

COMPUESTOS FENÓLICOS, CAROTENOÏDES Y CAPSAICINOÏDES EN FRUTOS DE *Capsicum* spp. DE TABASCO, MÉXICO

PHENOLIC COMPOUNDS, CAROTENOIDES AND CAPSAICINOIDES IN FRUITS OF SPECIES OF *Capsicum* spp. FROM TABASCO, MEXICO

Dario de la Cruz-Ricardez¹, Carlos F. Ortiz-García¹, Luz del C. Lagunes-Espinoza^{1*}, Magdiel Torres-de la Cruz², Edith Hernández-Nataren¹

¹Producción Agroalimentaria en el Trópico. Campus Tabasco. Colegio de Postgraduados. 86500. H. Cárdenas, Tabasco, México (lagunesc@colpos.mx). ²División Académica de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Tabasco, Carretera Villahermosa-Cárdenas, Km 0.5, C.P. 86039, Villahermosa, Tabasco, México.

RESUMEN

Los chiles silvestres (*Capsicum* spp.) en Tabasco, México, forman parte de la cultura gastronómica pero su composición nutrimental y de metabolitos secundarios se conoce poco. Dado que estos chiles son fuente importante de metabolitos secundarios, los que pueden variar en función de la especie, estado de madurez y componente del fruto, el objetivo de este experimento fue determinar el contenido de carotenoides totales (CAT), polifenoles totales (PFT), flavonoides totales (FLT), capsaicina (CAP) y dihidrocapsaicina (DHC) en frutos inmaduros y maduros de especies silvestres: chile amashito (AMAS) (*C. annuum* var. *glabriuscum*), chile garbanzo (GARB) (*Capsicum* sp.), chile pico paloma (PICP) (*C. frutescens*) y una especie comercial de chile habanero (HABA) (*C. chinense*) cultivada en el estado de Tabasco. El diseño experimental fue completamente al azar por un arreglo factorial con tres repeticiones, considerando las especies y estado de madurez. Los chiles maduros mostraron el contenido mayor de CAT, sobresalieron el pericarpio de HABA maduro (52.23 mg g⁻¹), el fruto completo de PICP (46.16 mg g⁻¹) y el pericarpio de GARB (34.89 mg g⁻¹). El contenido menor de CAT correspondió a AMAS en todos los componentes del fruto. La madurez de los frutos no afectó a PFT y los pericarpios presentaron el contenido mayor (14.19 mg g⁻¹, AMAS, a 19.17 mg g⁻¹, HABA). Los intervalos de variación entre componentes y estado de madurez para FLT fueron 16.29-29.11 mg g⁻¹ (HABA), 11.92-28.17 mg g⁻¹ (PICP), 11.06-24.78 mg g⁻¹ (AMAS) y 1.7-26.36 mg g⁻¹ (GARB). En frutos completos, HABA tuvo más capsaicinoides en estado maduro (21.51 y 12.18 mg g⁻¹, CAP y DHC, respectivamente) e inmaduro (20.43 y 11.03 mg g⁻¹, CAP y DHC).

ABSTRACT

Wild chili peppers (*Capsicum* spp.) in Tabasco, Mexico, are a part of the culinary culture, although little is known about their nutritional composition and secondary metabolites. Given that these peppers are an important source of secondary metabolites, which can vary with the species, their stage of maturity and fruit components, the aim of this experiment was to determine the content of total carotenoids (CAT), total polyphenols (PFT), total flavonoids (FLT), capsaicin (CAP) and dihydrocapsaicin (DHC) in immature and mature fruits of wild species of amashito pepper (AMAS) (*C. annuum* var. *glabriuscum*), garbanzo pepper (GARB) (*Capsicum* sp.), pico paloma pepper (PICP) (*C. frutescens*) and a commercial species of habanero pepper (HABA) (*C. chinense*) grown in the state of Tabasco. The experimental design was completely randomized, with a factorial arrangement with three replications, considering the species and the stage of maturity. The mature peppers displayed the highest content of CAT, and the pericarp of mature HABA (52.23 mg g⁻¹), the complete PICP fruit (46.16 mg g⁻¹) and the pericarp of GARB (34.89 mg g⁻¹) stood out. The lowest content of CAT was displayed by AMAS in all the components of the fruit. Fruit maturity did not affect PFT and the pericarps displayed the highest contents (14.19 mg g⁻¹, AMAS, at 19.17 mg g⁻¹, HABA). The intervals of variation between components and the stage of maturity for FLT were 16.29-29.11 mg g⁻¹ (HABA), 11.92-28.17 mg g⁻¹ (PICP), of 11.06-24.78 mg g⁻¹ (AMAS) and 1.7-26.36 mg g⁻¹ (GARB). In whole fruits, HABA presented more capsaicinoids in mature fruits (21.51 and 12.18 mg g⁻¹, CAP and DHC, respectively) and immature (20.43 and 11.03 mg g⁻¹, CAP and DHC). CAP and DHC in immature AMAS fruits had 6.04 and 3.73 mg g⁻¹, and in mature fruits, 6.86 and 3.80 mg g⁻¹. The variation in secondary metabolites between the wild chili peppers evaluated shows their potential as a source of bioactive compounds.

* Autor para correspondencia ♦ Author for correspondence.

Recibido: noviembre, 2018. Aprobado: noviembre, 2019.

Publicado como ARTÍCULO en Agrociencia 54: 505-519. 2020.

CAP y DHC en frutos inmaduros de AMAS presentaron 6.04 y 3.73 mg g⁻¹, y en maduros 6.86 y 3.80 mg g⁻¹. La variación en metabolitos secundarios entre los chiles silvestres evaluados, muestra su potencial como fuente de compuestos bioactivos.

Palabras clave: metabolitos secundarios, *Capsicum*, capsaicina, polifenoles totales, carotenoides.

INTRODUCCIÓN

Entre las especies del género *Capsicum*, *C. annuum* es una de las más importantes en el mundo; en México se encuentra y cultiva en casi todo el país (Pickersgill, 2007). Otras especies de *Capsicum* con importancia regional son *C. chinense*, cultivada principalmente en la Península de Yucatán, y *C. pubescens* en zonas altas de los estados de Michoacán, Querétaro, Oaxaca, Hidalgo, Veracruz y Chiapas (Aguilar-Rincón *et al.*, 2010). En el estado de Tabasco, además de cultivarse variedades de *C. annuum* y *C. chinense*, se encuentran en forma silvestre y semidomesticada a *C. annuum* var. *glabriusculum* y *C. frutescens*, respectivamente; y también otras variantes de *Capsicum* sin identificación taxonómica, y que podrían ser el resultado de la hibridación natural entre poblaciones de chiles silvestres en el estado (Narez-Jiménez *et al.*, 2014). A *C. frutescens* y *C. annuum* var. *glabriusculum* se les conoce con el nombre común de pico paloma y amashito, respectivamente (Castañón-Nájera *et al.*, 2008). Esta última especie es el pariente silvestre más cercano a las variedades cultivadas de *C. annuum*, tiene amplia distribución nacional, muestra diversidad morfológica y genética (Hernández-Verdugo *et al.*, 2012), presenta latencia de sus semillas (Prado-Urbina *et al.*, 2015), y posee compuestos con propiedades antioxidantes y antimicrobianas (Hayano-Kanashiro *et al.*, 2016).

Los frutos del género *Capsicum* producen metabolitos secundarios como carotenoides, alcaloides (capsaicinoides), compuestos fenólicos, ácido ascórbico y otros antioxidantes que les confieren importancia económica, valor nutricional, medicinal e incluso cosmético (Hoensch y Oertel, 2015; Hayano-Kanashiro *et al.*, 2016). Estos compuestos varían en su concentración de acuerdo con la especie, el nivel de madurez, las condiciones de estrés, la fertilización, el manejo postcosecha de los frutos, e incluso la vida de anaquel (Butcher *et al.*, 2012; Loizzo *et al.*, 2015; Campos-Hernández *et al.*, 2018). También hay varia-

Keywords: secondary metabolites, *Capsicum*, capsaicin, total polyphenols, carotenoids.

INTRODUCTION

Out of the species of the *Capsicum* genus, *C. annuum*, is one of the most important worldwide; in Mexico, it is found and grown in almost the entire country (Pickersgill, 2007). Other regionally important *Capsicum* species are *C. chinense*, mainly in the Yucatan peninsula, and *C. pubescens* in the highlands of the states of Michoacán, Querétaro, Oaxaca, Hidalgo, Veracruz and Chiapas (Aguilar-Rincón *et al.*, 2010). In the state of Tabasco, varieties of *C. annuum* and *C. chinense* are grown and *C. annuum* var. *glabriusculum* and *C. frutescens* are found in the wild and semi-domesticated, respectively. In addition, there are other *Capsicum* variations, without a taxonomical identification, and that could be the result of a natural hybridization between populations of wild peppers in the state (Narez-Jiménez *et al.*, 2014). *Capsicum frutescens* and *C. annuum* var. *glabriusculum* are known with the common names of pico paloma and amashito, respectively (Castañón-Nájera *et al.*, 2008). The latter species is the nearest wild relative to the cultivated *C. annuum* varieties; it has a wide national distribution, it displays morphological and genetic diversity (Hernández-Verdugo *et al.*, 2012), as well as latency of its seeds (Prado-Urbina *et al.*, 2015), and it contains compounds with antioxidant and antimicrobial properties (Hayano-Kanashiro *et al.*, 2016).

