

CARACTERITZACIÓ I CLASSIFICACIÓ DE MOSTRES DE PEBRE VERMELL AMB DENOMINACIÓ D'ORIGEN PROTEGIDA PER HPLC-UV



Miriam Aragó⁽¹⁾, Alejandro Gámez⁽¹⁾, Núria Serrano⁽¹⁾, Oscar Nuñez^(1,2,3)

⁽¹⁾ Departament d'Enginyeria Química i Química Analítica, Universitat de Barcelona, Martí i Franquès, 1-11, 08028 Barcelona, Espanya

⁽²⁾ Institut de Recerca en Nutrició i Seguretat Alimentària, Universitat de Barcelona, Santa Coloma de Gramenet, Barcelona, Espanya

⁽³⁾ Professor Agregat Serra Húnter, Generalitat de Catalunya, Espanya

E-mail: miriara2@hotmail.com



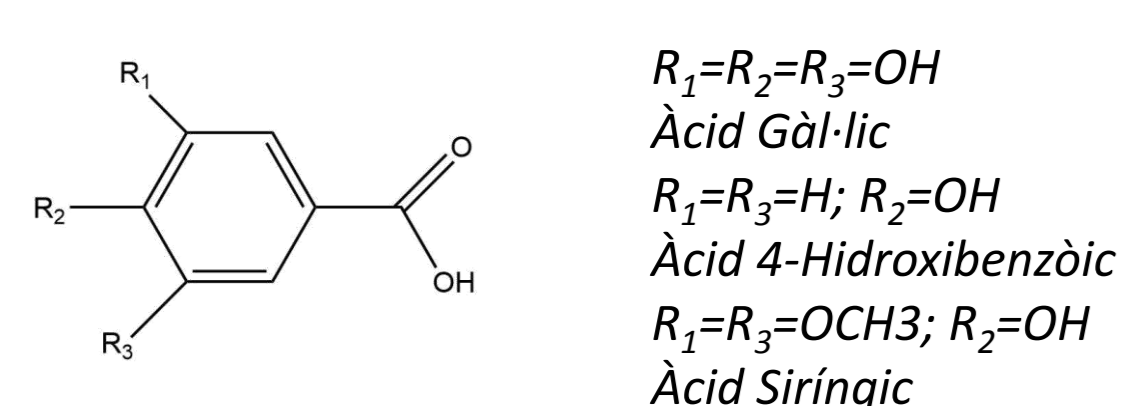
En els darrers anys hi ha hagut un gran interès en la qualitat dels productes naturals. Molts d'aquests productes obtinguts a partir de fruites i verdures tenen, a més, propietats beneficioses a causa de la presència de substàncies bioactives com ara els polifenols. Aquests compostos són metabòlits secundaris aromàtics presents als teixits vegetals i tenen una gran influència en la prevenció d'algunes malalties com ara el càncer o malalties cardiovasculars. A més, constitueixen la família de compostos antioxidants més rellevants de la dieta humana [1,2].

Els polifenols es troben entre els compostos més interessants del pebre vermell i la seva distribució, així com el seu contingut, pot atribuir-se a les diferents varietats de pebrots emprades en la seva producció. Les varietats més conegudes a Espanya, i les úniques que tenen denominació d'origen protegida (DOP), provenen de Múrcia i de la regió de La Vera (Càceres), i n'existeixen diferents varietats (dolç, agre dolç i picant) en funció de les espècies de pebrot d'origen.

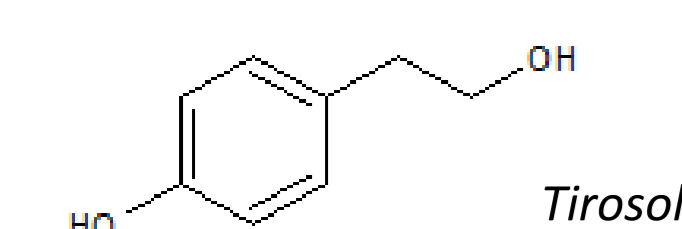
L'objectiu d'aquest treball és desenvolupar un mètode HPLC-UV per a la caracterització i classificació de mostres de pebre vermell amb DOP.

