89, 2013.

CERVANTES-PAZ, B. et al. Antioxidant activity and content of chlorophylls and carotenoids in raw and heat-processed Jalapeño peppers at intermediate stages of ripening. **Food Chemistry**, v. 146, p. 188–196, 2014.

CHANTAI, S. et al. Determination of Capsaicin and Dihydrocapsaicin in Some Chilli Varieties using Accelerated Solvent Extraction Associated with Solid-Phase Extraction Methods and RP-HPLC-Fluorescence. **Resource Agricultural**, v. 9, n. 3, p. 1550–1561, 2012.

CHEN, L.; KANG, Y.-H. Anti-inflammatory and antioxidant activities of red pepper (*Capsicum annuum* L.) stalk extracts: Comparison of pericarp and placenta extracts. **Journal of Functional Foods**, v. 5, n. 4, p. 1724–1731, 2013.

CHINN, M. S.; SHARMA-SHIVAPPA, R. R.; COTTER, J. L. Food and Bioproducts Processing Solvent extraction and quantification of capsaicinoids from *Capsicum chinense*. **Food and Bioproducts Processing**, v. 89, n. 4, p. 340–345, 2010.

CHUICHULCHERM, S. et al. Optimization of capsaicin purification from *Capsicum frutescens* Linn . with column chromatography using Taguchi design. **Industrial Crops & Products**, v. 44, p. 473–479, 2013.

CHUNG, M. K.; CAMPBELL, J. N. Use of capsaicin to treat pain: Mechanistic and therapeutic considerations. **Pharmaceuticals**, v. 9, n. 4, p. 1–20, 2016.

CISNEROS-PINEDA, O. et al. Capsaicinoids quantification in chili peppers cultivated in the state of Yucatan, Mexico. **Food Chemistry**, v. 104, n. 4, p. 1755–1760, 2007.

COSTA, F. et al. Essential Fatty Acid Assimilation and Synthesis in Larvae of the Bivalve *Crassostrea gigas*. **Lipids**, p. 503–511, 2015.

COSTA, L. M. DA et al. Atividade antioxidante de pimentas do gênero *Capsicum*. **Food Science and Technology (Campinas)**, v. 30, n. x, p. 51–59, 2010.

DE AGUIAR, A. C. et al. Supercritical fluid extraction and low pressure extraction of Biquinho pepper (*Capsicum chinense*). **LWT - Food Science and Technology**, v. 59, n. 2P2, p. 1239–1246, 2014.

DE VASCONCELOS, C. S. et al. Determinação da dissimilaridade genética entre acessos de *Capsicum chinense* com base em características de flores. **Revista Ceres**, v. 59, n. 4, p. 493–498, 2012.

DO RÊGO, E. R.; FINGER, F. L.; DO RÊGO, M. M. **Production and breeding of chilli peppers (*Capsicum* spp.)**. [s.l.: s.n.].

DOMENICO, C. I.; COUTINHO, J. P.; GODOY, H. T. Caracterização agrônômica e

pungência em pimenta de cheiro. p. 466–472, 2012.

DOMÍNGUEZ-MARTÍNEZ, I. et al. Determination of capsaicin, ascorbic acid, total phenolic compounds and antioxidant activity of *Capsicum annuum* L. var. serrano by mid infrared spectroscopy (Mid-FTIR) and chemometric analysis. **Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry**, v. 57, n. 1, p. 133–142, 2014.

DONG, X. et al. LWT - Food Science and Technology Stage extraction of capsaicinoids and red pigments from fresh red pepper ( *Capsicum* ) fruits with ethanol as solvent. **LWT - Food Science and Technology**, v. 59, n. 1, p. 396–402, 2014.

DUDOGNON, T. et al. Mitochondrial activity , hemocyte parameters and lipid composition modulation by dietary conditioning in the Pacific oyster *Crassostrea gigas*. p. 303–317, 2014.

EDMOND, W. A. A. R.; ORTER, N. O. E. L. G. P. Extraction of Chili , Black Pepper , and Ginger with Near-Critical CO<sub>2</sub> , Propane , and Dimethyl Ether : Analysis of the Extracts by Quantitative Nuclear Magnetic Resonance. 2003.

FAO, J. et al. DISCUSSION PAPER ON THE ESTABLISHMENT MAXIMUM LEVELS FOR MYCOTOXINS IN SPICES. 2017.

FREIRE, P. et al. Evaluation of antioxidant potential of pepper sauce ( *Capsicum frutescens* L .). **Cogent Food & Agriculture**, v. 13, n. 1, p. 1–7, 2016.

GÁLICO, D. A. et al. Thermal and spectroscopic studies of the antioxidant food additive propyl gallate. v. 182, p. 89–94, 2015.

GIUFFRIDA, D. et al. Characterization of 12 *Capsicum* varieties by evaluation of their carotenoid profile and pungency determination. **Food Chemistry**, v. 140, n. 4, p. 794–802, 2013.

GOMES, M.; FREITAS, N. FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRONÔMICAS CÂMPUS DE BOTUCATU VIBRAÇÃO DE PLANTAS DE PIMENTA ( *Capsicum* sp ) PARA PRODUÇÃO DE FRUTOS E SEMENTES EM AMBIENTE CÂMPUS DE BOTUCATU VIBRAÇÃO DE PLANTAS DE PIMENTA ( *Capsicum* sp ) PARA. 2014.

GONZÁLEZ-ZAMORA, A. et al. Characterization of Different *Capsicum* Varieties by Evaluation of Their Capsaicinoids Content by High Performance Liquid Chromatography, Determination of Pungency and Effect of High Temperature. p. 13471–13486, 2013a.

GONZÁLEZ-ZAMORA, A. et al. Characterization of different *Capsicum* varieties by evaluation of their capsaicinoids content by high performance liquid chromatography, determination of pungency and effect of high temperature. **Molecules**, v. 18, n. 11, p. 13471–13486, 2013b.

HA, J. et al. Determination of Capsaicinoids in Foods Using Ultra High Performance Liquid

Chromatography. v. 19, n. 4, p. 1005–1009, 2010.

HARTMAN, L.; LAGO, R. C. A. Rapid preparation of fatty acid methyl esters from lipids. **Lab. Prac.**, v. 22, p. 475–476, 1973.

HUANG, H.; LIU, M.; CHEN, P. Recent Advances in Ultra-High Performance Liquid Chromatography for the Analysis of Traditional Chinese Medicine. **Analytical Letters**, v. 47, n. 11, p. 37–41, 2014.

ISLAM, A. et al. Scientia Horticulturae Variability in capsaicinoid content in different landraces of Capsicum cultivated in north-eastern India. **Scientia Horticulturae**, v. 183, p. 66–71, 2015.

JORGE, N.; VERONEZI, C. M.; PEREIRA, D. C. Extracts of red peppers: antioxidant activity and sensory evaluation. **Nutrition & Food Science**, v. 46, n. 2, p. 228–236, 2016.

JÚNIOR, M. V. et al. Eficiência do uso da água em pimenta da espécie Capsicum frutescens L., variedade tabasco Abstract Resumen Introdução. v. 8, n. 3, p. 53–61, 2015.

KHAN, I.; AHMAD, H.; AHMAD, B. Anti-glycation and Anti-oxidation properties of Capsicum frutescens and Curcuma longa fruits: Possible role in prevention of diabetic complication. **Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 27, n. 5, p. 1359–1362, 2014.

KOBUS-CISOWSKA, J. et al.  $\beta$ -Sitosterol and campesterol stabilisation by natural and synthetic antioxidants during heating. v. 128, p. 937–942, 2011.

KUMAR, B.; CUMBAL, L. UV-Vis, FTIR and antioxidants study of Persea Americana (Avocado) leaf and fruit: A comparison. **Revista de la Facultad de Ciencias Químicas**, v. 14, p. 13–20, 2016.

KWON, K. et al. Solubility of red pepper ( Capsicum annum ) oil in near- and supercritical carbon dioxide and quantification of capsaicin. v. 28, n. 6, p. 1433–1438, 2011.

LETTERS, R. B. Influence of process parameters on the extraction of capsaicinoids from various Capsicum species cultivated in Romania. v. 20, n. 5, p. 10767–10772, 2015.

LIM, J. et al. Design and Fabrication of a Real-Time Measurement System for the Capsaicinoid Content of Korean Red Pepper (Capsicum annum L.) Powder by Visible and Near-Infrared Spectroscopy. p. 27420–27435, 2015.

LOIZZO, M. R. et al. Evaluation of chemical profile and antioxidant activity of twenty cultivars from Capsicum annum, Capsicum baccatum, Capsicum chacoense and Capsicum chinense: A comparison between fresh and processed peppers. **LWT - Food Science and Technology**, v. 64, n. 2, p. 623–631, 2015.

LOWRY, O. H. et al. Protein measurement with the folin-phenol reagent. **Journal of Biology**

**and Chemistry**, p. 193:265-75, 1951.

LU, M.; HO, C.; HUANG, Q. ScienceDirect capsaicinoids. **Journal of Food and Drug Analysis**, 2016.

LUÍS, A. et al. Uso medicinal da pimenta malagueta ( *Capsicum frutescens* L .) em uma comunidade de várzea à margem do rio Amazonas , Santarém , Pará , Brasil Medicinal use of malagueta chili pepper ( *Capsicum frutescens* L .) in a floodplain community , Amazon River , San. v. 0, p. 543–557, 2011.

MARIA DE LOURDES REYES-ESCOGIDO; GONZALEZ-MONDRAGON, E. G.; VAZQUEZ-TZOMPANTZI, E. Chemical and pharmacological aspects of capsaicin. **Molecules**, v. 16, n. 2, p. 1253–1270, 2011.

MEGHVANSI, M. K. et al. A potencial source of capsaicinoids with broadspectrum ethnopharmacological applications. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 132(1), p. 1–14, 2010.

MENEZES, R. S. et al. Evaluation of fatty acid composition of the microalgae *Choricystis minor* var . *minor* according to two different nutrient feeding strategies. **Journal of Renewable and Sustainable Energy** 7, v. 43117, 2015.

MEZA-MÁRQUEZ, O. G.; GALLARDO-VELÁZQUEZ, T.; OSORIO-REVILLA, G. Application of mid-infrared spectroscopy with multivariate analysis and soft independent modeling of class analogies (SIMCA) for the detection of adulterants in minced beef. **Meat Science**, v. 86, n. 2, p. 511–519, 2010.

MILLER, G. L. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. **Analytical Chemistry**, v. 31, p. 426, 1959.

MOKHTAR, M. et al. Capsaicinoids and Carotenoids in *Capsicum annum* L .: Optimization of the Extraction Method , Analytical Characterization , and Evaluation of its Biological Properties. p. 1381–1390, 2016.

NAZARI, F. et al. Multivariate optimisation of microwave-assisted extraction of capsaicin from *Capsicum frutescens* L. and quantitative analysis by <sup>1</sup>H-NMR. **Phytochemical Analysis**, v. 18, n. 4, p. 333–340, 2007.

NEILL, J. O. et al. Unravelling the Mystery of Capsaicin : A Tool to Understand and Treat Pain. **The American Society for Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 64, n. 4, p. 939–971, 2012.

PATEL, K. et al. Characterisation of volatile profiles in 50 native Peruvian chili pepper using solid phase microextraction–gas chromatography mass spectrometry (SPME–GCMS). **Frin**, v. 89, p. 471–475, 2016.

PAULI, G. F.; JAKI, B. U.; LANKIN, D. C. Quantitative <sup>1</sup>H NMR. Development and

Potential of an Analytical Method: An Update. 2012.

PAULUS, D. et al. Comunicação Científica. **Horticultura Brasileira**, v. 33, n. 1, p. 91–100, 2015.

PEREIRA, Í. S. et al. Validação de marcadores moleculares associados à pungência em pimenta. **Horticultura Brasileira**, v. 33, n. 2, p. 189–195, 2015.

PINHEIRO, R. S.; LANDO, T.; CARPES, S. T. Química verde e seus princípios. **III Simpósio Nacional de Ensino de Ciência e Tecnologia**, 2012.

QIN, C. et al. Whole-genome sequencing of cultivated and wild peppers provides insights into Capsicum domestication and specialization. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 111, n. 14, p. 5135–5140, 2014.

QUIÑONES-ISLAS, N. et al. Detection of adulterants in avocado oil by Mid-FTIR spectroscopy and multivariate analysis. **Food Research International**, v. 51, n. 1, p. 148–154, 2013.