The fruits of the *Capsicum* genus produce secondary metabolites such as carotenoids, alkaloids (capsaicinoids), phenolic compounds, ascorbic acid and other antioxidants that make them economically important and nutritionally, medicinally and even cosmetically valuable (Hoensch and Oertel, 2015; Hayano-Kanashiro *et al.*, 2016). These compounds vary in their concentration, depending on their species, maturity level, stress conditions, fertilization, fruit postharvest handling, and even shelf life (Butcher *et al.*, 2012; Loizzo *et al.*, 2015; Campos-Hernández *et al.*, 2018). There is also variation in the total content of these compounds, between fruit components (pericarp, seeds and placenta). Capsaicinoids, capsaicin and dihydrocapsaicin, which give the spicy flavors, are synthesized in the placenta of the fruits, where they make up around

ción en el contenido total de estos compuestos, entre los componentes del fruto (pericarpio, semillas y placenta). Los capsaicinoides, capsaicina y dihidrocapsaicina, responsables del sabor picante, se sintetizan en la placenta de los frutos, donde constituyen alrededor del 90% del contenido total de capsaicinoides (Stewart *et al.*, 2005; Vázquez-Flota *et al.*, 2007).

Entre los metabolitos secundarios, los compuestos fenólicos y carotenoides de los frutos de *Capsicum* presentan propiedades antifúngicas (Moreno-Limón *et al.*, 2012; Rodriguez-Maturino *et al.*, 2015; Popelka *et al.*, 2017). En México hay registros de cuantificación de metabolitos secundarios para frutos de *C. chinense* (habanero) y *C. annuum* (serrano, jalapeño y morrón) los cuales son los más comercializados (Alvarez-Parrilla *et al.*, 2011; Butcher *et al.*, 2012; Campos-Hernández *et al.*, 2018). En las variantes silvestres, el contenido de metabolitos secundarios se ha evaluado en diferentes morfotipos de chiles de Oaxaca, Méx. (Vera-Guzmán *et al.*, 2011) y del norte de México (Rodriguez-Maturino *et al.*, 2012). Al considerar la importancia nutritiva, medicinal, antioxidante y antifúngica de los compuestos bioactivos de frutos del género *Capsicum* de otras regiones de México, el objetivo de esta investigación fue determinar el contenido de carotenoides, compuestos fenólicos, flavonoides y capsaicinoides totales de cuatro especies de *Capsicum* presentes en Tabasco. La hipótesis fue que los chiles silvestres en Tabasco son fuente de metabolitos secundarios, los cuales varian en función de la especie y estado de madurez.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal

El estudio incluyó frutos completos maduros (color rojo) e inmaduros (color verde) de chile amashito (*C. annuum* var. *glabriuscum*), chile pico paloma (*C. frutescens*) y chile garbanzo (*Capsicum* sp.) recolectados de poblaciones silvestres en el ejido Rafael Martínez de Escobar del municipio de Huimanguillo ($17^{\circ} 43' 26''$ N, $93^{\circ} 22' 97''$ O). Los frutos de chile habanero de color naranja (*C. chinense*) cultivados en el estado, se obtuvieron del mercado público del municipio de Cárdenas. De cada especie, los frutos seleccionados se lavaron para formar seis grupos con 100 frutos cada uno. Tres grupos se separaron por componentes (pericarpio, semilla y placenta), y los otros tres se formaron con frutos completos. Frutos completos y componentes se secaron al sol, pesaron y molieron. Las muestras molidas, por separado,

90% of the total content of capsaicinoids (Stewart *et al.*, 2005; Vázquez-Flota *et al.*, 2007).

Among the secondary metabolites, the phenolic compounds and carotenoids in the *Capsicum* fruits display antifungal properties (Moreno-Limón *et al.*, 2012; Rodriguez-Maturino *et al.*, 2015; Popelka *et al.*, 2017). In Mexico, there are records of the quantification of secondary metabolites for *C. chinense* (habanero) and *C. annuum* (serrano, jalapeño and bell pepper) fruits, which are the most widely commercialized (Alvarez-Parrilla *et al.*, 2011; Butcher *et al.*, 2012; Campos-Hernández *et al.*, 2018). In the wild variations, the content of secondary metabolites were evaluated in different morphotypes of peppers from Oaxaca, Mexico (Vera-Guzmán *et al.*, 2011) and Northern Mexico (Rodriguez-Maturino *et al.*, 2012). When considering the nutritional, medicinal, antioxidant and antifungal importance of the bioactive compounds of fruits of the *Capsicum* genus from other regions in Mexico, the aim of this research was to determine the content of total carotenoids, phenolic compounds, flavonoids and capsaicinoids in four *Capsicum* species found in Tabasco. The hypothesis was that wild peppers in Tabasco are a source of secondary metabolites, which vary based on the species and stage of maturity.

MATERIALS AND METHODS

Plant material

The study included whole mature (red) and immature (green) amashito pepper (*C. annuum* var. *glabriuscum*), pico paloma pepper (*C. frutescens*) and garbanzo pepper (*Capsicum* sp.), which were gathered in wild populations in the Rafael Martínez de Escobar ejido in the municipal area of Huimanguillo ($17^{\circ} 43' 26''$ N, $93^{\circ} 22' 97''$ W). Orange-colored habanero peppers (*C. chinense*) grown in the state were obtained in the public market of the municipal area of Cárdenas. The fruits of each species were washed and six groups were obtained with 100 fruits each. Three groups were separated by components (pericarp, seed and placenta), and the other three were obtained with whole fruits. Whole fruits and components were sun-dried, weighed and ground. The ground samples, separately, were stored at 5°C until analyzed. Due to the low amounts of placentas obtained, these samples only underwent capsaicin and dihydrocapsaicin analyses.

se conservaron a 5 °C hasta su análisis. Debido a la baja cantidad obtenida de las placas, en estas muestras solo se realizaron análisis de capsaicina y dihidrocapsaicina.

Carotenoides totales

Los carotenoides totales (CAT) se extrajeron con el método propuesto por Talcott y Howard (1999), usando una solución de acetona/etanol (1:1) mezclada con reactivo BHT [(2,6-Di-*tert*-butyl-*p*-kresol) Sigma-Aldrich®]. Para la cuantificación, se leyó la absorbancia a 470 nm, en un espectrómetro UV-VIS (Multiskan Go modelo 51119300, Thermo Fisher Scientific, USA). El contenido de CAT se calculó de acuerdo con Gross (1991) y la ecuación $(AV \times 10^6) / (A^{1\%} \times 100G)$, donde A es la absorbancia a 470 nm, V es el volumen total de extracto, $A^{1\%}$ es el coeficiente de extinción para una mezcla de disolventes fijados arbitrariamente en 2500, y G es el peso seco (g) de la muestra.

Polifenoles totales (PFT)

Previo a la extracción de PFT, las muestras se desengrasaron con hexano al 95%, en una relación muestra/hexano 1:10 (p/v). El precipitado seco obtenido se conservó a 4 °C protegido de la luz hasta su uso. La extracción y cuantificación de los PFT se efectuó con el método descrito por Singleton *et al.* (1999) y se usó metanol al 80%. La cuantificación se hizo con el reactivo Folin-Denis al 50%, y carbonato de sodio anhídrico al 15%. La absorbancia se leyó a 765 nm en un espectrómetro UV-VIS (Multiskan Go modelo 51119300, Thermo Fisher Scientific, USA). Una solución estándar de 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$ de ácido gálico (Sigma-Aldrich®) se utilizó para preparar la curva de calibración de 0 a 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$.

Flavonoides totales (FLT)

La extracción de FLT se realizó con el método de Alvarez-Parrilla *et al.* (2011) con metanol al 80%. La cuantificación de FLT se realizó de acuerdo con Menichini *et al.* (2009) con NaNO_3 al 5%, AlCl_3 al 10% (p/v) y NaOH 1 M. La absorbancia se leyó a 510 nm en un espectrómetro UV-VIS (Multiskan Go modelo 51119300, Thermo Fisher Scientific, USA). Una solución estándar de 1000 $\mu\text{g mL}^{-1}$ de quercetina al 95% (Sigma-Aldrich®) se usó para generar la curva de calibración de 100 a 1000 $\mu\text{g mL}^{-1}$. El contenido de FLT se expresó en mg g⁻¹ de peso seco.