Principals polifenols

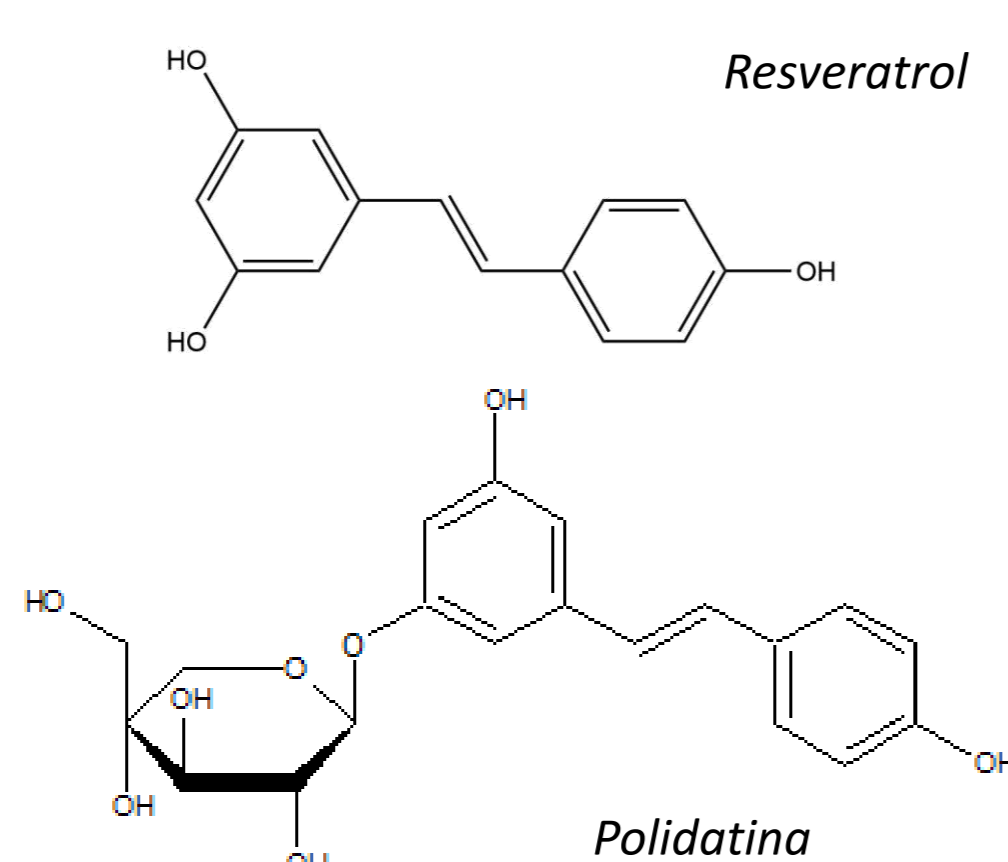
Àcids hidroxibenzoics



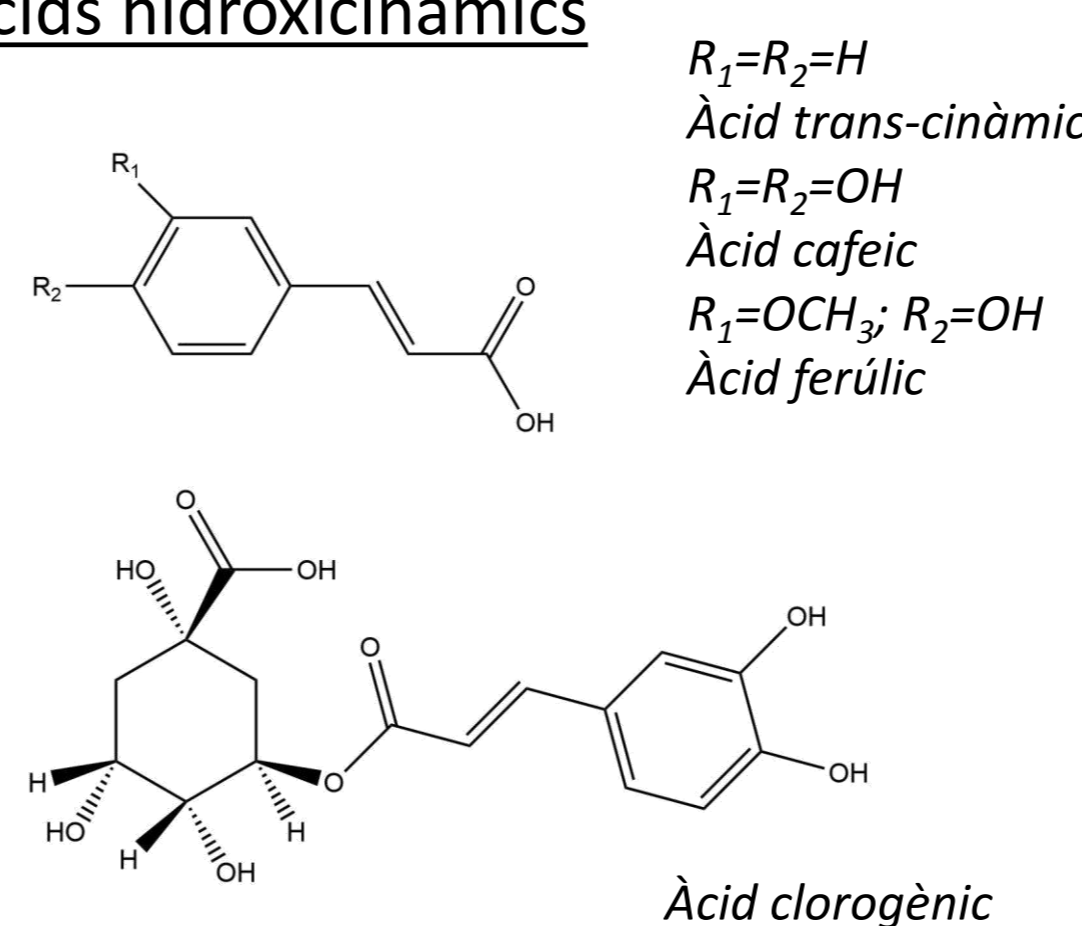
Altres polifenols



Estilbens



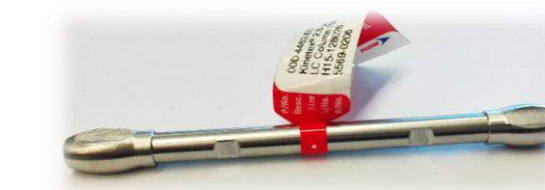
Àcids hidroxicinàmics



Instrumentació i condicions



Cromatògraf de líquids Agilent 1200 Series



Columna Kinetex C18 (100 x 4.6 mm, 2.6 µm)

