

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA

Evaluación de la actividad bactericida y bacteriostática de una crema de uso tópico elaborada a partir del extracto obtenido de tres especies de plantas del género *Capsicum*: chile guaque (*Capsicum annum* var. *Longum* Sendt); chile siete caldos (*Capsicum pubescens*) y chile chiltepe (*Capsicum annum* var. *glabriusculum*) en muestras *in vitro*.

María Gabriela Tuch Yanes

Química Farmacéutica

Guatemala, Julio de 2015

JUNTA DIRECTIVA

Dr. Rubén Dariel Velásquez Miranda	Decano
Licda. Elsa Julieta Salazar Meléndez de Ariza, M.A.	Secretaria
MSc. Miriam Carolina Guzmán Quilo	Vocal I
Dr. Sergio Alejandro Melgar Valladares	Vocal II
Br. Michael Javier Mó Leal	Vocal IV
Br. Blanqui Eunice Flores De León	Vocal V

DEDICATORIA

Acto que dedico

A Dios, por darme la oportunidad de tener una maravillosa e interesante vida, por ser mi guía y mi pilar, porque todo lo que he logrado es gracias a él.

A mis Padres,

Mi papá, que vivirá siempre en mi corazón, por ser un ángel que cuida de mí siempre. Por hacerme una mejor persona cada día e inculcarme valores y principios que rigen mi vida.

Mi mamá, mi sol, por el amor incondicional que me brinda, por su lucha constante y nunca dejarse vencer por muy fuertes que fuesen los obstáculos, por ser ejemplo de una mujer luchadora, fuerte y amorosa.

Mis hermanos, Marco y Lucía, por ser tan especiales conmigo, apoyarme y aguantarme a lo largo de mi vida mis locuras.

A mis amigas, en especial a Ana Carolina González Rizzo, papa, por apoyarme en cada locura que se me ocurre.

AGRADECIMIENTOS

A Dios, por todas las bendiciones recibidas a lo largo de la carrera, por poner en el momento correcto a cada una de las personas que me apoyaron y brindaron su ayuda.

A mis padres, por apoyarme en todo momento, y brindarme las herramientas para poder alcanzar esta meta.

A la Universidad de San Carlos de Guatemala, por la oportunidad de estudiar en esta casa de estudios.

Al Dr. Cesar Azurdia, por compartirme su valioso conocimiento sobre las especies de Capsicum.

A la Lic. Carolina Villatoro por brindarme su ayuda para la realización de la primera parte experimental del trabajo de Tesis.

Al Departamento de Investigación de la Universidad del Valle de Guatemala, en especial a la Lic. Ana Luisa Mendizabal por su ayuda en cromatografía para realizar los análisis necesarios.

A la Unidad de Análisis Instrumental.

Al Departamento de Microbiología de la Universidad de San Carlos de Guatemala, en especial al Lic. Martín Gil, por su ayuda para establecer los métodos de análisis utilizados.

Al Licenciado Marvin Rivera, por su valiosa ayuda.

Al Departamento de Farmacia Industrial. Al Lic. Julio Chinchilla, por su apoyo, ayuda y paciencia a lo largo del Desarrollo de la tesis.

1. RESUMEN

En la investigación se determinó la capacidad bactericida y bacteriostática de los extractos de tres especies de chiles; chile guaque (*C. annuum* var. *longum* Sendt), chile siete caldos (*Capsicum pubescens*) y chile chiltepe (*Capsicum annuum* var. *glabriusculum*) utilizando método in vitro empleando *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Escherichia coli*, que se utilizan en las valoraciones de desinfectantes y antisépticos.

Se elaboraron extractos de los frutos de los chiles referidos a razón de un gramo por cada dos mililitros de solución, utilizando una mezcla de etanol-agua (45:65) y se determinó la concentración de capsaicina por cromatografía Líquida de Alta Resolución. Así mismo, se realizó control de calidad microbiológico a los extractos para comprobar la inocuidad de los mismos.

A partir de la concentración de capsaicina presente en cada extracto de las especies de chile, se establecieron concentraciones con las cuales se evaluó la capacidad bacteriostática y bactericida utilizándose para ello el método de dilución en caldo. Seguido se utilizó el método Kirby Bauer para los extractos que mostraron actividad bactericida o bien bacteriostática como confirmación de los datos.

Para el método de dilución en caldo, se inoculó en tubos de ensayo una cantidad conocida de bacterias en caldo nutritivo (tripticasa soya), seguido de esto se agregó a cada tubo una cantidad de extracto de chile de concentración conocida y se incubó por 24 horas. La actividad antimicrobiana se determinó de manera visual, siendo positiva para los tubos que no presentaron turbidez.

Obtenidos los inóculos que no presentaron turbidez con el método de dilución en caldo, éstos se sembraron en cajas de Petri con agar nutritivo (tripticasa soya). Los extractos que no presentaron crecimiento bacteriano en las cajas de Petri se clasificaron como bactericidas. Los extractos que presentaron crecimiento bajo de colonias bacterianas se clasificaron como bacteriostáticos.

Utilizando los extractos que mostraron actividad bactericida y bacteriostática, se realizaron pruebas utilizando el método de Kirby Bauer, en el cual se impregnaron taxos con los extractos que tuvieron actividad antimicrobiana y se determinó el halo de inhibición.

Muestran actividad bactericida sobre *E. coli*, los extractos obtenidos a partir del chile guaque 80 ppm de capsaicina, chile siete caldos con 40 ppm de capsaicina. Para *Staphylococcus aureus* muestran actividad bactericida el extracto de chile guaque con 60 ppm de capsaicina, chile chiltepe con 40 ppm de capsaicina.

Las pruebas in vitro, tanto el método de Dilución en Caldo y el método de Kirby Bauer, se realizaron por quintuplicado, atribuyéndosele actividad bactericida o bacteriostática a los extractos de chile si la totalidad de los resultados fueron positivos. Los extractos que mostraron actividad bactericida y bacteriostática se utilizaron para elaborar una crema de uso tópico la cual se evaluó utilizando el método de Kirby Bauer para establecer la capacidad antimicrobiana de la forma farmacéutica elaborada. La crema elaborada fue sometida a control de calidad microbiológico para comprobar la inocuidad y evitar sesgos en la investigación.

2. INTRODUCCIÓN

Uno de los lugares más comunes en los que se desarrollan infecciones son las heridas causadas por pequeños traumatismos o raspones, es por ello importante que se aplique un antimicrobiano local para reducir la carga bacteriana y evitar complicaciones. Saavedra (2011) menciona que bacterias tales como *Streptococcus*, *Staphylococcus* y *Enterobacterias* se alojan en heridas cutanéas.

Guatemala posee una gran diversidad de vegetación, dicha característica se puede aprovechar en la búsqueda de nuevos agentes antimicrobianos ya que se ha determinado actividad antibiótica de diversos compuestos presentes en las plantas. Goldman (2009) en su libro *Cecil, Tratado de Medicina Interna*, menciona que la capsaicina, presente en especies del género *Capsicum*, posee capacidad analgésica y antiinflamatoria.

Debido a los diversos usos que una planta puede poseer, es necesario evaluar las posibles aplicaciones medicinales de especies del género *Capsicum* que se cultivan en el país para poder realizar productos de origen natural para diferentes usos farmacológicos. En un estudio reciente realizado por Amruthraj (2013), se evaluó la capacidad como antimicrobiano de las especies del género *Capsicum*, obteniéndose resultados positivos para bacterias gram positivas y gram negativas.

Tortora, G. et al. (2007) *Introducción a la microbiología*, mencionan que existen bacterias que se utilizan para la evaluación antimicrobiana in vitro de desinfectantes y antisépticos entre las cuales se pueden mencionar *Streptococcus*, *Staphylococcus* y *Enterobacterias*.

Se estudió la capacidad bactericida y bacteriostática sobre las bacterias presentes en las heridas mencionadas anteriormente, utilizando extractos de tres tipos de chile; chile guaque (*C. annum* var. *longum* Sendt), chile siete caldos (*Capsicum pubescens*) y chile chiltepe (*Capsicum annum* var. *glabriusculum*) para establecer si alguna de estas especies posee dichos efectos, tomando en cuenta que según la escala Scoville presentada por Feiertag (2013) en un artículo titulado *Capsicum annum, variedad de chile*, dichos chiles poseen diferente concentración de capsaicina.

La evaluación antimicrobiana se realizó utilizando pruebas in vitro, inicialmente por el método de dilución en caldo para establecer si los extractos son bactericidas y bacteriostáticos, para finalizar, aplicar el método de Kirby Bauer, para encontrar los halos de inhibición en los cuales cada extracto posee actividad bactericida y bacteriostática.

Con la concentración de cada extracto a la cual posee actividad antimicrobiana se formuló una crema de uso tópico para probar la actividad bactericida y bacteriostática con el método Kirby Bauer.

La investigación es cuantitativa, con enfoque exploratorio ya que no existen suficientes estudios que sustenten la capacidad antimicrobiana del género *Capsicum*, y el análisis se realizó de forma descriptiva ya que se estableció el halo de inhibición por el método de Kirby Bauer.

3. ANTECEDENTES

- 3.1. Estudio realizado por Amruthraj, N. (2013) en el Departamento de Biología y Biotecnología, en Loyola College, India, se obtuvo la extracción polar aprótica de capsaicinoides a partir del *Capsicum* pimienta fantasma para probar su actividad antimicrobiana. Encontrándose que los extractos realizados con acetonitrilo y acetona son eficaces contra bacterias gram positivas y gram negativas excepto para *E. coli* y *Erwinia sp.*
- 3.2. Llenque, L., Otiano R. y Otiano L., (2013) realizaron estudio sobre La Supervivencia de *Staphylococcus aureus* en crema huancaína preparada con diferentes concentraciones de *Capsicum annuum var. Longum* “ají escabeche”; en el Departamento de Microbiología y Parasitología, Universidad Nacional de Trujillo, Trujillo- Perú; en donde se concluyó que *Capsicum annuum var. longum* “ají escabeche” utilizado en la crema huancaína tuvo un efecto inhibitor sobre la supervivencia de *Staphylococcus aureus* en condiciones de refrigeración (4°C).
- 3.3. Estudio realizado por Nascimento, P., et al. (2013) en la Universidad Federal Rural de Pernambuco, Brasil. Se determinó que el extracto etanolico del chile malagueta mostró actividad antimicrobiana sobre bacterias gram positivas, gram negativas y hongos.
- 3.4. Estudio realizado por S. Moreno, S. Salcedo, M. Cárdenas, J. Hernández y M. Núñez (2012), en la Facultad de Ciencia Biológicas de la universidad UANL, se evaluó el efecto antifúngico de capsaicina y extractos de Chile Piquín (*Capsicum annum L. Var. Aviculare*) sobre el crecimiento in vitro de *Aspergillus flavus*. Se determinó que la inhibición del crecimiento de *A. flavus* con capsaicina y extractos de chile, es estadísticamente igual a la inhibición presentada con el fungicida comercial Captan; la técnica de dilución del extracto en agar permite una mayor difusión de los componentes en el medio.
- 3.5. Shayan, S., Saeidi, S. (2012) realizaron en la Universidad Islamica Azad, un estudio sobre la actividad antibacterial del extracto de *Capsicum annuum L*, sobre el crecimiento de cepas patógenas comunes, siendo efectivo el extracto como antibacterial a concentraciones desde 5mg/ml sobre *Pseudomona aeruginosa* y *Escherichia coli*.
- 3.6. Estudio realizado por S. Moran, Heber Aguilar, Tarsicio Corona, Fernando Castillo, Marcos Soto y Rubén Chávez (2008) en México, determinaron los capsaicinoides de chiles nativos de Puebla, México. Se concluyó que existe una amplia variación en el contenido de capsaicina y dihidrocapsaicina en los chiles nativos evaluados. Destacaron los tipos Copi con un contenido de capsaicina de 36.86 a 556.78 ug/g-1, de dihidrocapsaicina de 30.54 a 348.26 ug g-1, y con una variación de menor amplitud en el tipo Miahuateco con 21.54 a 158.07 ug g-1 y 19.54 a 99.24 ug g-1 para cada capsaicinoide.

4. JUSTIFICACIÓN

Guatemala es un país agrícola, que posee una gran diversidad de cultivos, entre los cuales se puede mencionar los del género *Capsicum*, cuyo principal metabolito es la capsaicina. Es importante encontrar nuevos usos de la capsaicina especialmente para la industria farmacéutica, ya que según menciona De la Cruz (2011), el estudio de dicho género se ha incrementado debido a los diversos usos industriales y terapéuticos que se le han atribuido.

Considerando lo mencionado anteriormente y tomando en cuenta la tendencia al uso de la medicina alternativa, especialmente derivada de plantas medicinales, en el presente estudio se evaluó la actividad bactericida y bacteriostática del extracto de tres especies de chiles cultivados en el país, chile guaque (*C. annuum* var. *longum* Sendt), chile siete caldos (*Capsicum pubescens*) y chile chiltepe (*Capsicum annuum* var. *glabriusculum*) con el fin de encontrar un producto alternativo de origen natural que se pueda utilizar en heridas cutáneas causadas por pequeños traumatismos (raspones).

Para la evaluación bactericida y bacteriostática se utilizó, el extracto del chile completo tomando en cuenta la cantidad de capsaicina presente en cada especie como base para obtener soluciones de diferente concentración de los compuestos presentes en los chiles a estudiar, en el estudio se analizará la actividad del extracto completo, ya que De la Cruz (2011) en su Tesis titulada *Evaluación del porcentaje de Rendimiento y Caracterización Físicoquímica de la Oleorresina de chile blanco (Capsicum annuum A.) provenientes de tres estratos altitudinales utilizando como solvente de extracción soluciones de alcohol etílico-agua, a escala laboratorio* menciona que aunque la capsaicina se presenta en diferente porcentaje en dichas especies no es el único compuesto presente.

Como la concentración de capsaicina y demás compuestos que están presentes en las diversas especies de chiles no es la misma, fue necesario evaluar cuál o cuáles son las especies que presentan mejor actividad bactericida o bacteriostática.

Debido a los escasos estudios realizados sobre la actividad antimicrobiana del extracto de chile, es necesario llevar a cabo dichas evaluaciones empleando métodos in vitro, haciendo uso del extracto obtenido de cada chile por separado para comprobar su efecto utilizando para ello bacterias que Saavedra (2011), en su libro *Infecciones bacterianas de la piel y tejidos blandos*, menciona son las que usualmente se encuentran en las heridas cutáneas siendo éstas; *Staphylococcus aureus*, *Pseudomona aeruginosa* y *Escherichia coli* y que además se utilizan en la evaluación de desinfectantes y antisépticos.

La finalidad de este trabajo fue formular una crema de uso tópico que tenga capacidad antimicrobiana a partir de la evaluación de la capacidad bactericida y bacteriostática de los extractos de tres chiles con diferentes concentraciones tomando como base la cantidad de capsaicina presente, para encontrar un producto de origen natural que se pueda aplicar en la piel para reducir la carga bacteriana en heridas cutáneas.

5. OBJETIVOS

5.1. GENERAL

Evaluar la actividad antimicrobiana in vitro de una crema de uso tópico elaborada a partir del extracto obtenido de chile guaque (*C. annum var. longum* Sendt), chile siete caldos (*Capsicum pubescens*) y chile chiltepe (*Capsicum annum var. glabriusculum*) sobre *Staphylococcus aureus*, *Pseudomona aeruginosa* y *Escherichia coli*.

5.2. ESPECIFICOS

- 5.2.1. Determinar la concentración de capsaicina presente en cada extracto obtenido a partir del chile guaque (*C. annum var. longum* Sendt), chile siete caldos (*Capsicum pubescens*) y chile chiltepe (*Capsicum annum var. glabriusculum*).
- 5.2.2. Comprobar la inocuidad necesaria para cumplir con las especificaciones de control de calidad de cada extracto de chile obtenido a partir del chile guaque (*C. annum var. longum* Sendt), chile siete caldos (*Capsicum pubescens*) y chile chiltepe (*Capsicum annum var. glabriusculum*).
- 5.2.3. Establecer la capacidad bactericida sobre *Staphylococcus aureus*, *Pseudomona aeruginosa* y *Escherichia coli*, de los extractos de chiles obtenidos a partir del chile guaque (*C. annum var. longum* Sendt), chile siete caldos (*Capsicum pubescens*) y chile chiltepe (*Capsicum annum var. glabriusculum*), utilizando método in vitro.
- 5.2.4. Discriminar la concentración del extracto de chile obtenido a partir del chile guaque (*C. annum var. longum* Sendt), chile siete caldos (*Capsicum pubescens*) y chile chiltepe (*Capsicum annum var. glabriusculum*), que presente mejor actividad bactericida sobre *Staphylococcus aureus*, *Pseudomona aeruginosa* y *Escherichia coli*.
- 5.2.5. Distinguir la concentración del extracto de chile obtenido a partir del chile guaque (*C. annum var. longum* Sendt), chile siete caldos (*Capsicum pubescens*) y chile chiltepe (*Capsicum annum var. glabriusculum*), que presente mejor actividad bacteriostática sobre *Staphylococcus aureus*, *Pseudomona aeruginosa* y *Escherichia coli*.
- 5.2.6. Elaborar una crema a partir de los extractos de los chiles que presenten la mejor capacidad antimicrobiana sobre *Staphylococcus aureus*, *Pseudomona aeruginosa* y *Escherichia coli*.
- 5.2.7. Realizar el control de calidad microbiológico de la crema elaborada a partir de los extractos del chile.
- 5.2.8. Evaluar la capacidad antimicrobiana de la crema realizada a partir de los extractos de los chiles que presentaron la mayor efectividad como bactericida y bacteriostática utilizando métodos in vitro.

6. HIPÓTESIS

La crema de uso tópico elaborada con los extractos obtenidos de chile guaque (*C. annuum* var. *longum* Sendt), chile siete caldos (*Capsicum pubescens*) y chile chiltepe (*Capsicum annuum* var. *glabriusculum*) tiene efecto bactericida o bacteriostático sobre *Staphylococcus aureus*, *Pseudomona aeruginosa* y *Escherichia coli*, al emplear métodos in vitro.

7. MATERIALES Y MÉTODOS

7.1. UNIVERSO

Tres variedades de chiles cultivados en Guatemala; chile guaque (*C. annum var. longum* Sendt), chile siete caldos (*Capsicum pubescens*) y chile chiltepe (*Capsicum annum var. annum*).

7.2. MUESTRA

Extractos de chile guaque (*C. annum var. longum* Sendt), chile siete caldos (*Capsicum pubescens*) y chile chiltepe (*Capsicum annum var. annum*).

7.3. RECURSOS

7.3.1. MATERIALES

7.3.1.1. REACTIVOS

- Estándar de capsaicina
- Etanol al 45%
- Acetonitrilo grado HPLC
- Etanol grado HPLC
- Metanol grado HPLC
- Agua grado HPLC
- Agar tripticasa soya (Obtenido de LAMYR).
- Agar Müller- Hinton (Obtendio de LAMYR).
- Bacterias
 - *Staphylococcus aureus*, (Procedente de laboratorio microbiología de la carrera de Química biológica).
 - *Pseudomona aeruginosa*, (Procedente de laboratorio microbiología de la carrera de Química biológica).
 - *Escherichia coli*, (Procedente de laboratorio microbiología de la carrera de Química biológica).
- Discos para antibiogramas

7.3.1.2. CRISTALERÍA

- 3 Recipiente de vidrio de 2 litros para maceración
- 20 Beakers 250 ml
- 6 Beakers 1 litro
- 10 Erlen Meyers
- 180 Tubos de ensayo

- 100 Cajas de Petri
- 20 balones aforados de 25 ml
- 10 pipetas volumétricas de 1 ml.
- 15 beaker de 10 ml
- 15 micropipetas de vidrio
- Bulbo para micropipeta
- Pipeteador

7.3.1.3. EQUIPO

- Horno de convección
- Batidora sumergible
- Equipo de maceración
- Cromatografo líquido de alta resolución (HPLC)
- Horno para incubar inóculos de bacterias
- Agitador eléctrico
- Homogenizador
- Asas para inóculo
- Filtros de 0.45 μm de nylon
- Espátula de acero inoxidable

7.3.1.4. MATERIA PRIMA

- 1 kg Chile guaque
- 1 kg Chile Chiltepe
- 1 kg Chile siete caldos
- 500 g Aceite mineral
- 500g Lanolina
- 300 g Silicona
- 500 g Cetiol
- 250 g Miristato de isopropilo
- 2000 mL Agua
- 180 g Glicerina
- 180 g Propilenglicol
- 60 g sorbato de potasio
- 60 g Metabisulfito de potasio

7.4 MÉTODOS

7.4.1. PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

7.4.1.1. RECOLECCIÓN

Los frutos frescos de las tres especies de chiles a utilizar, chile guaque (*C. annuum* var. *longum* Sendt), chile siete caldos (*Capsicum pubescens*) y chile chiltepe (*Capsicum annuum* var. *glabriusculum*) de maduración intermedia, se adquieren en el mercado municipal del Municipio de San Andrés Itzapa, del Departamento de Chimaltenango.