REBOUÇAS, T. N. H.; VALVERDE, R. M. V; TEIXEIRA, H. L. Bromatology of fresh and processed chili pepper [Bromatologia da pimenta malagueta in natura e processada em conserva]. **Horticultura Brasileira**, v. 31, n. 1, p. 163–165, 2013.

REDDY, U. K. et al. Identification of Gene-Specific Polymorphisms and Association with Capsaicin Pathway Metabolites in Capsicum annum L. Collections. v. 9, n. 1, 2014.

RICHINS, R. D. et al. A “green” extraction protocol to recover red pigments from hot capsicum fruit. **HortScience**, v. 45, n. 7, p. 1084–1087, 2010.

ROLLYSON, W. D. et al. Bioavailability of capsaicin and its implications for drug delivery. **Journal of Controlled Release**, v. 196, p. 96–105, 2014.

ROMAN, A. L. C. As pimentas Capsicum L. no cotidiano de uma comunidade de várzea (Rio Amazonas), Santarém, Pará, Brasil. p. 484, 2010.

ROSSI, J. A.; SINGLETON, V. L. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 16, n. 3, p. 144–158, 1965.

SANATOMBI, K.; G.J.SHARMA. Capsaicin Content and Pungency of Different Capsicum spp. Cultivars. **Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca**, v. 36, n. 2, p. 89–90, 2008.

SÁNCHEZ-MORENO, C.; LARRAURI, J. A.; SAURA-CALIXTO, F. A. A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 76, p. 270–276, 1998.

SANTOS, C. F. M. DOS; BRACHT, F.; CONCEIÇÃO, G. C. DA. A carreira da malagueta:

uso e disseminação das plantas do gênero *Capsicum* nos séculos XVI e XVII. **Revista IDEAS – Interfaces em Desenvolvimento, Agricultura e Sociedade, Rio de Janeiro – RJ**, v. 6, n. 2, p. 134–16, 2012.

SANTOS, P. et al. Supercritical carbon dioxide extraction of oleoresin from malagueta pepper (*Capsicum frutescens* L.) enhanced by ultrasound. p. 1–7, 2013.

SANTOS, P. et al. Ultrasonics Sonochemistry Supercritical carbon dioxide extraction of capsaicinoids from malagueta pepper ( *Capsicum frutescens* L .) assisted by ultrasound. **Ultrasonics - Sonochemistry**, v. 22, p. 78–88, 2015.

SANTOS, C. F. M. DOS; BRACHAT, F.; CONCEIÇÃO, G. C. DA. Das virtudes da ardência: Uso e disseminação dos frutos de *Capsicum* nos séculos XVI e XVII. **Boletim do Museu Paraense Emilio Goeldi: Ciências Humanas**, v. 8, n. 1, p. 59–75, 2013.

SGANZERLA, M. et al. Fast method for capsaicinoids analysis from *Capsicum chinense* fruits. **Food Research International**, v. 64, p. 718–725, 2014.

SORA, G. T. DE S. et al. FATTY ACID COMPOSITION GENUS PEPPERS. v. 39, n. 4, p. 372–380, 2015.

SOUDANT, P. et al. Separation of major polar lipids in *Pecten maximus* by high-performance liquid chromatography and subsequent determination of their fatty acids using gas chromatography. **J.Chromatogr B-Biomed. Appl.**, v. 673, p. 15–26, 1995.

SRINIVASAN, K. Biological Activities of Red Pepper ( *Capsicum annum* ) and Its Pungent Principle Capsaicin: A Review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 8398, n. December, p. 00–00, 2015.

SUN, F.; XIONG, S.; ZHU, Z. Dietary Capsaicin Protects Cardiometabolic Organs from Dysfunction. **Nutrients**, v. 8, n. 5, p. 1–13, 2016.

TEWKSbury, J. J. , NABHAN, G. P. Seed dispersal directed deterrence by capsaicin in chillies. **Nature**, v. 412, n. 6845, p. 403–404, 2001.

TIAN, Y. et al. Ultrasonics Sonochemistry Optimization of ultrasonic-assisted extraction of pomegranate ( *Punica granatum* L .) seed oil. **Ultrasonics - Sonochemistry**, v. 20, n. 1, p. 202–208, 2013.

TODD, P. H.; BENSINGER, M. G.; BIFTU, T. Determination of Pungency Due to Capsicum by Gas-Liquid Chromatography. **Journal of Food Science**, v. 42, n. 3, p. 660–665, 1977.

TONON, P. DE. UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS. 2012.

TUCKER, J. L. Green chemistry, a pharmaceutical perspective. **Organic Process Research and Development**, v. 10, n. 2, p. 315–319, 2006.

WAHYUNI, Y. et al. Secondary Metabolites of *Capsicum* Species and Their Importance in

the Human Diet. **Journal of Natural Products**, v. 76, n. 4, p. 783–793, 2013.

## ARTIGO 1

### COMPOSIÇÃO NUTRICIONAL E AVALIAÇÃO DA EFICIÊNCIA DA QUÍMICA VERDE NA EXTRAÇÃO DOS ANTIOXIDANTES DE PIMENTAS *CAPSICUM*

Vânia M. B. Silva<sup>a</sup>, Vilma B. S. Araújo<sup>a</sup>, Roberto Sassi<sup>b</sup>, Antônia L. Souza<sup>a,c</sup>

<sup>a</sup> Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Centro de Tecnologia, Campus I, Universidade Federal da Paraíba, CEP 58051-900 João Pessoa, Paraíba, Brasil.

<sup>b</sup> Departamento de Sistemática e Ecologia, Centro de Ciências Exatas e da Natureza, Campus I, Universidade Federal da Paraíba, CEP 58051-900 João Pessoa, Paraíba, Brasil.

<sup>c</sup> Programa de Pós-graduação em Química, Centro de Ciências Exatas e da Natureza, Campus I, Universidade Federal da Paraíba, CEP 58051-900 João Pessoa, Paraíba, Brasil.

#### Resumo

Este artigo apresenta o uso da química verde na extração de compostos bioativos de três pimentas do gênero *Capsicum*: pimenta malagueta (*C. frutescens*), pimenta dedo de moça (*C. baccatum*) e pimenta de cheiro (*C. chinense*). Para tanto foram utilizados água, etanol e suas combinações como solventes nas extrações. A eficiência dos solventes foi avaliada através da investigação da presença de capsaicinoides nos extratos por meio da Espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN <sup>1</sup>H), da determinação do potencial antioxidante através do teor de fenólicos totais pelo método Folin-Ciocalteu e da capacidade antioxidante usando os métodos DPPH, ABTS e FRAP. O estudo também determinou a composição nutricional e a identificação dos ácidos graxos presentes nas pimentas *in natura* por Cromatografia Gasosa (CG) usando a transesterificação direta. De acordo com os resultados obtidos o uso dos solventes foi eficiente na extração dos compostos antioxidantes das pimentas, e os mais efetivos foram água, etanol e as combinações etanol/água (80:20) e (20:80). Em relação à composição nutricional os teores de proteínas variaram de  $0,11 \pm 0,03$  a  $1,73 \pm 0,06$  g/100 g de pimenta. Os teores de lipídios foram inexpressivos e os teores de carboidratos variaram de  $4,56 \pm 0,05$  a  $9,96 \pm 0,05$  g/100 g de pimenta e o maior valor foi encontrado para *C. frutescens*. A composição de ácidos graxos mostrou que o ácido palmítico está presente em quantidades semelhante nas pimentas, 20% em *C. frutescens* e 23% em *C. chinense* e em *C. baccatum*. Apenas a pimenta *C. baccatum* mostrou quantidade expressiva do ácido ômega-3  $\alpha$ -linolênico (14%). O ácido ômega-6 linoleico foi encontrado em quantidades elevadas nas três pimentas principalmente em *C. frutescens* (54%). O teor de ácidos graxos saturados variou de 29 a 37% e o percentual mais elevado foi em *C. chinense*.

**Palavras chaves:** Pimentas *Capsicum*; Perfil lipídico; Antioxidantes; RMN <sup>1</sup>H.

## Introdução

As pimentas são espécies vegetais pertencentes às famílias *Solanaceae* e *Piperaceae*. Nesta última, representada pelo gênero *Piper*, com espécies que apresentam a substância piperina entre seus constituintes químicos; e na família *Solanaceae*, está o gênero *Capsicum*, que possui os capsaicinoides entre seus componentes químicos. As pimentas do gênero *Capsicum* são originárias das Antilhas e das Américas Central e do Sul (USDA-ARS, 2011). Foram descobertas no período das grandes navegações, nas viagens de Cristóvão Colombo e, desde então, disseminadas para o resto do mundo (QIN et al., 2014).

Estas pimentas são fontes importantes de uma série de fitonutrientes, como os carotenoides ( $\alpha$ - e  $\beta$ -caroteno e  $\beta$ -criptoxantina) que são precursores da vitamina A, ácidos fenólicos, antocianinas, ácido ascórbico e capsaicinoides. Estes últimos são compostos bioativos que possuem ação protetora contra o dano oxidativo causado por radicais livres. A expressão dessas substâncias ocorre conforme genótipo e grau de maturação, sofrendo influência também das condições de cultivo na formação das ligações duplas conjugadas (KWON et al., 2011; BOSLAND; VOTAVA, 2012).

Os capsaicinoides são os antioxidantes de maior destaque presentes nas pimentas *Capsicum*. Trata-se de alcaloides de caráter anfifílico, que podem associar-se a grupos hidrófilos e hidrofóbicos (MARIA DE LOURDES REYES-ESCOGIDO; GONZALEZ-MONDRAGON; VAZQUEZ-TZOMPANTZI, 2011). A capsaicina é o capsaicinoide mais abundante no gênero, seguida pela dihidrocapsaicina (MEGHVANSI et al., 2010). Estas substâncias conferem a estes frutos a sensação de sabor "picante" ou "pungência", principal atrativo culinário das pimentas (HURSEL, 2010). A sensação de ardência acontece quando os capsaicinoides se ligam ao grupo de nociceptores que possuem um limiar para gerar a dor a partir da sensação de calor, conhecido como receptor de capsaicina ou receptor vaniloide 1 (SANATOMBI; G.J.SHARMA, 2008). Com relação às funções terapêuticas, os capsaicinoides possuem papel importante na prevenção e tratamento de diversas doenças (BENNETT & KIRBY, 1968; LUO et al., 2011; REDDY et al., 2014).

Os frutos das pimentas *Capsicum* podem ser consumidos em diversas formas: *in natura*, desidratados, cozidos com os alimentos, em molhos e geleias artesanais. São muito utilizados como componentes de temperos industrializados (CERVANTES-PAZ et al., 2014). E, embora as pimentas *Capsicum* sejam de origem americana são largamente consumidas na Europa, com estimativa de ingestão diária de 0,5 g/pessoa (GIUFFRIDA et al., 2013)(GIUFFRIDA et al., 2013; LOIZZO et al., 2015).

A extração dos compostos bioativos a partir destes vegetais tem sido explorada com sucesso pelas indústrias de alimentos, química e farmacêutica. Existe um interesse considerável na obtenção dos capsaicínoides e para isto uma quantidade expressiva de métodos e de solventes tem sido avaliada visando obter rendimentos elevados com excelentes graus de pureza, baixos custos e baixa toxicidade (SANTOS et al., 2015). As técnicas mais utilizadas nas extrações incluem maceração, agitação magnética, extração enzimática, microondas, extração por ultrassom, extração por Soxhlet e fluidos supercríticos.

Tradicionalmente, o preparo da oleorresina, nome normalmente atribuído aos extratos de pimentas, dentro de um processo industrial consiste em três etapas: desidratação das pimentas frescas, moagem e extração da fração lipofílica com solvente como *n*-hexano ou éter de petróleo, com subsequente remoção dos capsaicínoides para a obtenção de corantes vermelhos sem pungência. Contudo, três problemas estão presentes neste processo convencional. Em primeiro lugar, solvente de extração como o hexano é prejudicial ao meio ambiente. Em segundo, o resíduo deste solvente no corante vermelho, usado como aditivo alimentar é muito inseguro para a saúde humana. Por último, a deterioração da cor vermelha ocorre concomitantemente com a destruição dos carotenóides e formação de compostos escuros oriundos de reações de oxidação (DONG et al., 2014).

Visto que a remoção de resíduos insalubres gerados no preparo dos extratos de *Capsicum*, pode significar maior custo ao processo, a química verde torna-se uma proposta ao uso dos solventes tradicionais, com redução dos riscos à saúde e o meio ambiente (RICHINS et al., 2010).

