

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES
ESCUELA DE CIENCIAS QUÍMICAS

Aislamiento y Caracterización Fisicoquímica de la Capsaicina de Tres Variedades de Ají

Disertación previa a la obtención del título de Licenciada en Ciencias Químicas con
mención en Química Analítica

FÁTIMA MERCEDES MEJÍA YÁNEZ

Quito, 2013

CERTIFICADO

Certifico que la disertación de Licenciatura en Ciencias Químicas con mención en Química Analítica, de la candidata **Fátima Mercedes Mejía Yáñez** ha sido concluida de conformidad con las normas establecidas; por tanto puede ser presentada para la calificación correspondiente.

Fecha:

Firma del Director de la Disertación

Este trabajo está dedicado con mucho amor, cariño y gratitud a mis padres, a mis hermanos y en especial a la persona más importante en mi vida: mi abuelita Rosita.

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer, primeramente, a mi Dios por haber llegado a mi vida llenándome de bendiciones, renovando cada día mis fuerzas con su gran misericordia para permitirme cumplir con mis metas y anhelos.

A mis papitos, quien han sido mi sustento diario brindándome cada día su amor incondicional, su confianza y su apoyo en cada momento de mi vida. A mi papá por ser la guía en mi camino y quien ha hecho la persona que soy. A mi mamá, quien ha sido nuestro apoyo en quién hemos encontrado palabras de aliento en cada momento de derrota, por el gran sacrificio que has hecho por darnos una buena educación y por ser un gran ejemplo de valentía. A mi hermana por ser mi luz, mi apoyo tanto emocional como espiritual, mi confidente y por ofrecerme tú ayuda oportuna en el momento de la realización de mi disertación. A mis gordos, quienes son mi razón de seguir adelante, gracias por el amor incondicional que me dan. A mi abuelita preciosa quien ha sido el eje primordial de mi vida.

Quiero agradecer la imprescindible ayuda del Mtr. Pablo Pozo quien confió en mí para el desarrollo de este proyecto y al que debo la realización de esta disertación. Gracias por su ayuda, por los conocimientos que me ha transmitido a lo largo de este trabajo. También, extender mis agradecimientos a la Lic. Cristina Mena quien me supo ayudar y guiar en el proceso de este proyecto, y al Ing. Alexis Arias por su ayuda indispensable e incondicional en el transcurso del desarrollo de mi disertación.

A la Mtr. María Fernanda Pilaquina y la Mtr. Yolanda Jibaja por su inmensa ayuda, su dirección y en especial por sus aportes en la mejora de mi trabajo.

A mis amigos: Pamelita, Panchin, Carlitos, July, Majo por su gran amistad quien han sido un gran apoyo en todo momento de mi carrera con quien pase grandes momentos de alegrías y tristezas.

TABLA DE CONTENIDOS

PRELIMINARES	iv
RESUMEN	1
ABSTRACT	3
INTRODUCCIÓN	4
CAPÍTULO I	7
1. Ají (<i>Capsicum</i>)	7
1.1. Origen y distribución	7
1.2. Descripción botánica	8
1.2.1. Descripción botánica de ají largo colorado o dulce (<i>Capsicum annum L.</i>)	10
1.2.2. Descripción botánica de ají ratón o ña de pava (<i>Capsicum chinense Jacq.</i>)	11
1.2.3. Descripción botánica de ají rocoto (<i>Capsicum pubescens R & P</i>)	12
1.3. Composición química y valor nutritivo	12
1.3.1. Capsaicinoides	14
1.4. Capsaicina	16
1.4.1. Usos y aplicaciones de la Capsaicina	18
1.4.2. Mecanismo de acción de la Capsaicina	21
1.4.3. Métodos de extracción de Capsaicina	23
1.4.4 Métodos de identificación de Capsaicina	25
CAPÍTULO II	31
2. Materiales y métodos	31
2.1. Muestreo	31
2.2. Preparación de la muestra	31
2.3. Evaluación fisicoquímica	32

2.3.1. Determinación de humedad	32
2.3.2. Determinación de cenizas totales	33
2.3.3. Determinación de cenizas solubles en agua.....	35
2.3.4. Determinación de cenizas insolubles en ácido.....	37
2.4. Extracción de Capsaicina.....	38
2.4.1. Extracción por método Soxhlet.....	38
2.4.2. Extracción por maceración	40
2.5. Ensayos para identificación de alcaloides	41
2.6. Purificación de Capsaicina	43
2.7. Identificación de Capsaicina por espectrofotometría de infrarrojo con... transformadas de Fourier (FTIR)	44
CAPÍTULO III	46
3. Resultados y discusión	46
3.1. Evaluación fisicoquímica	46
3.1.1. Determinación de humedad	46
3.1.2. Determinación de cenizas totales, cenizas solubles en agua, cenizas insolubles en ácido...	47
3.2. Extracción de capsaicinoides	48
3.3. Propiedades físicas de los extractos de capsaicinoides	51
3.4. Identificación de alcaloides	52
3.5. Identificación de Capsaicina.....	52
3.5.1. Análisis espectroscópico.....	53
CAPÍTULO IV	57
4. Conclusiones y recomendaciones	57
BIBLIOGRAFÍA	60
ANEXOS.....	66

LISTA DE TABLAS

Tabla 1.1.	Composición química y valor nutritivo de pimiento y ají por 100 g de producto comestible	14
Tabla 1.2.	Regiones analíticas de los espectros infrarrojos.....	29
Tabla 3.1.	Porcentaje de humedad presente en las tres variedades de ajíes.....	46
Tabla 3.2.	Resultados de la determinación de cenizas totales, cenizas solubles en agua, cenizas insolubles en ácido	48
Tabla 3.3.	Resultados de la extracción de capsaicinoides por el método Soxhlet y por Maceración	51
Tabla 3.4.	Propiedades organolépticas de los extractos de las tres variedades de ajíes	51
Tabla 3.5.	Resultados de pruebas específicas para alcaloides en los extractos de capsaicinoides obtenidos por dos métodos de extracción	52
Tabla 3.6.	Propiedades físicas de la Capsaicina.....	53
Tabla 3.7.	Análisis espectroscópico de la Capsaicina.....	55

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.1.	Representación botánica de una planta de Capsicum.....	8
Figura 1.2.	Corte longitudinal del ají.....	9
Figura 1.3.	Estructura de la (a) Capsaicina y de la (b) Dihidrocapsaicina.....	16
Figura 1.4.	Estructura de la molécula de capsaicina.....	17
Figura 1.5.	Diagrama de los beneficios de la capsaicina.....	19
Figura 1.6.	Esquema del mecanismo de acción de Capsaicina.....	22
Figura 1.7.	Diagrama de las partes de un espectrofotómetro de infrarrojo dispersivo	26
Figura 1.8.	Esquema de un espectrofotómetro de infrarrojo.....	27
Figura 1.9.	Diagrama de un interferómetro de Michelson.....	28
Figura 2.1.	Condiciones de corrida de los espectros de Capsaicina en el FTIR...	45
Figura 3.1.	Porcentaje de humedad presente en las tres variedades de ajíes.....	47
Figura 3.2.	Porcentaje de cenizas totales, cenizas solubles en agua y cenizas insolubles en ácido presente en las tres variedades de ajíes	48
Figura 3.3.	Comparación en el porcentaje de capsaicinoides obtenidos por el método Soxhlet y el método de maceración	49
Figura 3.4.	Espectro Infrarrojo del estándar de Capsaicina obtenido de Sigma-Aldrich	53
Figura 3.5.	Espectro Infrarrojo del extracto de capsaicinoides del ají rocoto (<i>Capsicum pubescens R&P.</i>)	54
Figura 3.6.	Espectro Infrarrojo de Capsaicina de ají ratón o uña de pava (<i>Capsicum chinense Jacq.</i>) extraído por maceración	56

LISTA DE ANEXOS

- ANEXO 1 Espectro infrarrojo de Capsaicina de ají dulce o largo colorado 67
(*Capsicum annuum L.*) extraído por método Soxhlet
- ANEXO 2 Espectro infrarrojo de Capsaicina de ají ratón o uña de pava 68
(*Capsicum chinense Jacq.*) extraído por método Soxhlet
- ANEXO 3 Espectro infrarrojo de Capsaicina de ají dulce o largo colorado 69
(*Capsicum annuum L.*) extraído por maceración
- ANEXO 4 Espectro infrarrojo de Capsaicina de ají rocoto (*Capsicum pubescens R&P*) extraído por maceración 70

RESUMEN

La capsaicina es un metabolito secundario originario de las plantas del género *Capsicum*, se trata de un compuesto orgánico nitrogenado de naturaleza lipídica, el cual es considerado como un alcaloide. La capsaicina actúa como un analgésico externo y antiinflamatorio, eficiente para el tratamiento de varias patologías degenerativas como artritis y osteoartritis; por lo que, en el presente estudio se propuso como objetivo extraer la capsaicina de tres variedades de ajíes (largo colorado, ratón y rocoto) y caracterizar el extracto mediante un espectrofotómetro de infrarrojo de transformadas de Fourier (FTIR) para identificar la presencia del componente activo del ají.

Se realizaron pruebas como análisis de humedad, cenizas totales, cenizas solubles en agua y cenizas insolubles en ácido con el fin de determinar la presencia de contaminantes en la misma. La extracción del principio activo se realizó mediante dos métodos: extracción Soxhlet con etanol absoluto y por maceración con etanol absoluto. Una vez obtenidos los extractos, se procedió a realizar pruebas específicas para alcaloides. La capsaicina se purificó mediante cromatografía de columna y finalmente se analizó en el FTIR.

Los resultados obtenidos mostraron que las tres variedades de ajíes presentan porcentajes de humedad elevados siendo el ají ratón el de menor proporción con un 69.85%. Los niveles de cenizas totales en las tres tipos son menores a 8.5% de lo establecido en la Norma NTE INEN 2532:2010. De las dos técnicas ensayadas para la extracción de capsaicinoides, en el método Soxhlet se obtuvo los mejores resultados.

La variedad ají dulce o largo colorado presentó mayor porcentaje de capsaicinoides, 34.45%. Por último, uno de los hallazgos más importantes fue que por medio del FTIR se determinó que las tres variedades de ajíes presentan capsaicina en su estructura.

Palabras claves: aislamiento, capsaicina, capsaicinoides, espectroscopia, Infrarrojo

ABSTRACT

Capsaicin is a secondary metabolite originating from plants of the genus *Capsicum*. It is a nitrogenous organic compound of lipidic nature, which is considered as an alkaloid. Capsaicin acts like an external analgesic and antiinflammatory to treat various degenerative diseases like arthritis and osteoarthritis. The main objective of the research was to extract capsaicin of three peppers varieties (largo Colorado, ratón and rocoto); then characterizing the extract by spectrophotometer with Fourier transform infrared (FTIR) to identify the presence of the active component of chili.

Tests were carried out like analysis of moisture, total ash, water soluble ash and acid insoluble ash in order to determine the presence of inorganic material therein. The extraction of the active principle was performed by two methods: Soxhlet extraction with absolute ethanol and maceration with absolute ethanol. Once obtained the extracts, the capsaicin was purified by column chromatography, and finally analyzed by FTIR.

The results showed that three varieties of chili have high moisture percentages although the ratón pepper had a lower proportion with 69.85%. Total ash levels in the three types are less than 8.5% of the provisions of the standard NTE INEN 2532:2010. Of the two tested techniques for extraction of capsaicinoids, the Soxhlet method was the better. The dulce pepper or largo colorado variety had a higher number of capsaicinoids, 34.45%. Finally, one of the most important findings was that through the FTIR was determined that three varieties of peppers have capsaicin in its structure.

Keywords: isolation, capsaicin, capsaicinoides, spectroscopy, Infrared

INTRODUCCIÓN

La gran diversidad de cultivos en el Ecuador crea la necesidad de buscar alternativas para proporcionar un valor agregado a los frutos o plantas cultivadas en nuestro país. Los extractos naturales obtenidos de estas fuentes poseen numerosas aplicaciones en la industria farmacéutica y área medicinal. Así, la diversidad de plantas que se conocen en el Ecuador presenta altos usos medicinales y representa una gran riqueza cultural y terapéutica.

Dentro de una amplia gama de recursos vegetales que se han utilizado con el propósito de procurar la salud y el bienestar, el uso de plantas con fines curativos y preventivos se ha convertido en un recurso primordial dentro de comunidades rurales como también en habitantes de las ciudades de diferente clase social.

Los productos vegetales tienen un extenso contenido de nutrientes y compuestos químicos con una variedad de estructuras que brindan efectos biológicos al organismo humano. Los compuestos fitoquímicos son sustancias biológicamente activas que se encuentran en vegetales, los cuales confieren color, aroma y sabor. No son nutrientes esenciales para la vida pero tienen efectos positivos en la salud.

En el Ecuador, los frutos del género *Capsicum* representan una tradición cultural ya que es uno de los vegetales utilizado como alimento y como especia. El consumo de ají se debe a su sabor pungente causado por la presencia de capsaicinoides, que son un grupo de amidas ácidas derivadas de la vainillilamina [1].

La capsaicina es el capsaicinoide más abundante y representa el 70%, el resto corresponde a dihidrocapsaicina, nordihidrocapsaicina, homocapsaicina y homodihidrocapsaicina. La capsaicina, como analgésico de uso tópico, ha adquirido una rápida difusión en la terapéutica actual para el tratamiento de neuralgias y enfermedades reumáticas. El reciente interés en el uso de capsaicina como un analgésico tópico para una variedad de condiciones caracterizadas por el dolor, las cuales no responden a analgésicos comunes, se debe a su modo de acción. La capsaicina destruye a un neurotransmisor conocido como sustancia P que se encuentran en ciertos nervios que terminan en la piel y membranas mucosas. En este sentido, trabaja como un antisensibilizante facilitando su utilización como analgésico auxiliar para el tratamiento de artritis y osteoartritis [2].

En la presente investigación, se propuso como objetivo principal extraer y caracterizar la capsaicina de tres variedades de ajés cultivadas en el Ecuador mediante espectrofotometría de infrarrojo con transformadas de Fourier (FTIR) para identificar la presencia del componente activo del ají.

A lo largo de este trabajo se realizaron pruebas de humedad, cenizas totales, cenizas solubles y cenizas insolubles con el fin de determinar la presencia de material inorgánico en la misma.

Para la obtención del principio activo del ají se utilizó la técnica de extracción Soxhlet con etanol absoluto y el método de maceración con etanol absoluto. Una vez extraídos los capsaicinoides, se procede a la purificación de la capsaicina mediante cromatografía de columna y su identidad se confirmará mediante un espectrofotómetro de infrarrojo con transformadas de Fourier comparándolo con un espectro reportado de la literatura.