Capsaicinoides (CAP)

Los capsaicinoides CAP y dihidrocapsaicina (DHC) se extrajeron de acuerdo con Collins *et al.* (1995) y Nwokem *et al.*

Total carotenoids

Total carotenoids (CAT) were extracted using the method proposed by Talcott and Howard (1999), using an acetone/ethanol (1:1) solution, mixed with a BHT reagent [(2,6-Di-*tert*-butyl-*p*-kresol) Sigma-Aldrich®]. For the quantification, absorbance was read at 470 nm in a UV-VIS spectrometer (Multiskan Go model 51119300, Thermo Fisher Scientific, U.S.A.). The content of CAT was estimated according to Gross (1991) and the equation $(AV \times 10^6) / (A^{1\%} \times 100G)$, where A is the absorbance at 470 nm, V is the total volume of extract, $A^{1\%}$ is the extinction coefficient for a mixture of solvents, fixed arbitrarily at 2500, and G is the dry weight (g) of the sample.

Total polyphenols (PFT)

Before the extraction of PFT, we removed the grease from the samples using hexane at 95%, in a sample/hexane ratio 1:10 (p/v). The dry precipitate was kept at 4 °C, away from direct light until use. The extraction and quantification of the PFT was carried out with the method described by Singleton *et al.* (1999), and methanol at 80% was used. The quantification was carried out with the reagent Folin-Denis at 50%, and anhydrous sodium carbonate at 15%. Absorbance was read at 765 nm in a UV-VIS spectrometer (Multiskan Go model 51119300, Thermo Fisher Scientific, U.S.A.). A standard solution of 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$ of gallic acid (Sigma-Aldrich®) was used to prepare the calibration curve from 0 to 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$.

Total flavonoids (FLT)

Extraction of FLT was carried out using the method described by Alvarez-Parrilla *et al.* (2011) with methanol at 80%. FLT quantification was performed according to Menichini *et al.* (2009) with NaNO_3 at 5%, AlCl_3 at 10% (p/v) and NaOH 1 M. Absorbance was read at 510 nm in a UV-VIS spectrometer (Multiskan Go model 51119300, Thermo Fisher Scientific, U.S.A.). A standard solution of 1000 $\mu\text{g mL}^{-1}$ of quercetin at 95% (Sigma-Aldrich®) was used to generate the calibration curve from 100 to 1000 $\mu\text{g mL}^{-1}$. The content of FLT was expressed in mg g⁻¹ of dry weight.

Capsaicinoids (CAP)

Capsaicinoids (CAP) and dihidrocapsaicin (DHC) were extracted according to Collins *et al.* (1995) and Nwokem *et al.* (2010) with methanol at 100% and a double boiler at 80 °C for 4 h. The identification and quantification of CAP and DHC contents were carried out in a gas chromatographer (GC) (Varian

(2010) con metanol al 100% y baño maría a 80 °C por 4 h. La identificación y cuantificación del contenido de CAP y DHC se hizo en un cromatógrafo de gases (GC) (Varian modelo 3900), acoplado a espectrometría de masas (MS) modelo Saturn 2100T. Las condiciones de separación fueron: columna capilar VF-5ms (95% metilpolisiloxano, 5% fenil), 30 m, 0.25 mm f y 0.25 μm , inyector a 260 °C en modo Splitless, el gas portador fue He, 99.99% pureza, 1.2 mL min⁻¹. Un volumen de 1.0 μL se inyectó a mano. La rampa de temperatura usada fue: inicial 232 °C por 1 min, incremento de 0.4 °C hasta 240 °C y se mantuvo constante 1.5 min. El tiempo total de análisis por muestra fue 22.5 min. El contenido de CAP y DHC se calculó con los chromatogramas obtenidos de la curva de calibración de 250, 500 y 1000 mg L⁻¹ de capsaicina (Sigma-Aldrich®) y dihidrocapsaicina (Sigma-Aldrich®). Los espectros de los extractos se compararon con los estándares y con la biblioteca NIST MS search 2.0 (National Institute of Standards and Technology, Gaithersburg, MD, USA) y los datos cuantitativos se obtuvieron, a partir de la integración de las áreas de los picos. Los resultados se expresaron en mg g⁻¹ de peso seco.

Análisis estadístico

Los datos obtenidos se analizaron con ANDEVA, bajo un diseño completamente al azar con un arreglo factorial 4x2. El primer factor fue la especie (*C. annuum* var. *glabriusculum*, *Capsicum* sp., *C. chinense* y *C. frutescens*), y el segundo factor fue el estado de madurez del fruto (maduro e inmaduro), así como su interacción. La diferencia entre los tratamientos se evaluó con la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$), usando el software estadístico InfoStat versión 2017 (Di Rienzo *et al.*, 2017).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Carotenoides totales

Diferencias significativas se observaron en el contenido de carotenoides totales entre las especies, estado de madurez e interacción, tanto en fruto completo como en pericarpio (Cuadro 1). El mayor contenido de carotenoides se encontró en los chiles maduros de las especies evaluadas (Figura 1), y sobresalió el pericarpio de *C. chinense* (52.23 mg g⁻¹), seguido del fruto completo de *C. frutescens* (46.16 mg g⁻¹) y el pericarpio de *Capsicum* sp. (34.89 mg g⁻¹). El menor contenido de carotenoides lo presentó el chile amashito en todos los componentes del fruto. Pero este chile mostró la menor disminución en contenido de carotenoides entre los estados de madurez evaluados

model 3900), connected to a mass spectrometer (MS) model Saturn 2100T. The conditions of separation were: capillary column VF-5ms (95% methylpolysiloxane, 5% phenyl), 30 m, 0.25 mm f and 0.25 μm , injector at 260 °C in Splitless mode, the carrier gas was He, 99.99% purity, 1.2 mL min⁻¹. A volume of 1.0 μL was injected by hand. The temperature ramp used was, initially, 232 °C for 1 min, an increase of 0.4 °C until 240 °C and it was maintained constant for 1.5 min. The total time of analysis per sample was 22.5 min. The content of CAP and of DHC was calculated with the chromatograms obtained from the calibration curve of 250, 500 and 1000 mg L⁻¹ of capsaicin (Sigma-Aldrich®) and dihydrocapsaicin (Sigma-Aldrich®). The spectra of the extracts were compared with the standards and with the library NIST MS search 2.0 (National Institute of Standards and Technology, Gaithersburg, MD, U.S.A.) and quantitative data were obtained from the integration of the areas of the peaks. The results were expressed in mg g⁻¹ of dry weight.

Statistical analysis

The data obtained were analyzed with an ANOVA, under a completely randomized design with a 4x2 factorial arrangement. The first factor was the species (*C. annuum* var. *glabriusculum*, *Capsicum* sp., *C. chinense* and *C. frutescens*), and the second factor was the stage of maturity of the fruit (mature and immature), as well as their interaction. The difference between treatments was evaluated with Tukey's test ($p \leq 0.05$), using the statistical software InfoStat version 2017 (Di Rienzo *et al.*, 2017).

RESULTS AND DISCUSSION

Total carotenoids

Significant differences were found in the content of total carotenoids amongst species, stage of maturity and interaction, both in the whole fruit and in the pericarp (Table 1). The greatest carotenoid content was found in mature peppers of the species evaluated (Figure 1), and the pericarp of *C. chinense* stood out (52.23 mg g⁻¹), followed by the whole *C. frutescens* fruit (46.16 mg g⁻¹) and the *Capsicum* sp. pericarp (34.89 mg g⁻¹). The lowest content of carotenoids was displayed by the amashito pepper in all of the fruit components. But this pepper showed the lowest reduction in content of carotenoids between the stages of maturity evaluated (Figure 1). In seeds, the content of carotenoids was low and without statistical

Cuadro 1. Cuadrados medios del ANDEVA y nivel de significancia para el contenido de carotenoides y compuestos fenólicos de cuatro especies del género *Capsicum*.

Table 1. Average squares of the ANOVA and the level of significance for the content of carotenoids and phenolic compounds from four species of the genus *Capsicum*.

