

INTRODUCCIÓN

El pimiento (*Capsicum* spp.) es una de las hortalizas con mayor importancia a nivel comercial. Originaria de América del Sur, se cultiva ampliamente en distintas regiones del mundo por su valor como especia o alimento. Los capsicinoides, compuestos biosintetizados exclusivamente en los frutos del género *Capsicum*, son los responsables de conferir picor a los pimientos. Estos compuestos exhiben numerosas propiedades nutracéuticas como antimutagénicas y antitumorales¹, antioxidantes², antiinflamatorias³ y analgésicas⁴, etc. La variedad de pimiento 'Bode' (*Capsicum chinense*), es originaria de Recife, extendiéndose su cultivo por todo el norte y noroeste de Brasil. Los frutos, de picor medio (15.000-30.000 unidades Scoville), son redondos y pequeños, de coloración amarilla, naranja y roja. Esta variedad es altamente valorada en cocina por su sabor ahumado y afrutado y por su aroma. Su consumo principalmente se da en forma de encurtidos.

El objetivo del presente trabajo se ha centrado en el análisis del contenido total e individual de los diferentes capsicinoides presentes en los extractos de frutos de pimiento de la variedad 'Bode' además de estudiar la evolución de la biosíntesis de dichos compuestos a diferentes días post antesis (dpa).



MATERIAL Y MÉTODOS

Tabla 1. Días post antesis (dpa) y color de los frutos en el momento de la recolección.

Nomenclatura	Fecha de etiquetado	Días de maduración	Estado del fruto en la recolección
S-10	17-jul	76	Sobremaduración
S-9	24-jul	69	Color anaranjado
S-8	31-jul	62	Color anaranjado
S-7	07-ago	55	Color anaranjado
S-6	14-ago	48	Color anaranjado
S-5	21-ago	41	Color verde-amarillo
S-4	28-ago	34	Color verde
S-3	04-sep	27	Color verde
S-2	11-sep	20	Color verde
S-1	18-sep	13	Color verde

CONDICIONES DE CULTIVO

Las semillas de pimiento se sembraron en placas de Petri hasta su germinación. Una vez germinadas fueron pasadas a jiffys y cuando alcanzaron el estado de tres hojas verdaderas fueron trasplantadas a macetas con sustrato Projar profesional. Se cultivaron en invernadero, en condiciones controladas de temperatura (26-14°C) hasta la recolección de los frutos.

SEGUIMIENTO DE MADURACIÓN

Las plantas de pimiento 'Bode' empezaron a florecer a principios de julio. Tres días por semana, las flores eran etiquetadas con la fecha de antesis de la flor. El día anterior al etiquetado, todas las flores abiertas eran eliminadas. Todos los frutos se recolectaron a finales de septiembre. Los días post antesis (dpa) y el color de los frutos recolectados se pueden observar en la Tabla 1.

Una vez recolectados los frutos se procedió a la extracción de los capsicinoides, mediante ultrasonidos (Fig.3A). A partir de los extractos de frutos de pimiento 'Bode' se analizó el contenido total e individual de capsicina (C), dihidrocapsicina (DHC), nor-dihidrocapsicina (n-DHC), homodihidrocapsicina (h-DHC) y homocapsicina (h-C), mediante UPLC-UV (ACQUITY UPLC H-Class, Waters). Se utilizó una Columna Waters ACQUITY UPLC BEH C18 (100 x 2,1 mm I.D., tamaño partícula 1,7 µm) con las condiciones cromatográficas que se detallan en la Fig. 3B.



CONDICIONES DE EXTRACCIÓN

- Temperatura: 50°C.
- Disolvente de extracción: metanol.
- Tiempo de extracción: 15 minutos.
- Potencia: 360 W.
- Ciclo de extracción: 50%.
- Volumen de disolvente: 25 ml.
- Cantidad de muestra: 1 g.
- Tamaño del filtro: 0,20 µm.

CONDICIONES CROMATOGRÁFICAS

- Disolvente A: Agua (0,1% ácido acético).
- Disolvente B: Metanol (0,1% ácido acético).
- Flujo: 0,8 ml/min.
- Tª de columna: 50°C.
- Tiempo de análisis inferior a 3 minutos.
- Gradiente de separación descrito por Barbero et al., (2008)⁵.
- Detección UV: λ excitación 280 nm; λ emisión: 305 nm.



Fig. 3. Procedimiento de extracción e identificación de capsicinoides a partir de frutos de pimiento 'Bode'. (A) Método de extracción de capsicinoides mediante ultrasonidos; (B) Equipo UPLC-UV utilizado para la identificación de capsicinoides.

RESULTADOS

EVOLUCIÓN DEL CONTENIDO TOTAL E INDIVIDUAL DE CAPSICINOIDES (mg/ g peso fresco)

El contenido total de capsicinoides se incrementó desde el día 13 hasta el día 83 post antesis (Fig. 1a), alcanzando un contenido máximo de 0,998 mg capsicinoides/ g de pimiento fresco. La C y DHC fueron los compuestos mayoritarios durante la maduración de los frutos (Fig. 1b).