7.4.1.2. PREPARACIÓN

Se lava con etanol al 95% el fruto sin tallo, para eliminar las impurezas que pudieran haber sido adquiridas durante la cosecha. (Coulson, 2003).

7.4.2. OBTENCIÓN DEL EXTRACTO

7.4.2.1. MOLIENDA

Se disminuye el tamaño de partícula de la materia vegetal hasta un diámetro adecuado para que el solvente tenga un área de superficie alta, utilizando una batidora sumergible empleando etanol al 45% (Skoog, 2001).

7.4.2.2. MACERACIÓN

El extracto se obtiene a partir de maceración, utilizando como solvente etanol. Se coloca la muestra molida en un recipiente al cual se le agrega el etanol al 45% y se deja reposar en un recipiente libre de contaminación y evaporación durante 24 horas. Se agita periódicamente para que el solvente este en contacto con toda la materia vegetal para favorecer la extracción.

Transcurrido el tiempo necesario, se pasa por un lienzo el extracto, se exprime el residuo, y se filtra para obtener el extracto sin residuos de materia vegetal (Fonnegra, 2007).

7.4.3. DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE CAPSAICINA

7.4.3.1. CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA RESOLUCIÓN (HPLC)

Preparación de estándar de capsaicina

Se prepara una solución utilizando el estándar de capsaicina con etanol grado HPLC, aforando en un balón de 25 ml, se identifica la concentración de capsaicina. Para leer las muestras de los extractos de la materia vegetal del chile, según metodología indicada por Skoog (2008), en su libro *Principios de Análisis Instrumental*; a partir de la concentración obtenida se realizan las diluciones pertinentes para obtener una curva de calibración que tiene aproximadamente un r : 0.9996.

7.4.3.2. CUANTIFICACIÓN DE LAS MUESTRAS

A partir del extracto obtenido de los chiles, se toma una alícuota de 1 mL, dichas soluciones se filtran para eliminar las pequeñas partículas en la solución. Seguido se colocan las muestras en el automuestreador.

El instrumento es programado para utilizar como fase estacionaria una columna de acero inoxidable empacada con C18, 3.9 mm ID x 15 cm de longitud. Fase móvil se utiliza acetonitrilo, a un flujo de 1mL/min, longitud de onda de 280 nm a una temperatura de 50°C y con un volumen de inyección de 20 μ L (Karnka, 2002).

7.4.4. CONTROL MICROBIOLÓGICO DE LOS EXTRACTOS

Se determina la ausencia microbiológica en los extractos obtenidos de la materia vegetal en laboratorio externo (LAMIR), los análisis son realizados según el reglamento técnico centroamericano, se debe evaluar los límites microbianos:

- Recuento total de mesófilos aerobios $\leq 10^3$ UFC/g
- Recuento total de mohos y levaduras $\leq 10^2$ UFC/g
- Ausencia de microorganismos patógenos
 - *Staphylococcus aureus*: ausente
 - *Escherichia coli*: ausente
 - *Pseudomas aeruginosa*: ausente

7.4.5. DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD BACTERICIDA Y BACTERIOSTÁTICA DEL EXTRACTO DE CHILE

7.4.5.1. MÉTODO DE DILUCIÓN EN CALDO

Se toman cinco tubos de ensayo que contienen la misma cantidad de caldo nutritivo (tripticosa soya), a cuatro tubos de ensayo se le añade una cantidad de extracto con una concentración conocida (desde 0.020mg/ml), el quinto tubo no se le agrega extracto porque sirve de control. Los tubos de ensayo son inoculados con una suspensión calibrada de la bacteria en estudio.

López (2006) en su libro titulado *Determinación de la actividad antimicrobiana*, indica que los tubos deben ser incubados durante 18 horas a una temperatura de 35°C, pasado dicho tiempo se evalúan los tubos y se establece la concentración del extracto que presenta actividad antimicrobiana. A partir del tubo que posee la concentración mínima inhibitoria se toma una muestra y se inocular en una caja de Petri, que contiene agar tripticosa soya sin extracto, para determinar si el extracto actúa sobre la bacteria como bacteriostático o bactericida.

7.4.5.2. MÉTODO DE KIRBY BAUER

Se toman muestras de cada uno de los extractos realizados previamente utilizando la concentración del extracto que presenta concentración mínima inhibitoria, y se aplican en los discos a utilizar, el disco se coloca en la superficie del agar que es inoculado con los microorganismos en estudio.

Para realizar el inóculo, López (2006) en su libro titulado *Determinación de la actividad antimicrobiana*, indica que la concentración bacteriana debe ser de aproximadamente 10^8 microorganismos por mililitro. Para esto, tocar con un hisopo estéril la superficie de una o varias colonias de cepas bacterianas puras, luego sumergir el hisopo en 2 o 3 ml de caldo nutritivo hasta que la turbidez del medio sea equivalente al estándar 0,5 de Mc Farland cuya turbidez corresponde a la concentración de microorganismos buscada. Luego de esto, sumergir un hisopo estéril y seco en la suspensión bacteriana y eliminar el exceso de líquido haciendo rotar el hisopo contra la pared interna del tubo. Inocular con ésta la superficie de una placa de agar de Mueller-Hinton a temperatura ambiente. Se sugiere estriar la superficie con el mismo hisopo en por lo menos tres direcciones girando la placa en ángulos de 60° luego de cada estría. Una vez seco el inóculo, la placa esta lista para la colocación de los discos con el extracto. Incubar a 35°C, durante 18 horas.

El agar utilizado es Müller-Hinton preparado de acuerdo a indicaciones del fabricante, utilizando placas de Petri sobre una superficie plana y asegurando que la profundidad del agar sea de 4mm. El pH debe ser controlado, para este medio de cultivo el pH debe estar en un rango entre 7.2-7.4 después de solidificarlo para mantener su potencia, no debe haber agua en la tapa de la placa ni en el agar (López, 2006).

Las determinaciones finales se llevan a cabo al finalizar el inóculo, para evitar alteraciones en los halos de los antibióticos. La zona de inhibición es medida y se relaciona inversamente con la concentración mínima inhibitoria (López, 2006).

7.4.6. FORMULACIÓN DE CREMA DE USO TÓPICO REALIZADA A PARTIR DEL EXTRACTO DE CHILE

Se toma de referencia las concentraciones de los extractos que presentan actividad bactericida o bacteriostática para realizar las cremas de uso tópico.

De forma tentativa se propone a continuación una formulación de la crema a preparar, la cual podría sufrir modificaciones dependiendo de la estabilidad de la misma.

La fase oleosa constará de aceite mineral, lanolina, silicona, cetiol, miristato de isopropilo. Dicha fase representará el 25 al 35% de la emulsión.

La fase acuosa estará formada por agua, glicerina, propilénglicol lo que representará entre el 65% y el 75% de la emulsión.

Las cremas de uso tópico formuladas se utilizan para determinar su actividad bactericida o bacteriostática sobre las bacterias utilizadas para analizar el efecto antimicrobiano de los extractos.

Tabla No. 1

Formulación de crema de uso tópico de extracto de chile

MATERIA PRIMA	PORCENTAJE	FUNCIÓN
ACEITE MINERAL	10%	Humectante
LANOLINA	10%	Lubricante
SILICONA	10%	Absorbente (Favorece absorción en la piel).
CETIOL	5%	Emoliente
MIRISTATO DE ISOPROPILO	3 %	Tensioactivo
GLICERINA	20%	Humectante
PROPILÉNGLICOL	15%	Hidratante
AGUA	c.s.p. 100%	Vehículo

7.4.7. CONTROL MICROBIOLÓGICO DE LA CREMA DE USO TÓPICO REALIZADA A PARTIR DEL EXTRACTO DE CHILE

Se determina la ausencia microbiológica en la crema de uso tópico realizada a partir de los extractos obtenidos de la materia vegetal en laboratorio externo (LAMIR), los análisis son realizados según el reglamento técnico centroamericano, se debe evaluar los límites microbianos:

- Recuento total de mesófilos aerobios $\leq 10^3$ UFC/g
- Recuento total de mohos y levaduras $\leq 10^2$ UFC/g
- Ausencia de microorganismos patógenos
 - *Staphylococcus aureus*: ausente
 - *Escherichia coli*: ausente
 - *Pseudomas aeruginosa*: ausente

7.4.8. DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD BACTERICIDA Y BACTERIOSTÁTICA DE LA CREMA DE USO TÓPICO REALIZADA A PARTIR DEL EXTRACTO DE CHILE

Utilizando las cremas de uso tópico, formuladas a partir de los extractos de Chile que muestran actividad bactericida o bacteriostática, se determina si las cremas poseen el mismo efecto sobre las bacterias utilizadas para evaluar los extractos de cada Chile.

La determinación se realiza utilizando el método de Kirby Bauer, para lo cual se toman muestras de cada crema de uso tópico realizadas previamente y se aplican en los discos a utilizar, el disco se coloca en la superficie del agar que es inoculado con los microorganismos en estudio.

Para realizar el inóculo, López (2006) en su libro titulado *Determinación de la actividad antimicrobiana*, indica que la concentración bacteriana debe ser de aproximadamente 10^8 microorganismos por mililitro. Para esto, tocar con un hisopo estéril la superficie de una o varias colonias de cepas bacterianas puras, luego sumergir el hisopo en 2 o 3 ml de caldo nutritivo hasta que la turbidez del medio sea equivalente al estándar 0,5 de McFarland cuya turbidez corresponde a la concentración de microorganismos buscada. Luego de esto, sumergir un hisopo estéril y seco en la suspensión bacteriana y eliminar el exceso de líquido haciendo rotar el hisopo contra la pared interna del tubo. Inocular con ésta la superficie de una placa de agar de Mueller-Hinton a temperatura ambiente. Se sugiere estriar la superficie con el mismo hisopo en por lo menos tres direcciones girando la placa en ángulos de 60° luego de cada estría. Una vez seco el inóculo, la placa está lista para la colocación de los discos con el extracto. Incubar a 35°C , durante 18 horas.

El agar utilizado es Mueller-Hinton preparado de acuerdo a indicaciones del fabricante, utilizando placas de Petri sobre una superficie plana y asegurando que la profundidad del agar sea de 4mm. El pH debe ser controlado, para este medio de cultivo el pH debe estar en un rango entre 7.2-7.4 después de solidificarlo para mantener su potencia, no debe haber agua en la tapa de la placa ni en el agar (López, 2006).

Las determinaciones finales se llevan a cabo al terminar el inóculo, para evitar alteraciones en los halos de los antibióticos. La zona de inhibición es medida y se relaciona inversamente con la concentración mínima inhibitoria (López, 2006).

Los resultados obtenidos se comparan con los resultados obtenidos a partir de los extractos de los Chiles, para determinar si el extracto de Chile presenta la misma actividad de manera aislada como en una formulación.

8. DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN

Esta investigación es del tipo cuantitativo con alcance inicial exploratorio y finaliza siendo del tipo de descriptivo, pues se determina el diámetro de los halos de inhibición dependiendo de la concentración y el tipo de chile que se utilice.

Se trabaja con tres (3) tipos de chiles diferentes y se realiza un extracto de cada uno de los chiles; los cuales se prueban in vitro con tres (3) tipos de bacterias, en las cuales se determina si tienen alguna actividad bacteriostática o bactericida, para finalmente elaborar una crema a partir de los resultados la cual se prueba nuevamente in vitro con el mismo tipo de bacterias.

8.1 DISEÑO ESTADÍSTICO

El diseño estadístico es del tipo de bloques al azar en el cual se utilizan tres (3) tratamientos de extractos de los chiles los cuales se prueban en tres (3) unidades experimentales in vitro de las bacterias. Cada prueba in vitro se realiza por quintuplicado por cada tratamiento experimental y su nivel de significancia es de 5% ($\alpha = 0.05$).

La prueba de hipótesis que se realiza está basada en un diseño estadístico binomial donde la ausencia del efecto será H_0 con $p=0.5$ y la presencia del mismo será H_a con un $p > 0.5$. Para rechazar la hipótesis nula (H_0) se requiere que los cinco (5) resultados tengan efecto, o sea que todos los resultados sean positivos (con efecto).

Los extractos se diluyen en concentraciones iniciales en 50% por vez hasta determinar la concentración mínima de inhibición (CIM). Cada dilución se realiza por quintuplicado (5 veces). Con la concentración mínima inhibitoria se realiza pruebas con el método Kirby Bauer, para determinar halos de inhibición bactericidas y bacteriostáticos de cada extracto de chile. Cada prueba se realiza por quintuplicado (5 veces).

Utilizando los resultados obtenidos in vitro de los tres chiles se formula una crema en base a pruebas de ensayo – error. Posteriormente se comprueba el efecto in vitro de dicha crema realizando cinco (5) lotes piloto a los cuales se le mide el efecto bactericida in vitro utilizando las mismas tres cepas bacterianas de las pruebas iniciales de los extractos.

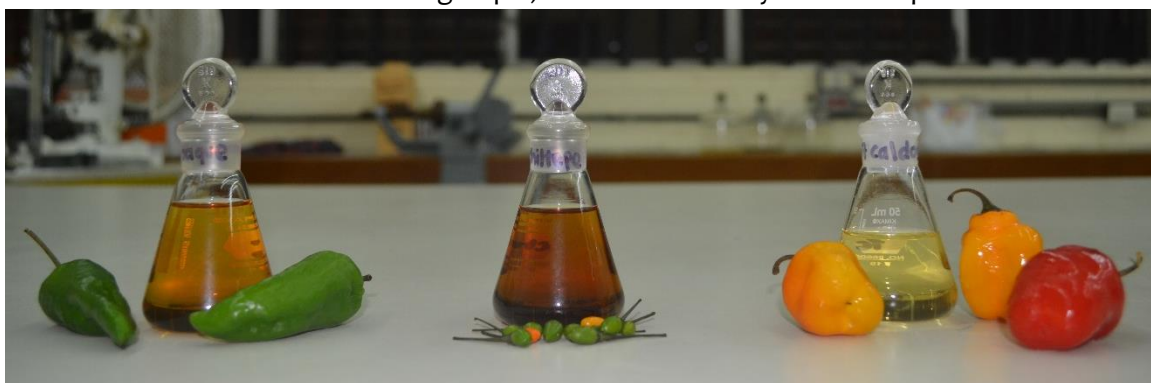
9. RESULTADOS

9.1. CUANTIFICACIÓN DE CAPSICINA

Para obtener los extractos de las tres especies de chiles; chile guaque (*C. annuum* var. *longum* Sendt), chile siete caldos (*Capsicum pubescens*) y chile chiltepe (*Capsicum annuum* var. *annuum*) se llevó a cabo una maceración utilizando una solución de etanol al 45%, a razón de 2ml de solución por cada gramo de material vegetal.

IMAGEN No. 1

Extracto de chile guaque, chile siete caldos y chile chiltepe



Fuente: Fase experimental.

Utilizando cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC), se determinó la concentración de capsaicina presente en los extractos de cada especie de chile, realizando para ello una curva de calibración para obtener las concentraciones exactas de capsaicina.

TABLA No. 1

Curva de calibración del estándar de capsaicina

ESTÁNDAR	CONCENTRACIÓN DE CAPSAICINA (ppm)	Área
1	41.6	763.13977
2	104	2111.32471
3	208	5230.20947
4	416	1.13289e ⁴
Coefficiente de correlación		0.9978
		y = mx (m:26.44349)

Fuente: Fase Experimental, UVG.

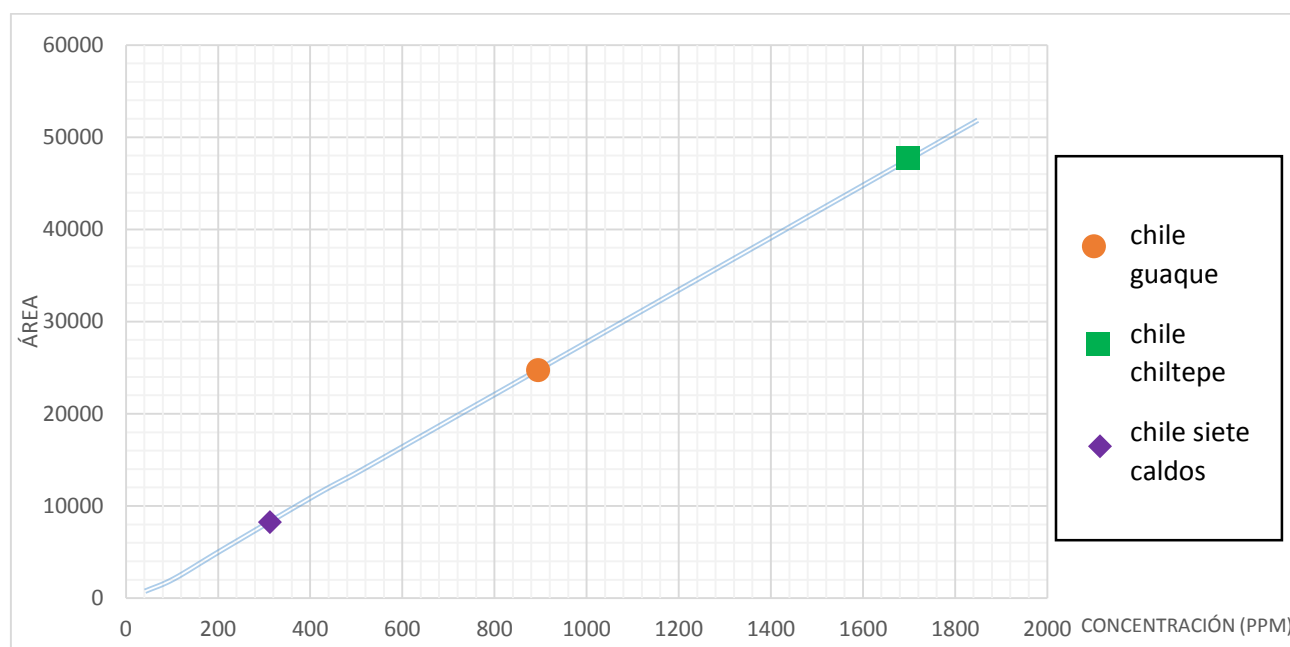
Para determinar la concentración de capsaicina por medio de HPLC fue necesario realizar una maceración utilizando etanol al 45%, a razón de 1ml de solución por cada gramo de material vegetal con la finalidad de obtener un extracto más concentrado en el cual pudiera ser detectada

la capsaicina. Las muestras fueron analizadas por duplicado. Se observa en la Gráfica No. 1, que la concentración de capsaicina presente en cada extracto fue diferente.

Posterior al análisis se realizaron los cálculos necesarios para determinar la concentración de capsaicina en miligramos por cada litro de solución de etanol al 45%, presente en los extractos realizados inicialmente a razón de 2 ml de solución por cada gramo de material vegetal como se puede observar en la Tabla No. 2.

Gráfica No. 1

Concentración de Capsaicina determinada en extractos de chile guaque, chile chiltepe, chile siete caldos con HPLC



Fuente: Fase Experimental, UVG

En la gráfica se muestra la curva de calibración realizada a partir del estándar de capsaicina y sobre ella la concentración de capsaicina presente en los extractos de chile guaque, chile chiltepe y chile siete caldos utilizando para ello el área bajo la curva de cada muestra. Para determinar la concentración de cada extracto se inyectaron 20 μL , a temperatura de 50°C y un flujo de 0.5 ml/min.

Tabla No. 2

Concentración de capsaicina en extracto de chile guaque, chile chiltepe, chile siete caldos

Chile	Concentración de capsaicina (ppm)	Concentración de capsaicina (ppm)	Promedio Concentración de capsaicina (ppm)
chile guaque	223	242	233
chile chiltepe	469	441	455
chile siete caldos	82	87	85

Fuente: Fase Experimental, UVG

9.2 ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE EXTRACTOS DE CHILE

Debido al tipo de investigación realizada, se necesitaba que los extractos de chile cumplieran con ciertos parámetros de inocuidad para poder realizar las pruebas in vitro, ya que se trabajó con bacterias. Es por ello que fue necesario llevar a cabo control de calidad microbiológico a cada muestra, con la finalidad de no utilizar extractos que pudieran provocar falsos negativos al momento de realizarse las pruebas in vitro. Los resultados y el dictamen se muestran en la Tabla No. 3. Resultados originales en anexo, Figura No. 22 y 23.