Em relação à quantificação dos capsaicínoides em pimentas, os métodos mais utilizados são a Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) e a Cromatografia de Gasosa (CG). Embora sejam eficientes, esses métodos apresentam alguns inconvenientes (PEÑA-ALVAREZ; RAMÍREZ-MAYA; ALVARADO-SUÁREZ, 2009). A Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN  $^1\text{H}$ ), por outro lado, é uma técnica robusta, rotineiramente utilizada na elucidação estrutural de substâncias orgânicas. Um considerável número de trabalhos tem utilizado esta técnica na pesquisa aplicada à ciência dos alimentos, por se tratar de um procedimento rápido, feito diretamente na amostra e dispensando etapas laboriosas de derivatização. Pode ser usada nas análises qualitativas e quantitativas, pois a integral do sinal de hidrogênio é proporcional ao número de núcleos (NAZARI et al., 2007; PAULI et al., 2013).

O objetivo deste trabalho foi apresentar a composição centesimal, o perfil de ácidos graxos, a identificação de capsaicínoides por RMN  $^1\text{H}$ , o potencial antioxidante dos

constituintes dos extratos das pimentas *Capsicum frutescens*, *Capsicum baccatum* e *Capsicum chinense*, obtidos por meio de solventes de alto impacto na química verde.

## **Materiais e métodos**

### **Frutos *Capsicum***

As variedades de pimentas do gênero *Capsicum*: *C. frutescens*, *C. chinense* e *C. baccatum*, usadas neste estudo foram adquiridas no comércio local da Cidade de João Pessoa-Paraíba, Brasil. Foram selecionados apenas frutos maduros, considerando a coloração vermelha para as pimentas *C. frutescens* e *C. baccatum*, e amarelo, para a pimenta *C. chinense*. Folhas e pedúnculos foram removidos e realizada a higienização com água corrente. Os frutos limpos foram acondicionados em sacos plásticos e armazenados em refrigerador para as etapas seguintes. Em seguida, os frutos *Capsicum in natura* foram triturados em liquidificador doméstico a 3550 rpm de rotação, em temperatura ambiente, durante 3 min. O material resultante de cada pimenta foi utilizado para as análises.

### **Padrões e Reagentes Químicos**

Os padrões de ácido gálico, radical 2,2 difenil-1-picril-hidrazila (DPPH•); ácido 2-carboxílico-6-hidroxi-2,5,7,8 tetrametilcromano (TROLOX); 2,4,6-Tris (2-piridil)-s-triazina (TPTZ) foram obtidos da Sigma-Aldrich (Sigma Co., USA). O reagente Folin-Ciocateau foi adquirido da Merck. Os solventes *n*-hexano, acetona, metanol, etanol, foram obtidos da F. MAIA. Todos os produtos químicos e solventes utilizados neste estudo foram de grau analítico.

### **Composição nutricional**

As análises de umidade, cinzas, pH e acidez titulável foram determinados pelo método oficial de análises, normatizado pela AOAC (2012). O teor de lipídios foi determinado pelo método de extração a frio de acordo com metodologia de BLIGH; DYER (1959a) com pequenas modificações. A quantificação das proteínas foi determinada de acordo com LOWRY et al. (1951). E a quantificação dos hidratos de carbono foi realizada em açúcares solúveis total e redutor pelo método DNS ou Método do Ácido Dinitrossalicílico (MILLER, 1959).

### **Determinação do perfil de ácidos graxos**

O material oriundo das pimentas, obtido na etapa anterior de pré-tratamento, foi distribuído em bandejas de alumínio, por variedade, em camadas de 1 cm e desidratado em estufa de circulação e renovação de ar (Marca Solar, Modelo SL-102). A temperatura máxima alcançada foi de 40 °C e tempo de secagem de 24 a 36 horas, até peso constante. O material seco de cada pimenta foi macerado com o uso de gral e pistilo até a forma de pó. Para a determinação do perfil de ácidos graxos por Cromatografia Gasosa (CG), foi realizada a transesterificação direta seguindo a metodologia usando proposta por HARTMAN; LAGO (1973) adaptado à micro escala conforme descrito por (MENEZES et al., 2015). Inicialmente tubos de ensaios de alta resistência foram colocados no forno mufla a 450 °C por 12 horas para remoção de materiais residuais interferentes. Em seguida, pesou-se, precisamente, 20 mg do pó de cada pimenta, nos tubos de ensaio. Adicionou-se 23 µg do padrão de ácido tricosanóico (C23:0) e 800 µL de uma solução de ácido sulfúrico e metanol (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>:MeOH) a 4% (v/v). Foi usada atmosfera inerte com nitrogênio gasoso (N<sub>2</sub>) para evitar a oxidação durante a transesterificação. Os tubos de ensaios fechados foram submersos em água fervente por 10 minutos e em seguida postos em repouso até atingiram a temperatura ambiente. Em seguida foram adicionados 800 µL de hexano e a mistura lavada por três vezes usando 1,5 mL de água destilada. A fase orgânica foi recolhida e injetada no cromatógrafo (VARIAN 430-GC, Califórnia, EUA), acoplado com coluna capilar de sílica fundida (CP WAX 52 CB, VARIAN, Califórnia, EUA) e utilizando-se o hélio como gás de arraste (SOUDANT et al., 1995; DUDOGNON et al., 2014; COSTA et al., 2015; CALIXTO et al., 2016) .

A identificação dos ésteres de ácidos graxos foi feita por comparação com dados constantes em uma espectroteca e a quantificação, expressa em percentual, por normalização das áreas dos picos dos cromatogramas (AUED-PIMENTEL et al., 2005; HARTMAN; LAGO, 1973).

### **Obtenção dos extratos**

Para a obtenção dos extratos, foram utilizadas 10 de cada pimenta na forma de pó, obtidas em tratamento semelhante ao do item 3.5; e 100 mL dos solventes água, etanol e suas combinações binárias nas proporções etanol/água 20:80, 50:50 e 80:20 no total de cinco extratos para cada pimenta. As extrações foram feitas por agitação da mistura extrato/solvente em uma mesa agitadora modelo TE-420 Incubadora a 200 rpm a 40 °C em um tempo de

agitação de 60 minutos. Após filtração para a remoção do material vegetal, o solvente residual foi removido em rotaevaporador à pressão reduzida. Os traços de solventes foram removidos pela exposição dos extratos em estufa de circulação de ar forçado a 40 °C. Após este tratamento, os extratos secos foram pesados e acondicionados em recipientes de vidro âmbar, armazenados em refrigerador até o momento das análises.

### ***Teor de Fenólicos Totais***

O teor de fenólicos totais foi determinado pelo método colorimétrico Folin-Ciocalteu com pequenas modificações (ROSSI; SINGLETON, 1965). Inicialmente uma alíquota de 300  $\mu\text{L}$  de cada extrato ( $100 \text{ mg. mL}^{-1}$  em MeOH e água 1:1) foi transferida para um tubo de ensaio, adicionado 60  $\mu\text{L}$  do reagente Folin-Ciocalteu e 2,460  $\mu\text{L}$  de água destiladas. A mistura foi agitada durante 1 min. Em seguida, 180  $\mu\text{L}$  de uma solução de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  a 15% foram adicionados à mistura e agitados por 30 segundos, resultando na concentração final de  $100 \mu\text{g. mL}^{-1}$ . Após repousar por 2 h na ausência da luz, a absorbância das amostras foi lida em um espectrofotômetro UV-vis da Shimadzu, modelo UV-2550 a 70 nm. O teor de fenólicos totais (TFT) foi determinado por interpolação da absorbância das amostras contra uma curva de calibração construída com padrões de ácido gálico ( $1$  a  $15 \mu\text{g. mL}^{-1}$  em etanol). Os resultados foram expressos em  $\text{mg EAG. g}^{-1}$  (miligrama de equivalente de ácido gálico por grama do extrato).

### **Avaliação da atividade antioxidante**

#### ***Sequestro do cátion radical 2,2'-azinobis-(3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico) – ABTS***

A determinação da AAT pela captura de radicais ABTS foi realizada a partir da reação de uma solução reserva de ABTS e uma solução de persulfato de potássio que foi mantida no escuro durante 16 horas. Esta mistura foi diluída com álcool etílico até alcançar uma absorbância de  $0,70 \pm 0,05$  nm a 734 nm. Misturou-se uma alíquota de 30  $\mu\text{L}$  de cada amostra com 3 mL de ABTS e manteve-se no escuro durante 6 minutos. A absorbância foi medida a 734 nm. Utilizou-se uma solução de Trolox como padrão (0,025g de Trolox em álcool etílico). A atividade antioxidante foi expressa em  $\mu\text{M Trolox /100 g}$  da amostra (SÁNCHEZ-MORENO; LARRAURI; SAURA-CALIXTO, 1998).

### ***Capacidade antioxidante pelo método de redução do ferro (FRAP)***

A avaliação do poder antioxidante de redução do ferro foi realizada conforme (BENZIE; STRAIN, 1998). A solução FRAP foi obtida usando a solução tampão acetato 0,3 M; solução de TPTZ 10 mM e a solução aquosa de cloreto férrico a 20 mM. Alíquotas de 90 µL de cada amostra em três concentrações diferentes foram homogeneizadas com 2,7 mL do reagente FRAP (recém-preparado) e 270 µL de água destilada. As soluções foram agitadas em banho termostático a 37 °C por 30 min. A absorbância das amostras e do FRAP foram medidas em um espectrofotômetro UV-vis da Shimadzu, modelo UV-2550 a 595 nm.

A curva controle foi preparada utilizando Trolox (500 a 2000 µM.L<sup>-1</sup>) sendo obtida nas mesmas condições. O cálculo da capacidade antioxidante total foi realizado a partir da equação da reta do gráfico, relacionando concentração (mg.L<sup>-1</sup>) *versus* absorbância. Os resultados da capacidade antioxidante foram expressos em µM Trolox.g<sup>-1</sup> extrato (capacidade antioxidante equivalente ao Trolox).

### ***Atividade sequestradora do radical DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazila)***

O radical DPPH foi quantificado pelo método proposto por Brand-Williams et al., com algumas modificações. Este método baseia-se na captura do DPPH• pelos antioxidantes presentes na amostra, que resulta em um decréscimo da absorbância a 515 nm (BRAND-WILLIAMS; CUVELIER; BERSET, 1995). Alíquotas de 0,3 mL da solução dos extratos mais 2,7 mL da solução estoque de DPPH. (Solução estoque: 2,4mg de DPPH foi dissolvido em metanol e o volume completado com metanol para 100 mL em um balão volumétrico). Foram incubados em temperatura ambiente, em local escuro por 30 minutos e a absorbância mensurada a 515 nm. Foi preparada uma curva padrão com solução de Trolox em diferentes concentrações. Os resultados foram expressos em % AAT (atividade antioxidante total).

### **Identificação de Capsaicina nos extratos por RMN <sup>1</sup>H**

Para a análise da capsaicina nos extratos das pimentas, foram utilizados 20 mg de cada extrato dissolvido em 0,5 mL de metanol deuterado (MeOH-d<sub>4</sub>). Os espectros de RMN <sup>1</sup>H dos extratos de capsaicina foram obtidos em um espectrômetro Varian DRX - 500 a 25 °C com 8 repetições de varredura e tempo de aquisição de 2.05 segundos. Os espectros de RMN <sup>1</sup>H foram processados pelo programa MestReNova versão 6.0.2, com função exponencial de

apodização (LB de 1 Hz) e o sinal em 4,26 ppm do CH<sub>2</sub> adjacente ao grupo amida presente na estrutura química da capsaicina padrão foi utilizado como referência na investigação desta substância e de dihidrocapsaicina nos extratos (NAZARI et al., 2007).

### Análise estatística

Os resultados foram expressos na forma de média  $\pm$  desvio padrão, utilizando-se análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey para identificar diferenças significativas entre as médias ( $p \leq 0,05$ ). Todas as análises foram realizadas em triplicata ( $n = 3$ ). Os dados foram tratados no Programa ACTION 2.4 (2012).

