



Universidad de San Carlos de Guatemala
Facultad de Ingeniería
Escuela de Ingeniería Química

EXTRACCIÓN DE COLORANTE DE CHILE JALAPEÑO (*Capsicum annum L.*) A
NIVEL LABORATORIO CON TRES SOLVENTES

Byron Alfredo Quiñonez Figueroa
Asesorado por Inga. Qca. Telma Maricela Cano Morales

Guatemala, octubre de 2004

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA



FACULTAD DE INGENIERÍA

**EXTRACCIÓN DE COLORANTE DE CHILE JALAPEÑO (*Capsicum annum L.*)
A NIVEL LABORATORIO CON TRES SOLVENTES**

TRABAJO DE GRADUACIÓN

PRESENTADO A JUNTA DIRECTIVA DE LA
FACULTAD DE INGENIERÍA
POR

BYRON ALFREDO QUIÑONEZ FIGUEROA

ASESORADO POR INGA. QCA. TELMA MARICELA CANO MORALES
AL CONFERÍRSELE EL TÍTULO DE
INGENIERO QUÍMICO

GUATEMALA, OCTUBRE DE 2004
UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE INGENIERÍA



NÓMINA DE JUNTA DIRECTIVA

DECANO Ing. Sydney Alexander Samuels Milson
VOCAL I Ing. Murphy Olympo Paiz Recinos
VOCAL II Lic. Amahán Sánchez Álvarez
VOCAL III Ing. Julio David Galicia Celada
VOCAL IV Br. Kenneth Issur Estrada Ruíz
VOCAL V Br. Elisa Yazminda Vides Leiva
SECRETARIO Ing. Pedro Antonio Aguilar Polanco

TRIBUNAL QUE PRACTICÓ EL EXAMEN GENERAL PRIVADO

DECANO Ing. Sydney Alexander Samuels Milson
EXAMINADOR Ing. José Manuel Tay Oroxom
EXAMINADOR Ing. Jorge Rodolfo García Carrera
EXAMINADOR Ing. Manuel Gilberto Galván Estrada
SECRETARIO Ing. Pedro Antonio Aguilar Polanco

HONORABLE TRIBUNAL EXAMINADOR

Cumpliendo con los preceptos que establece la ley de la Universidad de San Carlos de Guatemala, presento a su consideración mi trabajo de graduación titulado:

“EXTRACCIÓN DE COLORANTE DE CHILE JALAPEÑO (*Capsicum annum L.*) A
NIVEL LABORATORIO CON TRES SOLVENTES”

Tema que me fuera asignado por la Dirección de la Escuela de Ingeniería Química con fecha 13 de Mayo de 2004.

Byron Alfredo Quiñonez Figueroa

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES.....	III
LISTA DE SÍMBOLOS.....	V
GLOSARIO.....	VI
RESUMEN.....	IX
OBJETIVOS.....	X
HIPÓTESIS.....	XI
INTRODUCCIÓN.....	XII
1. ANTECEDENTES	1
2. LOS COLORANTES	3
2.1 Definición de colorante.....	3
2.2 Clasificación de los colorantes.....	3
2.2.1 Colorantes naturales.....	5
2.2.2 Colorantes artificiales.....	6
2.3 Carotenoides.....	6
2.3.1 Capsantina y capsorrubina (E- 160 c).....	11
2.3.2 Los carotenoides en la industria alimenticia.....	11
3. GÉNERO <i>CAPSICUM</i>	13
3.1 Clasificación general de los chiles o <i>Capsicum</i>	14
3.1.1 División <i>Capsicum annum</i>	15
3.1.1.1 <i>Capsicum annum</i> L. (Chile jalapeño).....	17
3.1.1.2 Caracterización de la materia prima.....	19
3.2 Usos tradicionales de <i>Capsicum</i>	20
3.3 Usos modernos de <i>Capsicum</i>	21

3.3.1	Usos en la industria alimenticia.....	21
3.3.2	Usos en industria farmacéutica.....	22
3.3.3	Proyectos en el ámbito latinoamericano.....	23
3.4	Importancia económica de <i>Capsicum</i> para Guatemala.....	24
4.	METODOLOGÍA	25
4.1	Localización.....	25
4.2	Recursos humanos.....	25
4.3	Recursos materiales.....	26
4.4	Diseño de tratamientos y manejo de experimentos.....	26
4.4.1	Metodología experimental.....	27
4.5	Identificación de carotenoides.....	28
4.5.1	Cromatografía de capa fina (Caracterización).....	28
4.5.2	Identificación por espectrofotometría.....	29
4.6	Almacenamiento y manejo de carotenoides.....	30
4.7	Purificación y control de calidad en carotenoides.....	31
5.	RESULTADOS	32
6.	DISCUSIÓN DE RESULTADOS	35
7.	ANÁLISIS ESTADÍSTICO	38
	CONCLUSIONES.....	41
	RECOMENDACIONES.....	42
	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	43
	BIBLIOGRAFÍA.....	44
	APÉNDICE.....	46

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

FIGURAS

1	Fotografía de distintos tipos de chile (<i>Capsicum</i>).....	13
2	Fotografía de diferentes tipos de <i>Capsicum annum</i>	16
3	Fotografía de chile jalapeño (<i>Capsicum annum</i> L.).....	17
4	Gráfica del rendimiento porcentual promedio de extractos colorantes de chile jalapeño (<i>Capsicum annum</i> L.).....	32
5	Fotografía de la placa cromatográfica 1.....	46
6	Fotografía de la placa cromatográfica 2.....	47
7	Gráfica de longitud de onda máxima de extracto con acetona 4.....	48
8	Gráfica de longitud de onda máxima de extracto con etanol 2.....	49
9	Gráfica de longitud de onda máxima de extracto con metanol 3.....	50

TABLAS

I	Nomenclatura, origen y usos de los carotenoides.....	12
II	Composición bromatológica del chile jalapeño.....	18
III	Caracterización de la materia prima.....	19
IV	Rendimientos porcentuales de los extractos colorantes.....	33
V	Resultados de la prueba cromatográfica.....	33
VI	Resultados del análisis por espectrofotometría.....	34
VII	Resultados del análisis de varianza.....	39
VIII	Datos de eliminación de solventes en rotavapor.....	51

LISTA DE SÍMBOLOS

Símbolo	Descripción
μg	microgramos (10^{-6} g)
mg	miligramos (10^{-3} g)
g	Gramos
kg	kilogramos (10^3 g)
nm	nanómetros (10^{-9} m)
cm	centímetros (10^{-2} m)
msnm	metros sobre el nivel del mar
$^{\circ}\text{C}$	grados Celsius
μL	microlitros (10^{-6} L)
'	Minutos
λ	longitud de onda
UV	Radiación

GLOSARIO

Absorbancia	Relación de la cantidad de luz absorbida por las moléculas de una solución.
Artefactos	Productos secundarios indeseables durante una síntesis química o la manipulación de una sustancia.
Atonía	Debilidad de los tejidos orgánicos.
Capsaicina	Sustancia que da el sabor picante a los chiles.
<i>Capsicum</i>	Nombre genérico de todas las especies de chile.
<i>Capsicum annum L.</i>	Chile fresco, color verde o verde oscuro, de forma cónica alargada. Mide en promedio unos 6 cm de largo y 2.5 cm de ancho.
Carotenoides	Los carotenoides son un amplio grupo de pigmentos vegetales y animales, del que forman parte más de 450 sustancias diferentes, de color naranja o rojo.
Colorante	Cualquiera de los productos químicos pertenecientes a un extenso grupo de sustancias, empleados para colorear tejidos, tintas, productos alimenticios y otras sustancias.

Colorante natural	Sustancias naturales que se añaden o devuelven algún color, y se encuentran presentes como pigmentos en plantas, hojas y frutos.
Colorante artificial	Son los colorantes obtenidos por síntesis química.
Cromatografía	Técnica de análisis químico utilizada para separar sustancias puras de mezclas complejas. Esta técnica depende del principio de adsorción selectiva.
Cultivares	Variedad de cualquier especie vegetal cultivada en contraposición con aquélla que crece en estado silvestre. El término es una contracción de las palabras ‘variedad cultivada’ y suele abreviarse como vc.
Espectro	Serie de colores semejante a un arco iris —por este orden: violeta, azul, verde, amarillo, anaranjado y rojo— que se produce al dividir una luz compuesta como la luz blanca en sus colores constituyentes.
Espectrofotometría	Medición de la intensidad de un espectro determinado en comparación con la intensidad de luz procedente de una fuente patrón.
Extracto seco	Producto de la extracción de los principios químicos de una planta, libre de solvente.

Flavonoides	Pigmentos hidrosolubles que se encuentran tanto en el citoplasma como en las vacuolas de las células vegetales, y que son los responsables de los colores intensos de las flores y frutas.
Páprika	La páprika o pimentón se refiere al <i>Capsicum annum L.</i> , arbusto natural de hasta 1m de altura. Es de origen americano. Sus frutos son bayas de color y forma muy variados; los frutos secos y pulverizados son utilizados para dar coloración rojiza a algunos productos alimenticios, aunque algunas variedades por su contenido de capsaicina son usadas por su propiedad pungente (picante) más que por su propiedad como colorante.
Pungencia	Propiedad picante de los chiles.
Simpodial	Forma del crecimiento de las ramas de ciertas plantas arbustivas.

RESUMEN

El objetivo principal del presente proyecto de investigación lo constituyó la extracción, a nivel laboratorio, de los pigmentos colorantes del tipo carotenoides contenidos en los frutos maduros de chile jalapeño (*Capsicum annum L.*) provenientes del departamento de Santa Rosa. Para lograr este objetivo se recolectó materia prima selecta proveniente del municipio de Barberena.

Para la extracción del colorante se utilizó una muestra de 50 g del fruto, con una aproximación de +/- 0.05 g, y como solventes se empleó: acetona, etanol (grado industrial) y metanol, por separado. Se utilizó un extractor de cuchillas y se realizaron 5 corridas por cada solvente.

Los extractos iniciales se concentraron al vacío en un rotavapor, a temperaturas variables menores de 70°C. Con los extractos concentrados se realizaron lavados y separaciones selectivas hasta obtener un extracto seco. Finalmente los extractos fueron analizados por medio de cromatografía de capa fina y espectrofotometría UV.

Los resultados demostraron que el solvente más efectivo para la obtención de carotenoides del el chile jalapeño es la acetona, con un rendimiento del 0.6016%, en relación a la masa de la muestra. Por medio de cromatografía de capa fina y espectrofotometría UV se comprobó la presencia de carotenoides en todos los extractos, siendo más abundantes los obtenidos con la acetona (0.6016%), luego con el etanol (grado industrial) (0.3952%) y finalmente con metanol (0.2484%).

OBJETIVOS

Objetivo general

- Extraer pigmentos colorantes del tipo carotenoides contenidos en chile jalapeño (*Capsicum Annum L.*) en estado maduro a nivel laboratorio con tres diferentes solventes.