Tabla No. 3

Análisis microbiológico de extractos de chile guaqué, chile chiltepe y chile siete caldos

MUESTRA	RESULTADO
Extracto de chile chiltepe	< 10 UFC/ml * estimado
Extracto de chile guaqué	< 10 UFC/ml
Extracto de chile siete caldos	< 10 UFC/ml

Fuente: Laboratorio Microbiológico de Referencia-LAMIR

*UFC/ml: Unidades formadoras de colonia por mililitro de muestra analizada.

En conclusión, las muestras no presentan contaminación de origen bacteriano, por lo que cumple con el criterio de inocuidad.

9.3. DETERMINACION DE ACTIVIDAD BACTERICIDA Y BACTERIOSTÁTICA IN VITRO DE EXTRACTOS DE CHILE

La evaluación de la capacidad bactericida y bacteriostática de cada extracto se realizó con tres bacterias, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*.

Al determinar la concentración de capsaicina que se encuentra presente en cada extracto de chile, se establecieron las concentraciones que se utilizaron para realizar las pruebas in vitro. Las cuatro concentraciones utilizadas fueron 20, 40, 60 y 80 ppm de capsaicina. La concentración más alta y la más baja fue determinada tomando en cuenta la concentración que se utiliza en cremas de uso tópico para el dolor reumático, que suelen utilizar entre el 0.075% y el 0.025% de capsaicina. De las cuales se estableció las concentraciones que tienen actividad bacteriostática y bactericida utilizando el método de Dilución en Caldo. Los resultados se muestran en la Tabla No. 4.

Para determinar que extracto tuvo efecto bactericida o bacteriostático, se seleccionaron únicamente los extractos de chile, en que la totalidad de los tubos con extracto no presentó turbidez luego de aproximadamente 48 horas de incubación. Dichos tubos se sembraron en cajas de Petri, en caso de haber crecimiento bacteriano procedente de algún inóculo de los tubos sin turbidez en alguna caja se clasificó como bacteriostático, si dichas resiembras no presentaron crecimiento bacteriano, el extracto en dicha concentración se clasificó como bactericida. Ver anexo, Tabla No. 1, 2 y 3.

Tabla No. 4

Actividad bactericida o bacteriostática de los extractos de chile sobre *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Pseudomona aeruginosa* utilizando método dilución en caldo.

Concentración de capsaicina en extractos de chiles		<i>Escherichia coli</i>		<i>Staphylococcus aureus</i>		<i>Pseudomona aeruginosa</i>	
Chile	Concentración capsaicina en extracto de chile	Bactericida	Bacteriostática	Bactericida	Bacteriostática	Bactericida	Bacteriostática
Chile guaque	20	-	-	-	-	+	-
	40	-	+	+	-	+	-
	60	-	-	+	-	+	-
	80	+ *	-	-	✓	✓	-
Chile chiltepe	20	-	-	✓	-	✓	-
	40	-	✓	✓	-	✓	-
	60	-	-	-	-	✓	-
	80	-	✓	-	-	✓	-
Chile siete caldos	20	-	-	-	-	✓	-
	40	✓	-	-	✓	✓	-
	60	-	-	-	-	✓	-
	80	-	-	-	-	✓	-

*Actividad significativa según prueba binomial ($p= 0.0312$).

Fuente: Fase Experimental.

Los extractos que muestran actividad ya sea bactericida o bacteriostática, muestran un “+” según corresponda.

Así mismo, se utilizó un control negativo, que no tenía extracto y un blanco que contenía mezcla de etanol-agua, para descartar que el alcohol tuviera alguna actividad antimicrobiana.

Una vez determinadas las concentraciones de los extractos que presentaron actividad bactericida y bacteriostática se establecieron las concentraciones a ser analizadas por medio del Método Kirby Bauer. Con dicho método se determinaron los halos de inhibición de cada extracto con actividad bactericida y bacteriostática. Los resultados se muestran en la Tabla No. 5, 6 y 7.

Tabla No. 5

Halos de inhibición de los extractos efectivos con capacidad bactericida y Bacteriostática sobre *Escherichia coli*.

Chile	Concentración capsaicina en extracto de chile (ppm)	Promedio Halos de inhibición en <i>Escherichia coli</i> (mm) \pm desviación estándar
Chile guaques	40	8.29 \pm
	80	9.00 \pm
Chile chiltepe	40	8.46 \pm
	80	10.11 \pm
Chile siete caldos	40	14.71 \pm

Fuente: Fase Experimental.

Tabla No. 6

Halos de inhibición de los extractos efectivos con capacidad bactericida y Bacteriostática sobre *Staphylococcus aureus*

Chile	Concentración capsaicina en extracto de chile (ppm)	Promedio Halos de inhibición en <i>Staphylococcus aureus</i> (mm) \pm desviación estándar
Chile guaques	40	9.50 \pm
	60	9.69 \pm
	80	8.20 \pm
Chile chiltepe	20	11.29 \pm
	40	8.52 \pm

Fuente: Fase Experimental.

Para analizar la *Pseudomona aeruginosa*, se seleccionaron concentraciones que presentaron actividad bactericida y bacteriostática con las otras bacterias, ya que todos los resultados fueron positivos para *Pseudomona aeruginosa* en el caso del método de dilución en caldo, sin embargo, con el método de Kirby Bauer no presentó ningún halo de inhibición con las concentraciones utilizadas.

9.4 ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE CREMA DE USO TÓPICO

Finalmente, en base a los datos obtenidos, las concentraciones que mostraron mayor tamaño de halo de inhibición fueron utilizadas para realizar la crema de uso tópico. Se realizaron cinco lotes, a los cuales antes de probar su actividad, se les realizó control de calidad microbiológico, para evitar falsos negativos en las pruebas antimicrobianas.

Tabla No. 7

Análisis microbiológico de la crema de uso tópico a base de extracto de chile guaque, chile chiltepe y chile siete caldos.

ENSAYO	RESULTADO
Recuento aeróbico en placa de bacterias	<10 UFC/g* estimado
Recuento aeróbico de mohos y levaduras	<15 UFC/g estimado
Estimado de coliformes totales* (valor estimado)	<1 UFC/g estimado

No se aisló *Escherichia coli*

Fuente: Laboratorio Microbiológico de Referencia-LAMIR

*UFC/g: Unidades formadoras de colonia por gramo de muestra analizada.

Conclusión: Desde el punto de vista microbiológico y en base a los resultados obtenidos de la muestra, no presentan contaminación con *Escherichia coli*, por lo que cumplen con el criterio establecido en el Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 11.03.56.09 productos farmacéuticos. Productos Naturales Medicinales para uso humano. Verificación de la Calidad.

9.5 DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE CREMA DE USO TÓPICO

Para la elaboración de la crema de uso tópico a base de extracto de chile, se utilizaron las siguientes concentraciones de capsaicina; chile guaque 80 ppm, chile chiltepe 80 ppm y chile siete caldos 40 ppm. Se realizaron pruebas in vitro para determinar la eficacia de la crema. Los resultados se muestran en la Tabla No. 8.

Tabla No. 8

Evaluación capacidad bactericida de la crema de uso tópico realizada a base de extracto de chile guaque, chile chiltepe y chile siete caldos.

BACTERIA	RESULTADO
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25929	Sensible
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Sensible
<i>Pseudomona aeruginosa</i> ATCC 27835	Sensible

Fuente: Fase Experimental

10. DISCUSIÓN

A lo largo de la historia las plantas han sido utilizadas para el alivio de diferentes enfermedades que aquejan al hombre por lo que los extractos de las plantas son una alternativa de tratamiento para algunas enfermedades. Es preciso explotar la diversidad de flora que se tiene en el país, e investigar los posibles usos terapéuticos de los mismos, contando con un respaldo científico, dependiendo de la propiedad terapéutica que se le atribuya a cada planta. Para esto es necesario que se estudien inicialmente con métodos *in vitro*, para luego corroborar su eficacia en seres humanos.

Se han realizado diversas investigaciones en las cuales se han buscado nuevos agentes que tengan acción antimicrobiana, tal es el caso de Amruthraj en 2013, Llenque L. y Nascimiento en el mismo año, en los cuales comprobaron que los extractos de frutos de ciertos chiles son eficaces contra bacterias gram positivas y gram negativas. Tomando en cuenta dichos estudios en la investigación realizada, se evaluó la capacidad bactericida y bacteriostática de una crema de uso tópico elaborada a partir de extractos de tres frutos de especies del género *Capsicum* que se cultivan en Guatemala evaluadas con tres tipos de bacterias diferentes empleando dos métodos *in vitro*.

Con la finalidad de obtener datos confiables y objetivos en la evaluación de la capacidad antimicrobiana de los extractos de chile, fue necesario estandarizar los extractos de los diferentes chiles, por lo que se utilizaron ciertos parámetros cuantitativos, utilizando para ello la concentración de capsaicina que según Reyes (2011), es un compuesto que se encuentra en todas las especies de chile en concentraciones diferentes. Para obtener dichos parámetros se cuantificó la capsaicina utilizando HPLC en cada extracto de chile. Como se observa en la gráfica No.1, y tabla No. 2, la concentración de cada extracto fue diferente, siendo el chile chiltepe el que presentó la mayor concentración de capsaicina, seguido por el chile guaque y por último el chile siete caldos.

Según la escala Scoville, la pungencia de cada chile está determinada por la concentración de capsaicina presente en cada especie, el chile siete caldos, según dicha escala es el más pungente entre los tres chiles utilizados en la investigación, sin embargo, al momento de correr la muestra en el HPLC, se determinó que posee menos concentración de capsaicina comparado con dos chiles menos pungente que presentaron mayor concentración de capsaicina, es por ello que la capacidad pungente no se debe únicamente a la capsaicina, sino a otros compuestos junto con la capsaicina presente en cada especie que permite acentuar la pungencia del chile.

Además, otro factor que interviene en la pungencia que posee el chile es la maduración del fruto. En la investigación se utilizaron frutos de maduración intermedia para las tres especies, sin embargo, en el transcurso de la investigación se determinó que en el caso de la especie del chile siete caldos, cuando los frutos poseen mayor maduración tienen mayor pungencia.

Cabe resaltar, al momento de correr en el HPLC cada uno de los extractos, se obtuvo un área bajo la curva ligeramente más amplia que con los estándares. La razón por la cual se provocó esta situación es debido a los homólogos saturados e insaturados que presenta la solución, ya que aunque se cuantificó únicamente la capsaicina, el extracto del chile posee otras sustancias

que tienen estructuras muy similares a la capsaicina, tales como la dihidrocapsaicina, norhidrocapsaicina, homodihidrocapsaicina y la homocapsaicina, y tienen por lo tanto características similares, como lo es la polaridad, que provoca que eluyan en un tiempo muy similar a la capsaicina, esto se demuestra con los otros picos que se muestran en los gráficos. Ver anexo, Figuras No. 13 a No. 21.

Debido a lo expuesto sobre la concentración de capsaicina y la pungencia de los frutos, se utilizó el extracto completo obtenido de cada chile y no se aisló la capsaicina, ya que se buscaba demostrar que todo el extracto posee capacidad antimicrobiana y no solamente la capsaicina, ya que los demás compuestos presentes también pueden presentar capacidad bactericida o bacteriostática o un efecto sinérgico.

Obtenidos los extractos de los chiles, fue necesario realizar pruebas de control de calidad microbiológicas para asegurar la inocuidad de éstos y evitar que los resultados sobre la evaluación de la capacidad bactericida y bacteriostática estuvieran alterados a causa de microorganismos presentes en dichos extractos.

Una vez estandarizados los extractos de cada chile y realizadas las pruebas de control microbiológico, se evaluó la actividad antimicrobiana de éstos, en la Tabla No. 4 se muestran los extractos que presentaron actividad bactericida o bacteriostática sobre cada bacteria.

Para *Escherichia coli*, se observa que tanto el chile guaque y chile siete caldos tuvieron actividad bactericida, mientras que el chile chiltepe presentó actividad bacteriostática. Los tres chiles presentaron actividad antimicrobiana en diferentes concentraciones de capsaicina, evidenciándose que es el extracto el que presenta dicha actividad y no la capsaicina de manera aislada. Por lo que se asume que la capacidad bactericida o bacteriostática no es exclusiva de la presencia de capsaicina, sino inherente a la familia y el resto de los compuestos presentes en los frutos.

En el caso de *Staphylococcus aureus*, tiene actividad bactericida el chile guaque y el chile chiltepe. La actividad bacteriostática se presentó con el chile guaque, de igual forma que con *E. coli*, con concentraciones diferentes de capsaicina, siendo bactericida el chile guaque con concentraciones de 40 y 60 ppm de capsaicina y chile chiltepe con 20 y 40 ppm de capsaicina, siendo bacteriostático el chile siete caldos con 40 ppm de capsaicina, como se observa extractos con diferentes concentraciones de capsaicina presentan actividad antimicrobiana, confirmando de nuevo que es el extracto completo de cada chile, el que posee actividad antimicrobiana sobre *S. aureus* y no la capsaicina de manera aislada ya que ciertos extractos con concentraciones mayores de capsaicina no tuvieron efecto bactericida ni bacteriostático.

Es importante mencionar que es posible que el chile chiltepe presente actividad bactericida sobre *Staphylococcus aureus* y no sobre *Escherichia coli*, debido al tipo de bacteria ya que *Escherichia coli*, al ser una enterobacteria es más resistente, siendo *Staphylococcus aureus* mucho más sensible, por lo que el chile chiltepe pudo ejercer su acción sobre dicha bacteria.

El chile siete caldos, tuvo actividad bacteriostática a una concentración de 40 ppm y ninguna actividad bactericida a concentraciones más altas. Se deduce que los compuestos presentes en

el extracto tienen un mecanismo de acción diferente sobre las bacterias grampositivas, y no está relacionada la actividad antimicrobiana con la concentración de capsaicina sino con otros compuestos en el extracto.

Los tres extractos de Chile tuvieron actividad bactericida para *Pseudomonas aeruginosa* utilizando el método de dilución en caldo, es posible que la bacteria muriera con todos los extractos porque no se encontraba en el medio ideal de crecimiento, siendo este agar cetrimida, ya que se utilizó tripticasa soya como medio de cultivo para las tres bacterias utilizadas en la investigación para disminuir la serie de variables que pudieran afectar el estudio ya que en dicho medio crecen de manera adecuada la mayoría de bacterias.

Una vez establecidos los extractos de Chile que tuvieron actividad bacteriostática o bactericida, se procedió a determinar los halos de inhibición utilizando el método de Kirby Bauer, utilizando únicamente los extractos de los chiles con concentraciones de capsaicina que presentaron actividad antimicrobiana.

En la Tabla No. 5, se muestra el diámetro de los halos de inhibición determinados con los extractos de cada Chile sobre *Escherichia coli*, se puede observar que todos los extractos produjeron halos de inhibición, por lo que dichos extractos presentaron actividad antimicrobiana, bien sea bactericida o bacteriostática sobre *Escherichia coli*. Se observa así mismo, que el extracto de Chile que tuvo el halo de mayor tamaño fue el Chile siete caldos con 40 ppm de capsaicina, confirmando nuevamente que es posible que los chiles posean otros tipos de compuestos en concentraciones diferentes a la capsaicina que también tienen actividad antimicrobiana sobre las bacterias estudiadas.

Los halos de inhibición de los extractos que tuvieron actividad bactericida y bacteriostática sobre *Staphylococcus aureus*, se muestra en la tabla No. 6. Al igual que en el caso de *E. coli*, todos los extractos presentaron actividad antimicrobiana ya que presentan halos de inhibición. Se puede observar que el extracto de Chile que tuvo el halo de mayor tamaño fue el Chile Chiltepe con 20 ppm de capsaicina por lo que es el extracto el que posee actividad antimicrobiana y no solo la capsaicina ya que otros extractos con mayor concentración de capsaicina no presentaron el efecto antimicrobiano ni halos de inhibición de mayor tamaño.

Para evaluar la *Pseudomonas aeruginosa* por el método de Kirby Bauer, se seleccionaron extractos de Chile con concentraciones de capsaicina que tuvieron actividad antimicrobiana con las otras dos bacterias utilizadas en la investigación, sin embargo, ninguno de los extractos utilizados tuvo halos de inhibición. Aunque se obtuvieron resultados positivos para la actividad bactericida en el método de dilución en caldo para dicha bacteria, en el método de Kirby Bauer se utilizó un medio que es ideal para el crecimiento de todo tipo de bacterias, por lo cual no tuvo ninguna dificultad de crecimiento la bacteria en este medio de cultivo, confirmando que el medio utilizado en el método de dilución en caldo interfirió en los resultados con esta bacteria.

A partir de los halos de inhibición determinados con el método de Kirby Bauer, se establecieron los extractos de chile a ser utilizados para la elaboración de la crema de uso tópico, empleando para ello, los extractos de chile que tuvieron mayor tamaño de halo de inhibición, con la finalidad de obtener mejores resultados de la crema de uso tópico.

Se elaboraron cinco lotes de crema de uso tópico a base de extracto de chile con las siguientes concentraciones de capsaicina; chile guaque 80 ppm, chile chiltepe 80 ppm y chile siete caldos 40 ppm. A los cuales, se les realizó control de Calidad Microbiológico, para obtener datos confiables al corroborar la actividad antimicrobiana por medio del método de Kirby Bauer. Ver tabla No. 7.

Es importante mencionar que no se midió el halo de inhibición que se obtuvo porque a la temperatura de 36 grados Celcius la crema se empieza a fundir y a dispersarse alrededor del taxo que la contiene, por lo que el tamaño de los halos es mucho más grande que el original. La crema fue eficaz para la inhibición de las tres bacterias, como se muestra en la Tabla No. 8.

Fue necesario únicamente una determinación cualitativa del efecto, sin medición de halos de inhibición, ya que lo que se buscaba con dichas pruebas era confirmar que ningún excipiente utilizado en la crema interfiriera con el efecto de los extractos.

11. CONCLUSIONES

- Debido al alcance exploratorio de la investigación, no es posible generalizar la actividad antimicrobiana a todas las especies de *Capsicum*, es necesario realizar investigaciones más profundas que sustenten los resultados obtenidos en el presente trabajo.
- La actividad antimicrobiana in vitro del chile guaque, chile chiltepe y chile siete caldos de maduración intermedia depende tanto de la concentración de capsaicina como de otros compuestos presentes en el fruto.
- Las tres especies de chile utilizadas muestran actividad antimicrobiana sobre *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Pseudomona aeruginosa* al evaluarlos por métodos in vitro.
- Los extractos de chile guaque y chile chiltepe muestra actividad bactericida frente a *Staphylococcus aerus*.
- La crema de uso tópico muestra actividad antimicrobiana in vitro sobre *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Pseudomona aeruginosa*.

12. RECOMENDACIONES

- Realizar pruebas con extractos obtenidos con frutos del género *Capsicum* que pertenezcan a la misma especie para determinar si existe diferencia de la actividad antimicrobiana entre ellos.
- Utilizar frutos de las especies del género *Capsicum* que tengan una maduración diferente a la utilizada en el estudio para evaluar si existe diferencia de la actividad antimicrobiana.
- Aislar los otros compuestos que puedan estar presentes en las especies del género *Capsicum* para evaluar su capacidad antimicrobiana.

13. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

Amruthraj, J., et al. (2013) *Polar aprotic extraction of capsaicinoids from capsicum chinense bhut jolokia fruit for antimicrobial activity*. Department of Plant Biology and Biotechnology, Loyola College, India. ; 4(12): 959-964. e- ISSN 0976 – 3651.

Botanicus. (2003) *Capsicum*. Estados Unidos. Recuperado de <http://www.botanicus.org/item/31753003431696>

Carrasco, F. (2009) *Diccionario de Ingredientes cosméticos*. (4ª. Ed.) España. Recuperado de http://www.imagenpersonal.com/di_in_co_4ed_muestra.pdf

Cedron, J. (2013). *La Capsaicina*. Perú: Pontificia Universidad Católica de Perú. Revista de Química PUCP, 2013, vol. 27, nº 1-2 ISSN: 1012-3946

Chemical Book. (2008) *Norhidrocapsaicin*. Estados Unidos. Recuperado de http://www.chemicalbook.com/ProductChemicalPropertiesCB4359801_EN.htm

Coulson, J., Richardson, J. (2003) *Ingeniería Química, Operaciones Básicas, Tomo II*. España: Editorial Reverté

De la Cruz, A. (2011) *Evaluación del porcentaje de Rendimiento y Caracterización Físicoquímica de la Oleoresina de Chile Blanco (Capsicum annum A.) provenientes de tres estratos altitudinales utilizando como solvente de extracción soluciones de alcohol etílico-agua, a escala laboratorio*. (Tesis licenciatura). Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala.

Díaz, J. (1998). *Manual básico de enfermería: Técnica y quirúrgica*. España: Ediciones Díaz de Santos S.A.

