



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

**EVALUACIÓN DEL PORCENTAJE DE RENDIMIENTO Y CARACTERIZACIÓN
FISICOQUÍMICA DE LA OLEORRESINA DE CHILE BLANCO (*Capsicum annuum A.*)
PROVENIENTE DE TRES ESTRATOS ALTITUDINALES UTILIZANDO COMO SOLVENTE
DE EXTRACCIÓN SOLUCIONES DE ALCOHOL ETÍLICO – AGUA, A ESCALA
LABORATORIO**

Aldo Alexander de la Cruz Leonardo

Asesorado por la Inga. Telma Maricela Cano Morales

Guatemala, agosto de 2011

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA



FACULTAD DE INGENIERÍA

**EVALUACIÓN DEL PORCENTAJE DE RENDIMIENTO Y CARACTERIZACIÓN
FISICOQUÍMICA DE LA OLEORRESINA DE CHILE BLANCO (*Capsicum annuum A.*)
PROVENIENTE DE TRES ESTRATOS ALTITUDINALES UTILIZANDO COMO SOLVENTE
DE EXTRACCIÓN SOLUCIONES DE ALCOHOL ETÍLICO – AGUA, A ESCALA
LABORATORIO**

TRABAJO DE GRADUACIÓN

PRESENTADO A LA JUNTA DIRECTIVA DE LA
FACULTAD DE INGENIERÍA
POR

ALDO ALEXANDER DE LA CRUZ LEONARDO
ASESORADO POR LA INGA. TELMA MARICELA CANO MORALES

AL CONFERÍRSELE EL TÍTULO DE

INGENIERO QUÍMICO

GUATEMALA, AGOSTO DE 2011

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE INGENIERÍA



NÓMINA DE JUNTA DIRECTIVA

DECANO	Ing. Murphy Olympo Paiz Recinos
VOCAL I	Ing. Alfredo Enrique Beber Aceituno
VOCAL II	Ing. Pedro Antonio Aguilar Polanco
VOCAL III	Ing. Miguel Ángel Dávila Calderón
VOCAL IV	Br. Juan Carlos Molina Jiménez
VOCAL V	Br. Mario Maldonado Muralles
SECRETARIO	Ing. Hugo Humberto Rivera Pérez

TRIBUNAL QUE PRACTICÓ EL EXAMEN GENERAL PRIVADO

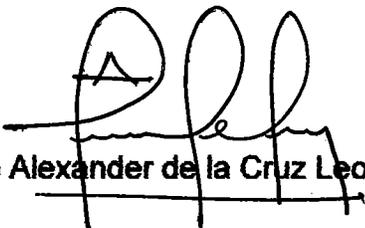
DECANO	Ing. Murphy Olympo Paiz Recinos
EXAMINADORA	Inga. Teresa Lisely De León Arana
EXAMINADOR	Ing. César Alfonso García Guerra
EXAMINADOR	Ing. Jaime Domingo Carranza González
SECRETARIA	Inga. Marcia Ivónne Véliz Vargas

HONORABLE TRIBUNAL EXAMINADOR

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

**EVALUACIÓN DEL PORCENTAJE DE RENDIMIENTO Y CARACTERIZACIÓN
FISICOQUÍMICA DE LA OLEORRESINA DE CHILE BLANCO (*Capsicum annum A.*)
PROVENIENTE DE TRES ESTRATOS ALTITUDINALES UTILIZANDO COMO SOLVENTE
DE EXTRACCIÓN SOLUCIONES DE ALCOHOL ETÍLICO – AGUA, A ESCALA
LABORATORIO**

Tema que me fuera asignado por la Dirección de la Escuela de Ingeniería Química, con fecha febrero 2010.


Aldo Alexander de la Cruz Leonardo



CENTRO DE INVESTIGACIONES DE INGENIERIA
FACULTAD DE INGENIERIA
UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA



Nº 18910

Guatemala, 16 de Mayo de 2011

Ingeniero
Williams Álvarez
Director
Escuela de Ingeniería Química
Facultad de Ingeniería
Universidad de San Carlos de Guatemala

Ingeniero Álvarez:

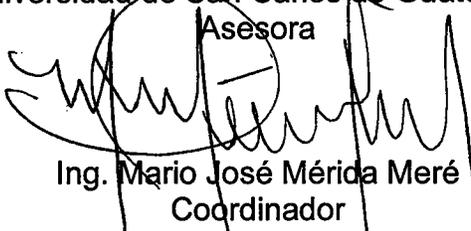
Por medio de la presente HACEMOS CONSTAR que hemos revisado y dado nuestra aprobación al informe final del trabajo de graduación **“Evaluación del porcentaje de rendimiento y caracterización fisicoquímica de la oleorresina de chile blanco (*Capsicum annum A.*) Proveniente de tres estratos altitudinales utilizando como solvente de extracción soluciones de alcohol etílico – agua, a escala laboratorio”**, del estudiante de Ingeniería Química Aldo Alexander de la Cruz Leonardo quien se identifica con el carné número 2005-11824.