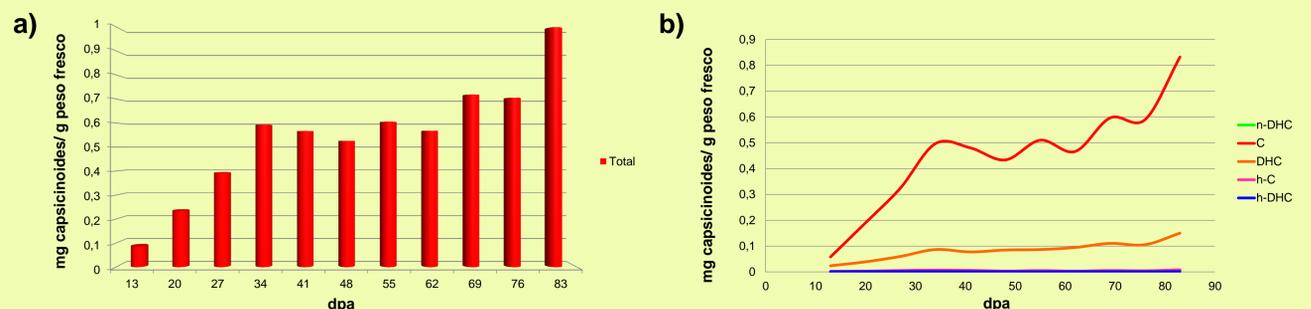


Fig. 1. contenido total e individual de los capsicinoides a distintos dpa. a) Contenido total de capsicinoides en mg capsicinoides/ g peso fresco de pimiento 'Bode' a los distintos dpa; b) evolución del contenido, de cada capsicinoide identificado, en mg capsicinoide/ g peso fresco pimiento 'Bode' a los distintos dpa.

EVOLUCIÓN DEL PORCENTAJE INDIVIDUAL DE CAPSICINOIDES A DISTINTOS DIAS POST ANTESIS (n=3)

El porcentaje individual de los capsicinoides minoritarios n-DHC, h-DHC y h-C se mantuvo constante para los diferentes dpa. En los primeros dpa se observó una tendencia inversa en los porcentajes de los contenidos de C y DHC (Fig. 2a). La síntesis de n-DHC, en algunos periodos de la maduración, sigue un patrón de síntesis inverso al del resto de capsicinoides (Fig. 2b).

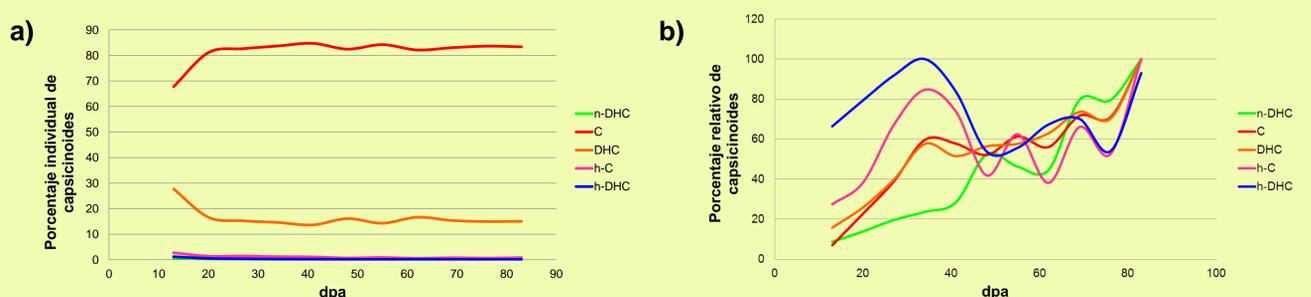


Fig. 2. Porcentajes de la evolución de capsicinoides a distintos dpa. a) porcentaje individual de cada capsicinoide respecto del total de capsicinoides; b) porcentaje relativo de cada capsicinoide con respecto a su total

CONCLUSIONES

La C fue el compuesto mayoritario (82-83%) durante la maduración de los frutos. C+DHC representaron entre el 95% y el 98% del contenido total de capsicinoides.

En los frutos de pimiento 'Bode', ya se observó biosíntesis de capsicinoides a los 13 dpa. Su contenido se incrementó hasta el día 83 después de la antesis, cuantificándose el contenido máximo (0,998 mg capsicinoides/ g de pimiento fresco).

BIBLIOGRAFÍA

- (1) Y.J. Surh, S.S. Lee. 1996. "(Short Review) Capsaicin in hot Chili Pepper: carcinogen, co-carcinogen or anticarcinogen?". Food Chem. Toxicol., 34: 313-316;
- (2) A. Rosa, et al. 2002. "Antioxidant activity of capsinoids". J. Agric. Food Chem., 50 (25): 7396-7401;
- (3) F. Spiller et al. 2008. "Anti-inflammatory effects of red pepper (*Capsicum baccatum*) on carrageenan and anti-induced inflammation". Journal of Pharmacy and Pharmacology, 60 (4): 473-478;
- (4) G.C. Morris, et al. "Capsaicin-induced flare and vasodilatation in patients with postherpetic neuralgia". Pain, 63: 93-101;
- (5) G.F. Barbero, et al. 2008. "Ultrasound-assisted extraction of capsicinoids from peppers". Talanta, 75 (5): 1332-1337.

AGRADECIMIENTOS

Esta investigación ha sido financiada por el proyecto INIA-FEDER (RTA2011-00118-C02-01) y el Gobierno de Aragón (Grupo de Investigación A16).