Elika (2013) *Staphylococcus aureus*. Fundación Vasca para la seguridad Agroalimentaria. Recuperado de http://www.elika.net/datos/pdfs_agrupados/Documento95/7.Staphylococcus.pdf

Feiertag, S. (2013). *Capsicum annum, variedad de chile*. Recuperado de: <http://www.ethnobotanik.org/Capsicum/Chile-de-Arbol/Chile-de-Arbol-Capsicum-annuum-es.html>

Fonnegra, R., Jiménez, S. (2007) *Plantas Medicinales Aprobadas en Colombia*. (2ª. Ed.) Colombia: Editorial Universidad de Antioquia

Gennaro, A. (2003) *Remington Farmacia, Volumen 2*. (20ª. Ed.) Argentina: Editorial Médica Panamericana.

Goldman, A., Ausiello, (2009) *Cecil, Tratado de Medicina Interna*. 2 tomos (23ª. Ed.) España: Editorial Elsevier (Pp. 2935).

Helman, J. (1980) *Farmacotecnia Teórica y Práctica*. México: Editorial CECSA.

Karnka, R., Rayanokorn, M. (2002) *Optimization of High- Performance Liquid Chromatographic Parameters for the Determination of Capsaicinoid Compounds Using of Simplex Method*. Analytical Science. June 2002. Vol 18. The Japan Society for Analytical Chemistry

Llenque, L., Otiano R. y OtianoL., (2013) *Supervivencia de Staphylococcus aureus en crema huancaína preparada con diferentes concentraciones de Capsicum annum var. Longum “aji escabeche”*. Perú: Universidad Nacional de Trujillo.

López, L., Torres, C. (2006) *Determinación de la actividad antimicrobiana*. Universidad Nacional del Nordeste. Facultad de Agroindustrias. Microbiología general-carrera de farmacia. Recuperado de <http://www.biologia.edu.ar/microgeneral/tp8.pdf>

Medline. (2013) *Antimicrobianos*. Estados Unidos. Recuperado de <http://www.medline.org.edu.ar/antimicrobianos/pdf>

Moran, S. et al. (2008) *Determinación de Caspsaicinoides de chiles nativos de Puebla, México*. México: Universidad de Puebla.

Nascimento, P., et al. (2014) *Quantificación, Antioxidant and Antimicrobial Activity of Phenolics Isolated from Different Extracts of Capsicum frutescens (Pimienta Malagueta)*. Brasil: University of Pernambuco. *Molecules* 2014, 19, 5434-5447; doi: 10.3390/molecules19045434.

Nuez, F., et al. (2003) *El cultivo de pimientos, chiles y ajies*. España: Editorial Ediciones Mundi-Prensa.

Pahissa, A. (2009) *Infecciones producidas por Staphylococcus aureus*. España: Editorial ICG Marge, SL.

Pacho, J. et al. (2002) *Diseño conceptual de una planta de extracción de oleorresinas: Capsicum y Capsaicina a partir del chile habanero (Capsicum chinense) usando CO₂ supercrítico*. México: Universidad Autónoma de Yucatán, Facultad de Ingeniería Química. *Tecnol. Ciencia Ed. (IMIQ)* Vol. 17 (2): 95-103, 2002.

Peralta, G. (2007) *Determinación del Nivel de Pungencia en Unidades Scoville para Capsicum annum var. Aviculare procedentes de Regiones Productoras de Guatemala*. (Tesis licenciatura). Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala.

Reyes, M., et al. (2011) *Aspectos químicos y farmacológicos de la Capsaicina*. México. Centro de investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco. *Molecules* 2011, 16, 1253-1270; doi:10.3390/molecules16021253

Rico, M. (2008) *Fisiopatología del dolor musculoesquelético crónico*. Chile. Asociación Chilena para el Estudio del Dolor. *Medwave* 2008 sep;8(8):e1654 doi: 10.5867/medwave.2008.08.1654

Rodríguez, E., et al. (2005) *Bacteriología General: Principios y Prácticas de Laboratorio*. Costa Rica: Editorial Universitaria de Costa Rica.

Romero, R. (2007) *Microbiología y Parasitología Humana: Bases Etiológicas de las Enfermedades infecciosas y parasitarias*. (3ª. Ed.) México: Editorial Médica Panamericana.

Saavedra, J., et al. (2011) *Infecciones bacterianas de la piel y tejidos blandos*. (3ª. Edl.) España: Asociación Española de Pediatría, Sociedad Española de Infectología Pediátrica. Editorial Ergon. (Pp. 159-172).

Salam, A., Moszik, G., Szolcsanyi J. (1995) *Studies on the effect of intragastric capsaicin on gastric ulcer and on the prostacyclin-induced cytoprotection in rats*. *Pharmacol Res.* 1995;32:209 - 215.

Shayan, S. (2013) *Antibacterial and antibiofilm activities of extract Capsicum annuum L. on the growth and biofilm formation of comon pathogenic strains*. Iran: University of Medical Sciences, Zahedan. International Research Journal of Appied and Basic Sciences. ISSN 2251-828x / vol, 5 (4): 513-518.

Skoog, D., et al. (2001) *Fundamentos de Química Analítica, Volumen 2*. (4ª. Ed.) España: Editorial Reverté

Skoog, D., et al. (2008) *Principios de Análisis Instrumental* (5ª. Ed.) España: Editorial Mc Graw Hill

Tortora G, Funke B, Case C. (2007) *Microbiology: An Introduction*, (9ª. Ed.) Estados Unidos: Editorial Pearson Education, Inc.

Vidal, M., et al. (2004) *Capsaicina Tópica en el Tratamiento del Dolor Neuropático*. España: Revista de la Sociedad Española del Dolor. Versión impresa ISSN 1134-8046 Rev. Soc. Esp. Dolor v.11 n.5 Narón (La Coruña) jul. 2004

14. ANEXOS

MARCO TEÓRICO

14.1. GÉNERO CAPSICUM

Todas las formas de pimiento, chile o ají utilizados por el hombre pertenecen al género *Capsicum*. El nombre científico deriva del griego: según algunos autores de *kapso* (picar), según otros autores de *kapsakes* (cápsula). Este género se incluye en la extensa familia de las Solanáceas.

Se encuentra en la división *Spermatophyta*; de la línea XIV, *angiospermae*; clase A, *Dicotyledones*. Pertenece a la familia *Solanaceae*.

Actualmente se considera que esta familia está formada por unos 90 géneros, los cuales se encuentran divididos entre 2 subfamilias *Solanoideae* y *Cestroideae*. La diferencia entre estas dos subfamilias se basa en diferentes modelos de desarrollo del embrión. En *Solanoideae* el embrión está enrollado y es de un diámetro más o menos uniforme. En las *Cestroideae* el embrión es típicamente recto o ligeramente curvado. Además, un gran número de diferencias morfológicas, químicas y citogenéticas acompaña esta división básica.

En las últimas décadas se ha efectuado un esfuerzo intenso para clarificar la taxonomía de las especies de *Capsicum* utilizadas por el hombre y, en particular, de las especies domesticadas. Al análisis morfológico tradicional se han incorporado métodos de análisis multivariante (taxonomía numérica), variabilidad isozímica y de flavonoides, análisis citogenético, así como nuevos datos relativos a las áreas de distribución.

Dentro de las especies utilizadas por el hombre, se considera que son cinco las especies cultivadas (Nuez, 2003).

Todas las especies del género *Capsicum*, siendo originarias de América, han sido utilizadas desde hace más de 20 siglos, por la gran mayoría de culturas prehispánicas (Olmecas, Aztecas, Mayas, Incas etc.), que han habitado este continente, las cuales conociendo de las propiedades que dicha planta presenta, la han utilizado de diversas formas, desde el uso culinario (en el sazónamiento de comidas), hasta el empleo en la medicina tradicional (De la Cruz, 2011).

14.1.1. CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS DEL GÉNERO CAPSICUM

Son plantas herbáceas o arbustos, anuales o perennes capaces de alcanzar los 4 metros de altura, aunque la mayoría no llega a los 2 m. Las hojas son de 4-12 cm de largo. Las plantas del género presentan muy frecuentemente las hojas enteras o lobuladas y en pares; las flores e inflorescencias, axilares. Las flores están en racimos de 3 a 20 y están formadas por cinco sépalos, cinco pétalos y cinco estambres. Son hermafroditas y tienen la forma poligonal regular de una estrella de cinco puntas, son el tipo común en las *Solanaceas*, llamadas actinomorfas. Su ovario es súpero y su fruto es una baya de

tipo carnosos huecos y en forma de cápsula, en donde se encuentran las semillas. En las plantas silvestres la fruta al madurar es una baya roja ovoide, comestible para los pájaros que dispersan sus semillas (Ver figura No.1).

En la mayoría de las especies del género, el follaje como el resto de la planta es irritante. Se desarrollan en todo tipo de terrenos con preferencia por las zonas húmedas y bosques húmedos. Junto con otras trepadoras crean un ambiente impenetrable y oscuro donde se resguardan diversos animales. El género aparece desde el nivel del mar en las islas del Pacífico sur hasta los 2400 msnm en la zona ecuatorial de los Andes (Nuez, 2003).

Figura No. 1

Estructura morfológica del chile



Fuente: botanicus, 2003

14.1.2 COMPOSICIÓN QUÍMICA Y VALOR NUTRITIVO DEL GÉNERO **CAPSICUM**

El contenido nutricional del pimiento es alto en comparación con otras hortalizas de amplio consumo, como por ejemplo el tomate.

Entre los compuestos nutricionales que posee se puede mencionar el agua, carbohidratos, lípidos, proteínas, sodio, calcio, hierro, potasio, fósforo, ácido ascórbico, retinol (vit. A), tiamina (vit. B1), riboflavina (vit. B2), ácido fólico (vit. B3). Esta especie vegetal tiene altos índices de demanda, debido a sus propiedades de sabor acre-pungente y su capacidad de coloración (De la Cruz, 2011).

TABLA NO. 2
 COMPOSICIÓN QUÍMICA Y VALOR NUTRITIVO DE
 PIMIENTOS DULCES Y PICANTES POR 100G DEL PRODUCTO

<i>Composición</i>	<i>Pimiento dulce</i>	<i>Pimiento picante</i>
<i>Materia seca (%)</i>	8	34.6
<i>Energía (kcal)</i>	26.0	116.0
<i>Proteína (g)</i>	1.3	6.3
<i>Fibra (g)</i>	1.4	15.0
<i>Calcio (mg)</i>	12.0	86.0
<i>Hierro (mg)</i>	0.9	3.6
<i>Carotenos (mg)</i>	1.8	6.6
<i>Tiamina (mg)</i>	0.07	0.37
<i>Riboflavina (mg)</i>	0.08	0.51
<i>Niacina (mg)</i>	0.8	2.5
<i>Vitamina C (mg)</i>	103.0	96.0

Fuente: Nuez, 2003.

14.1.3. CAPSAICINOIDES

Existe un grupo de compuestos que le confiere al género capsicum la pungencia característica del chile, los capsaicinoides. El compuesto principal encontrado es la capsaicina, considerado inicialmente como una sola sustancia, demostró muy pronto ser una mezcla de dos homólogos insaturados y tres saturados. Entre los otros compuestos se encuentra la dihidrocapsaicina (8-metil-N-Vanillil-nomamida), nordihidrocapsaicina (7-metil-N-Vanillil-octamida), homodihidrocapsaicina (9-metil-N-vanillil-decamida), y homocapsaicina (trans-9-metil-N-vanillil-7-decenamida). La capsaicina y la dihydrocapsaicina conforman el 90% de los capsaicinoides totales presentes en la planta, dichos compuestos son los capsaicinoides más potentes y sus moléculas solo difieren en la saturación de la cadena acilo que presentan (Reyes, 2011).

14.1.3.1 CAPSAICINA

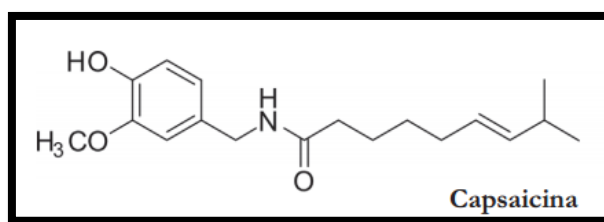
La capsaicina (trans-8-metil-N-Vanillil-6-nonenamida) (Ver figura No. 2) con una fórmula molecular condensada $C_{18}H_{27}NO_3$, es un compuesto incoloro, cristalino, amargo. Tiene un peso molecular de 305,46g/mol, un punto de fusión de 65°C, un punto de ebullición entre 221-220°C, presión de vapor de 40 N·m⁻² y densidad de vapor de 1,59 (aire = 1). La Capsaicina es ligeramente soluble en agua, pero soluble en grasas, alcoholes y aceites.

La capsaicina es producida por glándulas que se encuentran en el punto de unión de la placenta y la pared de la vaina. La capsaicina se extiende de manera dispersa a través del interior de la vaina y se concentra mayormente en el tejido placentario (De la Cruz, 2011).

Es sintetizada por las plantas como un medio de defensa ante el ataque de animales: el picor los espanta. Este picor, al igual que en los humanos, es detectado por un receptor general del dolor: al entrar en contacto con a capsaicina se facilita la entrada de iones calcio a las células, lo cual es transmitido al cerebro como un mensaje. Este mensaje se traduce como una sensación de quemazón o calor.

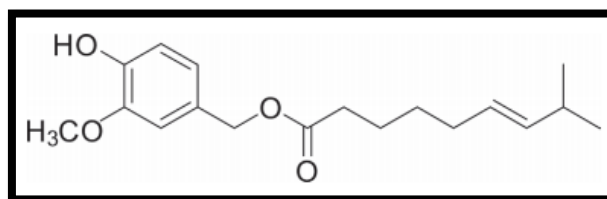
El grupo amida es fundamental para que la capsaicina produzca picor. El capsiato, (Ver figura No. 3) un isómero de la capsaicina en que el grupo amida se ha intercambiado por un éster, posee las mismas propiedades analgésicas que la capsaicina pero no presenta picor (Cedrón, 2013).

Figura No. 2
Estructura química de Capsaicina



Fuente: Cedrón, 2013.

Figura No. 3
Estructura del Capsiato



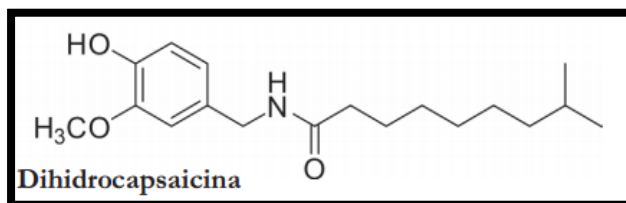
Fuente: Cedrón, 2013.

14.1.3.2. DIHIDROCAPSAICINA

La dihidrocapsaicina (8-metil-N-Vanillil-nomamida) (Ver figura No. 4) con fórmula molecular condensada $C_{18}H_{29}NO_3$, con un peso molecular de 307,49 g/mol, apariencia blanca sólida, es un capsaicinoide, parecido y derivado de la capsaicina que se encuentra en los chiles capsicum. Como la capsaicina, ésta también es irritante.

La dihidrocapsaicina es aproximadamente el 22% del total de la mezcla de capsaicinoides y tiene una pungencia muy parecida a la propia capsaicina. La dihidrocapsaicina pura es un compuesto lipofílico, sin olor, ni color, de consistencia cristalina, esta es soluble en dimetil sulfóxido y 100% en alcohol etílico (De la Cruz, 2011).

Figura No. 4
Estructura química de Dihidrocapsaicina



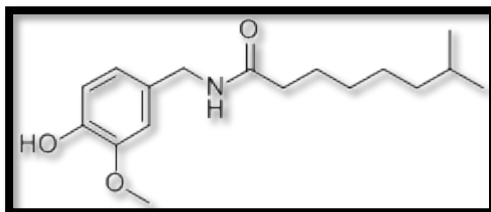
Fuente: Cedrón, 2013.

14.1.3.3. NORDIHIDROCAPSAICINA

La nordihidrocapsaicina (7-metil-N-Vanillil-octamida) (Ver figura No. 5) con fórmula molecular condensada $C_{17}H_{27}NO_3$, con un peso molecular de 293,41 g/mol, es un capsaicinoide, parecido y derivado de la capsaicina que se encuentra en los chiles capsicum. Al igual que la capsaicina, también es irritante. La nordihidrocapsaicina es aproximadamente el 7% del total de la mezcla de capsaicinoides y tiene la mitad de pungencia de la capsaicina. La nordihidrocapsaicina pura es un compuesto lipofílico, sin olor, ni color, de consistencia cristalina. En la escala Scoville cuenta con 9 100 000 SHU (unidades de calor) (De la Cruz, 2011).

Figura No. 5

Estructura química Nordihidrocapsaicina



Fuente: ChemicalBook, 2010

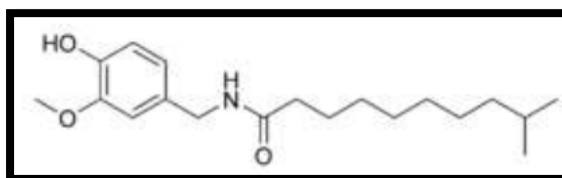
14.1.3.4. HOMODIHIDROCAPSAICINA

La homodihidrocapsaicina (9-metil-N-vanillil-decamida) (ver figura No. 6) con fórmula molecular condensada $C_{19}H_{31}NO_3$, con un peso molecular de 321,46 g/mol, es un capsaicinoide, parecido y derivado de la **capsaicina** que se encuentra en los chiles *Capsicum*. Como la capsaicina, ésta también es irritante. La homodihidrocapsaicina es aproximadamente el 1% del total de la mezcla de capsaicinoides y tiene la mitad de pungencia de la capsaicina.

La homodihidrocapsaicina pura es un compuesto lipofílico, sin olor, ni color, de consistencia cristalina. Ésta produce una quemadura e insensibilidad en la garganta y es una de las más prolongadas y difícil de eliminar su efecto. En la escala Scoville cuenta con 8 600 000 SHU (unidades de calor) (De la Cruz, 2011).

Figura No. 6

Estructura química homodihidrocapsaicina



Fuente: ChemicalBook, 2010

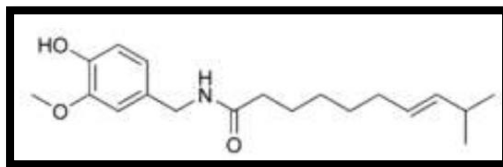
14.1.3.5. HOMOCAPSAICINA

La homocapsaicina (trans-9-metil-N-vanillil-7-decenamida) (Ver figura No. 7) con fórmula molecular condensada $C_{19}H_{29}NO_3$, con un peso molecular de 319,43 g/mol, es un capsaicinoide, parecido y derivado de la capsaicina que se encuentra en los chiles *Capsicum*. Como la capsaicina, ésta también es irritante. La homocapsaicina es aproximadamente el 1% del total de la mezcla de capsaicinoides y tiene la mitad de pungencia de la capsaicina. La homocapsaicina pura es un compuesto lipofílico, sin

olor, ni color, de consistencia cristalina. En la escala Scoville cuenta con 8 600 000 SHU (De la Cruz, 2011).

Figura No. 7

Estructura química de Homocapsaicina



Fuente: ChemicalBook, 2010

14.2 ESCALA SCOVILLE

En 1912, el químico Wilbur Scoville desarrolló una escala que mide el grado de picor de un pimiento. En dicha escala se le asigna el valor de cero a los pimientos dulces, mientras que en el otro extremo se le asignó el valor de dieciséis millones a los pimientos que eran los más picantes.

Para realizar dicha valoración, se elaboró con un factor de dilución, en la cual la sustancia en mención deja de picar, es decir, para un pimiento dulce no es necesario realizar una dilución para que deje de picar, mientras que para el pimiento extremadamente picante es necesaria que sea diluida en un factor de 16 millones para que el sentido del gusto (lengua) no perciba el picor (Ver anexo No.1) (Cedron, 2013).

Dado que la escala Scoville tienen una base organoléptica y varían entre catadores, se usa con más precisión la cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC) para determinar la concentración de capsaicinoides, que se mencionó anteriormente poseen las propiedades de picor del pimiento (De la Cruz, 2011).

14.3 CHILE SIETE CALDOS (*Capsicum pubescens*)

Distribuido en regiones de clima templado y frío, se cultiva en huertos familiares; es uno de los más pungentes de los presentes en Guatemala, presenta 1,000,000 SHU, unidades según la escala scoville, se prefiere comer en encurtido. Plantas perennes, pubescencia abundante en tallos y hojas, flores violeta, anteras púrpura, frutos inmaduros color verde, al madurar son rojos o amarillos, semillas negras, frutos en promedio de 6.12 cm de largo, 4.46 cm de ancho. No se cruza con ningún otro material genético de chile presente en Guatemala (Azurdia, 2014).