Variable	Especie (E)	Cuadrado medio			Error
		Estado de madurez (EM)	E*EM		
Capsaicina	Fruto completo	234.9***	16.5*	22.4**	2.8
	Pericarpio	95.5***	62.0***	57.6***	1.3
	Semilla	7.7*	0.04	2.39	1.4
	Placenta	2705.4***	448.3***	129.6**	7.2
Dihidrocapsaicina	Fruto completo	80.5***	2.7	4.4	1.4
	Pericarpio	54.6***	13.2**	17.2**	0.9
	Semilla	7.7*	2.5	0.3	1.6
	Placenta	519.9***	201.9***	35.3***	1.2
Carotenoides	Fruto completo	389.9***	1028.0***	277.4***	1.4
	Pericarpio	228.9***	2333.1***	470.0***	3.0
	Semilla	2.0	5.6*	2.4	0.7
	Fruto completo	97.5***	4.0	9.0*	1.3
Compuestos fenólicos totales	Pericarpio	33.8***	8.1**	5.2**	0.4
	Semilla	12.1	5.8	9.2	5.8
	Fruto completo	440.6***	0.6	61.2***	2.3
	Flavonoides totales	33.7*	42.1*	23.5*	3.8
Flavonoides totales	Pericarpio	177.6***	53.1***	43.9***	2.1
	Semilla				

*** p≤0.001, ** p≤0.01, * p≤0.05.

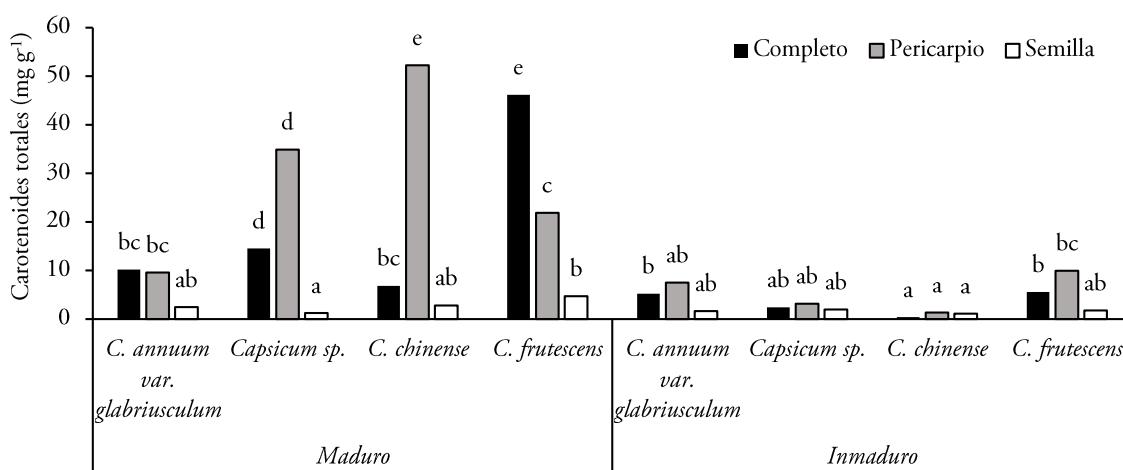


Figura 1. Contenido de carotenoides totales en los componentes del fruto por estado de madurez (mg g⁻¹) en cuatro especies de *Capsicum*.

Medias con letras diferentes son estadísticamente diferentes (p≤0.05).

Figure 1. Content of total carotenoids in fruit components by stage of maturity (mg g⁻¹) in four species of *Capsicum*.
Means with different letters are statistically different (p≤0.05).

(Figura 1). En semillas, el contenido de carotenoides fue bajo y sin diferencia estadística entre los estados maduro e inmaduro de los chiles estudiados. El rango de variación para carotenoides entre especies en estado maduro fue de 1.22 (*Capsicum* sp.) a 4.71 mg g⁻¹ (*C. chinense*), y en estado inmaduro de 1.09 (*C. chinense*) a 1.97 mg g⁻¹ (*Capsicum* sp.). En *C. chinense* Menichini *et al.* (2009) reportaron contenidos de carotenoides para semillas de frutos maduros e inmaduros de 3.62 y 0.62 mg g⁻¹ respectivamente, los cuales son similares a los encontrados en nuestro estudio para frutos inmaduros (0.38 mg g⁻¹) y maduros (6.83 mg g⁻¹) de la misma especie. Los carotenoides se encuentran en los amiloplastos en semillas de trigo y de maíz. En estas semillas están involucrados en la producción de ABA, aunque también contribuyen a disminuir la deterioración de las semillas por el envejecimiento al actuar sobre los radicales libres (Howitt y Pogson, 2006). El presente estudio es el primero en cuantificar el contenido de carotenoides por componentes en frutos de chiles silvestres de *C. annuum* var. *glabriusculum*, *C. frutescens* y *Capsicum* sp., en dos estados de madurez.

En el género *C. annuum* se han observado contenidos de carotenoides hasta de 13.2 mg g⁻¹ de peso seco, aunque contenidos altos de estos compuestos no siempre tienen un alto índice carotenogénico, dado por la relación R/Y (Hornero-Méndez *et al.*, 2000). Las variaciones en el contenido de estos compuestos entre diferentes recolectas o sitios se asociaron a la variación genotípica y condiciones precolección y postcolección (Butcher *et al.*, 2012).

Los contenidos de carotenoides encontrados para pericarpio fueron altos en *C. chinense* maduro (52.2 mg g⁻¹), *Capsicum* sp. (34.8 mg g⁻¹) y *C. frutescens* (21.8 mg g⁻¹), si se comparan con los resultados reportados por Daood *et al.* (2014) (11.5 mg g⁻¹ para *C. annuum* variedad Remény). El pericarpio de *C. annuum* var. *glabriusculum* presentó el menor contenido (9.5 mg g⁻¹). El contenido de carotenoides entre las especies y estado de maduración tuvo un rango amplio de variación (Figura 1), la cual se puede deber al color porque los frutos de los chiles tienen colores diferentes asociados con la madurez, lo que afecta el perfil de carotenoides. Kim *et al.* (2016) evaluaron 27 cultivares de *C. annuum* con diferentes colores de madurez (rojo, naranja y amarillo), formas y métodos de cultivo, encontraron variaciones de 0.11 a 1.90 mg g⁻¹, y los chiles de color naranja presentaron mayor

differences between the mature and immature stages of the peppers studied. The range of variation for carotenoids between species in the mature stage was of 1.22 (*Capsicum* sp.) to 4.71 mg g⁻¹ (*C. chinense*), and in the immature stage, 1.09 (*C. chinense*) to 1.97 mg g⁻¹ (*Capsicum* sp.). In *C. chinense* Menichini *et al.* (2009) reported carotenoids for seeds of mature and immature fruits of 3.62 and 0.62 mg g⁻¹, respectively, which are similar to those found in our study for immature (0.38 mg g⁻¹) and mature fruits (6.83 mg g⁻¹) of the same species. Carotenoids are found in the amyloplasts in wheat and maize seeds. In these seeds, they are involved in the production of ABA, although they also contribute to reduce deterioration of seeds due to aging by acting on the free radicals (Howitt and Pogson, 2006). The present study is the first to quantify the content of carotenoids by components in wild *C. annuum* var. *glabriusculum*, *C. frutescens* and *Capsicum* sp. fruits in two stages of maturity.

In the *C. annuum* genus, contents of carotenoids up to 13.2 mg g⁻¹ of dry weight were observed, although high contents of these compounds do not always have high carotenogenic levels, given by the ratio R/Y (Hornero-Méndez *et al.*, 2000). The variations in the content of these compounds between different recollections or sites were related to the genotypical variation and preharvest and postharvest conditions (Butcher *et al.*, 2012).

The contents of carotenoids found for pericarp were high in mature *C. chinense* (52.2 mg g⁻¹), *Capsicum* sp. (34.8 mg g⁻¹) and *C. frutescens* (21.8 mg g⁻¹), as compared to results reported by Daood *et al.* (2014) (11.5 mg g⁻¹ for *C. annuum*, variety Remény). The pericarp of *C. annuum* var. *glabriusculum* presented the lowest content (9.5 mg g⁻¹). The content of carotenoids between the species and the stage of maturity had a wide variation range (Figure 1), which may be due to the color, since the chili pepper fruits have different colors related to maturity, affecting the carotenoid profile. Kim *et al.* (2016) evaluated 27 *C. annuum* cultivars with different maturity colors (red, orange and yellow), shapes and cultivation methods; they found variations from 0.11 to 1.90 mg g⁻¹, and the orange-colored chili peppers showed the highest content of carotenoids. This coincides with findings from the present study because the *C. chinense* pericarp (orange-colored fruit in the stage of maturity) had the highest content of carotenoids.

contenido de carotenoides. Lo anterior concuerda con lo encontrado en el presente estudio porque el pericarpio de *C. chinense* (color de fruto naranja en estado maduro) mostró el mayor contenido de carotenoides.

Polifenoles totales

Para el contenido de polifenoles totales se observaron diferencias significativas entre especies para fruto completo y pericarpio, entre estado de madurez para pericarpio y semilla. La interacción especie*estado de madurez fue significativa para el contenido de polifenoles en fruto completo y pericarpio (Cuadro 1). Menichini *et al.* (2009) y Lutz *et al.* (2015) observaron que el estado de madurez de los frutos no tuvo efecto en el contenido de polifenoles totales de *C. chinense* Jacq. cv. *habanero*, y *C. annuum* cv. *almudén*.

El mayor contenido de polifenoles se encontró en el pericarpio de *C. chinense*, *Capsicum* sp. y *C. annuum* var. *glabriusculum* (Figura 2), y el pericarpio de *C. chinense* tuvo el contenido más alto (19.17 mg g⁻¹). En frutos completos, la variación entre especies fue de 7.44 (*C. annuum* sp.) a 15.57 mg g⁻¹ (*C. chinense*). Las semillas de todas las especies presentaron contenidos bajos de polifenoles totales, con un rango de 5.39 (*C. chinense*) a 8.79 mg g⁻¹ (*C. frutescens*).

