

UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE VALÈNCIA
ESCOLA TÈCNICA SUPERIOR D'ENGINYERIA
AGRONÒMICA I DEL MEDI NATURAL (EAMN).

GRAU EN ENGINYERIA AGROALIMENTÀRIA I
DEL MEDI RURAL



***Fenotipado del valor funcional de variedades
tradicionales de pimiento (*Capsicum annuum* L.)
para su uso en programas de mejora.***

Trabajo final de grado

Curso 2018-2019

MARIA LLOBELL RIBERO

TUTOR: JAIME CEBOLLA CORNEJO

COTUTOR: RAÚL MARTÍ RENAU

VALENCIA, Junio de 2019

Alumna: Maria Llobell Ribero

Tutor académico: Prof. Dr. Jaime Cebolla Cornejo

Cotutor: Dr. Raúl Martí Renau

Título: Fenotipado del valor funcional de variedades tradicionales de pimiento (*Capsicum annuum L.*) para su uso en programas de mejora.

Resumen:

El valor funcional de los alimentos es un parámetro que los consumidores tienen cada vez más en cuenta. Se trata de la capacidad de los alimentos para prevenir enfermedades. De esta forma, una dieta rica en compuestos bioactivos, puede contribuir a prevenir enfermedades degenerativas. El interés específico de los polifenoles radica en su capacidad para interferir con la iniciación, promoción y progreso de determinados tipos de cáncer.

En este contexto, un objetivo de mejora que se está consolidando en el mercado de semillas consiste en el aumento de los contenidos naturales de compuestos bioactivos. Para ello es necesario encontrar en primer lugar una fuente de variación. Es decir, identificar poblaciones que acumulen mayores niveles de un determinado compuesto. En el caso del pimiento, una parte importante del valor funcional viene determinada por la acumulación de polifenoles. Concretamente, la mayor parte se encuentra en forma de glucósidos de quercetina y luteolina.

Dentro de las variedades tradicionales encontramos los mayores niveles de variación de la especie cultivada. La identificación entre ellas de materiales con alta acumulación sería especialmente interesante, ya que facilitaría mucho la introgresión del carácter en nuevas variedades. Por otro lado, la identificación de un elevado valor funcional en poblaciones tradicionales, posibilitaría abordar su conservación en campo aprovechando un valor añadido en mercados de calidad.

En el presente trabajo se ha analizado mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) el contenido en los principales polifenoles en una colección de 23 entradas de variedades tradicionales de pimiento de asar, 11 de pimiento de freír y 5 de pimiento de Pericana, tanto en muestras sin hidrolizar, como hidrolizadas para estimar el contenido en compuestos derivados (principalmente glucósidos)

La acumulación de polifenoles tanto en forma libre como de glucósido fue muy variable dentro de poblaciones y entre poblaciones de los distintos tipos varietales. Así, fue posible identificar poblaciones dentro de cada tipo con cantidades muy superiores al resto, tanto en forma libre como en forma de glucósidos.

Como objetivo docente, el proyecto ha conseguido iniciar a la alumna en el fenotipado, una de las labores profesionales típicas de un mejorador en una casa de semillas, que corresponden a las competencias de tecnología de la producción vegetal y animal referentes a Biotecnología y mejora vegetal y de la tecnología de la producción hortofrutícola referentes a la genética y mejora vegetal.

Palabras clave: polifenoles, valor funcional, quercetina, luteolina

Valencia, junio del 2019

Student: Maria Llobell Ribero

Academic tutor: Dr. Jaime Cebolla Cornejo

Co-tutor: Dr. Raúl Martí Renau

Title: Phenotyping of the functional value of traditional varieties of peppers (*Capsicum annuum* L.) for its use in breeding programmes.

Abstract:

The functional value of food is a parameter that consumers are increasingly taking into account. It is the ability of food to prevent diseases. In this way, a diet rich in bioactive compounds can contribute to preventing degenerative diseases. The specific interest of polyphenols lies in their ability to interfere with the initiation, promotion and progress of certain types of cancer.

In this context, a breeding objective which is being consolidated in the seed market consists of increasing the natural contents of bioactive compounds. This implies, firstly, to find a source of variation, that is to say, to identify populations that accumulate the highest levels of a certain compound. In the case of peppers, an important part of the functional value is determined by the accumulation of polyphenols. Specifically, most of them are found as quercetin and luteolin glycosides.

The highest levels of variation among the cultivated species are found within the traditional varieties. The identification of materials with high accumulation would be especially interesting, since it would greatly facilitate the introgression of the character in new varieties. On the other hand, the identification of a high functional value in traditional populations would enable to approach their conservation in the field taking advantage of an added value in quality markets.

In the present project, the contents of the main polyphenols in a collection of 23 accessions of traditional varieties of roasting pepper, 11 of frying pepper and 5 of Pericana pepper have been analysed by means of high resolution liquid chromatography (HPLC), in both non-hydrolysed and hydrolysed samples to estimate the content of derived compounds (mainly glycosides).

The accumulation of polyphenols in both free and glycoside form was highly variable within populations and between populations of different varietal types. Thus, it was possible to identify populations within each type with higher amounts than the rest, both in free and in glycosidated form.

Regarding teaching objectives, this project has initiated the student in phenotyping, one of the typical professional tasks of a breeder in a seed house. This task corresponds to the competences of plant and animal production technology referring to Biotechnology and plant breeding, as well as the technology of fruit and vegetable production referring to genetics and plant breeding.

Keywords: polyphenols, functional value, quercetin, luteolin

Valencia, June 2019

Alumna: Maria Llobell Ribero

Tutor acadèmic: Prof. D. Jaime Cebolla Cornejo

Cotutor: D. Raúl Martí Renau

Títol: Fenotipat del valor funcional de varietats tradicionals de la pebrera (*Capsicum annuum L.*) per a l'ús de programes de millora.

Resum:

El valor funcional dels aliments és un paràmetre que els consumidors tenen cada vegada més en compte. Es tracta de la capacitat dels aliments per a prevenir malalties. D'aquesta manera, una dieta rica en compostos bioactius pot contribuir a prevenir malalties degeneratives. L'interès específic dels polifenols rau en la capacitat d'aquests per a interferir amb la iniciació, la promoció i el progrés de determinats tipus de càncer.

En aquest context, un objectiu de millora que s'està consolidant en el mercat de llavors consisteix en l'augment dels continguts naturals de compostos bioactius. Per a això, cal trobar en primer lloc una font de variació, és a dir, cal identificar poblacions que acumulen nivells més alts d'un compost determinat. En el cas de la pebrera, una part important del valor funcional ve determinada per l'acumulació de polifenols. Concretament, la majoria es troba en forma de glucòsids de quercetina i luteolina.

Dins de les varietats tradicionals trobem els nivells més alts de variació de l'espècie cultivada. La identificació de materials amb alta acumulació seria especialment interessant entre aquestes varietats tradicionals, ja que facilitaria molt la introgressió del caràcter en varietats noves. D'altra banda, la identificació d'un elevat valor funcional en poblacions tradicionals possibilitaria abordar la conservació d'aquestes en camps i aprofitar un valor afegit en mercats de qualitat.

En el present treball, s'ha analitzat mitjançant cromatografia líquida d'alta resolució (HPLC) el contingut dels principals polifenols d'una col·lecció de 23 entrades de varietats tradicionals de pebrera de rostir, 11 de pebrera de fregir i 5 de pebrera de Pericana, tant en mostres sense hidrolitzar, com hidrolitzades per a estimar el contingut en compostos derivats (principalment glucòsids).

L'acumulació de polifenols tant en forma lliure com de glucòsid va ser molt variable dins de les poblacions i entre poblacions dels diferents tipus varietals. Així doncs, va ser possible identificar poblacions dins de cada tipus amb quantitats molt superiors a la resta, tant en forma lliure com en forma de glucòsids.

Com a objectiu docent, el projecte ha aconseguit iniciar a l'alumna en el fenotipat, una de les tasques professionals típiques d'un millorador en una casa de llavors, que correspon a les competències de tecnologia de la producció vegetal i animal referents a Biotecnologia i millora vegetal i de la tecnologia de la producció hortofructícola referents a la genètica i millora vegetal.

Paraules clau: polifenols, valor funcional, quercetina, luteolina

València, juny del 2019

ÍNDICE

ÍNDICE GENERAL

1. INTRODUCCIÓN.....	2
1.1 EL CULTIVO DEL PIMIENTO.....	2
1.2 ORIGEN Y DOMESTICACIÓN.....	3
1.3 IMPORTANCIA ECONÓMICA.....	3
1.3.1 PIMIENTO EN EL MUNDO.....	3
1.3.2 PIMIENTO EN ESPAÑA.....	6
1.4 LA CALIDAD DEL CULTIVO.....	8
1.4.1 CALIDAD FUNCIONAL EN PIMIENTO.....	9
1.4.2 POLIFENOLES.....	10
2. OBJETIVOS.....	12
3. MATERIAL Y MÉTODOS.....	14
3.1 MATERIAL VEGETAL Y DISEÑO EXPERIMENTAL.....	14
3.2 MUESTREO.....	15
3.3 DETERMINACIONES ANALÍTICAS.....	15
3.3.1 EXTRACCIÓN POLIFENOLES.....	15
3.3.2 HIDROLISIS.....	17
3.3.3 ANÁLISIS POLIFENOLES.....	17
3.4 ANÁLISIS ESTADÍSTICOS.....	17
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	19
4.1. POLIFENOLES EN MUESTRAS NO HIDROLIZADAS.....	19
4.2. ACUMULACIÓN DE POLIFENOLES EN MUESTRAS HIDROLIZADAS.....	24
5. CONCLUSIONES.....	30
6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	32

ÍNDICE DE FIGURAS

1. INTRODUCCIÓN.

FIGURA 1. Evolución del área cultivada y de la producción mundial del pimiento (FAO, 2019)..	3
FIGURA 2. Producción de pimiento de los principales países productores (t) (FAO, 2019)	5
FIGURA 3. Producción de las principales hortalizas del mundo (FAO, 2019)	5
FIGURA 4. Evolución a nivel mundial de las importaciones y exportaciones en valor y en cantidad del pimiento a nivel mundial (FAO, 2019).....	6
FIGURA 5. Distribución de la superficie cultivada de pimiento en España (FAO, 2019).....	6
FIGURA 6. Evolución del área cosechada y producción del pimiento en España (FAO, 2019).....	7
FIGURA 7. Evolución de las importaciones y exportaciones de la cantidad de pimiento en España (FAO, 2019).....	7
FIGURA 8. Evolución del valor económico de las importaciones y exportaciones del pimiento en España (FAO, 2019)	8

3. MATERIAL Y MÉTODOS.

FIGURA 9. Pimientos utilizados para la realización del ensayo. De izquierda a derecha de tipo de freír, asar y Pericana.....	14
FIGURA 10. Pimientos en el momento de muestreo. En los tipos asar y Pericana sólo se recogieron en estado rojo maduro.	15

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

FIGURA 11. Contenido en polifenoles en muestras no hidrolizadas (mg kg^{-1}).	20
FIGURA 12. Concentración de polifenoles glicosidados del pimiento, después de la realización de la hidrólisis. (mg kg^{-1}).....	25

ÍNDICE DE TABLAS

1. INTRODUCCIÓN.

TABLA 1. Especies cultivadas de <i>Capsicum</i> (Nuez <i>et al.</i> , 1998).	2
TABLA 2. Valores del área cosechada y de producción en los continentes (FAO, 2019).....	4
TABLA 3. Composición de pimientos dulces y picantes, comparados con el tomate y la zanahoria. (Por 100 g de porción comestible) (Moreiras <i>et al.</i> , 2005)	10

3. MATERIAL Y MÉTODOS.

TABLA 4. Entradas de variedades tradicionales de pimiento empleadas en el estudio y controles comerciales.	16
---	----

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

TABLA 5. Contenido en polifenoles (mg kg ⁻¹) en muestras sin hidrolizar (media ± e.s). Letras distintas dentro de tipo indican diferencias significativas (LSD p-valor<0.05) y la ausencia de letras implica un efecto de genotipo no significativo (ANOVA p-valor>0.05)	21
TABLA 6. Contenido en polifenoles (mg kg ⁻¹) en muestras hidrolizadas (media ± e.s), representando la acumulación de polifenoles libres y derivados. Letras distintas dentro de tipo indican diferencias significativas (LSD p-valor<0.05) y la ausencia de letras implica un efecto de genotipo no significativo (ANOVA p-valor>0.05).	27

INTRODUCCIÓN

1. INTRODUCCIÓN.

1.1 EL CULTIVO DEL PIMIENTO.

El pimiento es una de las hortalizas más importantes en el mundo. El gran éxito de esta hortaliza ya lo anticipó Colón, al llevarlo de vuelta a España como alternativa a la pimienta, de la que recibió el nombre.

El pimiento, es un cultivo especialmente variado. De hecho, engloba cinco especies cultivadas, todas ellas pertenecientes al género *Capsicum* de la familia de las Solanáceas. El nombre de este género es controvertido. Algunos autores lo relacionan con el griego *kapsō* (picar), y según otros autores provendría de *kapsakes* (cápsula), refiriéndose al fruto hueco de pimiento, aunque en realidad botánicamente se trata de una baya, no de una cápsula.