14.4 CHILE GUAQUE (*Capsicum annum* var. *Longum* Sendt.)

Cultivado principalmente en el altiplano central y en algunas localidades de Sololá. El fruto se consume en estado inmaduro de color verde-negrusco, y en estado seco en diferentes preparaciones de la gastronomía guatemalteca. Es altamente apreciado por su olor y sabor, es poco pungente, entre 3,500-8,000 SHU, unidades según la escala scoville. Es el chile símbolo de San Andrés Itzapa, Chimaltenango, en donde se hace la comida local llamada “Cherepe”. El fruto tiene en promedio 9.78 cm de largo y 3.23 cm de ancho. Perteneciente a *Capsicum annum*, este cultivar se puede cruzar con cualquier otra de la misma especie, así como con su pariente silvestre más cercano (Azurdia, 2014).

14.5 CHILE CHILTEPE (*Capsicum annum* var. *glabriusculum*.)

Se encuentra en los bosques secos, húmedos y muy húmedos; pocas veces en bosques rocosos y hasta una altura de 1200 msnm. Se encuentra reportada su mayor producción en los departamentos de El Petén, Izabal, Zacapa, Chiquimula, Jalapa, Huehuetenango, Jutiapa, Escuintla, Suchitepéquez. Esta especie está distribuida tanto en la franja costera del pacífico como en la del Atlántico de Guatemala; se caracteriza por la forma globosa y ovoide del fruto y el color anaranjado del mismo y principalmente por su sabor especial y grado medio de pungencia, entre 50,000-100,000 SHU, unidades según la escala scoville. Es utilizado en la preparación de chirmol, salsas picantes y en forma de curtido (Azurdia, 2014).

14.6 USOS DE LA CAPSAICINA

Los usos de los frutos de *Capsicum* son múltiples, se utiliza en una variedad de áreas, debido a las propiedades que se han determinado. Además de ser ampliamente utilizada en el área alimenticia, también se utiliza en la industria farmacéutica y la industria de pinturas (Peralta, 2007).

14.6.1 ALIMENTOS

El uso de los frutos del género *Capsicum* se pueden utilizar frescos o procesados, existe una gama de productos transformados que se usan en la alimentación humana: secos o deshidratados, en encurtidos, enlatados, en pastas, en salsas y congelados. En la industria alimenticia se ha utilizado al chile como saborizantes, aromatizante, así como colorantes para diversidad de embutidos y quesos (Peralta, 2007).

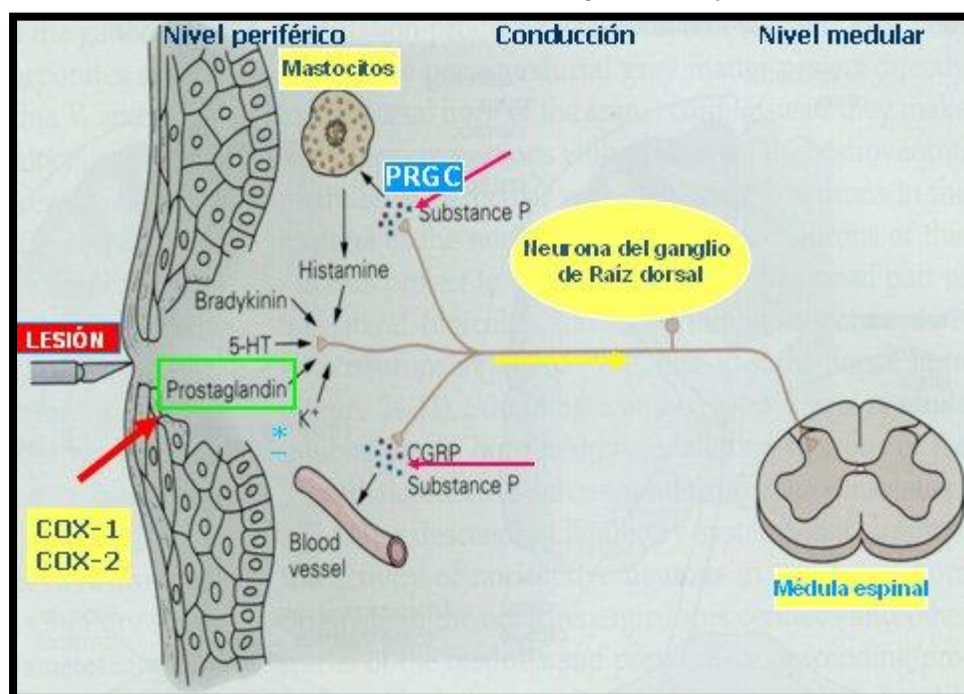
14.6.2 MEDICINA

La aplicación tópica de capsaicina al 0,075%, ha demostrado ser eficaz en el tratamiento del dolor neuropático. Su mecanismo de acción parece que se basa en la estimulación selectiva de las neuronas de las fibras amielínicas C, provocando la liberación de sustancia P y posiblemente otros neurotransmisores; y finalmente una depleción de sustancia P, con lo que se produciría una alteración de la transmisión del dolor a los sistemas centrales produciéndose un fenómeno de desensibilización (Ver figura No. 8) (Vidal, 2004).

En otros estudios se sugiere que el uso oral del pimiento de cayena o de capsaicina puede en realidad proteger al estómago contra las úlceras causadas por medicamentos antiinflamatorios. Sin embargo, contrario a algunos reportes, el pimiento de cayena no parece ser capaz de eliminar la *Helicobacter pylori*, las bacterias estomacales implicadas como la principal causa de las úlceras (Salam, 1995).

Actualmente, la Capsaicina se ha incorporado en los productos de autodefensa que se expenden en forma de repelentes (en spray) en los Estados Unidos. Los síntomas de ceguera, sofoco y nausea desaparecen al cabo de 30 minutos sin dejar consecuencias nocivas (Peralta, 2007).

Figura No. 8
Transmisión del dolor desde nivel periférico y medular



Fuente: Rico, 2008

14.6.3 ADITIVOS

En estudios realizados se han encontrado reportes en los cuales se utilizaba la capsaicina como un aditivo en las pinturas que se utilizaban en los cascos de los botes y en las válvulas de los sistemas de aguas municipales, con el fin de evitar el crecimiento de ciertos organismos (Pacho, 2002).

14.7. PIEL

La piel constituye la principal barrera estructural de defensa del organismo frente a agentes externos, estando formada por 3 capas: epidermis, capa verdaderamente protectora, más superficial y avascular; la dermis, y tejido celular subcutáneo (TCS), capas más profundas y con riego sanguíneo. Existe un constante equilibrio entre microorganismo y huésped, de manera que la eliminación de ese equilibrio puede favorecer el desarrollo de infección (Ver figura No. 9).

Las manifestaciones cutáneas de una infección bacteriana pueden producirse por varios mecanismos fundamentales, entre los cuales se incluye:

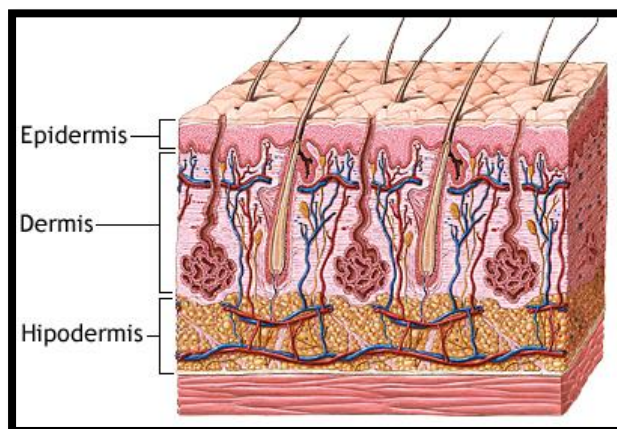
- Infección local primaria con replicación in situ de la bacteria, como impétigo.
- Mecanismos inmunológicos, como vasculitis en infección estreptocócica.
- Afectación de la piel como parte de un cuadro sistémico: sepsis meningocócica.

Las infecciones de piel y partes blandas se definen según la localización de las mismas independientemente del microorganismo que las produce. Así, las infecciones de piel afectan a la epidermis, dermis o TCS, mientras que las infecciones de partes blandas afectan a la fascia profunda o al músculo.

Las bacterias más importantes como flora transitoria de la piel, y por lo tanto, implicadas en infecciones cutáneas, son *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus pyogenes*. Otra de las bacterias que se puede encontrar en las infecciones de piel es *E. coli*, debido a la presencia de dicha bacteria en el medio externo en el cual se expone la piel (Saavedra, 2011).

Se definen como traumatismos a todas las lesiones de los tejidos producidas por agentes mecánicos, físicos o químicos. Se denominan traumatismos abiertos cuando en las heridas el foco traumático comunica con el exterior por estar interrumpida la continuidad de la piel (Díaz, 1998).

Figura No. 9
Capas de la Piel



Fuente: medline, 2013

14.8. INFECCIONES BACTERIANAS LOCALES

14.8.1. IMPÉTIGO

Se define como infección de la epidermis, es la infección más frecuente en pediatría. Se define como una infección bacteriana superficial frecuente de la piel producida por las bacterias mencionadas. Dicha infección se asocia a pobre higiene y hacinamiento, y se puede diseminar con facilidad.

Debido a que la piel suele contener diversos tipos de bacterias, cuando ocurre una ruptura en la piel, las bacterias pueden ingresar al cuerpo y multiplicarse allí, causando inflamación e infección. Entre las causas más frecuentes por las que puede ocurrir la infección es la lesión o traumatismo en la piel (Díaz, 1998).

14.8.2 BACTERIAS PRESENTES EN LA PIEL

14.8.2.1. STAPHYLOCOCCUS AUREUS

Son bacterias con forma de cocos (forma esférica) grampositivas, de 0.5 a 1.5 μm de diámetro, que se agrupan de forma irregular. Son bacterias inmóviles, no forman esporas, generalmente no poseen cápsula, son anaerobias facultativas, produce la

enzima coagulasa, que permite que la bacteria coagule el plasma. Generalmente son resistentes a condiciones ambientales adversas.

Presenta un crecimiento rápido, tras 24 horas de incubación *Staphylococcus aureus* crece formando colonias lisas, elevadas, brillantes y con bordes enteros. Las colonias presentan una coloración amarilla. Son bacterias muy resistentes al calor y la desecación que pueden crecer en medios con elevada salinidad (7.5% de ClNa).

Debido a que son resistentes a condiciones ambientales adversas, pueden soportar temperaturas desde 10° C hasta 48°, así mismo pueden soportar pH diversos que van desde un pH bajo (4) hasta un pH bastante alto como 9.6 (elika, 2013).

Aproximadamente un 20% de la población es portadora permanente de *Staphylococcus aureus* en las fosas nasales, pero puede además colonizar otras áreas tales como la piel y el tracto gastrointestinal. Cuando la integridad de las barreras mecánicas se rompe, estos microorganismos pueden alcanzar tejidos más profundos y producir infección (Pahissa, 2009).

14.8.2.2. STREPTOCOCCUS PYOGENES

Bacteria grampositiva, anaerobia facultativa, con forma de cocos. Son bacterias inmóviles y no producen esporas, se agrupan en cadenas y en ocasiones se pueden observar en parejas.

Está clasificado en el Grupo A de los estreptococos, dicho grupo se caracteriza por poseer una cápsula compuesta por ácido hialurónico y son beta-hemolíticos.

Miden entre 0.6 y 1.0 μm de diámetro. Pueden sobrevivir a temperaturas de hasta 60°C. El crecimiento óptimo de la bacteria se realiza a una temperatura de 37°C y puede llegar a tener pH entre 7.4 a 7.6 (Romero, 2007).

14.8.2.3. ESCHERICHIA COLI

Pertenece a la familia Enterobacteria. Son bacterias gram negativas, tiene forma ovoide, móvil, aerobio y anaerobio facultativo, con flagelos peritricos. La mayoría forma fimbrias y pilis, muchas cepas producen una pequeña microcápsula, no producen esporas (Romero, 2007).

Es muy versátil y se adapta a su ambiente. Crece a un pH óptimo de 6.0 a 7.0 y a una temperatura de 37°C. Crece en medio de glucosa preferentemente (Romero, 2007).

14.9. ANTIMICROBIANOS

Son medicamentos potentes que combaten las infecciones bacterianas. Su uso correcto puede salvar vidas. Actúan matando las bacterias o impidiendo que se reproduzcan. Después de tomar los antibióticos, las defensas naturales del cuerpo son suficientes (Medline, 2013).

14.9.1. BACTERICIDA

Se entiende por bactericida el fármaco que destruye o mata los microorganismos dentro de un huésped. Se provoca una reducción en la población bacteriana en el huésped o en el uso de sensibilidad microbiana (Romero, 2007).

14.9.2. BACTERIOSTÁTICO

A diferencia de un bactericida, el fármaco que actúa como bacteriostático no produce la muerte de las bacterias, pero dificulta su reproducción. La cepa bacteriana por lo tanto, envejece y muere (Romero, 2007).

14.10. MÉTODOS

14.10.1. SECADO

Se entiende por secado la eliminación final del agua, esencialmente para evitar la presencia de humedad, que puede provocar el crecimiento de microorganismos o provocar la descomposición de la materia vegetal (Coulson, 2003).

14.10.2. MOLIENDA

Se requiere un cierto grado de trituración y molienda de la materia vegetal, para disminuir el tamaño de partícula de la muestra sólida, sin embargo, dichas operaciones tienden a alterar la composición química de la muestra, el tamaño de partícula no debe ser reducida más de lo necesario para conseguir la homogeneidad y para que reaccionen fácilmente con los reactivos

Se disminuye el tamaño de partícula de la droga vegetal para adecuarla a la técnica de maceración, para que el solvente pueda penetrar en el tejido vegetal y extraerse la mayor cantidad de compuestos (Skoog, 2001).

14.10.3 MACERACIÓN

La maceración es un procedimiento para extraer los principios activos de la droga generalmente a temperatura ambiente, utilizando para ello diferentes solventes, según las propiedades químicas de los compuestos que se quieran extraer. La droga debe poseer cierto tamaño de partícula para que la extracción sea eficiente (Fonnegra, 2007).

14.10.4. CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA RESOLUCIÓN (HPLC)

La cromatografía de líquidos de alta eficacia es la técnica analítica de separación más ampliamente utilizada. Las razones por las cuales se ha vuelto la más utilizada es por su alta sensibilidad, fácil adaptación a las determinaciones cuantitativas exactas, su idoneidad para la separación de especies no volátiles o termolábiles y, sobre todo, por su gran aplicabilidad a sustancias que son de primordial interés en la industria.

La eficacia de una columna de HPLC, mejora espectacularmente cuando disminuye el tamaño de partícula; están construidas con un tubo de acero inoxidable de diámetro interno uniforme, tienen una longitud entre 10 y 30 cm, por lo común, son rectas y se pueden alargar, si es necesario. El diámetro interno de las columnas es a menudo de 4 a 10 mm y tamaños de las partículas de los rellenos más comunes son de 5 o 10 μm .

Aparte de la columna y el relleno de la misma, el aparato está equipado con uno o más recipientes de vidrio o de acero inoxidable; un sistema de bombeo, que desplaza el solvente hacia la columna; posee además un sistema de inyección de muestra, debido a que el factor limitante en la precisión de las medidas en cromatografía de líquidos es la reproducibilidad con que se puede introducir la muestra en la columna, los volúmenes que se emplean deben ser pequeños, de unas décimas de microlitro. Para eliminar las posibles partículas presentes en la muestra, ésta se pasa por una pre-columna, la cual sirve además de saturar la fase móvil con la fase estacionaria, funciona como un filtro para que la columna no se contamine y para minimizar la caída de presión. Por último es necesario un detector para cuantificar la muestra analizada (Skoog, 2008).

14.10.5. CONTROL DE MICROORGANISMOS

El problema de contaminación microbiana de los extractos y productos terminados se debe controlar debido que pueden presentar repercusiones en las propiedades organolépticas y fisicoquímicas de los productos. Diversos factores físicos y químicos influyen en el desarrollo de los microorganismos, dichos aspectos deben tenerse en cuenta para evitar su presencia cuando se realiza la fabricación del producto.

Los factores que más influyen en el desarrollo de los microorganismos es la humedad y la temperatura, por lo cual debe cuidarse la temperatura y el lugar en el cual se realiza el almacenamiento de los productos.

Los microorganismos que no deben ser encontrados en las preparaciones tópicas son los patógenos. Sin embargo no es tan fácil determinar la patogenicidad de ciertos microorganismos.

Conservar la inocuidad en emulsiones de aceite en agua, sobre todo si el agente emulgente es uno de tipo no iónico que suele constituir buen sustrato para gérmenes (Helman, 1981).

14.11. DETERMINACIÓN DE CAPACIDAD BACTERICIDA Y BACTERIOSTÁTICA

14.11.1. MÉTODO DILUCIÓN EN CALDO

El medio de cultivo es líquido. Se toman de 5 a 10 tubos de ensayo que contienen la misma cantidad de caldo nutritivo. A cada uno de ellos se le añade una cantidad de extracto de manera de obtener diluciones dobles y progresivas de agente antimicrobiano. Los tubos se inoculan con una suspensión calibrada del microorganismo en estudio (de manera que garantice una misma cantidad de bacterias en cada tubo) y se incuban durante 18 horas a 35°C. Uno de los tubos no contiene extracto y sirve como control de desarrollo o testigo. En aquellos tubos donde la bacteria se desarrolla y multiplica aparece turbidez. En cambio cuando el extracto inhibe el crecimiento, la masa líquida del medio de cultivo aparece clara. Esto determina un punto de ruptura en el crecimiento bacteriano que introduce el término de CONCENTRACION INHIBITORIA MINIMA (C.I.M.). El CIM es la menor concentración de antibiótico expresada en $\mu\text{g/ml}$, que inhibe el desarrollo in vitro de las bacterias (López, 2006).

A partir de los tubos donde no se observó crecimiento se puede determinar la CONCENTRACION BACTERICIDA MINIMA (C.B.M.), que es la menor concentración de antimicrobiano que no solo inhibe el desarrollo de las bacterias sino que también las destruye. Para esto se efectúa el subcultivo del contenido de los tubos visualmente claros en placas de agar, observándose el desarrollo o no de colonias viables. El primer tubo de la serie que al ser sembrado no da lugar al desarrollo de colonias, nos determina la CBM del antibiótico en estudio (López, 2006).

14.11.2. MÉTODO KIRBY BAUER

El medio de cultivo es sólido. Sobre la superficie de una placa de agar se realiza la siembra de una suspensión bacteriana calibrada y a continuación se depositan sobre ella discos de papel de filtro impregnados de antimicrobianos. Tan pronto como el disco toma contacto con la superficie húmeda del agar, el agua es absorbida por el papel filtro y el antibiótico difunde hacia el medio circundante creando así concentraciones progresivamente decrecientes. Se observa como a medida que el antibiótico se aleja del disco, la concentración disminuye. Así, al cabo de 18 horas de incubación, en aquella zona donde el antibiótico es capaz de impedir el crecimiento de la bacteria aparece un halo alrededor del disco: halo de inhibición.

El tamaño de la zona de inhibición depende de ciertas propiedades fisicoquímicas del antibiótico que influyen in vitro sobre la velocidad de difusión en agar y no están necesariamente relacionadas con la actividad terapéutica (in vivo) del antibiótico. La valoración de los halos se hace por patrones obtenidos de forma que se hallan

correlacionadas la CIM y la carga antimicrobiana del disco con el diámetro del halo. Para ello es necesario determinar previamente en forma individual la CIM y el halo de inhibición de un número amplio de cepas. Los resultados se representan en un sistema de coordenadas que nos permite establecer una correspondencia para un antibiótico determinado. De esta forma midiendo el diámetro del halo de inhibición de una cepa por el método del disco-placa, trasladamos este valor a la escala anterior y podemos conocer su CIM (López, 2006).

Los discos se colocan en la superficie de una placa de agar de Müller-Hinton de 4mm de espesor, en la que se acaba de inocular una suspensión de la cepa por probar, con una turbiedad equivalente al tubo 0.5 del nefelómetro de McFarland. Cuando el disco se humedece, el antimicrobiano difunde radialmente hacia fuera y crea un gradiente de concentración por disco; así, el antimicrobiano está en alta concentración cerca del disco y va disminuyendo a medida que se aleja del disco. El diámetro del anillo de inhibición dependerá de la sensibilidad o resistencia del microorganismo por probar, así como también de la solubilidad de la droga y de la tasa de difusión a través del agar. Es importante controlar el medio de cultivo, su espesor, el tiempo de incubación y la concentración de bacterias inoculadas, entre otros factores. (Rodríguez, 2005).

14.12. EMULSIONES

Una emulsión es un sistema disperso que contiene por lo menos dos fases líquidas no miscibles. La mayoría de las emulsiones tienen partículas dispersas de diámetro variable entre 0.1 a 100 μm . Son termodinámicamente inestables como resultado del exceso de energía libre asociada a la superficie de las gotitas.