Respecto al contenido de polifenoles totales entre especies y variedades de *Capsicum*, Alvarez-Parrilla *et al.* (2011) observaron una variación de 5.68 a

Total polyphenols

For the content of total polyphenols, significant differences were observed between species for whole fruit and pericarp, between the stage of maturity for pericarp and seed. The species*stage of maturity interaction was significant for the content of polyphenols in whole fruit and pericarp (Table 1). Menichini *et al.* (2009) and Lutz *et al.* (2015) observed that the stage of maturity of the fruits had no effect on the content of total polyphenols of *C. chinense* Jacq. cv. *habanero* and *C. annuum* cv. *almudén*.

The highest content of polyphenols was found in the pericarp of *C. chinense*, *Capsicum* sp. and *C. annuum* var. *glabriusculum* (Figure 2), and the pericarp of *C. chinense* had the highest content (19.17 mg g⁻¹). In whole fruits, the variation between species was 7.44 (*C. annuum* sp.) to 15.57 mg g⁻¹ (*C. chinense*). The seeds of all the species presented low contents of total polyphenols, with a range of 5.39 (*C. chinense*) to 8.79 mg g⁻¹ (*C. frutescens*).

Regarding the content of total polyphenols between species and varieties of *Capsicum*, Alvarez-Parrilla *et al.* (2011) observed a variation of 5.68 to 10.32 mg g⁻¹ in dried and processed *C. annuum* fruits (jalapeño and serrano), Vera-Guzmán *et al.* (2011) reported between 0.69 and 3.50 mg g⁻¹ in mature fruits and 1.13 to 4.02 mg g⁻¹ in immature fruits of nine varieties of *C. annuum* and *C. pubescens*, and

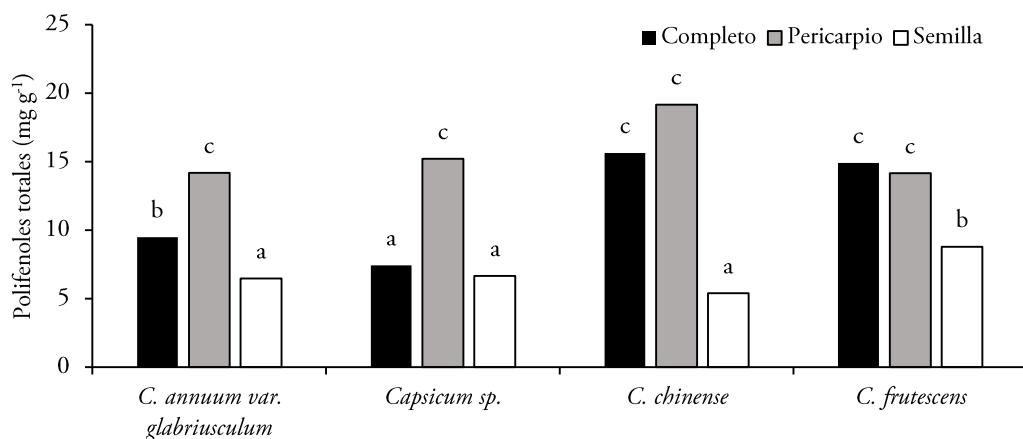


Figura 2. Contenido de polifenoles totales (mg g⁻¹) en frutos de especies de *Capsicum*.

Medias con letras diferentes son estadísticamente diferentes ($p \leq 0.05$).

Figure 2. Content of total polyphenols (mg g⁻¹) in fruits of species of *Capsicum*.

Means with different letters are statistically different ($p \leq 0.05$).

10.32 mg g⁻¹ en frutos frescos y procesados de *C. annuum* (chiles jalapeño y serrano), Vera-Guzmán et al. (2011) reportaron de 0.69 a 3.50 mg g⁻¹ en frutos maduros y 1.13 a 4.02 mg g⁻¹ en inmaduros de nueve variedades de *C. annuum* y *C. pubescens*, y Loizzo et al. (2015) encontraron 2.3 mg g⁻¹ en frutos de *C. chinense* y 71.4 mg g⁻¹ en *C. annuum*.

En chiles silvestres, Rodríguez-Maturino et al. (2012) observaron un contenido de 4.85 mg g⁻¹ de polifenoles en frutos frescos de *C. annuum* var. *glabriusculum*, valor inferior al de 9.49 mg g⁻¹ en nuestro estudio realizado en frutos secos. En frutos frescos de *C. chinense* esos autores también mostraron un valor bajo (5.92 mg g⁻¹) en comparación a lo observado en frutos secos en la presente investigación con *C. chinense*. Campos-Hernández et al. (2018) reportaron que el proceso y manejo postcosecha modifican el contenido de polifenoles en frutos de *Capsicum*, además del efecto de especie, variedad, y características del suelo y clima.

Flavonoides totales

El análisis de varianza para el contenido de flavonoides muestra diferencias significativas para la especie y estado de madurez, así como su interacción (Cuadro 1). El mayor contenido de flavonoides se encontró en el fruto completo y en los pericarpios de los chiles evaluados (Cuadro 2).

Los frutos maduros de *C. chinense* no presentaron diferencias significativas en el contenido de flavonoides

Loizzo et al. (2015) found 2.3 mg g⁻¹ in *C. chinense* fruits and 71.4 mg g⁻¹ in *C. annuum*.

In wild chili peppers, Rodríguez-Maturino et al. (2012) observed a content of 4.85 mg g⁻¹ of polyphenols in fresh *C. annuum*, var. *glabriusculum* fruits, a lower value than the 9.49 mg g⁻¹ found in our study performed on dried fruits. In fresh *C. chinense* fruits, these authors also showed a low value (5.92 mg g⁻¹) as compared to observations of dried fruits in our investigation with *C. chinense*. Campos-Hernández et al. (2018) reported that the postharvest process and management modify the content of polyphenols in *Capsicum* fruits, along with the effect of the species, variety, and soil and climate characteristics.

Total flavonoids

The analysis of variance for the content of flavonoids displays significant differences for the species and stage of maturity, as well as their interaction (Table 1). The highest content of flavonoids was found in the whole fruit and in the pericarps of the evaluated chili peppers (Table 2).

The mature *C. chinense* fruits did not present significant differences in content of flavonoids with immature fruits of the same species. The whole immature *C. frutescens* fruits displayed a higher content of flavonoids, as compare with the mature fruits (26.98 vs 19.36 mg g⁻¹). In *C. annuum* var. *glabriusculum*, the effect was the opposite: the immature fruits (13.93 mg g⁻¹) showed lower

Cuadro 2. Concentración de flavonoides totales (mg g⁻¹) en los componentes del fruto por nivel de madurez de cuatro especies de *Capsicum*.

Table 2. Concentration of total flavonoids (mg g⁻¹) in fruit components by stage of maturity (mg g⁻¹) in four species of *Capsicum*.

Estado de madurez	Componente fruto	Flavonoides totales (mg g ⁻¹)			
		<i>C. annuum</i> var. <i>glabriusculum</i>	<i>C. frutescens</i>	<i>C. chinense</i>	<i>Capsicum</i> sp.
Inmaduro	Semilla	11.06 fghi	20.37 bcd	16.29 def	8.50 hi
	Pericarpio	24.78 ab	28.17 a	24.57 abc	26.36 a
	Completo	13.93 efg	26.98 a	29.11 a	6.15 ij
Maduro	Semilla	12.92 efgh	11.92 fgh	17.77 de	1.70 j
	Pericarpio	17.52 de	24.60 abc	26.89 a	24.27 abc
	Completo	20.56 bcd	19.36 cd	27.23 a	10.32 ghi

Valores promedio con letras diferentes son estadísticamente diferentes entre columnas e hileras (Tukey, p≤0.05)

◆ Average values with different letters are statistically different between columns and rows (Tukey, p≤0.05).

con los inmaduros de la misma especie. Los frutos completos inmaduros de *C. frutescens* mostraron un contenido mayor de flavonoides, comparado con los maduros ($26.98 \text{ vs } 19.36 \text{ mg g}^{-1}$). En *C. annuum* var. *glabriusculum* el efecto fue contrario: los frutos inmaduros (13.93 mg g^{-1}) presentaron contenidos menores que los maduros (20.56 mg g^{-1}). Las semillas de frutos maduros de *Capsicum* sp. tuvieron el menor contenido de flavonoides (1.70 mg g^{-1}), y las semillas de frutos inmaduros de *C. frutescens* el contenido más alto (20.37 mg g^{-1}). Los principales flavonoides encontrados en frutos de *Capsicum* son luteolina, quer cetina, kaempferol y apigenina (Wahyuni *et al.*, 2013), cuya concentración puede variar entre cultivares y estado de maduración del fruto.