Para la descripción de los resultados de este trabajo, los capítulos se han distribuido en cuatro secciones:

En el Capítulo I se presentan las generalidades del ají (*Capsicum*), clasificación taxonómica de cada variedad de ají, composición química y valor nutritivo, propiedades de la capsaicina y sus aplicaciones. También, se describen las técnicas de extracción e identificación de la capsaicina.

En el Capítulo II se incluyen los materiales, reactivos y métodos utilizados para el análisis fisicoquímico del ají, así como la extracción de capsaicinoides y purificación de capsaicina.

Se presentan los principales resultados obtenidos en este trabajo de investigación, en el Capítulo III, se reportan los datos de humedad, cenizas totales, cenizas insolubles en ácido y cenizas solubles en agua, porcentajes de extracción de capsaicinoides mediante los dos métodos empleados y la purificación de la capsaicina. Finalmente, se presentan los espectros infrarrojos de la capsaicina purificada.

Las conclusiones y recomendaciones, Capítulo IV, derivadas de este trabajo se incluyen en esta sección con el fin de promover nuevas investigaciones relacionadas a este tema. Adicionalmente, se presenta la bibliografía utilizada en este trabajo, así como, los anexos.

CAPÍTULO I

1. AJÍ (*Capsicum*)

1.1. ORIGEN Y DISTRIBUCIÓN

Ajés o chiles son nombres colectivos para las especies cultivadas del género *Capsicum*. La expresión ají es de origen antillano y fue extendido por los españoles por todo Sudamérica, mientras que chile de origen mexicano, se usa desde México a Costa Rica; por otro lado el término pimiento es utilizado para ciertos cultivares poco picantes, el cual se deriva de la pimienta, una especia oriental con la que fueron confundidas inicialmente los *Capsicum*.

Los ajés son originarios y domesticados en América cuya área de diversidad está localizada en la región andina y amazónica de América del sur (Bolivia y el sur de Brasil). En el Ecuador, es posible que el cultivo de ají (*Capsicum sp.*) se remonte a la cultura Valdivia.

Así, en el Ecuador existen nueve especies *Capsicum annum*, *Capsicum baccatum*, *Capsicum chinense*, *Capsicum dimorphum*, *Capsicum galapagoense*, *Capsicum hookerianum*, *Capsicum lycianthoides*, *Capsicum pubescens* y *Capsicum rhomboideum* y más de 60 variedades tradicionales en cultivo. Cinco especies tienen un rango de distribución entre los 0 a 3000 msnm (*Capsicum annum*, *Capsicum lycianthoides*,

Capsicum pubescens, *Capsicum rhomboideum*), las colecciones botánicas provienen de las provincias de Azuay, Chimborazo, Cotopaxi, Imbabura, Loja y Pichincha [3].

La clasificación de los *Capsicum* cultivados es difícil debido al gran número de variedades y a la falta de características definidas entre cada especie [4]. Además, se han registrado aproximadamente veinte especies silvestres, todas sudamericanas siendo *Capsicum annuum* (incluye variedades chiles, pimientos, paprika, jalapeño, cayena, entre otros) originaria de México, la más difundida en todo el mundo. Las especies *Capsicum baccatum*, *Capsicum chinense*, *Capsicum frutescens* y *Capsicum pubescens* son originarias de América del sur [5].

1.2. DESCRIPCIÓN BOTÁNICA



Figura 1.1. Representación botánica de una planta de *Capsicum* [6]

Los *Capsicum* son plantas herbáceas, semi arbustivas de diferente porte y tamaño cuyo período de vida es menor a un año. Alcanza entre 0.3 y 1.5 metros de altura, dependiendo principalmente de la variedad, condiciones climáticas y fertilización. Los tallos y ramas se forman en lugares donde el nudo superior posee yemas floríferas y dos ramillas que forman un dicasio. La rama más grande continúa el crecimiento y en su nudo superior se repite el modelo de inflorescencia y ramas (Figura 1.1). Las hojas son, generalmente, elípticas con el ápice agudo y la base asimétrica, que varía entre especies. Las flores, se presentan dos por nudo con pedicelos erectos o doblados en la antesis. El cáliz es cupular, liso con dientes cortos y prominentes [4].

El género *Capsicum* presenta diferentes colores de flor, que hace referencia a su especie. Se definen dos grupos de flores: blancas y púrpuras. En el grupo de flores blancas se encuentra el *Capsicum baccatum*, *Capsicum annuum*, *Capsicum chinense*, *Capsicum frutescens*. El grupo de las flores púrpuras se encuentra en las especies *Capsicum eximium*, *Capsicum cardenasii* y *Capsicum pubescens* [7]. El fruto es de pulpa firme, rojo o amarillo.

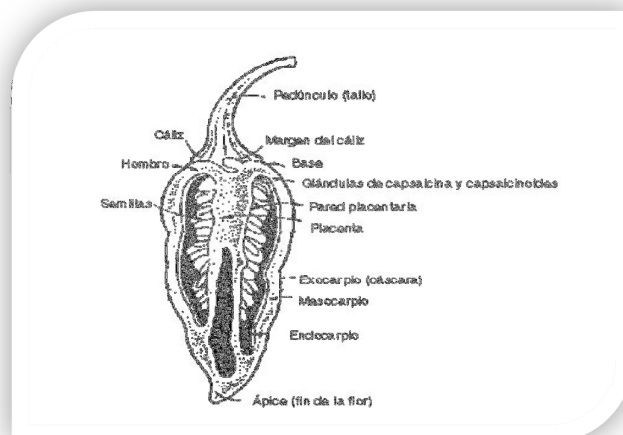


Figura 1.2. Corte longitudinal del ají [8]

El *Capsicum* (Figura 1.2) es el género que mayor diversidad de frutos en cuanto a forma, color y tamaño presenta. El fruto es una baya hueca, semicartilaginosa y deprimida. Su color es variable dependiendo de su estado de madurez. Su tamaño y peso es diverso ya que puede pasar de escasos gramos hasta más de 500 gramos. Su forma puede ser alargada o totalmente redonda. Finalmente, las semillas se encuentran insertas en una placenta cónica de disposición central, son redondas, ligeramente reniformes, de color amarillo pálido y cuya longitud varía entre 3-5 milímetros.

1.2.1. DESCRIPCIÓN BOTÁNICA DE AJÍ LARGO COLORADO O DULCE (*Capsicum annumm L.*)

Capsicum annumm presenta mayor variedad de especies incluyendo formas dulces y picantes, además de ser la más cultivada y distribuida por toda América. Se trata de un arbusto de 80 cm de altura. Hojas de hasta 2.5 cm de longitud por 1 cm de ancho, simples, alternas, margen entero, sin vello. Se distingue por su flor de color blanca o amarillenta con anteras azules o púrpuras. Los frutos aparecen en las axilas de las hojas o ramillas y, generalmente, uno. Su tamaño varía entre 12 a 15 cm de longitud. Su clasificación taxonómica es [9]:

Reino:	Plantae
División:	Magnoliophyta
Clase:	Magnoliopsida
Orden:	Solanales
Familia:	Solanaceae
Género:	<i>Capsicum</i>
Especie:	<i>Annumm L.</i>
Nombre común:	Ají

1.2.2. DESCRIPCIÓN BOTÁNICA DE AJÍ RATÓN O UÑA DE PAVA (*Capsicum chinense* Jacq.)

Consiste en un arbusto de 80 cm de alto. Hojas de 6 cm de largo por 3 cm de ancho, simples, alternas, margen entero.

Muchos especialistas incluyen esta especie dentro de *Capsicum annuum* debido a que presenta igual inflorescencia y tipo de flor (flores blancas). Sin embargo, presenta variación en el número de frutos ya que por lo general son tres. El fruto es oblongo, que varía en sus dimensiones desde 4 cm de largo por 2 cm de ancho a 2 cm de largo por 0.5 cm de ancho. Esta especie es de carácter silvestre, y se distribuye en Brasil (Amazonía), Ecuador y Perú. Su clasificación taxonómica es [10]:

Reino:	Plantae
División:	Magnoliophyta
Clase:	Magnoliopsida
Orden:	Solanales
Familia:	Solanaceae
Género:	Capsicum
Especie:	Chinense Jacq.
Nombre común:	Ají uña de pava, ají el diablo

1.2.3. DESCRIPCIÓN BOTÁNICA DE AJÍ ROCOTO (*Capsicum pubescens* R & P)

Esta especie de *Capsicum* tiene características más definidas en pubescencia, color de la flor y la semilla. Es un arbusto bajo, que crece hasta 1 metro si están tutoradas. Las ramificaciones son compactas; follaje suave, oscuro y muy pubescente; flores solitarias, cáliz cupular y pubescente, corola de color púrpura. El fruto presenta menos diversidad de forma que las otras especies de *Capsicum*, es elipsoidal y de longitud variable desde 2.5 cm de longitud. La clasificación taxonómica de esta especie es [11]:

Reino:	Plantae
División:	Magnoliophyta
Clase:	Magnoliopsida
Orden:	Solanales
Familia:	Solanaceae
Género:	Capsicum
Especie:	Pubescens
Nombre común:	Rocoto

1.3. COMPOSICIÓN QUÍMICA Y VALOR NUTRITIVO

El ají posee una composición química variada brindando un aporte nutricional alto en relación a otras hortalizas. Así, entre los principales aportes nutricionales del ají están las vitaminas A, C, B₁, B₂ y P.

La cantidad de vitamina A es muy elevada y, por lo general, se encuentra en forma de provitamina como α -caroteno, β -caroteno y criptoxantina, las cuales son transformadas en vitamina A en el hígado de los seres humanos. Sin embargo, el β -caroteno es el más importante debido a que se encuentra en mayor proporción y, porque de cada molécula de β -caroteno se obtiene dos moléculas de vitamina A.

Se estima que con 3-4 g de ají de color rojo se cubren los requerimientos diarios de vitamina A en una persona adulta [12].

El ají se caracteriza por su contenido de vitamina C, el cual presenta diferencia entre variedades, el ají verde presenta un alto contenido. Por otra parte, la cantidad de esta vitamina depende de factores agronómicos como: cultivo (al aire libre o en invernadero), marco de plantación, riego, madurez del fruto, entre otros [13].

Los pigmentos, que se encuentran en el fruto, se incluyen dentro de los carotenoides debido a su composición química, se divide en tres grupos: pigmentos principales o característicos: capsantina ($C_{40}H_{56}O_3$) y capsorubina ($C_{40}H_{60}O_4$), estos pigmentos son los que proporcionan el color rojo; pigmentos con efecto de provitamina: criptoxantina ($C_{40}H_{56}O$) y β -caroteno ($C_{40}H_{56}$); otros pigmentos carotenoides: zeaxantina ($C_{40}H_{56}O$) y luteína ($C_{40}H_{56}O$).

La presencia de carbohidratos en el ají está determinada por la glucosa en 90-98% mientras que el resto es sacarosa. Además, la pectina, que es un carbohidrato importante, está presente en 3-7 %. También, en el ají se encuentran aceites volátiles, lípidos, aminoácidos, proteínas (de alto valor biológico), ácidos orgánicos y sustancias minerales [12].

En la Tabla 1.1 se detalla la composición química y el valor nutricional del ají.

Tabla 1. 1 Composición química y valor nutritivo de pimiento y ají por 100 g de producto comestible [12]

Composición	Pimiento	Ají
Materia seca (%)	8.0	34.6
Agua (%)	82-92	70
Energía (kcal)	26	116
Proteína (g)	1.3	6.3
Grasas (g)	0.7-0.8	0.7-0.8
Carbohidratos (g)	8.8-12.4	8.8-12.4
Fibra (g)	1.4	15
Calcio (mg)	12	86
Hierro (mg)	0.9	3.6
Carotenos (mg)	1.8	6.6
Tiamina (mg)	0.07	0.37
Riboflavina (mg)	0.08	0.51
Niacina (mg)	0.8	2.5
Vitamina C (mg)	103	96
Valor nutritivo medio (ANV)	6.61	27.92
ANV por cada 100 g de materia seca	82.6	80.7

1.3.1. CAPSAICINOIDES

El ají, dentro de su composición química, contiene una serie de amidas denominadas capsaicinoides (0.3-1%), entre los cuales se destaca la capsaicina (amida vanílica del ácido

isodecenóico) de sabor intensamente picante (63-77%). Los capsaicinoides están formados, además, por 6,7 - dihidrocapsaicina (20-32%), nordihidrocapsaicina (7%), homodihidrocapsaicina (1%) y homocapsaicina (2%) [8].

Los capsaicinoides son un grupo de amidas ácidas, las cuales se sintetizan y acumulan en el tejido de la placenta brindando protección química a las semillas.

Las diferencias estructurales de los capsaicinoides se deben a la naturaleza de la cadena lateral, puede ser de nueve a once carbonos con variabilidad en el número de dobles enlaces y sus posiciones. Sin embargo, no está claro que la diferencia se deba a modificaciones que sufre la cadena de ácidos grasos antes o después de su unión con la vainillilamina.

Las concentraciones de capsaicinoides en los pimientos picantes varían muy significativamente unas de otras. Las especies poco picantes de pimientos tienen concentraciones de capsaicinoides que van desde los 0,003 a 0,01 % en peso seco del pimiento. Las concentraciones de capsaicinoides de los grupos picantes suaves van desde 0,01 a 0,3 %, y los que son fuertemente picantes se caracterizan por tener un contenido superior al 0,3 % en capsaicinoides del peso seco total, pudiendo llegar al 1 % [14]

La capsaicina y dihidrocapsaicina son, aproximadamente, el 90 % de capsaicinoides en el fruto de ají (*Capsicum*), siendo los más fuertes y, sus moléculas difieren solamente por la presencia del doble enlace carbono-carbono [15].

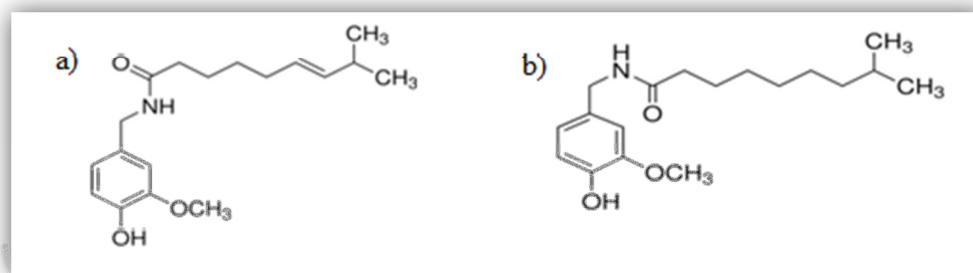


Figura 1.3. Estructura de la (a) Capsaicina y de la (b) Dihidrocapsaicina [16]

1.4. CAPSAICINA

Bucholtz P.A. descubrió por primera vez que el principal agente de pungencia de los ajíes se podía extraer con solventes orgánicos. Thresh L.T. reportó que el principal pungente se extraía en estado cristalino, y otorgó a la sustancia el nombre de *capsaicina*. El médico y científico húngaro Endre Hogeny extrajo la capsaicina, a la que le llamó capsicol y, descubrió que estimulaba las membranas mucosas de la boca y estómago y de esta forma incrementaba la secreción de jugos gástricos [1].

