

DETERMINACIÓN DE CAPSICINOIDES EN GERMOPLASMA DEL GÉNERO *CAPSICUM* SPP

A. Garcés-Claver¹, M.J. Rodríguez-Maza¹, J. Orduna², A. Álvarez-Fernández³ y M.S. Arnedo-Andrés¹

1. U.T.P.V.-C.I.T.A. 50059. Zaragoza, España

2. ICMA. CSIC-UZ. 50009. Zaragoza, España. 3Departamento de Nutrición Vegetal. EEAD-CSIC, 50080. Zaragoza, España

Palabras clave: espectrometría de masas, HPLC, identificación, picante, pimiento.

INTRODUCCIÓN

Uno de los atributos más característicos y apreciados de los frutos de las diferentes especies del género *Capsicum* es su carácter picante, producido por los capsicinoides. La mayoría de los métodos que cuantifican los capsicinoides han sido desarrollados para determinar el contenido de capsicina y dihidrocapsicina. Aunque estos dos compuestos son generalmente los capsicinoides mayoritarios, se conocen al menos 14 análogos más, presentes en el fruto, y que influyen tanto en el tipo como en el nivel de picante. La técnica analítica más aplicada para la cuantificación de estos compuestos es la separación por cromatografía líquida de alta resolución y su detección por la absorción en el ultravioleta visible (HPLC-UV). Sin embargo, la aparición de la ionización por electrospray (ESI) hace posible el acoplamiento del HPLC a la detección por espectrometría de masas (MS), que permite determinar las moléculas con más selectividad y sensibilidad, basándose en la determinación de la masa exacta de los iones moleculares, así como en su espectro de fragmentación. La aplicación de HPLC-ESI/MS/MS puede permitir identificar la mayoría de los capsicinoides conocidos presentes en una muestra así como descubrir nuevos capsicinoides (Schweiggert et al. 2006).

Los estudios sobre variabilidad en contenidos de capsicinoides en el género *Capsicum* no son muy abundantes (Antonious et al. 2006). En el CITA disponemos de una importante y representativa colección de *Capsicum*, que será el objeto de este estudio. Por tanto, el objetivo de este trabajo fue la identificación de capsicinoides mayoritarios y minoritarios, mediante HPLC-ESI/MS/MS, en genotipos representativos de la colección del género *Capsicum* del CITA.

MATERIAL Y MÉTODOS

Genotipos de *Capsicum* de especies silvestres, domesticadas y cultivadas fueron utilizados. El cultivo, la selección de los frutos y la extracción de los capsicinoides para los análisis posteriores se hizo como se describe en Garcés-Claver et al. (2007).

La identificación de los capsicinoides se realizó mediante un espectrómetro de masas con un analizador híbrido Q-TOF de alta resolución (Bruker MicroTof-Q, Bruker Daltonik, Bremen, Alemania) equipado con una fuente de ionización (ESI) acoplado a un cromatógrafo de líquidos Agilent 1100 HPLC (Agilent Technologies, Waldbron, Alemania). Las condiciones cromatográficas se optimizaron para obtener la separación de los capsicinoides conocidos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En las muestras analizadas se identificaron al menos 11 capsicinoides, estando entre ellos los dos mayoritarios y los minoritarios más importantes.

En la Tabla 1 se muestran los resultados obtenidos para un genotipo de la especie *C. pubescens*, en el cual se identificaron hasta 10 capsicinoides. El método cromatográfico empleado ha permitido una correcta separación de estos compuestos y la fragmentación de los iones moleculares ha permitido definir una huella de fragmentación para cada uno de estos capsicinoides.

En la Tabla 2 se indica la presencia o ausencia de capsicinoides conocidos en algunos de los genotipos estudiados.

De estos resultados se observa que la variabilidad en la composición de capsicinoides entre genotipos es muy elevada, y por tanto la caracterización de un número importante, representativo y diverso de genotipos de *Capsicum* resulta de especial interés. Estos resultados podrán aportar información valiosa para la caracterización de genotipos con respecto a sus capsicinoides, incluidos los minoritarios, y su posterior cuantificación, la cual será también de gran utilidad para estudios genéticos y moleculares sobre el carácter picante.

Tabla 1. Capsicinoides identificados y las relaciones masa carga (*m/z*) de los iones pseudomoleculares [M + H]⁺ (iones padre) y de los iones (iones hijos) generados por su fragmentación, mediante HPLC-ESI/MS/MS(Q-TOF) en frutos del genotipo C-139

Capsicinoides	<i>m/z</i> del ión padre [M + H] ⁺	<i>m/z</i> de los iones hijos		
N-Vo ¹	280,191	137,06	122,03	144,15
NC ²	292,190	137,06	122,04	168,15
NDHC/N-Vn ³	294,202	137,06	122,03	158,15
C ⁴	306,206	137,06	122,03	182,20
NDHC/N-Vn ⁵	294,202	137,06	122,03	158,20
DHC ⁶	308,220	137,06	122,04	172,17
HC I/II ⁷	320,220	137,06	122,04	149,13
N-Vd ⁸	308,220	137,06	122,04	172,17
HDHC I ⁹	322,240	137,06	122,04	186,19
HDHC II ¹⁰	322,240	137,06	122,04	186,19

1: N-vanillyloctanamida; 2: norcapsicina; 3-5: nordihidrocapsicina ó N-vanillylnonanamida; 4: capsicina; 6: dihidrocapsicina; 7: homocapsicina I ó II; 8: N-vanillyldecanamida; 9-10: homodihidrocapsicina I y II

Tabla 2. Capsicinoides identificados mediante HPLC-ESI/MS/MS(Q-TOF) en diversos genotipos de *Capsicum*. Las celdas grises indican presencia del capsinoide

Genotipos	Capsicinoides									
	NNDHC ¹	N-Vo ²	NC ³	NDHC/ N-Vn ⁴	C ⁵	DHC ⁶	HC I/II ⁷	N-Vd ⁸	HDHC I ⁹	HDHC II ¹⁰
C-139										
C-158										
C-161										
C-167										
C-153										
C-353										
C-138										
C-181										
C-152										
Habanero										

1: normordihidrocapsicina; 2: N-vanillyloctanamida; 2: norcapsicina; 4: nordihidrocapsicina ó N-vanillylnonanamida; 5: capsicina; 6: dihidrocapsicina; 7: homocapsicina I ó II; 8: N-vanillyldecanamida; 9-10: homodihidrocapsicina I y II

REFERENCIAS

Antonious GF. y Jarret RL. 2006. Screening capsicum accessions for capsaicinoid content. Environ. Sci. Health., Part B, 41: 717-729.

Garcés-Claver A., Arnedo-Andrés MS., Abadía J., Gil-Ortega R. y Álvarez-Fernández A. 2007. Determination of capsaicin and dihydrocapsaicin in *Capsicum* fruits by liquid chromatography-electrospray/time-of-flight mass spectrometry. J. Agric. Food Chem, 54: 9303-9311.

Schweiggert U., Carle R. y Schieber A. 2006. Characterization of major and minor capsaicinoids and related compounds in chilli pods by HPLC/atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry. Anal. Chim. Acta, 557: 236-244.