

A. Garcés-Claver<sup>1</sup>, O. Fayos<sup>1</sup>, G.F. Barbero<sup>2</sup>, M. Ferreira<sup>2</sup>, C. Mallor<sup>1</sup>, M. Palma<sup>2</sup>, C.G. Barroso<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria de Aragón (CITA). Avenida Montañana, 930, 50059 Zaragoza

<sup>2</sup>Grupo de Investigación Químico-Analítica en Vitivinicultura y Agroalimentación. Departamento de Química Analítica, Facultad de Ciencias, Universidad de Cádiz, Campus Universitario del Río San Pedro, Apdo. 40, 11510 Puerto Real (Cádiz). Campus de Excelencia Internacional Agroalimentario (CeIA3)



## 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 antitumorales<sup>1</sup>, antioxidantes<sup>2</sup>, antiinflamatorias<sup>3</sup> y analgésicas<sup>4</sup>, entre otras.

La variedad de pimiento 'Malagueta' (*Capsicum frutescens*), también conocida como 'Piri-piri', es ampliamente utilizada en Brasil, Portugal, Mozambique y Angola. Los frutos, de picor medio-alto (60.000-100.000 unidades Scoville), pequeños (5 cm de longitud), finos, alargados y algo cónicos, son habituales en la gastronomía de Brasil y Mozambique para condimentar platos regionales y salsas.

En el presente trabajo se ha llevado a cabo el análisis del contenido total e individual de los diferentes capsicinoides presentes en los extractos de frutos de pimiento de la variedad 'Malagueta' 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	Sobremaduro-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 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 'Malagueta' empezaron a florecer a principios de julio. Tras días de pimiento 'Malagueta' 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 'Malagueta' 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)<sup>5</sup>.
- 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 'Malagueta'. (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 75 post antesis alcanzando un contenido máximo de 2,568 mg capsicinoides/ g de pimiento fresco (Fig. 1a). La C y DHC fueron los compuestos mayoritarios para todos los dpa analizados (Fig. 1b).

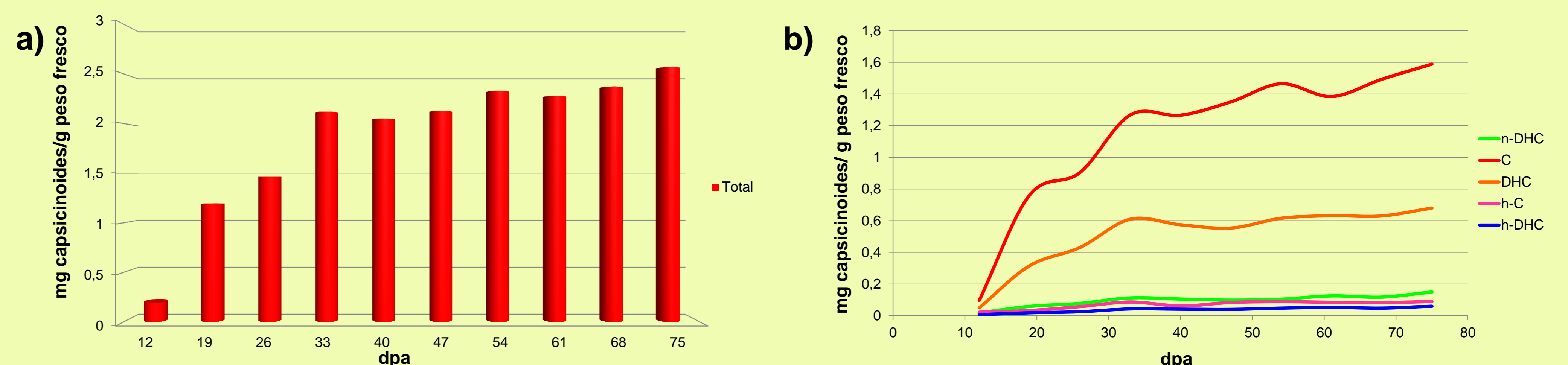


Fig. 1. contenido total e individual de los capsicinoides a distintos dpa. a) Contenido total de capsicinoides en mg capsicinoides/ g peso fresco de pimiento 'Malagueta' a los distintos dpa; b) evolución del contenido, de cada capsicinoide identificado en mg capsicinoide/ g peso fresco pimiento 'Malagueta'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

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

El porcentaje individual de los capsicinoides varió ligeramente a lo largo de la maduración del fruto (Fig. 2a), siendo constante el porcentaje de C+DHC (90%) respecto al contenido total de capsicinoides.

El porcentaje relativo de cada capsicinoide respecto del contenido total de si mismo mostró una tendencia ascendente a lo largo de la maduración del fruto (Fig. 2b), para todos los capsicinoides estudiados.

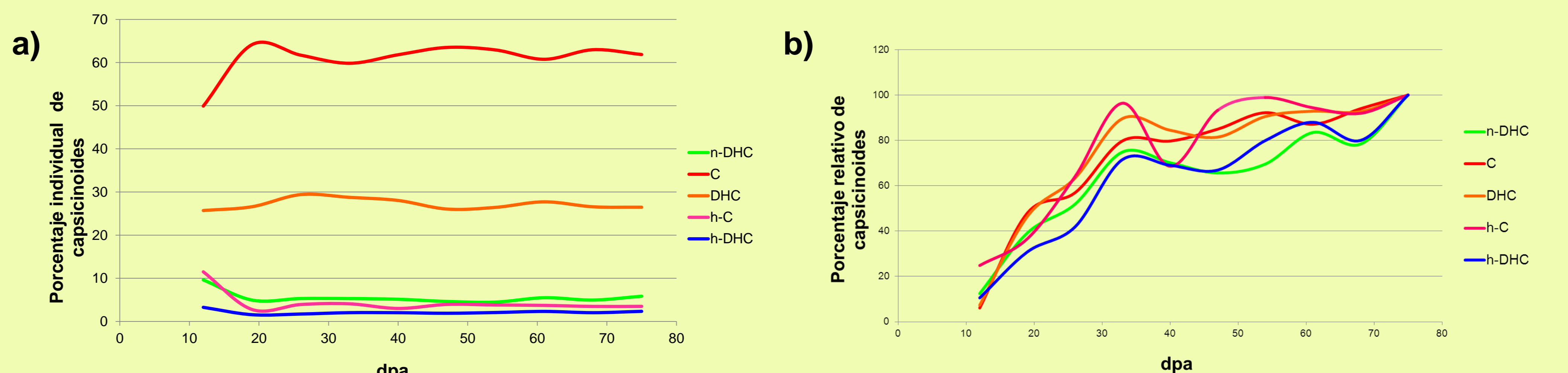


Fig. 2. Porcentajes de la evolución de capsicinoides a distintos dpa. a) porcentaje individual de cada capsicinoide respecto del total de capsicinoides; b) porcentaje relativo de cada capsicinoide con respecto a su total.

## CONCLUSIONES

La C fue el capsicinoide mayoritario, manteniéndose constante el porcentaje de su contenido (79%) respecto al del total de capsicinoides durante toda la maduración de los frutos. El contenido de C+DHC representó el 90% del contenido total de capsicinoides.

En los frutos de pimiento 'Malagueta' se observó biosíntesis de capsicinoides ya a los 12 dpa. Su contenido se incrementó hasta el día 75 post antesis, en cual llegó a alcanzar el máximo (2,568 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).