La capsaicina es un compuesto orgánico nitrogenado de naturaleza lipídica, frecuentemente clasificado como un alcaloide. La capsaicina no es un compuesto simple sino que se trata de una mezcla de varias amidas conocidas con el nombre de capsaicinoides. En cuanto a su estructura química, consiste en un núcleo fenólico unido mediante un enlace amida a un ácido graso [1]. La porción fenólica es la vainillilamina, constituida por medio de la fenilalanina a través de la ruta de los fenilpropanoides, mientras que el ácido graso se forma a partir de aminoácidos de cadena lateral ramificada ya sea valina, leucina o isoleucina [17].

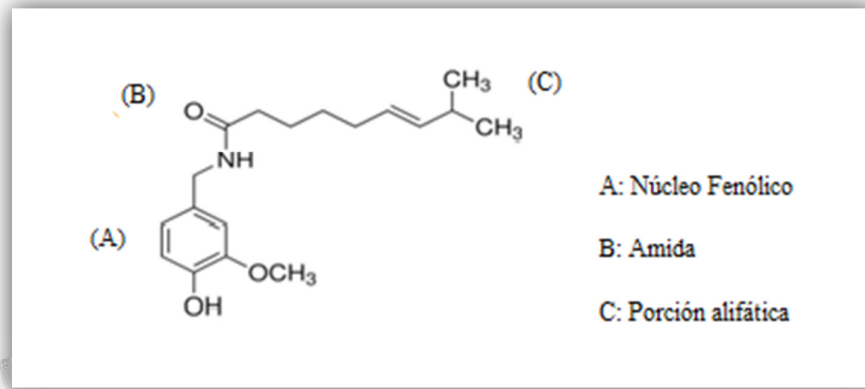


Figura 1.4. Estructura de la molécula de Capsaicina [18]

La capsaicina está distribuida en mayor proporción en la placenta y el septo del fruto, en donde representa el 2.5 % de la materia seca mientras que en el fruto constituye el 0.6 %, en las semillas el 0.7 % y en el pericarpio el 0.03 %. En los frutos maduros, la capsaicina, sólo se encuentra en las capas externas de las placentas, es decir los tejidos que sostienen las semillas. Parece haber una relación inversa entre el tamaño del fruto y su contenido de capsaicina [4]. Además, existe una correlación entre la cantidad de capsaicina y la cantidad de carotenoides. Por lo tanto, más fuerte será el sabor mientras más profundo sea el color del ají [19].

La cantidad de capsaicina varía de acuerdo a su época de cultivo. En cuanto a su formación, los factores ambientales tienen un papel principal: la humedad, los ajíes con mayor cantidad de agua son menos pungentes porque tienen menos capsaicinoides por unidad de peso; y la temperatura, parece que los climas cálidos provocan un aumento en la producción de capsaicinoides [20].

Ciertas características como la especie, las condiciones de crecimiento, tipo de suelo, el clima y otros factores, alteran las condiciones bioquímicas en las células de los ajíes, que produce la variación individual de capsaicinoides en cada fruto.

La capsaicina es el compuesto más picante del grupo de los capsaicinoides, la misma que en estado puro, es un compuesto cristalino, ceroso, hidrofóbico e incoloro. Es poco soluble en agua, pero muy soluble en grasas, aceites y alcohol.

1.4.1. USOS Y APLICACIONES DE LA CAPSAICINA

ALIMENTOS

La capsaicina es el principio activo del ají, por tanto, es utilizada como condimento en las comidas. Actualmente, se consume de diferentes formas: triturado, conservas, frescos, en salsas, deshidratados.

ADITIVOS

De acuerdo a las últimas investigaciones se está desarrollando un método para la fabricación de grandes cantidades de un compuesto, que incluye capsaicina y el anestésico lidocaína. Estos compuestos producen una mezcla extremadamente picante e intensamente amarga. Este producto es creado con el fin de implementarlo como un aditivo en pinturas, especialmente para aquellas utilizadas en los cascos de barcos, para inhibir el crecimiento de percebes (crustáceos que crecen sobre rocas batidas por el oleaje) [21].

MEDICINALES

En el campo de la medicina, la capsaicina, es usada como un medicamento para el tratamiento del dolor y varias patologías.

La capsaicina ha demostrado ser un compuesto lleno de propiedades que contribuyen al tratamiento de varios padecimientos como analgésico, antiinflamatorio y por ser una sustancia preventiva de enfermedades por excelencia.

En la Figura 1.5 se presenta las principales patologías y molestias en las que se ha observado que la capsaicina es un activo efectivo:

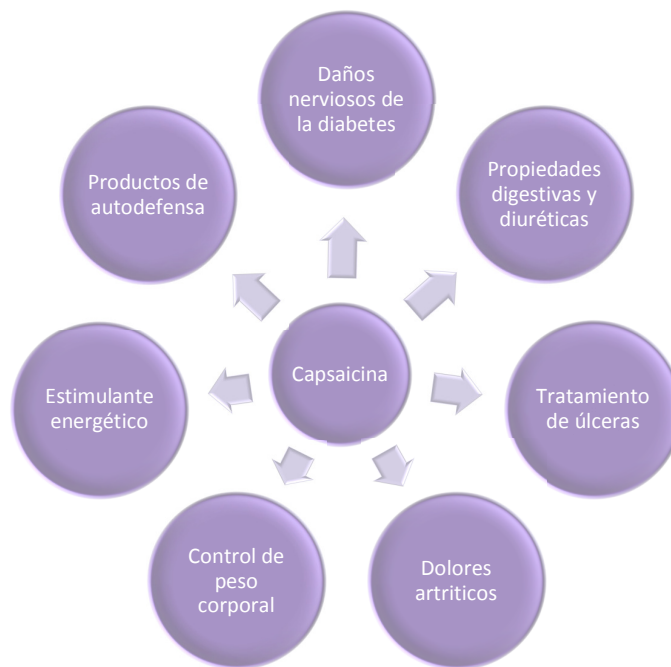


Figura 1.5. Diagrama de los beneficios de la Capsaicina

APLICACIONES FARMACOLÓGICAS

Desde tiempos antiguos, la capsaicina ha sido conocida por sus efectos farmacológicos, no obstante, en la actualidad se han realizado varios estudios para determinar las aplicaciones específicas en el tracto gastrointestinal, pérdida de peso, antioxidante y como analgésico.

Una de las importantes propiedades fisiológicas de la capsaicina es su efecto selectivo sobre la zona periférica del sistema nervioso, especialmente sobre las neuronas aferentes primarias. La capsaicina reduce la transmisión del impulso nervioso del dolor, por tanto la convierte en un instrumento muy versátil en el uso terapéutico como analgésico tópico para el tratamiento de ciertos dolores como artritis reumatoide, neuralgia post-herpética, neuropatías diabéticas y osteoartritis, entre otras [17].

Investigaciones clínicas demostraron que el 75 % de pacientes que se aplicaron crema de capsaicina en zonas enfermas experimentaron una disminución sustancial del dolor, aunque se produjo una sensación de quemadura como efecto secundario [21]. Otra virtud de la capsacina es su efecto en la reducción de tejido adiposo de roedores debido al aumento de energía y el metabolismo lipídico. Posiblemente por el aumento de la secreción de catecolaminas de la médula suprarrenal en respuesta a la activación del sistema nervioso simpático [22]. Así, una investigación más robusta de los efectos terapéuticos de la capsaicina ayudará a buscar mecanismos para el tratamiento de la obesidad.

Además, los Capsicum son una excelente fuente de antioxidantes que pueden ser administrados en la dieta diaria debido a la gran disposición del fruto. Entre los

compuestos antioxidantes que presentan son flavonoides, ácidos fenólicos, carotenoides, vitamina A, ácido ascórbico, tocoferoles, capsaicinoides y capsinoides.

Los capsaicinoides, en especial la capsaicina y dihidrocapsaicina, presentan una actividad antioxidante muy particular ya que son capaces de inhibir la peroxidación lipídica catalizada por cationes Fe^{3+} y la oxidación de lipoproteínas de baja densidad producida por cationes cobre. Se atribuye este efecto a la capacidad de estos compuestos para formar complejos con dichos metales reducidos y, además, actúan como donadores de hidrógenos. También, la capsaicina puede prevenir la oxidación del ácido oleico a temperaturas elevadas al igual que la formación de hidroperóxidos lipídicos provenientes de la auto-oxidación del ácido linoléico [19].

1.4.2. MECANISMO DE ACCIÓN DE LA CAPSAICINA

Las sensaciones de ardor y dolor asociadas a la capsaicina resultan de las interacciones químicas de esta sustancia con neuronas primarias sensoriales. La capsaicina está relacionada a un receptor celular denominado Vaniloide Subtipo 1 (VR1), su nombre se debe al componente químico esencial que constituye la capsaicina y, está catalogado como un receptor doloroso general, que responde al calor y abrasión física [8].

Se ha demostrado que la capsaicina estimula a los receptores VR1 incrementando la permeabilidad de la membrana celular para el flujo de cationes hacia el centro de la célula. La secuencia de permeabilidad de iones monovalentes y divalentes se presenta así: $\text{Ca}^{2+} > \text{Mg}^{2+} > \text{Na}^+ \sim \text{K}^+ \sim \text{Cs}^+$ [2]. Este fenómeno es conocido como *despolarización neuronal*, el mismo que estimula el envío de señales al cerebro por medio del sistema nervioso central

liberando neuropéptidos incluyendo la sustancia P (neurotransmisor). La liberación de la sustancia P es la responsable de la sensación de ardor y dolor irritante [23].

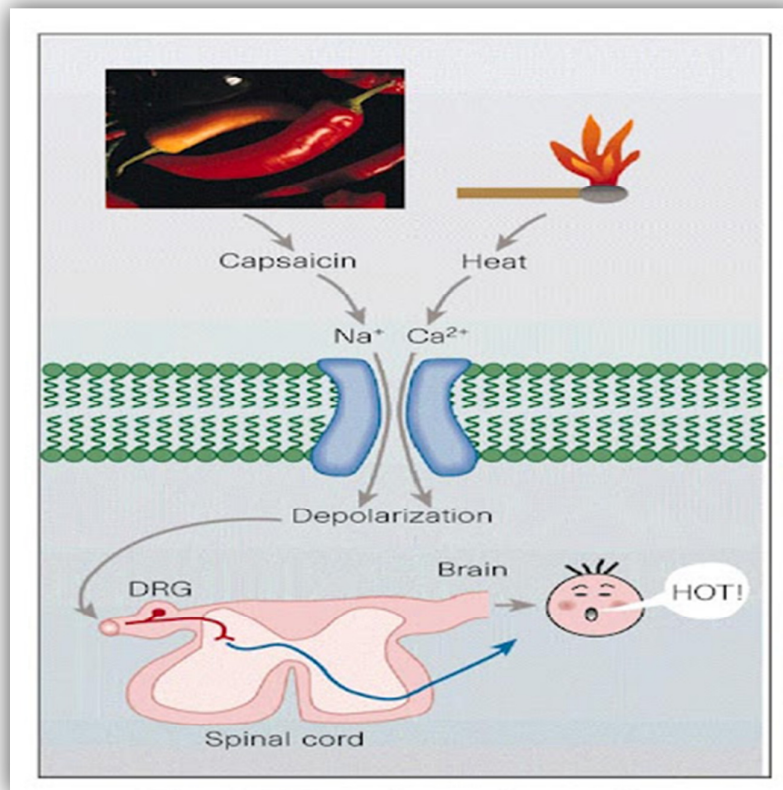


Figura 1.6. Esquema del mecanismo de acción de Capsaicina [24]

Extensas investigaciones de capsaicina, VR1 y la respuesta fisiológica a su activación química aseguran que es un agente efectivo en padecimientos de dolor crónico sobre todo aquellos asociados con la espina dorsal, artritis y neuropatologías diabéticas [23].

Cuando la capsaicina se la aplica de forma tópica, actúa disminuyendo el contenido de sustancia P en las terminaciones nerviosas periféricas responsables de la transmisión del impulso nervioso. La sustancia P es un péptido de cadena corta conocido como un

neurotransmisor, el cual se encuentra localizado en partes del cerebro donde se involucran fenómenos como la depresión, ansiedad y estrés. Además, tiene una importante participación en el procesamiento de estímulos dolorosos cuyo receptor puede ser un eje importante para el tratamiento del dolor crónico.

La sensación álgica se transmite a través de impulsos dolorosos donde la sustancia P y otros neurotransmisores tienen un papel determinante. La interrupción en la transmisión del impulso doloroso se conseguiría con una disminución en el contenido de estos neurotransmisores. En esta acción intervienen diversos mecanismos: bloqueo de los canales del calcio, inhibición del receptor específico de membrana, acumulación intracelular de iones que producen cambios osmóticos y activación de procesos enzimáticos proteolíticos. El dolor crónico tiene como base una hiperexcitabilidad de impulsos sobre las fibras sensitivas tipo C (no mielinizadas, de pequeño diámetro). La capsaicina reduce esta actividad por lo que actuaría impidiendo la perpetuación del estado doloroso [23].

1.4.3. MÉTODOS DE EXTRACCIÓN DE CAPSAICINA

EXTRACCIÓN SOXHLET

Es un método de extracción sólido-líquido utilizado frecuentemente para la extracción de principios activos de tejidos vegetales. Consiste en colocar el material sólido a extraer, molido y previamente pesado, en un cartucho de celulosa que se introduce en la cámara de extracción, conectada por una parte al balón de destilación y, por otro a un refrigerante. El solvente, contenido en el balón, se calienta a ebullición, el vapor asciende por el tubo

lateral y se condensa en el refrigerante, cayendo gota a gota en el material a extraer. Cuando alcanza el nivel conveniente sifona hacia el balón de destilación. El proceso se repite hasta conseguir el agotamiento deseado del material [25].

La extracción Soxhlet garantiza un contacto íntimo de las partículas de la muestra con el solvente de extracción. A pesar de que esta técnica permite el uso de gran cantidad de muestra, no requiere de filtración después de la extracción, evitando pérdidas de la muestra.

