

Evolución del contenido de capsinoides y capsaicinoides durante la maduración de los frutos de ‘Chiltepín’ *C. annum* L. var. *glabriusculum*

O. Fayos¹, O. Martínez², N. Ochoa-Alejo³, M. Savirón⁴, J. Orduna⁴ y A. Garcés-Claver¹

¹CITA de Aragón - IA2 (CITA-Universidad de Zaragoza), 50059, Zaragoza, España.

²LANGEBIO. 36824, Irapuato, Guanajuato, México.

³Departamento de Ingeniería Genética, Unidad Irapuato, CINVESTAV. 36824, Irapuato, Guanajuato, México.

⁴Instituto de Ciencia de Materiales de Aragón (ICMA-CEQMA), Facultad de Ciencias, CSIC-Universidad de Zaragoza, 50009, Zaragoza, España.

Palabras clave: Capsaicina, dihidrocapsaicina, capsiato, dihidrocapsiato, pimienta

Resumen

El ‘Chiltepín’ es un chile muy popular en México por su intenso color rojo y su característico sabor y picor. Este último atributo es debido a la presencia de unos compuestos pertenecientes a las familias de los capsaicinoides y los capsinoides; sus presencias, así como la distinta relación de sus contenidos perfilan un tipo de picor diferencial. Ambas familias de compuestos han sido estudiadas en el área de la medicina por sus efectos antitumorales y sus actividades antioxidantes y analgésicas, entre otras. La caracterización de estos compuestos bioactivos en distintos estados de desarrollo del fruto permitirá profundizar en el conocimiento de su biosíntesis y control genético. En este trabajo, se ha evaluado por primera vez, la evolución del contenido de capsinoides a lo largo del desarrollo de los frutos de pimienta y su relación con la de los capsaicinoides. Concretamente este trabajo se ha hecho en el tipo ‘Chiltepín’, en el cual el patrón de evolución del contenido de capsinoides fue similar al de capsaicinoides; su biosíntesis se inició entre los 10-20 días post anthesis (dpa) y su contenido aumentó hasta alcanzar su máximo a los 40 dpa. Capsiato y dihidrocapsiato han sido cuantificados por primera vez en ‘Chiltepín’, variando respectivamente entre 43,53-234,26 $\mu\text{g g}^{-1}$ materia seca (ms) y 13,73-97,93 $\mu\text{g g}^{-1}$ ms. Las correlaciones entre los distintos compuestos fueron altamente significativas ($P < 0,01$), con coeficientes que variaron desde 0,923 para dihidrocapsaicina vs. dihidrocapsiato hasta 0,998 para capsaicina vs. dihidrocapsaicina.

INTRODUCCIÓN

El ‘Chiltepín’ (*Capsicum annum* L. var. *glabriusculum*), también conocido como ‘chile piquín’, ‘chiltepec’ o ‘pico de pájaro’, se considera el ancestro silvestre del pimienta domesticado (*C. annum* var. *annuum*). Su distribución se extiende desde el noroeste de Sudamérica hasta el sur de los Estados Unidos. En México se encuentra silvestre en toda la zona costera del país, extendiéndose por el Pacífico desde el estado de Sonora al de Chiapas y por el Golfo de México desde Tamaulipas a la Península de Yucatán (Hayano-Kanashiro et al., 2015). El ‘Chiltepín’ es un chile muy popular en México tanto por su picor, sabor y aroma, muy apreciados en la gastronomía mexicana, como por sus propiedades medicinales para curar el cuerpo y el espíritu (Hayano-Kanashiro et al., 2015). Hoy en día se ha determinado que algunas de las propiedades antioxidantes, analgésicas, antiinflamatorias y anticancerígenas son atribuidas a la presencia de los capsaicinoides y los capsinoides,

compuestos responsables de la sensación de ardor o picor del pimiento. Los capsinoides son aproximadamente 1000 veces menos picantes que los capsaicinoides, siendo esta característica de especial interés para las industrias farmacéutica y alimentaria (Fayos et al., 2018b). Estos compuestos se sintetizan en la placenta del fruto y hay diversos estudios sobre la variación del contenido de los capsaicinoides a lo largo del desarrollo del fruto de pimiento (Contreras-Padilla y Yahia, 1998; Estrada et al., 2000; Fayos et al., 2017). Sin embargo, la evolución del contenido de capsinoides durante el desarrollo del pimiento, así como su relación con el contenido de capsaicinoides no han sido estudiadas previamente. Por tanto, el objetivo del presente trabajo se ha centrado en el análisis del contenido de capsinoides a lo largo del desarrollo del fruto del chile ‘Chiltepín’ y de su relación con el contenido de capsaicinoides.