### Resultados e discussão

Os dados obtidos da composição centesimal de cada variedade de pimenta estão apresentados na Tabela 1. A média do teor de umidade ( $n = 3$ ) foi maior na *C. chinense* ( $88,60 \pm 0,30$ ) e menor na *C. frutescens* ( $73,07 \pm 0,66$ ) expresso em g/100 g de pimenta. O teor médio de proteína variou de  $0,11 \pm 0,03$  a  $1,73 \pm 0,06$  g/100 g de pimenta, com maior valor para a *C. frutescens*. Também foram verificados teores maiores de cinzas, lipídios e carboidratos para a *C. frutescens*. Estudos confirmam que estes valores podem sofrer alterações, pois dependem da época da colheita dos frutos, do solo, da intensidade da luz solar, da quantidade de água, entre outros fatores (GOLCZ; KUJAWSKI; MARKIEWICZ, 2012).

Com relação ao valor energético total, a *C. frutescens* mostrou-se 144,39% mais calórica do que a *C. chinense* e 54,56% a mais em relação a pimenta dedo-de-moça Contudo, pimentas *Capsicum* são alimentos de baixas calorias, considerando-se a Ingestão Diária Recomendada (IDR) atual que tem como referência 2000 kcal ou 8400 kJ (INSTITUTE OF MEDICINE, 2001).

**Tabela 1:** Composição nutricional das pimentas em base úmida em g/100 g de amostra

Dados	<i>C. frutescens</i>	<i>C. chinense</i>	<i>C. baccatum</i>
Umidade	$73,07 \pm 0,66$	$88,60 \pm 0,30$	$83,86 \pm 0,52$
Proteínas	$1,73 \pm 0,06$	$0,11 \pm 0,03$	$1,09 \pm 0,08$
Cinzas	$10,17 \pm 0,07$	$1,07 \pm 0,03$	$3,53 \pm 0,05$

Lipídios	0,83 ± 0,04	0,39 ± 0,05	0,51 ± 0,06
Carboidratos	9,96 ± 0,05	4,56 ± 0,05	6,54 ± 0,06
VET (kcal)	54,23	22,19	35,11

VET (Valor Energético Total em quilocalorias)

A composição de ácidos graxos, Tabela 2, mostrou a predominância do ácido graxo ômega-6 nas três pimentas, principalmente na *C. frutescens*. O perfil de ácidos graxos saturados variou de 29 a 37%, porém os maiores percentuais foram observados para o ácido palmítico (C16:0), considerado um ácido graxo de cadeia média, cujo consumo não representa grandes preocupações para a saúde humana, sendo valores semelhantes aos encontrados por JARRET et al. (2013) ao determinar as características químicas do óleo de semente de pimenta.

**Tabela 2:** Perfil de ácidos graxos das pimentas em % massa

Éster do ácido graxo	<i>C. frutescens</i>	<i>C. chinense</i>	<i>C. baccatum</i>
C14:0	1,0	7,0	2,0
C16:0	20,0	23,0	23,0
C18:0	4,0	5,0	3,0
C20:0	2,0	2,0	1,0
C22:0	1,0	-	-
C24:0	1,0	-	-
C16:1n-7	3,0	3,0	1,0
C18:1n-9	5,0	10,0	22
C18:1n-7	1,0	-	1,0
C18:2n-6	54,0	36,0	40,0
C18:3n-3	7,0	14,0	6,0
SFA	30,0	37,0	29,0
MUFA	9,0	13,0	25,0
PUFA	61,0	50,0	46,0
Total	100,0	100,0	100,0

Com relação ao teor de ácido graxo ômega-3, os valores observados indicam que as pimentas não podem ser consideradas fontes de ômega-3 de um modo geral; entretanto, o valor de 14% apresentado na *C. chinense* pode ser considerado bastante favorável; uma vez que as pimentas são frutos que podem ser consumidos sem a necessidade de pré-tratamentos, e a quantidade expressiva de antioxidantes naturais representada pelos capsaicinoides e

betacaroteno nestes frutos, pode ser um fator de proteção garantindo a alta qualidade do ômega-3 nas pimentas (LAVECCHIA et al., 2013).

Os teores de fenólicos totais dos extratos, expresso em mg de GAE/g de matéria-prima, são apresentados na Tabela 3. Os valores mais expressivos de fenólicos totais são da *C. frutescens*. Com relação a variação da concentração de etanol no processo de extração, a combinação etanol/água (80:20) mostrou-se como o melhor solvente para a extração dos compostos fenólicos nas três pimentas. Não houve diferença significativa no teor de fenólicos totais obtido para a *C. frutescens* quando usadas as concentrações de 20 e de 50% etanol na água, bem como nas concentrações 20% e 100% de etanol para a pimenta de cheiro. Para a *C. baccatum* os teores de fenólicos totais mostraram diferença significativa em todos os solventes utilizados. Este trabalho se assemelha com (JORGE; VERONEZI; PEREIRA, 2016) que determinou o teor de fenólicos totais de extratos hidroalcoólicos pimentas do mesmo gênero.

**Tabela 3:** Teor de Fenólicos Totais dos extratos *Capsicum* (mGAE / g de extrato)

Proporção Etanol : Água (%)	TEOR DE FENÓLICOS TOTAIS		
	<i>C. frutescens</i>	<i>C. chinense</i>	<i>C. baccatum</i>
0	23,00 <sup>d</sup> ±0,21	12,59 <sup>d</sup> ±0,17	9,61 <sup>d</sup> ±0,11
20	24,10 <sup>c</sup> ±0,42	15,57 <sup>c</sup> ±0,11	11,35 <sup>b</sup> ±0,07
50	22,96 <sup>c</sup> ±0,17	12,78 <sup>b</sup> ±0,35	9,48 <sup>a</sup> ±0,38
80	38,98 <sup>b</sup> ±0,46	24,22 <sup>a</sup> ±0,18	19,95 <sup>c</sup> ±0,25
100	24,93 <sup>a</sup> ±0,33	13,51 <sup>e</sup> ±0,14	12,96 <sup>c</sup> ±0,17

Resultados expressos como média ± desvio padrão (n=3). Letras diferentes para uma mesma espécie de pimenta *Capsicum*, indicam diferença significativa a 5% pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

Para avaliar a atividade antioxidante dos extratos em capturar radicais livres foram utilizados os métodos ABTS e DPPH (DÍAZ et al., 2011; CHAUCHE et al., 2013; LOIZZO et al., 2015). Estes métodos avaliam a capacidade da amostra em estabilizar o radical iônico. A capacidade antioxidante das pimentas que usou 100% de etanol na extração de seus capsaicinoides revelou a melhor resposta protetora, para os dois métodos, diferindo entre si, na quantificação desta proteção. A *C. frutescens* apresentou a maior proteção, tanto para ABTS quanto para DPPH, conforme apresentado na Tabela 4. Estes resultados estão de acordo com outros trabalhos que também usaram extratos hidroalcoólicos, contudo a maior

concentração de etanol parece ter influenciado as respostas (JORGE; VERONEZI; PEREIRA, 2016).

**Tabela 4:** Atividades antioxidantes ( $EC_{50}$  em  $\mu\text{g/mL}$ ) dos extratos *Capsicum* utilizando o radical livre DPPH<sup>\*</sup> e o cátion radical ABTS<sup>+</sup>

Proporção Etanol : Água (%)	ABTS			DPPH		
	<i>C. frutescens</i>	<i>C. chinense</i>	<i>C. baccatum</i>	<i>C. frutescens</i>	<i>C. chinense</i>	<i>C. baccatum</i>
0	37,51 <sup>a</sup> ±0,51	12,97 <sup>c</sup> ±0,33	14,29 <sup>c</sup> ±0,33	54,38 <sup>c</sup> ±0,33	36,61 <sup>c</sup> ±0,69	35,73 <sup>d</sup> ±0,33
20	57,26 <sup>d</sup> ±0,84	15,09 <sup>d</sup> ±0,67	15,08 <sup>c</sup> ±0,84	66,26 <sup>c</sup> ±0,19	34,51 <sup>d</sup> ±0,33	43,28 <sup>c</sup> ±0,38
50	92,01 <sup>c</sup> ±0,67	19,08 <sup>c</sup> ±0,84	23,07 <sup>b</sup> ±0,67	58,60 <sup>d</sup> ±0,19	54,71 <sup>b</sup> ±0,38	54,82 <sup>b</sup> ±0,33
80	107,33 <sup>b</sup> ±0,33	21,30 <sup>b</sup> ±0,58	23,07 <sup>b</sup> ±0,84	76,36 <sup>b</sup> ±0,33	54,71 <sup>b</sup> ±0,33	54,82 <sup>b</sup> ±0,51
100	138,63 <sup>a</sup> ±0,33	34,28 <sup>a</sup> ±0,51	45,38 <sup>a</sup> ±0,51	110,66 <sup>a</sup> ±0,58	70,81 <sup>a</sup> ±0,51	57,49 <sup>a</sup> ±0,51

Resultados expressos como média  $\pm$  desvio padrão (n=3). Letras diferentes para uma mesma espécie de pimenta *Capsicum*, indicam diferença significativa a 5% pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

A análise de FRAP foi utilizada para conhecer a capacidade dos extratos etanólicos das pimentas avaliadas em reduzir o ferro presente no complexo 2,4,6- tripiridil-s-triazina (TPTZ). Os maiores resultados ocorreram para a concentração de 20% de etanol para a *C. frutescens* (175,48±0,77) e para a *C. baccatum* (175,70±0,38), Tabela 5. A *C. chinense* apresentou melhor resultado quando usou como solvente apenas água (155,50±0,33). O mecanismo de ação do método, associado à possibilidade de extração de componentes diferentes com menor concentração de etanol, pode ter contribuído para os menores valores antioxidantes por este método (MÜLLER; FRÖHLICH; BÖHM, 2011).

**Tabela 5:** Atividades antioxidantes dos extratos

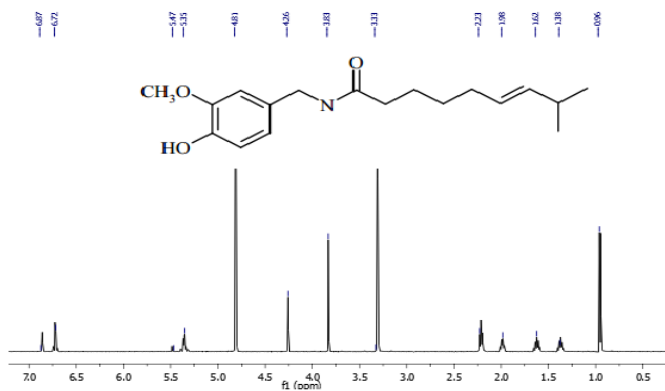
Proporção Etanol : Água (%)	FRAP		
	<i>C. frutescens</i>	<i>C. chinense</i>	<i>C. baccatum</i>
0	60,39 <sup>d</sup> ±0,66	155,50 <sup>a</sup> ±0,33	161,49 <sup>b</sup> ±0,19
20	175,48 <sup>a</sup> ±0,77	150,89 <sup>b</sup> ±0,71	175,70 <sup>a</sup> ±0,38
50	155,50 <sup>c</sup> ±0,51	138,18 <sup>c</sup> ±0,51	161,27 <sup>b</sup> ±0,33
80	34,20 <sup>e</sup> ±0,88	22,19 <sup>d</sup> ±0,67	124,64 <sup>c</sup> ±0,33
100	171,67 <sup>b</sup> ±0,77	137,40 <sup>c</sup> ±0,51	89,57 <sup>d</sup> ±0,51

Resultados expressos como média  $\pm$  desvio padrão (n=3). Letras diferentes para uma mesma espécie de pimenta *Capsicum*, indicam diferença significativa a 5% pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

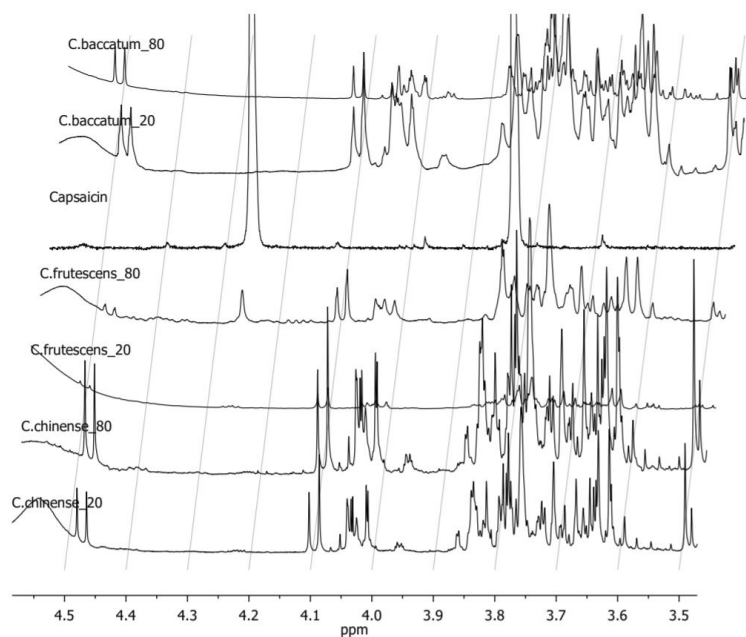
O potencial antioxidante das pimentas é atribuído principalmente aos capsaicinoides. De acordo com a literatura, *C. frutescens* apresenta normalmente quantidades destes metabolitos bem superiores às pimentas *C. baccatum* e *C. chinense* (ABDULLAH et al., 2011). Os expressivos valores de atividade antioxidante mostrados pelos extratos dessas pimentas no presente estudo podem estar relacionados a esse fato. Contudo, outros constituintes químicos podem contribuir para esses resultados. Portanto, o uso de uma técnica que permita a análise direta de capsaicinoides nos extratos de pimentas foi fundamental neste trabalho. Por conseguinte, foi feita uma análise comparativa da capsaicina pura dos espectros de RMN  $^1\text{H}$ , Figura 1, e de extratos de pimenta obtidos com 20 e 80% de etanol : água, Figura 2, apresentados por expansões na região de 3,5 a 4,5 ppm. Esses extratos foram escolhidos por apresentar os maiores valores de conteúdo fenólico total, considerando que os capsaicinoides são compostos fenólicos (KOSUGE; FURUTA, 1970; KAWABATA et al., 2006; DONG et al., 2014).