Entre los principales inconvenientes se destacan largos tiempo de extracción, volúmenes elevados de solventes. Para la recuperación del solvente se utiliza un rotavapor si los volúmenes son considerables, o evaporación del solvente después de la extracción que produce contaminación ambiental.

EXTRACCIÓN POR MACERACIÓN

La técnica de extracción por maceración es una de las más simples y consiste en mantener en contacto la muestra, molida o fragmentada, con el solvente adecuado hasta que éste penetre en los tejidos con el fin de ablandar y disolver las porciones solubles [25].

La muestra se coloca en un recipiente, por lo general de vidrio, se adiciona el solvente, se tapa y se mantiene en agitación constante. Finalmente, se filtra la muestra después de la maceración con el objetivo de separar la parte sólida (residuo) del extracto obtenido. Si es necesario, el residuo puede someterse a otro proceso de maceración con solvente nuevo.

1.4.4 MÉTODOS DE IDENTIFICACIÓN DE CAPSAICINA

ESPECTROFOTOMETRÍA DE INFRARROJO

La espectrofotometría de infrarrojos es un tipo de espectrometría de absorción que utiliza la región infrarroja del espectro electromagnético. Esta técnica puede ser utilizada para identificar un compuesto o investigar la composición de una muestra.

Este tipo de espectrofotometría se basa en el hecho de que los enlaces químicos de las sustancias tienen frecuencias de vibración específicas, que corresponde a los niveles de energía de la molécula. Estas frecuencias dependen de la forma de la superficie de energía potencial de la molécula, la geometría molecular, las masas atómicas.

Cuando la radiación infrarroja incide sobre la muestra, es capaz de provocar cambios en los estados vibracionales de las moléculas constituyentes de la misma. La absorción de radiación por parte de una muestra indica el tipo de enlaces y grupos funcionales presentes en la misma.

La región infrarroja se divide en tres regiones denominadas infrarrojo cercano (NIR), infrarrojo medio (MIR) e infrarrojo lejano (FIR). La gran mayoría de las aplicaciones analíticas clásicas de este tipo de espectrofotometría se basa en el empleo del infrarrojo medio ($4000\text{-}600\text{ cm}^{-1}$) y el infrarrojo cercano.

Los tipos de instrumentos para la medición de la absorción en el infrarrojo:

- a. Espectrofotómetros dispersivos con monocromador de red

b. Espectrómetros de transformadas de Fourier (FTIR) con interferómetro

Los *espectrofotómetros de infrarrojo dispersivos* son de doble haz, con registradores, que utilizan redes de reflexión para la dispersión de la radiación. Su funcionamiento se basa en la irradiación secuencial de la muestra con radiación infrarroja de diferentes frecuencias.

El equipo consta de cinco bloques fundamentales como se indica en el siguiente diagrama:



Figura 1. 7. Diagrama de las partes de un espectrofotómetro de infrarrojo dispersivo

El espectrofotómetro de infrarrojo consta de una fuente de emisión de radiación infrarroja, que generalmente es un tubo de material cerámico con sólidos depositados que son calentados a incandescencia emitiendo radiación infrarroja. La radiación emitida se divide en dos haces al atravesar una serie de espejos: un haz pasa por una celda que contiene la muestra mientras que el otro haz pasa por la celda que contiene la referencia. Los dos haces se dirigen hacia un interruptor rotatorio que permite el paso alternado de los haces. El haz se dirige a la rejilla de difracción (monocromador) donde se separa en las longitudes de onda que componen el espectro; estas radiaciones, separadas por su valor de longitud de onda, pasan a través de una ranura y llegan al detector. El detector es una bobina de alambre cuya resistencia aumenta debido al calentamiento que produce la radiación incidente.

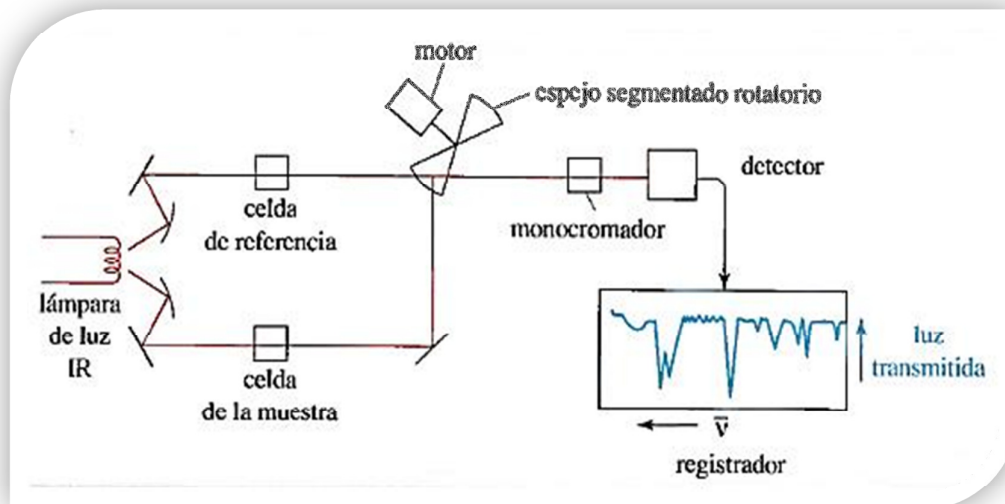


Figura 1. 8. Esquema de un espectrofotómetro de infrarrojo [26]

El *espectrómetro de infrarrojo con transformadas de Fourier (FTIR)* se basa en determinaciones interferométricas, las cuales someten a la muestra a la irradiación simultánea proveniente de la fuente de radiación policromática. Este equipo se diferencia con el equipo dispersivo ya que utiliza un interferómetro de Michelson cuyo funcionamiento es el siguiente:

El instrumento consiste en dos espejos planos, uno de ellos fijo y el otro móvil, un separador de haces, que se construye con una fina capa de germanio depositado en un bloque de bromuro de potasio. La radiación procedente de la fuente se hace incidir sobre el separador de haces formando un ángulo de 45° transmitiendo el 50% de la radiación y refleja el otro 50%. Los haces transmitidos y reflejados se dirigen a dos espejos orientados perpendicularmente a ambos haces. Los haces, ahora, son reflejados de regreso al divisor de haz. El porcentaje transmitido se refleja en el espejo móvil y se refuerza.

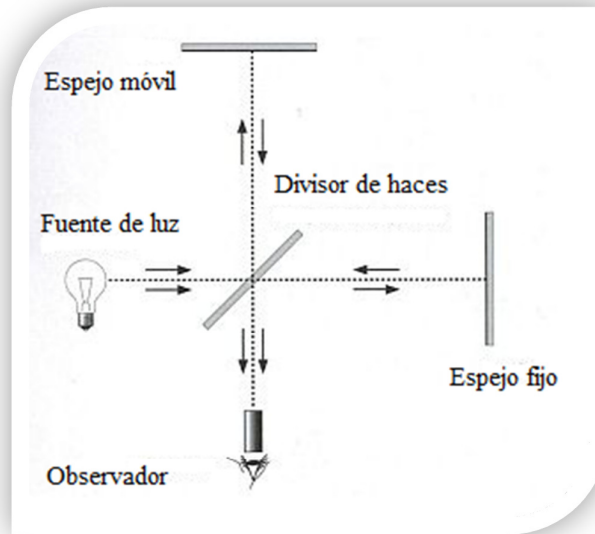


Figura 1.9. Diagrama de un interferómetro de Michelson [27]

La espectrofotometría de infrarrojo con transformadas de Fourier (FTIR) es una técnica de análisis para obtener el espectro infrarrojo con mayor rapidez. Además, permite analizar todas las longitudes de onda del espectro infrarrojo simultáneamente a través de un interferómetro. De esta manera, se convierte en un método rápido y confiable para el análisis de muestras con una o más sustancias químicas.

INTERPRETACIÓN DE ESPECTROS DE INFRARROJO [28, 29]

Los espectros infrarrojos se utilizan en análisis cualitativo de sólidos, líquidos y gases. Con la excepción de enantiómeros (isómeros ópticos), dos compuestos no tienen el mismo espectro infrarrojo, es decir, con banda emparejada a la posición del pico (número de ondas), intensidad y ancho de banda. Por consiguiente, los espectros infrarrojos se pueden

utilizar para identificar componentes de muestras comparando con espectros de una sustancia desconocida con una colección de espectros.

En cada espectro aparece una serie de picos a determinadas frecuencias de radiación, los cuales son el resultado de distintas transiciones energéticas que se produce en la molécula al pasar de unos estados vibracionales y rotacionales a otros.

Además de la identificación y comparación de componentes, se puede obtener información estructural. Los grupos funcionales se pueden identificar debido a que sus bandas de absorción se encuentran en zonas relativamente estrechas, en regiones características de la región infrarroja. Los espectros infrarrojos de compuestos orgánicos se pueden dividir en las siguientes regiones:

Tabla 1. 2. Regiones analíticas de los espectros infrarrojos [28]

Regiones	Rango de número de onda (cm⁻¹)
Grupos funcionales	4000-1300
Huellas características	1300-910
Aromáticos	910-650

En la región entre 650 cm⁻¹ y 200 cm⁻¹, las vibraciones ayudan a la identificación de enlaces inorgánicos y organometálicos.

Para proceder a la identificación, primero se determina la presencia de grupos funcionales en la región de grupos funcionales, posteriormente, se compara la región de huellas características del espectro del compuesto que queremos identificar con el espectro del

compuesto puro. Así, la coincidencia en las bandas presentes en esta zona del espectro ayuda a la identificación del compuesto.

CAPÍTULO II

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. MUESTREO

El muestreo utilizado fue por Conglomerados, el cual se utiliza cuando los individuos de la población constituyen grupos naturales o conglomerados. La unidad muestral es el conglomerado y no los individuos. De esta manera, se utilizaron tres conglomerados que corresponden a cada una de las especies botánicas del género *Capsicum*.

Después de recabar información acerca de las especies botánicas de ajíes presentes en el Ecuador, las principales fueron: *Capsicum annuum* L, *Capsicum chinense* Jacq, *Capsicum pubescens* R&P de las que se hizo un muestreo completamente al azar, es decir, que de cada una de las especies se compraron varias unidades de ajíes, sin importar las características que presentaban cada uno de ellos, como es el caso de maduración, peso, tamaño, color, entre otros, ya que el agricultor saca al mercado el ají sin hacer ninguna distinción entre ellos.

2.2. PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

Las muestras de las tres variedades de ajíes se lavaron con agua con el objetivo de limpiar los frutos de restos de tierra u otro contaminante. El material vegetal se secó en un horno y posteriormente, se trituró en una licuadora convencional.

2.3. EVALUACIÓN FISICOQUÍMICA

2.3.1. DETERMINACIÓN DE HUMEDAD

El método de determinación de humedad mediante una estufa se basa en la pérdida de peso de la muestra por evaporación del agua. Para esto se requiere que la muestra sea térmicamente estable y que no contenga una cantidad significativa de compuestos volátiles.

Se entiende por humedad el agua libre que contiene el vegetal. El exceso de agua en materia vegetal es responsable del crecimiento de bacterias y hongos, además de la hidrólisis de sus constituyentes. Por lo tanto, una de las principales funciones de este procedimiento es de conservar el principio activo y expresar la valoración de los mismos referidos a materia seca.

El principio operacional del método incluye la preparación de la muestra, pesado, secado, enfriado y pesado nuevamente de la muestra.

a. Materiales y Reactivos

- Cápsulas de porcelana
- Pinzas de crisol
- Cuchara metálica
- Desecador con sílica

b. Equipos

- Estufa Memmert® modelo UNB 500

- Balanza analítica Mettler Toledo® modelo AB204 con precisión de 0.1 mg

c. Procedimiento

En una cápsula de porcelana, previamente tarada, se pesó 5 g de muestra de ají cortado en pequeños trozos. La muestra se introdujo en una estufa a 105 °C por 2 horas, se enfrió en el desecador y el peso se registró con una variación de 0.5 mg. El procedimiento se realizó para las tres muestras de ajíes y cada una por triplicado.

$$\text{Humedad (\%)} = \frac{M_1 - M_2}{M_1 - M} \times 100 \quad (2.1)$$

Donde:

M = peso de cápsula tarada

M₁ = peso de muestra húmeda

M₂ = peso de muestra seca

2.3.2. DETERMINACIÓN DE CENIZAS TOTALES

La determinación en seco es el método más común para cuantificar la totalidad de minerales presentes en una muestra y, se basa en la descomposición de la materia orgánica quedando solamente materia inorgánica.

La ceniza resultante de la incineración del material vegetal puede ser fisiológica y no fisiológica. La ceniza fisiológica es aquella derivada de los componentes minerales de la

propia planta. La ceniza no fisiológica es la que se deriva de materia extraña, principalmente suelo y arena que se adhieren en la superficie del material a analizar.

La Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 2532:2010 referente a los requisitos de especias y condimentos establece 8.5% como valor máximo de cenizas totales para el ají.

a. Materiales y Reactivos

- Crisoles con tapa
- Pinzas de crisol
- Cuchara metálica
- Placa de calentamiento
- Desecador con silica

b. Equipos

- Mufla Barnstead/Thermolyne® 48 000 Furnace
- Balanza analítica Mettler Toledo® modelo AB204 con precisión de 0.1 mg

c. Procedimiento

Se pesó 5 g de muestra seca de ají dulce o largo colorado y ají ratón o uña de pava mientras que para el ají rocoto se pesó 0.5 g. Las muestras se precalcinaron en una placa de calentamiento y luego se calcinaron en una mufla a 550 °C por 2 horas hasta cenizas blancas o grisáceas y se enfriaron en un desecador. Se registró el peso con una variación de

0.5 mg. El procedimiento se realizó para las tres muestras de ajíes y cada una por triplicado.

$$\text{Cenizas totales (\%)} = \frac{M_2 - M}{M_1 - M} \times 100 \quad (2.2)$$

Donde:

M = peso del crisol tarada

M₁ = peso del crisol con muestra

M₂ = peso del crisol con cenizas

2.3.3. DETERMINACIÓN DE CENIZAS SOLUBLES EN AGUA

Las cenizas solubles en agua son consideradas un complemento en el análisis de cenizas insolubles en ácido, en cuanto a la determinación de la presencia de contaminantes en la materia prima. Las cenizas solubles son el resultante de la diferencia entre las cenizas totales y las cenizas insolubles en agua.

a. Materiales y Reactivos

- Agua desionizada
- Papel filtro cuantitativo
- Crisoles con tapa
- Pinzas de crisol
- Cuchara metálica

- Desecador con silica
- Placa de calentamiento

b. Equipos

- Mufla Barnstead/Thermolyne® 48 000 Furnace
- Balanza analítica Mettler Toledo® modelo AB204 con precisión de 0.1 mg

c. Procedimiento

A las cenizas totales, previamente obtenidas, se las trató con 15 mL de agua destilada, se hirvió a la llama del mechero por 5 minutos y se filtró con papel libre de cenizas. El papel filtro con el contenido se le transfirió en un crisol inicial para carbonizarlo en la mufla a 550 °C por dos horas. Posteriormente, se colocó en un desecador hasta que el crisol alcance su temperatura ambiente y se pesó.