Objetivos específicos

- Comprobar la presencia de carotenoides en el chile jalapeño (*Capsicum annum L.*).
- Determinar qué solvente ofrece un mayor rendimiento en la extracción de carotenoides contenidos en el chile jalapeño (*Capsicum annum L.*).
- Comprobar la capacidad de extracción de carotenoides contenidos en el chile jalapeño (*Capsicum annum L.*), de cada uno de los solventes, mediante cromatografía de capa fina.
- Caracterizar los extractos de chile jalapeño (*Capsicum annum L.*) obtenidos, por medio de cromatografía de capa fina.
- Comprobar la obtención de carotenoides por medio de espectrofotometría.

HIPÓTESIS

Es factible la extracción de colorantes a nivel laboratorio del fruto de cultivos de chile jalapeño (*Capsicum annum L.*) provenientes del departamento de Santa Rosa, utilizando acetona, metanol y etanol como solventes extractores.

HIPÓTESIS ESTADÍSTICA

Hipótesis nula: No existe una diferencia significativa entre los 3 rendimientos promedio de cada solvente a utilizar en la extracción de colorantes del tipo carotenoide provenientes de chile jalapeño (*Capsicum annum L.*).

$$\mu_1 = \mu_2 = \mu_3$$

Hipótesis alternativa: Existe una diferencia significativa entre los 3 rendimientos promedio de cada solvente a utilizar en la extracción de colorantes del tipo carotenoide provenientes de chile jalapeño (*Capsicum annum L.*).

$$\mu_1 \neq \mu_2 \neq \mu_3$$

INTRODUCCIÓN

El coloreado artificial de los alimentos es una práctica que data de la antigüedad, pero alcanzó su apogeo con el desarrollo de la industria de los colorantes orgánicos de síntesis, en el siglo XIX. Ya en 1860 se coloreaba el vino en Francia con fucsina; más adelante se colorearon los macarrones y la mantequilla con dinitrocresol, los caramelos y postres con azorrubina, y los postres lácteos con eritrosina. En los últimos años la preocupación por la seguridad de los alimentos, y la presión del público, ha llevado a muchas empresas a revisar la formulación de sus productos y sustituir cuando es tecnológicamente factible los colorantes artificiales por otros naturales.

Además, aunque en general son más resistentes que los colorantes naturales, los colorantes sintéticos presentan también problemas en su uso; por ejemplo, en muchos casos se decoloran por acción del ácido ascórbico, efecto importante en el caso de las bebidas refrescantes, en que esta sustancia se utiliza como antioxidante.

La preocupación por su seguridad ha hecho que los colorantes artificiales hayan sido estudiados en forma exhaustiva por lo que respecta a su efecto sobre la salud, mucho más que la mayoría de los colorantes naturales. Ello ha llevado a reducir cada vez más el número de colorantes utilizables. La tendencia actual es a limitar más aún tanto los productos utilizables como las cantidades que pueden añadirse.

Dentro de los colorantes naturales se encuentran los carotenoides, los cuales se utilizan desde hace ya mucho tiempo en la industria alimenticia de algunos países, sustituyendo nocivos colorantes artificiales para la producción de embutidos, quesos, helados y cereales.

Los carotenoides se encuentran en gran cantidad de cultivos existentes en nuestro país, y pueden ser extraídos fácilmente mediante tecnologías sencillas y solventes de bajo costo.

El objetivo principal de este proyecto es la extracción a nivel laboratorio, de los pigmentos colorantes del tipo carotenoides contenidos en los frutos maduros de chile jalapeño (*Capsicum annum L.*), provenientes del departamento de Santa Rosa, mediante tres diferentes solventes.

A lo largo de este estudio se determinó: Cual es el mejor solvente para extraer carotenoides del chile jalapeño, cuales son los métodos de identificación de carotenoides más adecuados, y desde el punto de vista económico las ventajas de la utilización de colorantes naturales, como los carotenoides, en la industria alimenticia de Guatemala.

1. ANTECEDENTES

Según lo evaluado dentro del proceso de investigación se determinó que en la Escuela de Ingeniería Química y la Facultad de Farmacia, existen varios trabajos previos de investigación acerca de extracciones vegetales, como aceites esenciales, oleorresinas, taninos y colorantes.

Dentro de los estudios previos de extracción de colorantes se encuentran los siguientes:

- Domínguez M., realizó la investigación de tesis denominada: "Extracción de los pigmentos colorantes del tipo xantófilas contenidos en la flor *Tagetes erecta* (Marigold)." (1987). En este estudio se determinó el contenido promedio de xantófilas totales contenidos en la flor mediante dos métodos de saponificación.

- Donado Miranda, realizó la investigación de tesis titulada: "Extracción de carotenoides de la caléndula para su utilización como colorante natural en productos para consumo humano." (2000). Este estudio se realizó a nivel laboratorio, utilizando dos métodos de extracción, y como método de identificación espectrofotometría UV.

- Calderón García, José Eduardo, realizó en el año 2001 el proyecto FODECYT 13-99 denominado: "Obtención del extracto colorante acuoso, a partir de los rechazos de exportación de la producción nacional de dos variedades de pitahaya, a nivel de planta piloto." En este estudio se evaluó la obtención del extracto acuoso de pitahaya por cuatro diferentes métodos.

Al realizar el análisis de los extractos finales se determinó la semejanza con los colorantes sintéticos rojo FD&C No. 3 (para el colorante extraído de la pulpa de la pitahaya) y el rojo FD&C No. 40 (para el colorante extraído de la cáscara).

- Del Cid Vásquez, realizó entre el año 2003 y 2004 la investigación de tesis denominada: "Extracción a nivel laboratorio de los pigmentos colorantes del tipo flavonoides contenidos en la flor del subín (*Acacia farnesiana L. Willd*) provenientes de un bosque silvestre guatemalteco." En este trabajo se estudia el rendimiento promedio de extracto de flavonoides en relación a la cantidad de materia prima utilizada, mediante tres solventes, utilizando el método Soxhlet. Se determinó que el solvente más eficiente fue la acetona, con un rendimiento del 43.16%, aunque no fue el extracto más puro (con más abundancia de flavonoides).

1. LOS COLORANTES

1.1 Definición de colorante

Un colorante es cualquiera de los productos químicos pertenecientes a un extenso grupo de sustancias, empleados para colorear tejidos, tintas, productos alimenticios y otras sustancias. En la moderna terminología industrial se amplía el concepto de colorantes a los productos que contienen colorantes orgánicos puros junto con agentes reductores o de relleno que los hacen más manejables. Los colorantes no deben confundirse con los pigmentos, que son sustancias polvorosas de color que precisan mezclarse con agentes adhesivos antes de aplicarse a una superficie. (1)

Tampoco se debe confundir con una tintura, el cual constituye un pigmento o colorante químico, disuelto en un vehículo (agua, alcohol, o aceites), empleado para colorear vidrio, papel, tejidos o maderas.

1.2 Clasificación de los colorantes

Existen varios tipos de clasificación:

Por su origen:

- Colorantes orgánicos: procedentes de plantas y animales, tales como la clorofila, carotenos, riboflavina, etc., estos colorantes son extraídos por diversos métodos (fermentación, tostado, etc.).

- Colorantes minerales: tales como lacas, sulfato de cobre, cromato de plomo, etc., que actualmente no son utilizados en alimentación por llevar iones metálicos.

- Colorantes artificiales

Por su composición:

- Derivados isoprénicos (carotenoides).

- Derivados tetrapirólicicos (clorofilas)

- Derivados de benzopirano (antocianos y otros flavonoides)

Por su solubilidad:

- Hidrosolubles (solubles en agua)

- Liposolubles (solubles en la grasa)

- Insolubles

Los colorantes pueden clasificarse atendiendo a sus aplicaciones o por su estructura química. La clasificación química suele determinarse por el núcleo del compuesto. Entre los grupos más importantes de colorantes están los azocolorantes, que incluyen el amarillo mantequilla y el rojo congo; los trifenilmetanos, que incluyen el color magenta y el violeta metilo; las ftaleínas; las azinas, que incluyen el color malva, y las antraquinonas, que incluyen la alizarina. El índigo es un colorante de tina que se da en la naturaleza en un glucósido cristalino llamado indicán.

Otro grupo importante lo constituyen las ftalocianinas, de color azul o verde, con una estructura química semejante a la clorofila. Los azocolorantes son los más empleados.

Una de las clasificaciones más utilizadas es la que divide los colorantes naturales de los artificiales.

2.2.1 Colorantes naturales

Hacer una distinción neta entre los colorantes naturales y artificiales es difícil, por que al final lo natural debe ser tratado químicamente para que sea estable, identificable, y uniforme en el tono. La idea de natural se aplica a la consideración general de ser inocuo para la salud y permitido sin restricciones.

Los colorantes naturales se pueden dividir en los siguientes grupos:

Colorantes naturales: Productos que se adicionan a los alimentos para proporcionarles un color específico y hacerlos más agradables a la vista.

Tintes naturales: Son los productos utilizados para el teñido de telas, madera, fibras y cuero.

Pigmentos naturales: Compuestos responsables del color de una planta, utilizados principalmente por la industria farmacéutica.

2.2.2 Colorantes artificiales

Son los obtenidos por síntesis química, de los que actualmente se conocen más de 3.000 aunque la lista de los utilizados en alimentación es muy reducida (menos del 10%).

Los colorantes artificiales son muy utilizados por sus excelentes propiedades:

- Proporcionan un color persistente (resistente a ataques)
- Ofrecen colores variados y uniformes
- Son de alta pureza y bajo costo
- Se pueden obtener en grandes cantidades

2.3 Carotenoides

Los carotenoides y las xantofilas (E-161) son un amplio grupo de pigmentos vegetales y animales, del que forman parte más de 450 sustancias diferentes, descubriéndose otras nuevas con cierta frecuencia. Se ha calculado que la naturaleza fabrica cada año alrededor de 100 millones de toneladas, distribuidas especialmente en las algas y en las partes verdes de los vegetales superiores. Alrededor del 10% de los diferentes carotenoides conocidos tiene actividad como vitamina A en mayor o menor extensión. (2)

Los carotenoides son ampliamente utilizados en la actualidad en la industria de alimentos, siendo los más importantes los siguientes:

E-160 Carotenoides

E-160 a Alfa, beta y gamma caroteno

E-160 b Bixina, norbixina (Rocou, Annato)

E-160 c Capsantina, capsorrubina

E-160 d Licopeno

E-160 e Beta-apo-8'-carotenal

E-160 f Éster etílico del ácido beta-apo-8'-carotenólico

La letra E se utiliza en Europa para la nomenclatura de los aditivos alimentarios, de los cuales los colorantes forman parte, para Guatemala se utiliza únicamente el número que lo identifica.