O espectro RMN  $^1\text{H}$ , Figura 1, mostra um sinal em 4,26 ppm atribuído ao  $\text{CH}_2$  adjacente ao grupo amida da capsaicina e aos outros capsaicinoides. Nas expansões presentes na Figura 2, é possível visualizar este sinal muito expressivo no extrato de *C. frutescens* obtido na proporção de 80:20 etanol : água e discretamente no extrato *C. frutescens* 20% e *C. chinense* 80 e 20%. Nos extratos de *C. baccatum*, a visualização não é possível, mas é possível que exista capsaicinoides em concentrações muito baixas, resultado esperado porque, de acordo com a literatura, esta pimenta apresenta menor pungência. A análise da determinação da atividade antioxidante dos extratos mostrou que *C. baccatum* apresentou uma excelente capacidade de redução do ferro para o método FRAP, mas, de acordo com os estudos, outros metabólitos presentes em pimentas também podem exercer essa atividade (GONZÁLEZ-ZAMORA et al., 2013; SWEAT et al., 2016).

**Figura 1:** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  de capsaicina em MeOD



**Figura 2:** Espectro de RMN  $^1\text{H}$  dos extratos de *Capsicum* em MeOD



#### 4. Conclusão

A composição centesimal de *C. frutescens*, *C. baccatum* e *C. chinense* apresentou níveis baixos de lipídios, proteínas e carboidratos, indicando que essas pimentas não são alimentos calóricos ou proteicos. Com relação ao perfil de ácidos graxos da fração lipídica, as três pimentas apresentaram alta concentração de ômega-6 e ômega-3. O ensaio de determinação do conteúdo fenólico total dos extratos mostrou que a melhor extração desses compostos ocorreu na composição 80:20 etanol:água para três pimentas. A análise determinante da atividade antioxidante mostrou que 100% de extratos etanólicos foram mais

eficientes para as três pimentas, com exceção do método FRAP, no qual o extrato aquoso de *C. chinense* se mostrou mais eficiente na atividade de redução do ferro. No que diz respeito à análise de capsaicinoides em extratos usando a RMN  $^1\text{H}$ , foi possível verificar que *C. frutescens* foi a pimenta com maior presença de capsaicina e *C. baccatum* não mostrou quantidades detectáveis deste metabólito, nas condições de obtenção dos extratos. Os solventes utilizados neste estudo mostraram ser eficientes na extração dos compostos bioativos de *Capsicum*, podendo ainda ser aprimorada, modificando algumas condições de extração, como temperatura e tempo.

### Agradecimentos

Os autores agradecem a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e a Universidade Federal da Paraíba (UFPB) pelo suporte financeiro para o desenvolvimento deste trabalho.

### Referências

- ABDULLAH, Z. et al. Determination of Capsaicin and Dihydrocapsaicin in Capsicum Fruit Samples using High Performance Liquid Chromatography. p. 8919–8929, 2011.
- ACTION. Versão 2.4. Licença Pública geral. São Carlos. **ESTATCAMP**, v. Versão 2.4, 2012.
- AOAC. Official Methods of analysis of AOAC International. **Washington, DC.: AOAC International**, v. 19. ed., 2012.
- AUED-PIMENTEL, S. et al. Saturated fatty acids in foodstuffs: comparison of procedures in gas chromatographic analysis. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v. 64, n. 2, p. 167–172, 2005.
- BENNETT, D. J.; KIRBY, G. W. Constitution and biosynthesis of capsaicin. **Journal of the Chemical Society C. Organic**, p. 442–446, 1968.
- BENZIE, I. F. F.; STRAIN, J. J. Ferric reducing/antioxidant power assay: Direct measure of total antioxidant activity of biological fluids and modified version for simultaneous measurement of total antioxidant power and ascorbic acid concentration. **Methods in Enzymology**, v. 299, n. 1995, p. 15–27, 1998.
- BLIGH, E. G.; DYER, W. J. A rapid method for total lipid extraction and purification. **Can.J.Biochem.Physiol.**, v. 37, p. 911–917, 1959.

- BOSLAND, P. W.; VOTAVA, E. J. Pepper vegetable and spice capsicums. **Cambridge: CABI**, v. 2nd ed., 2012.
- BRAND-WILIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Food Science and Technology**, v. 28, p. 25–30, 1995.
- CALIXTO, C. D. et al. Biochemical compositions and fatty acid profiles in four species of microalgae cultivated on household sewage and agro-industrial residues. **Bioresource Technology**, v. 221, p. 438–446, 2016.
- CERVANTES-PAZ, B. et al. Antioxidant activity and content of chlorophylls and carotenoids in raw and heat-processed Jalapeño peppers at intermediate stages of ripening. **Food Chemistry**, v. 146, p. 188–196, 2014.
- CHAOUCHE, T. M. et al. Article original Pharmacognosie In vitro evaluation of antioxidant activity of the hydro-methanolic extracts of *Juniperus oxycedrus* subsp . *oxycedrus*. p. 244–249, 2013.
- COSTA, F. et al. Essential Fatty Acid Assimilation and Synthesis in Larvae of the Bivalve *Crassostrea gigas*. **Lipids**, p. 503–511, 2015.
- DÍAZ, B. et al. Valuable Polyphenolic Antioxidants from Wine Vinasses. 2011.
- DONG, X. et al. LWT - Food Science and Technology Stage extraction of capsaicinoids and red pigments from fresh red pepper ( *Capsicum* ) fruits with ethanol as solvent. **LWT - Food Science and Technology**, v. 59, n. 1, p. 396–402, 2014.
- DUDOGNON, T. et al. Mitochondrial activity , hemocyte parameters and lipid composition modulation by dietary conditioning in the Pacific oyster *Crassostrea gigas*. p. 303–317, 2014.
- GIUFFRIDA, D. et al. Characterization of 12 *Capsicum* varieties by evaluation of their carotenoid profile and pungency determination. **Food Chemistry**, v. 140, n. 4, p. 794–802, 2013.
- GOLCZ, A.; KUJAWSKI, P.; MARKIEWICZ, B. Yielding of red pepper ( *Capsicum annuum* L . ) under the influence of varied potassium fertilization. **Acta scientiarum Polonorum, Hortorum Cultus**, v. 11(4), p. 3–15, 2012.
- GONZÁLEZ-ZAMORA, A. et al. Characterization of Different *Capsicum* Varieties by Evaluation of Their Capsaicinoids Content by High Performance Liquid Chromatography, Determination of Pungency and Effect of High Temperature. p. 13471–13486, 2013.
- HARTMAN, L.; LAGO, R. C. A. Rapid preparation of fatty acid methyl esters from lipids. **Lab. Prac.**, v. 22, p. 475–476, 1973.
- HURSEL, R. Thermogenic ingredients and body weight regulation. **International Journal of Obesity**, v. 34, n. 4, p. 659–669, 2010.

- INSTITUTE OF MEDICINE. Food and Nutrition Board. Dietary Reference Intakes. **National Academic Press, Washington D.C.**, 2001.
- JARRET, R. L. et al. Seed oil and fatty acid composition in *Capsicum* spp. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 30, n. 2, p. 102–108, 2013.
- JORGE, N.; VERONEZI, C. M.; PEREIRA, D. C. Extracts of red peppers: antioxidant activity and sensory evaluation. **Nutrition & Food Science**, v. 46, n. 2, p. 228–236, 2016.
- KAWABATA, F. et al. Effects of CH-19 sweet, a non-pungent cultivar of red pepper, in decreasing the body weight and suppressing body fat accumulation by sympathetic nerve activation in humans. **Bioscience, biotechnology, and biochemistry**, v. 70, n. 12, p. 2824–2835, 2006.
- KOSUGE, S.; FURUTA, M. Studies on the Pungent Principle of *Capsicum*. **Agricultural and Biological Chemistry**, v. 34, n. February 2015, p. 248–256, 1970.
- KWON, K. et al. Solubility of red pepper (*Capsicum annuum*) oil in near- and supercritical carbon dioxide and quantification of capsaicin. v. 28, n. 6, p. 1433–1438, 2011.
- LAVECCHIA, T. et al. Healthy and Adverse Effects of Plant-Derived Functional Metabolites: The Need of Revealing their Content and Bioactivity in a Complex Food Matrix. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 53, n. 2, p. 198–213, 2013.
- LOIZZO, M. R. et al. Evaluation of chemical profile and antioxidant activity of twenty cultivars from *Capsicum annuum*, *Capsicum baccatum*, *Capsicum chacoense* and *Capsicum chinense*: A comparison between fresh and processed peppers. **LWT - Food Science and Technology**, v. 64, n. 2, p. 623–631, 2015.
- LOWRY, O. H. et al. Protein measurement with the folin-phenol reagent. **Journal of Biology and Chemistry**, p. 193:265-75, 1951.
- MARIA DE LOURDES REYES-ESCOGIDO; GONZALEZ-MONDRAGON, E. G.; VAZQUEZ-TZOMPANTZI, E. Chemical and pharmacological aspects of capsaicin. **Molecules**, v. 16, n. 2, p. 1253–1270, 2011.
- MEGHVANSI, M. K. et al. A potential source of capsaicinoids with broadspectrum ethnopharmacological applications. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 132(1), p. 1–14, 2010.
- MENEZES, R. S. et al. Evaluation of fatty acid composition of the microalgae *Choricystis minor* var. *minor* according to two different nutrient feeding strategies. **Journal of Renewable and Sustainable Energy** 7, v. 43117, 2015.
- MILLER, G. L. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. **Analytical Chemistry**, v. 31, p. 426, 1959.
- MÜLLER, L.; FRÖHLICH, K.; BÖHM, V. Comparative antioxidant activities of carotenoids

- measured by ferric reducing antioxidant power ( FRAP ), ABTS bleaching assay ( a TEAC ), DPPH assay and peroxy radical scavenging assay. v. 129, p. 139–148, 2011.
- NAZARI, F. et al. Multivariate optimisation of microwave-assisted extraction of capsaicin from *Capsicum frutescens* L. and quantitative analysis by <sup>1</sup>H-NMR. **Phytochemical Analysis**, v. 18, n. 4, p. 333–340, 2007.
- PAULI, G. F. et al. Quantitative <sup>1</sup>H NMR: Development and Potential of an Analytical Method – an Update. **J Nat Prod**, v. 75(4), p. 834–851, 2013.
- PEÑA-ALVAREZ, A.; RAMÍREZ-MAYA, E.; ALVARADO-SUÁREZ, L. Á. Analysis of capsaicin and dihydrocapsaicin in peppers and pepper sauces by solid phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1216, n. 14, p. 2843–2847, 2009.
- QIN, C. et al. Whole-genome sequencing of cultivated and wild peppers provides insights into *Capsicum* domestication and specialization. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 111, n. 14, p. 5135–5140, 2014.
- RE, R. et al. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 26, p. 1231–1237, 1999.
- REDDY, U. K. et al. Identification of Gene-Specific Polymorphisms and Association with Capsaicin Pathway Metabolites in *Capsicum annuum* L. Collections. v. 9, n. 1, 2014.
- RICHINS, R. D. et al. A “green” extraction protocol to recover red pigments from hot capsicum fruit. **HortScience**, v. 45, n. 7, p. 1084–1087, 2010.
- ROSSI, J. A.; SINGLETON, V. L. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 16, n. 3, p. 144–158, 1965.
- SANATOMBI, K.; G.J.SHARMA. Capsaicin Content and Pungency of Different *Capsicum* spp. Cultivars. **Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca**, v. 36, n. 2, p. 89–90, 2008.
- SANTOS, P. et al. Supercritical carbon dioxide extraction of capsaicinoids from malagueta pepper (*Capsicum frutescens* L.) assisted by ultrasound. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 22, p. 78–88, 2015.
- SOUDANT, P. et al. Separation of major polar lipids in *Pecten maximus* by high-performance liquid chromatography and subsequent determination of their fatty acids using gas chromatography. **J.Chromatogr B-Biomed. Appl.**, v. 673, p. 15–26, 1995.
- SWEAT, K. G. et al. Variability in capsaicinoid content and Scoville heat ratings of commercially grown Jalapeño , Habanero and Bhut Jolokia peppers. **Food Chemistry**, v. 210,

p. 606–612, 2016.