El procedimiento se realizó para las tres muestras de ajfés y cada una por triplicado.

$$\text{Cenizas solubles (\%)} = \frac{M_2 - M_a}{M_1 - M} \times 100 \quad (2.3)$$

Donde:

M = peso del crisol tarada

M₁ = peso del crisol con muestra

M₂ = peso del crisol con cenizas totales

M_a = peso del crisol con cenizas insolubles en agua

2.3.4. DETERMINACIÓN DE CENIZAS INSOLUBLES EN ÁCIDO

Las cenizas insolubles en ácido están constituidas por el residuo obtenido después de hervir el remanente obtenido en la determinación de cenizas totales con ácido clorhídrico diluido. Se filtra y calcina el residuo.

Este procedimiento permite determinar el contenido de silicatos, principalmente de arena y tierra silícea presente en la muestra.

a. Materiales y Reactivos

- Agua destilada
- Ácido clorhídrico al 10 %
- Ácido nítrico 65 %
- Nitrato de plata 0.1 N
- Crisoles con tapa
- Pinzas de crisol
- Cuchara metálica
- Papel filtro cuantitativo
- Desecador con sílica
- Placa de calentamiento

b. Equipos

- Mufla Barnstead/Thermolyne[®] 48 000 Furnace
- Balanza analítica Mettler Toledo[®] modelo AB204 con precisión de 0.1 mg

c. *Procedimiento*

A las cenizas totales se trató con 2 mL de ácido clorhídrico al 10 %, se calentó en baño maría por 10 minutos, la solución se filtró a través de un papel libre de cenizas y se lavó el residuo con agua caliente hasta que el filtrado acidulado con ácido nítrico 65 %, al cual se le añade una o dos gotas de nitrato de plata 0.1 N, no muestre presencia de cloruros.

El papel filtro con el residuo se transfirió al crisol inicial para ser incinerado en una mufla a 550 °C por 2 horas. Finalmente, el crisol se colocó en un desecador hasta que alcance la temperatura ambiente y se pesó. El procedimiento se realizó para las tres muestras de ajíes y cada una por triplicado.

$$\text{Cenizas insolubles en ácido (\%)} = \frac{M_2 - M}{M_1 - M} \times 100 \quad (2.4)$$

Donde:

M = peso del crisol tarada

M₁ = peso del crisol con muestra

M₂ = peso del crisol con cenizas

2.4. EXTRACCIÓN DE CAPSAICINA

2.4.1. EXTRACCIÓN POR MÉTODO SOXHLET

a. *Materiales y Reactivos*

- Etanol absoluto 99.5 %

- Balones de base plana de 250 mL
- Núcleos de ebullición
- Cartuchos de celulosa
- Lana de vidrio
- Brazos extensibles
- Soportes universales
- Desecador con sílica
- Placas de calentamiento

b. Equipos

- Equipo Soxhlet de 250 mL
- Rotavapor marca Büchi®
- Balanza analítica Mettler Toledo® modelo AB204 con precisión de 0.1 mg

c. Método

Se pesó de 15 g de ají seco y molido en un cartucho de celulosa, se colocó en la cámara de extracción del equipo Soxhlet y se extrajo el principio activo con 150 mL de etanol absoluto en un balón, previamente pesado con núcleos de ebullición. Se llevó a reflujo en el equipo Soxhlet a 78 °C por 5 horas. Concluido el tiempo de extracción, el disolvente se evaporó por destilación al vacío en rotavapor a 78 °C. Este procedimiento se repitió para las tres muestras de ajíes y cada una por triplicado.

$$\text{capsaicinoides (\%)} = \frac{(100\%)(\text{peso de extracto})}{\text{peso de muestra}} \quad (2.5)$$

2.4.2. EXTRACCIÓN POR MACERACIÓN [30]

a. Materiales y Reactivos

- Etanol absoluto 99.5 %
- Matraces Erlenmeyer de 500 mL
- Agitadores magnéticos
- Papel film
- Cucharas metálicas
- Desecador con silica
- Placas de calentamiento con agitador

b. Equipos

- Rotavapor marca Büchi®
- Balanza analítica Mettler Toledo® modelo AB204 con precisión de 0.1mg

c. Procedimiento

Se pesaron 15 g de ají seco y molido en un matraz Erlenmeyer, se trató con 150 mL de etanol absoluto a temperatura ambiente. La mezcla se mantuvo en agitación constante durante 12 horas. Una vez transcurrido el tiempo de agitación, se filtró y se evaporó el extracto etanólico por destilación al vacío en rotavapor a 78 °C. Este procedimiento se realizó para las tres muestras de ajíes y se repitió por triplicado para cada una.

$$\text{capsaicinoides (\%)} = \frac{(100\%)(\text{peso de extracto})}{\text{peso de muestra}} \quad (2.5)$$

2.5. ENSAYOS PARA IDENTIFICACIÓN DE ALCALOIDES [31]

Los ensayos de identificación se basan en la capacidad que tiene los alcaloides en formar sales en medios ácidos y combinarse con yodo y metales pesados como bismuto, mercurio, tungsteno para formar precipitados o reacciones de coloración. Las reacciones de precipitación se basan en un intercambio entre el anión voluminoso del reactivo y el anión pequeños de la sal de alcaloide.

La reacción de Dragendorff, solución de tetrayodo bismuto de potasio, con el alcaloide, produce la sal de alcaloide, que es un precipitado coloreado. El bismuto presenta una geometría octaédrica y una carga formal de -2 en su esfera de coordinación (anión voluminoso) para interactuar electrostáticamente con dos moléculas de capsaicina protonadas formando un precipitado color anaranjado.

La reacción de Mayer, mercurio tetrayoduro de potasio, presenta como metal de coordinación al mercurio (Hg^{2+}), el cual forma una coordinación tetraédrica con una carga formal en su esfera de -2, interactuando de manera similar con el reactivo anterior y forma un precipitado blanco amarillento.

En la reacción de Wagner, yodo-yoduro de potasio, se forma un complejo de triyoduro (I^{-3}) debido a que el yodo (I_2) se comporta como un ácido de Lewis frente al yoduro (I^{-1}), así, el

anión triyoduro atrae electrostáticamente al alcaloide protonado formando una suspensión marrón.

a. Materiales y Reactivos

- Reactivo de Dragendorff
- Reactivo de Mayer
- Reactivo de Wagner
- Ácido clorhídrico concentrado
- Cloruro de sodio grado p.a.
- Tubos de ensayo de 13 mm
- Vasos de precipitación de 100 mL
- Cuchara metálica
- Pipetas Pasteur de 1 mL
- Papel filtro
- Placa de calentamiento

b. Procedimiento

- *Ensayo de Dragendorff*

El reactivo se preparó mezclando 8 g de nitrato de bismuto pentahidratado en 20 mL de ácido nítrico al 30 % con una solución de 27.2 g de yoduro de potasio en 50 mL de agua. Se dejó reposar por 24 horas, se decantó y aforó a 100 mL.

Se tomó 5 mL de extracto alcohólico y se evaporó a baño maría. El residuo se redisolvió en 1 mL de ácido clorhídrico concentrado (calentando suavemente y se dejó enfriar hasta

acidez). Una vez acidificada la solución, se adicionó 3 gotas del reactivo de Dragendorff hasta observar la presencia del precipitado marrón.

- *Ensayo de Mayer*

Para la preparación de este reactivo se pesó 1.3 g de cloruro mercuríco y se disolvió en 60 mL de agua, luego se adicionó 5 g de yoduro de potasio y aforó a 100 mL.

Se tomó 5 mL del extracto alcohólico y se evaporó a baño maría. El residuo se trató de la misma manera que el ensayo anterior. A la solución acidificada, se adicionó una pizca de cloruro de sodio, se agitó y filtró. Al filtrado se le adicionó 2 o 3 gotas de la solución reactiva de Mayer hasta observar la formación del precipitado blanco.

- *Ensayo de Wagner*

Este reactivo se preparó pesando 1.27 g de yodo, 2 g de yoduro de potasio que se disuelven en 20 mL de agua.

Se partió de la solución ácida, de igual forma que las anteriores. A la solución se adicionó 2 o 3 gotas del reactivo de Wagner y se observa la formación de un precipitado blanco.

2.6. PURIFICACIÓN DE CAPSAICINA

a. Materiales y Reactivos

- Acetato de etilo grado p.a.

- Alúmina activada
- Lana de vidrio
- Columna cromatográfica de 9 mm de diámetro interno x 250 mm de altura con llave de paso.
- Vaso de precipitación de 100 mL
- Pipetas Pasteur

b. Procedimiento

- *Preparación de la columna cromatográfica*

Se preparó una suspensión de alúmina en acetato de etilo (3 g de alúmina activada en 25 mL de acetato de etilo) y se adicionó a la columna en cuya base se ha situado un poco de lana de vidrio. Se drenó la columna hasta 0.5 cm por encima de la superficie de la alúmina.

- *Técnica*

El extracto preparado se transfirió a la columna, se lavó con 50 mL de acetato de etilo en tres porciones (15, 15 y 30 mL), los cuales fueron recogidos en un vaso de precipitación de 100 mL.

2.7. IDENTIFICACIÓN DE CAPSAICINA POR ESPECTROFOTOMETRÍA DE INFRARROJO CON TRANSFORMADAS DE FOURIER (FTIR)

La capsaicina obtenida se redisolvió en acetato de etilo y se analizó directamente en el FTIR Perkin Elmer modelo BTXII. Se colocó 1 o 2 gotas de la capsaicina sobre el porta

muestra. El espectro de la muestra se corre bajo condiciones analíticas de resolución de 4 cm^{-1} , rango de 4400 y 520 cm^{-1} e intervalo de 2 cm^{-1} hasta obtener un espectro con bandas finas e intensas.

Finalmente, se confirmará la identidad de la capsaicina mediante un espectro obtenido de la literatura.

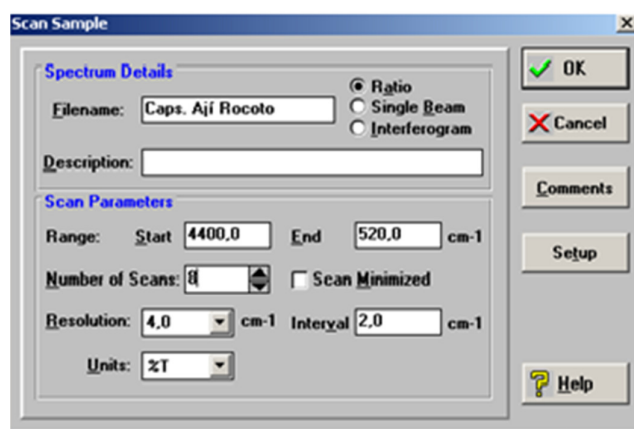


Figura 2.1. Condiciones de corrida de los espectros de Capsaicina en el FTIR

CAPÍTULO III

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. EVALUACIÓN FISICOQUÍMICA

3.1.1. DETERMINACIÓN DE HUMEDAD

La Figura 3.1. revela el porcentaje de humedad de las tres variedades de ajíes. El ají rocoto (*Capsicum pubescens* R&P) presenta la mayor porcentaje de humedad con un 83,95 debido a su estructura voluminosa. El ají ratón (*Capsicum chinense* Jacq.) presenta el menor porcentaje de humedad con 69,85 %. Sin embargo, las tres especies presentan un valor concordante de humedad experimental con la humedad teórica como se menciona en la Tabla de Composición de Alimentos Ecuatorianos reproducido por la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad de Guayaquil.

Tabla 3. 1. Porcentaje de humedad presente en las tres variedades de ajíes

Nombre común	Humedad (%)	Humedad teórico [32] (%)
Ají dulce o largo colorado	80.15	89.6
Ají ratón	69.85	76.2
Ají rocoto	83.95	91.0

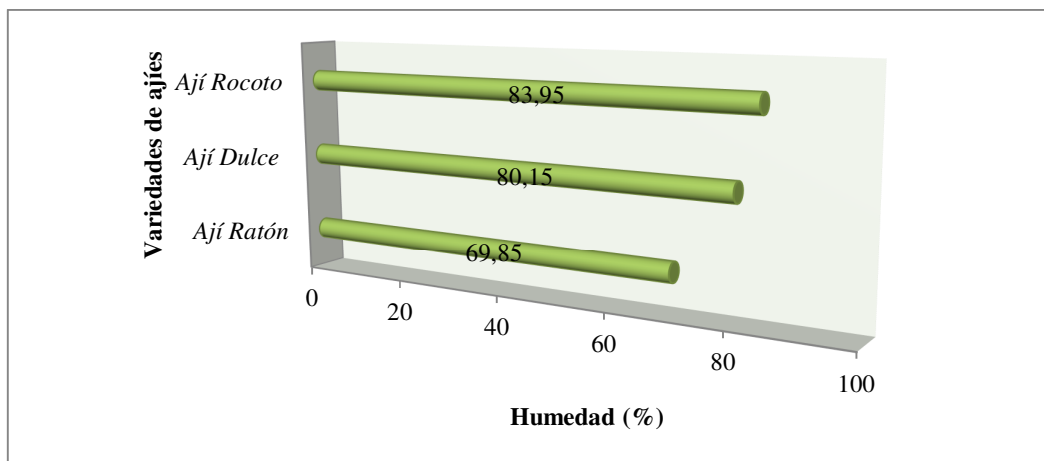


Figura 3.1. Porcentaje de humedad presente en las tres variedades de ajíes

3.1.2. DETERMINACIÓN DE CENIZAS TOTALES, CENIZAS SOLUBLES EN AGUA, CENIZAS INSOLUBLES EN ÁCIDO

La Tabla 3.2 muestra los resultados obtenidos de cenizas totales para las tres variedades de ajíes, los cuales se encuentran entre 1.85 y 6.03 %, valores que se encuentran bajo el límite permitido en la Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 2532:2010, lo que indica que el cultivo está libre de contaminantes.

En relación a las cenizas solubles en agua fue de entre 0.98 y 4.33 %, lo que confirma la ausencia de contaminantes en las muestras.

En cuanto a las cenizas insolubles en ácido se pudo determinar porcentajes entre 0.35 % y 1.26 %, siendo el límite máximo el 1 %. En consecuencia, el ají dulce o largo colorado (*Capsicum annuum L.*) excede el límite permisible de este tipo de cenizas, lo que sugiere que este fruto tiene productos térreos.