Sin otro particular nos suscribimos de usted.

Atentamente,


Inga. Telma Maricela Cano Morales
Directora
Centro de Investigaciones de Ingeniería
Universidad de San Carlos de Guatemala
Asesora




Ing. Mario José Mérida Meré
Coordinador
Laboratorio de Investigación
de Extractos Vegetales –LIEXVE-
Coasesor





UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE INGENIERÍA
ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA

Guatemala, 18 de julio de 2011
Ref.EIQ.TG.159.2011

Ingeniero
Williams Guillermo Álvarez Mejía
DIRECTOR
Escuela de Ingeniería Química
Facultad de Ingeniería
Presente.

Estimado Ingeniero Álvarez:

Como consta en el **Acta TG-1122011-B-IF** le informo que reunidos los Miembros del Tribunal nombrado por la Escuela de Ingeniería Química, se practicó la revisión del informe final del trabajo de graduación, para optar al título de INGENIERO QUÍMICO al estudiante universitario, **Alexander de la Cruz Leonardo**, identificado con carné No. **2005-11824**, titulado: **"EVALUACIÓN DEL PORCENTAJE DE RENDIMIENTO Y CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA DE LA OLEORRESINA DE CHILE BLANCO (*Capsicum annuum* A.) PROVENIENTE DE TRES ESTRATOS ALTITUDINALES UTILIZANDO COMO SOLVENTE DE EXTRACCIÓN SOLUCIONES DE ALCOHOL ETÍLICO-AGUA, A ESCALA LABORATORIO"**, el cual ha sido asesorado por la Ingeniera Química **Telma Maricela Cano Morales**

Habiendo encontrado el referido informe final **satisfactorio**, se procede a recomendarle autorice al estudiante **DE LA CRUZ LEONARDO**, proceder con los trámites requeridos de acuerdo a normas y procedimientos establecidos por la Facultad para su autorización e impresión.

"ID Y ENSEÑAD A TODOS"

Inga. Teresa Lisely de León Arana, M.Sc.
COORDINADORA
Tribunal que revisó el informe final
Del trabajo de graduación



ESCUELA DE
INGENIERIA QUIMICA

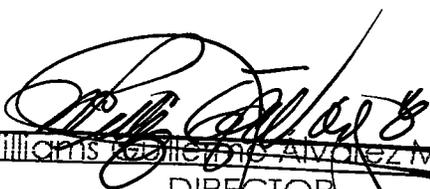
C.c.: archivo



UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE INGENIERÍA
ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA

Ref.EIQ.TG.174.2011

El Director de la Escuela de Ingeniería Química de la Universidad de San Carlos de Guatemala, luego de conocer el dictamen del Asesor y de los Miembros del Tribunal nombrado por la Escuela de Ingeniería Química para revisar el Informe del Trabajo de Graduación del estudiante, **ALDO ALEXANDER DE LA CRUZ LEONARDO** titulado: "EVALUACIÓN DEL PORCENTAJE DE RENDIMIENTO Y CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA DE LA OLEORRESINA DE CHILE BLANCO (*Capsicum annum* A.) PROVENIENTE DE TRES ESTRATOS ALTITUDINALES UTILIZANDO COMO SOLVENTE DE EXTRACCIÓN SOLUCIONES DE ALCOHOL ETÍLICO-AGUA, A ESCALA LABORATORIO". Procede a la autorización del mismo, ya que reúne el rigor, la secuencia, la pertinencia y la coherencia metodológica requerida.


Ing. Williams Adileiris Alvarez Mejía; C.Dr.
DIRECTOR
Escuela de Ingeniería Química



Guatemala, agosto de 2011

Cc: Archivo
WGAM/ale



El Decano de la Facultad de Ingeniería de la Universidad de San Carlos de Guatemala, luego de conocer la aprobación por parte del Director de la Escuela de Ingeniería Química, al trabajo de graduación titulado: **EVALUACIÓN DEL PORCENTAJE DE RENDIMIENTO Y CARACTERIZACIÓN FISICOQUÍMICA DE LA OLEORRESINA DE CHILE BLANCO (Capsicum annum A.) PROVENIENTE DE TRES ESTRATOS ALTITUDINALES UTILIZANDO COMO SOLVENTE DE EXTRACCIÓN SOLUCIONES DE ALCOHOL ETÍLICO-AGUA A ESCALA LABORATORIO**, presentado por el estudiante universitario Aldo Alexander de la Cruz Leonardo, procede a la autorización para la impresión del mismo.