Los carotenoides utilizados en la fabricación de alimentos se pueden obtener extrayéndolos de los vegetales que los contienen (el aceite de palma, por ejemplo, contiene un 0,1%, que puede recuperarse en el refinado) o, en el caso del beta-caroteno, beta-apo-8'-carotenal y éster etílico al ácido beta-apo-8'-carotenólico, por síntesis química. Los dos últimos no existen en la naturaleza.

Por lo general, los carotenoides son pigmentos de color amarillo y naranja que se encuentran en los cítricos, zanahorias, tomates rojos, pimiento, mantequilla, aceite de palma, azafrán, yema de huevo, trucha, salmón y algas.

Por razones comerciales, las principales fuentes de obtención son los residuos de pulpa y melazas procedentes de las fábricas de cítricos. Químicamente, estos colorantes son bastante estables siempre que se limite su exposición al aire.

Entre los carotenoides más utilizados en la industria alimentaria están la bixina y la norbixina, que se obtienen de extractos de las semillas de la planta conocida como bija, roccou o annato (*Bixa Orellana L*). El pigmento de aquí obtenido es de color amarillo y ha sido empleado principalmente en panadería y productos lácteos.

Otras fuentes de carotenoides son:

- El azafrán (*Crocus sativus*), usado en forma de polvo de flores secas como especia.
- El aceite de palma (*Elaeis guineensis*).
- El tomate (*Lycopersicon esculentum*), aunque su uso es limitado por su fuerte olor.
- El pimiento rojo y el pimentón, de los cuales se extrae la capsantina colorante, cuyo principal productor a nivel mundial es España.
- El aceite del pimiento (*Capsicum annum*), utilizado como saborizante.
- La gardenia (*Gardenia jasminoides*), cuyo colorante se emplea en la industria de los caramelos, las pastas alimenticias y los huevos de pescado.
- Las algas del tipo *Dunaliella*.

El licopeno es el colorante rojo del tomate y los carotenos están distribuidos muy ampliamente entre los vegetales, especialmente el beta-caroteno, que es también el colorante natural de la mantequilla.

No son muy solubles en las grasas, y, con la excepción de la norbixina, prácticamente nada en agua. Cuando se utilizan para colorear bebidas refrescantes (el beta-caroteno especialmente, para las bebidas de naranja), es en forma de suspensiones desarrolladas específicamente con este fin. Tienen la ventaja de no verse afectados, como otros colorantes, por la presencia de ácido ascórbico, el calentamiento y la congelación, así como su gran potencia colorante, que ya resulta sensible a niveles de una parte por millón en el alimento. Sus principales inconvenientes son que son caros y que presentan problemas técnicos durante su utilización industrial, ya que son relativamente difíciles de manejar por su lentitud de disolución y por la facilidad con que se alteran en presencia de oxígeno. Pierden color fácilmente en productos deshidratados, pero en cambio resisten bien el enlatado.

De los efectos negativos en el consumidor, poco se sabe. Solamente se han descrito algunos casos, raros, de alergia al extracto de bija; por el contrario, desde hace algún tiempo se ha planteado hipótesis de que el beta-caroteno, o mejor, los alimentos que lo contienen, pueden tener un efecto protector frente a ciertos tipos de cáncer. (3)

Algunos de ellos (el beta-caroteno y el beta-apo-8'-carotenal, especialmente y, mucho menos, el E-160 f) tienen actividad como vitamina A, en la que se pueden transformar en el organismo. La ingestión de cantidades muy elevadas de esta vitamina puede causar intoxicaciones graves. Sin embargo, las dosis necesarias para originar este efecto quedan muy por encima de las que podrían formarse a partir de los carotenoides concebiblemente presentes como aditivo alimentario.

La ingestión diaria admisible según el comité FAO/OMS (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación/Organización Mundial de la Salud), es de hasta 0,065 mg/Kg de peso en el caso del E-160 B y de 5 mg/Kg de peso en los E-160 e y E-160 f.

La legislación española autoriza el uso del caroteno sin límites para colorear la mantequilla y la margarina, 0,1 g/kg en el yogur, 200 mg/kg en conservas de pescado, 300 mg/kg en los productos derivados de huevos, conservas vegetales y mermeladas, y hasta 600 mg/kg en quesos. En sus aplicaciones en bebidas refrescantes, helados y productos cárnicos no tiene limitaciones. En Estados Unidos solo se limita el uso del E-160 e (0,015 g/libra).

Los carotenoides son cada vez más usados en tecnología alimentaria a pesar de los problemas que se han indicado, especialmente ante las presiones ciudadanas contra los colorantes artificiales. Esto es especialmente notable en el caso de las bebidas refrescantes. También se está extendiendo en otros países la utilización del colorante del pimentón.

Desde hace algunos años se ha planteado la hipótesis de que el beta-caroteno, o mejor, los alimentos que lo contienen, pueden tener un efecto protector frente a ciertos tipos de cáncer. Los datos epidemiológicos parecen apoyarla, pero la complejidad del problema hace que aún no se puedan indicar unas conclusiones claras, ni mucho menos recomendar la ingestión de dosis farmacológicas de esta sustancia.

2.3.1 Capsantina y capsorrubina (E-160 c)

La capsantina y capsorrubina son los colorantes típicos del pimiento rojo y del pimentón, siendo España el principal productor mundial. Sus aplicaciones en la fabricación de embutidos son de sobra conocidas.

También se reporta su uso en: Cereales para desayuno en copos o expandidos y/o aromatizados con sabor a frutas. Frutas y hortalizas elaboradas. Queso madurado naranja, amarillo y queso blanco marfil; queso fundido sin aromatizar. El uso de este colorante no se encuentra restringido, aunque se recomienda utilizar menos de 10mg/kg en productos cárnicos.

2.3.2 Los carotenoides en la industria alimenticia

Como se ha indicado con anterioridad, los carotenoides tienen múltiples usos dentro de la industria alimenticia. Los usos específicos para cada carotenoide se presentan en la tabla de la siguiente página, que incluye el origen y cantidades recomendadas de uso.

Tabla I Nomenclatura, origen y usos de los carotenoides.

E – 160a	Carotenos	20 mg/kg Quantum satis	Productos cárnicos. Cereales para desayuno en copos o expandidos y/o aromatizados con sabor a frutas. Frutas y hortalizas elaboradas. Verduras en vinagre, salmuera o aceite. Margarina, minarina, preparados grasos y grasas no emulsionadas. Mantequilla. Queso madurado naranja, amarillo y queso blanco marfil; Queso fundido sin aromatizar.	Vegetal
E – 160b	Annatorbixina	25 mg/kg 10 mg/kg 15 mg/kg	Cereales para desayuno en copos o expandidos y/o aromatizados con sabor a frutas. Margarina, minarina, preparados grasos y grasas no emulsionadas. Queso madurado naranja, amarillo y queso blanco marfil; queso fundido sin aromatizar.	Vegetal
E – 160c	Extracto de pimentón Capsorrubina	10 mg/kg Quantum satis	Productos cárnicos. Cereales para desayuno en copos o expandidos y/o aromatizados con sabor a frutas. Frutas y hortalizas elaboradas. Queso madurado naranja, amarillo y queso blanco marfil; queso fundido sin aromatizar.	Vegetal
E – 160d	Licopeno		Frutas y hortalizas elaboradas.	Vegetal
E – 160e	Beta-apo-8-carotenal (30c)			Vegetal
E – 160f	Éster etílico del ácido beta-apo-8-carotenal (30c)			Vegetal

Fuente: www.medciclopedia.com

3. GÉNERO *CAPSICUM*

En el descubrimiento del Nuevo Mundo por Cristóbal Colón, no encontró las especies del Oriente que él esperaba, sin embargo encontró *Capsicum* o chiles, los cuales constituyen una de las contribuciones más importantes de América a las especies.

El chile es un fruto de sabor picante y acre de la familia de las solanáceas. Su origen es de México, centro y Sudamérica, existen cientos de tipos.

Figura No. 1 Diferentes tipos de chiles (*Capsicum*)



Fuente: www.icta.gob.gt

3.1 Clasificación general de los chiles o *capsicum*

En el ámbito mundial existen cinco especies de chiles cultivadas, *Capsicum annum*, *Capsicum baccatum*, *Capsicum frutescens*, *Capsicum chinense* y *Capsicum pubescens*. Guatemala es parte del centro de origen y diversidad de *Capsicum annum*, de tal manera que la mayor parte de chiles cultivados que se presentan en el país, pertenecen a dicha especie. Además, la especie mencionada tiene en Guatemala su especie silvestre ligada, *Capsicum annum* var. *aviculare* conocida con el nombre de "chiltepe". (4)

El sabor picante de los chiles esta determinado por el tipo de clima, cantidad de sol y agua que recibe cuando esta en crecimiento: los chiles pequeños por lo general son más picosos que los chiles grandes. El sabor picante de los chiles se atribuye a la presencia de un componente activo denominado Capsaicina, la cual tiene una acción medicinal como agente contra el dolor. A través de su reacción con una sustancia química del cerebro denominada sustancia P y que se relaciona directamente con la transmisión del dolor. El grado de pungencia de un chile esta determinado por su contenido en Capsaicina, y prácticamente casi todas las especies del genero *Capsicum*, la contienen.

En las especies de *Capsicum chinense*, como el chile habanero, se encuentran las variedades más pungentes conocidas.

3.1.1 División *Capsicum annum*

Es un conjunto de cultivos de porte y tamaño diferentes desde rastreros hasta arbustivos. Aunque la mayoría de ellos vive menos de un año, algunos cultivos duran varios y llegan a ser arbustos leñosos, el crecimiento es simpodial; tallos y ramas se conforman de sectores en cuyo nudo superior hay por lo general yemas floríferas y dos ramillas que forman un dicasio, una de ellas más desarrollada que la opuesta. La rama más grande continúa el crecimiento y en su nudo superior se repite la norma de inflorescencias y ramas. En cada nudo hay también una hoja. El tamaño y forma de la hoja varían considerablemente aun en la misma planta, la lámina casi siempre elíptica, con ápice agudo y la base a menudo simétrica. Las flores se presentan en general solitarias y rara vez en pares en el nudo de las ramas, con pedicelos delgados y ligeramente curvos. El cáliz es cónico, verde, presentando en el borde cinco dientes agudos. La corola forma en la base una cavidad y se abre arriba en 5 pétalos, de color blanco, plana con un diámetro de 5 a 10 cm. Con 5 estambres de filamentos cortos que salen de la base de la corola, opuestos a los pétalos; las anteras son verdes, se abren por una abertura longitudinal interna. El estilo es simple exserto. El fruto es una baya de dos hasta cinco lóbulos; las paredes que las separan son incompletas. (5)

Las semillas son de color amarillo pajizo, crecen en placentas centrales situadas en la base del fruto.