Tabla 3. 2 Resultados de la determinación de cenizas totales, cenizas solubles en agua, cenizas insolubles en ácido

Nombre común	Cenizas Totales (%)	Cenizas Solubles en agua (%)	Cenizas Insolubles en HCl (%)
Ají dulce o largo colorado	5.70	4.18	1.26
Ají ratón	1.85	0.98	0.36
Ají rocoto	6.03	4.33	1.00

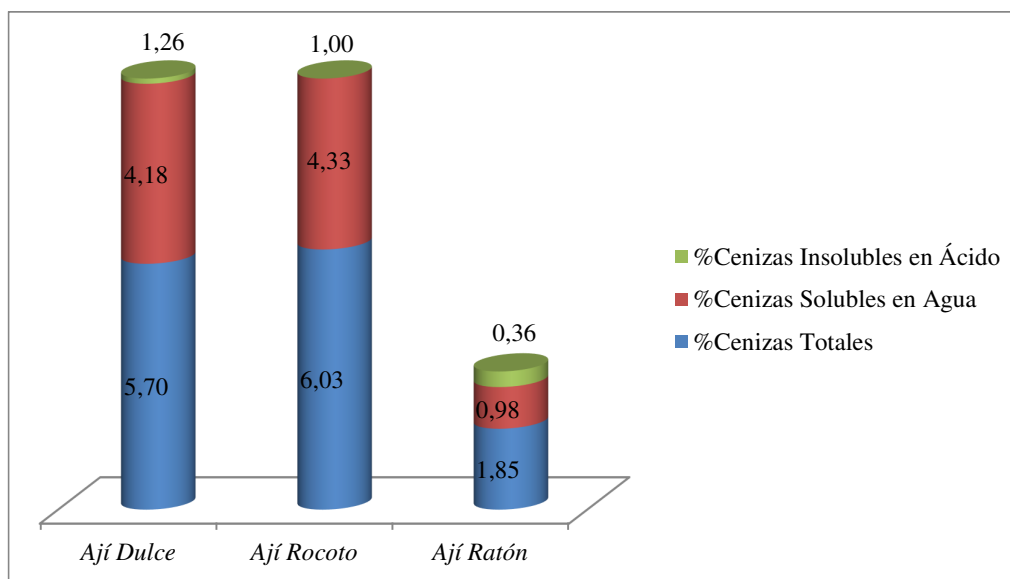


Figura 3. 2. Porcentaje de cenizas totales, cenizas solubles en agua y cenizas insolubles en ácido presente en las tres variedades de ajíes

3.2. EXTRACCIÓN DE CAPSAICINOIDES

Al comparar los resultados presentados en la Figura 3.3. obtenidos de la extracción de los capsaicinoides por el método Soxhlet y el método de maceración indica que el método Soxhlet permite la obtención de un mayor porcentaje de capsaicinoides. Sin embargo,

López, *et al.* (2011) en su artículo “*Extracción y cuantificación espectrofotométrica de capsaicina a partir de chile habanero*” muestra que se obtiene un 12.86 % de capsaicinoides por el método de lixiviación con etanol que los que se obtienen empleando la técnica Soxhlet.

Además, Rodríguez, *et al.* en su artículo “*Obtención de oleorresinas a partir de 3 especies de capsicum sp. cultivadas en Colombia (Capsicum annum, Capsicum frutescens, Capsicum chinense)*” revela que el método de lixiviación con etanol resulta adecuado para la obtención de olerresinas ya que su estudio proporcionó valores promedio de 9.84 % de oleorresinas para el *Capsicum annum* y 12.29 % para el *Capsicum chinense* con dicha técnica.

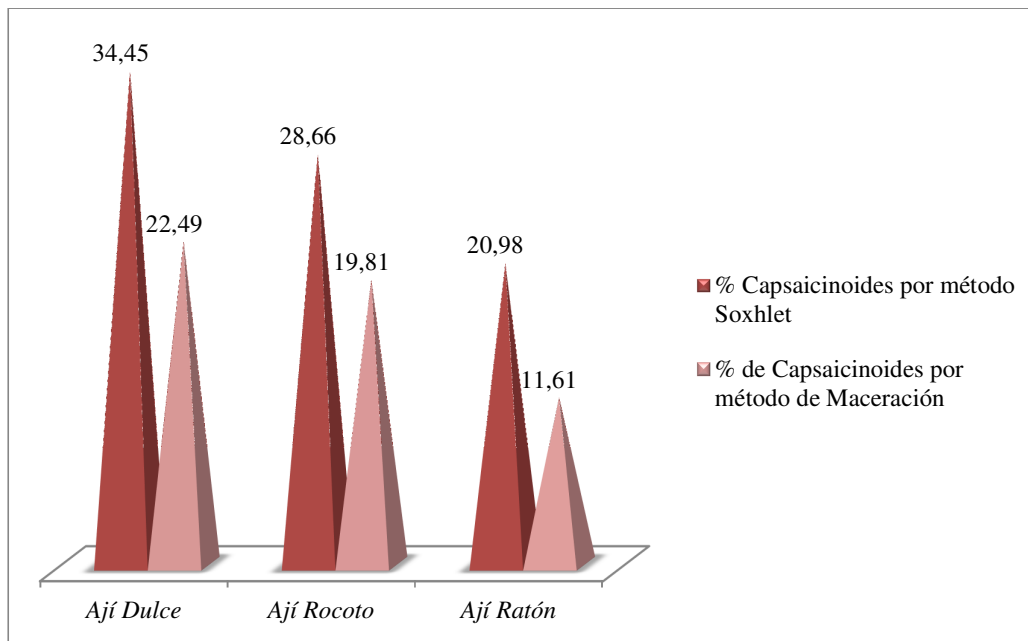


Figura 3. 3. Comparación en el porcentaje de capsaicinoides obtenidos por el método Soxhlet y el método de maceración

En la extracción Soxhlet, el aumentar la temperatura incrementa la velocidad de extracción ya que a mayor temperatura aumenta la solubilidad de los sólidos en un líquido. El método Soxhlet proporciona mayor porcentaje de extracción en las tres variedades de ají en relación al método de maceración ya que en éste solo se realizó a temperatura ambiente.

Por otra parte, la temperatura de extracción está limitada a la temperatura de ebullición del solvente, del punto de degradación del producto y solubilidad de impurezas, por lo tanto, se consideró trabajar a 78°C para garantizar la mínima descomposición térmica de los capsaicinoides.

También se puede observar que en los dos métodos de extracción, el ají dulce o largo colorado (*Capsicum annuum L.*) presenta el mayor porcentaje de extracción de 34.45 % en el método Soxhlet y 22.49 % en el método de maceración.

Además, se distingue que los porcentajes de extracción de capsaicinoides del ají rocoto (*Capsicum pubescens R&P*) fue de 28.66 % en el método Soxhlet y 19.81 % en el método de maceración. Estos valores son relativamente altos en comparación con los obtenidos en el ají ratón (*Capsicum chinense Jacq.*) que fueron de 20.98 % en el método Soxhlet y de 11.61 % en el método de maceración.

Una de las posibles causas de variación en los niveles de capsaicinoides en las tres variedades de ajíes es la especie ya que la cantidad de capsaicinoides pueden variar de una especie a otra, además, las condiciones de cultivo, tipo de suelo, madurez del fruto y el clima, son factores que alteran las condiciones bioquímicas de las células de los ajíes.

Tabla 3. 3. Resultados de la extracción de capsaicinoides por el método Soxhlet y por Maceración

Nombre común	Método Soxhlet			Método de Maceración		
	Nº	Capsaicinoides (%)	Promedio Capsaicinoides (%)	Nº	Capsaicinoides (%)	Promedio Capsaicinoides (%)
Ají dulce	1	34.98	32.45	1	21.80	22.49
	2	33.41		2	22.49	
	3	34.97		3	23.17	
Ají ratón	1	21.70	20.98	1	12.71	11.61
	2	21.90		2	11.58	
	3	19.33		3	10.55	
Ají rocoto	1	30.13	28.66	1	20.21	19.81
	2	26.14		2	21.21	
	3	29.71		3	18.01	

3.3. PROPIEDADES FÍSICAS DE LOS EXTRACTOS DE CAPSAICINOIDES

La Tabla 3.3 expone las propiedades organolépticas del extracto de las tres variedades de ajíes, la misma que indica que el estado de agregación de los extractos es líquido oleoso debido a que en su composición se encuentra una serie de aceites volátiles, lípidos y ceras; el sabor se debe a los capsaicinoides, que dan el sabor pungente

Tabla 3. 4. Propiedades organolépticas de los extractos de las tres variedades de ajíes

Propiedades	Ají dulce o largo colorado	Ají ratón	Ají rocoto
Estado de agregación	Líquido oleoso	Líquido oleoso	Líquido oleoso
Color	Rojo	Verde oscuro	Rojo intenso
Olor	Típico a pimiento	Típico a pimiento	Típico a pimiento
Sabor	Pungente	Pungente	Pungente

3.4. IDENTIFICACIÓN DE ALCALOIDES

La Tabla 3.5. presenta los resultados de las pruebas específicas para alcaloides. De acuerdo a las tres pruebas ensayadas con los reactivos de Dragendorff, Wagner y Mayer, los cuales determinan la presencia de alcaloides, se evidenció que en las tres especies: ají dulce o largo colorado (*Capsicum annuum L.*), ají ratón (*Capsicum chinense Jacq.*) y ají rocoto (*Capsicum pubescens R&P*) se obtuvieron resultados positivos lo que demuestra la presencia del principio activo capsaicina.

Tabla 3.3. Resultados de pruebas específicas para alcaloides en los extractos de capsaicinoides obtenidos por dos métodos de extracción

Método de extracción	Nombre común	Reactivo de Dragendorff	Reactivo de Wagner	Reactivo de Mayer
Soxhlet	Ají dulce o largo colorado	++	++	++
	Ají ratón	++	++	++
	Ají rocoto	++	++	++
Maceración	Ají dulce o largo colorado	++	++	++
	Ají ratón	++	++	++
	Ají rocoto	++	++	++

3.5. IDENTIFICACIÓN DE CAPSAICINA

Según Celis A. (2005) en su estudio “*Obtención de capsaicina a partir de semilla de chile jalapeño e ingeniería de procesos de extracción*” demostró que la especie *Capsicum* presentan una gran solubilidad en solventes orgánicos en especial en alcohol etílico, contrario a lo que sucede con el agua ya que presenta una escasa solubilidad concordando

con los datos obtenidos experimentalmente. De la misma forma, el punto de fusión corresponde al citado en dicho artículo, que fue de 65°C.

Tabla 3.4. Propiedades físicas de Capsaicina

		Ají rocoto	Ají ratón	Ají largo colorado
Estado de agregación		Oleoresina	Oleoresina	Oleoresina
Punto de fusión		65°C	65°C	65°C
Solubilidad	Agua	Insoluble	Insoluble	Insoluble
	Ácido clorhídrico	Soluble	Soluble	Soluble
	Alcohol etílico	Muy soluble	Muy soluble	Muy soluble
	Éter etílico	Soluble	Soluble	Soluble
	Hexano	Soluble	Soluble	Soluble

3.5.1. ANÁLISIS ESPECTROSCÓPICO

La Figura 3.4. presenta el espectro infrarrojo de un estándar de capsaicina obtenido de Sigam-Aldrich, el cual se comparó con los espectros infrarrojos obtenidos en esta investigación (ver Anexos del 1 al 4).

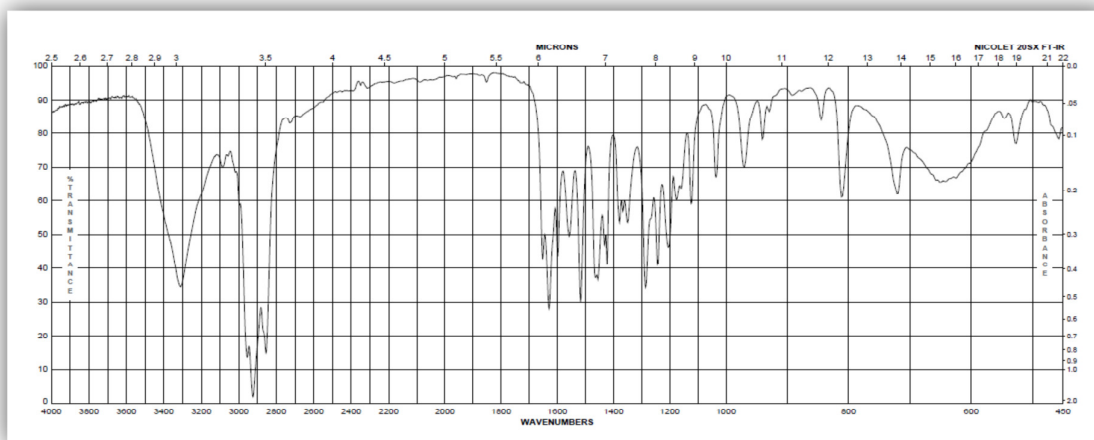


Figura 3.4. Espectro Infrarrojo del estándar de Capsaicina obtenido de Sigma-Aldrich

La Figura 3.5. expone el espectro infrarrojo de la variedad ají rocoto (*Capsicum pubescens* R&P.) en el cual se distingue el pico ubicado en 3363.89 cm^{-1} que corresponde a vibraciones de tensión de N-H en amidas. El pico ubicado aproximadamente en 3008 cm^{-1} corresponde vibraciones de tensión C-H en compuestos aromáticos. En 2855.80 cm^{-1} pertenece vibraciones de tensión C-H en alquenos. El pico que se encuentra en 1726.22 cm^{-1} corresponde a vibraciones C=O del grupo amida.

Como la capsaicina es una amida secundaria da lugar a la vibración N-H en 1654.42 cm^{-1} dicha señal se la denomina amida II. En 1515.94 cm^{-1} se produce la vibración por tensión de C=C en compuestos aromáticos. Finalmente, en el espectro se puede distinguir bandas en 966.82 cm^{-1} que corresponden a sustituyentes en el anillo bencénico, pues la capsaicina posee el grupo metoxilo como sustituyente.