La familia de las solanáceas es especialmente variable y engloba cultivos tan importantes a nivel mundial como el propio pimiento, la patata o el tomate. Se divide en dos subfamilias: *Solanoideae* y *Cestroideae*, entre las cuales se encuentra diferencias químicas, morfológicas y citogenéticas. Dentro de esta familia, se encuentra un conjunto de 90 géneros, entre los cuales el género *Capsicum* pertenece a la subfamilia *Solanoideae*. La taxonomía dentro de este grupo es difícil de clasificar por la variabilidad existente entre las especies cultivadas (Nuez, *et al.*, 1996).

El género *Capsicum* engloba 27 especies, de las que cinco han sido domesticadas y mantienen su uso y consumo en la actualidad (Tabla 1). Estas especies se clasifican por el color de la corola entre especies de flores púrpura y flores blancas. Una característica relacionada con el proceso evolutivo de la especie. Entre las especies cultivadas sólo en *C. annuum* encontramos los pimientos dulces, ya que el resto de especies se caracterizan por un sabor muy picante. Estudios genéticos recientes identifican tres agrupaciones principales dentro de *Capsicum*. La primera formada por: *C. annuum*, *C. frutescens* y *C. chinense*, la segunda formada por *C. baccatum* y su pariente silvestre *C. baccatum* var. *baccatum* Esbaugh (*C. microcarpum* Chodat et Hassl.) y la tercera integrada por las especies de corola púrpura, con *C. pubescens* y las silvestres *C. eximium* Hunz. y *C. cardenasii* Heiser et Smith (Nicolai *et al.*, 2013).

Tabla 1. Especies cultivadas de *Capsicum* (Nuez *et al.*, 1998).

ESPECIES CULTIVADAS DE CAPSICUM		
Especies de flores púrpura	<i>C. pubescens</i> R. & P.	
Especies de flores blancas	<i>C. annuum</i> L.	var. <i>aviculare</i>
		var. <i>annuum</i>
	<i>C. baccatum</i> L.	var. <i>baccatum</i>
		var. <i>pendulum</i> Wild.
	<i>C. chinense</i> Jacq.	
<i>C. frutescens</i> L.		

La gran prominencia de la que goza el pimiento en la actualidad sigue basándose en las características que motivaron su importancia al diseminar los españoles su cultivo por el mundo, su gran capacidad como condimento y sus propiedades conservantes. De hecho, el auge de las especias picantes de pimiento está relacionado con el auge de las nuevas cocinas inspiradas en la cocina Mexicana, Tailandesa e India y su uso como especias (Crosby, 2008).

1.2 ORIGEN Y DOMESTICACIÓN.

Las especies cultivadas de *Capsicum* tuvieron su origen en América, concretamente en la zona de Bolivia sud-central, donde se cree que se encontraba el ancestro primitivo. Este ancestro migraría por un lado hacia los Andes, dando lugar a las especies de flores moradas y por otro lado hacia las tierras bajas de la Amazonia, donde se diversificarían las especies de flores blancas (Mc Leod *et al.*, 1982). A lo largo de este proceso de difusión se irían domesticando en distintas zonas las especies cultivadas de *Capsicum*.

La especie de mayor difusión a nivel mundial *C. annuum* fue probablemente la última en domesticarse, un proceso que investigaciones recientes centran en un área concreta del centro-este de México englobando partes de los estados de Puebla, Oaxaca y Veracruz (Kraft *et al.*, 2014). Posteriormente, según se desarrolló la domesticación, apareció una amplia variedad de pimientos con sus diferentes formas, tamaños, sabores y colores, por lo que condujo a la aparición de series homólogas donde varía el sabor del fruto, la intensidad del color previa y durante la madurez y la forma del fruto (Pochard *et al.*, 1992).

1.3 IMPORTANCIA ECONÓMICA.

1.3.1 PIMIENTO EN EL MUNDO.

El pimiento es considerado una de las hortalizas más importantes en todo el mundo y su producción no para de crecer. Según los datos publicados en la FAO, la producción mundial en el último año registrado (2017) fue de 36.092.631 t. Si se analiza la producción en los últimos diez años, ésta aumentó un 24% respecto a la del año 2007 (Figura 1).

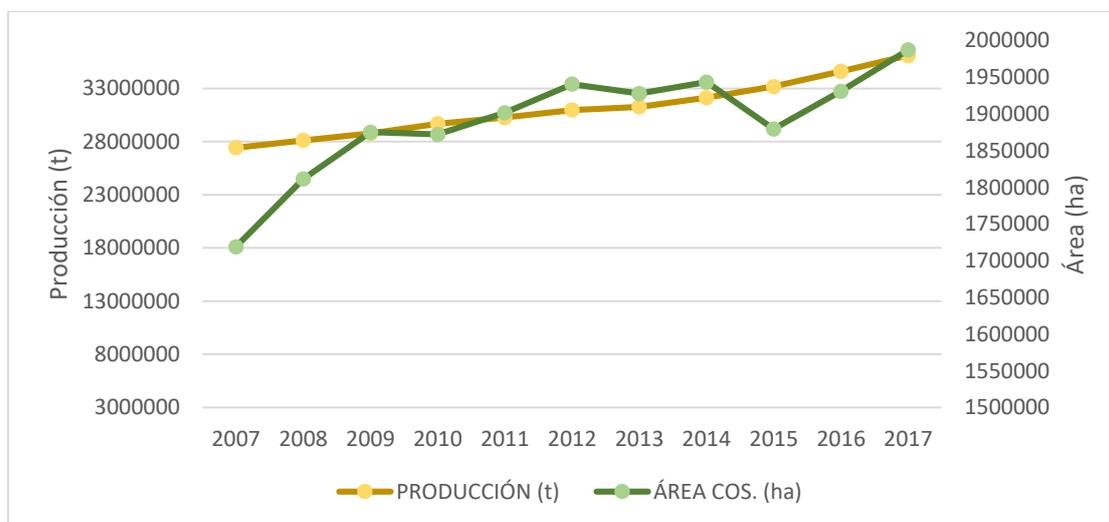


Figura 1. Evolución del área cultivada y de la producción mundial del pimiento (FAO, 2019)

La superficie cultivada también ha ido creciendo de forma paulatina. Este incremento se truncó en el año 2015, con un fuerte descenso de ésta superficie. Este descenso podría estar relacionado con la reducción de superficie cultivada en Estados Unidos, por la competencia de México, y en África, probablemente relacionada con la incidencia de antracnosis (Saxena *et al.*, 2016). En cualquier caso, en años posteriores la superficie cultivada ha continuado con su ascenso, llegando en el año 2017 a cultivarse una extensión de 1.987.059 ha.

La mayor parte de la producción (68%) se acumula hoy en día en Asia (Tabla 2). De hecho, es donde se concentra la mayor superficie cultivada (Tabla 2). A pesar de que el pimiento es originario de América, éste ocupa una segunda posición, con una producción un 55% inferior que el principal productor. Finalmente, le sigue África (10%) y Europa (9%). De la comparación de superficie y producción (Tabla 2) se deduce que el rendimiento es muy desigual. Precisamente, en Oceanía, con una producción muy baja se da un rendimiento medio de hasta 28,3 t ha⁻¹, un nivel parecido al obtenido en Europa (25,5 t ha⁻¹), mientras que en el resto de continentes el rendimiento medio baja hasta el rango 10 - 16,1 t ha⁻¹. Estas diferencias se deben tanto al uso de una mayor tecnificación y producción en invernadero como a la mayor implantación de variedades mejoradas de última generación.

Tabla 2. Valores del área cosechada y de producción en los continentes (FAO, 2019)

	Área cosechada (ha)	Producción (t)	Área cosechada (%)	Producción (%)
Asia	1317361	21085859,91	66	68
África	301478	3016659,91	15	10
América	251387	4047548,36	13	13
Europa	114989	2930228,64	6	9
Oceanía	1844	52154,64	0	0

La producción del pimiento en cada zona depende de las costumbres y tradiciones de cada país. En la zona asiática y africana predomina la producción de pimientos picantes, mientras que en Europa predominan los dulces o para pimentón. En cambio, en América producen tanto los dulces como los picantes (Nuez, *et al.*, 1996).

Por países, considerando el promedio de producción de los últimos diez años, el máximo productor de pimientos es China, con casi 16 millones de toneladas (Figura 2). Muy desmarcado del segundo productor, México, donde se domesticó la especie *C. annuum*, alcanzando los 2 millones de toneladas. Hay que destacar que España se encuentra entre los 10 principales productores mundiales, ocupando la quinta posición, con una producción similar a la de los Estados Unidos.

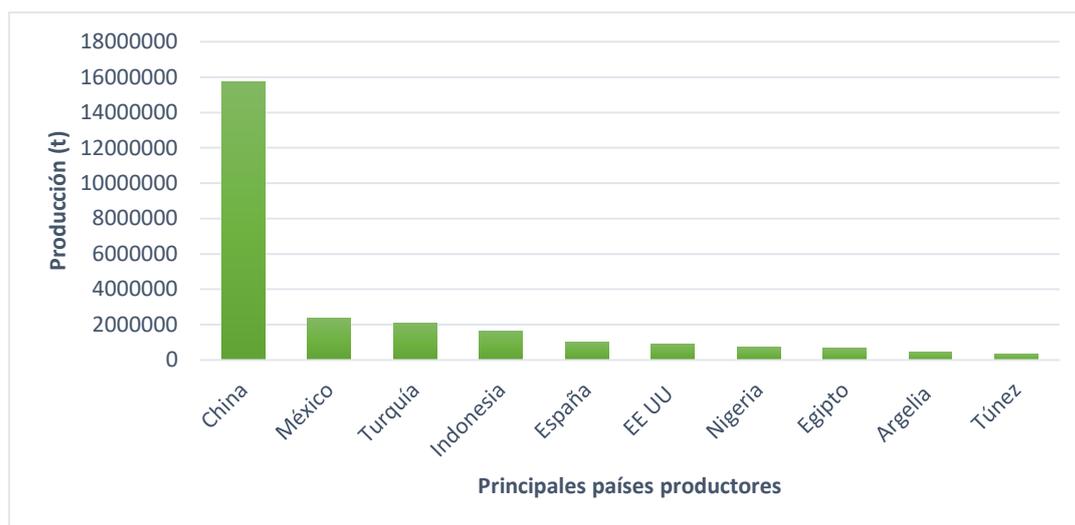


Figura 2. Producción de pimienta de los principales países productores (t) (FAO, 2019)

Como se ha comentado anteriormente, la producción de pimienta ha gozado de un gran dinamismo en los últimos años. Una tendencia compartida también por la mayor parte de hortalizas en los últimos 30 años (Figura 3). Aunque los incrementos en producción han sido menores que en el caso del tomate, lo cierto es que la tendencia alcista está mucho más marcada que en el caso del grupo de zanahorias y nabos, cebollas y chalotes y crucíferas. En cuanto a cantidades producidas, el tomate sería el rey de las hortalizas y el pimienta ocuparía el sexto lugar (Figura 3). No obstante hay que considerar que la menor densidad del fruto minusvalora la importancia de la producción.

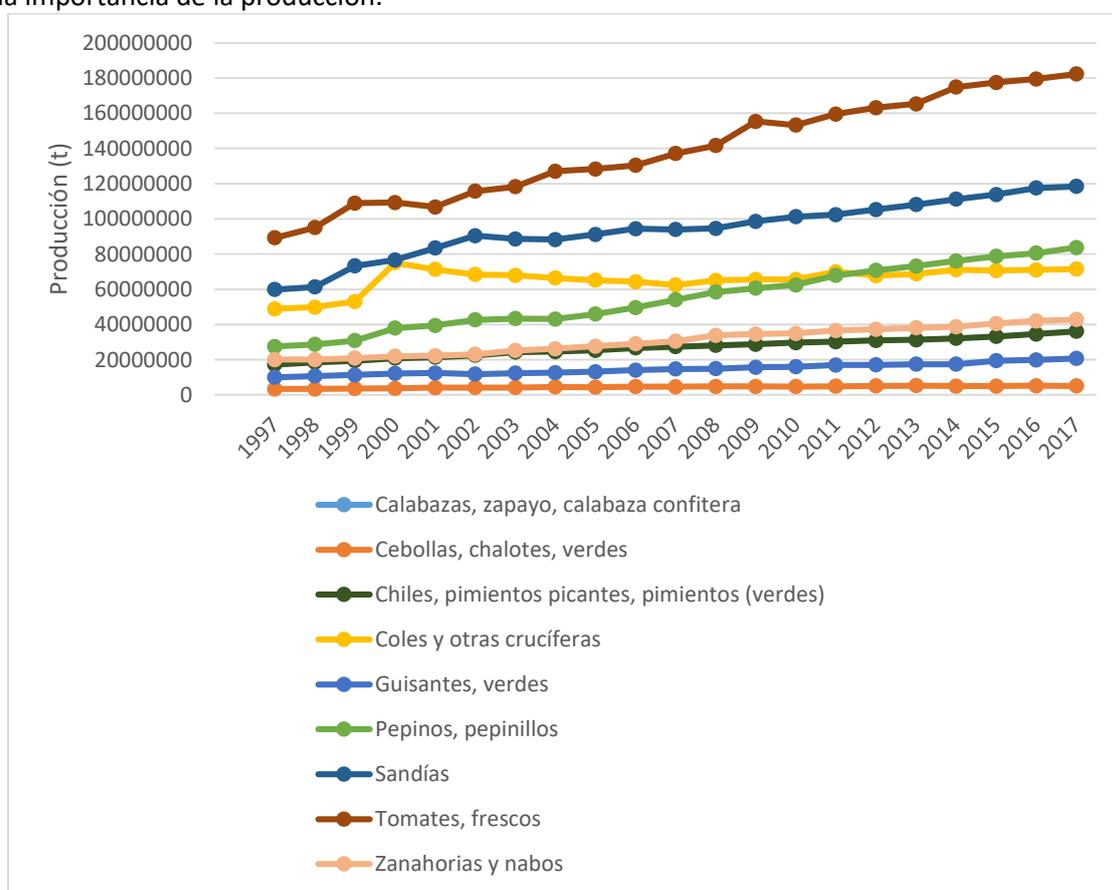


Figura 3. Producción de las principales hortalizas del mundo (FAO, 2019)

Una parte importante de la producción de pimienta se destina al comercio internacional (Figura 4). Se trata de un sector muy dinámico en que las cantidades importadas y exportadas han aumentado constantemente durante los últimos 20 años. Este gran dinamismo viene reforzado por el importante incremento en el valor de la producción comercializada internacionalmente, especialmente desde el año 2002 (Figura 4). Esta tendencia favorece a España, ya que cuenta con una larga tradición exportadora.