El cultivo de *Capsicum annum* se adapta a los diversos climas y tipos de suelo en el área latinoamericana, en altitudes que van desde el nivel del mar hasta los 2,500 m. Entre los más populares destacan el chile guajillo, el chile piquín, el chile de árbol, el chile serrano, el chile jalapeño, el chile poblano.

Figura No. 2 Diferentes tipos de *Capsicum annum*



Fuente: www.dosdecasa.com

Las diversas especies se pueden encontrar en el sur de los Estados Unidos, a través de México, Centro América y el norte de Sudamérica. Guatemala es parte del centro de origen y diversidad de *Capsicum annum*, de tal manera que la mayor parte de chiles cultivados que se presentan en el país, pertenecen a dicha especie.

3.1.1.1 *Capsicum annum L.* (Chile Jalapeño)

Chile fresco, color verde o verde oscuro, de forma cónica alargada. Mide en promedio unos 6 cm de largo y 2.5 cm de ancho. Se le da este nombre porque se dice que antiguamente se cultivaba en Jalapa, Veracruz desde donde se comercializaba a otras partes, actualmente ya no se cultiva ahí, pero es un Chile muy famoso y utilizado en la Gastronomía Latinoamericana. Cuando llega a su estado de maduración toma un color rojo intenso y se utiliza indistintamente como el verde.

Figura No.3 Chile Jalapeño



Fuente: www.hort.purdue.edu

El chile jalapeño (*Capsicum annum L.*) se cultiva en un área comercial cercana al río Motagua, así como en algunas localidades del departamento de Jutiapa, Santa Rosa, Izabal y Peten, cultivándose por lo general a una altitud sobre el nivel del mar de 200 m, aunque puede cultivarse incluso hasta 1,200 m.

El chile jalapeño es una de las pocas variedades que se ha explotado en Guatemala, utilizándose casi exclusivamente con fines de venta local y exportación, en algunos casos se utiliza en la producción de encurtidos y preparados enlatados.

COMPOSICIÓN BROMATOLÓGICA DEL CHILE JALAPEÑO

El chile jalapeño (*Capsicum annum L.*) tiene la siguiente composición:

Tabla II Composición bromatológica del chile jalapeño

	Fresco	Seco	Semillas
Valor energético (Cal)	31	315	416
Porcentaje de humedad	90.8	14.5	6.5
Proteínas (%)	1.2	11.8	16.6
Grasa (%)	0.3	9.6	23.2
Carbohidratos (%)	7.1	57.8	50.7
Fibra (%)	1.3	20.4	24.6
Ceniza (%)	0.6	6.8	3.0
Calcio (mg)	8	110	51
Fósforo (mg)	27	187	448
Hierro (mg)	0.6	7.5	7.2
Vitamina A (µg)	145	1355	1,106
Tiamina (mg)	0.06	0.23	0.26
Riboflavina (mg)	0.06	1.47	0.24
Niacina (mg)	1.0	6.8	10.1
Ácido Ascórbico (µg)	114	45	31
Porción no comestible (%)	27	16	--

Fuente: www.agrogea.com

3.1.1.2 Caracterización de la materia prima

Las principales características del chile jalapeño utilizado se muestran en la siguiente tabla:

Tabla III Caracterización de la materia prima

CARACTERÍSTICA	
Clasificación	<i>Capsicum annum L.</i>
Estado	Maduro óptimo (próximo a descomposición)
Procedencia	Departamento de Santa Rosa (Barberena)
Altitud	1200 msnm
Época de cosecha	Última semana de febrero de 2004
Época de siembra	Noviembre de 2003
Enfermedades del cultivo	Ninguna
Plagas en el cultivo	Tortuguillas y arañas rojas
Químico para control de plagas	Tamaron
Fertilizante utilizado	15-15-15 (Nitrógeno-Fósforo-Potasio)
Número de fertilizaciones	4 aplicaciones
Forma de siembra	Surcos
Preparación del suelo	Arado, rastra y surcado
Semilla	Secada a la sombra en vainas secas

Fuente: Saúl Sánchez Ortega

3.2 Usos tradicionales de *Capsicum*

Los usos que se le pueden dar a las diferentes especies de *Capsicum* están determinados por: el grado de pungencia, el color del fruto, por su sabor, tamaño y otras características.

A continuación se describen algunos usos tradicionales de *Capsicum*:

Medicina: Entran en la composición de algunos medicamentos utilizados para combatir la atonía gastro-intestinal y algunos casos de diarrea. Se utiliza de manera tradicional para combatir afecciones respiratorias, infecciones del oído, afecciones dentales, e inducción del parto.

Como especies: Tradicionalmente se ha utilizado en la elaboración de gran número de comidas, entran en la composición de algunas especias como el curry, y en la elaboración de quesos.

Encurtidos: A nivel latinoamericano el chile jalapeño se utiliza en grandes cantidades para la elaboración de diversos tipos de encurtidos.

Otros: Elaboración de salsas, condimentos en polvo, elaboración de paprika, enlatados en fresco o a media cocci3n, como insecticida mezclado con agua y jab3n. Conservaci3n de la carne de cerdo. Repelente de plagas en granos almacenados.

3.3 Usos modernos de *Capsicum*

A parte de ser utilizado como alimento, el género *Capsicum* ofrece muchos usos potenciales. La industria del chile ha crecido desde la comida regional para los turistas hasta la competencia en el mercado internacional.

En cosmetología ha alcanzado un desarrollo muy importante, con el uso de la oleorresina proveniente de paprika de chiles no picantes de color rojo en diversos productos de belleza.

La compaa Black Mountain Brewing Co. de Arizona produce una cerveza de chile. Otro uso de *Capsicum* se presenta en la industria tabacalera, utilizado para proporcionar aroma a los cigarrillos.

3.3.1 Usos en la industria alimenticia

En el presente, existe una expansión del mercado del chile para un consumo en la dieta diaria, al mismo tiempo, el chile se esta convirtiendo en una parte importante en la manufactura de otros productos. El chile se convertirá en el agente colorante más importante en la industria alimenticia.

Los usos más importantes de las oleorresinas provenientes de chile son proporcionar sabor, aroma y color a algunos productos alimenticios (embutidos, hojuelas de maíz, refrescos, bebidas alcohólicas, quesos, y helados).

3.3.2 Usos en la industria farmacéutica

Los habitantes indígenas de varias regiones del mundo aún utilizan plantas para curar sus males. Los científicos han observado estas prácticas para facilitar el descubrimiento de medicamentos de importancia económica. Parte de estas plantas son los chiles, los cuales fueron utilizados por los mayas en una importante cantidad de preparaciones medicinales.

Para probar su eficacia se realizó un estudio, en el cual se analizó la capacidad antimicrobiana de extractos frescos de *Capsicum annum*, *Capsicum baccatum*, *Capsicum chinense*, *Capsicum frutescens*, y *Capsicum pubescens*, en quince especies bacterianas.

En algunos casos se comprobó la eficacia antimicrobiana de las diversas especies de chile, sobre todo en las variedades de chile jalapeño (*Capsicum annum* L.), ya que se observó una inhibición importante en el desarrollo y reproducción de los siguientes microorganismos: *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis* y *Clostridium albicans*, *Clostridium sporogenes*, *Clostridium tetan*, utilizando el fruto fresco y cocinado.

Tradicionalmente se ha utilizado el chile para afecciones como la conjuntivitis, congestión nasal, afecciones respiratorias, afecciones del oído, afecciones dentales, afecciones digestivas, inducción del parto, etc. Actualmente se están desarrollando nuevos medicamentos con la inclusión de extractos de *Capsicum* de diversas especies.

(6)

3.3.3 Proyectos en el ámbito latinoamericano

En algunos países de Sudamérica y México desde la década de los 90's se han realizado proyectos complejos que pretenden agotar todas las posibilidades de aprovechamiento del chile, como obtención de oleorresinas, capsaicina, colorantes, aromatizantes, y a través de estos extractos la elaboración de diversos productos farmacéuticos y aditivos alimenticios.

Un ejemplo de esto es un proyecto iniciado en Colombia en 1998 por la empresa INQUIBOL con el apoyo del Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el desarrollo (CYTED), en el cual se busca la producción de pomadas de capsaicina.

También un conglomerado de empresas latinoamericanas inició en el año 2000 un proyecto integral para la obtención de extractos de chile de interés comercial, que involucra todo tipo de investigadores desde la caracterización de los cultivos hasta el desarrollo de tecnologías de obtención de los extractos e investigación de nuevos productos, utilizando para ello diversos tipos de cultivos de chile, con muy buenos resultados hasta el momento, aunque el estudio aún no termina y no se han reportado las conclusiones finales. (7)

3.4 Importancia económica de *Capsicum* para Guatemala

El chile *Capsicum spp.*, es un cultivo que no obstante sus cultivares son diversificados, en la actualidad son muy pocos los que se han industrializado, de los cuales en Guatemala se mencionan los siguientes: Chile pimiento dulce, chile serrano y chile jalapeño (*Capsicum annum L.*). De acuerdo con las investigaciones efectuadas se cuenta con otros cultivares que podrían industrializarse con muy buenos resultados.

Según AGEXPRONT (Asociación Guatemalteca de Exportadores de Productos No Tradicionales) Guatemala no ha comercializado extractos de *Capsicum* a nivel industrial, únicamente se ha exportado el cultivo fresco y en algunos casos enlatado.

La exportación de diversas especies de *Capsicum* representa para Guatemala, cerca del 5% del total de exportaciones de frutas y verduras, y cerca de un 0.1% de las exportaciones totales. Si se comercializaran los extractos de *Capsicum*, se podrían exportar a precios competitivos con los del mercado mundial (debido a la abundancia de la materia prima en nuestro país), incrementándose así los ingresos en el rubro de exportaciones para Guatemala.

Los productores también se beneficiarían al tener otra opción para vender sus cultivos, incluso cuando los frutos se encuentren casi en estado de putrefacción, por ejemplo en el caso de extractos colorantes del tipo carotenoide, existe mejor rendimiento cuando el fruto se encuentra en estado maduro óptimo, estado en el cual es casi imposible venderse o exportarse.

4. METODOLOGÍA

4.1 Localización

- Información acerca de cultivos de Capsicum y obtención de materia prima: Facultad de Agronomía, Edificio T-9, USAC
- Extracción de colorante: Laboratorio de Química Industrial, Edificio T-5, Centro de Investigaciones de Ingeniería, Facultad de Ingeniería, USAC
- Espectrofotometría: Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Edificio T-13, Unidad de Análisis Instrumental, USAC
- Cromatografía: Laboratorio de Investigación de Productos Naturales (LIPRONAT), Edificio T-10, USAC

4.2 Recursos humanos

Investigador: Br. Byron Alfredo Quiñonez Figueroa

Asesora: Inga. Telma Maricela Cano Morales

4.3 Recursos materiales

Materia prima: Frutos maduros de *Capsicum annum L.* (chile jalapeño).