Fase mòbil

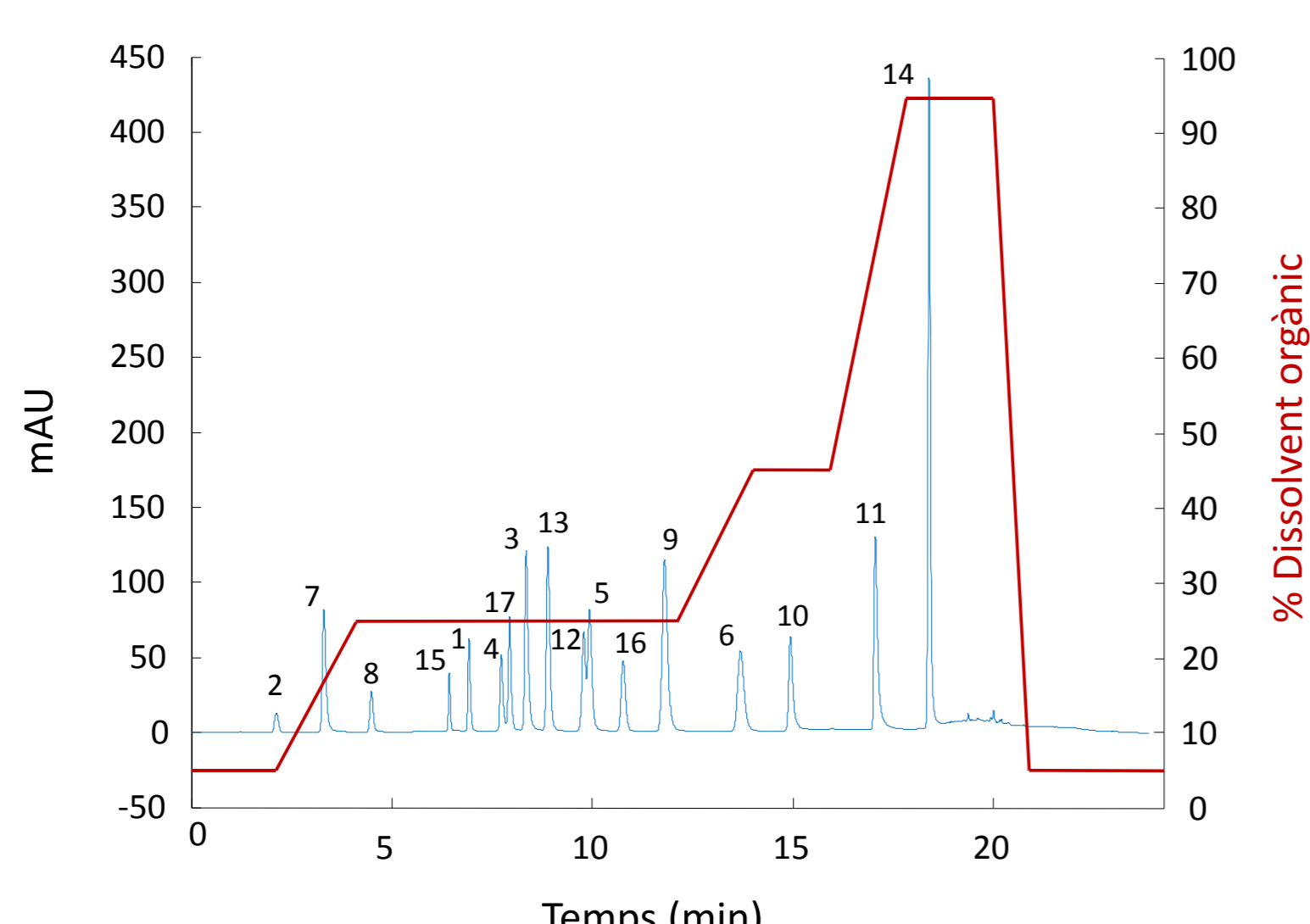
- Solvent A: H₂O (0,1% àcid fòrmic)
- Solvent B: Metanol

Flux 1mL/min

Detecció UV-Vis a 280 nm

Optimització separació cromatogràfica

Polifenol	Número
Àcid 4-hidroxibenzoïc	1
Arbutina	2
Àcid Cafeic	3
Àcid Clorogènic	4
Etilgal·lat	5
Àcid Ferúlic	6
Àcid Gàl·lic	7
Àcid Homogentísic	8
Àcid p-coumàric	9
Polidatina	10
Resveratrol	11
Siringaldehid	12
Àcid Siringic	13
Àcid trans-cinàmic	14
Tirosol	15
Umbelliferon	16
Àcid vanil·lic	17



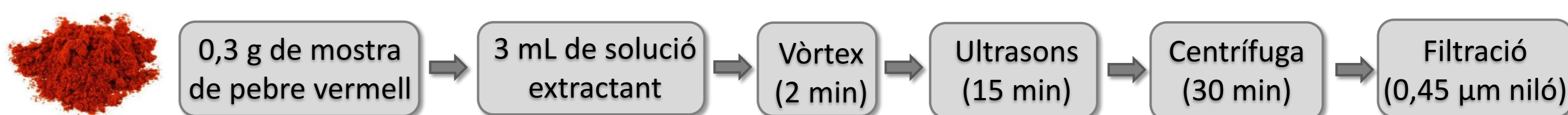
Cromatograma d'una barreja de 17 polifenols (15 mg/mL) amb detecció ultravioleta

- S'ha obtingut una bona separació cromatogràfica en menys de 20 min.