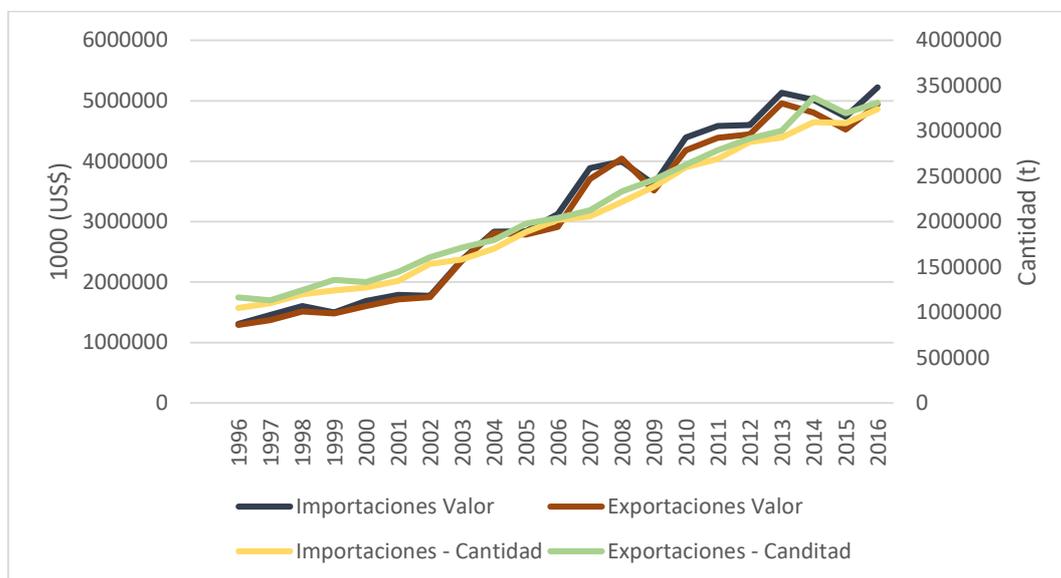


Figura 4. Evolución a nivel mundial de las importaciones y exportaciones en valor y en cantidad del pimienta a nivel mundial (FAO, 2019)

1.3.2 PIMIENTO EN ESPAÑA.

Según el Anuario de Estadística Agraria del Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación (M.A.P.A, 2018), en España, el pimienta ocupó en 2017 una superficie total de 20.388 ha. El cultivo se distribuyó por las diferentes comunidades autónomas de forma desigual, concentrándose en el sudeste de España (Figura 5). Así, la comunidad que ocupa el primer lugar y que compone el 62% de superficie cultivada fue Andalucía, con 12.656 ha, seguida a distancia por la Región de Murcia, con el 7,6% (1.549 ha).

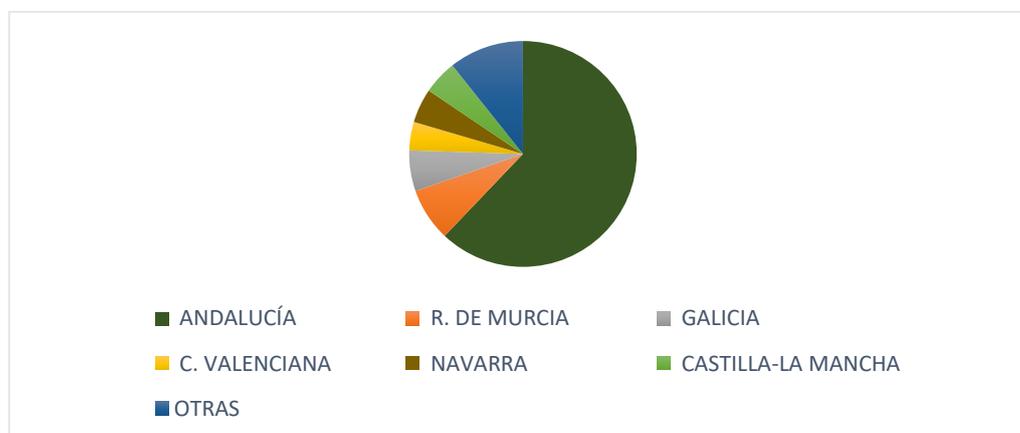


Figura 5. Distribución de la superficie cultivada de pimienta en España (FAO, 2019)

La superficie cultivada de pimiento osciló de forma más o menos estable entre los años 1997 y 2006, produciéndose una brusca caída en los años 2007 y 2008 (Figura 6). Este descenso tuvo su origen en problemas fitosanitarios y por residuos, afectando especialmente a Andalucía, la principal zona productora (Reche-Marmol, 2010). Desde el año 2012, en que tocó mínimos, la superficie ha vuelto a aumentar. La producción siguió una tendencia similar, aunque en los últimos 10 años se evidencia un notable aumento del rendimiento, ya que la producción aumenta más rápidamente que la superficie cultivada.

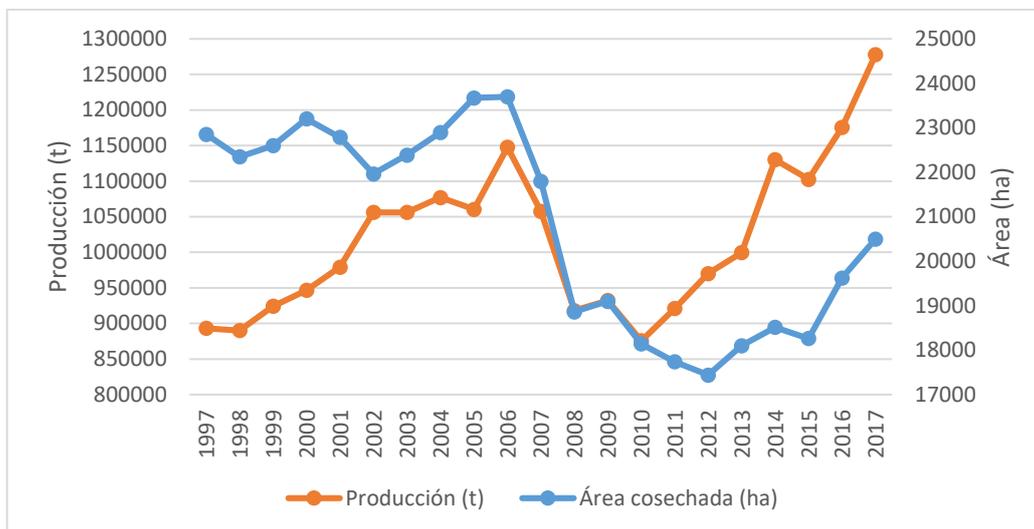


Figura 6. Evolución del área cosechada y producción del pimiento en España (FAO, 2019)

Como se ha comentado, el comercio exterior goza de gran tradición en España y la producción exportada representa una parte importante de la producción total, con una tendencia al alza especialmente desde el año 2010 (Figura 7). El valor de las exportaciones como es lógico ha sufrido más variaciones, aunque siguiendo la tendencia al alza, y en la actualidad supera los mil millones de dólares USD (Figura 8). En cualquier caso, la importancia del pimiento en el comercio exterior de España es clave, ya que es la segunda hortaliza con mayor valor en el comercio exterior, solo un poco por detrás del tomate (FEPEX, 2017).



Figura 7. Evolución de las importaciones y exportaciones de la cantidad de pimiento en España (FAO, 2019)

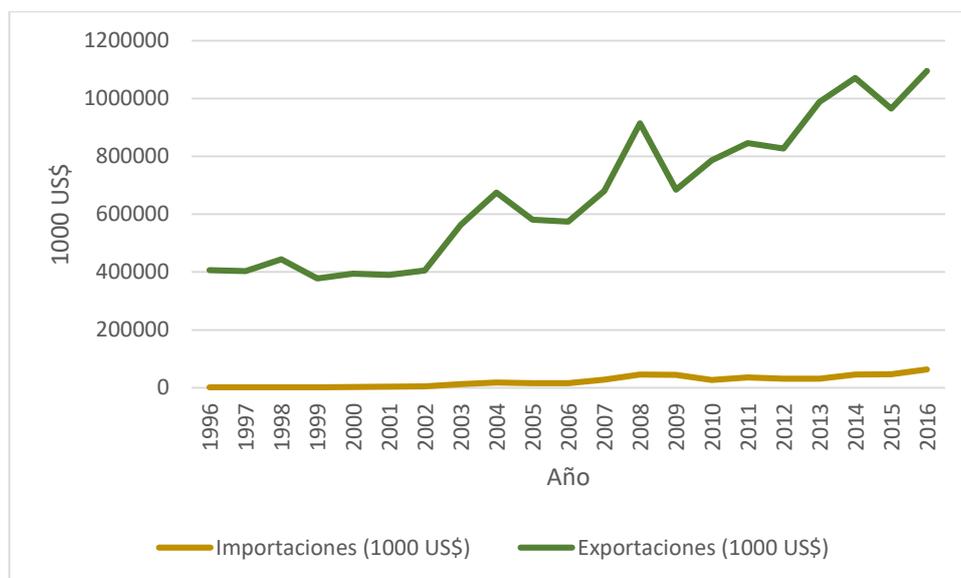


Figura 8. Evolución del valor económico de las importaciones y exportaciones del pimiento en España (FAO, 2019)

1.4 LA CALIDAD DEL CULTIVO.

Hoy en día el concepto de calidad en la producción hortícola tiene muchas facetas distintas. La calidad exterior sin duda sigue siendo importante. De hecho, condiciona la decisión de compra y constituye una exigencia básica del distribuidor (Weaver y Luloff, 1992). De hecho, la apariencia, vida post-cosecha y bajo precio aún a costa del sabor, dentro del concepto de calidad dirigida por el producto se adapta mejor a las preferencias del distribuidor (Shewfelt, 1999). Así en pimiento sigue siendo fundamental aspectos como la uniformidad, la ausencia de agrietado y la vida post-cosecha, especialmente la última evitando la pérdida de agua que provoca la pérdida de turgencia y el consiguiente arrugado de la piel (Parsons *et al.*, 2013).

En el caso de otras hortalizas como el tomate, los consumidores han apreciado una importante pérdida de calidad organoléptica en las variedades modernas (Bruhn *et al.*, 1991) lo que propició el desarrollo de mercados de calidad ligados a variedades tradicionales en los que los consumidores están dispuestos a pagar un mayor precio a cambio de mejor sabor. El sabor sería por tanto un componente fundamental de la calidad interna de las hortalizas. Sin embargo, en pimiento las críticas no han sido masivas y los esfuerzos por mejorar el sabor han sido más parcos. Probablemente el propio sabor ya de por sí intenso del pimiento ha minimizado el impacto negativo percibido en el caso del tomate. No obstante, es cierto que se han desarrollado estudios tratando de focalizar qué es lo que el consumidor prefiere en pimiento, observándose que los contenidos en glucosa y fructosa y en compuestos volátiles como el (E)-2-hexen-1-ol, neopentano, *p*-menth-1-en-9-al, 3-hepten-2-one, (Z)- β -ocimeno, (Z)-2-penten-1-ol y el 1-metil-1,4-ciclohexadieno juegan un papel fundamental a la hora de definir diferencias en el sabor provocadas por el genotipo o el ambiente (Eggink *et al.*, 2012).

La forma en la que se producen las hortalizas también forma parte hoy en día de la calidad. Tanto por el hecho de haberse obtenido la producción con el máximo respeto al ambiente, como por la ausencia de trazas de residuos fitosanitarios (Bavec *et al.*, 2018).

Pero, sin duda, la componente de mayor atención que está recibiendo el cultivo de hortalizas en la actualidad es la calidad funcional. Así, los consumidores ya no sólo demandan un buen sabor, sino que también empiezan a considerar los beneficios de los compuestos bioactivos de los alimentos en la prevención de enfermedades y el mantenimiento de una buena salud. Se trata de un componente de la calidad que va más allá del valor nutricional del alimento ya que considera no sólo los nutrientes, sino cualquier compuesto que pueda representar un beneficio para la salud (Sun-Waterhouse, 2011).

