

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 nutraceuticas como antimutagénicas y antitumorales¹, antioxidantes², antiinflamatorias³ y analgésicas⁴, entre otras.

La variedad de pimiento 'Naga Jolokia' (*Capsicum chinense*), también conocida como 'Bhut Jolokia' o 'Bih Jolokia', es originaria del noreste de la India aunque su consumo se ha extendido mundialmente. Esta variedad de pimiento se caracteriza por su extrema pungencia (500.000-1.000.000 unidades Scoville), registrándose en 2007, en el *Libro Guinness de los Récords*, como el pimiento más picante del mundo.

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 'Naga Jolokia' 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 antesis flor	dpa	Estado del fruto en la recolección
S-10	17-jul	75	Color rojo
S-9	24-jul	68	Color rojo
S-8	31-jul	61	Color rojo
S-7	07-ago	54	Color rojo
S-6	14-ago	47	Color rojo
S-5	21-ago	40	Color verde-rojo
S-4	28-ago	33	Color verde
S-3	04-sep	26	Color verde
S-2	11-sep	19	Color verde
S-1	18-sep	12	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 professional. 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 'Naga Jolokia' 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. El color de los frutos recolectados a los distintos dpa 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 'Naga Jolokia' 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. (A)

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. (B)



Fig. 3. Procedimiento de extracción e identificación de capsicinoides a partir de frutos de pimiento 'Naga Jolokia'. (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 12 hasta el día 33 post antesis (Fig. 1a), alcanzando un contenido máximo de 6,09 mg capsicinoides/ g de pimiento fresco. Para todos los capsicinoides identificados, su contenido aumentó hasta alcanzar el máximo a los 33 dpa (Figura 2b) siendo C y DHC los compuestos mayoritarios durante toda la maduración de los frutos (Figura 1b).

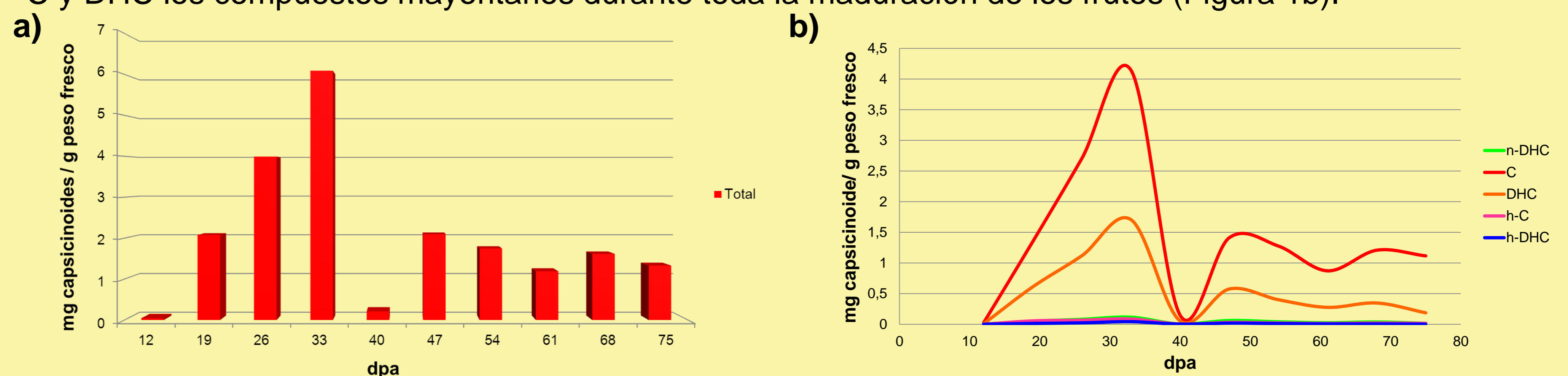


Fig. 1. Evolución del contenido total e individual de los capsicinoides. a) contenido total de capsicinoides en mg capsicinoides/ g peso fresco de pimiento 'Naga Jolokia' a los distintos dpa; b) evolución del contenido, de cada capsinoide identificado, en mg capsinoide/ g peso fresco pimiento 'Naga Jolokia'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

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

Disminuciones en la biosíntesis de C se corresponden con aumentos en la biosíntesis de DHC. C+DHC representan hasta el 98% del contenido total de capsicinoides (Fig. 2a).

Se observó una tendencia para la biosíntesis de los capsicinoides ya que se inició simultáneamente para todos hasta alcanzar la máxima cantidad a los 33 dpa (Fig. 2b).

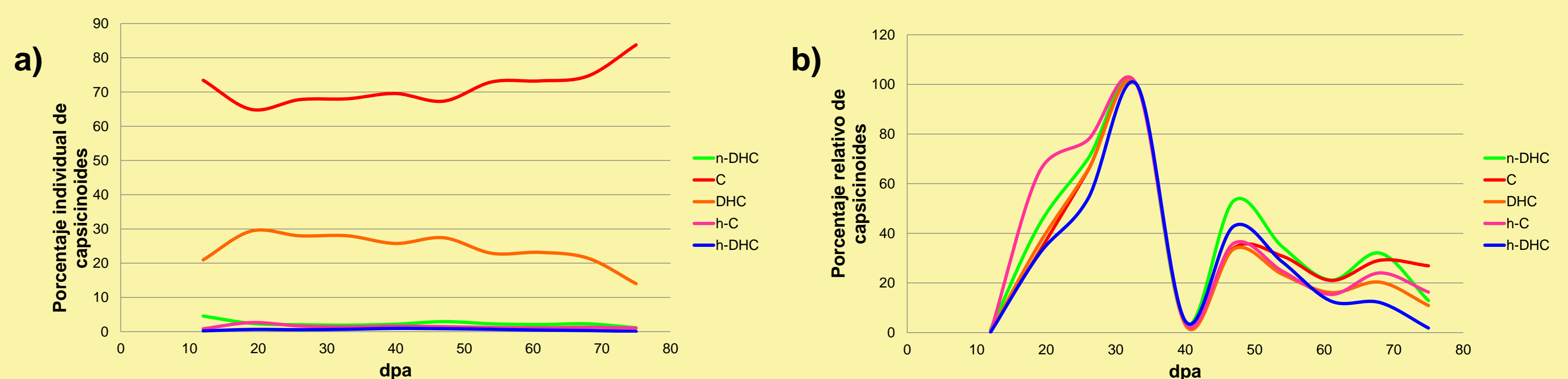


Fig. 2. Porcentajes de la evolución de capsicinoides a distintos dpa. a) porcentaje individual de cada capsinoide respecto del total de capsicinoides; b) porcentaje relativo de cada capsinoide con respecto a su total

CONCLUSIONES

Para la variedad 'Naga Jolokia', la C fue el capsinoide mayoritario a lo largo de toda la maduración de los frutos. C+DHC representaron entre el 94% y el 98% del contenido total de capsicinoides en la variedad 'Naga Jolokia', observándose que a partir del 10 dpa, cuando aumentaba o disminuía el % de C, el comportamiento de DHC era el contrario.

De los capsicinoides minoritarios la n-DHC varió entre el 1,1% y el 4,6% del contenido total de capsicinoides, mientras que h-DHC y h-C presentaron contenidos entre el 0,1% y el 2,7% respectivamente, a lo largo de la maduración de los frutos.

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).