IMPRÍMASE.

Ing. Murphy Olimpo Paiz Ramos
DECANO



Guatemala, agosto de 2011

ACTO QUE DEDICO A:

- Dios** Por ser mi guía y compañía en este camino, por darme la oportunidad, fortaleza y paciencia de cumplir este anhelado sueño.
- Mis padres** Ingrid y Nery por su amor, ejemplo y porque sin ustedes este día nunca hubiese llegado.
- Mis hermanos** Nery, Karen y Génesis, para que nunca desfallezcan en la búsqueda de sus sueños.
- Mi novia** Bárbara, por todos nuestros lindos momentos.
- Mis tíos y primos** Todos ustedes por su incondicional apoyo y consejos, los quiero con todo mi corazón.
- Mis amigos y amigas** Por lo maravilloso que hemos compartido y seguiremos viviendo juntos.

AGRADECIMIENTOS A:

- Dios** Por darme el soplo de vida y donarme de humildad, inteligencia y tenacidad para cumplir mis sueños.
- Mis padres** Ingrid y Nery por ser los pilares de mi vida y brindarme todo su amor y apoyo incondicionalmente. Este triunfo es de ustedes.
- Mis hermanos** Nery, Karen y Génesis, por su amor y apoyo en todo momento.
- Mi novia** Bárbara, por estar a mi lado y por todo tu apoyo en la realización de este sueño.
- Mis tíos** Por el tiempo que se han tomado en darme consejos y apoyarme.
- Mis primos** Por su amistad y amor. Los quiero a todos.
- Mi cuñada** Eugenia, porque nunca te faltó una palabra de aliento.
- Mis profesores** Licda. Silvia Santos, Lic. Jorge Sánchez y Licda. Hogla de León, nunca los olvidaré.

Mi grupo de estudio	Priscilla, Julio y Oscar, mis amigos del alma, toda la carrera fue una aventura a su lado. Siempre los llevaré en mi corazón.
Mis amigas	Ana lucía, Wendy, Sandra, Jeimy, Rosa María, Mily, Mariana, Adela, Cinthya y Natalia, por los maravillosos momentos compartidos.
Mis amigos	Luis Pedro, Luis Guillermo, Junior, César, Carlos, Juan José, Renato, Danilo, Eddy y a todos los demás por su incondicional amistad.
Mis asesores	Ing. Telma Cano e Ing. Mario Mérida gracias por compartir sus conocimientos. Los aprecio mucho.
Ing. César García	Por su valiosa ayuda y apoyo brindado.
Unidad de Análisis Instrumental (UAI)	A la Lic. Patricia Navas y al Dr. Juan Pérez por su valiosa contribución a dicha investigación.
A LIEXVE	Al laboratorio de investigación de extractos vegetales, fue un honor trabajar con cada uno de ustedes.
Universidad de San Carlos de Guatemala	Mi “alma máter” siempre te llevaré en mi corazón, y en especial a la facultad de ingeniería, es un privilegio pertenecer a esta facultad.

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES	VII
LISTADO DE SÍMBOLOS	XI
GLOSARIO	XIII
RESUMEN	XVII
OBJETIVOS.....	XXI
HIPÓTESIS.....	XXIII
INTRODUCCIÓN	XXV
1. ANTECEDENTES	1
2. MARCO TEÓRICO.....	9
2.1. Oleorresinas.....	9
2.1.1. Usos de las oleorresinas	10
2.1.2. Ventajas del uso de oleorresinas	11
2.1.2.1. Economía.....	11
2.1.2.2. Uniformidad.....	11
2.1.2.3. Natural	11
2.1.2.4. Pureza.....	11
2.1.2.5. Esterilidad	12
2.1.2.6. Cumplimiento de las especificaciones	12
2.1.2.7. Vida de anaquel	12
2.1.2.8. Dilución	12
2.1.3. Proceso de extracción de oleorresinas	12
2.1.4. Oleorresinas de <i>capsicum</i>	13