Cristalería: Beackers, matraces, balones, varillas de agitación, embudos, probetas, pipetas, embudos de separación, cajas de Petri, vidrios de reloj.

Equipo: Procesador de cuchillas, rotavapor, plancha de calentamiento, bomba de vacío, espectrofotómetro UV, placas cromatográficas de sílice, balanza analítica.

Reactivos: Acetona, metanol, etanol, éter dietílico, dietil éter libre de peróxidos, sulfato de sodio anhidro, cloruro de sodio, diclorometano, acetato de etilo, soluciones estándar de: carotenoides, quercetina, rutina, azul de metileno, rojo sudán, clorato de cianidina.

Otros: Papel filtro, papel aluminio, tapones de hule, soportes de metal, mangueras, anillos, papel mayordomo, parafilm, toallas.

4.4 Diseño de tratamientos y manejo de experimentos

Se evaluó el porcentaje de rendimiento en masa del extracto seco del tipo carotenoide contenido en el chile jalapeño (*Capsicum annum L.*), por medio del método de extracción primaria con procesador de cuchillas en fresco, utilizando tres solventes distintos (acetona, etanol y metanol), con 5 repeticiones para cada caso.

Las unidades experimentales las constituyeron 50 gramos de frutos maduros de chile jalapeño (*Capsicum annum L.*), desvenados, sin semillas y partidos en trozos pequeños.

Los extractos fueron purificados, y posteriormente se realizó un análisis de los mismos por medio de cromatografía de capa fina y espectrofotometría.

4.4.1 Metodología experimental

Para la extracción del colorante proveniente del chile jalapeño se utilizó el siguiente procedimiento:

- Cortar el chile jalapeño en trozos pequeños y homogenizarlo con acetona, metanol o etanol por 1-2 minutos en un procesador de cuchillas.
- Filtrar el homogenizado.
- Reextraer el residuo 3 veces más.
- Reunir los extractos y concentrarlos en rotavapor. Para los extractos con acetona (Temperatura: 40°C durante 35'), extractos con etanol (Temperatura: 70°C durante 45'), extractos con metanol (Temperatura: 50°C durante 40').
- Agregar un volumen igual de dietil éter libre de peróxidos; agregar solución de cloruro de sodio (formación de dos fases).
- Separar las dos fases en un embudo de separación.
- Lavar la fase acuosa con éter etílico, y la fase etérea con agua para remover la acetona.
- Secar la fase etérea con sulfato de sodio anhidro (5-10 g por 100 ml de extracto), durante 60 minutos.
- Filtrar y lavar el agente desecante con éter etílico.
- Concentrar el extracto etéreo en rotavapor.
- El residuo es un extracto seco de carotenoide.

4.5 Identificación de Carotenoides

Los carotenoides pueden ser identificados por medio de espectrofotometría UV, ya que tienen picos muy característicos entre 400 y 500 nm.

La purificación de carotenoides puede realizarse por medio de cromatografía de columna con alúmina o gel de sílice, y su identificación por medio de cromatografía de capa fina utilizando al menos 6 sistemas combinados de placas y soluciones reveladoras, y el método HPLC.

4.5.1 Cromatografía de capa fina (Caracterización)

La cromatografía es una técnica de análisis químico utilizada para separar sustancias puras de mezclas complejas. Esta técnica depende del principio de adsorción selectiva. A medida que la disolución va filtrándose por la columna, cada componente de la mezcla precipita a diferente velocidad, quedando la columna marcada por bandas horizontales de colores, denominadas cromatogramas. Cada banda corresponde a un pigmento diferente.

La muestra aplicada en la capa es adsorbida en la superficie del material por la acción de fuerzas electrostáticas. Luego, cuando la capa es expuesta a un flujo por acción capilar, se inicia una competencia de enlaces entre los sitios activos del adsorbente y la sustancia con el solvente.

Para la caracterización de los extractos por medio de la técnica de cromatografía de capa fina se utilizó una placa de sílica gel de 20x10 cm, con aplicación de muestra en forma de punto o mancha, en una cámara de desarrollo normal vertical, con un medio de elusión compuesto de diclorometano con acetato de etilo (4:1).

El tamaño de la muestra fue de 5 μ l de extracto disuelto en éter, las muestras se colocaron a 1 cm de distancia. No se requirió una solución reveladora, ya que las manchas se visualizaron a simple vista y mediante una lámpara UV.

El análisis reveló la presencia de carotenoides al compararse con una solución estándar y que los extractos son muy parecidos a la composición del colorante artificial rojo sudán, ya que este último reaccionó con la fase móvil al igual que los extractos.

Los extractos se compararon con otras soluciones estándar (quercetina, rutina, azul de metileno y clorato de cianidina). No se comprobó que los extractos se asemejaran en composición química a estos compuestos ya que no reaccionaron con la fase móvil.

4.5.2 Identificación por espectrofotometría

El espectrofotómetro se usa para medir la intensidad de un espectro determinado en comparación con la intensidad de luz procedente de una fuente patrón.

Los espectros en la región visible de los carotenoides son muy característicos entre 400 y 500 nm, con un pico mayor de 450 nm, y usualmente dos picos menores, uno a cada lado. La posición exacta de los tres máximos varía de compuesto a compuesto y son suficientemente diferentes como para ser utilizados como medio de identificación mediante un espectrofotómetro.

Para el análisis por espectrofotometría se tomaron al azar 2 muestras de extractos con cada solvente, realizando lecturas de las soluciones en éter en un espectrofotómetro UV, si no había lectura se realizaba una disolución hasta obtener una lectura coherente. De las lecturas se obtuvo una gráfica que muestra la relación de la absorbancia con λ en nm.

En los 6 casos estudiados se mostraron picos mayores muy cercanos a 450 nm, lo que significa que se comprueba la presencia de carotenoides, ya que sus picos generalmente se presentan en este valor. Ver tabla VI (Pág. 34) y figuras 8,9 y 10 (Apéndice, Págs.49-51).

En algunos casos se mostraron otros picos menores a los lados, los cuales pueden deberse a interacción con el solvente y formación de otros componentes dentro del extracto.

4.6 Almacenamiento y manejo de carotenoides

Los carotenoides son sensibles al oxígeno, luz, calor, ácidos y en algunos casos a álcalis, por lo que es importante tener en cuenta las siguientes recomendaciones durante su manipulación para evitar oxidaciones, isomerizaciones o generación de "artefactos".

- Se debe prevenir la isomerización que podría producirse por la presencia de ácidos en el mismo tejido de la planta, adicionando un agente neutralizante como NaHCO_3 , durante el proceso de extracción.
- Los solventes a utilizar deben ser de bajo punto de ebullición, para que puedan ser removidos a temperaturas bajas, evitando así el calentamiento prolongado; deben estar libres de la presencia de ácidos, peróxidos y de otros agentes oxidantes.
- Deben estar protegidos de la luz durante las cromatografías, evitándose el uso de adsorbentes acídicos como el gel de sílice o ácido salicílico, así como de solventes acídicos (especialmente cloroformo).

- Deben ser almacenados en la oscuridad, a -20°C , en ausencia completa de oxígeno, ya sea al vacío o en atmósfera inerte (Ar o N_2). (8)

4.7 Purificación y control de calidad en carotenoides

Luego de la obtención del extracto seco de carotenoides es conveniente realizar una cromatografía de columna HPLC, para garantizar que el mismo se encuentra libre de los solventes que se utilizaron para la extracción. Debido a que se estos extractos se utilizan principalmente en la industria alimenticia, la mayoría de los solventes utilizados en el proceso de obtención se consideran tóxicos. (9)

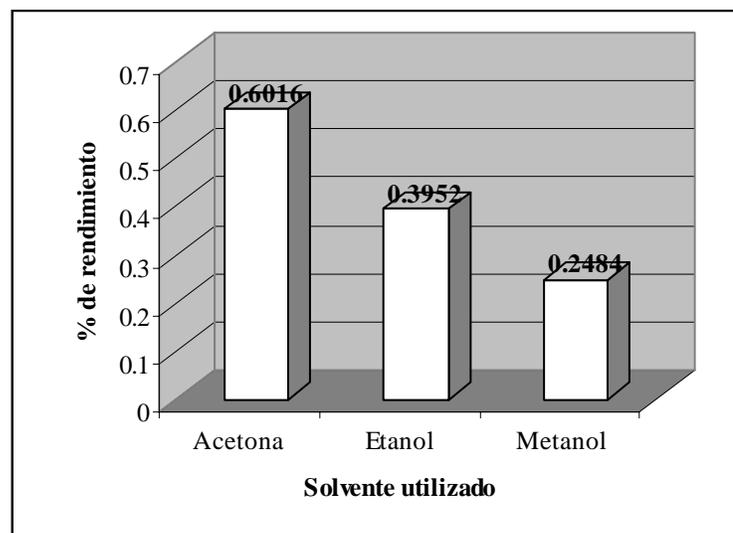
Para garantizar la calidad de los carotenoides se utiliza actualmente el recién añadido método ISO 6558-2 de rutina, en el cual se especifica la utilización del método HPLC como el método más confiable para la purificación de los extractos, además se hace uso de la cromatografía de capa fina y espectrofotometría para la caracterización de los mismos. Al utilizar este método puede garantizarse que el extracto se encuentra libre de solventes y materiales extraños (metales pesados, compuestos secundarios o derivados), tanto para asegurar su uso en la industria alimenticia como para garantizar la pureza del extracto en sí. (10)

Otros parámetros que pueden utilizarse para medir la calidad de los extractos de carotenoides son los mencionados en el CODEX alimentarius, donde también se indica en qué productos alimenticios se puede utilizar y las cantidades recomendadas de uso, en una tabla muy parecida a la presentada con anterioridad en la tabla I.

5. RESULTADOS

5.1 Rendimientos porcentuales promedio

Figura No. 4 Gráfica del rendimiento porcentual promedio de extractos colorantes de chile jalapeño (*Capsicum annum L.*).