MATERIALES Y MÉTODOS

Diez plantas de chile ‘Chiltepín’ fueron cultivadas en macetas en un invernadero en las instalaciones del CITA, con temperaturas entre 18 y 28 °C. Los frutos de estas plantas fueron recogidos en diferentes estados de desarrollo: 10, 20, 40 y 60 días después de la antesis (dpa). Para ello, se etiquetó cada flor con la fecha del día en que se produjo su antesis. Para cada estado de desarrollo se agruparon los frutos recogidos de las 10 plantas. Una vez recogidos, los frutos se liofilizaron y, posteriormente, se molieron en un molinillo convencional. La extracción de capsaicinoides y capsinoides se realizó por maceración con acetato de etilo y la cuantificación de estos compuestos mediante HPLC-ESI-MS(QTOF) (Fayos et al., 2018c). El límite de cuantificación del método fue de 0,026 $\mu\text{g g}^{-1}$ para los capsinoides, capsiato (CTO) y dihidrocapsiato (DHTO), y el de detección de 0,010 $\mu\text{g g}^{-1}$, también para ambos. Los estándares de los capsaicinoides, capsaicina (97%) (C) y dihidrocapsaicina (90%) (DHC), fueron suministrados por Sigma-Aldrich (Chemical Co. St. Louis, EEUU). Los estándares de CTO, DHTO y del estándar interno DMBO fueron sintetizados en el Departamento de Química Orgánica de la Universidad de Cádiz (Barbero et al., 2010; Fayos et al., 2018a). Se calcularon los contenidos medios para CTO, DHTO, C y DHC y la relación capsinoides/capsaicinoides para cada estado de desarrollo. Se realizó un análisis ANOVA para determinar las diferencias estadísticamente significativas entre los contenidos medios de cada compuesto en los diferentes estados de desarrollo del fruto y un análisis de correlación de Pearson para los contenidos de los cuatro compuestos. Se calculó el ratio capsinoides/capsaicinoides según la fórmula: capsinoides totales / (capsinoides totales + capsaicinoides totales). Para los análisis estadísticos se utilizó el programa PSPP (GNU Operating System).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En este trabajo se ha cuantificado, por primera vez, el contenido de capsinoides en diferentes estados de desarrollo de frutos de pimiento. Para ello se ha utilizado un método de HPLC-ESI-MS(QTOF) y se ha analizado el chile ‘Chiltepín’.

En ‘Chiltepín’ el patrón de evolución del contenido es similar tanto para capsaicinoides como para capsinoides (Fig. 1). Mientras que a los 10 dpa no se detectaron ni capsaicinoides ni capsinoides, sí que fueron cuantificados ambos grupos de compuestos a partir de los 20 dpa. Esto sugiere que en ‘Chiltepín’ la biosíntesis de ambos compuestos se origina entre los 10 y 20 dpa. La biosíntesis de capsaicinoides en este periodo ya fue descrita en *C. annuum* (Estrada et al., 2000). El contenido medio tanto de capsinoides como de capsaicinoides se incrementó desde los 20 dpa hasta los 40 dpa, momento en que alcanzaron su máximo para después descender a los 60 dpa. Estos resultados coinciden con

el patrón de evolución del contenido de capsaicinoides encontrado por Contreras-Padilla y Yahia (1998) en el ‘Chiltepín’ de Querétaro. Resultados similares para las variaciones de contenidos de capsaicinoides se han observado en otros cultivares de *C. annuum* como en ‘Padrón’ (Estrada et al., 2000). Cuando se analizaron individualmente los cuatro compuestos, se observó que mientras que los contenidos medios de C, DHC y CTO fueron significativamente diferentes en los tres estados de desarrollo, para el DHTO, los contenidos medios en los 20 y 60 dpa no fueron estadísticamente diferentes (Tabla 1). Sin embargo, cuando se analizaron en conjunto, se determinó que no había diferencias significativas entre la relación capsinoides/capsaicinoides en los diferentes estados de desarrollo del fruto, siendo la evolución de la biosíntesis de capsinoides similar a la de los capsaicinoides, lo que sugiere que ambos grupos de compuestos tienen el mismo mecanismo de control de su biosíntesis a lo largo del tiempo.