Las emulsiones son ampliamente usadas en farmacia, y los materiales en estas condiciones pueden poseer ventajas no observadas cuando se formulan con otras formas de dosificación.

Los principios de emulsificación han sido aplicados ampliamente en la formulación de cremas dermatológicas, además, las emulsiones proveen un medio útil para administrar drogas poco hidrosolubles.

Una emulsión estable debe contener por lo menos tres tipos de componentes; la fase dispersa, el medio de dispersión y el agente emulsionante. Uno de los dos líquidos no miscibles es acuoso, mientras que el segundo es un aceite. Que se disperse la fase acuosa o la oleosa depende del agente emulsionante y de las cantidades relativas de las dos fases líquidas.

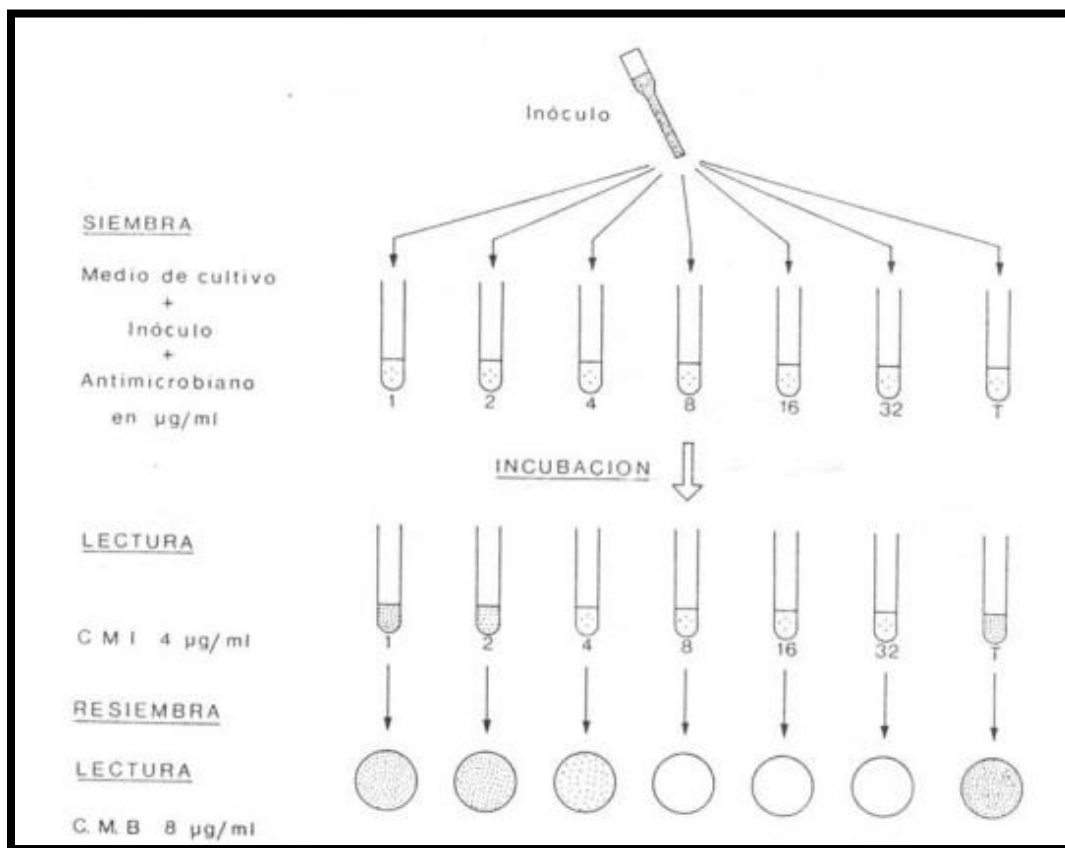
Cuando el aceite está disperso como gotitas en toda la fase acuosa se denomina emulsión de aceite en agua (O/W) (Gennaro, 2003).

FIGURA NO. 10
ESCALA SCOVILLE

Scoville (SCU)	Pimenta
16.000.000	Reines Capsaicin
1.000.000	Trinidad Scorpion
1.000.000 (getestet)	Dorset Naga
1.000.000 (getestet)	Naga Jolokia
640.000 (getestet)	Naga Morich
580.000	Habanero Chocolate Caribbean
577.000 (Guinness Buch)	Habanero Red Savina
350.000 – 400.000	Habanero Mustard
350.000	Habanero Manzano
200.000 – 300.000	Habanero Yellow
200.000	Pingo de Ouro
100.000 - 350.000	Habanero Orange
100.000 - 325.000	Scotch Bonnet
100.000 – 300.000	Cumari do Pará
100.000 – 300.000	Datil Red
100.000 - 225.000	Bird Eye
100.000 – 220.000	Cumari verdadeira
100.000 - 200.000	Jamaican Hot
100.000 - 125.000	Carolina Cayenne
95.000 – 110.000	Apache
95.000 - 110.000	Bahamian
90.000 – 100.000	Zimbabwe Large Red
85.000 - 115.000	Tabiche
75.000 - 80.000	Red Amazon
50.000 - 100.000	Thai
50.000 - 100.000	Chiltepin
50.000 – 70.000	Chi-Chien
40.000 - 58.000	Piquin
40.000 - 50.000	Super
40.000 – 50.000	Beni Highlands
40.000 - 50.000	Santaka
40.000	Purple Naga Jolokia
35.000 – 45.000	Thai Dragon
30.000 - 50.000	Cayenne
30.000 - 50.000	Tabasco
30.000	Peter Pepper
15.000 – 30.000	Criolla Sella Orange
15.000 - 30.000	De Arbol
12.000 - 30.000	Rocoto Manzano
6.000 - 23.000	Serrano
5.000 - 10.000	Hot Wax
5.000 - 10.000	Chipotle
5.000 – 10.000	Chile Puya
2.500 - 8.000	Santaka
2.500 - 5.000	Jalapeño
2.500 - 5.000	Guajilla
2.500 - 5.000	Rote TABASCO Sauce
2.500 – 3.000	Numex Big Jim
1.500 - 2.500	Rocotillo
1.000 - 2.000	Passila
1.000 - 2.000	Ancho
1.000 - 2.000	Poblano
700 - 1.000	Coronado
500 - 2.500	Anaheim
500 – 1.000	Jariza
500 – 1.000	Topepo Rosso
500 - 1.000	New Mexican
500 - 700	Santa Fe Grande
100 - 500	Sifri Biber
0 - 500	Capela
0	Frivarello
0	Doux des Landes
0	Gemüse Paprika

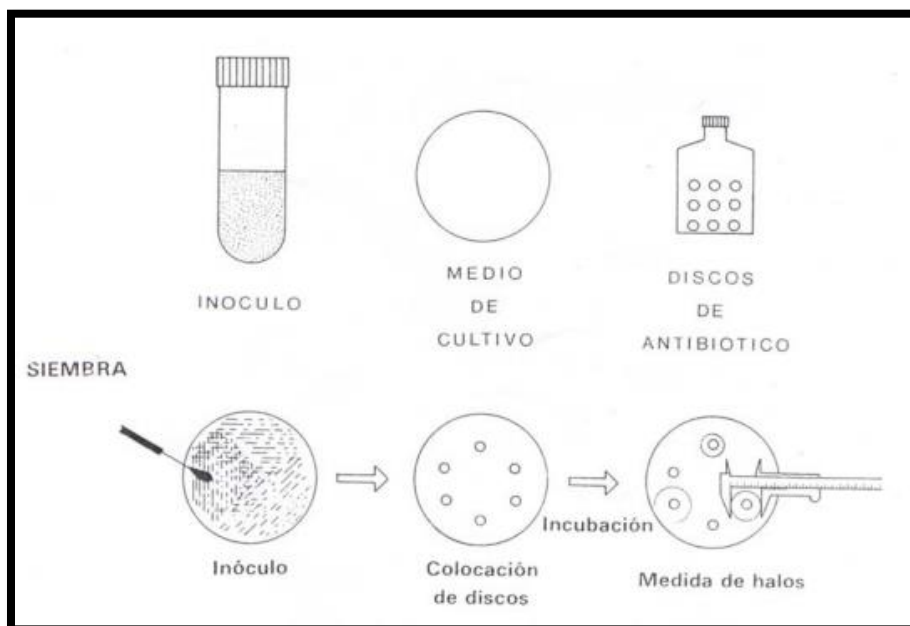
Fuente: Cedron, 2013

FIGURA No. 11
MÉTODO DE DILUCIÓN EN CALDO



Fuente: López, 2006

FIGURA No. 12
MÉTODO KIRBY BAUER



Fuente: López, 2006

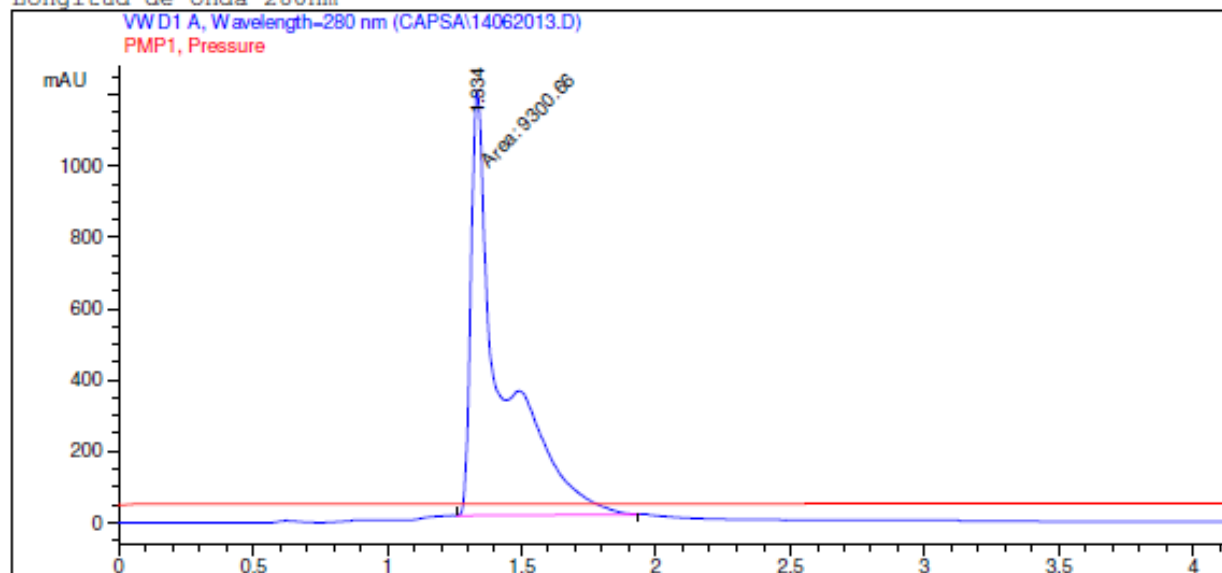
Figura No. 13
Concentración de Chile siete caldos (7 caldos)

Capsaicina

```

-----
Injection Date   : 6/20/2014 11:24:55 AM           Seq. Line :    9
Sample Name     : 7 caldos                          Location  : Vial 3
Acq. Operator   : AdeM                               Inj       :    1
Acq. Instrument : Instrument 2                       Inj Volume: 20 µl
Acq. Method     : C:\HPCHEM\2\METHODS\CAPSAICI.M
Last changed    : 6/20/2014 10:12:55 AM by AdeM
                  (modified after loading)
Analysis Method : C:\HPCHEM\2\METHODS\CAPSAICI.M
Last changed    : 6/20/2014 1:34:01 PM by AdeM
                  (modified after loading)
  
```

UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA, Laboratorio de Analisis Instrumental Avanzado
 Metodo para determinacion de Capsaicina,
 columnas HYPERSIL ODS 200 X 2.1mm, 5µm,
 fase movil 100 % acetonitrilo
 temperatura 50 C, flujo 0.5 ml/min
 Longitud de onda 280nm



 External Standard Report

```

Sorted By       :      Signal
Calib. Data Modified : 6/20/2014 1:34:01 PM
Multiplier      :      1.0000
Dilution        :      1.0000
Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs
  
```

Signal 1: VWD1 A, Wavelength=280 nm

RetTime [min]	Type	Area mAU *s	Amt/Area	Amount [ppm]	Grp	Name
1.334	MM	9300.65820	3.78165e-2	351.71821		Capsaicina

Totals : 351.71821

Results obtained with enhanced integrator!

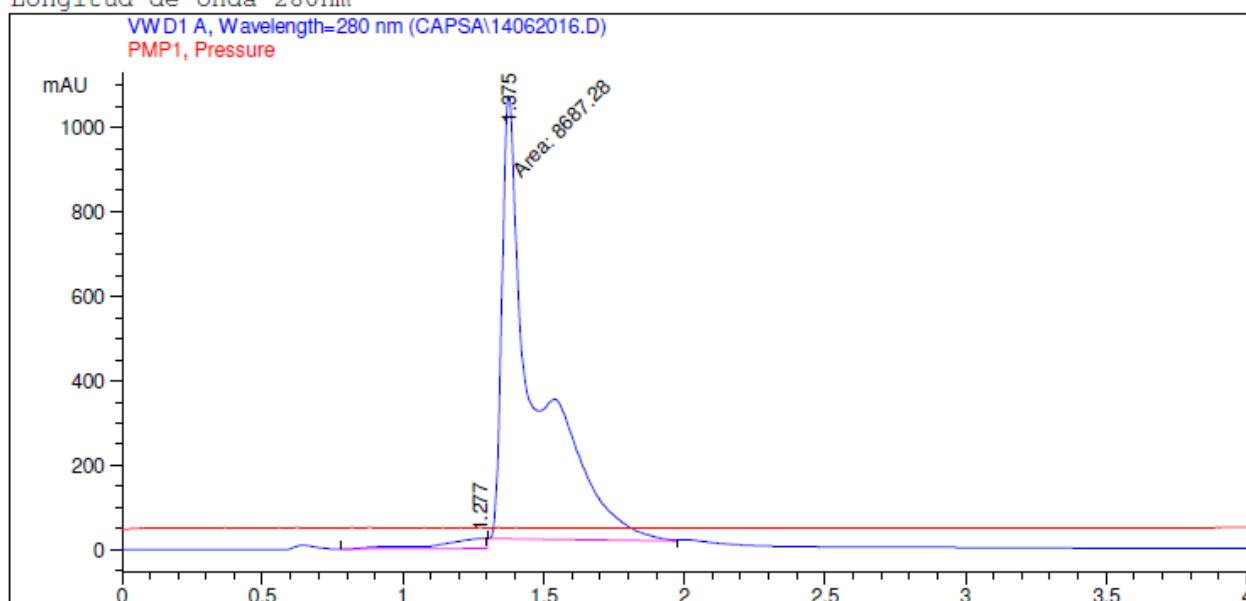
Figura No. 14
Concentración de Chile Siete Caldos

```

=====
Injection Date   : 6/20/2014 11:45:56 AM           Seq. Line :   11
Sample Name     : 7 caldos                          Location  : Vial 3
Acq. Operator   : AdeM                               Inj       :    1
Acq. Instrument : Instrument 2                       Inj Volume: 20 µl
Acq. Method     : C:\HPCHEM\2\METHODS\CAPSAICI.M
Last changed    : 6/20/2014 10:12:55 AM by AdeM
                  (modified after loading)
Analysis Method : C:\HPCHEM\2\METHODS\CAPSAICI.M
Last changed    : 6/20/2014 1:34:01 PM by AdeM
                  (modified after loading)

```

UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA, Laboratorio de Analisis Instrumental Avanzad
 Metodo para determinacion de Capsaicina,
 columnas HYPERSIL ODS 200 X 2.1mm, 5µm,
 fase movil 100 % acetonitrilo
 temperatura 50 C, flujo 0.5 ml/min
 Longitud de onda 280nm



External Standard Report

```

=====
Sorted By       : Signal
Calib. Data Modified : 6/20/2014 1:34:01 PM
Multiplier     : 1.0000
Dilution       : 1.0000
Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs

```

Signal 1: VWD1 A, Wavelength=280 nm

RetTime [min]	Type	Area mAU *s	Amt/Area	Amount [ppm]	Grp	Name
1.375	MM	8687.27930	3.78165e-2	328.52238		Capsaicina

Totals : 328.52238

Results obtained with enhanced integrator!

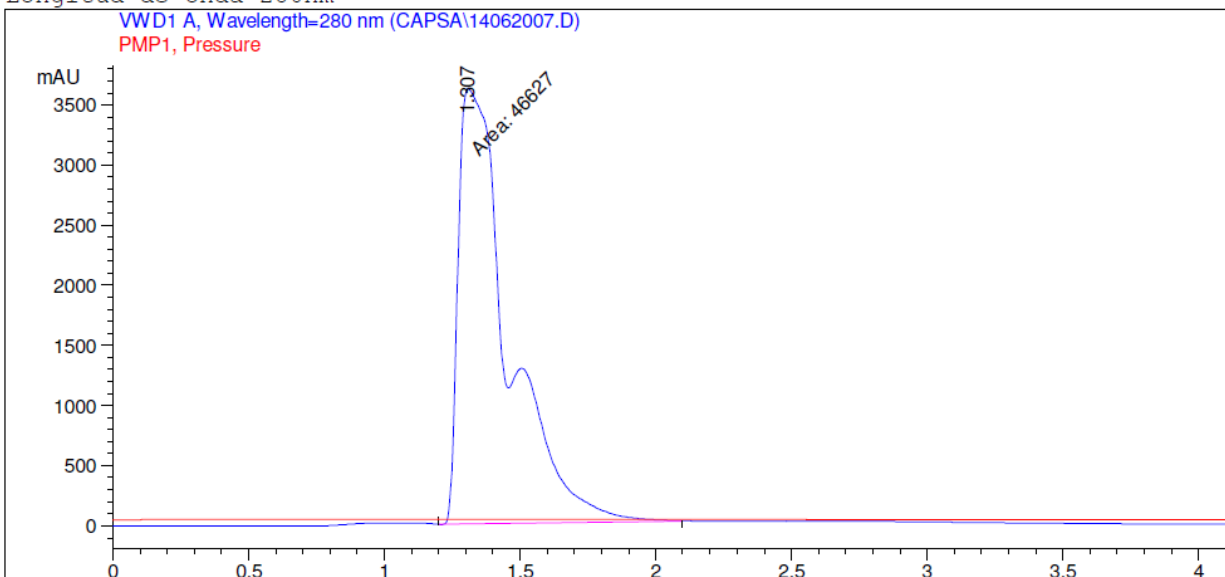
*** End of Report ***

Figura No. 15
Concentración de Chile chiltepe

```

=====
Injection Date   : 6/20/2014 10:42:52 AM           Seq. Line :    5
Sample Name     : Chiltepe                         Location  : Vial 2
Acq. Operator   : AdeM                             Inj       :    1
Acq. Instrument : Instrument 2                     Inj Volume: 20 µl
Acq. Method     : C:\HPCHEM\2\METHODS\CAPSAICI.M
Last changed    : 6/20/2014 10:12:55 AM by AdeM
                  (modified after loading)
Analysis Method : C:\HPCHEM\2\METHODS\CAPSAICI.M
Last changed    : 6/20/2014 1:34:01 PM by AdeM
                  (modified after loading)
  
```

UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA, Laboratorio de Analisis Instrumental Avanzado
 Metodo para determinacion de Capsaicina,
 columnas HYPERSIL ODS 200 X 2.1mm, 5µm,
 fase movil 100 % acetonitrilo
 temperatura 50 C, flujo 0.5 ml/min
 Longitud de onda 280nm



External Standard Report

```

Sorted By      :      Signal
Calib. Data Modified : 6/20/2014 1:34:01 PM
Multiplier     :      1.0000
Dilution       :      1.0000
Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs
  
```

Signal 1: VWD1 A, Wavelength=280 nm

RetTime [min]	Type	Area mAU	Amt/Area *s	Amount [ppm]	Grp	Name
1.307	MM	4.66270e4	3.78165e-2	1763.27108		Capsaicina

Totals : 1763.27108

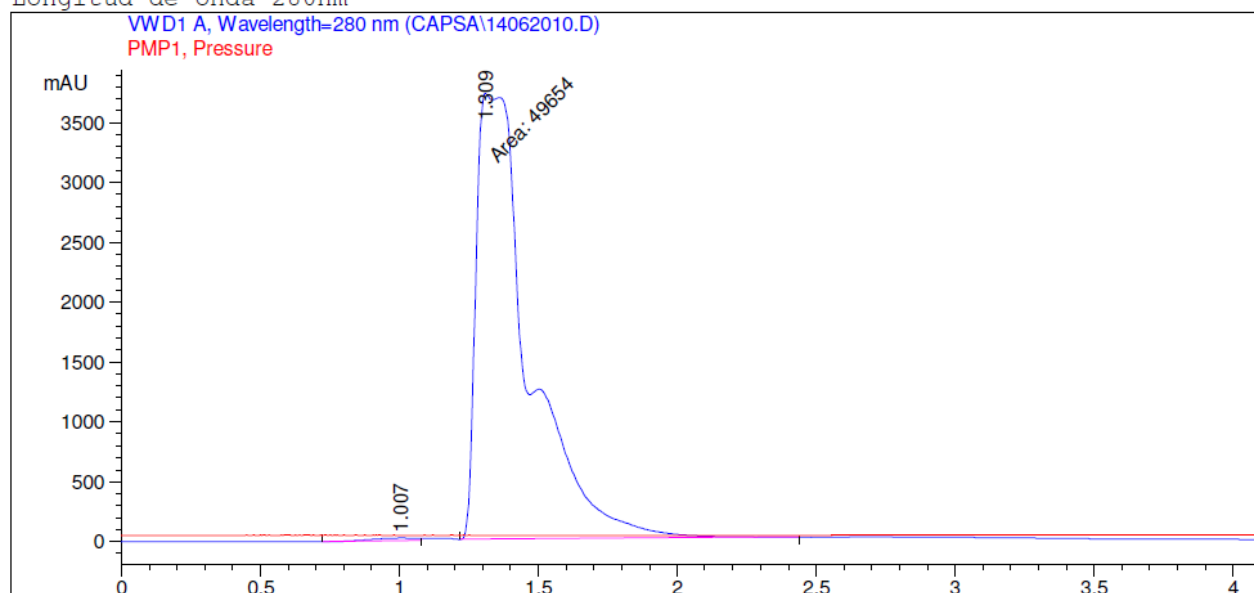
Results obtained with enhanced integrator!