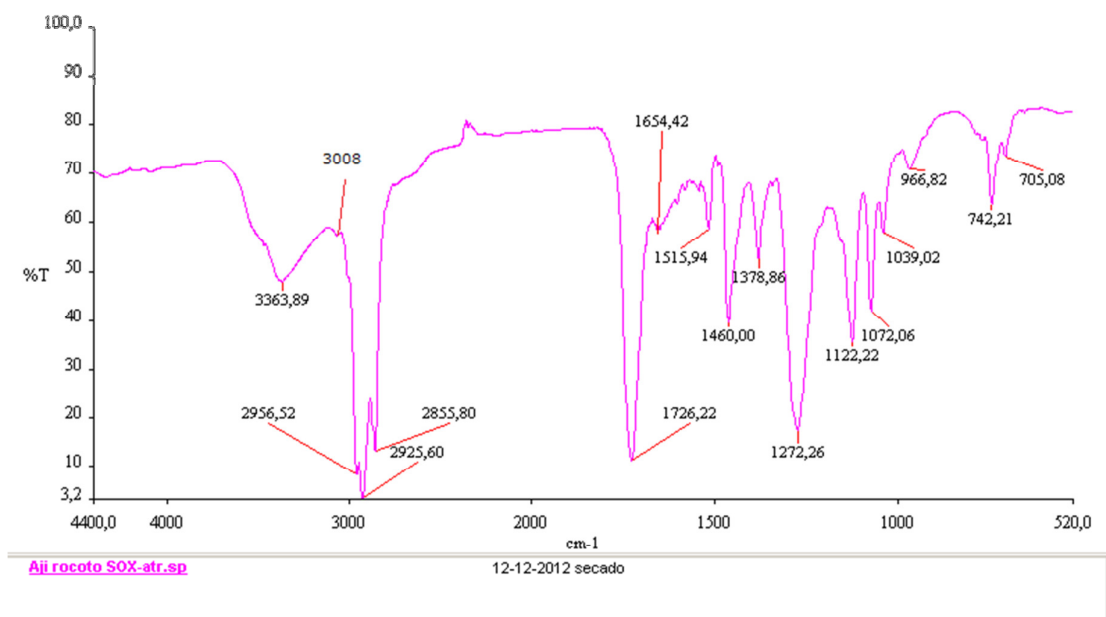
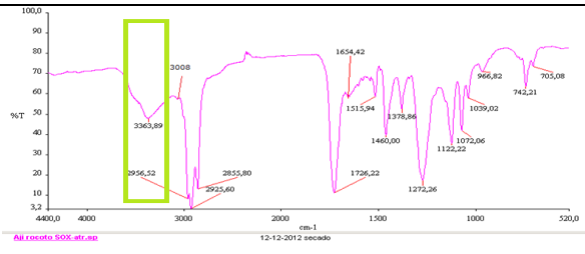
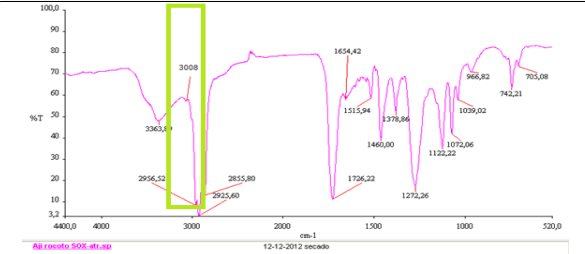
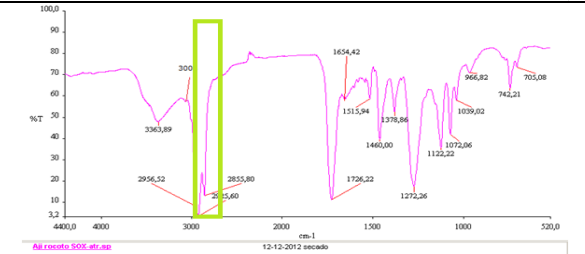
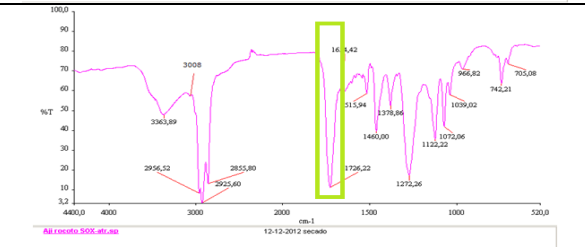
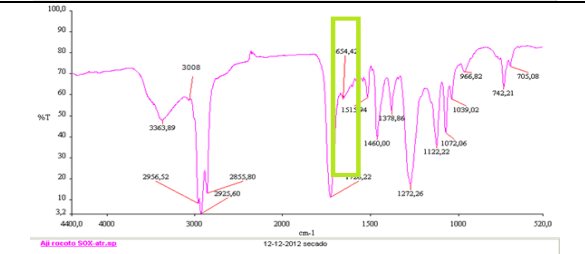
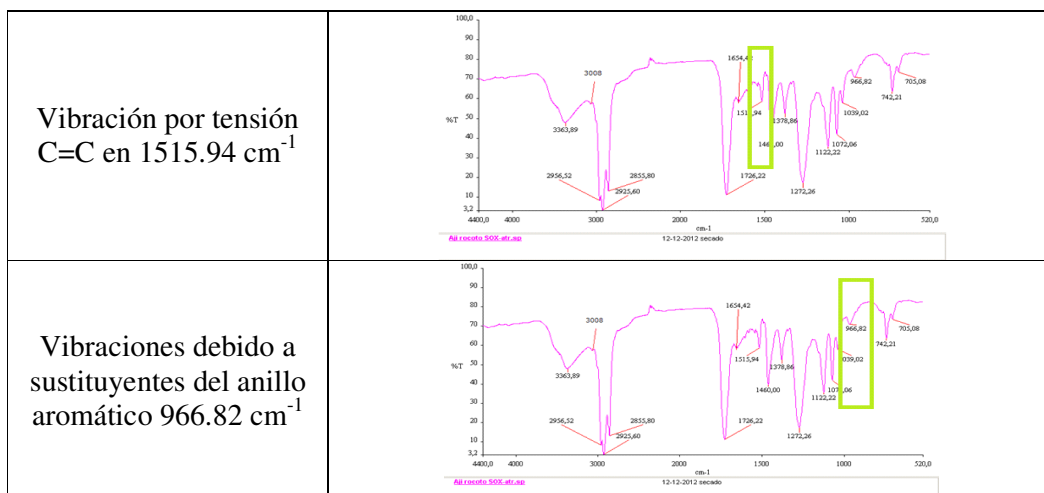


Figura 3. 5. Espectro Infrarrojo de Capsaicina del ají rocoto (*Capsicum pubescens* R&P) obtenido por el método Soxhlet.

Los picos obtenidos en el espectro se encuentran resumidos en la siguiente tabla:

Tabla 3. 5. Análisis espectroscópico de Capsaicina

Frecuencias obtenidas en el espectro	Ubicación del grupo funcional en el espectro
Vibración por tensión N-H 3363.89 cm^{-1}	
Vibración por tensión C-H en aromáticos 3008 cm^{-1}	
Vibración por tensión C-H en alquenos 2855.80 cm^{-1}	
Vibración del C=O del grupo amida 1726.22 cm^{-1}	
Vibración por flexión C=O de amidas (Amida II) 1654.42 cm^{-1}	



La Figura 3.6. presenta el espectro infrarrojo de la variedad ají ratón (*Capsicum chinense Jacq.*) obtenido por maceración, en el cual se distinguen picos característicos de la molécula de capsaicina, y cuya ubicación no difiere en mucho de los que ya se describió en el espectro de la variedad ají rocoto (*Capsicum pubescens R&P*) obtenido por extracción Soxhlet, lo que sugiere que se trata de la misma molécula.

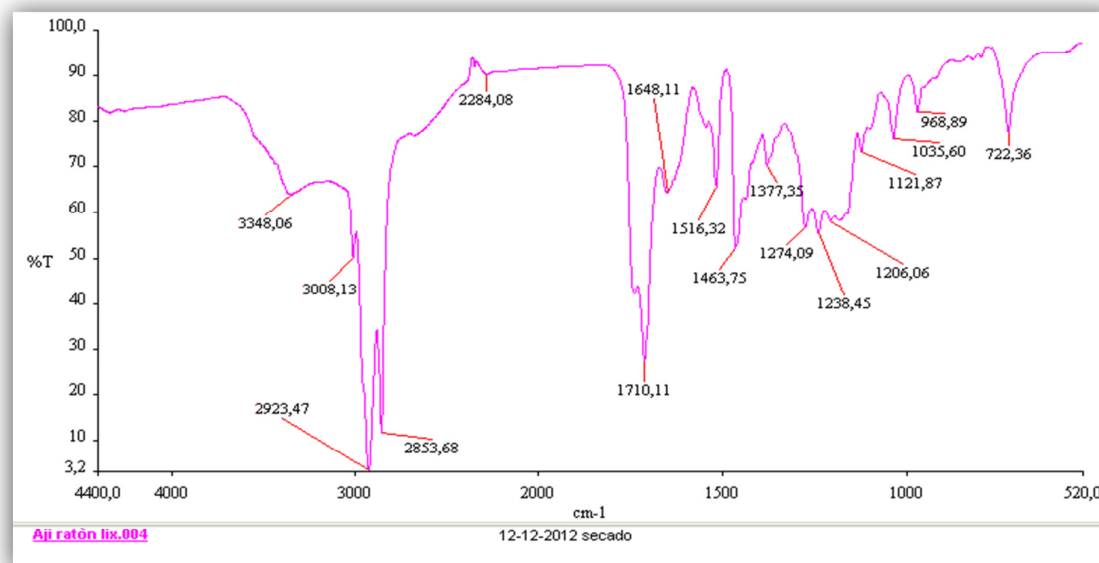


Figura 3.6. Espectro Infrarrojo de Capsaicina de ají ratón o ña de pava (*Capsicum chinense Jacq.*) extraído por maceración

CAPÍTULO IV

4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

CONCLUSIONES

- El análisis de humedad para las especies *Capsicum annuum L.* (ají largo colorado), *Capsicum chinense Jacq.* (ají ratón o uña de pava) y *Capsicum pubescens R&P* (ají rocoto) demostraron que poseen altos niveles de agua en su composición entre 69.85 y 83.95 % siendo el ají rocoto la especie con mayor porcentaje de agua.
- Los datos obtenidos de cenizas totales fue entre 1.85 y 5.70 %, valores que se encuentran dentro del rango y sugiere que no es preocupante la presencia de contaminantes lo que se corrobora con los reportes de cenizas solubles en agua y cenizas insolubles en ácido.
- En cuanto a las técnicas de extracción ensayadas se pudo establecer que el método Soxhlet permite obtener mayor porcentaje de rendimiento de capsaicinoides en relación al método de maceración.
- Se determinó que el ají dulce o largo colorado (*Capsicum annuum L.*) fue la variedad que posee mayor porcentaje de capsaicinoides extraídos mediante las dos técnicas de ensayadas. Así, en el método Soxhlet se obtuvo un porcentaje de 34.45

y el método de maceración un 22.49. El ají rocoto (*Capsicum pubescens R&P*) presentó 28.66 % de capsaicinoides en el primer método y 19.81 % en el segundo método; y con un menor porcentaje en relación a las dos especies mencionadas anteriormente, el ají ratón o uña de pava (*Capsicum chinense Jacq.*) con un porcentaje de 20.98 en el método Soxhlet y de 11.61 % en el de maceración.

- Los ensayos de identificación de alcaloides confirma la presencia de los mismos en las tres variedades de ajíes, por lo tanto la capsaicina es un alcaloide.
- La técnica de espectrofotometría de infrarrojos con transformadas de Fourier permitie confirmar la presencia de capsaicina en los extractos de las tres variedades de ajíes, en la que se fijó las bandas de los grupos funcionales presentes en la molécula y se comparó con un espectro de la literatura.

RECOMENDACIONES

- Se recomienda realizar nueva análisis con el objetivo de determinar cuantitativamente la cantidad de capsaicina presente en los extractos de las mismas variedades de ajíes para ampliar esta investigación.
- Sería de vital importancia hacer una nueva investigación acerca de los componentes bioactivos que forman parte de la composición del ají como son los compuestos fenólicos, flavonoides, carotenos y tocoferoles que confieren propiedades benéficas como antioxidantes que ayudan a combatir enfermedades crónicas degenerativas, mejoran el sistema inmune entre otros beneficios.
- Se sugiere continuar este trabajo investigativo para crear un prototipo basado en capsaicina para aprovechar sus propiedades como analgésico y antiinflamatorio. Además, realizar el respectivo análisis de efectividad del producto con el fin de conocer su viabilidad.

BIBLIOGRAFÍA

[1] Molina, D. (2009). *Contenido de compuestos fitoquímicos y su relación con la capacidad antioxidante de extractos de pimientos (Capsicum annuum L.) cultivados en el noroeste de México*. Tesis de Maestría en Biociencias, Universidad de Sonora, México.

[2] Caterina M., Shumacher M., Tominaga M., Rosen T., Levine J., Julius D., (1997). The capsaicin receptor: a heat-activated ion channel in the pain pathway, *Nature*, Vol. 389, pp 816-819.

[3] Vacas, O. (2008). Hortalizas y condimentos andinos, una delicia al paladar, *Nuestra Ciencia*, N° 10, pp 40-42.

[4] León J. (2000). *Botánica de los cultivos tropicales*, 3^{era} Edición, IICA, Costa Rica, http://books.google.com.ec/books?id=NBtu79LJ4h4C&pg=PA1&dq=botanica+de+cultivo+s+tropicales+200&hl=es&sa=X&ei=x0cPT6L3LlB4gAfEoan_Aw&ved=0CDQQ6AEwA_A#v=onepage&q=aji&f=false, 12 de enero de 2012.

[5] Rodríguez . (S/F). “Obtención de oleorresinas a partir de tres especies de capsicum sp. cultivadas en Colombia (*Capsicum annuum*, *Capsicum frutescens*, *Capsicum chinense*), Universidad Jorge Tadeo Lozano, Bogotá, Colombia.

[6] Vela, E. (2012). El Chile: Breve Taxonomía, <http://www.arqueomex.com/S9N5n2Esp32.html>, 20 de diciembre de 2012.

[7] Pardey, C. (2008). *Caracterización y evaluación de accesiones de Capsicum del banco de germoplasma de la Universidad Nacional de Colombia sede Palmira y determinación del modo de herencia de la resistencia de potyvirus (PepDMV)*. Tesis doctoral publicada, Universidad Nacional de Colombia, Palmira, Colombia.

[8] Celis, A. (2005). *Obtención de capsaicina a partir de semilla de chile jalapeño e ingeniería de procesos de extracción*. Tesis de maestría publicada, Universidad de las Américas, Puebla, México.

[9] Red Nacional de Jardines Botánicos. (2008). *Capsicum Annuum L.*, <http://www.siac.net.co/sib/catalogoespecies/especie.do?idBuscar=1448&method=displayA> AT, 13 de octubre de 2012.