Respecto a los rangos de variación entre estados de madurez para el contenido de flavonoides totales, en *C. chinense* fue de 16.29 a 29.11 mg g^{-1} , en *C. frutescens* de 11.92 a 28.17 mg g^{-1} , en *C. annuum* var. *glabriusculum* de 11.06 a 24.78 mg g^{-1} , y en *Capsicum* sp. de 1.7 a 26.36 mg g^{-1} (Cuadro 2). Estos rangos son superiores a los observados por Loizzo *et al.* (2015) en 20 cultívar es de chiles, incluso un cultívar de *C. chinense* (0.9 a 11.1 mg g^{-1}) y a los reportados por Vera-Guzmán *et al.* (2011) en nueve morfotipos de chiles de Oaxaca. Variaciones en el contenido de flavonoides se observaron con frecuencia entre género y especies porque estos metabolitos secundarios se producen en las plantas en respuesta a factores de estrés biótico como enfermedades, ataque de insectos, o abiótico como estación del año, posición geográfica, método de procesado (Peterson *et al.*, 2015). Los altos contenidos de flavonoides presentes en las especies de *Capsicum* en estudio muestran la importancia que tendría el conocer el perfil de estos compuestos debido a sus efectos benéficos en la salud (Hoensch y Oertel, 2015).

Capsaicinoides

Los contenidos de capsaicina (CAP) y el de dihidrocapsaicina (DHC) mostraron diferencias significativas entre especie, estado de madurez y su interacción (Cuadro 1). En las especies evaluadas, CAP y DHC tuvieron mayor concentración en la placenta en los dos estados de madurez. El análisis de los frutos completos mostró que *C. chinense* tiene la mayor cantidad de CAP y DHC, respecto a las otras especies en estado maduro e inmaduro. Los chiles silvestres

contents than the mature ones (20.56 mg g^{-1}). The seeds of mature *Capsicum* sp. fruits had the lowest content of flavonoids (1.70 mg g^{-1}) and the seeds of immature *C. frutescens* fruits presented the highest content (20.37 mg g^{-1}). The main flavonoids found in *Capsicum* fruits are luteolin, quer cetina, kaempferol and apigenin (Wahyuni *et al.*, 2013), the concentration of which may vary between cultivars and the stage of maturity of the fruit.

Regarding the ranges of variation between stages of maturity for the content of total flavonoids, in *C. chinense* it went from 16.29 to 29.11 mg g^{-1} , in *C. frutescens* from 11.92 to 28.17 mg g^{-1} , in *C. annuum* var. *glabriusculum* from 11.06 to 24.78 mg g^{-1} , and in *Capsicum* sp. from 1.7 to 26.36 mg g^{-1} (Table 2). These ranges are higher than those observed by Loizzo *et al.* (2015) in 20 chili pepper cultivars, including a cultívar of *C. chinense* (0.9 to 11.1 mg g^{-1}) and those reported by Vera-Guzmán *et al.* (2011) in nine Oaxacan chili pepper morphotypes. Variations in the content of flavonoids were frequently observed between genera and species, since these secondary metabolites are produced in the plant as a response to biotic stress factors such as diseases and insect attacks, or abiotic stress factors such as the seasons of the year, geographic location and processing method (Peterson *et al.*, 2015). The high flavonoid contents present in the *Capsicum* species studied show the importance of knowing the profile of these compounds, due to their beneficial effects on health (Hoensch and Oertel, 2015).

Capsaicinoids

Capsaicin (CAP) and dihydrocapsaicin (DHC) contents showed significant differences between species, stage of maturity and their interaction (Table 1). In the species evaluated, CAP and DHC had a higher concentration in the placenta in both stages of maturity. The analysis of the whole fruits showed that *C. chinense* contains the highest amounts of CAP and DHC, as compared to the other species in mature and immature stages. The wild chili peppers presented a lower content of CAP and DHC in both maturity stages than *C. chinense*, and only *C. frutescens* had an increase in the content of capsaicinoids in the immature stage (Tables 3 and 4).

The CAP content in the placenta of the mature *C. chinense* fruit was 84.96 mg g^{-1} , and in the immature

presentaron menor contenido de CAP y DHC en ambos estados de madurez que *C. chinense*, y solo *C. frutescens* tuvo un aumento en el contenido de capsaicinoides en estado inmaduro (Cuadros 3 y 4).

El contenido de CAP en la placenta del fruto de *C. chinense* en estado maduro fue 84.96 mg g^{-1} y en el inmaduro 72.98 mg g^{-1} . Las semillas de los frutos de las cuatro especies de *Capsicum* en estado inmaduro y maduro presentaron un contenido menor. El mismo comportamiento se observó para DHC (Cuadro 4). La placenta del fruto de *C. chinense* maduro (43.45 mg g^{-1}) e inmaduro (29.70 mg g^{-1}) tuvo el mayor contenido

fruit, it was 72.98 mg g^{-1} . The seeds from mature and immature fruits of the four *Capsicum* species showed a lower content. The same behavior was observed for DHC (Table 4). The placenta of the mature *C. chinense* fruit (43.45 mg g^{-1}) and the immature fruit (29.70 mg g^{-1}) had the same DHC content, and the whole mature *Capsicum* sp. fruit showed the lowest content (0.79 mg g^{-1}).

CAP and DHC are the main capsaicinoids in chili peppers, and account for over 90% of their spiciness; the only difference between them is a double bond between carbons 6 and 7 in CAP, which is absent

Cuadro 3. Concentración de capsaicina (mg g^{-1}) en componentes del fruto de cuatro especies de *Capsicum* a dos estados de madurez.

Table 3. Concentration of capsaicin (mg g^{-1}) in fruit components by stage of maturity (mg g^{-1}) in four species of *Capsicum*.

Especie	Estado de madurez	Fruto completo	Pericarpio	Placenta	Semilla
<i>C. annuum</i> var. <i>glabriusculum</i>	Inmaduro	6.04 a	4.74 a	25.91 ab	2.89 a
	Maduro	6.86 a	5.88 ab	32.07 b	3.13 a
<i>Capsicum</i> sp.	Inmaduro	4.28 a	4.25 a	20.46 a	4.92 a
	Maduro	3.23 a	6.25 ab	19.10 a	2.63 a
<i>C. chinense</i>	Inmaduro	20.43 b	22.80 c	72.98 d	3.87 a
	Maduro	21.51 b	8.30 b	84.96 e	5.22 a
<i>C. frutescens</i>	Inmaduro	17.39 b	9.77 b	29.03 ab	6.11 a
	Maduro	8.40 a	5.38 ab	54.60 c	6.40 a

Medias con letras diferentes son estadísticamente diferentes ($p \leq 0.05$) ♦ Means with different letters are statistically different ($p \leq 0.05$).

Cuadro 4. Concentración de dihidrocapsaicina (mg g^{-1}) en componentes del fruto de cuatro especies de *Capsicum* a dos estados de madurez.

Table 4. Concentration of dihydrocapsaicin (mg g^{-1}) in fruit components in four species of *Capsicum* in two stages of maturity.

Especie	Estado de madurez	Fruto completo	Pericarpio	Placenta	Semilla
<i>C. annuum</i> var. <i>glabriusculum</i>	Inmaduro	3.73 a	2.75 ab	13.44 abc	1.23 a
	Maduro	3.80 a	3.39 abc	15.96 bc	1.44 a
<i>Capsicum</i> sp.	Inmaduro	1.56 a	1.22 a	9.96 a	1.09 a
	Maduro	0.79 a	3.20 abc	11.63 ab	2.19 a
<i>C. chinense</i>	Inmaduro	11.03 c	14.11 d	29.70 d	2.88 a
	Maduro	12.18 c	6.76 c	43.45 e	4.36 a
<i>C. frutescens</i>	Inmaduro	8.75 bc	6.26 bc	17.70 c	3.89 a
	Maduro	5.00 ab	3.70 abc	28.18 d	4.30 a

Medias con letras diferentes son estadísticamente diferentes ($p \leq 0.05$) ♦ Means with different letters are statistically different ($p \leq 0.05$).

en DHC, y el fruto completo de *Capsicum* sp. maduro mostró el menor contenido (0.79 mg g^{-1}).

La CAP y la DHC son los principales capsaicinoides en los frutos de chiles responsables de más de 90% del picor; se diferencian solo por la presencia de un doble enlace entre los carbonos 6 y 7 en la CAP, que está ausente en la DHC (Ben-Chaim *et al.*, 2006). La proporción entre capsaicinoides no es similar en todas las especies, depende del genotipo, grado de madurez, e incluso de la época de recolección (Ben-Chaim *et al.*, 2006; Menichini *et al.*, 2009; Alvarez-Parrilla *et al.*, 2011). Los capsaicinoides se sintetizan en las células epiteliales de la placenta y se acumulan en bolsas o ampollas a lo largo de estas células (Stewart *et al.*, 2005; Vázquez-Flota *et al.*, 2007), por ello en nuestro estudio el contenido mayor de CAP y DHC se encontró en las placas de las cuatro especies de chiles.