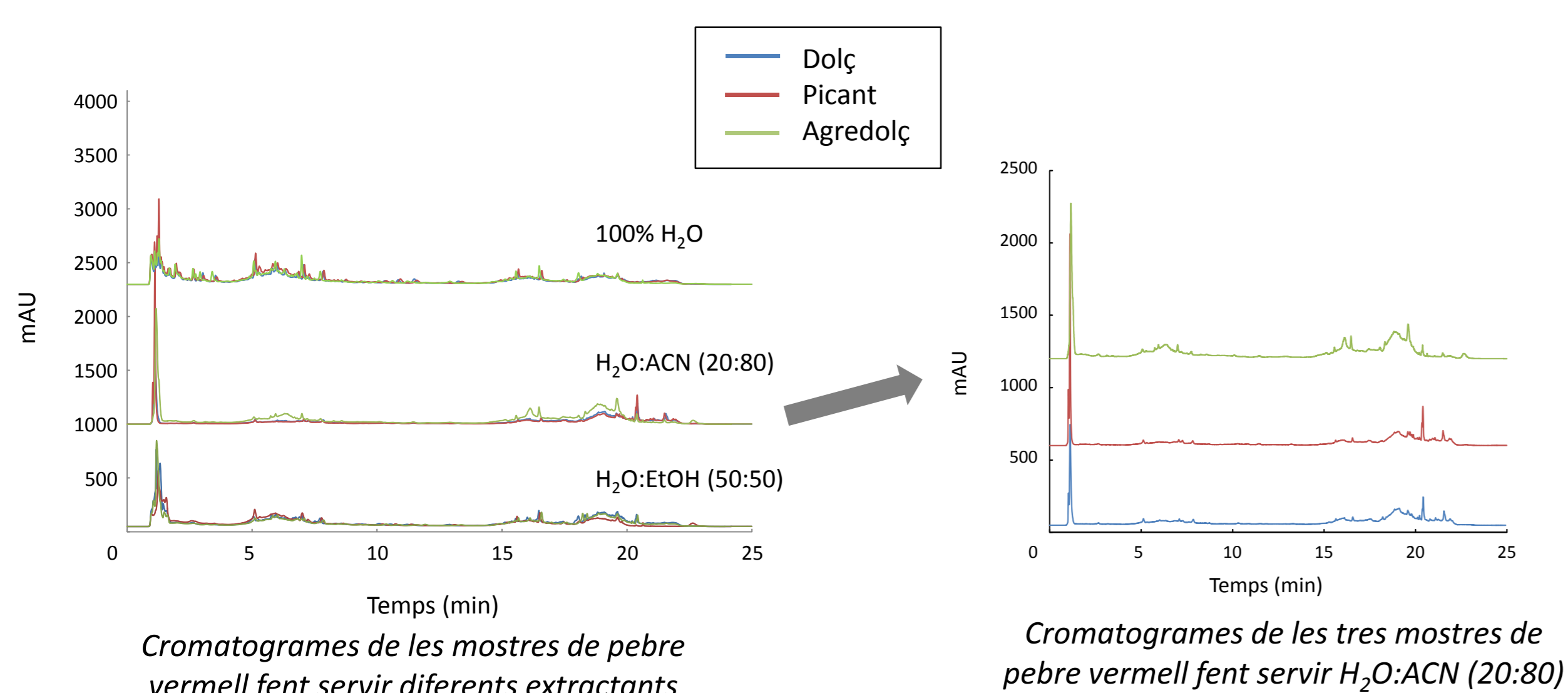
Paràmetres de qualitat

Polifenol	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
LOD (µg/L)	10	25	10	25	10	25	25	25	10	25	25	25	10	10	25	25	10
Linealitat (R ²)	0,9996	0,9996	0,9996	0,9996	0,9996	0,9999	0,9997	0,9996	0,9999	0,9999	0,9999	0,9999	0,9996	0,9999	0,9996	0,9996	0,9999
1 ^o Nivell (15 mg/L)																	
Precisió (dins del dia, n=5, %RSD)	0,04	0,1	0,05	0,03	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,04	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Precisió (entre dies, n=3x5, %RSD)	1,8	0,4	1,1	1,1	2,0	1,4	0,4	1,8	1,2	1,4	1,4	1,6	2,1	3,3	2,1	1,1	0,8
Veracitat (% error relatiu)	1,0	0,5	0,3	1,1	1,0	0,9	1,0	1,0	0,8	0,5	1,2	0,6	1,1	1,4	1,0	0,3	0,04
2 ^o Nivell (2,5 mg/L)																	
Precisió (dins del dia, n=5, %RSD)	0,1	0,1	0,03	0,1	0,1	0,04	0,05	0,2	0,2	0,2	0,2	0,1	0,1	0,1	0,1	0,03	0,1