[10] Red Nacional de Jardines Botánicos. (2008). *Capsicum Chinense jacq.*, <http://www.siac.net.co/sib/catalogoespecies/especie.do?idBuscar=1448&method=displayA> AT, 13 de octubre de 2012.

[11] Red Nacional de Jardines Botánicos. (2008). *Capsicum Pubescens*, <http://www.siac.net.co/sib/catalogoespecies/especie.do?idBuscar=1448&method=displayA> AT, 13 de octubre de 2012.

[12] Nuez, F. (2003). *El cultivo de pimientos, chiles y ajíes*, 1^{era} Edición, Ediciones Mundi-Prensa, España, <http://books.google.com.ec/books?id=O8fiJoRfPnQC&pg=PA55&lpg=PA55&dq=cultivo+de+aji+chile+pimientos&source=bl&ots=faCwkv5iNu&sig=lt0gy->

WDAfBr2ZuSvKIIimgWWGE8&hl=es&sa=X&ei=uO0RUMmfJKW16AH5uYGIDQ&ved=0CEQQ6AEwAA#v=onepage&q=cultivo%20de%20aji%20chile%20pimientos&f=false, 20 de junio de 2012.

[13] Cano, T. (2002). “Obtención y caracterización de capsaicina, ingrediente activo de productos fitofarmacéuticos y agroindustriales de tres especies de capiscum (*Capsicum chinense*, *Capsicum annum* L.V. *Capsicum annuum*) Cultivados en Guatemala, Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala.

[14] Perucka, I. (2000). “Extraction and determination of Capsaicinoids in fruit of hot pepper *Capsicum annum* L. by spectrometry and high-performance liquid chromatography”, *Food Chemistry*, Vol. 71, 287-291.

[15] Harrison, K. (2001). Red “Why are they so hot?” *Chilli Peppers*. <http://www.3dchem.com/molecules.asp?ID=105>, 25 de mayo de 2011.

[16] Sigma-Aldrich. (2013). Capsaicin, <http://www.sigmaaldrich.com/spectra/ftir/FTIR005797.PDF>, 17 de marzo de 2013.

[17] Fernández, G. (2007). *Extracción, análisis, estabilidad y síntesis de capsaicinoides*. Tesis doctoral publicada, Universidad de Cádiz, Cádiz, España.

[18] Dehdari, P. (S/F). Capsaicin-What makes chillies so hot?, Ensymm, http://www.ensymm.com/pdf/ensymm_capsaicin_extraction_abstract.pdf, 24 de Julio de 2011.

[19] Ruskin, R. (1989). *Lost Crops of the Incas*, National Academy Press, Washington D.C., pp 195-201.

[20] López, G. (2003). Chilli, La especia del Nuevo Mundo, *Revista Ciencias*, Vol. 69, pp 66-75.

[21] Peralta, G. (2007). *Determinación del nivel de pungencia en unidades Scoville para Capsicum annuum var. aviculare procedente de regiones productoras de Guatemala*. Tesis publicada, Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala.

[22] Reyes, M. (2011). Chemical and Pharmacological Aspects of Capsaicin, *Molecules*, Vol. 16, pp 1253-1270.

[23] Vergara, D. (2005). *Estudio experimental del efecto inmunomodulador del extracto hidroalcohólico de capsicum annuum sobre artritis inducida en ratas*, Universidad Peruana Cayetano Heredia, Lima.

[24] Peruano, G. (2011). *Capsaicina: Un tema picante*.

<http://agendaquimica.blogspot.com/2011/03/capsaicina-un-tema-picante.html>, 23 de octubre de 2012.

[25] Lamarque, A. (2008)- *Fundamentos Teórico-Prácticos de Química Orgánica*, 1^{era} Edición, Encuentro Grupo Editorial, Córdoba, Argentina, <http://books.google.com.ec/books?id=dehU11JRKy8C&pg=PA51&lpg=PA51&dq=fundamento+de+la+extraccion+soxhlet&source=bl&ots=cQi5L->

pxFw&sig=KOKlmuIObSCuuZMKAF_v2agOxn8&hl=es&sa=X&ei=3mr8T_i6FuSV6w
HXnrn4Bg&ved=0CEkQ6AEwAw#v=onepage&q=fundamento%20de%20la%20extraccio
n%20soxhlet&f=false, 13 de julio de 2012.

[26] Laboratorio de Nanotecnología de la Universidad Autónoma Metropolitana, México
D.F.

[27] Relatividad restringida, <http://www.fisicafundamental.net/memoria/restringida.html>,
30 de octubre de 2012.

[28] Rubinson, K. (2001). *Análisis Instrumental*, Pearson Education S.A., Madrid, España,
pp 455.

[29] Sierra, I. (2010). *Análisis Instrumental: Algunas herramientas de enseñanza-
aprendizaje adaptadas al Espacio Europeo de Educación Superior*, Netbiblo, La Coruña,
España, pp 75-77.

[30] López, E. (2011). *Extracción y cuantificación espectrofotométrica de capsaicina a
partir de chile habanero*, Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, México.

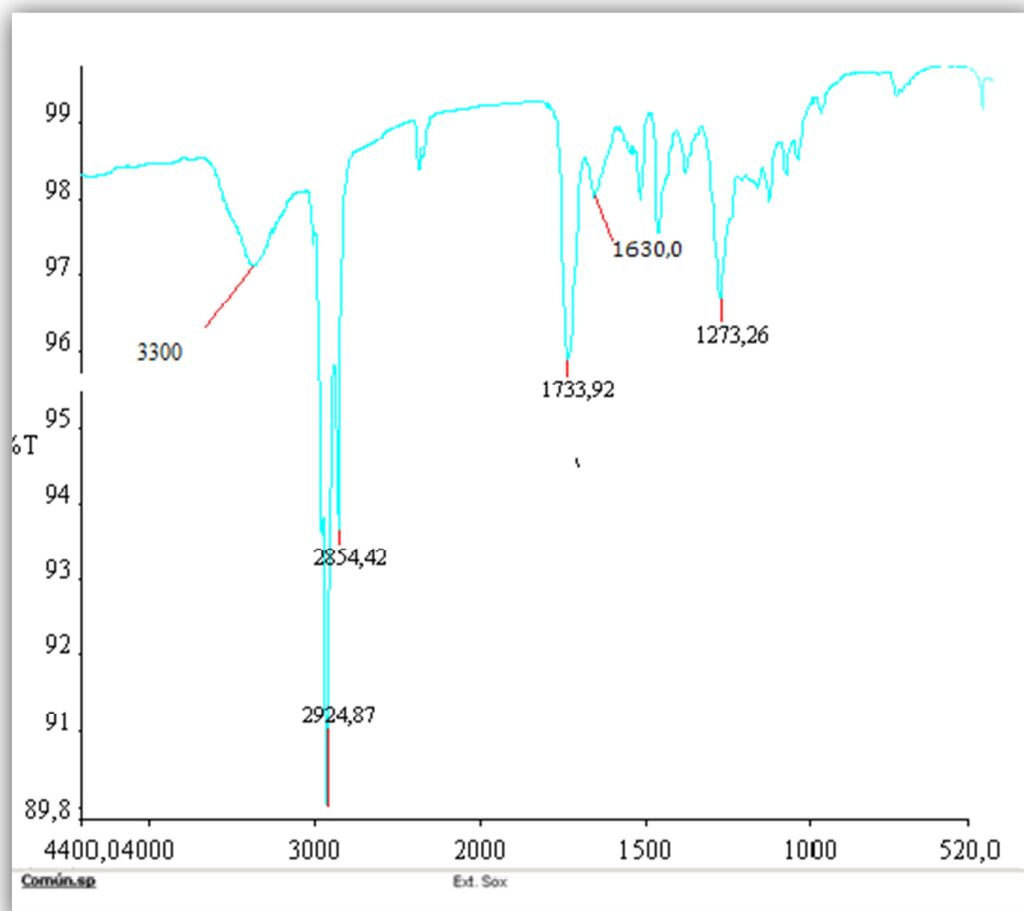
[31] Marcano, D. (2002). *Fitoquímica Orgánica*, Editorial Torino, Venezuela,
[http://books.google.com.ec/books?id=hPkjgPwXD-
QC&printsec=frontcover&hl=es&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=f](http://books.google.com.ec/books?id=hPkjgPwXD-
QC&printsec=frontcover&hl=es&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=f)
alse, 29 de octubre de 2012.

[32] Ministerio de Previsión Social y Sanidad, (1965). *Tabla de Composición de Alimentos Ecuatorianos*. Quito, Ecuador, <http://es.scribd.com/doc/22515896/Tabla-de-Composicion-de-Alimentos>, 22 de abril de 2013

ANEXOS

ANEXO 1

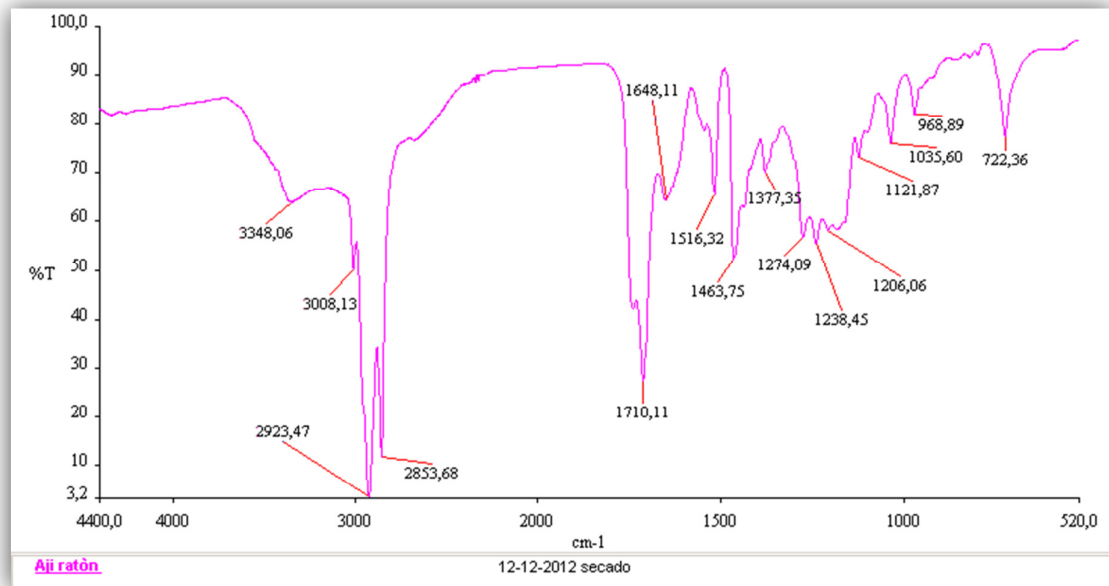
ESPECTRO INFRARROJO DE CAPSAICINA DE AJÍ DULCE O LARGO COLORADO (*Capsicum annuum L.*) EXTRAÍDO POR MÉTODO SOXHLET



ANEXO 2

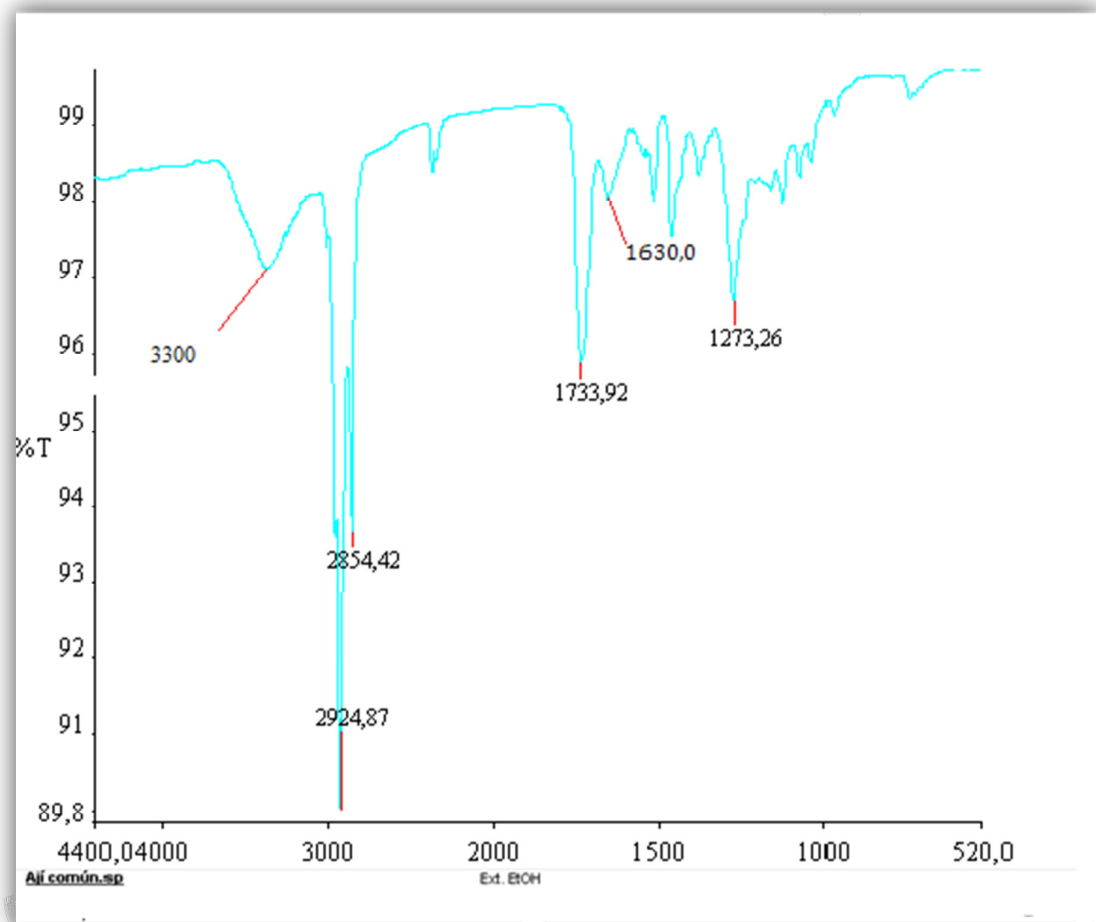
ESPECTRO INFRARROJO DE CAPSAICINA DE AJÍ RATÓN O UÑA DE PAVA

(*Capsicum chinense Jacq.*) EXTRAÍDO POR MÉTODO SOXHLET



ANEXO 3

ESPECTRO INFRARROJO DE CAPSAICINA DE AJÍ DULCE O LARGO COLORADO (*Capsicum annuum L.*) EXTRAÍDO POR MACERACIÓN



ANEXO 4

ESPECTRO INFRARROJO DE CAPSAICINA DE AJÍ ROCOTO (*Capsicum pubescens* R&P) EXTRAÍDO POR MACERACIÓN