USDA-ARS. Grin species records of Capsicum. **National Germplasm Resources**

**Laboratory**, p. 2063, 2011.

## ARTIGO 2

### EXTRATOS HIDROALCOÓLICOS DE *CAPSICUM CHINESE*, *CAPSICUM FRUTESCENS* E *CAPSICUM BACCATUM*: CONTEUDO DE CAPSAICINOIDES, PERFIL TÉRMICO E AVALIAÇÃO DO EFEITO ANTIOXIDANTE NO ÓLEO DE SOJA

Vânia M. B. Silva<sup>1</sup>, Vilma B. S. Araújo<sup>1</sup>, Antônia L. Souza<sup>1,2\*</sup>

\* Autor para correspondência. E-mail: antonia\_lucia@yahoo.com.br, Phone: +55 (83) 32167441

<sup>1</sup>Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Centro de Tecnologia, Campus I, Universidade Federal da Paraíba, CEP 58051-900 João Pessoa, Paraíba, Brasil.

<sup>2</sup>Programa de Pós-graduação em Química, Centro de Ciências Exatas e da Natureza, Campus I, Universidade Federal da Paraíba, CEP 58051-900 João Pessoa, Paraíba, Brasil.

#### Resumo

Capsaicinoides são metabólitos secundários presentes em pimentas do gênero *Capsicum*. Estas substâncias além de serem responsáveis pela pungência dos frutos também confere a estes propriedades antioxidantes entre outras atividades biológicas. O presente trabalho investigou a presença de capsaicinoides em extratos hidroetanólicos de três pimentas do gênero *Capsicum*: *Capsicum*: *C. frutescens*, *C. chinense* e *C. baccatum* usando a espectroscopia do infravermelho, avaliou o perfil térmico dos extratos por termogravimetria (TG/DTG) e determinou o efeito da adição destes extratos na estabilidade oxidativa do óleo de soja por meio do método rancimat. A avaliação dos espectros de infravermelho mostrou que o extrato de *C. frutescens* foi o que apresentou maior expressão das bandas de absorção associadas à presença de capsaicinoides. Os períodos de indução oxidativa obtidos na análise de rancimat mostraram que todos os extratos aumentaram a estabilidade oxidativa do óleo a partir da concentração de 200 mg.kg<sup>-1</sup>, e o extrato da pimenta *C. frutescens* foi o mais efetivo. Os extratos misturados com o antioxidante sintético tert-butilhidroquinona (TBHQ) mostraram sinergismos em todas as combinações avaliadas no estudo, sendo que a composição mais efetiva foi (100 mg.kg<sup>-1</sup> TBHQ + 100 mg.kg<sup>-1</sup> *C. baccatum*) chegando mais eficiente do que o TBHQ na concentração de 200 mg.kg<sup>-1</sup>, a máxima permitida em óleos comestíveis no Brasil. Análise das curvas termogravimétricas dos extratos permitiram inferir que estes são estáveis até 200 °C, temperatura onde se inicia a primeira etapa de perda de

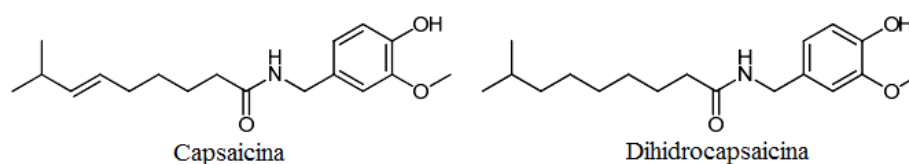
massas nos extratos, mostrando que a temperatura de 110 °C não influenciou no resultado do rancimat.

**Palavras-chaves:** Pimentas *Capsicum*, Capsaicinoides, Perfil térmico, Perfil antioxidante

## Introdução

O gênero *Capsicum* compreende mais de 200 variedades de pimentas. As principais espécies representantes do gênero são: *Capsicum annuum*, *Capsicum baccatum*, *Capsicum chinense*, *Capsicum frutescens* e *Capsicum pubescens* [1]. Pimentas *Capsicum* são frutos consumidos em todo o mundo e de várias formas: *in natura*, secos, cozidos com alimentos, molhos, gelatinas e em uma quantidade significativa de produtos industriais [2-4].

Estas pimentas são caracterizadas pela presença de capsaicinoides, substâncias químicas responsáveis pela pungência, propriedade sensorial que torna estes frutos tão apreciados junto aos consumidores. Em relação à natureza química, os capsaicinoides são metabólitos secundários da classe de alcaloides produzidos apenas em frutos de *Capsicum*. Estruturalmente, são amidas formadas a partir de condensação de vanililamina e ácidos graxos com cadeias de 9 a 11 átomos de carbono [5, 6]. A capsaicina ou N-[(4-hidroxi-3-metoxibenzil]-8-metil-*trans*-6-nonenamida e a dihidrocapcapsaicina, Fig. 1, são os principais capsaicinoides das pimentas. Estas substâncias são os capsaicinoides mais potentes e seus conteúdos representam um fator de qualidade comercial das pimentas [18-21].



**Fig. 1** Estrutura química da capsaicina e Dihidrocapsaicina, principais capsaicinoides presentes nas pimentas *Capsicum*.

Os capsaicinoides são compostos químicos importantes para as indústrias alimentícia e farmacêutica, conferindo deste modo grande importância comercial às pimentas. Além dos capsaicinoides, as pimentas também são fontes de fitonutrientes, como carotenóides, ácidos fenólicos, flavonoides e antocianinas [7], e o conjunto destas substâncias proporcionam potente atividade antioxidante às pimentas [8-13].

A oleoresina é o nome dado aos extratos de pimentas contendo os constituintes químicos discutidos acima, especialmente os capsaicinoides. Na obtenção dos extratos são utilizados solventes como: clorofórmio, hexano, acetona, éter etílico, etanol, 2-propanol, entre outros. Considerando a natureza química dos capsaicinoides e demais constituintes químicos bioativos presentes nas pimentas, possivelmente os solventes de polaridade mais baixa são os mais indicados na extração destes compostos. Entretanto, considerando os aspectos de toxicidade dos solventes orgânicos para o consumo humano, alguns estudos têm abordado o uso do etanol, solvente orgânico de baixa toxicidade, e a água, na obtenção dos extratos de pimentas [14-17].

O uso de extratos de plantas ricas em antioxidantes para melhorar a estabilidade oxidativa de óleos comestíveis ganhou cada vez mais espaço na indústria de alimentos e tem sido objeto de várias pesquisas científicas [24-29]. Um número considerável de trabalhos avaliando a capacidade antioxidante de extratos de pimentas *Capsicum* através do emprego de métodos clássicos como a captura dos radicais livres DPPH, radicais de cátions ABTS,  $\beta$ -caroteno e teste de redução do ferro (FRAP) [4, 22, 23]. Nenhum estudo tem abordado o uso de extratos de pimentas em óleos comestíveis nem tão pouco. Este fato é surpreendente, já que as pimentas *Capsicum* são as especiarias mais utilizadas nos alimentos. No Brasil, por exemplo, é muito comum a preparação de molhos artesanais com pimenta adicionadas ao óleo de soja. No entanto, há uma ausência de estudos que avaliem o efeito da adição de pimentas e/ou extratos sobre a estabilidade oxidativa dos lipídios dos alimentos.

Na quantificação de capsaicinoides em extratos de pimentas, os métodos mais utilizados são a cromatografia líquida de alta performance (HPLC) e cromatografia em fase gasosa (CG). Estes métodos, embora eficientes, são extremamente laboriosos [30], tornando a busca por novas metodologias uma constante. A espectroscopia na região infravermelha, por sua vez, é uma técnica analítica extremamente prática. É feito diretamente na amostra, não requer etapas longas de preparação, não necessita de solventes especiais e é rápida. É ideal para a análise qualitativa dos constituintes de uma mistura, mas também pode ser usada para fins quantitativos [31, 32]. Poucos estudos aplicaram esta técnica no estudo da composição de oleorresinas, embora já exista na literatura várias aplicações da técnica na investigação de metabólitos em misturas.

No presente estudo, a espectroscopia na região do infravermelho foi utilizada para investigar a presença de capsaicinoides nos extratos hidroalcoólicos de três pimentas *Capsicum*. O trabalho também focalizou a avaliação térmica dos extratos por

termogravimetria e o efeito da adição dos mesmos na estabilidade oxidativa do óleo de soja por meio do método Rancimat.

## **Experimental**

### **Materiais**

Padrão de capsaicina 95% de pureza e o etanol de grau analítico foram adquiridos de Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, EUA). As variedades de pimentas do gênero *Capsicum* - Pimenta Malagueta (*C. frutescens*), Pimenta de cheiro (*C. chinense*) e Pimenta Dedo-de-Moça (*C. baccatum*) e óleo de soja refinado sem aditivos antioxidantes, foram adquiridos do comércio local da cidade de João Pessoa-Paraíba, Brasil.

### **Métodos**

#### *Material vegetal*

O material vegetal de cada variedade de pimenta foi higienizado, os pêndulos e as folhas foram removidas e triturado em um processador Pratic Blend DLB 300 da marca Cadence. O material resultante foi armazenado na geladeira até a realização das etapas posteriores.

#### *Obtenção dos extratos hidroalcoólicos*

O material vegetal (pimentas) obtido na etapa anterior foi seco em estufa com circulação forçada de ar até secagem completa verificada através da determinação da massa constante. Em seguida 10 g de cada pimenta foram submetidos a extração com a mistura de solvente etanol/água 8:2 e agitados a 200 rpm a 40 °C por 60 minutos. O solvente foi removido em rotaevaporador rotativo a uma temperatura de 80 °C. Os extratos das pimentas isentos de solventes apresentaram aspecto oleoso de cor amarela. Os mesmos foram embalados em recipientes de vidro âmbar e acondicionados em refrigerador para as análises posteriores.

#### *Obtenção dos espectros de infravermelho*

Os espectros de absorção na região do infravermelho foram obtidos em um espectrofotômetro infravermelho com transformada de Fourier, modelo FTIR Prestige-21, Shimadzu. As amostras foram analisadas pelo método ATR (Attenuated Total Reflectance) com varredura na região de 600 a 4000  $\text{cm}^{-1}$ .

#### *Estabilidade oxidativa pelo método Rancimat*

A estabilidade oxidativa das amostras do óleo de soja aditivado com os extratos das pimentas nas concentrações de 50, 100 e 200  $\text{mg.kg}^{-1}$  e com a combinação antioxidante *tert*-butil-hidroquinona (TBHQ + extratos) nas concentrações de (50  $\text{mg.kg}^{-1}$  TBHQ + 50  $\text{g.kg}^{-1}$  de extrato) e (100  $\text{mg.kg}^{-1}$  TBHQ + 100  $\text{g.kg}^{-1}$  de extrato) foi determinada de acordo com o método oficial AOCS cd 12b-92 AOCS 1997, em um equipamento Biodiesel Rancimat 873 da Metrohm. Foram usados 2 g de óleo a 110 °C e fluxo de ar constante de 10  $\text{L.h}^{-1}$ . O resultado, expresso em período de indução (PI) em horas, foi determinado automaticamente a partir do ponto de inflexão da curva de condutividade da água usando o software que acompanha o equipamento.