La C fue el compuesto mayoritario durante todo el desarrollo de los frutos de ‘Chiltepín’, seguida por la DHC. Los valores obtenidos para C variaron entre 131,68 y 599,48 $\mu\text{g g}^{-1}$ ms, mientras que los de DHC variaron entre 75,27 y 500,35 $\mu\text{g g}^{-1}$ ms (Tabla 1). Estos valores son comparables a los 750 $\mu\text{g g}^{-1}$ ms de C y 370 $\mu\text{g g}^{-1}$ ms de DHC encontrados en el ‘Chiltepín’ del estado de Yucatán (Cisneros-Pineda et al., 2007), así como a los 498-994 $\mu\text{g g}^{-1}$ ms de capsaicinoides totales en el ‘Chiltepín’ del estado de Tamaulipas (Aguirre-Hernández et al., 2017).

En cuanto al contenido de capsinoides, por primera vez, se han cuantificado CTO y DHTO en ‘Chiltepín’. El mayor contenido medio de CTO y DHTO fue, respectivamente, de 234,26 y 97,93 $\mu\text{g g}^{-1}$ ms a los 40 dpa.

Cuando se estudió la correlación entre los cuatro compuestos, se observó una alta correlación ($P < 0,01$) entre todos ellos, con coeficientes que variaron desde 0,923 para DHC vs. DHTO hasta 0,998 para C vs. DHC. Aunque en ‘Chiltepín’ se han descrito correlaciones similares (entre 0,91 y 0,93) entre capsaicinoides (Aguirre-Hernández et al., 2017), esta es la primera vez que se describen correlaciones altamente significativas entre capsinoides y capsaicinoides (0,923-0,971).

AGRADECIMIENTOS

Esta investigación ha sido financiada por el proyecto RTA2015-00042-C02-01.

Referencias

- Aguirre-Hernández, E., San Miguel-Chávez, R., Palma-Tenango, M., González-Trujano, M.E., Medina-Martínez, T., Sánchez-Ramos, G., Mora-Olivo, A., Martínez-Palacios, A. and Martínez-Ávalos, J.G. 2017. Capsaicinoids concentration in *C. annuum* var. *glabriusculum* collected in Tamaulipas, Mexico. *Phyton-Int. J. Exp. Bot.* 86:46-52.
- Barbero, G.F., Molinillo, J.M., Varela, R.M., Palma, M., Macías, F.A. and Barroso, C.G. 2010. Application of Hansch’s model to capsaicinoids and capsinoids: a study using the quantitative structure- activity relationship. A novel method for the synthesis of capsinoids. *J. Agric. Food Chem.* 58:3342-3349.
- Cisneros-Pineda, O., Torres-Tapia, L.W., Gutiérrez-Pacheco, L.C., Contreras-Martín, F., González-Estrada, T. and Peraza-Sánchez, S.R. 2007. Capsaicinoids quantification in chili peppers cultivated in the state of Yucatan, Mexico. *Food Chem.* 104:1755-1760.
- Contreras-Padilla, M. and Yahia, E.M. 1998. Changes in capsaicinoids during development, maturation, and senescence of chile peppers and relation with peroxidase activity. *J. Agric. Food Chem.* 46:2075-2079.

Estrada, B., Bernal, M.A., Díaz, J., Pomar, F. and Merino, F. 2000. Fruit development in *Capsicum annuum*: changes in capsaicin, lignin, free phenolics, and peroxidase patterns J. Agric. Food Chem. 48:6234-6239.