*** End of Report ***

Figura No. 16
Concentración de Chile chiltepe

Injection Date : 6/20/2014 11:03:54 AM Seq. Line : 7
Sample Name : Chiltepe Location : Vial 2
Acq. Operator : AdeM Inj : 1
Acq. Instrument : Instrument 2 Inj Volume : 20 µl
Acq. Method : C:\HPCHEM\2\METHODS\CAPSAICI.M
Last changed : 6/20/2014 10:12:55 AM by AdeM
 (modified after loading)
Analysis Method : C:\HPCHEM\2\METHODS\CAPSAICI.M
Last changed : 6/20/2014 1:34:01 PM by AdeM
 (modified after loading)

UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA, Laboratorio de Analisis Instrumental Avanzado
Metodo para determinacion de Capsaicina,
columnas HYPERSIL ODS 200 X 2.1mm, 5µm,
fase movil 100 % acetonitrilo
temperatura 50 C, flujo 0.5 ml/min
Longitud de onda 280nm



=====
External Standard Report
=====

Sorted By : Signal
Calib. Data Modified : 6/20/2014 1:34:01 PM
Multiplier : 1.0000
Dilution : 1.0000
Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs

Signal 1: VWD1 A, Wavelength=280 nm

RetTime [min]	Type	Area mAU *s	Amt/Area	Amount [ppm]	Grp	Name
1.309	MM	4.96540e4	3.78165e-2	1877.73996	-	Capsaicina

Totals : 1877.73996

Results obtained with enhanced integrator!

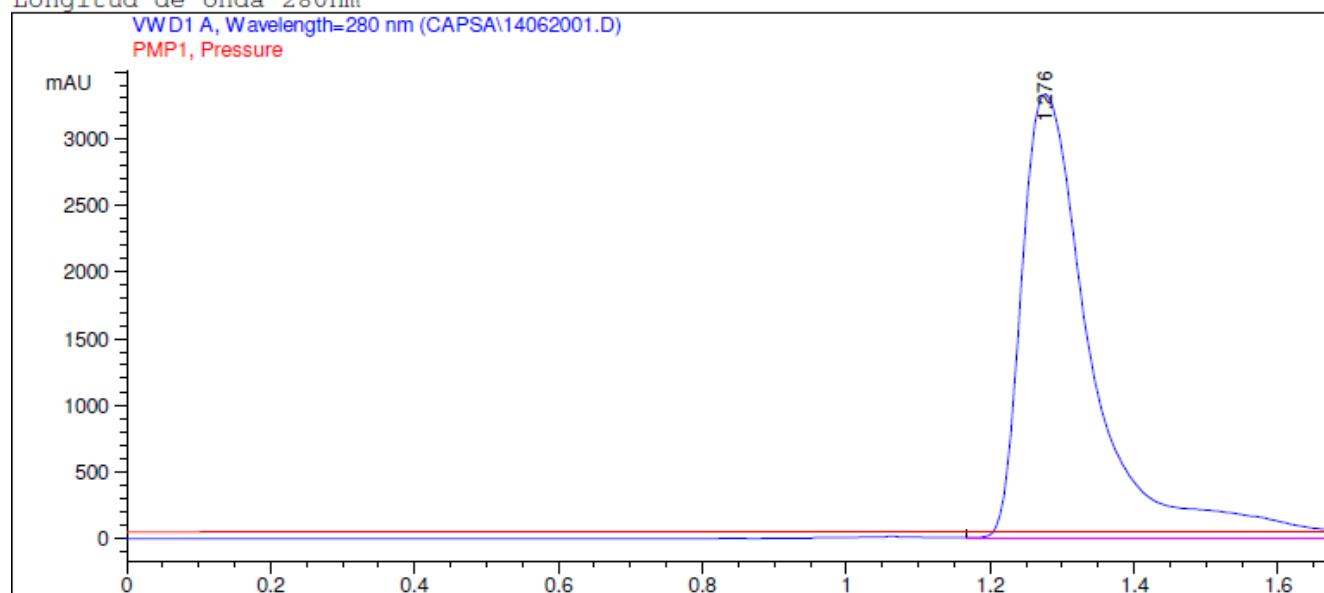
=====
*** End of Report ***

Figura No. 17
Concentración Chile guaque

```

-----
Injection Date   : 6/20/2014 10:06:49 AM          Seq. Line :    1
Sample Name     : Guaque                          Location  : Vial 1
Acq. Operator  : AdeM                             Inj       :    1
Acq. Instrument : Instrument 2                    Inj Volume: 20 µl
Acq. Method    : C:\HPCHEM\2\METHODS\CAPSAICI.M
Last changed   : 6/18/2014 9:42:47 AM by AdeM
Analysis Method : C:\HPCHEM\2\METHODS\CAPSAICI.M
Last changed   : 6/20/2014 1:34:01 PM by AdeM
                (modified after loading)
  
```

UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA, Laboratorio de Analisis Instrumental Avanzado
 Metodo para determinacion de Capsaicina,
 columnas HYPERSIL ODS 200 X 2.1mm, 5µm,
 fase movil 100 % acetonitrilo
 temperatura 50 C, flujo 0.5 ml/min
 Longitud de onda 280nm



External Standard Report

```

Sorted By      :      Signal
Calib. Data Modified :      6/20/2014 1:34:01 PM
Multiplier     :      1.0000
Dilution       :      1.0000
Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs
  
```

Signal 1: VWD1 A, Wavelength=280 nm

RetTime [min]	Type	Area mAU *s	Amt/Area	Amount [ppm]	Grp	Name
1.276	VBA	2.36476e4	3.78165e-2	894.26743		Capsaicina

Totals : 894.26743

Results obtained with enhanced integrator!

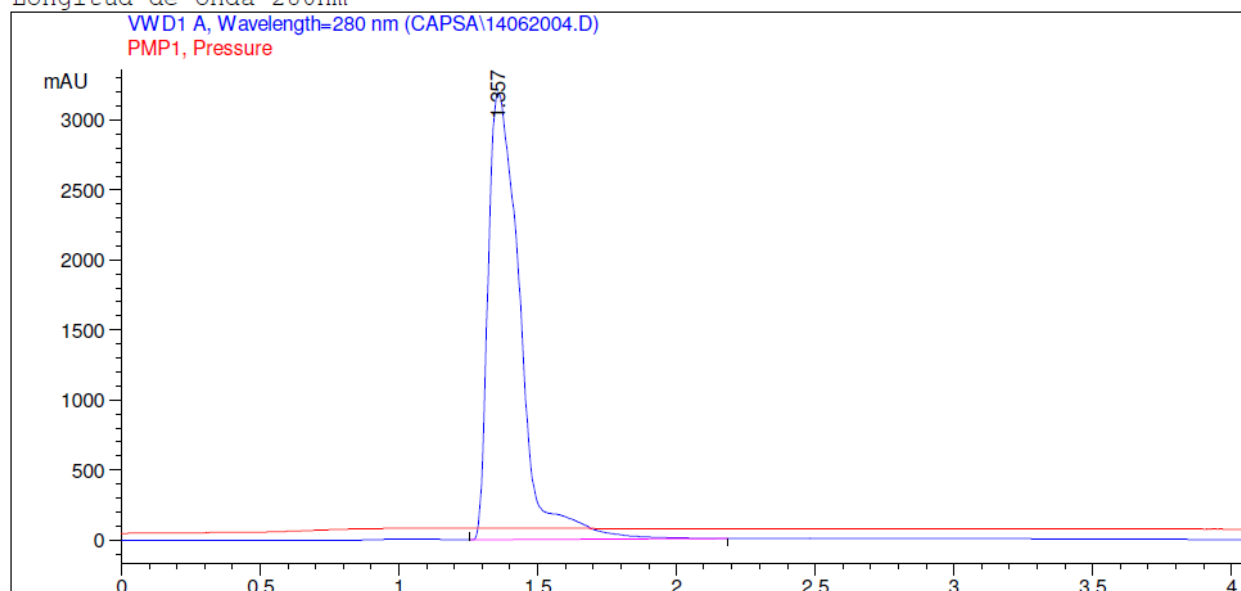
*** End of Report ***

Figura No. 18
Concentración de Chile guaque

```

=====
Injection Date   : 6/20/2014 10:21:50 AM           Seq. Line :    3
Sample Name     : Guaque                          Location  : Vial 1
Acq. Operator   : AdeM                           Inj       :    1
Acq. Instrument : Instrument 2                    Inj Volume: 20 µl
Acq. Method     : C:\HPCHEM\2\METHODS\CAPSAICI.M
Last changed    : 6/20/2014 10:12:55 AM by AdeM
                  (modified after loading)
Analysis Method : C:\HPCHEM\2\METHODS\CAPSAICI.M
Last changed    : 6/20/2014 1:34:01 PM by AdeM
                  (modified after loading)
UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA, Laboratorio de Analisis Instrumental Avanzado
Metodo para determinacion de Capsaicina,
columnas HYPERSIL ODS 200 X 2.1mm, 5µm,
fase movil 100 % acetonitrilo
temperatura 50 C, flujo 0.5 ml/min
Longitud de onda 280nm
=====

```



External Standard Report

```

=====
Sorted By       : Signal
Calib. Data Modified : 6/20/2014 1:34:01 PM
Multiplier     : 1.0000
Dilution       : 1.0000
Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs
=====

```

Signal 1: VWD1 A, Wavelength=280 nm

RetTime [min]	Type	Area mAU	Amt/Area *s	Amount [ppm]	Grp	Name
1.357	VB	2.55953e4	3.78165e-2	967.92419		Capsaicina

Totals : 967.92419

Results obtained with enhanced integrator!

*** End of Report ***

Figura No. 19 Estándar de Capsaicina

Data File C:\HPCHEM\2\DATA\CAPSA\14061702.D

Sample Name: Estandar

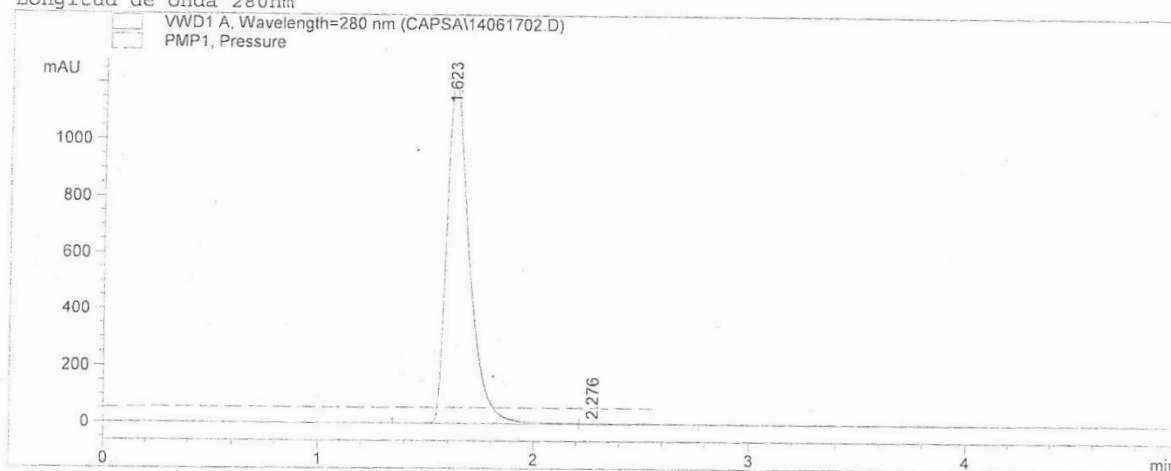
Estandar USP Capsaicina

```

=====
Injection Date   : 6/17/2014 11:14:47 AM          Seq. Line :    1
Sample Name     : Estandar                       Location  : Vial 1
Acq. Operator   : AdeM                           Inj       :    3
Acq. Instrument : Instrument 2                     Inj Volume: 20 µl
Acq. Method     : C:\HPCHEM\2\METHODS\CAPSAICT.M
Last changed    : 6/17/2014 10:59:00 AM by AdeM
Analysis Method : C:\HPCHEM\2\METHODS\CAPSAICT.M
Last changed    : 6/17/2014 11:23:39 AM by AdeM
                  (modified after loading)

```

UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA, Laboratorio de Analisis Instrumental Avanzado
 Metodo para determinacion de Capsaicina,
 columnas HYPERSIL ODS 200 X 2.1mm, 5µm,
 fase movil 100 % acetonitrilo
 temperatura 50 C, flujo 0.5 ml/min
 Longitud de onda 280nm



Area Percent Report

```

=====
Sorted By      :      Signal
Multiplier     :      1.0000
Dilution       :      1.0000
Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs

```

Signal 1: VWD1 A, Wavelength=280 nm

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area mAU *s	Height [mAU]	Area %
1	1.623	PV	0.1096	8872.70898	1219.80212	99.6887
2	2.276	VB	0.1992	27.70524	1.88454	0.3113

Totals : 8900.41423 1221.68666

Results obtained with enhanced integrator!

Figura No. 20
Estándar de Capsaicina

Data File C:\HPCHEM\2\DATA\CAPSA\14061700.D

Sample Name: Estandar

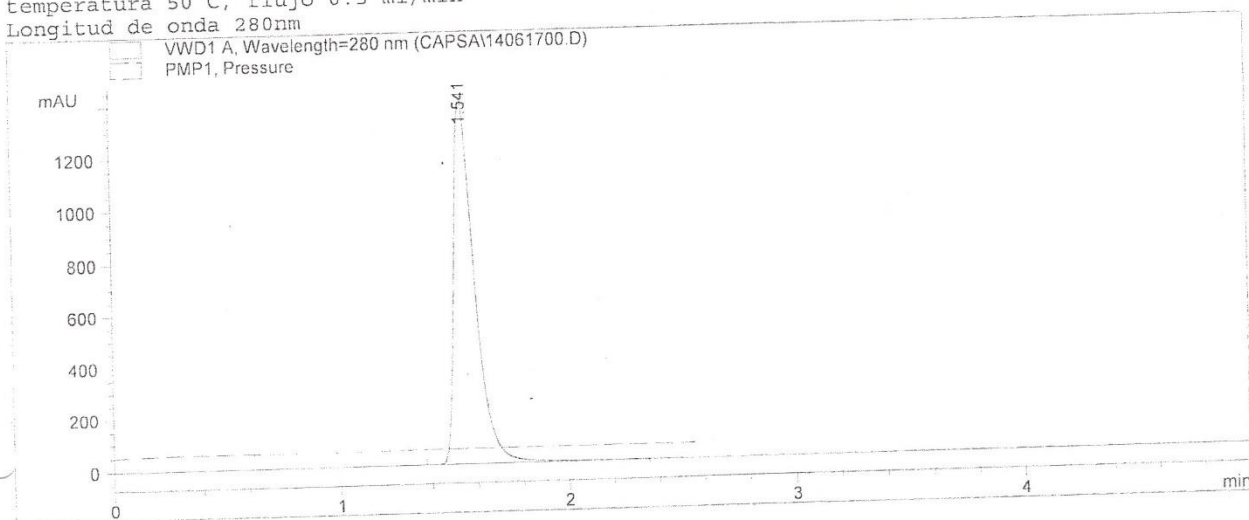
Estandar USP Capsaicina

```

=====
Injection Date : 6/17/2014 11:00:48 AM      Seq. Line : 1
Sample Name    : Estandar                    Location  : Vial 1
Acq. Operator  : AdeM                       Inj      : 1
Acq. Instrument : Instrument 2              Inj Volume : 20 µl
Acq. Method    : C:\HPCHEM\2\METHODS\CAPSAICI.M
Last changed   : 6/17/2014 10:59:00 AM by AdeM
Analysis Method : C:\HPCHEM\2\METHODS\CAPSAICI.M
Last changed   : 6/17/2014 11:23:39 AM by AdeM
                (modified after loading)
=====

```

UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA, Laboratorio de Analisis Instrumental Avanzado
 Metodo para determinacion de Capsaicina,
 Columnas HYPERSIL ODS 200 X 2.1mm, 5µm,
 fase movil 100 % acetonitrilo
 temperatura 50 C, flujo 0.5 ml/min
 Longitud de onda 280nm



```

=====
                          Area Percent Report
=====

```

```

Sorted By      :      Signal
Multiplier     :      1.0000
Dilution       :      1.0000
Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs

```

Signal 1: VWD1 A, Wavelength=280 nm

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area mAU *s	Height [mAU]	Area %
1	1.541	PB	0.0931	8769.88086	1407.17004	100.0000

Totals : 8769.88086 1407.17004

Results obtained with enhanced integrator!

```

=====

```

Figura No. 21 Estándar de Capsaicina

Data File C:\HPCHEM\2\DATA\CAPSA\14061701.D

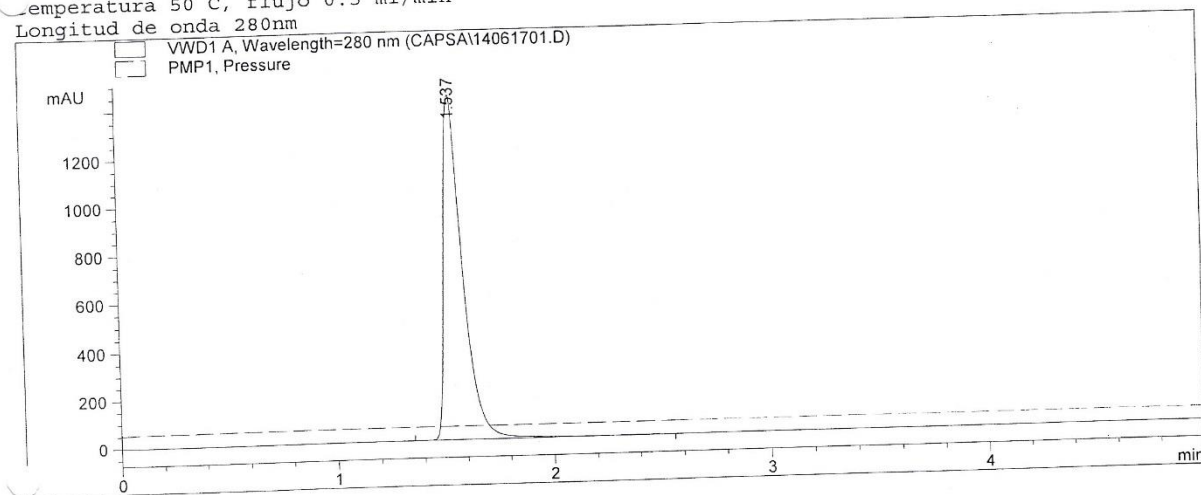
Sample Name: Estandar

Estandar USP Capsaicina

```

=====
Injection Date   : 6/17/2014 11:07:49 AM      Seq. Line :    1
Sample Name     : Estandar                    Location  : Vial 1
Acq. Operator   : AdeM                       Inj       :    2
Acq. Instrument : Instrument 2                Inj Volume: 20 µl
Acq. Method     : C:\HPCHEM\2\METHODS\CAPSAICI.M
Last changed    : 6/17/2014 10:59:00 AM by AdeM
Analysis Method : C:\HPCHEM\2\METHODS\CAPSAICI.M
Last changed    : 6/17/2014 11:23:39 AM by AdeM
                  (modified after loading)
  
```

UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA, Laboratorio de Analisis Instrumental Avanzado
 Metodo para determinacion de Capsaicina,
 columnas HYPERSIL ODS 200 X 2.1mm, 5µm,
 fase movil 100 % acetonitrilo
 temperatura 50 C, flujo 0.5 ml/min
 Longitud de onda 280nm



Area Percent Report

```

Sorted By      : Signal
Multiplier    : 1.0000
Dilution      : 1.0000
Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs
  
```

Signal 1: VWD1 A, Wavelength=280 nm

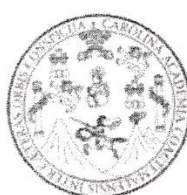
Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area mAU *s	Height [mAU]	Area %
1	1.537	PB	0.0911	8720.93457	1438.00171	100.0000

Totals : 8720.93457 1438.00171

Results obtained with enhanced integrator!