5.2 Rendimientos porcentuales

Tabla IV Rendimientos porcentuales de los extractos colorantes de chile jalapeño (*Capsicum annum L.*)

Número de repetición	Acetona (%)	Etanol (%)	Metanol (%)
1	0.646	0.414	0.322
2	0.604	0.412	0.194
3	0.580	0.308	0.222
4	0.684	0.344	0.204
5	0.494	0.498	0.300
Promedio	0.6016	0.3952	0.2484

5.3 Prueba cromatográfica (Cromatografía de capa fina)

Tabla V Resultados de la prueba cromatográfica

Nota: Ver figura 6 y 7, Págs. 47-48

Solvente	Acetona (A)					Etanol (E)					Metanol (M)				
	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
Capsantina/Capsorrubina	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Azul de metileno	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Rutina	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Quercetina	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Clorato de Cianidina	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Rojo sudán	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

+ Indica la presencia del componente o reacción con fase móvil - Indica la ausencia del componente

5.4 Resultados de la espectrofotometría

Tabla VI Longitud de onda máxima y absorbancia determinada por espectrofotometría para los extractos de carotenoide en éter

MUESTRA	LONGITUD DE ONDA MÁXIMA (nm)	ABSORBANCIA
Acetona 3	455.0 nm	0.9827
Acetona 4	455.0 nm	2.2690
Etanol 2	450.0 nm	0.3987
Etanol 4	465.0 nm	0.6415
Metanol 2	455.0 nm	0.4685
Metanol 3	450.0 nm	0.7741

Nota: Ver figuras 8-10, Págs. 49-51

6. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

El objetivo principal del presente proyecto de investigación lo constituyó la extracción, a nivel laboratorio, de los pigmentos colorantes del tipo carotenoides contenidos en los frutos maduros de chile jalapeño (*Capsicum annum L.*) provenientes del departamento de Santa Rosa. Para realizar la extracción inicial se utilizó un extractor de cuchillas, una muestra de 50 ± 0.05 g de chile jalapeño sin semillas y 150 ml de tres distintos solventes (acetona, etanol y metanol), con 3 reextracciones y la misma cantidad de solvente para extraer la mayor cantidad posible de colorante.

Desde el inicio se destacó la capacidad de extracción del colorante proveniente del chile jalapeño por medio de la acetona, ya que en el residuo final de fibra de la cuarta y última extracción ya no se apreciaba la presencia de pigmentos (prácticamente todo el colorante fue extraído de las muestras con este solvente), lo cual no sucedía con los otros dos solventes (etanol y metanol) utilizando el mismo número de reextracciones.

Posteriormente, se concentraron los extractos iniciales por medio de rotavapor, haciéndose notar que de los tres solventes utilizados, la acetona fue el que más fácilmente se eliminó, requiriéndose una menor temperatura y menor tiempo de calentamiento. La recuperación de solvente en los extractos fue alrededor del 75%. (Ver Tabla VIII en Apéndice, Pág.52)

Finalmente según el procedimiento en fresco se realizaron lavados selectivos para el aislamiento de los pigmentos del tipo carotenoide.

Los resultados revelaron que la acetona es el mejor solvente para la extracción de pigmentos del tipo carotenoide provenientes del chile jalapeño (*Capsicum annum L.*), con un rendimiento promedio del 0.6016%, luego le sigue el etanol con un 0.3952% y por último el metanol con un 0.2484% (Rendimiento promedio en masa en base a la muestra de chile jalapeño utilizada). Ver Tabla IV de resultados en Pág. 33.

Se pudo comprobar la presencia de carotenoides en todos los extractos por medio de cromatografía de capa fina, ya que no sólo las muestras reaccionaron con la fase móvil específica para carotenoides utilizada, sino que también las manchas se compararon con una solución estándar de carotenoides, con un resultado positivo.

Cualitativamente se demostró además que los extractos con acetona fueron los mejores, ya que se encontraban con mayor cantidad de carotenoides, ya que las manchas en la placa cromatográfica fueron las más notorias, en comparación con las manchas producidas por los extractos con etanol y metanol. Ver en Figuras 5 y 6 en el apéndice (Págs. 47-48) las manchas 6-10 de izquierda a derecha, las manchas 1-5 corresponden a los extractos con metanol y las manchas 11-16 a extractos con etanol. En la figura 5 (Pág. 47) la mancha 16 corresponde a la solución estándar de carotenoides.

En un segundo análisis de cromatografía de capa fina, se compararon las manchas de los extractos con diversas soluciones estándar, como rojo sudán, azul de metileno, rutina, quercetina y clorato de cianidina. De éstos sólo el rojo sudán reaccionó con la fase móvil al igual que los extractos de carotenoides analizados, con lo que se puede concluir que los extractos son químicamente parecidos a este colorante (Ver Figura 6 en el apéndice, la mancha 16, Pág. 48). La solución estándar de quercetina reaccionó parcialmente con la solución móvil utilizada, en la parte inferior de la placa cromatográfica.

La conclusión de que los extractos son muy parecidos a la composición del colorante artificial rojo sudán es muy importante, ya que éste último es un colorante prohibido en la industria alimenticia por sus conocidos efectos cancerígenos. De hecho recientemente se reportó la adición de este dañino colorante en la páprika proveniente de Perú, con la finalidad de hacer creer al consumidor que el producto es de buena calidad por su color. Por diversos medios, se reiteró una alerta en la cual se indica la restricción en el uso de dichos colorantes, además de la disposición de no aceptar por ninguna razón ningún producto alimenticio que contenga este colorante. (11)

El uso de los extractos de carotenoides provenientes de diversos frutos de *capsicum* no esta prohibido en la industria alimenticia, de hecho se promueve su uso en quesos, helados, embutidos y cereales, sin restricción en cuanto a la cantidad a adicionar. Por lo tanto este tipo de extractos puede reemplazar a algunos colorantes artificiales como el anteriormente mencionado, mejorando la aceptación de los productos por parte de los consumidores.

Finalmente, se logró comprobar la presencia de carotenoides en los extractos obtenidos por medio de espectrofotometría UV, ya que se visualizaron longitudes de onda máximas alrededor de los 450nm, en algunos casos con picos menores a los lados (los cuales son característicos para este tipo de pigmentos). Para los extractos con acetona se visualizó un pico mayor en 455.0 nm , para los extractos con etanol y metanol un pico en 450.0 nm. (Ver figuras 7-9 en el apéndice, Págs. 49-51)

No se detectaron diferencias significativas entre los extractos obtenidos con el mismo solvente.

7. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

En el presente trabajo se realizó un análisis estadístico de varianza entre tratamientos, con la finalidad de comprobar qué hipótesis estadística se ajusta de mejor manera a la parte experimental del estudio.

Este método de análisis estadístico mide la variación total de un conjunto de datos en una sumatoria de términos, que se pueden atribuir a diversas causas de variación, en su forma simplificada, se aplica a experimentos que se planifican como diseños totalmente aleatorizados. (12)

Para el análisis de varianza en este caso se tomarán en cuenta los siguientes factores:

- Homogeneidad del lote de materia prima
- Grado de maduración del fruto
- Tipo de solvente utilizado para la extracción

Dado que se garantiza que los dos primeros factores no influyeron en los resultados, ya que se homogeneizó el lote (combinando los frutos con maduración casi igual), se atribuirá la variación al tipo de solvente utilizado para la extracción de carotenoides del chile jalapeño (*Capsicum annum L.*).

La tabla para el análisis de varianza utilizada fue la siguiente:

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Medias de cuadrados	F_C	F_T
Entre tratamientos	a-1	$V_B = b \sum_j (X_j^m - X^m)^2$	$S_B^2 = V_B / a - 1$	S_B^2 / S_W^2	
Dentro de los tratamientos	A(b-1)	$V_W = V - V_B$	$S_W^2 = V_W / a(b-1)$		
Total	ab-1	$V = V_B + V_W$ $V = \sum_{j,k} (X_{jk} - X^m)^2$			

En donde: a = número de tratamientos (solvente utilizado), b = número de repeticiones, X^m = media, F_C = valor calculado, F_T = valor tabulado.

Los resultados obtenidos del análisis de varianza para este caso se dan a continuación en la siguiente tabla:

Tabla VII Análisis de varianza

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Medias de cuadrados	F Calculada	F Tabulada
Entre tratamientos	2	0.31484	0.15742	33.767	8.51
Dentro de los tratamientos	12	0.05594	0.004662		
Total	14	0.37078			

Dado que $F_C > F_T$, se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alternativa con un nivel de confianza del 99.995%. (13)

Por lo tanto, el análisis estadístico determinó que "Existe una diferencia significativa entre los 3 rendimientos promedio de cada solvente utilizado en la extracción de colorantes del tipo carotenoide provenientes de chile jalapeño (*Capsicum annum L.*)".

CONCLUSIONES

1. En la extracción de colorantes del tipo carotenoide provenientes del chile jalapeño (*Capsicum annum L.*), es más conveniente la utilización de la acetona como solvente ya que se obtiene un mayor rendimiento.
2. Mediante la cromatografía de capa fina se determinó cualitativamente que los extractos obtenidos del chile jalapeño (*Capsicum annum L.*) con los tres solventes contienen una mezcla de carotenoides, principalmente capsantina y capsorrubina.
3. Por medio de la cromatografía de capa fina se comprobó que los extractos de carotenoides obtenidos del chile jalapeño (*Capsicum annum L.*) son químicamente parecidos con el colorante artificial rojo sudán.
4. Con la espectrofotometría UV se determinó la presencia de carotenoides, al presentarse un pico de longitud de onda cercano a los 450 nm.
5. El solvente más rentable en cuanto a la extracción de carotenoides provenientes del chile jalapeño (*Capsicum annum L.*) es la acetona, ya que tiene un precio más bajo, su porcentaje de recuperación es más alto y es más fácil su aislamiento en el extracto final.

RECOMENDACIONES

1. Se recomienda la utilización de los frutos en estado óptimo de madurez para la extracción de carotenoides, de cultivos como el chile, ya que en esta fase es cuando la concentración de los pigmentos es más alta.
2. Es recomendable que durante todo el proceso de extracción de los colorantes del tipo carotenoide, se cubran los recipientes que los contienen para protegerlos de la luz, y de ser posible utilizar tapones de hule para evitar el contacto con oxígeno y el escape del solvente (sobre todo cuando el extracto se encuentra en éter).
3. Se recomienda la realización de un estudio para la utilización del extracto de colorante del chile jalapeño (*Capsicum annum L.*), como reemplazo de colorantes artificiales como el rojo sudán, en la industria alimenticia.
4. Sería conveniente la realización de estudios similares con otras variedades de chile abundantes en la región, tanto a nivel laboratorio como a nivel de planta piloto.
5. Es recomendable realizar una cromatografía de columna HPLC en los extractos de carotenoides, para garantizar la ausencia de compuestos tóxicos y productos secundarios en los mismos, debido a que éstos se utilizan principalmente en la industria alimenticia y se debe cumplir con la norma de calidad ISO 6558-2

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Colorantes, www.encartaonline.com, 29 de octubre de 2003.
2. Colorantes, carotenoides, www.pasqualinonet.com, 20 de octubre de 2003.
3. Carotenoides, www.consumaseguridad.com, 5 de mayo de 2004.
4. Azurdia Pérez, César Augusto y Max González Salan. **Informe final del proyecto de recolección de algunos cultivos nativos de Guatemala.** Guatemala: ICTA, 1986. p. 19
5. Ayala Vargas, Helmer Dagoberto. **Fundamentos de agrotecnología de cultivo de plantas medicinales iberoamericanas.** s.l. , s.e. , s.a. p.123
6. *Capsicum*, www.monografias.com, 10 de mayo de 2004.
7. Extracciones industriales, www.redhucyt.oas.org, 19 de octubre de 2003.
8. Lock Sing de Ugaz, Olga. **Colorantes naturales.** Perú: Fondo Editorial de la Pontificia Universidad Católica del Perú, 1997. p. 60
9. Normas de calidad, www.portalalimentario.com, 24 de julio de 2004.
10. Normas ISO, www.sodean.es, 24 de julio de 2004.