#### *Análise térmica*

As curvas termogravimétricas não-isotérmicas (TG) foram obtidas em um Analisador Térmico Shimadzu, DTA-TG Simultâneo, DTG modelo H-60, em atmosfera de ar sintético, a uma taxa de aquecimento de 10  $^{\circ}\text{C.min}^{-1}$  usando 10 mg de amostra aquecida sobre uma faixa de temperatura de 25-1000 °C.

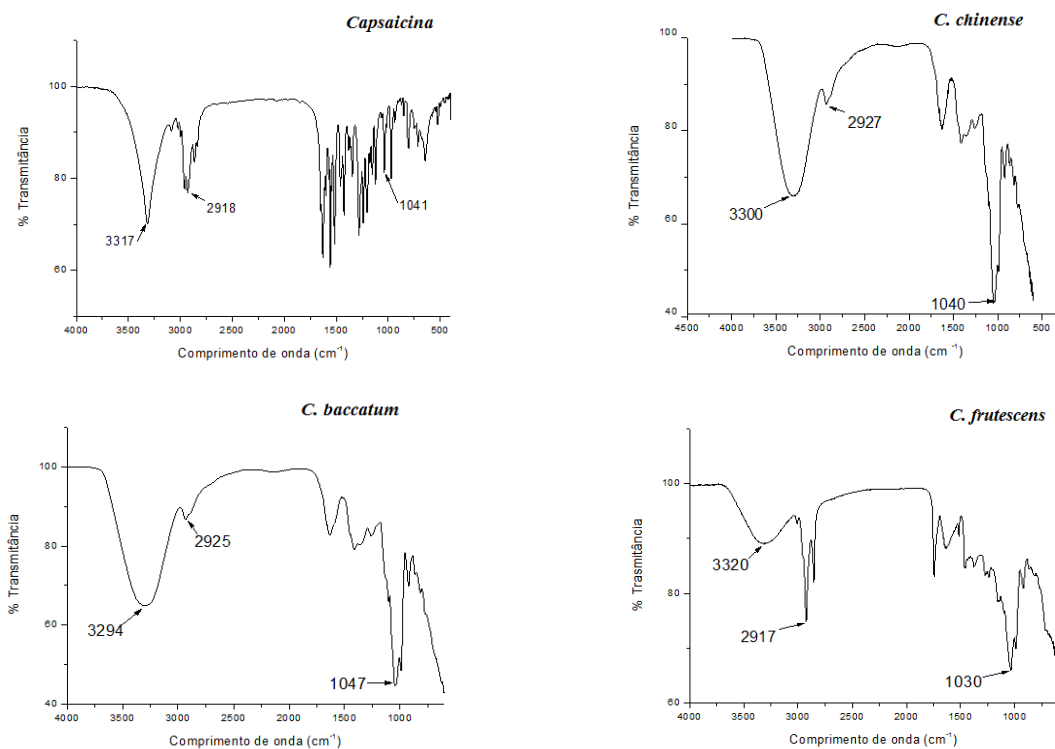
## **Resultados e discussão**

### **Identificação da Capsaicina e Capsaicinoides**

A identificação da capsaicina e capsaicinoides nos extratos das pimentas utilizando espectroscopia na região infravermelha baseou-se na análise das bandas de absorção presentes no espectro infravermelho de capsaicina pura, Fig. 2, levando em consideração as absorções características da grupos fenólico, amida e cadeia alifática. A banda de absorção centrada em 3.317  $\text{cm}^{-1}$  atribuída ao estiramento da ligação O-H e N-H, evidenciou as presenças da

hidroxila fenólica e da função amida presente na estrutura da capsaicina. A banda de absorção a  $2.918\text{ cm}^{-1}$ , estiramento de C-H alifático, foi atribuída à cadeia hidrofóbica da capsaicina. A análise dos espectros dos extratos de *C. baccatum* e *C. chinense* mostrou uma banda de absorção mais larga na região de estiramento O-H/N-H quando comparada à banda de absorção na mesma região no espectro da capsaicina e foi atribuída a uma sobreposição de bandas da mesma natureza relativa a grupos O-H de outros capsaicinoides e dos demais compostos fenólicos presentes nos extratos [4].

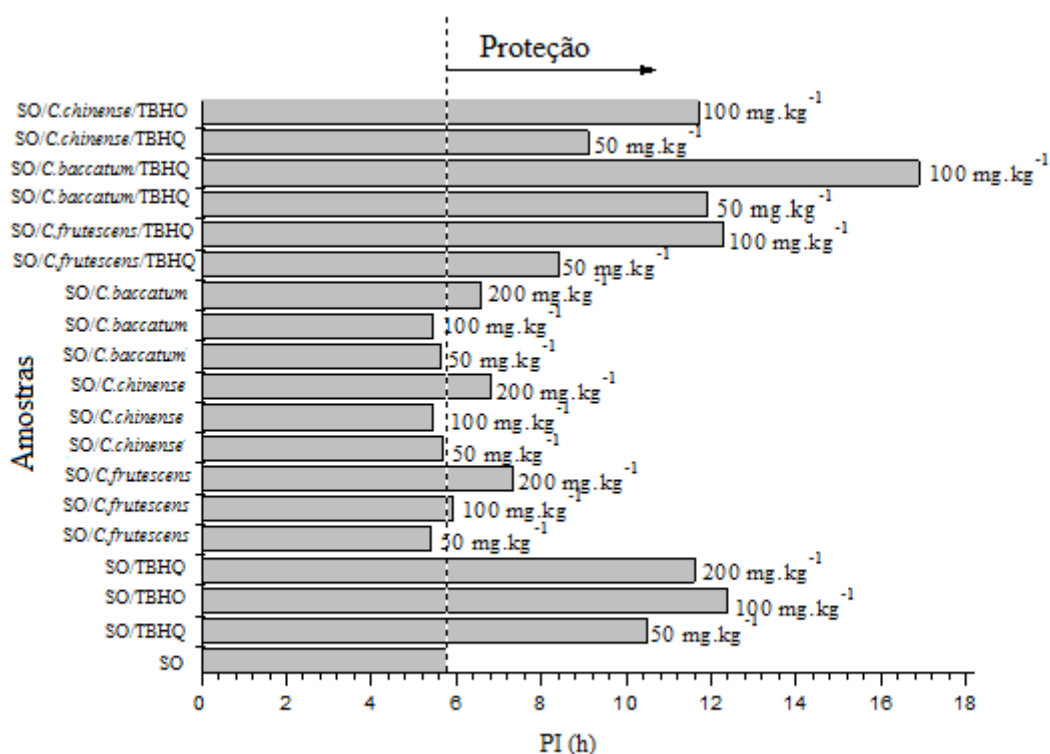
A semelhança entre espectros infravermelhos dos extratos das pimentas *C. chinense* e *C. baccatum* foi bastante expressiva, especialmente na comparação da intensidade da banda de absorção característica da ligação C-O a  $1.047\text{ cm}^{-1}$  em *C. baccatum* e  $1.040\text{ cm}^{-1}$  em *C. chinense*. Foi observada também semelhança expressiva entre as bandas de absorção do extrato de *C. frutescens* e da capsaicina, levando a sugerir uma maior proporção desta substância na referida pimenta. Este fato é corroborado pela literatura que relata maior pungência nesta pimenta em comparação com as outras duas avaliadas neste trabalho [33]. Quanto ao teor de capsaicina nos extratos, a análise infravermelha neste estudo não foi utilizada com esta finalidade, embora a técnica também permita quantificar um analito [31].



**Fig. 2** Espectros de absorção de infravermelho da capsaicina (a) e extratos hidroalcoólicos de pimentas *Capsicum*: (b) *C. chinense*; (c) *C. baccatum* e (d) *C. frutescens*.

## Estabilidade oxidativa

O estudo da estabilidade oxidativa do óleo de soja dopado com os extratos de pimentas *Capsicum* se encontra sumarizado na Fig. 3. De acordo com esta é possível observar que na concentração de  $50 \text{ mg.kg}^{-1}$ , os extratos não apresentaram efeito protetor no óleo de soja, mas também não exerceram efeito pró-oxidante, considerando que a pequena diferença nos valores dos períodos de indução podem estar relacionado ao erro da análise. O mesmo ocorre com o PI obtido para o óleo aditivado com o extrato de *C. frutescens* na concentração de  $100 \text{ mg.kg}^{-1}$ . Utilizando a concentração  $200 \text{ mg.kg}^{-1}$  todos os extratos se mostraram eficientes e o melhor resultado foi obtido com *C. frutescens*, a pimenta com maior conteúdo de capsaicina, de acordo com a análise de infravermelho e corroborado pela literatura [34].



**Fig. 3** Efeito antioxidante dos extratos de *C. frutescens*, *C. baccatum* e *C. chinense* no óleo de soja refinado pelo método Rancimat.

As amostras de óleo aditivadas com a composição extrato/TBHQ mostraram resultados bastante promissores. Foi observado sinergismo em todas as combinações avaliadas e o melhor resultado foi obtido na combinação ( $100 \text{ mg.kg}^{-1}$  do extrato de *C. baccatum* + TBHQ  $100 \text{ mg.kg}^{-1}$ ), com período de indução (IP) 16,89 h, que foi superior ao valor PI obtido para o antioxidante sintético TBHQ (11,16 h) na concentração de  $200 \text{ mg.kg}^{-1}$ , a concentração limite para uso em óleos comestíveis de acordo com a legislação vigente no

Brasil. Cabe ressaltar que existe um consenso em relação ao possível efeito nocivo dos antioxidantes sintéticos, e em países como o Canadá e na Comunidade Europeia, o uso de TBHQ em alimentos não é permitido, embora este seja um dos antioxidantes mais eficazes em vegetais óleos [ 35, 36].

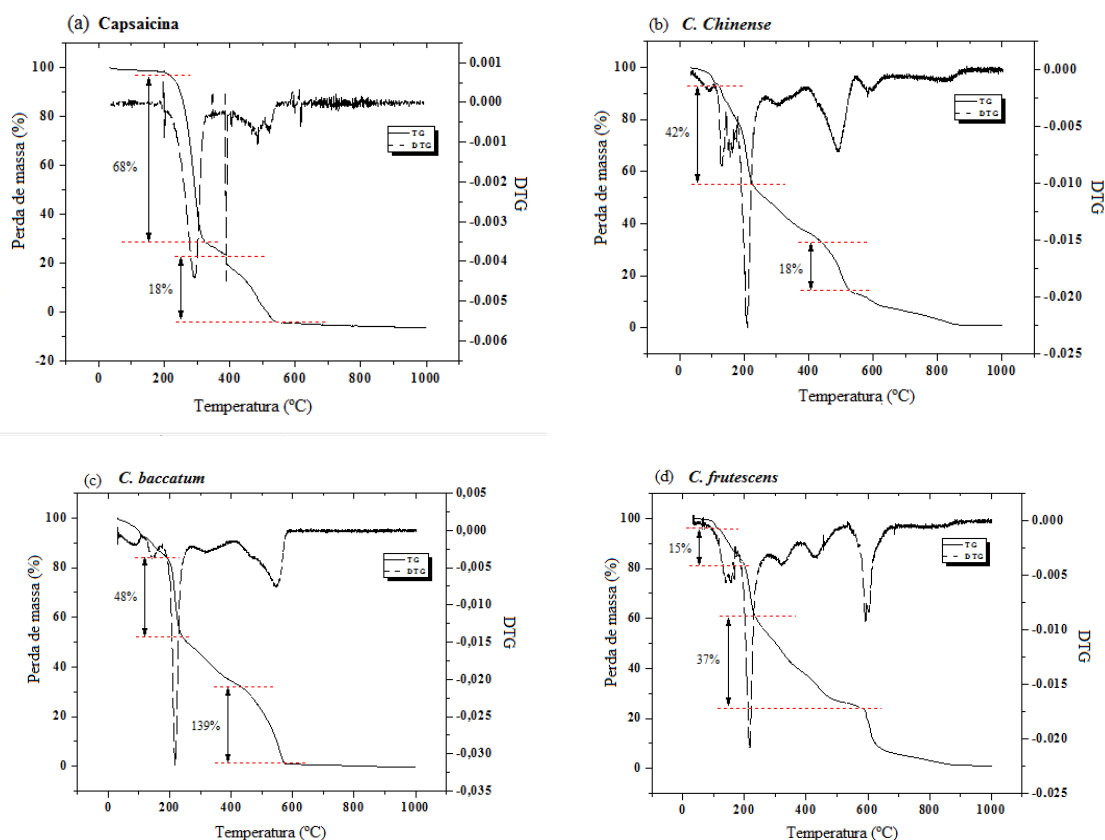
Na determinação da estabilidade oxidativa pelo método Rancimat, a amostra é envelhecida em condições drásticas, usando altas temperaturas e atmosfera oxidante. Na técnica são determinados os produtos secundários da oxidação lipídica, os quais provocam o aumento da condutividade da água. Em amostras que contêm substâncias de baixo ponto de ebulição, podem ocorrer resultados falsos positivos, nos quais o período de indução se dá pela vaporização destas substâncias na temperatura em que a análise é conduzida. Resultados falsos positivos foram verificados quando do uso do antioxidante sintético butil-hidroxitolueno (BHT) usando a mesma técnica [37], podendo também ocorrer com outras substâncias adicionadas aos óleos. Por se tratar do primeiro estudo aplicando extratos de pimentas em óleos, foi também avaliado o comportamento térmico dos extratos para prever possíveis interferências de componentes mais voláteis.