El gran auge de la calidad funcional como estrategia de comercialización en el sector agroalimentario (Bigliardi y Galati, 2013) representa una oportunidad para consolidar el mercado hortícola español en un contexto de gran competitividad. Se trata de explotar la diferenciación a través del desarrollo de valores añadidos, desarrollando estrategias que maximicen el contenido en compuestos funcionales, bien a través del genotipo empleado en la producción, bien proveyendo las condiciones agronómicas que maximicen su acumulación.

En el mercado de calidad asociado al uso de variedades tradicionales, la identificación de un valor funcional elevado puede ser clave para potenciar la recuperación del cultivo de estos materiales (Cortés *et al.*, 2014). Se trataría en este caso no sólo de ofrecer una alternativa a los agricultores en un mercado saturado, sino también de abordar una verdadera conservación *in situ* promoviendo el cultivo de materiales tradicionales. Pero más allá de la recuperación de materiales tradicionales, también es necesario identificar fuentes de variación que permitan aumentar la acumulación de compuestos funcionales en programas de mejora. La identificación de un elevado potencial en una variedad tradicional conlleva un resultado más fácilmente transferible en el desarrollo de un programa de mejora genética, al evitar los problemas asociados al uso de fuentes de variación silvestres. Pero en el caso del pimiento ¿qué componentes determinarían la calidad funcional?

1.4.1 CALIDAD FUNCIONAL EN PIMIENTO

La calidad funcional del pimiento viene determinada por la acumulación de nutrientes y de otros compuestos que sin serlo, proveen un beneficio para la salud previniendo el desarrollo de enfermedades. Esta calidad depende de los factores climáticos, el genotipo y de las prácticas de cultivo. Además, el momento de recolección y de consumo también es fundamental, ya que consumir el fruto en un estado totalmente maduro aumenta el valor nutricional (Gnayfeed *et al.*, 2001).

En comparación con otras especies como el tomate o la zanahoria, el pimiento destacaría por la mayor acumulación de vitamina C (Tabla 3). En el caso de la provitamina A, las vitaminas B o E los niveles son muy similares y considerando el menor uso comparativo del pimiento en la dieta no representaría un beneficio claro tratar de aumentar los niveles de estos compuestos.

Más allá de las vitaminas, el valor funcional del pimiento también depende de la acumulación de otros carotenoides distintos del β -caroteno (provitamina A) y de polifenoles.

Tabla 3. Composición de pimientos dulces y picantes, comparados con el tomate y la zanahoria. (Por 100 g de porción comestible) (Moreiras *et al.*, 2005)

	PIMIENTO		TOMATE	ZANAHORIA
	DULCE	PICANTE		
Agua (%)	94	88	94	89
Energía (Kcal)	19	40	18	33
Proteínas (g)	0,9	2	1	0,9
Lípidos (g)	0,2	0,2	0,3	0,2
Carbohidratos (g)	3,7	9,5	3	7,3
Fibra (g)	1,2	1,8	1,5	2,9
Ca (mg)	12	18	11	41
Fe (mg)	0,5	1,2	0,6	0,7
Mg (mg)	11	--	10	13
Na	2	--	3	77
K (mg)	210	340	290	255
Vit./-Provit. A (retinol, µg equiv.)	94	120	207	1333
Vit. B1 (tiamina, mg)	0,05	0,09	0,06	0,05
Vit. B2 (riboflavina, mg))	0,04	0,09	0,04	0,04
Vit. B3 (niacina, mg)	0,9	0,95	0,8	0,6
Vit. B6 (pírodoxina, mg)	0,17	0,28	0,11	0,15
Vit. C (ác. ascórbico, mg)	131	243	26	6
Vit. E (mg)	0,8	1,1	1,2	0,5

1.4.2 POLIFENOLES.

Los polifenoles son metabolitos secundarios derivados de la ruta del ácido shikímico. Se trata de antioxidantes muy potentes de estructura variable. Entre las distintas familias de polifenoles, en pimiento los más importantes serían los ácidos hidroxicinámicos y los flavonoides. Dentro del último grupo destacaría la acumulación de flavonoles como la quercetina o flavonas como la luteolina. Como en muchas otras especies vegetales, los flavonoides no sólo se encuentran en forma libre, sino que muchas veces aparecen en forma de glucósidos, lo que dificulta su identificación y cuantificación (Martí *et al.*, 2016).

Hoy en día sabemos que los polifenoles de origen vegetal interfieren en la iniciación, promoción y progresión del cáncer (Ramos, 2008). Estos compuestos no sólo ejercen un potente poder antioxidante a la hora de prevenir la aparición de cáncer (Jeong, *et al.*, 2011), sino que también actúan modulando la actividad de enzimas detoxificantes, remodelación de la cromatina, el metabolismo procarcinogénico entre otros mecanismos (Gibellini *et al.*, 2011)

El incremento en la acumulación de estos compuestos se ha convertido en objetivo de mejora fundamental en otras hortalizas como el tomate (Martí *et al.*, 2016). Se trata no sólo de desarrollar alimentos que ayuden a prevenir determinados tipos de cáncer, sino que su acumulación también incide en el desarrollo de otras enfermedades degenerativas como las cardiovasculares o el Alzheimer, o incluso sobre el asma y la diabetes (Martí *et al.*, 2019).

OBJETIVOS

2. OBJETIVOS

En los últimos años, los consumidores son cada vez más conscientes del papel que tiene la alimentación en su propia salud. Por ello, hay una creciente demanda de productos de alto valor funcional que contribuyan a la prevención de enfermedades degenerativas, como el cáncer, las enfermedades cardiovasculares o la diabetes, entre otras. Por ello, la búsqueda de fuentes de variación que permitan aumentar los contenidos de compuestos bioactivos en frutas y hortalizas se ha convertido en un objetivo prioritario para las casas de semillas, con vistas a satisfacer en el futuro una creciente demanda por ese tipo de alimentos funcionales.

Este objetivo de mejora se está imponiendo en las especies hortícolas de mayor valor económico, ya que permite dotar a las nuevas variedades de un valor añadido que contribuya a mejorar su posición en el mercado. Tras el éxito logrado siguiendo esta estrategia en tomate, el foco se ha puesto ahora sobre el pimiento, una especie de gran relevancia estratégica en la horticultura española, en la que la exportación representa un parte importante de la producción. Entre los principales compuestos bioactivos que acumula el pimiento destacan la vitamina C y los polifenoles. Especialmente los segundos, ya que se ven menos afectados por las altas temperaturas durante el cocinado.

A la hora de encontrar una fuente de variación que permita aumentar la concentración de polifenoles en pimiento se puede recurrir a especies silvestres relacionadas con la cultivada, pero también a la propia especie cultivada. En este último caso destaca el interés del grupo de materiales que representa la mayor variación cultivada: las variedades tradicionales. La ventaja de esta aproximación es que la introgresión del control genético subyacente es mucho más rápida y sencilla y tiene menores repercusiones sobre caracteres complejos como el sabor.

La posible identificación de altos contenidos de polifenoles en variedades tradicionales tendría un valor adicional, y es que serviría para dotar a estos materiales de un valor añadido, consolidando un diferencial de precio que contribuyera a posibilitar una conservación *in situ* a través de la promoción del cultivo de variedades tradicionales de alto valor funcional.

En este contexto, respondiendo a la demanda empresarial de fuentes de variación para la mejora de la calidad funcional en pimiento y a la necesidad social de contribuir a la conservación *in situ* de las variedades tradicionales, se estableció como objetivo principal del trabajo el siguiente:

- Evaluar la acumulación de los principales polifenoles en una colección de entradas de variedades tradicionales de pimiento, mediante la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) en fase reversa empleando columna de núcleo fundido.

MATERIAL Y MÉTODOS

3. MATERIAL Y MÉTODOS

3.1 MATERIAL VEGETAL Y DISEÑO EXPERIMENTAL.

Para la realización del estudio, el Banco de Germoplasma de la Universitat Politècnica de València (UPV) proporcionó 23 entradas de variedades tradicionales valencianas de pimiento de asar (Figura 9), 11 de pimiento de freír y 5 de pimiento de Pericana (Tabla 4). En el caso de pimiento de asar se empleó como control semilla comercial de la variedad tradicional “Largo de Reus” y un híbrido F1: “Ramonete”. En el caso del tipo de freír se empleó semilla comercial de “Dulce italiano”. En el tipo Pericana no se empleó control comercial al no haber disponibilidad. Se trata de unos pimientos rojos alargados que se secan en ristras y se usan en la zona de Alcoy para preparar el plato de la Pericana. Tiene por tanto un uso muy local y no hay variante comercial ofertada en el mercado.

Las semillas se pretrataron antes de germinar. Para ello, se sumergieron con Na_3PO_4 al 10% durante 3 horas. Seguidamente se enjuagaron con agua desionizada cada 15 min durante 1 hora y finalmente se trataron con una dilución de lejía comercial al 30% durante 7 min. Se realizó un lavado final con agua desionizada durante 10 minutos.

A continuación, las semillas se germinaron en placas Petri sobre algodón y papel de filtro. Una vez germinadas, se trasplantaron en sustrato y se mantuvieron dos semanas en cámaras de cultivo en condiciones ambientales controladas. Finalmente, las plantas se aclimataron en el invernadero durante una semana antes del trasplante.

El cultivo se realizó en invernaderos de malla antitrip en la Estación Experimental Agraria de Carcaixent (39.112035, -0.447036). Se empleó un diseño de dos bloques con 9 plantas al azar por cada bloque y entrada. Las plantas se trasplantaron directamente en el suelo, que había sido cubierto con plástico blanco, en dos filas al tresbolillo con una separación entre plantas de 0.5 metros. Se utilizó tutorización mediante cañas en barraca y con tutores de hilo de rafia a ambos lados para sujetar las plantas. Se aplicó abonado de fondo y fertirrigación cubriendo las necesidades del cultivo siguiendo las prácticas comerciales de la zona.



Figura 9. Pimientos utilizados para la realización del ensayo. De izquierda a derecha de tipo de freír, asar y Pericana.

3.2 MUESTREO.

Las 9 plantas por entrada y bloque se dividieron en dos sub-bloques que se muestrearon masalmente. De cada planta se muestrearon dos frutos en estado de madurez comercial. En el caso de los pimientos de freír se recogieron en color verde y calibre comercial antes del viraje de color. Los pimientos de asar y Pericana se recogieron en estado de rojo maduro (Figura 10).



Figura 10. Pimientos en el momento de muestreo. En los tipos asar y Pericana sólo se recogieron en estado rojo maduro.

Los frutos de cada planta se trituraron y homogeneizaron en un equipo KB720 (KRUPS, Groupe Seb Iberica, Barcelona, España). El homogeneizado se mantuvo congelado a -80°C hasta el análisis.

3.3 DETERMINACIONES ANALÍTICAS.

3.3.1 EXTRACCIÓN POLIFENOLES

Las muestras se descongelaron en nevera en oscuridad. Una vez descongeladas se pesó aproximadamente un gramo de muestra en un tubo Falcon de 15 mL con tapón. Seguidamente se añadió 2,5 mL de disolvente de extracción, compuesto por una disolución de 0.1 g de hidroxitolueno butilado (BHT, como antioxidante) en 100 mL de metanol, a la que se añadió posteriormente 2.5 mL de agua desionizada obtenida con un sistema Milli-Q (Millipore, Molsheim, France).

Tabla 4. Entradas de variedades tradicionales de pimiento empleadas en el estudio y controles comerciales.

CDP	Provincia	Comarca	Tipo
CDP001693	Comunidad Valenciana	-	Asar/Lamuyo
CDP004221	Alicante	El Baix Vinalopó	Asar/Lamuyo
CDP004223	Alicante	El Baix Segura	Asar/Lamuyo
CDP003807	Alicante	El Baix Segura	Asar/Lamuyo
CDP008918	Castellón	El Alto Mijares	Asar/Lamuyo
CDP005278	Castellón	El Alto Mijares	Asar/Lamuyo
CDP002339	Castellón	El Alto Mijares	Asar
CDP003153	Castellón	El Alto Mijares	Asar/Lamuyo
CDP001835	Castellón	El Alto Palancia	Asar/Lamuyo
CDP004378	Castellón	El Alto Palancia	Asar/Lamuyo
CDP007638	Castellón	L'Alcalatén	Asar/Lamuyo
CDP005118	Castellón	La Plana Alta	Asar/Lamuyo
CDP005212	Valencia	El Rincón de Ademuz	Asar
CDP005014	Valencia	La Ribera Alta	Asar/Lamuyo
CDP008897	Valencia	La Ribera Alta	Asar/Lamuyo
CDP003905	Valencia	La Ribera Alta	Asar/Lamuyo
CDP005252	Valencia	La Ribera Alta	Asar/Lamuyo
CDP005202	Valencia	La Ribera Alta	Asar/Lamuyo
CDP000354	Valencia	La Ribera Baixa	Asar
CDP006933	Valencia	El Camp de Túria	Asar/Lamuyo
CDP006758	Valencia	L'Horta Nord	Asar/Lamuyo
CDP001155	Valencia	València	Asar/Lamuyo
CDP008298	Valencia	La Safor	asar
Pimiento largo Reus	CONTROL	-	Asar
Pimiento F1 Ramonete	CONTROL	-	Asar
CDP008047	Comunidad Valenciana	-	Freír/Cornicabra
CDP008810	Valencia	La Vall d'Albaida	Freír/Cornicabra
CDP008768	Valencia	La Canal de Navarrés	Freír/Cornicabra
CDP009514	Valencia	La Canal de Navarrés	Freír/Italiano
CDP008704	Valencia	La Canal de Navarrés	Freír/Cornicabra
CDP002265	Valencia	La Canal de Navarrés	Freír
CDP000670	Valencia	La Canal de Navarrés	Freír/Cornicabra
CDP006559	Valencia	La Canal de Navarrés	Freír/Cornicabra
CDP001265	Valencia	Los Serranos	Freír/Cornicabra
CDP009980	Valencia	Los Serranos	Freír/Cornicabra
CDP004048	Valencia	El Camp de Túria	Freír
Pimiento dulce italiano	CONTROL	-	Freír
CDP003584	Comunidad Valenciana	-	Pericana
CDP008260	Alicante	El Comtat	Pericana
CDP001133	Alicante	El Comtat	Pericana
CDP003552	Alicante	El Comtat	Pericana
CDP000027	Valencia	La Vall d'Albaida	Pericana

La muestra se agitó suavemente hasta obtener una mezcla homogénea. A continuación, se incubaron los homogeneizados en ultrasonidos durante 3 horas. Transcurrido este tiempo, se volvió a homogeneizar y se centrifugó a 4000 rpm durante 5 minutos a 4°C para separar el sobrenadante.