*** End of Report ***

Figura No. 22
Análisis Microbiológico de Extractos de Chile Guaque, Chile siete caldos



USAC
TRICENTENARIA
 Universidad de San Carlos de Guatemala

27 de junio de 2014

125-127 A/014

I. Información general:

Refiere: Srita. Maria Gabriela Tuch
Institución: Particular
Procedencia: área de producción
Tipo de muestra: Extractos de chile
Análisis solicitado: cultivo en placa.
Fecha y hora de ingreso al laboratorio: 26/06/14; 08:25 h.
Fecha y Hora de muestreo: 26/06/14; 07:30 h.
Metodología: recuento aeróbico en placa

II. Resultados

No.*	Muestra	Resultado
125	Extracto de chile chiltepe	500 UFC/ml** estimado
126	Extracto de chile guaque	< 10 UFC/ml
127	Extracto de chile siete caldos	< 10 UFC/ml

*Número de ingreso al laboratorio

** UFC/ml: Unidades formadoras de colonia por mililitro de muestra analizado

III. Conclusiones

En base a la muestra recibida en el laboratorio, se aislaron 500 colonias del extracto de chile chiltepe.

Se recomienda revisar las buenas prácticas en el proceso de producción para evitar el crecimiento de estos microorganismos.

“ID y ENSEÑAD A TODOS”

Wendy A. Chamalé Contreras



Lcda. Wendy A. Chamalé Contreras

LAMIR

Laboratorio Microbiológico de Referencia –LAMIR–
 Edificio T-12, 2do Nivel
 Tel/Fax 24189413 ext. 108

Figura No. 23
Análisis Microbiológico de Extracto de Chile Chiltepe



24 de julio de 2014

148 A/014

I. Información general:

Refiere: Srita. Maria Gabriela Tuch
Institución: Particular
Procedencia: área de producción
Tipo de muestra: Extractos de chile
Análisis solicitado: cultivo en placa.
Fecha y hora de ingreso al laboratorio: 21/07/14; 14:00 h.
Fecha y Hora de muestreo: 21/07/14; 11:00 h.
Metodología: recuento aeróbico en placa

II. Resultados

Muestra	Resultado
Extracto de chile chiltepe	< 10 UFC/ml** estimado

** UFC/ml: Unidades formadoras de colonia por mililitro de muestra analizado

III. Conclusiones

Esta muestra no presenta contaminación de origen bacteriano, por lo que cumple con el criterio de inocuidad. Recuerde que una buena toma de muestra es fundamental para la confiabilidad de los resultados.

"¡D y ENSEÑAD A TODOS"

Lcda. Wendy A. Chamalé Contreras
 Laboratorio Microbiológico de Referencia –LAMIR–
 Edificio T-12, 2do Nivel
 Tel/Fax 24189413 ext. 108

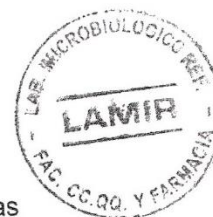
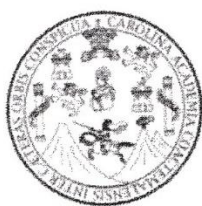


Figura No. 24
Análisis Microbiológico de Crema de Uso tópico a base de extracto de Chile



USAC
TRICENTENARIA
 Universidad de San Carlos de Guatemala

26 de noviembre de 2014

234 A/014

I. Información general:

Refiere: Srita. María Gabriela Tuch

Institución: Facultad de Farmacia

Procedencia: laboratorio de Farmacia Industrial

Tipo de muestra: crema de chile

Análisis solicitado: Recuento aeróbico en placa de bacterias, recuento de mohos y levaduras, recuento de coliformes totales e identificación de *Escherichia coli*.

Fecha y hora de ingreso al laboratorio: 20/11/14; 08:00 hrs.

Fecha y Hora de muestreo: 19/11/14; 17:00 hrs.

II. Resultados (Con base a la muestra tal y como fue referida al laboratorio)

Recuento aeróbico en placa de bacterias:

Recuento aeróbico de mohos y levaduras

Estimado de coliformes totales:* (valor estimado)

No se aisló *Escherichia coli*

Resultado

< 10 UFC/g* estimado

< 15 UFC/g* estimado

< 1 UFC/g estimado

*UFC/g: unidades formadoras de colonia por gramo de muestra analizada.

III. Conclusión: desde el punto de vista microbiológico y en base a los resultados obtenidos la muestra, No presentan contaminación con *Escherichia coli*, por lo que Cumplen con el criterio establecido en el Reglamento Técnico Centroamericano RTCA 11.03.56.09 Productos Farmacéuticos. Productos Naturales Medicinales para uso humano. Verificación de la calidad.

“ID y ENSEÑAD A TODOS”

Wendy A. Chamalé Contreras

Lcda. Wendy A. Chamalé Contreras
 Laboratorio Microbiológico de Referencia –LAMIR–
 Edificio T-12, 2do Nivel
 Tel/Fax 24189413 ext. 108

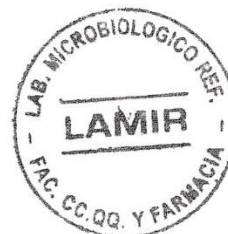


Tabla No. 1

Actividad bactericida o bacteriostática de los extractos de chile sobre *E. coli*, utilizando método dilución en caldo.

Concentración de Capsaicina en Extractos de Chiles		Escherichia coli				
Chile	Concentración Capsaicina en extracto de chile (ppm)	Tubo 1	Tubo 2	Tubo 3	Tubo 4	Tubo 5
Chile Guaque	20	Turbio	Turbio	Turbio	Turbio	Turbio
	40	Traslucido	Traslucido	Traslucido	Traslucido	Traslucido
	60	Turbio	Turbio	Traslucido	Turbio	Turbio
	80	Traslucido	Traslucido	Traslucido	Traslucido	Traslucido
Chile Chiltepe	20	Turbio	Turbio	Turbio	Turbio	Turbio
	40	Traslucido	Traslucido	Traslucido	Traslucido	Traslucido
	60	Turbio	Traslucido	Traslucido	Turbio	Turbio
	80	Traslucido	Traslucido	Traslucido	Traslucido	Traslucido
Chile siete caldos	20	Turbio	Turbio	Turbio	Traslucido	Traslucido
	40	Traslucido	Traslucido	Traslucido	Traslucido	Traslucido
	60	Turbio	Turbio	Turbio	Turbio	Traslucido
	80	Turbio	Turbio	Turbio	Turbio	Turbio

Fuente: Fase Experimental.

Tabla No. 2

Actividad bactericida o bacteriostática de los extractos de chile sobre *Staphylococcus aureus*, utilizando método dilución en caldo.

Concentración de Capsaicina en Extractos de Chiles		<i>Staphylococcus aureus</i>				
Chile	Concentración Capsaicina en extracto de chile (ppm)	Tubo 1	Tubo 2	Tubo 3	Tubo 4	Tubo 5
Chile Guaque	20	Turbio	Turbio	Turbio	Turbio	Turbio
	40	Traslucido	Traslucido	Traslucido	Traslucido	Traslucido
	60	Traslucido	Traslucido	Traslucido	Traslucido	Traslucido
	80	Traslucido	Traslucido	Traslucido	Traslucido	Traslucido
Chile Chiltepe	20	Traslucido	Traslucido	Traslucido	Traslucido	Traslucido
	40	Traslucido	Traslucido	Traslucido	Traslucido	Traslucido
	60	Traslucido	Turbio	Turbio	Turbio	Turbio
	80	Turbio	Turbio	Traslucido	Turbio	Turbio
Chile siete caldos	20	Turbio	Turbio	Turbio	Traslucido	Turbio
	40	Traslucido	Traslucido	Traslucido	Traslucido	Traslucido
	60	Turbio	Turbio	Turbio	Traslucido	Traslucido
	80	Traslucido	Turbio	Turbio	Turbio	Turbio

Fuente: Fase Experimental.

Tabla No. 3

Actividad bactericida o bacteriostática de los extractos de chile sobre *Pseudomona aeruginosa*, utilizando método dilución en caldo.

Concentración de Capsaicina en Extractos de Chiles		<i>Pseudomona aeruginosa</i>				
Chile	Concentración Capsaicina en extracto de chile (ppm)	Tubo 1	Tubo 2	Tubo 3	Tubo 4	Tubo 5
Chile Guaque	20	Traslucido	Traslucido	Traslucido	Traslucido	Traslucido
	40	Traslucido	Traslucido	Traslucido	Traslucido	Traslucido
	60	Traslucido	Traslucido	Traslucido	Traslucido	Traslucido
	80	Traslucido	Traslucido	Traslucido	Traslucido	Traslucido
Chile Chiltepe	20	Traslucido	Traslucido	Traslucido	Traslucido	Traslucido
	40	Traslucido	Traslucido	Traslucido	Traslucido	Traslucido
	60	Traslucido	Traslucido	Traslucido	Traslucido	Traslucido
	80	Traslucido	Traslucido	Traslucido	Traslucido	Traslucido
Chile siete caldos	20	Traslucido	Traslucido	Traslucido	Traslucido	Traslucido
	40	Traslucido	Traslucido	Traslucido	Traslucido	Traslucido
	60	Traslucido	Traslucido	Traslucido	Traslucido	Traslucido
	80	Traslucido	Traslucido	Traslucido	Traslucido	Traslucido

Fuente: Fase Experimental.

Tabla No. 4

Prueba confirmatoria de actividad bactericida o bacteriostática de los extractos de chile sobre *E. coli*, utilizando método dilución en caldo, sembrado en cajas de Petri.

Concentración de Capsaicina en Extractos de Chiles		Crecimiento de <i>Escherichia coli</i> En Cajas de Petri									
Chile	Concentración Capsaicina en extracto de chile (ppm)	prueba 1		Prueba 2		Prueba 3		Prueba 4		Prueba 5	
		Positivo	Negativo	Positivo	Negativo	Positivo	Negativo	Positivo	Negativo	Positivo	Negativo
Chile Guaque	40		✓		✓	✓		✓			✓
	80		✓		✓		✓		✓		✓
Chile Chiltepe	40		✓	✓			✓		✓	✓	
	80	✓		✓			✓		✓	✓	
Chile siete caldos	40		✓		✓		✓		✓		✓

Fuente: Fase Experimental.

Tabla No. 5

Prueba confirmatoria de actividad bactericida o bacteriostática de los extractos de chile sobre *Staphylococcus aureus*, utilizando método dilución en caldo, sembrado en cajas de Petri.

Concentración de Capsaicina en Extractos de Chiles		Crecimiento de <i>Staphylococcus aureus</i> En Cajas de Petri									
Chile	Concentración Capsaicina en extracto de chile (ppm)	prueba 1		Prueba 2		Prueba 3		Prueba 4		Prueba 5	
		Positivo	Negativo	Positivo	Negativo	Positivo	Negativo	Positivo	Negativo	Positivo	Negativo
Chile Guaque	40		✓		✓		✓		✓		✓
	60		✓		✓		✓		✓		✓
	80		✓		✓	✓		✓			✓
Chile Chiltepe	20		✓		✓		✓		✓		✓
	40		✓		✓		✓		✓		✓
Chile siete caldos	40		✓	✓		✓			✓		✓

Fuente: Fase Experimental.

Tabla No. 6

Prueba confirmatoria de actividad bactericida o bacteriostática de los extractos de chile sobre *Pseudomona aeruginosa*, utilizando método dilución en caldo, sembrado en cajas de Petri.

Concentración de Capsaicina en Extractos de Chiles		Crecimiento de <i>Pseudomona aeruginosa</i> En cajas de petri									
Chile	Concentración Capsaicina en extracto de chile (ppm)	prueba 1		Prueba 2		Prueba 3		Prueba 4		Prueba 5	
		Positivo	Negativo	Positivo	Negativo	Positivo	Negativo	Positivo	Negativo	Positivo	Negativo
Chile Guaque	20		✓		✓		✓		✓		✓
	40		✓		✓		✓		✓		✓
	60		✓		✓		✓		✓		✓
	80		✓		✓		✓		✓		✓
Chile Chiltepe	20		✓		✓		✓		✓		✓
	40		✓		✓		✓		✓		✓
	60		✓		✓		✓		✓		✓
	80		✓		✓		✓		✓		✓
Chile siete caldos	20		✓		✓		✓		✓		✓
	40		✓		✓		✓		✓		✓
	60		✓		✓		✓		✓		✓
	80		✓		✓		✓		✓		✓

Fuente: Fase Experimental.

Tabla No. 7

Halos de inhibición de los extractos efectivos con capacidad bactericida y Bacteriostática sobre *Escherichia coli*.

Concentración de Capsaicina en Extractos de Chiles		<i>Escherichia coli</i>				
Chile	Concentración Capsaicina en extracto de chile (ppm)	halo 1 (mm)	Halo 2 (mm)	Halo 3 (mm)	Halo 4 (mm)	Halo 5 (mm)
Chile Guaque	40	8.25	8.10	8.25	8.40	8.45
	80	9.25	9.20	9.20	9.20	8.15
Chile Chiltepe	40	8.55	8.55	8.30	8.55	8.30
	80	10.25	9.50	8.35	12.15	10.30
Chile siete caldos	40	14.60	14.40	13.55	15.50	15.50

Fuente: Fase Experimental.

Tabla No. 8

Halos de inhibición de los extractos efectivos con capacidad bactericida y Bacteriostática sobre *Staphylococcus aureus*.

Concentración de Capsaicina en Extractos de Chiles		<i>Staphylococcus aureus</i>				
Chile	Concentración Capsaicina en extracto de chile (ppm)	Halo 1 (mm)	Halo 2 (mm)	Halo 3 (mm)	Halo 4 (mm)	Halo 5 (mm)
Chile Guaque	40	11.45	8.20	9.65	8.65	9.55
	60	8.05	8.80	8.80	8.80	14.00
	80	7.80	7.80	7.80	8.55	9.05
Chile Chiltepe	20	18.5	9.40	7.40	12.20	8.95
	40	9.30	8.55	9.15	7.80	7.80

Fuente: Fase Experimental.

Tabla No. 9

Halos de inhibición de los extractos efectivos con capacidad bactericida y Bacteriostática sobre *Pseudomonas aerus*.

Concentración de Capsaicina en Extractos de Chiles		<i>Pseudomona aeruginosa</i>				
Chile	Concentración Capsaicina en extracto de chile	Halo 1	Halo 2	Halo 3	Halo 4	Halo 5
Chile Guaque	60	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Chile siete caldos	40	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

Fuente: Fase Experimental.

IMAGEN No. 1

Extracción de Chile siete caldos



Fuente: Fase experimental.

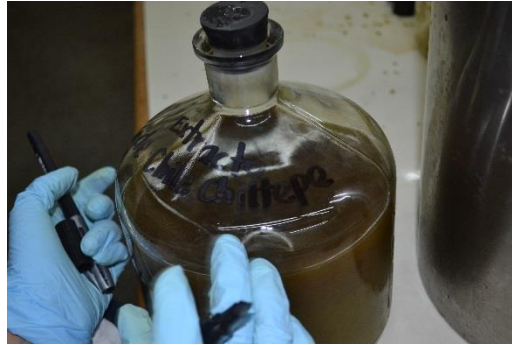
IMAGEN No. 2

Extracción de Chile guaque



Fuente: Fase experimental

IMAGEN No. 3
Extracto de Chile Chiltepe



Fuente: Fase experimental

IMAGEN No. 4
Extracto de Chile Siete Caldos, Chile chiltepe y Chile Guaque



Fuente: Fase experimental

IMAGEN No. 5
Método dilución en caldo empleando *Staphylococcus aureus*



Fuente: Fase experimental

IMAGEN No. 6

Método de dilución en caldo utilizando *E. coli*.



Fuente: Fase experimental

IMAGEN No. 7

Halos de inhibición de extracto Siete Caldos sobre *E. coli*



Fuente: Fase experimental

IMAGEN No. 8

Crema elaborada a partir de extractos de Chile Guaque, Chile chiltepe y Chile Siete Caldos



Fuente: Fase experimental

Contenido

1.RESUMEN	1
2.INTRODUCCIÓN	2
3.ANTECEDENTES	3
4.JUSTIFICACIÓN	4
5.OBJETIVOS	5
5.1.GENERAL	5
5.2.ESPECIFICOS	5
6.HIPÓTESIS	6
7.MATERIALES Y MÉTODOS.....	7
7.1.UNIVERSO	7
7.2.MUESTRA.....	7
7.3.RECURSOS	7
7.3.1.MATERIALES.....	7
7.3.1.1.REACTIVOS	7
7.3.1.2.CRISTALERÍA	7
7.3.1.3.EQUIPO.....	8
7.3.1.4.MATERIA PRIMA.....	8
7.4.MÉTODOS	9
7.4.1. PREPARACIÓN DE LA MUESTRA	9
7.4.1.1. RECOLECCIÓN	9
7.4.1.2. PREPARACIÓN	9
7.4.2. OBTENCIÓN DEL EXTRACTO	9
7.4.2.1.MOLIENDA	9
7.4.2.2. MACERACIÓN	9
7.4.3.DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE CAPSAICINA.....	10
7.4.3.1.CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA RESOLUCIÓN (HPLC).....	10
7.4.3.2.CUANTIFICACIÓN DE LAS MUESTRAS	10
7.4.4. CONTROL MICROBIOLÓGICO DE LOS EXTRACTOS	10
7.4.5. DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD BACTERICIDA Y BACTERIOSTÁTICA DEL EXTRACTO DE CHILE ...	11
7.4.5.1. MÉTODO DE DILUCIÓN EN CALDO	11
7.4.5.2. MÉTODO DE KIRBY BAUER.....	11
7.4.6.FORMULACIÓN DE CREMA DE USO TÓPICO REALIZADA A PARTIR DEL EXTRACTO DE CHILE	12
7.4.7.CONTROL MICROBIOLÓGICO DE LA CREMA DE USO TÓPICO REALIZADA A PARTIR DEL EXTRACTO DE CHILE	13
7.4.8. DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD BACTERICIDA Y BACTERIOSTÁTICA DE LA CREMA DE USO TÓPICO REALIZADA A PARTIR DEL EXTRACTO DE CHILE	14
8.DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN	15

9.RESULTADOS.....	16
10.DISCUSIÓN	23
11.CONCLUSIONES	27
12.RECOMENDACIONES	28
13.REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	29
14.ANEXOS	32
14.1. GÉNERO CAPSICUM.....	32
14.1.1. CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS DEL GÉNERO CAPSICUM	32
14.1.2 COMPOSICIÓN QUÍMICA Y VALOR NUTRITIVO DEL GÉNERO CAPSICUM	33
14.1.3. CAPSAICINOIDES	34
14.2 ESCALA SCOVILLE.....	38
14.3 CHILE SIETE CALDOS (<i>Capsicum pubescens</i>)	38
14.4 CHILE GUAQUE (<i>Capsicum annum var. Longum Sendt. </i>)	39
14.5 CHILE CHILTEPE (<i>Capsicum annum var. glabriusculum.</i>)	39
14.6 USOS DE LA CAPSAICINA.....	39
14.7. PIEL.....	41
14.8. INFECCIONES BACTERIANAS LOCALES	42
14.8.2 BACTERIAS PRESENTES EN LA PIEL.....	42
14.9. ANTIMICROBIANOS	43
14.10.MÉTODOS	44
14.10.1SECADO	44
14.10.2. MOLIENDA	44
14.10.3 MACERACIÓN	44
14.10.4. CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA RESOLUCIÓN (HPLC)	45
14.10.5. CONTROL DE MICROORGANISMOS	45
14.11. DETERMINACIÓN DE CAPACIDAD BACTERICIDA Y BACTERIOSTÁTICA.....	46
14.11.1 MÉTODO DILUCIÓN EN CALDO	46
14.11.2 MÉTODO KIRBY BAUER.....	46
14.12.EMULSIONES	47