Precisió (entre dies, n=3x5, %RSD)	3,3	3,9	3,1	4,4	5,7	3,9	2,7	4,5	4,2	2,5	4,5	3,2	3,4	2,7	3,3	3,8	3,2
Veracitat (% error relatiu)	1,3	0,7	0,9	0,6	3,4	0,9	0,7	0,3	1,1	2,0	0,6	0,7	1,1	0,5	0,2	0,2	1,0
3 ^o Nivell (0,75 mg/L)																	
Precisió (dins del dia, n=5, %RSD)	0,1	0,1	0,1	0,1	0,3	0,1	0,4	0,4	0,1	0,5	0,3	0,1	0,1	0,4	0,1	0,1	0,2
Precisió (entre dies, n=3x5, %RSD)	3,7	1,4	5,5	8,1	10,8	6,3	2,1	9,1	6,0	7,9	8,2	2,3	4,2	5,6	4,7	5,9	3,3
Veracitat (% error relatiu)	4,7	3,1	2,1	0,1	0,5	1,6	1,6	0,4	0,1	0,6	4,6	4,0	5,3	8,3	5,3	2,4	4,6
4 ^o Nivell (0,25 mg/L)																	
Precisió (dins del dia, n=5, %RSD)	0,2	0,4	0,2	0,3	0,2	0,3	0,4	0,1	0,4	0,4	0,1	0,2	2,7	0,7	0,5	0,3	
Precisió (entre dies, n=3x5, %RSD)	10,0	19,3	14,9	8,6	14,3	14,9	10,7	17,2	13,6	13,7	18,3	8,1	10,3	8,1	9,1	17,7	13,5
Veracitat (% error relatiu)	4,3	7,9	8,6	7,2	1,3	5,2	2,5	5,1	4,4	8,7	3,7	25,7	5,7	29,2	13,3	8,9	1,0