Finalmente, se obtuvieron alrededor de 1,5 mL del sobrenadante, del que una alícuota (aproximadamente 0,5 mL) se filtró con filtros de jeringa de PTFE de tamaño de poro de 0.2 µm y se analizó mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC). Una segunda alícuota se mantuvo congelada a -18°C para su posterior hidrólisis.

3.3.2 HIDROLISIS

Para poder obtener una cuantificación de los polifenoles hidrolizados se realizó una hidrólisis ácida con el objetivo de obtener polifenoles libres que se volvieron a analizar mediante HPLC. Para ello, a 1 mL del extracto se le añadió 0,125 mL de ácido clorhídrico (HCl). A continuación se incubó a (90°C) durante 90 min, removiendo regularmente la mezcla. Tras la hidrólisis, la mezcla se aforó a 1 mL con una solución de metanol agua desionizada a partes iguales. Finalmente la muestra se filtró con filtros de jeringa de PTFE, de tamaño de poro de 0.2 µm y se analizó.

3.3.3 ANÁLISIS POLIFENOLES

Se determinaron los siguientes compuestos: ácido clorogénico, ácido cafeico, ácido ferúlico, ácido *p*-cumárico, quercetina, luteolina y quercitrina, empleando el método descrito por Martí *et al.* (2015) basado en HPLC en fase reversa utilizando columna de núcleo fundido. El método permite identificar hasta 17 polifenoles pero estos cinco fueron los únicos que se detectaron como compuestos libres o glucosidados.

Para el análisis se empleó el equipo HPLC Agilent 1200 series (Agilent Technologies, Waldbronn, Alemania). Éste aparato va equipado con un desgasificador, un muestreador automático termostatzado, una bomba cuaternaria y un detector de matriz de diodos (DAD). La columna analítica que se utilizó fue Kinetex-XB C18 de núcleo fundido 150 mm x 4,6 mm y un tamaño de partícula de 2,6 µm de Phenomenex (Torrance, EE.UU).

La columna y la columna de guarda se mantuvieron a 35°C durante todo el análisis, el flujo se mantuvo constante a 0.9 mL min⁻¹ con un volumen de inyección de la muestra de 10 µL. Los disolventes de la fase móvil consistieron en agua, acetonitrilo y metanol, cada uno con 0.1% (v/v) de ácido fórmico. La detección y cuantificación se realizó a 320 nm para ácido cafeico, *p*-cumárico, ferúlico y clorogénico) y a 365 nm para la quercetina, la luteolina y la quercitrina. Cada muestra se analizó por duplicado.

3.4 ANÁLISIS ESTADÍSTICOS.

Los cálculos de los ANOVA y los test de comparaciones múltiples de LSD (p valor < 0.05) se realizaron utilizando el paquete estadístico Statgraphics Centurion XVI (Statgraphics Technologies, Inc., The Plains, E.E.U.U).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

En el análisis inicial de las muestras se encontraron cantidades cuantificables de los ácidos hidroxicinámicos cafeico, ferúlico y *p*-cumárico, de ácido clorogénico, un éster entre los ácidos cafeico y quínico, y de quercitrina, un glucósido formado por el flavonol quercetina y el azúcar ramnosa. Además de estos compuestos se observaron picos con un espectro de absorción compatible con glucósidos del ácido cafeico, luteolina y quercetina.

4.1. POLIFENOLES EN MUESTRAS NO HIDROLIZADAS.

En las muestras no hidrolizadas los polifenoles con mayor nivel de acumulación fueron, por este orden la quercitrina y seguido a distancia del ácido clorogénico (Figura 11). Con mucho menor contenido se presentaron los ácidos hidroxicinámicos: el ácido ferúlico, ácido cafeico y por último ácido *p*-cumárico.

Entre los picos con espectro compatible con el hecho de ser derivados del ácido cafeico, quercetina y luteolina destacó el pico de quercitrina. Aunque los niveles detectados variaron en función del tipo de pimiento considerado. Tanto los pimientos de freír como los de Pericana presentaron los mayores niveles de acumulación de quercitrina (Figura 11). Aunque en el control comercial de asar (variedad "Ramonete") los niveles fueron más elevados que los encontrados en las variedades tradicionales del mismo tipo, éstos fueron inferiores a los obtenidos en los tipos de freír y Pericana.

El ácido clorogénico fue el segundo polifenol con mayor concentración en las muestras no hidrolizadas. Los niveles detectados en pimiento Pericana prácticamente doblaron los presentes en el resto de tipos, que no presentaron grandes diferencias entre sí (Figura 11). Cabe destacar que las variedades tradicionales de pimiento de freír presentaron acumulaciones algo mayores que su control comercial (variedad "Dulce italiano"). Lo contrario ocurrió en el caso del pimiento de asar, ya que en la variedad "Ramonete" se volvieron a dar concentraciones algo más elevadas que en las variedades tradicionales.

Entre los ácidos hidroxicinámicos, el que presentó mayor acumulación fue el ácido ferúlico. La mayor acumulación se dio en el tipo Pericana, aunque con niveles de variación muy elevados (Figura 11). Entre las variedades tradicionales de asar y de freír no hubo diferencias y los contenidos fueron superiores a las variedades control comerciales. Sólo la variedad comercial de la variedad tradicional "Largo de Reus" presentó niveles algo superiores al grupo correspondiente de materiales tradicionales.

En general, las acumulaciones de ácido cafeico fueron similares a las de ferúlico, aunque en esta ocasión los contenidos de cafeico fueron inferiores a los de ferúlico en el tipo Pericana (Figura 11). De nuevo, el nivel de variación fue especialmente elevado en el tipo Pericana. No hubo diferencias importantes en la acumulación de cafeico entre los tipos de asar y Pericana, mientras que los niveles en el tipo de freír prácticamente fueron la mitad de los anteriores.

En el caso del ácido *p*-cumárico las cantidades detectadas fueron en general muy bajas, con menores niveles en el tipo de asar que en los de freír y Pericana (Figura 11). De nuevo, la variación entre las entradas de Pericana fue especialmente elevada.

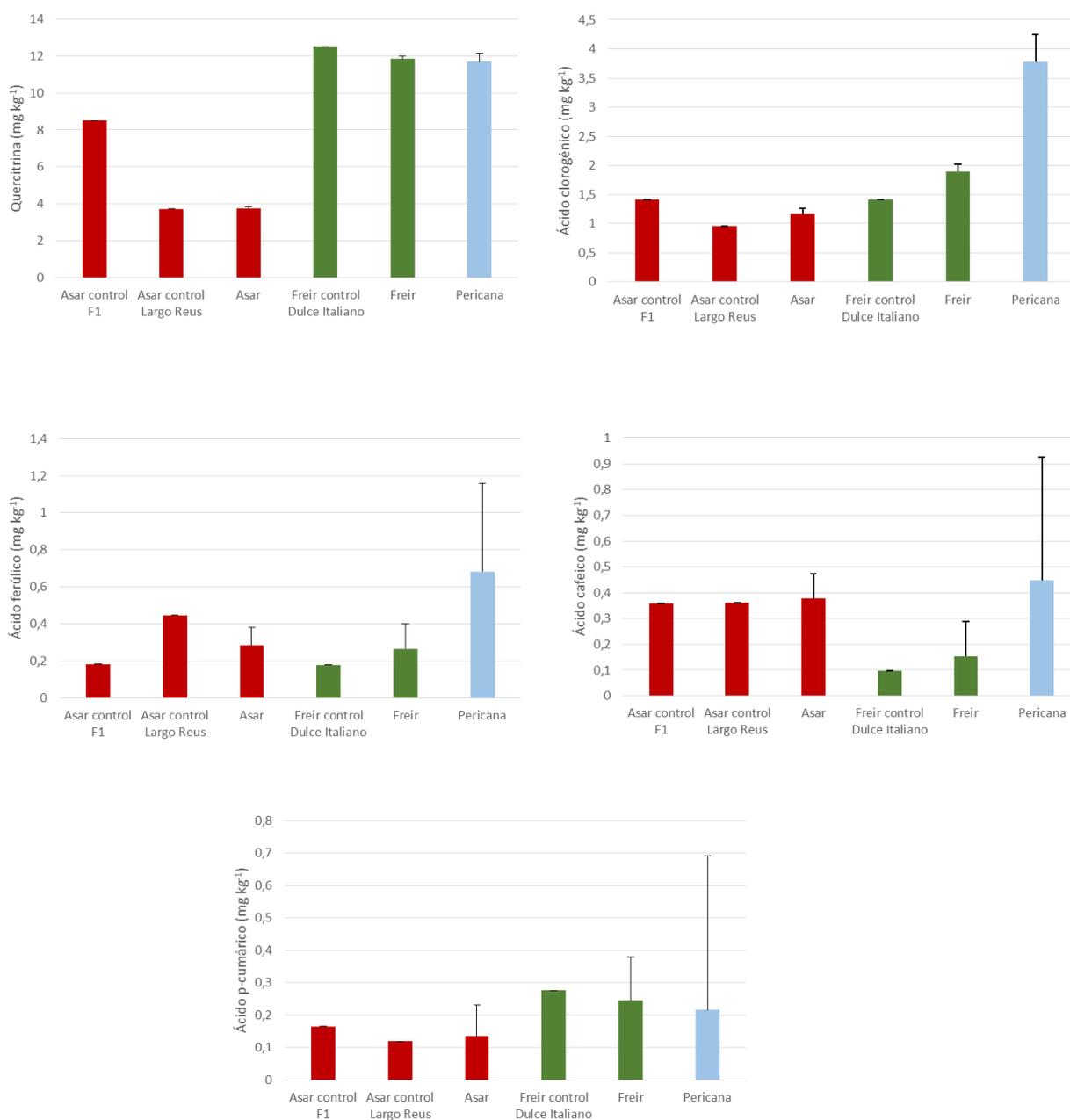


Figura 11. Contenido en polifenoles en muestras no hidrolizadas (mg kg⁻¹).

Ya dentro de tipo, en el caso de los pimientos de asar, los contenidos en quercitrina fueron muy variables, oscilando entre los 0,40 mg kg⁻¹ de la entrada CDP003905 y los 12,04 mg kg⁻¹ de la entrada CDP000354 (Tabla 5). No obstante, los niveles de variación de la entrada CDP000354 fueron muy elevados. La entrada, CDP005278, con contenidos de 10,24 mg kg⁻¹ sería muy interesante, ya que las diferencias con las de mayor contenido no son significativas y la variación fue mucho menor.