En frutos completos, *C. chinense* contiene más capsaicinoides en estado maduro (21.51 y 12.18 mg g^{-1} , CAP y DHC, respectivamente) e inmaduro (20.43 y 11.03 mg g^{-1} , CAP y DHC), seguido de *C. frutescens* y *C. annuum* var. *glabriusculum*; y *Capsicum* sp. maduro presentó el menor contenido de CAP (3.23 mg g^{-1}) y DHC (0.79 mg g^{-1}). El rango de 3.23 a 21.51 mg g^{-1} de CAP está dentro de los contenidos reportados para frutos de chiles. Así, Popelka *et al.* (2017) encontraron una variación en CAP de 1.24 a 27.14 mg g^{-1} en siete cultivares de *C. chinense*.

Para los chiles silvestres *C. annuum* var. *glabriusculum* y *Capsicum* sp. hay pocos estudios del contenido de capsaicinoides. Montoya-Ballesteros *et al.* (2010) reportaron que en *C. annuum* var. *aviculare* sinónimo de *C. annuum* var. *glabriusculum* existe un contenido mayor de CAP y DHC en frutos maduros (8.22 y 1.28 mg g^{-1} , respectivamente) que en los inmaduros (4.24 y 0.52 mg g^{-1} , respectivamente). Pero Gonzalez-Zamora *et al.* (2015) observaron un contenido más alto y significativo de CAP en frutos inmaduros de la misma especie *C. annuum* var. *glabriusculum* proveniente de Sonora (CAP de 17.7 a 23.7 mg g^{-1} peso seco para frutos maduros e inmaduros, respectivamente). En los chiles evaluados solo se observaron diferencias significativas por estado de madurez en los contenidos de capsaicinoides en

in DHC (Ben-Chaim *et al.*, 2006). The proportion between capsaicinoids is not similar in all species; it depends on the genotype, degree of maturity, and even the harvesting season (Ben-Chaim *et al.*, 2006; Menichini *et al.*, 2009; Alvarez-Parrilla *et al.*, 2011). Capsaicinoids are synthesized in the epithelial cells of the placenta and are accumulated in sacks or blisters along these cells (Stewart *et al.*, 2005; Vázquez-Flota *et al.*, 2007), which is why, in our study, the highest content of CAP and DHC was found in the placentas of the four chili pepper species.

In whole fruits, *C. chinense* contains more capsaicinoids in the mature (21.51 and 12.18 mg g^{-1} , CAP and DHC, respectively) and immature stages (20.43 and 11.03 mg g^{-1} , CAP and DHC), followed by *C. frutescens* and *C. annuum* var. *glabriusculum*; and mature *Capsicum* sp. showed the highest contents of CAP (3.23 mg g^{-1}) and DHC (0.79 mg g^{-1}). The range of 3.23 to 21.51 mg g^{-1} of CAP is within the contents reported for pepper fruits. Thus, Popelka *et al.* (2017) found a variation in CAP of 1.24 to 27.14 mg g^{-1} in seven *C. chinense* cultivars.

For wild *C. annuum* var. *glabriusculum* and *Capsicum* sp. peppers, there are few studies on the contents of capsaicinoids. Montoya-Ballesteros *et al.* (2010) reported that in *C. annuum* var. *aviculare*, synonymous with *C. annuum* var. *glabriusculum*, there are greater contents of CAP and DHC in mature fruits (8.22 and 1.28 mg g^{-1} , respectively) than in immature fruits (4.24 and 0.52 mg g^{-1} , respectively). Although Gonzalez-Zamora *et al.* (2015) observed a higher and significant CAP content in immature fruits of the same species of *C. annuum* var. *glabriusculum* from Sonora (CAP from 17.7 to 23.7 mg g^{-1} dry weight for mature and immature fruits, respectively). In the fruits evaluated, significant differences were only observed by the stage of maturity in the content of capsaicinoids in *C. frutescens* fruits, which showed 17.39 of CAP at an immature stage vs. 8.4 mg g^{-1} in a mature stage. By contrast, in the other wild peppers there were no significant differences between stages of fruit maturity. The contents of CAP and DHC in whole *C. annuum* var. *glabriusculum* fruits were 6.04 and 3.73 mg g^{-1} (immature), and 6.86 and 3.80 mg g^{-1} (mature); for *Capsicum* sp., 4.28 and 1.56 mg g^{-1} (immature), and 3.23 and 0.79 mg g^{-1} (mature).

frutos de *C. frutescens*, el cual mostró 17.39 de CAP en estado inmaduro vs. 8.4 mg g⁻¹ en estado maduro. En contraste, en los otros chiles silvestres no hubo diferencias significativas entre estados de madurez de frutos. Los contenidos de CAP y DHC en frutos completos de *C. annuum* var. *glabriusculum* fueron 6.04 y 3.73 mg g⁻¹ (inmaduro), y 6.86 y 3.80 mg g⁻¹ (maduro); para *Capsicum* sp. de 4.28 y 1.56 mg g⁻¹ (inmaduro), y 3.23 y 0.79 mg g⁻¹ (maduro).

CONCLUSIONES

Este estudio comprobó que las especies *C. annuum* var. *glabriusculum*, *C. frutescens*, *C. chinense* y *Capsicum* sp. en el estado de Tabasco, son fuente de metabolitos secundarios, como carotenoides, polifenoles totales, flavonoides y capsaicinoides totales; y sus concentraciones varían según la especie, los componentes y estado de madurez de los frutos. El contenido mayor de carotenoides totales se encontró en los pericarpios de los frutos maduros de todas las especies, y el de polifenoles totales en los pericarpios y frutos completos de *C. chinense* y *C. frutescens*. Los flavonoides son abundantes en frutos completos y pericarpio, independiente del estado de madurez. Entre los chiles silvestres, *C. annuum* var. *glabriusculum* presentó un contenido igual de polifenoles totales en estado maduro e inmaduro, pero el de flavonoides es menor en estado inmaduro. La capsaicina y la dihidrocapsaicina están en mayor concentración en la placenta de los frutos maduros e inmaduros de las especies, aunque *C. chinense* tuvo el contenido mayor de los dos capsaicinoides, seguido de *C. frutescens*, *C. annuum* var. *glabriusculum* y *Capsicum* sp. Esta variación en metabolitos secundarios de los chiles silvestres de Tabasco se podría usar en la alimentación por las propiedades bioactiva o en la agricultura por las propiedades antifúngicas.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el otorgamiento de la beca al primer autor para la realización de sus estudios de posgrado.

LITERATURA CITADA

Aguilar-Rincón, V. H., T. Corona Torres, P. López López, L. Latournerie Moreno, M. Ramírez Meraz, H. Villalón Mendoza, y J. A. Aguilar Castillo. 2010. Los chiles de México y

CONCLUSIONS

This study showed that the species *C. annuum* var. *glabriusculum*, *C. frutescens*, *C. chinense* and *Capsicum* sp. in the state of Tabasco are a source of secondary metabolites such as carotenoids, total polyphenols, flavonoids and total capsaicinoids, and their concentrations vary depending on the species, the components and the stage of maturity of the fruits. The highest carotenoid contents were found in the pericarps of the mature fruits in all species, and the highest content of total polyphenols was in pericarps and whole fruits of *C. chinense* and *C. frutescens*. Flavonoids are abundant in whole fruits and pericarps, regardless of the stage of maturity. Regarding wild peppers, *C. annuum* var. *glabriusculum* presented equal amounts of total polyphenols in the mature and immature stages, but the content of flavonoids is lower in an immature stage. Capsaicin and dihydrocapsaicin are found in larger concentrations in the placentas of mature and immature fruits of the species, although *C. chinense* displayed the highest content of both capsaicinoids, followed by *C. frutescens*, *C. annuum* var. *glabriusculum* and *Capsicum* sp. This variation in secondary metabolites in wild peppers in Tabasco could be used in food, due to bioactive properties, or in agriculture, due to antifungal properties.

—End of the English version—

-----*

su distribución. SINAREFI, Colegio de Postgraduados, INI-FAP, IT-Conkal, UANL, UAN. Montecillo, Texcoco, Estado de México. 114 p.