### **Avaliação do perfil térmico**

O comportamento térmico dos extratos de pimenta foi investigado por meio da análise termogravimétrica (TG). As curvas termogravimétricas são mostradas na Fig. 4. O perfil térmico da capsaicina pura também foi avaliado, pois é considerado o principal componente químico das pimentas, embora a substância pura não tenha sido avaliada na estabilidade oxidativa do óleo de soja.

De acordo com as curvas termogravimétricas, é possível observar que a substância capsaicina apresenta três estágios de perda de massa, onde o primeiro passo ocorre após 100 °C, mas as curvas termogravimétricas dos extratos mostram um comportamento diferente com perda de massa antes de 100 °C. Considerando este fato, o método Rancimat não seria a técnica mais indicada na avaliação do efeito protetor destes. No entanto, não houve efeito pró-oxidante dos extratos no óleo de soja, sugerindo que esta perda inicial de massa pode ser atribuída à presença de água, pois estes são extratos hidroalcoólicos e embora o material vegetal tenha sido seco, mas posteriormente pode ter ocorrido absorção de água. O segundo estágio de perda em massa dos extratos pode ser atribuído à volatilização de seus constituintes químicos. Tanto nos extratos quanto na capsaicina, esta etapa ocorreu próximo de 200 °C, o que indica uma avaliação segura deles como aditivos antioxidantes pelo método Rancimat.

Embora o TBHQ tenha sido usado como um controle positivo no presente estudo, não foi avaliado o comportamento térmico deste antioxidante neste estudo, uma vez que já existem relatos na literatura a cerca de um estudo da estabilidade térmica do mesmo [38].



**Fig. 4** Curvas termogravimétricas (TG / DTG) de capsaicina e extratos hidroalcoólicos de *C. frutescens*, *C. baccatum*, e *C. chinense* em modo dinâmico.

## Conclusão

Através da análise de espectroscopia na região do infravermelho, foi possível verificar que os extratos das pimentas *Capsicum* apresentaram quantidades relevantes de capsaicinoides, indicando que, embora essas substâncias tenham um caráter hidrofóbico, é possível extraí-las usando solventes hidroalcoólicos, embora em pequenas proporções. Quanto ao uso desses extratos como aditivos antioxidantes no óleo de soja, os dados do período de indução obtidos pelo método Rancimat se mostraram bastante promissores, especialmente nas formulações contendo o TBHQ e os extratos. A análise termogravimétrica dos extratos indicou que estes não sofreram decomposição significativa na temperatura utilizada no

método rancimat, portanto, não houve interferências no resultado das análises de avaliação do efeito antioxidante dos extratos.

### Agradecimentos

Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio financeiro.

### Referências

1. Menichini, F., et al., *The influence of fruit ripening on the phytochemical content and biological activity of Capsicum chinense Jacq. cv Habanero*. Food Chemistry, 2009. **114**(2): p. 553-560.
2. Cervantes-Paz, B., et al., *Antioxidant activity and content of chlorophylls and carotenoids in raw and heat-processed Jalapeno peppers at intermediate stages of ripening*. Food Chem, 2014. **146**: p. 188-96.
3. Giuffrida, D., et al., *Characterization of 12 Capsicum varieties by evaluation of their carotenoid profile and pungency determination*. Food Chem, 2013. **140**(4): p. 794-802.
4. Loizzo, M.R., et al., *Evaluation of chemical profile and antioxidant activity of twenty cultivars from Capsicum annum, Capsicum baccatum, Capsicum chacoense and Capsicum chinense: A comparison between fresh and processed peppers*. LWT - Food Science and Technology, 2015. **64**(2): p. 623-631.
5. Arora R, G.N.S., Chauhan G, Rana A C, *An Overview about Versatile Molecule Capsaicin*. International Journal of Pharmaceutical Sciences and Drug Research, 2011. **3**(4): p. 280-286.
6. ROLAND THIELE, E.M.-S., AND MICHAEL PETZ, *Chili Pepper Fruits: Presumed Precursors of FattyAcids Characteristic for Capsaicinoids*. J. Agric. Food Chem., 2008. **56**: p. 4219–4224.
7. KRZYZANOWSKA, J.C., A; Oleszek, W. , *Dietary phytochemicals and human health*. Advances in Experimental Medicine and Biology, 2010. **698**: p. 74 and 98.
8. Bosland, P.W. and E.J. Votava, *Pepper vegetable and spice capsicums*. Cambridge: CABI, 2012. **2nd ed.**

9. Francisco Delgado-Vargas, O.P.-L., *Natural colorants for food and nutraceutical uses*. Library of Congress Cataloging-in-Publication Data, 2003.
10. Kwon, K.-T., et al., *Solubility of red pepper (Capsicum annuum) oil in near- and supercritical carbon dioxide and quantification of capsaicin*. Korean Journal of Chemical Engineering, 2011. **28**(6): p. 1433-1438.
11. Luo, X.J., J. Peng, and Y.J. Li, *Recent advances in the study on capsaicinoids and capsinoids*. Eur J Pharmacol, 2011. **650**(1): p. 1-7.
12. Reddy, U.K., et al., *Identification of gene-specific polymorphisms and association with capsaicin pathway metabolites in Capsicum annuum L. collections*. PLoS One, 2014. **9**(1): p. e86393.
13. Kalidas Shetty, M.W., *A model for the role of the proline linked pentose-phosphate pathway in phenolic phytochemical biosynthesis and mechanism of action for human health and environmental applications*. Asia Pacific J Clin Nutr, 2004. **13** (1): p. 1-24.
14. Gonzalez-Zamora, A., et al., *Characterization of different Capsicum varieties by evaluation of their capsaicinoids content by high performance liquid chromatography, determination of pungency and effect of high temperature*. Molecules, 2013. **18**(11): p. 13471-86.
15. Dong, X., et al., *Stage extraction of capsaicinoids and red pigments from fresh red pepper (Capsicum) fruits with ethanol as solvent*. LWT - Food Science and Technology, 2014. **59**(1): p. 396-402.
16. Meghvansi, M.K., et al., *A potencial source of capsaicinoids with broadspectrum ethnopharmacological applications*. Journal of Ethnopharmacology, 2010. **132**(1): p. 1-14.
17. Hursel, R. and M.S. Westerterp-Plantenga, *Thermogenic ingredients and body weight regulation*. Int J Obes (Lond), 2010. **34**(4): p. 659-69.
18. Kawabata, F., et al., *Effects of CH-19 sweet, a non-pungent cultivar of red pepper, in decreasing the body weight and suppressing body fat accumulation by sympathetic nerve activation in humans*. Biosci Biotechnol Biochem, 2006. **70**(12): p. 2824-35.
19. Kosuge, S. and M. Furuta, *Studies on the Pungent Principle of Capsicum: Part XIV Chemical Constitution of the Pungent Principle*. Agricultural and Biological Chemistry, 1970. **34**(2): p. 248-256.
20. Cisnerospineda, O., et al., *Capsaicinoids quantification in chili peppers cultivated in the state of Yucatan, Mexico*. Food Chemistry, 2007. **104**(4): p. 1755-1760.

21. SANATOMBI K and G.J. SHARMA, *Capsaicin Content and Pungency of Different Capsicum spp. Cultivars*. Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca, 2008. **36** (2)( , ): p. 89-90.
22. Bae, H., et al., *Variation of antioxidant activity and the levels of bioactive compounds in lipophilic and hydrophilic extracts from hot pepper (Capsicum spp.) cultivars*. Food Chem, 2012. **134**(4): p. 1912-8.
23. Chuah, A.M., et al., *Effect of cooking on the antioxidant properties of coloured peppers*. Food Chemistry, 2008. **111**(1): p. 20-28.
24. Nascimento, J.A., et al., *Ethanollic extracts of Moringa oleifera Lam*. Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, 2013. **114**(2): p. 833-838.
25. Cordeiro AMTM, M.M., Santos NA, Soledade L.E.B, Pontes LFBL, Souza AL, Queiroz N, Souza AG., *Rosemary (Rosmarinus officinalisL.) extract: Thermal study and evaluation of the antioxidante effect on vegetable oils*. J Therm Anal Calorim., 2013. **113**: p. 889-95.
26. Nascimento JA, A.K., Epaminondas PS, Pontes ALS, Souza AL, Queiroz N, Souza AG. , *Ethanolics extracts of Moringa: Antioxidant effect in soybean oil by PDSC and Rancimat*. J Therm Anal Calorim., 2014. **117**: p. 265-68.
27. Bastida, S., et al., *Antioxidant activity of Carob fruit extracts in cooked pork meat systems during chilled and frozen storage*. Food Chemistry, 2009. **116**(3): p. 748-754.
28. Naveena, B.M., et al., *Antioxidant activity of pomegranate rind powder extract in cooked chicken patties*. International Journal of Food Science & Technology, 2008. **43**(10): p. 1807-1812.
29. Lara, M.S., et al., *Evaluation of two natural extracts (Rosmarinus officinalis L. and Melissa officinalis L.) as antioxidants in cooked pork patties packed in MAP*. Meat Sci, 2011. **88**(3): p. 481-8.
30. Schmidt, A., et al., *Quantitation of capsaicinoids in different chilies from Austria by a novel UHPLC method*. Journal of Food Composition and Analysis, 2017. **60**: p. 32-37.
31. C. KYOMUGASHD, S.C., A. SHPIGELMAN, A.M.V. LORY, MEHENDRICKX, Food Chem, 2015. **176**: p. 82-89.
32. Y. LIU, G.J.Z., S.O. SUN, J. NODA, J. PHARM, 2010. **52**: p. 631-635.
33. González-Zamora, A., et al., *Measurement of Capsaicinoids in Chiltepin Hot Pepper: A Comparison Study between Spectrophotometric Method and High Performance Liquid Chromatography Analysis*. Journal of Chemistry, 2015. **2015**: p. 1-10.

34. AOCS, *Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society: Fats, Oils and Lipid Related Analytical Methods*. Champaign, USA, 2009. **6 ed.**
35. Halliwell, B., *ANTIOXIDANTS IN HUMAN HEALTH AND DISEASE*. *Anna Rev. Nutr.*, 1996. **16**: p. 33-50.
36. Valéria Cristina Ramalho, N.J., *ANTIOXIDANTES UTILIZADOS EM ÓLEOS, GORDURAS E ALIMENTOS GORDUROSOS*. *Quim. Nova*, 2006. **Vol. 29, No. 4**.
37. CORDEIRO, A.M.T.M.M., M. L.; SANTOS, N. A.; SOLEDADE, L. E. B.; PONTES, L. F. B. L.; SOUZA, A. L.; QUEIROZ, N.; SOUZA, A. G., *Rosemary (Rosmarinus officinalis L.) extract: thermal study and evaluation of the effect on vegetable oils*. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 7 nov. 2012. **113**: p. 889–895.
38. SANTOS, N.A.C., A. M. T. M.; DAMASCENO, S. S.; AGUIAR, R. T.; ROSENHAIM, R.; CARVALHO FILHO, J. R.; SANTOS, I. M. G.; MAIA, A. S.; SOUZA, A. G., *Commercial antioxidants and thermal stability evaluations*. *Fuel*97, 2012: p. 638-643.