Tabla 5. Contenido en polifenoles (mg kg⁻¹) en muestras sin hidrolizar (media ± e.s). Letras distintas dentro de tipo indican diferencias significativas (LSD p-valor<0.05) y la ausencia de letras implica un efecto de genotipo no significativo (ANOVA p-valor>0.05)

<i>Tipo</i>	<i>Código</i>	<i>Ácido</i>				
		<i>Quercitrina</i>	<i>clorogénico</i>	<i>Ácido ferúlico</i>	<i>Ácido cafeico</i>	<i>Ácido cumárico</i>
Asar	CDP001693	2,60±0,30 ^{abcde}	1,12±0,52	0,19±0,01 ^a	0,29±0,03 ^{abcde}	0,12±0,05 ^{abcde}
Asar	CDP004221	6,34±1,28 ^{efgh}	1,26±0,49	0,24±0,05 ^{abcd}	0,29±0,01 ^{abcde}	0,18±0,04 ^{cdef}
Asar	CDP004223	2,85±0,66 ^{abcdef}	0,64±0,03	0,24±0,05 ^{abcd}	0,30±0,02 ^{abcde}	0,15±0,01 ^{abcdef}
Asar	CDP003807	2,20±0,40 ^{abcd}	0,72±0,06	0,43±0,14 ^{efg}	0,52±0,04 ^{jk}	0,11±0,01 ^{abcd}
Asar	CDP008918	2,84±0,67 ^{abcdef}	0,59±0,02	0,20±0,03 ^{abc}	0,32±0,05 ^{abcdefg}	0,08±0,02 ^{ab}
Asar	CDP005278	10,24±1,40 ^{hi}	1,57±0,16	0,25±0,05 ^{abcd}	0,39±0,04 ^{gh}	0,17±0,02 ^{bcdef}
Asar	CDP002339	5,07±2,19 ^{bcdefg}	1,62±0,22	0,19±0,07 ^a	0,59±0,05 ^{kl}	0,19±0,06 ^{def}
Asar	CDP003153	5,76±2,21 ^{cdefg}	2,38±0,13	0,42±0,07 ^{defg}	0,57±0,01 ^{kl}	0,22±0,09 ^f
Asar	CDP001835	2,16±0,97 ^{abcd}	1,57±0,78	0,35±0,06 ^{abcdefg}	0,48±0,06 ^{ij}	0,09±0,02 ^{ab}
Asar	CDP004378	6,76±1,69 ^{efgh}	1,64±0,36	0,25±0,09 ^{abcd}	0,40±0,05 ^{ghi}	0,17±0,05 ^{bcdef}
Asar	CDP007638	3,60±0,89 ^{abcdef}	0,72±0,02	0,22±0,09 ^{abcd}	0,29±0,04 ^{abcde}	0,20±0,08 ^{ef}
Asar	CDP005118	0,83±0,32 ^a	0,88±0,24	0,38±0,04 ^{cdefg}	0,43±0,02 ^{hi}	0,12±0,00 ^{abcde}
Asar	CDP005212	1,39±0,74 ^{abc}	1,01±0,23	0,27±0,06 ^{abcdef}	0,39±0,02 ^{efgh}	0,10±0,03 ^{abc}
Asar	CDP005014	1,15±0,24 ^{ab}	0,86±0,04	0,38±0,04 ^{bcdefg}	0,39±0,02 ^{gh}	0,10±0,00 ^{abc}
Asar	CDP008897	0,91±0,34 ^{ab}	1,29±0,69	0,48±0,07 ^g	0,62±0,03 ^l	0,06±0,04 ^a
Asar	CDP003905	0,40±0,17 ^a	0,67±0,20	0,20±0,03 ^{ab}	0,23±0,01 ^a	0,07±0,03 ^a
Asar	CDP005252	0,78±0,34 ^a	0,78±0,37	0,28±0,01 ^{abcdef}	0,28±0,02 ^{abc}	0,13±0,02 ^{abcdef}
Asar	CDP005202	4,24±1,98 ^{abcdef}	1,36±0,72	0,25±0,05 ^{abcde}	0,37±0,06 ^{efgh}	0,12±0,02 ^{abcde}
Asar	CDP000354	12,04±5,4 ⁱ	1,74±1,35	0,18±0,04 ^a	0,26±0,03 ^{ab}	0,18±0,06 ^{cdef}
Asar	CDP006933	2,50±0,55 ^{abcde}	1,25±0,67	0,22±0,04 ^{abcd}	0,32±0,02 ^{bcdefg}	0,08±0,01 ^{ab}
Asar	CDP006758	2,29±0,65 ^{abcd}	0,82±0,29	0,29±0,05 ^{abcdef}	0,36±0,03 ^{defgh}	0,12±0,01 ^{abcde}
Asar	CDP001155	5,46±1,00 ^{defg}	1,41±0,82	0,25±0,06 ^{abcd}	0,28±0,02 ^{abcd}	0,15±0,02 ^{abcdef}
Asar	CDP008298	4,24±1,27 ^{abcdef}	0,91±0,08	0,31±0,03 ^{abcdefg}	0,31±0,04 ^{abcdef}	0,17±0,02 ^{bcdef}
Asar	Largo de Reus	3,71±2,31 ^{abcdef}	0,96±0,15	0,44±0,22 ^{fg}	0,36±0,02 ^{defgh}	0,12±0,01 ^{abcde}
Asar	F1 Ramonete	8,50±3,13 ^{ghi}	1,41±0,43	0,18±0,03 ^a	0,36±0,02 ^{cdefgh}	0,16±0,04 ^{bcdef}

Tabla 5 (cont.). Contenido en polifenoles (mg kg⁻¹) en muestras sin hidrolizar (media ± e.s). Letras distintas dentro de tipo indican diferencias significativas (LSD p-valor<0.05) y la ausencia de letras implica un efecto de genotipo no significativo (ANOVA pvalor>0.05).

<i>Tipo</i>	<i>Código</i>	<i>Quercitrina</i>	<i>Ácido clorogénico</i>	<i>Ácido ferúlico</i>	<i>Ácido cafeico</i>	<i>Ácido p-cumárico</i>
Freír	CDP008047	15,68±4,07 ^{de}	2,53±0,33 ^d	0,38±0,02 ^{def}	0,11±0,04 ^{ab}	0,31±0,05 ^{cde}
Freír	CDP008810	22,82±2,27 ^e	2,43±0,57 ^{cd}	0,33±0,06 ^{bcde}	0,09±0,06 ^{ab}	0,45±0,03 ^e
Freír	CDP008768	14,94±4,00 ^{de}	1,93±0,49 ^{abcd}	0,19±0,04 ^{abcd}	0,05±0,04 ^a	0,23±0,02 ^{abcd}
Freír	CDP009514	6,01±2,70 ^{abc}	1,56±0,22 ^{abc}	0,07±0,04 ^a	0,13±0,01 ^{ab}	0,18±0,04 ^{abc}
Freír	CDP008704	15,19±5,98 ^{de}	2,21±0,47 ^{bcd}	0,15±0,06 ^{abc}	0,10±0,03 ^{ab}	0,26±0,12 ^{bcd}
Freír	CDP002265	3,95±0,29 ^a	1,43±0,31 ^{ab}	0,05±0,03 ^a	0,07±0,02 ^a	0,07±0,02 ^a
Freír	CDP000670	17,02±4,56 ^{de}	1,49±0,17 ^{ab}	0,35±0,07 ^{cde}	0,09±0,04 ^{ab}	0,24±0,04 ^{bcd}
Freír	CDP006559	4,66±1,21 ^{ab}	1,99±0,06 ^{abcd}	0,13±0,02 ^{ab}	0,11±0,02 ^{ab}	0,13±0,02 ^{ab}
Freír	CDP001265	10,14±0,98 ^{abcd}	1,84±0,52 ^{abcd}	0,48±0,14 ^{ef}	0,22±0,05 ^{bc}	0,18±0,06 ^{abc}
Freír	CDP009980	6,40±1,76 ^{abc}	2,18±0,51 ^{bcd}	0,22±0,15 ^{abcd}	0,38±0,14 ^d	0,38±0,14 ^{de}
Freír	CDP004048	13,55±3,42 ^{cd}	1,23±0,05 ^a	0,57±0,17 ^f	0,34±0,06 ^{cd}	0,26±0,04 ^{bcd}
Freír	Dulce italiano	12,52±1,65 ^{bcd}	1,41±0,14 ^{ab}	0,18±0,03 ^{abcd}	0,10±0,03 ^{ab}	0,28±0,04 ^{bcd}
Pericana	CDP003584	14,66±2,90 ^{ab}	4,91±0,34	0,56±0,15	0,41±0,04 ^{ab}	0,20±0,04
Pericana	CDP008260	9,36±1,51 ^a	4,17±0,27	0,73±0,16	0,46±0,03 ^b	0,23±0,02
Pericana	CDP001133	9,54±2,65 ^{ab}	4,19±0,33	0,59±0,09	0,51±0,08 ^b	0,19±0,02
Pericana	CDP003552	8,20±2,93 ^a	3,03±1,55	0,72±0,14	0,50±0,04 ^b	0,21±0,03
Pericana	CDP000027	16,65±2,75 ^b	2,57±1,19	0,80±0,08	0,36±0,01 ^a	0,25±0,04

En el caso del ácido clorogénico, los contenidos oscilaron entre 0,59 mg kg⁻¹ de la entrada CDP008918 y los 2,38 mg kg⁻¹ de la entrada CDP003153 (Tabla 5). Sin embargo, en este caso el efecto del genotipo no fue significativo, por lo que realmente no se puede destacar un material concreto de interés.

Los contenidos de ácidos hidoxicinámicos fueron bastante inferiores (Tabla 5). No obstante, las diferencias entre genotipos fueron significativas y los contenidos de las entradas con mayor acumulación llegaron a doblar o casi triplicar los de menor acumulación. En cuando a las concentraciones de ácido ferúlico oscilaron entre los 0,18 mg kg⁻¹ de CDP000354 y los 0,48 mg kg⁻¹ de CDP008897. Por otro lado, la acumulación de ácido cafeico fue menor, se presentó en un rango entre los 0,23 mg kg⁻¹ de CDP003905 y los 0,62 mg kg⁻¹ de CDP008897. Finalmente, las concentraciones de ácido *p*-cumárico oscilaron entre los 0,06 mg kg⁻¹ de CDP008897 y los 0,22 mg kg⁻¹ de CDP003153.

En el caso del tipo de freír cabe destacar que pese a haberse colectado en estado verde antes del viraje de color, las acumulaciones de polifenoles fueron en general bastante altas (Tabla 5). Los niveles de variación fueron similares a los presentes en las entradas de asar. Dentro de este grupo cabría resaltar el comportamiento de las entradas CDP008810 con un contenido de 22,82 mg kg⁻¹ de quercitrina y un nivel relativamente bajo de variación, y de las entradas CDP008047 y CDP008810 con contenidos de clorogénico de 2,53 mg kg⁻¹ y 2,43 mg kg⁻¹ respectivamente. En el caso de los ácidos hidroxicinámicos destacaron las entradas CDP001265 con 0,48 mg kg⁻¹ de ácido ferúlico, CDP009980 con 0,38 mg kg⁻¹ de ácido cafeico, y la entrada CDP008810 con 0,45 mg kg⁻¹ de *p*-cumárico.

En el caso del pimiento de tipo Pericana se evaluaron un menor número de entradas. Por un lado, porque se trata de una variedad tradicional de interés muy localizado y por otro, porque la disponibilidad de semillas por parte de los bancos de germoplasma es limitada. Aun así, dentro del tipo se encontraron importantes diferencias. La entrada CDP000027 destacó por la mayor concentración de quercitrina, 16.65 mg kg⁻¹, doblando los contenidos de la entrada con menor acumulación (Tabla 5). En este caso, no hubo diferencias significativas en cuanto a acumulación de ácido clorogénico. Se debió a que los niveles de variación en las entradas con menor acumulación fueron muy elevados. Tampoco fueron significativas las diferencias para los contenidos en los ácidos ferúlico y *p*-cumárico. Respecto al ácido cafeico, solo destacó el menor contenido de CDP000027, precisamente la entrada más interesante en cuanto a acumulación de quercitrina.

En general, se puede concluir que las variedades tradicionales de pimiento valencianas destacan por un elevado nivel de variación interpoblacional en la acumulación de polifenoles. En otros cultivos como el tomate, la gran variabilidad en la acumulación de compuestos bioactivos ya se había constatado (Cortés *et al.*, 2014). Por un lado, los elevados niveles de variación no son de extrañar cuando se trata de evaluar un parámetro que no es perceptible por parte del agricultor. De esta forma, al no poder diferenciar plantas por los contenidos en polifenoles, los agricultores no pueden llevar a cabo procesos de selección que ayuden a fijar contenidos específicos. Pero, por otro lado, incluso en el caso de los caracteres perceptibles, en variedades tradicionales se ha constatado una enorme variación en caracteres de tipo morfoagronómico (Cebolla-Cornejo *et al.*, 2013) y organoléptico (Casals *et al.*, 2011; Cebolla-Cornejo *et al.*, 2011). En el caso del tomate, se ha comprobado que muchas de las poblaciones cultivadas por los agricultores han sufrido en algún momento cruces espontáneos con otras variedades, tras los que el agricultor ha aplicado una presión de selección para recuperar la apariencia externa de la variedad (Cortés-Olmos *et al.*, 2015a). De esta forma, los cruces espontáneos, junto la adaptación a condiciones

agroclimáticas distintas y la diferente forma de seleccionar de cada agricultor serían los factores más importantes a la hora de explicar la gran variación existente en y entre poblaciones de variedades tradicionales a todos los niveles (Cortés-Olmos et al., 2015b).

En cualquier caso, el elevado nivel de variación existente permite identificar poblaciones que destacan frente a otras en la acumulación de polifenoles. Como se ha visto, en los materiales evaluados los contenidos en quercitrina llegan a los 22,82 mg kg⁻¹, los de ácido clorogénico a 4.91 mg kg⁻¹, los de ácido ferúlico hasta 0.8, de ácido cafeico hasta 0.62 mg kg⁻¹, y los de ácido *p*-cumárico hasta 0.45 mg kg⁻¹. En general, la entrada que aunó la mayor acumulación de polifenoles en muestras no hidrolizadas fue CDP008810, de tipo para freír, presentando la mayor concentración de quercitrina y ácido *p*-cumárico. Seguidamente se encuentra los de tipo Pericana que incluyen el mayor contenido de ácido clorogénico y ácido ferúlico. Mientras que el pimiento para asar solo comprende los valores más altos de ácido cafeico.