11. Rojo sudán, www.dosdecasa.com, 27 de mayo de 2004.
12. Brenson, Mark L. y David M. Levine. **Estadística básica en administración 4ª edición.** México: Prentice Hall Hispanoamericana, S.A., 1992. p. 881
13. Spiegel, Murray R. **Estadística 2ª edición.** Traducido por: Rafael HernándezHeredero. México: McGraw Hill, 1988. p 378-381

BIBLIOGRAFÍA

1. Alonso, Jorge R. **Tratado de fitomedicina**. Argentina: Ediciones ISIS S.R.L., 1,998. 1558 pp.
2. Ayala Vargas, Helmer Dagoberto. **Agrotecnología para el cultivo de chile o ají**. s.l. , s.e. , s.a.
3. Azurdia Pérez, César Augusto y Max González Salan. **Informe final del proyecto de recolección de algunos cultivos nativos de Guatemala**. Guatemala: ICTA, 1986. 256 pp.
4. Cabieses, Fernando. **Cien siglos de pan**. Perú: CONCYTEC, 1995.
5. Cajías, Marta y Betsabe Fernández. **Manual de tintes naturales**. Bolivia: Editorial SEMTA, 1,987.
6. Cichewicz, Robert H. y Patrick A. Torpe. **The antimicrobial properties of chile peppers (*Capsicum* species) and their uses in Mayan medicine**. Estados Unidos: ELSEVIER, 1996.
7. Domínguez, Xorge. **Métodos de investigación fitoquímica**. México: Editorial Limusa, 1973. 250 pp.
8. Kirk, Raymond y Donald Othmer. **Enciclopedia de tecnología química**. (Volumen I y V). México: Editorial Hispanoamericana. 1962. 630pp.
9. Lock Sing de Ugaz, Olga. **Colorantes naturales**. Perú: Fondo Editorial de la Pontificia Universidad Católica del Perú, 1997.

SITIOS WEB

10. *Capsicum*, www.agrogea.com, 20 de octubre de 2003.
11. Exportación de productos no tradicionales, www.banguat.gob.gt, 11 de noviembre de 2003.
12. Cromatografía, www.caaarem.com, 20 de octubre de 2003.
13. Colorantes artificiales, www.cientec.com, 29 de octubre de 2003.
14. Colorantes naturales, www.cytcd.org.ar, 5 de mayo de 2004.
15. Aditivos, www.coqui.Ice.org, 20 de octubre de 2003.
16. Cromatografía de capa fina, www.fsma.org.mx, 24 de octubre de 2003.
17. Chile jalapeño, www.gtcv.org, 20 de octubre de 2003.
18. Chile jalapeño, www.hortpurdue.edu, 21 de octubre de 2003.
19. *Capsicum*, www.j&c.com, 20 de octubre de 2003.
20. Carotenoides, www.medciclopedia.com, 29 de octubre de 2003.
21. Colorantes naturales, www.pasqualinonet.com.ar, 24 de octubre de 2003.
22. Colorantes, www.procomer.com, 5 de mayo de 2004.
23. Cromatografía de capa fina, www.quimica.urv.es, 29 de octubre de 2003.
24. *Capsicum*, www.relaq.mx, 20 de octubre de 2003.
25. Carotenoides, www.redhucyt.oas.org, 24 de octubre de 2003.
26. Extracciones industriales, www.sica.gov.ec, 5 de mayo de 2004.
27. Proyectos de investigación, www.zarc.int, 29 de octubre de 2003.
28. *Capsicum annum*, www.zoetecnocampo.com, 24 de octubre de 2003.

APÉNDICE

PRUEBA CROMATOGRÁFICA

Figura No. 5 Placa cromatográfica No. 1

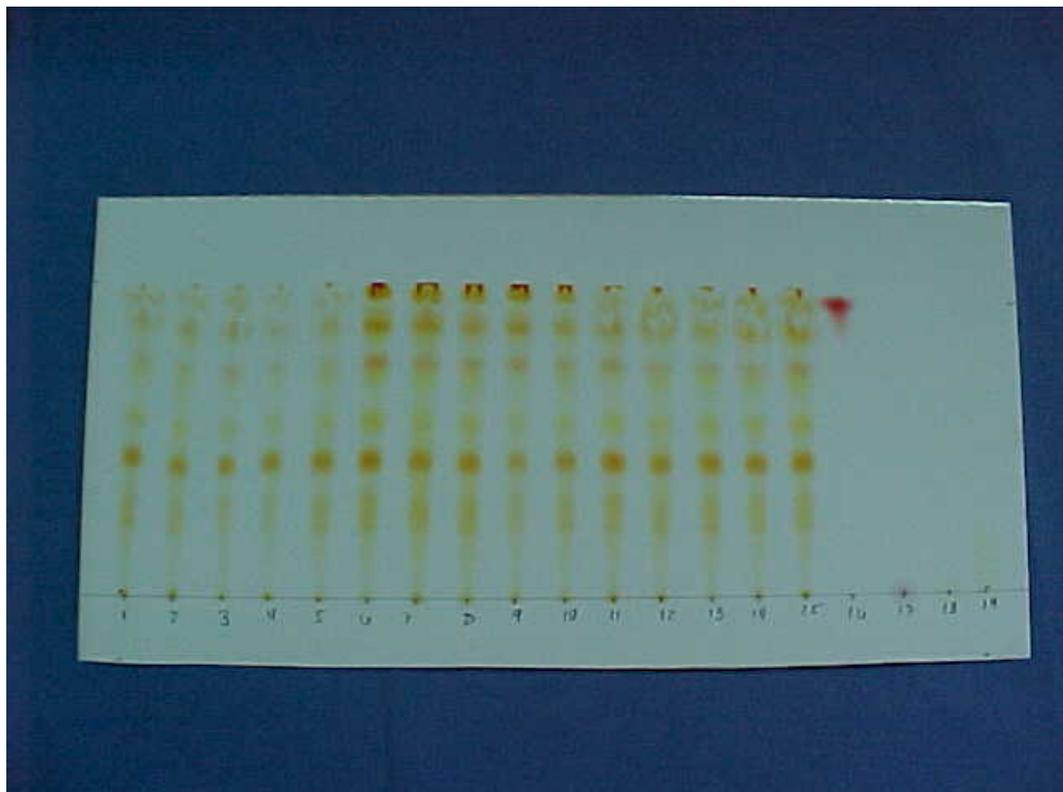
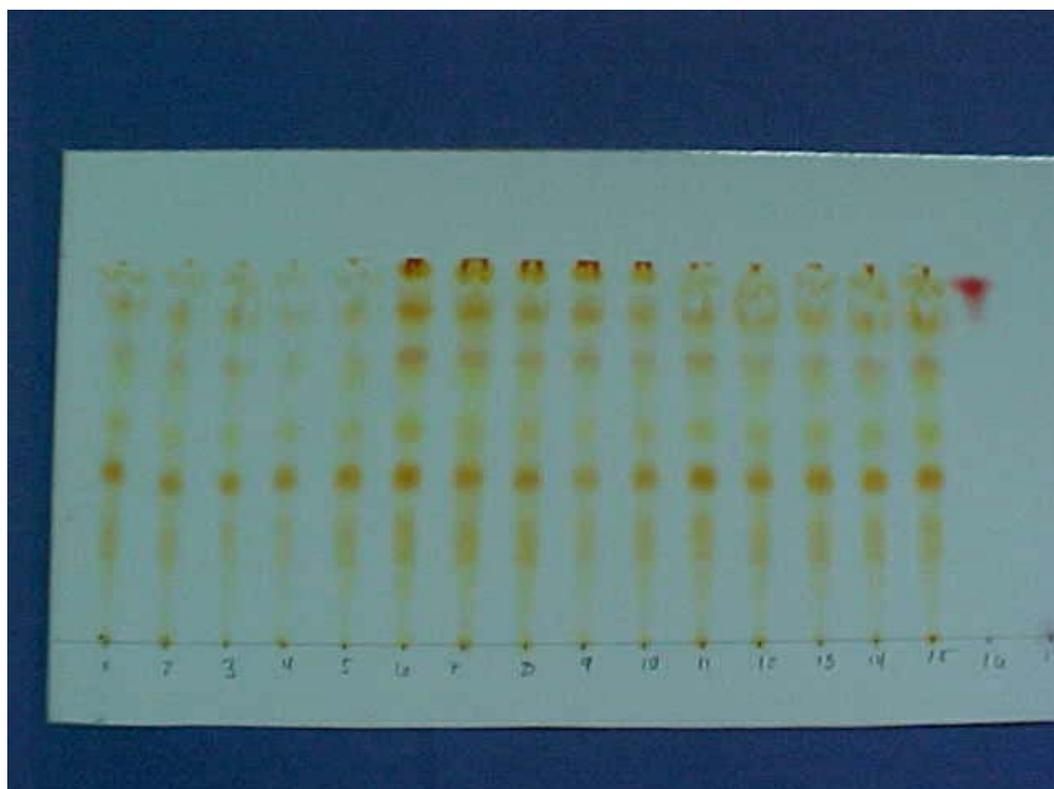
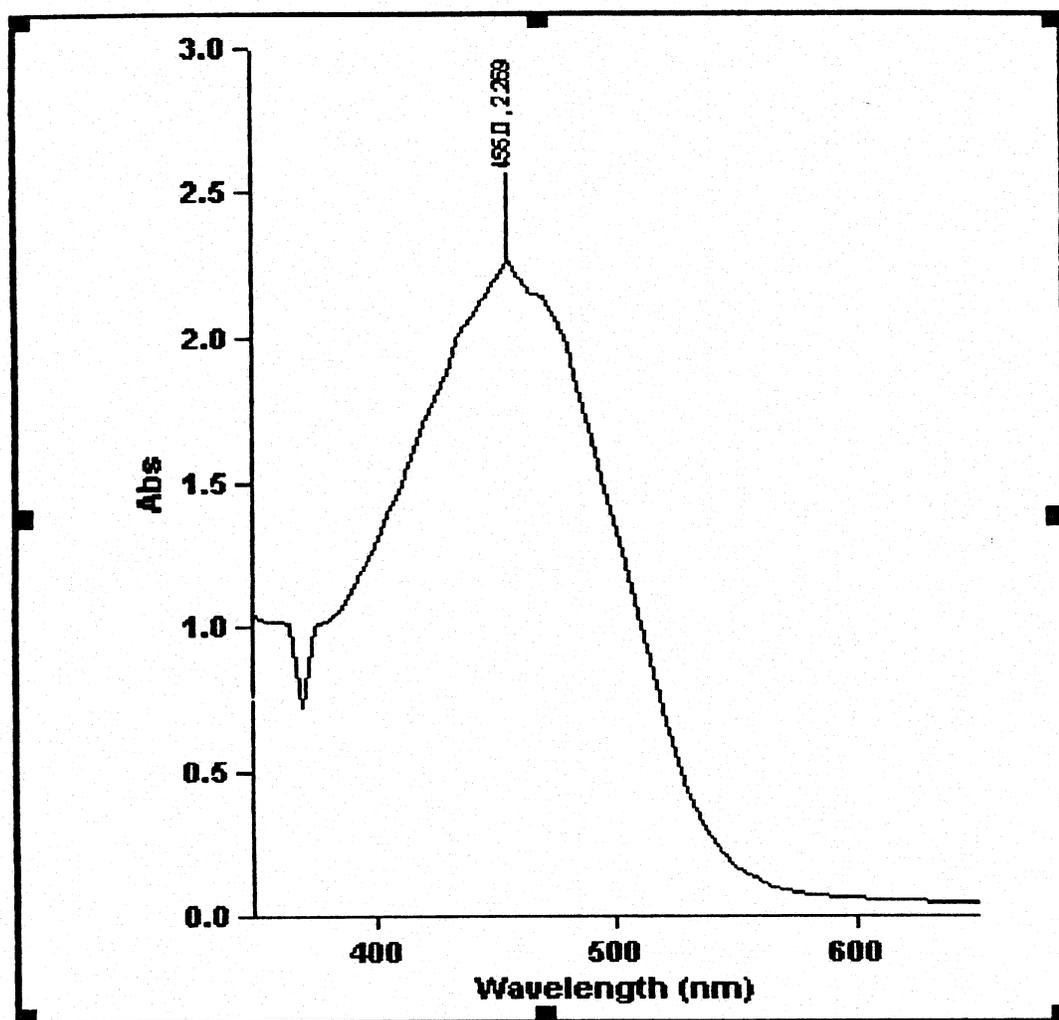