Fayos, O., Barbero, G.F., Savirón, M., Orduna, J., Durán, A.G., Palma, M., Molinillo, J.M.G., Macías, F.A., Barroso, C.G., Mallor, C. and Garcés-Claver, A. 2018a. Synthesis of (±)-3, 4-dimethoxybenzyl-4-methyloctanoate as a novel internal standard for capsinoid determination by HPLC-ESI-MS/MS (QTOF). Open Chem. 16:87-94

Fayos, O., de Aguiar, A.C., Jiménez-Cantizano, A., Ferreiro-González, M., Garcés-Claver, A., Martínez, J., Mallor, C., Ruiz-Rodríguez, A., Palma, M., Barroso, C.G. and Barbero, G. F. 2017. Ontogenetic variation of individual and total capsaicinoids in Malagueta peppers (*Capsicum frutescens*) during fruit maturation. Molecules 22:736.

Fayos, O., Mallor, C. and Garcés-Claver, A. 2018b. Evolución del conocimiento sobre la pungencia de la cebolla (*Allium cepa* L.) y del pimiento (*Capsicum* spp.): desde sus orígenes hasta el potencial nutracéutico actual. ITEA. doi.org/10.12706/itea.2018.007.

Fayos, O., Savirón, M., Orduna, J., Barbero, G.F., Mallor, C. and Garcés-Claver, A. 2018c. Quantitation of capsiate and dihydrocapsiate and tentative identification of minor capsinoids in pepper fruits by HPLC-ESI-MS/MS(QTOF). Food Chem. (aceptado).

Hayano-Kanashiro, C., Gámez, N. and Medina-Juárez, L.A. 2015. Wild pepper *Capsicum annuum* L. var. *glabriusculum*: Taxonomy, plant morphology, distribution, genetic diversity, genome sequencing, and phytochemical compounds. Crop Sci. 56:1-11.

Tabla 1. Contenidos de C, DHC, CTO y DHCTO en diferentes estados de desarrollo del fruto de ‘Chiltepín’. Los valores se presentan con la media ± desviación estándar (n=3)

	C	DHC	CTO	DHTO	Ratio
	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	
20 dpa ¹	131,7 ² a ± 7,3	75,3a ± 6,9	43,5a ± 3,1	13,7a ± 1,8	0,22a
40 dpa	599,5b ± 78,5	500,3b ± 59,6	234,3b ± 23,7	97,9b ± 4,9	0,23a
60 dpa	294,9c ± 51,5	237,4c ± 34,8	95,5c ± 24,0	19,6a ± 10,2	0,18a

¹: dpa: días después de la antesis, ²: Todos los valores son en µg g⁻¹ms.

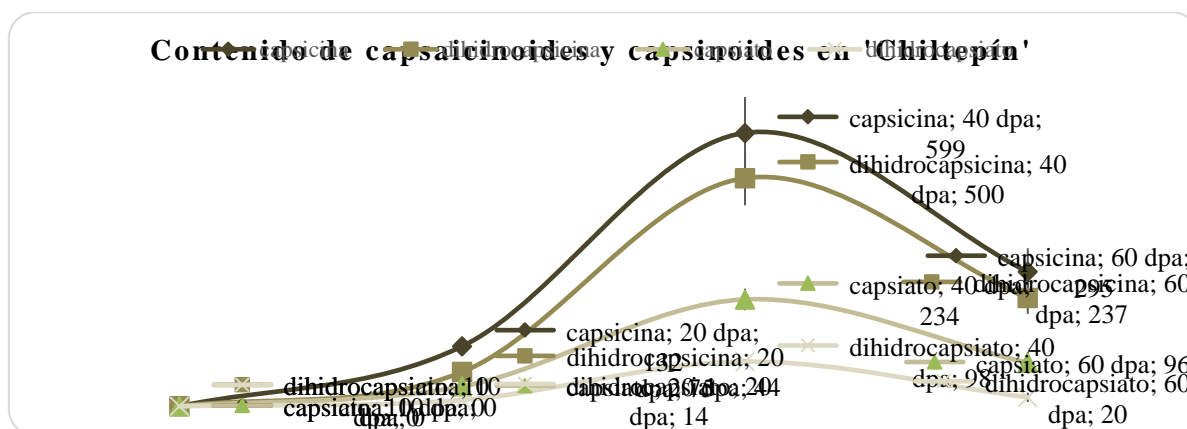


Fig. 1. Evolución del contenido medio de C, DHC, CTO y DHTO a 10, 20, 40 y 60 días después de la antesis (dpa) de ‘Chiltepín’. Las barras de error representan la media ± la desviación estándar (n = 3).