Es difícil comparar los resultados obtenidos con los publicados en la literatura existente, ya que en gran parte los resultados disponibles son muy variables, en la mayoría de casos por diferencias en los procedimientos empleados. Por ejemplo, Marín *et al.* (2004) no identificaron polifenoles libres. Encontrando cantidades reseñables de glucósidos de los ácidos cafeico y *p*-cumárico, de luteolina, quercetina y en menor medida de apigenina. Por otro lado, Jeong *et al.* (2011) tampoco describieron polifenoles libres, pero sí glucósidos de ácido ferúlico, luteolina, quercetina, apigenina y kaempferol. Un espectro similar encontraron Mokhtar *et al.* (2015), aunque en este caso además de este tipo de glucósidos también encontraron niveles apreciables de quercetina en forma de aglicona. Cabe destacar, que este estudio ya describe, como en el presente, a la quercitrina, el ramnósido de quercetina, como el principal polifenol en los materiales evaluados. En este caso los autores describieron contenidos en quercitrina de 82.6 mg kg⁻¹, pero en extracto seco, por lo que sus resultados no son comparables. La dificultad en la comparación se extiende a otros estudios. Por ejemplo, Marín *et al.* (2004) describen contenidos mucho más altos que los encontrados en el presente estudio, pero en aquel caso se evaluó únicamente la piel del pimiento. Hay que tener en cuenta que los polifenoles tienden a acumularse en la piel y en la parte externa del fruto (Martí *et al.*, 2016), por lo que es normal que si se evalúa sólo esa parte se encuentren concentraciones muy superiores.

4.2 ACUMULACIÓN DE POLIFENOLES EN MUESTRAS HIDROLIZADAS.

En las muestras analizadas en fresco, por el método analítico empleado sólo se pudo cuantificar los contenidos de quercitrina como glucósido de quercetina, ya que se disponía de patrón. Sin embargo, como se ha comentado se encontraron picos con espectros de absorción similares que son compatibles con otros derivados glucosilados de quercetina y luteolina, algo esperable considerando la literatura previa. Por eso, se decidió hidrolizar los extractos de las muestras para así romper los enlaces glucosídicos para obtener las agliconas libres que serán de nuevo analizadas.

En este segundo análisis sí se detectaron luteolina y quercetina, que en el análisis anterior no habían aparecido en forma libre. Por otro lado, se observó un aumento de la concentración de ácido cafeico. Este aumento se debió, al menos en parte, a la rotura del enlace glucosídico entre el ácido cafeico y el ácido quínico para formar el ácido clorogénico. Al producirse la rotura de este enlace a causa de la hidrólisis, el contenido en este compuesto tenía que aumentar. Sin embargo, los contenidos en ácido cafeico libre detectados tras la hidrólisis (Figura 12) fueron

mucho mayores a los correspondientes a la suma de cafeico libre y cafeico en forma de clorogénico, lo que evidencia la existencia de cantidades importantes de otros glucósidos.

Sin duda, los polifenoles con mayor acumulación en los tipos varietales evaluados fueron los derivados del ácido cafeico. Entre Pericana y los pimientos de asar hubo pocas diferencias, mientras que los contenidos en el tipo de freír fueron algo inferiores (Figura 12). Sin embargo, dentro de cada tipo el efecto del genotipo no fue significativo.

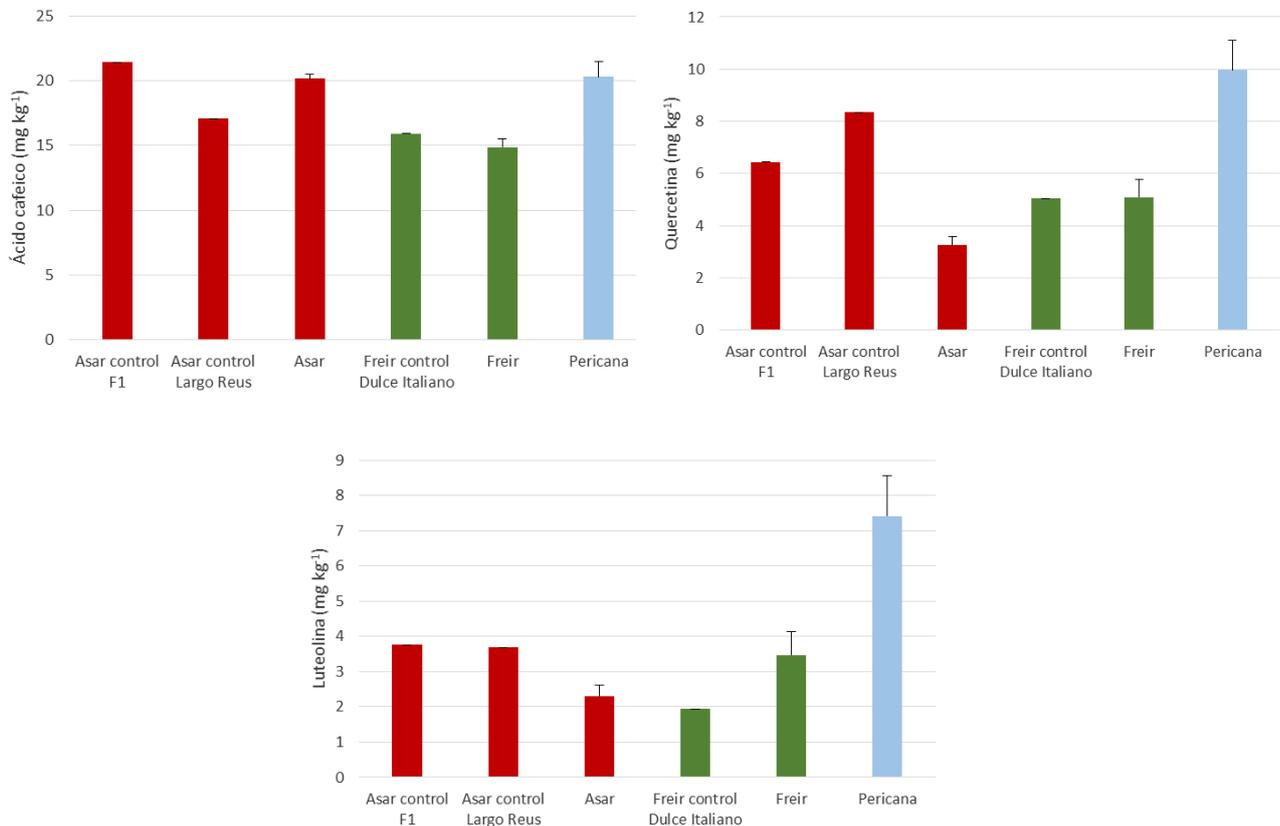


Figura 12. Concentración de polifenoles glicosidados del pimiento, después de la realización de la hidrólisis. (mg kg⁻¹).

El segundo grupo en importancia sería el compuesto por derivados de quercetina (Figura 12). En este caso, se incluirían las agliconas obtenidas de la hidrólisis de la quercitrina. Pero también debe incluir otros glucósidos, aunque en menor medida. Así, en el tipo de asar la quercitrina explica alrededor del 88% de la quercetina aglicona de las muestras hidrolizadas, en el de freír alrededor del 100% y en el de Pericana alrededor del 80%. En cualquier caso, los mayores niveles de quercetina aglicona se dieron en el tipo Pericana, seguido del tipo asar. Y por último los del tipo de freír.

Es importante tener en cuenta la concentración total de derivados de quercetina, ya que se ha demostrado que una parte importante de la actividad antioxidante y su poder de lucha contra el cáncer de los pimientos se relaciona con la mayor concentración de este tipo de compuestos (Ju *et al.*, 2007)

Finalmente, tras la hidrólisis se detectaron cantidades importantes de luteolina aglicona (Figura 12). Especialmente dentro del grupo de pimientos de Pericana, que prácticamente doblaron la concentración de los tipos de asar y freír.

Dentro del tipo asar destacó la entrada CDP000354 con 8,36 mg kg⁻¹ de quercetina y 3,68 mg kg⁻¹ de luteolina (Tabla 6). Sin embargo, se trata de contenidos similares a los obtenidos en el control comercial "Ramonete". En el tipo de asar, y de forma análoga en el resto de tipos, el efecto del genotipo sobre el contenido de ácido caféico no fue significativo.

En el caso del pimiento de freír destacó la entrada CDP008810 con los mayores niveles de quercetina y luteolina, llegando a los 8,75 mg kg⁻¹ y 7,95 mg kg⁻¹ respectivamente (Tabla 6).

En el caso del pimiento Pericana, los mayores contenidos en quercetina y luteolina (13,93 mg kg⁻¹ y 8,11 mg kg⁻¹, respectivamente, en la entrada CDP003584) fueron superiores a los encontrados en el resto de tipos (Tabla 6). Sin embargo, dentro del tipo, no hubo diferencias significativas entre las entradas evaluadas.

No fue casualidad que los mayores niveles de las agliconas quercetina y luteolina se encontraran en el mismo material, ya que al realizar un análisis de correlaciones se observó una alta correlación significativa entre ambas variables (Tabla 7), mientras que entre las agliconas de quercetina y luteolina y la aglicona de ácido caféico no hubo correlación.

Hay que tener en cuenta que tanto la luteolina como la quercetina derivan en plantas a partir de la naringenina. En el primer caso media la producción de dihidrokaempferol y dehidroquercetina, que daría lugar a la quercetina (Martí et al., 2016). En el segundo mediaría la apigenina que daría lugar a la luteolina (Marín et al., 2017). Por tanto, una sobreexpresión general de la ruta de los flavonoides podría dar lugar a elevados contenidos de ambos compuestos y los glucósidos derivados.

Tabla 6. Contenido en polifenoles (mg kg⁻¹) en muestras hidrolizadas (media ± e.s), representando la acumulación de polifenoles libres y derivados. Letras distintas dentro de tipo indican diferencias significativas (LSD p-valor<0.05) y la ausencia de letras implica un efecto de genotipo no significativo (ANOVA p-valor>0.05).

<i>Tipo</i>	<i>Código</i>	<i>Quercetina</i>	<i>Luteolina</i>	<i>Ácido cafeico</i>
Asar	CDP001693	2,47±0,25 ^{abc}	2,04±0,12 ^{abcde}	19,64±4,70
Asar	CDP004221	4,55±1,16 ^{cdef}	3,49±0,60 ^{fg}	17,88±2,20
Asar	CDP004223	3,62±0,78 ^{bcdef}	3,26±0,90 ^{efg}	22,82±1,50
Asar	CDP003807	2,93±0,27 ^{abcd}	1,33±0,33 ^a	18,61±2,78
Asar	CDP008918	2,79±0,71 ^{abcde}	2,41±0,45 ^{abcdefg}	17,60±4,13
Asar	CDP005278	5,90±0,75 ^{efg}	3,50±0,30 ^{fg}	18,75±1,88
Asar	CDP002339	4,18±2,22 ^{bcdef}	3,06±0,75 ^{defg}	22,12±1,48
Asar	CDP003153	6,82±4,33 ^{afg}	3,35±1,58 ^{efg}	21,32±2,12
Asar	CDP001835	3,17±1,12 ^{abcde}	1,94±0,37 ^{abcd}	18,60±2,12
Asar	CDP004378	5,50±0,74 ^{defg}	3,54±0,44 ^{fg}	19,86±1,95
Asar	CDP007638	3,42±0,75 ^{abcde}	1,38±0,29 ^{ab}	20,18±0,55
Asar	CDP005118	0,56±0,02 ^a	2,33±0,18 ^{abcdef}	21,45±2,45
Asar	CDP005212	1,43±0,38 ^{ab}	1,67±0,38 ^{abc}	19,43±3,02
Asar	CDP005014	2,02±0,10 ^{abc}	1,64±0,25 ^{abc}	14,93±5,37
Asar	CDP008897	1,58±0,65 ^{abc}	1,09±0,89 ^a	22,31±2,78
Asar	CDP003905	1,92±0,27 ^{abc}	1,05±0,04 ^a	23,54±1,50
Asar	CDP005252	2,39±0,13 ^{abc}	1,73±0,18 ^{abc}	24,62±0,24
Asar	CDP005202	2,90±0,66 ^{abcde}	2,67±0,40 ^{bcdefg}	19,66±1,23
Asar	CDP000354	8,36±2,75 ^g	3,68±0,44 ^g	17,08±1,73
Asar	CDP006933	3,11±0,31 ^{abcde}	2,13±0,16 ^{abcde}	19,38±1,55
Asar	CDP006758	3,15±0,44 ^{abcd}	1,89±0,41 ^{abcd}	20,77±2,00
Asar	CDP001155	3,65±0,59 ^{bcdef}	2,70±0,40 ^{cdefg}	19,25±3,81
Asar	CDP008298	4,16±1,21 ^{bcdef}	3,26±0,25 ^{efg}	21,75±1,94
Asar	Largo de Reus	2,78±0,62 ^{abcd}	1,56±0,49 ^{abc}	19,34±1,94
Asar	F1 Ramonete	6,44±2,78 ^{fg}	3,76±1,31 ^g	21,45±0,82
Freír	CDP008047	5,82±1,06 ^{bcde}	4,61±0,72 ^c	11,63±2,14
Freír	CDP008810	8,75±0,81 ^e	7,95±1,01 ^d	14,45±0,82
Freír	CDP008768	6,21±2,58 ^{cde}	2,54±0,30 ^{ab}	16,47±2,16
Freír	CDP009514	2,94±1,36 ^{ab}	2,02±0,50 ^a	15,13±1,86
Freír	CDP008704	6,42±2,29 ^{cde}	2,48±0,74 ^{ab}	13,59±1,03
Freír	CDP002265	2,40±0,29 ^a	1,47±0,25 ^a	14,80±0,70
Freír	CDP000670	5,75±0,74 ^{bcd}	2,27±0,31 ^{ab}	14,33±1,26
Freír	CDP006559	2,07±0,65 ^a	1,77±0,16 ^a	16,74±0,97
Freír	CDP001265	4,19±0,73 ^{abc}	4,90±1,13 ^c	13,54±1,57
Freír	CDP009980	4,14±0,49 ^{abc}	3,71±0,81 ^{bc}	14,90±1,91
Freír	CDP004048	7,37±1,23 ^{de}	4,45±0,68 ^c	17,83±0,99
Freír	Dulce italiano	5,04±0,26 ^{abcd}	1,94±0,53 ^a	15,93±1,68
Pericana	CDP003584	13,93±2,77	8,11±0,71	21,67±1,27
Pericana	CDP008260	8,48±1,22	8,01±0,44	24,30±2,87
Pericana	CDP001133	8,26±1,48	7,49±0,97	23,65±1,63
Pericana	CDP003552	9,59±3,69	7,28±2,09	19,75±6,62
Pericana	CDP000027	9,54±2,67	6,20±0,91	12,21±4,25

Tabla 7. Correlaciones entre los contenidos de agliconas en muestras hidrolizadas. El nivel de significación se presenta entre paréntesis.