Figura No. 6 Placa cromatográfica No. 2



ANÁLISIS POR ESPECTROFOTOMETRÍA

Figura No. 7 Gráfica de longitud de onda máxima para extracto con acetona 4

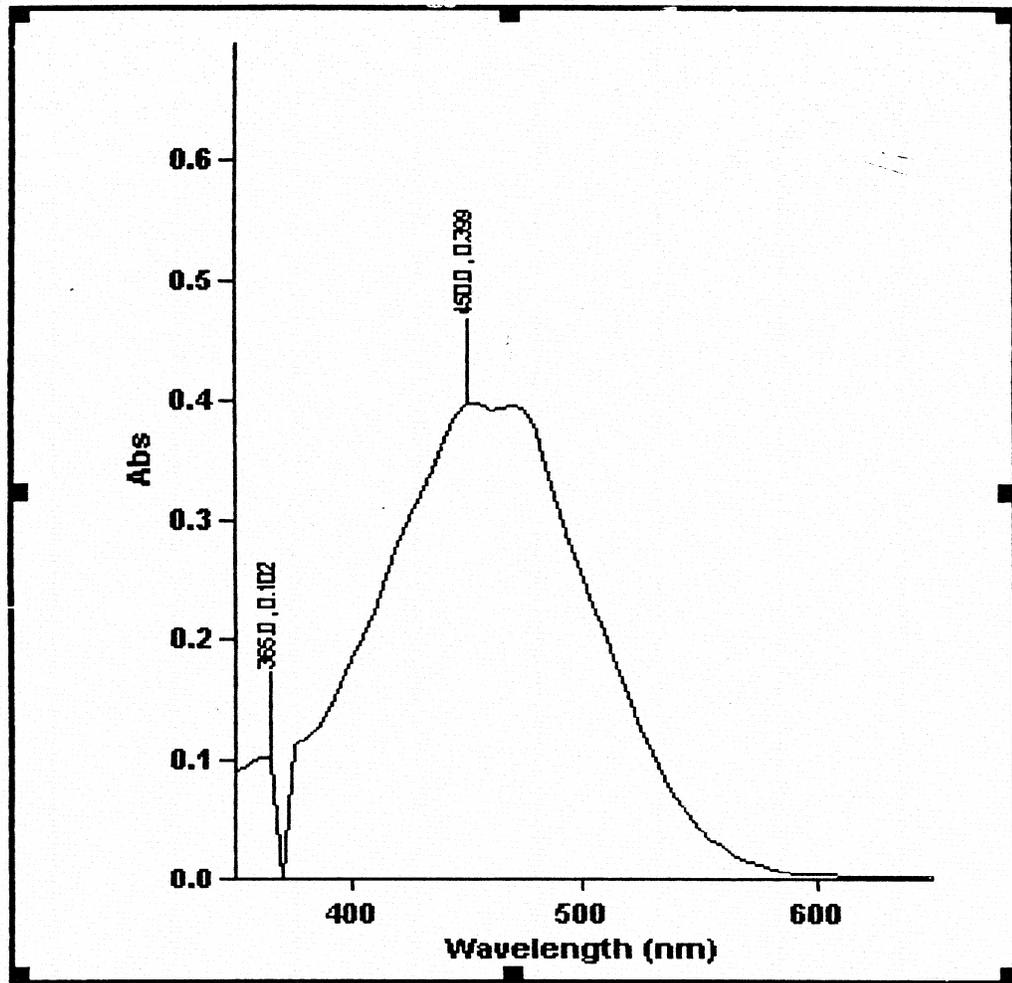


Graph 1 - caretoneacetona4.9

X: , Y:

Fuente: Byron Quiñonez

Figura No. 8 Gráfica de longitud de onda máxima para extracto con etanol 2

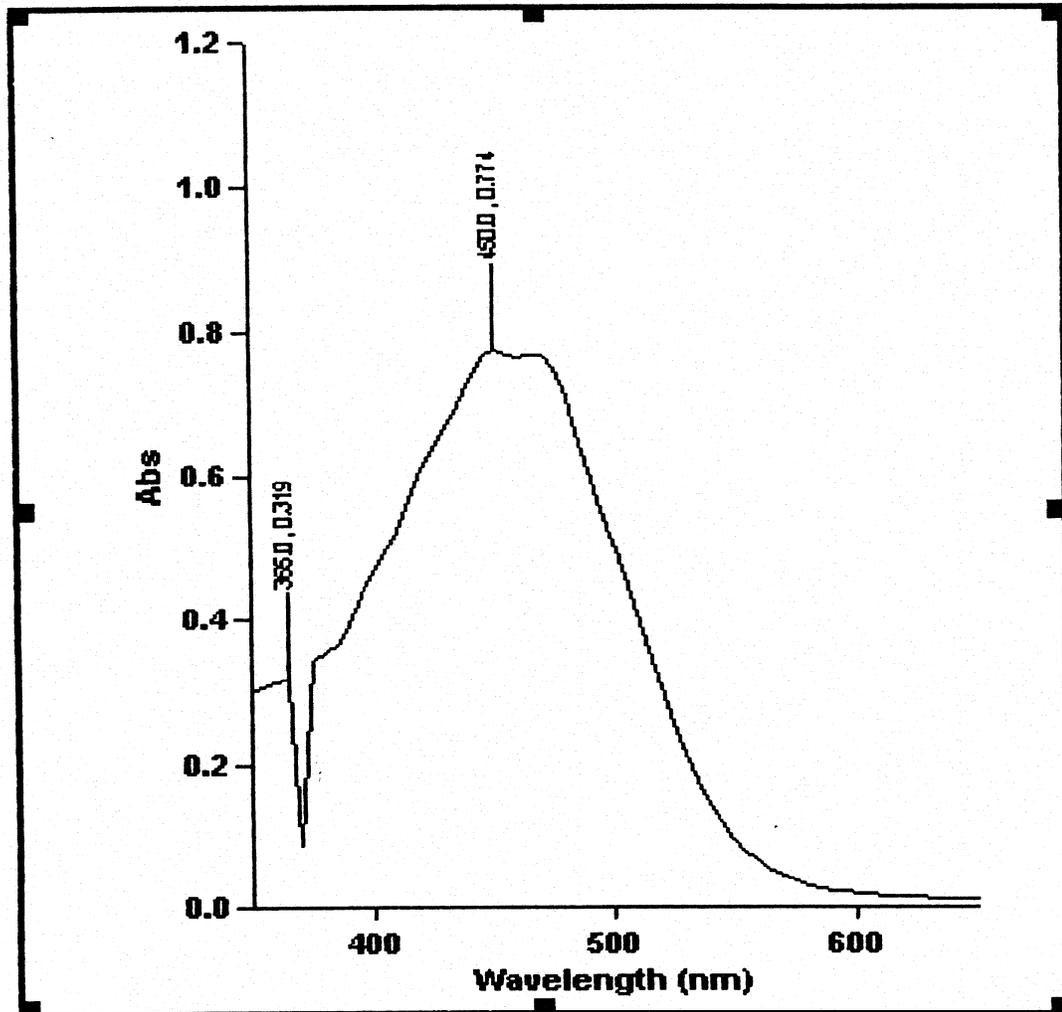


Graph 1 - caretonoetanol2.3

X: 444.1563, Y: 0

Fuente: Byron Quiñonez

Figura No. 9 Gráfica de longitud de onda máxima para extracto con metanol 3



Graph 1 - caretonometanol3.2

X: , Y:

Fuente: Byron Quiñonez

ELIMINACIÓN DE SOLVENTES EN EXTRACTOS DE COLORANTE DE CHILE JALAPEÑO UTILIZANDO ROTAVAPOR EN PLANTA PILOTO

Tabla VIII Datos de eliminación de solvente en rotavapor

Código muestra	Solvente	Volumen inicial (ml)	Volumen final (ml)	Recuperación de solvente	Temperatura (°C)	Tiempo minutos
TEST 1	Acetona	220	55	75%	40	40
A1	Acetona	210	50	76.19%	40	35
A2	Acetona	200	55	72.5	39	37
A3	Acetona	180	45	75%	40	33
A4	Acetona	210	55	73.81%	39	36
A5	Acetona	190	50	73.68%	40	35
TEST 2	Etanol	150	40	73.33%	60	46
E1	Etanol	190	45	76.32%	70	36
E2	Etanol	140	35	75%	70	31
E3	Etanol	180	40	77.78%	70	33
E4	Etanol	200	50	75%	70	35
E5	Etanol	190	35	81.58%	70	39
M1	Metanol	140	30	78.57%	55	30
M2	Metanol	160	40	75%	50	32
M3	Metanol	150	35	76.67%	50	35
M4	Metanol	180	45	75%	50	28
M5	Metanol	155	40	74.19%	50	35