Tractament genèric de la mostra



Optimització de l'extractant

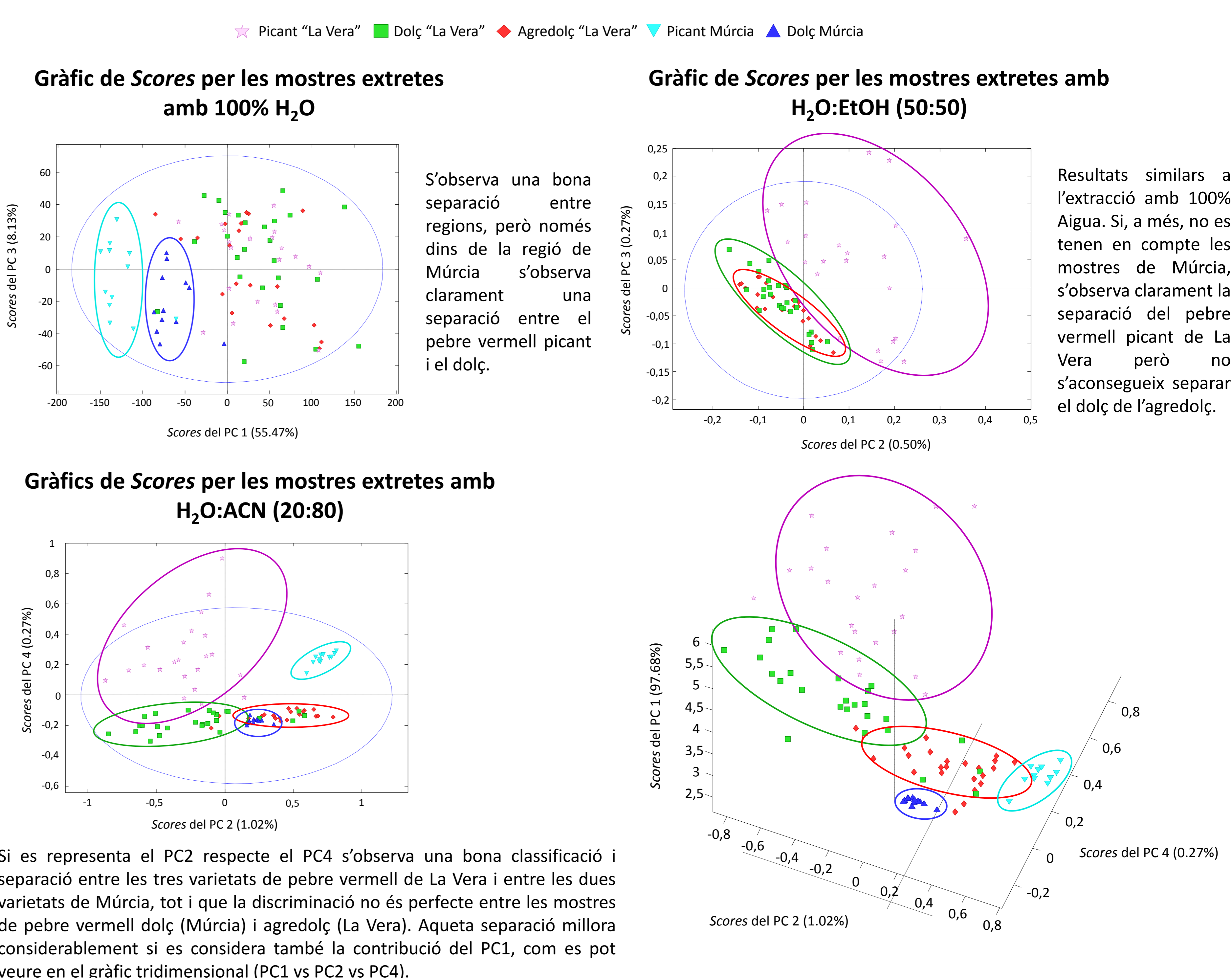


- S'han avaluat diferents extractants amb l'objectiu d'obtenir perfils polifenòlics discriminants entre les mostres analitzades.
- S'han analitzat un total de 96 mostres comercials de pebre vermell que difereixen en regions (72 mostres procedents de La Vera i 24 de Múrcia) i en varietat (picant, dolç i agre dolç).

Conclusions

- S'ha desenvolupat un mètode HPLC-UV per a l'anàlisi de polifenols en mostres de pebre vermell que presenta bons límits de detecció, precisió i veracitat.
- La utilització d'una solució H₂O:ACN (20:80) com a agent extractant permet l'obtenció de perfils cromatogràfics prou discriminants per tal d'aconseguir la classificació de les mostres de pebre vermell analitzades tant pel que fa a la DOP com a les diferents varietats.

Tractament Quimiomètric: Anàlisi de Components Principals



Referències

- [1] I. Ignat, I. Volf, V.I. Popa, Food Chem., 126 (2011) 1821-1835
[2] K.B. Pandey, S.I. Rizvi, Oxid. Med. Cell. Longev. 2(5) (2009) 270-278

Agraïments

Els autors agraeixen el suport financer rebut del Ministeri Espanyol d'Economia i Competitivitat (projecte CTQ2015-63968-C2-1-P) i de l'Agència de Gestió d'Ajuts Universitaris i de Recerca de la Generalitat de Catalunya (projectes 2014 SGR-539 i 2014 SGR-269).