	<i>Luteolina</i>	<i>Ácido cafeico</i>
<i>Quercetina</i>	0.852 ($<10^{-4}$)	-0.087 (0.58)
<i>Luteolina</i>		0.005 (0.98)

CONCLUSIONES

5. CONCLUSIONES

- En las variedades de pimiento evaluadas se han detectado contenidos apreciables de los ácidos ferúlico, cafeico, *p*-cumárico y clorogénico y de derivados de quercetina y luteolina. Entre los últimos destaca la acumulación de quercitrina, que sería el polifenol con mayor acumulación en este tipo de materiales. También destacaron los contenidos de compuestos derivados del ácido cafeico.
- La acumulación de polifenoles tanto en forma libre como de glucósido fue muy variable dentro de tipos varietales. Así, fue posible identificar poblaciones dentro de cada tipo con cantidades muy superiores al resto, tanto en forma libre como en forma de glucósidos. La identificación de poblaciones que acumulen mayores cantidades de estos compuestos supone dotar a la producción de un valor añadido, considerando el efecto de los polifenoles en la prevención de enfermedades de tipo degenerativo.
- En el tipo de asar destacaron las entradas CDP000354 y CDP005278 por acumulación de quercitrina, CDP008897 por los mayores niveles de ácido ferúlico y cafeico y la entrada CDP003153 por el contenido en *p*-cumárico. La entrada CDP000354 también destacó por mayores contenidos en derivados de quercetina y luteolina en muestra hidrolizada.
- La entrada CDP008810 del tipo de freír presentó los mayores niveles de quercitrina y de ácido *p*-cumárico y niveles elevados de ácido clorogénico, así como los mayores niveles de derivados de quercetina y luteolina.
- En el tipo Pericana destacó la acumulación de quercitrina de la entrada CDP000027. No obstante, en este caso, no hubo un efecto significativo en el contenido total de derivados de la quercetina, luteolina y ácido cafeico.
- Un nuevo estudio con mayor número de plantas de estas poblaciones y de un mayor número de controles comerciales permitirá definir de forma más precisa el interés de estas poblaciones, tanto para su aprovechamiento directo en programas de mejora del valor funcional, como para la promoción del cultivo y comercio de variedades tradicionales.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

- BAVEC, M., ROBAČER, M., STAJNKO, D., VUKMANIĆ, T., & BAVEC, F. (2018). 8. Sustainability of vegetable production systems evaluated by ecological footprint. *Good Agricultural Practices for Greenhouse Vegetable Production in the South East European countries: Principles for sustainable intensification of smallholder farms*, 230.
- BIGLIARDI, B., & GALATI, F. (2013). Innovation trends in the food industry: the case of functional foods. *Trends in Food Science & Technology*, 31(2), 118-129.
- BRUHN, C.M., FELDMAN, N., GARLITZ, C., HARWOOD, J., IVANS, E., MARSHALL, M., RILEY, A., THURBER, D., WILLIAMSON, E. (1991). Consumer perceptions of quality: apricots, cantaloupes, peaches, pears, strawberries, and tomatoes. *Journal of Food Quality*, 14(3), 187-195
- CASALS, J., PASCUAL, L., CAÑIZARES, J., CEBOLLA-CORNEJO, J., CASAÑAS, F., & NUEZ, F. (2011). The risks of success in quality vegetable markets: Possible genetic erosion in Marmande tomatoes (*Solanum lycopersicum* L.) and consumer dissatisfaction. *Scientia Horticulturae*, 130(1), 78-84.
- CEBOLLA-CORNEJO, J., ROSELLÓ, S., & NUEZ, F. (2013). Phenotypic and genetic diversity of Spanish tomato landraces. *Scientia Horticulturae*, 162, 150-164.
- CEBOLLA-CORNEJO, J., ROSELLÓ, S., VALCÁRCCEL, M., SERRANO, E., BELTRÁN, J., & NUEZ, F. (2011). Evaluation of genotype and environment effects on taste and aroma flavor components of Spanish fresh tomato varieties. *Journal of agricultural and food chemistry*, 59(6), 2440-2450.
- CORTÉS-OLMOS, C., LEIVA-BRONDO, M., ROSELLÓ, J., RAIGÓN, M. D., & CEBOLLA-CORNEJO, J. (2014). The role of traditional varieties of tomato as sources of functional compounds. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 94(14), 2888-2904.
- CORTÉS-OLMOS, C., VALCÁRCCEL, J. V., ROSELLÓ, J., DÍEZ, M. J., & CEBOLLA-CORNEJO, J. (2015a). Traditional Eastern Spanish varieties of tomato. *Scientia Agricola*, 72(5), 420-431.
- CORTÉS-OLMOS, C., VILANOVA, S., PASCUAL, L., ROSELLO, J., & CEBOLLA-CORNEJO, J. (2015b). SNP markers applied to the characterization of Spanish tomato (*Solanum lycopersicum* L.) landraces. *Scientia Horticulturae*, 194, 100-110.
- CROSBY, K. M. (2008). Pepper. In *Vegetables II* (pp. 221-248). Springer, New York, NY.
- EGGINK, P. M., MALIEPAARD, C., TIKUNOV, Y., HAANSTRA, J. P. W., POHU-FLAMENT, L. M. M., DE WIT-MALJAARS, S. C., ... & FREYMARK, G. (2012). Prediction of sweet pepper (*Capsicum annuum*) flavor over different harvests. *Euphytica*, 187(1), 117-131.

- FAO, Food and Agriculture Organization of the United Nations (2019). FAOSTAT. <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC/visualize> [consulta abril 2019].
- FEPEX, Federación Española de Asociaciones de Productores Exportadores de Frutas, Hortalizas, Flores y Plantas Vivas. (2017). Datos del Sector. <http://www.fepex.es/datos-del-sector/exportacion-importacion-esp%C3%B1ola-frutas-hortalizas> [consulta marzo 2017].
- GIBELLINI, L., PINTI, M., NASI, M., MONTAGNA, J. P., DE BIASI, S., ROAT, E., ... & COSSARIZZA, A. (2011). Quercetin and cancer chemoprevention. *Evidence-based complementary and alternative medicine, 2011*.
- GNAYFEED, M. H., DAOOD, H. G., BIACS, P. A., & ALCARAZ, C. F. (2001). Content of bioactive compounds in pungent spice red pepper (paprika) as affected by ripening and genotype. *Journal of the Science of Food and Agriculture, 81*(15), 1580-1585.
- JEONG, W. Y., JIN, J. S., CHO, Y. A., LEE, J. H., PARK, S., JEONG, S. W., ... & LEE, S. J. (2011). Determination of polyphenols in three *Capsicum annuum* L.(bell pepper) varieties using high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry: Their contribution to overall antioxidant and anticancer activity. *Journal of separation Science, 34*(21), 2967-2974.
- JU, W., WANG, X., SHI, H., CHEN, W., BELINSKY, S. A., & LIN, Y. (2007). A critical role of luteolin-induced reactive oxygen species in blockage of tumor necrosis factor-activated nuclear factor- κ B pathway and sensitization of apoptosis in lung cancer cells. *Molecular pharmacology, 71*(5), 1381-1388.
- KRAFT, K. H., BROWN, C. H., NABHAN, G. P., LUEDELING, E., RUIZ, J. D. J. L., D'EECKENBRUGGE, G. C., ... & GEPTS, P. (2014). Multiple lines of evidence for the origin of domesticated chili pepper, *Capsicum annuum*, in Mexico. *Proceedings of the National Academy of Sciences, 111*(17), 6165-6170.
- MAPAMA, Ministerio de Agricultura y Pesca, Alimentación y Medio Ambiente (2019). <https://www.mapa.gob.es/es/estadistica/temas/estadisticas-agrarias/agricultura/superficies-producciones-anuales-cultivos/> [consultado abril 2019]
- MARÍN, A., FERRERES, F., TOMÁS-BARBERÁN, F. A., & GIL, M. I. (2004). Characterization and quantitation of antioxidant constituents of sweet pepper (*Capsicum annuum* L.). *Journal of agricultural and food chemistry, 52*(12), 3861-3869.
- MARÍN, L., GUTIÉRREZ-DEL-RÍO, I., YAGÜE, P., MANTECA, Á., VILLAR, C. J., & LOMBÓ, F. (2017). De novo biosynthesis of apigenin, luteolin, and eriodictyol in the actinomycete *Streptomyces albus* and production improvement by feeding and spore conditioning. *Frontiers in microbiology, 8*, 921.
- MARTÍ, R., ROSELLÓ, S., & CEBOLLA-CORNEJO, J. (2016). Tomato as a source of carotenoids and polyphenols targeted to cancer prevention. *Cancers, 8*(6), 58.
- MARTÍ, R., VALCÁRCEL, M., HERRERO-MARTÍNEZ, J.M., CEBOLLA-CORNEJO, J., & ROSELLÓ, S. (2015). Fast simultaneous determination of prominent polyphenols in

- vegetables and fruits by reversed phase liquid chromatography using a fused-core column. *Food chemistry*, 169, 169-179.
- MARTÍ, R., VALCÁRCEL, M., ROSELLÓ, S., & CEBOLLA-CORNEJO, J. (2019). Functional and Health-promoting Properties of Tomatoes: It's Not Just Lycopene. In *Tomato Chemistry, Industrial Processing and Product Development* (pp. 285-303).
 - MCLEOD, M. J., GUTTMAN, S. I., & ESHBAUGH, W. H. (1982). Early evolution of chili peppers (*Capsicum*). *Economic Botany*, 36(4), 361-368.
 - MOKHTAR, M., SOUKUP, J., DONATO, P., CACCIOLA, F., DUGO, P., RIAZI, A.,... & MONDELLO, L. (2015). Determination of the polyphenolic content of a *Capsicum annum* L. extract by liquid chromatography coupled to photodiode array and mass spectrometry detection and evaluation of its biological activity. *Journal of separation science*, 38(2), 171-178.
 - MOREIRAS, O., CARBAJAL, A., CABRERA, L., & CUADRADO, C. (2005). Tablas de composición de alimentos (Food Composition Tables). *Madrid: Ediciones Pirámide, SA*.
 - NICOLAI, M., CANTET, M., LEFEBVRE, V., SAGE-PALLOIX, A. M., & PALLOIX, A. (2013). Genotyping a large collection of pepper (*Capsicum* spp.) with SSR loci brings new evidence for the wild origin of cultivated *C. annum* and the structuring of genetic diversity by human selection of cultivar types. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 60(8), 2375-2390.
 - NUEZ, F., DÍEZ, M.J., FERNÁNDEZ DE CÓRDOBA, P., COSTA, J. CATALÁ, M.S., GONZÁLEZ, J.A.A, RODRÍGUEZ, A. (1998). Catálogo de semillas de pimiento. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, Madrid. 107pp.
 - NUEZ, F., ORTEGA, G., & COSTA, R. (1996). *El cultivo de pimientos, chiles y ajíes* (No. 633.84 N8897 Ej. 1 010957). Mundi Prensa.
 - PARSONS, E. P., POPOVSKY, S., LOHREY, G. T., ALKALAI-TUVIA, S., PERZELAN, Y., BOSLAND, P.,... & JENKS, M. A. (2013). Fruit cuticle lipid composition and water loss in a diverse collection of pepper (*Capsicum*). *Physiologia plantarum*, 149(2), 160-174.
 - POCHARD, E., PALLOIX, A., & DAUBEZE, A. M. (1992). Le piment. *Bannerot, H*.
 - RAMOS, S. (2008). Cancer chemoprevention and chemotherapy: dietary polyphenols and signalling pathways. *Molecular nutrition & food research*, 52(5), 507-526.
 - RECHE MARMOL, J. (2010). Cultivo del pimiento dulce en invernadero. *Estudios e informes técnicos. Consejería de Agricultura y pesca*.
 - SAXENA, A., RAGHUWANSHI, R., GUPTA, V. K., & SINGH, H. B. (2016). Chilli anthracnose: The epidemiology and management. *Frontiers in microbiology*, 7, 1527.
 - SHEWFELT, R.L., (1999). What is quality?. *Postharvest Biology and Technology*, 15(3), pp.197-200.

- SUN-WATERHOUSE, D. (2011). The development of fruit-based functional foods targeting the health and wellness market: a review. *International Journal of Food Science & Technology*, 46(5), 899-920.
- WEAVER, R.D., LULOFF, A.E., (1992). Willingness-to-Pay. *Agribusiness*, 8(2), pp.131-142.