- Alvarez-Parrilla, E., L. A. De La Rosa, R. Amarowicz, and F. Shahidi. 2011. Antioxidant activity of fresh and processed Jalapeño and Serrano peppers. *J. Agric. Food Chem.* 59: 163–173.
- Ben-Chaim, A., Y. Borovsky, M. Falise, M. Mazourek, B. C. Kang, I. Paran, and M. Jahn. 2006. QTL analysis for capsaicinoid content in *Capsicum*. *Theor. Appl. Genet.* 113: 1481–1490.
- Butcher, J. D., K. M. Crosby, K. S. Yoo, B. S. Patil, A. M. H. Ibrahim, D. I. Leskovar, and J. L. Jifon. 2012. Environmental and genotypic variation of capsaicinoid and flavonoid concentrations in habanero (*Capsicum chinense*) peppers. *HortScience* 47: 574–579.
- Campos-Hernández, N., M. E. Jaramillo-Flores, D. I. Téllez-Medina, and L. Alamilla-Beltrán. 2018. Effect of traditional

- dehydration processing of pepper jalapeno rayado (*Capsicum annuum*) on secondary metabolites with antioxidant activity. *CyTA-J. Food* 16: 316-324.
- Castañón-Nájera, G., L. Latournerie-Moreno, M. Mendoza-Elos, A. Vargas-López, y H. Cárdenas-Morales. 2008. Colección y caracterización de chile (*Capsicum spp*) en Tabasco. *Int. J. Exp. Bot.* 77: 189-202.
- Collins, M. D., L. M. Wasmund, and P. W. Bosland. 1995. Improved method for quantifying capsaicinoids in *Capsicum* using high-performance liquid chromatography. *HortScience* 30: 137-139.
- Daood, H. G., G. Palotás, G. Palotás, G. Somogyi, Z. Pék, and L. Helyes. 2014. Carotenoid and antioxidant content of ground paprika from indoor-cultivated traditional varieties and new hybrids of spice red peppers. *Food Res Int.* 65: 231-237.
- Di Rienzo, J. A., F. Casanoves, M. G. Balzarini, L. Gonzalez, M. Tablada, y C. W. Robledo. InfoStat versión 2017. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. <http://www.infostat.com.ar>.
- Gonzalez-Zamora, A., E. Sierra-Campos, R. Pérez-Morales, C. Vázquez-Vázquez, M. A. Gallegos-Robles, J. D. López-Martínez, and J. L. García-Hernández. 2015. Measurement of capsaicinoids in chiltepin hot pepper: A comparison study between spectrophotometric method and high-performance liquid chromatography analysis. *J. Chem. Article ID 709150*, 10 p.
- Gross, J. 1991. Carotenoids. In: *Pigments in Vegetables*. Springer, Boston, MA. pp: 75-278.
- Hayano-Kanashiro, C., N. Gámez-Meza, and L. Ángel Medina-Juárez. 2016. Wild pepper *Capsicum annuum* L. var. *glabriuscum*: taxonomy, plant morphology, distribution, genetic diversity, genome sequencing, and phytochemical compounds. *Crop Sci.* 56: 1-11.
- Hernández-Verdugo, S., F. Porras, A. Pacheco-Olvera, R. G. López-España, M. Villarreal-Romero, S. Parra-Terraza, y T. Osuna E. 2012. Caracterización y variación ecogeográfica de poblaciones de chile (*Capsicum annuum* var. *glabriuscum*) silvestre del Noroeste de México. *Polibotánica* 33: 175-191.
- Hoensch, H. P., and R. Oertel. 2015. The value of flavonoids for the human nutrition: Short review and perspectives. *Clin. Nutr. Experim.* 3: 8-14.
- Hornero-Méndez, D., R. Gómez-Ladrón de Guevara, and M. I. Mínguez-Mosquera. 2000. Carotenoid biosynthesis changes in five red pepper (*Capsicum annuum* L.) cultivars during ripening. Cultivar selection for breeding. *J. Agric. Food Chem.* 48: 3857-3864.
- Howitt, C. A., and B. J. Pogson. 2006. Carotenoid accumulation and function in seeds and non-green tissues. *Plant Cell Environ.* 29: 435-445.
- Kim, J. S., C. G. An, J. S. Park, Y. P. Lim, and S. Kim. 2016. Carotenoid profiling from 27 types of paprika (*Capsicum annuum* L.) with different colors, shapes, and cultivation methods. *Food Chem.* 201: 64-71.
- Loizzo, M. R., A. Pugliese, M. Bonesi, F. Menichini, and R. Tundis. 2015. Evaluation of chemical profile and antioxidant activity of twenty cultivars from *Capsicum annuum*, *Capsicum baccatum*, *Capsicum chacoense* and *Capsicum chinense*: A comparison between fresh and processed peppers. *LWT Food Sci. Technol.* 64: 623-631.
- Lutz, M., J. Hernández, and C. Henríquez. 2015. Phenolic content and antioxidant capacity in fresh and dry fruits and vegetables grown in Chile. *CYTA – J. Food* 13: 541-547.
- Menichini, F., R. Tundis, M. Bonesi, M. R. Loizzo, F. Conforti, G. Statti, B. De Cindio, P. J. Houghton, and F. Menichini. 2009. The influence of fruit ripening on the phytochemical content and biological activity of *Capsicum chinense* Jacq. cv Habanero. *Food Chem.* 114: 553-560.
- Montoya-Ballesteros, L. C., A. Gardea-Béjar, G. M. Ayala-Chávez, Y. Y. Martínez-Núñez, y L. E. Robles-Ozuna. 2010. Capsaicinoides y color en chiltepín (*Capsicum annuum* var. *aviculare*), efecto del proceso sobre salsas y encurtidos. *Rev. Mex. Ing. Quím.* 9: 197-207.
- Moreno-Limón, S., S. M. Salcedo-Martínez, M. L. Cárdenas-Ávila, J. L. Hernández-Píñero, y M. A. Núñez-González. 2012. Efecto antifúngico de capsaicina y extractos de chile piquín (*Capsicum annuum* L. var. *aviculare*) sobre el crecimiento *in vitro* de *Aspergillus flavus*. *Polibotánica* 34: 171-184.
- Narez-Jiménez, C. A., E. De la Cruz-Lázaro, A. Gómez-Vázquez, C. Márquez-Quiroz, y P. García-Alamilla. 2014. Colecta y caracterización morfológica *in situ* de chiles (*Capsicum spp.*) cultivados en Tabasco, México. *Rev. Chapingo Ser. Hortic.* 20: 269-281.
- Nwokem, C. O., E. B. Agbaji, J. A. Kagbu, and E. J. Ekanem. 2010. Determination of capsaicin content and pungency level of five different peppers grown in Nigeria. *N Y Sci. J.* 33: 17-21.
- Peterson, J. J., J. T. Dwyer, P. F. Jacques, and M. L. McCulloug. 2015. Improving the estimation of flavonoid intake for study of health outcomes. *Nutr. Rev.* 73: 553-576.
- Pickersgill, B. 2007. Domestication of plants in the Americas: Insights from mendelian and molecular genetics. *Ann. Bot.* 100: 925-940.
- Popelka, P., P. Jevinová, K. Šmejkal, and P. Roba. 2017. Antibacterial activity of *Capsicum* extract against selected strains of bacteria and micromycetes. *J. Food Sci.* 11: 223-229.
- Prado-Urbina, G., L. C. Lagunes-Espinoza, E. García-López, C. del C. Bautista-Muñoz, W. Camacho-Chiu, F. Mirafuentes, y V. Heber Aguilar-Rincón. 2015. Germinación de semillas de chiles silvestres en respuesta a tratamientos pre-germinativos. *Ecosist. Recur. Agropec.* 2: 139-149.
- Rodríguez-Maturino, A., A. Valenzuela-Solorio, R. Troncoso-Rojas, D. González-Mendoza, O. Grimaldo-Juarez, M. Aviles-Marin, and L. Cervantes-Díaz. 2012. Antioxidant activity and bioactive compounds of Chiltepin (*Capsicum annuum* var. *glabriuscum*) and Habanero (*Capsicum chinense*): A comparative study. *J. Med. Plants Res.* 6: 1758-1763.
- Singleton, V. L., R. Orthofer, and R. M. Lamuela-Raventos. 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Method. Enzymol.* 299: 152-178.
- Stewart C. J., K. Byoung-Cheorl, L. Kede, M. Michael, L. M. Shanna, Y. Y. Eun, K. Byung-Dong, P. Ilan, and M. J. Molly. 2005. The Pun1 gene for pungency in pepper encodes a putative acyltransferase. *The Plant J.* 42: 675-688.
- Talcott, S. T., and L. R. Howard. 1999. Phenolic autoxidation is responsible for color degradation in processed carrot puree. *J. Agric. Food Chem.* 47: 2109-2115.

- Vázquez-Flota, F., M. de L. Miranda-Ham, M. Monforte-González, G. Gutiérrez-Carballo, C. Velázquez-García, y Y. Nieto-Pelayo. 2007. La biosíntesis de capsaicinoides, el principio picante del chile. Rev. Fitotec. Mex. 30: 353-360.
- Vera-Guzmán, A. M., J. L. Chávez-Servía, J. C. Carrillo-Rodríguez, y M. G. López. 2011. Phytochemical evaluation of wild and cultivated pepper (*Capsicum annuum* L. and *C. pubescens* Ruiz & Pav.) from Oaxaca, Mexico. Chil. J. Agric. Res. 71: 578-585.
- Wahyuni, Y., A.-R. Ballester, E. Sudarmonowati, R. J. Bino, and A. G. Bovy. 2013. Secondary metabolites of *Capsicum* species and their importance in the human diet. J. Nat. Prod. 76: 783-793.