2.1.5.	Parámetros en el proceso de producción de la oleorresina de <i>capsicum</i>	14
2.1.5.1.	Cosecha	14
2.1.5.2.	Limpieza	15
2.1.5.3.	Procesamiento pos- cosecha	15
2.1.5.4.	Secado	15
2.1.5.5.	Almacenamiento	16
2.1.5.6.	Molienda.....	17
2.2.	Procesos de extracción sólido-líquido	18
2.2.1.	Proceso de lixiviación	18
2.2.2.	Maceración	19
2.2.3.	Maceración con reflujo.....	19
2.2.4.	Técnica de extracción soxhlet.....	20
2.2.4.1.	Preparación de la muestra.....	21
2.2.4.2.	Cartuchos	22
2.2.4.3.	Tapón del cartucho.....	22
2.2.4.4.	Colocación del solvente.....	23
2.2.4.5.	Solventes a utilizar.....	23
2.2.4.6.	Calentamiento	25
2.2.4.7.	Refrigeración	26
2.2.4.8.	Operación de extracción.....	26
2.2.4.9.	Culminación de la operación	28
2.2.5.	Velocidad de lixiviación.....	29
2.3.	Extracción de oleorresina de <i>capsicum</i>	30
2.3.1.	Consideraciones iniciales	30
2.3.2.	Factores del proceso extractivo	31
2.3.2.1.	Estado de división de la especie vegetal	32
2.3.2.2.	Agitación.....	32
2.3.2.3.	Temperatura	32

2.3.2.4.	Naturaleza del solvente.....	33
2.3.2.5.	Tiempo de extracción.....	34
2.3.3.	Procesos extractivos	34
2.4.	Equilibrio binario líquido-vapor	35
2.5.	Cromatografía como técnica de análisis	37
2.5.1.	Definición	37
2.5.2.	Clasificación	37
2.5.3.	Cromatografía en capa fina.....	38
2.5.4.	Cromatografía líquida de alta eficiencia (<i>HPLC</i>)	40
2.5.5.	Cromatografía en fase gaseosa	41
2.5.6.	Cromatografía en fase gaseosa acoplada a espectrometría de masas.....	42
2.6.	Análisis de los niveles de calidad de las oleorresinas.....	44
2.7.	Chile.....	44
2.8.	Chile blanco (<i>Capsicum annuum var. Annuum</i>).....	46
2.8.1.	Clasificación científica	47
2.8.2.	Composición química	48
2.8.3.	Anatomía y características del chile <i>capsicum</i>	48
2.8.4.	Capsaicinoides	49
2.8.4.1.	Capsaicina	51
2.8.4.2.	Dihidrocapsaicina.....	52
2.8.4.3.	Nordihidrocapsaicina	53
2.8.4.4.	Homodihidrocapsaicina.....	53
2.8.4.5.	Homocapsaicina	54
2.8.5.	Medidas de pungencia	55
2.8.5.1.	Escala Scoville.....	56
2.8.6.	Importancia nutricional del chile <i>capsicum</i>	57
2.8.7.	Usos que se le dan al chile <i>capsicum</i>	57
2.8.7.1.	Medicina.....	57

2.8.7.2.	Como especia.....	57
2.8.7.3.	Oleoresina	57
3.	DISEÑO METODOLÓGICO.....	59
3.1.	Variables.....	60
3.1.1.	Variables independientes.....	60
3.1.1.1.	Concentración de la solución etanólica	60
3.1.1.2.	Estrato altitudinal de procedencia.....	60
3.1.2.	Variables dependientes	61
3.1.2.1.	Porcentaje de rendimiento de oleoresina	61
3.1.2.2.	Determinación de capsaicina.....	61
3.1.2.3.	Unidades de calor Scoville (<i>SHU</i>)	61
3.2.	Delimitación del campo de estudio	62
3.3.	Recursos disponibles.....	62
3.3.1.	Recurso humano.....	62
3.3.2.	Recurso físico	62
3.4.	Recursos materiales disponibles	63
3.4.1.	Materia prima y reactivos.....	63
3.4.2.	Cristalería y equipos	63
3.4.2.1.	Cristalería y materiales auxiliares.....	63
3.4.2.2.	Equipos.....	64
3.5.	Técnica cualitativa o cuantitativa	65
3.5.1.	Cromatografía líquida de alta eficiencia (<i>HPLC</i>)	65
3.5.1.1.	Preparación de los estándares	65
3.5.1.2.	Curva de calibración.....	65
3.5.1.3.	Cuantificación de las muestras.....	67
3.5.2.	Caracterización fisicoquímica de la oleoresina de chile blanco (<i>Capsicum annuum</i> A.).....	67
3.5.2.1.	Cuantificación de capsaicina	67

3.5.2.2. Unidades de calor Scoville (<i>SHU</i>).....	68
3.6. Recolección y ordenamiento de la información.....	68
3.7. Tabulación, ordenamiento y procesamiento de la información	68
3.8. Análisis estadístico.....	69
4. RESULTADOS	71
4.1. Análisis de varianza para dos factores con varias muestras por grupo.....	77
5. INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS	81
CONCLUSIONES	87
RECOMENDACIONES	89
BIBLIOGRAFÍA.....	91
APÉNDICES	93
ANEXOS	129

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

FIGURAS

1.	Diagrama cronológico del proceso de producción de oleorresina de <i>capsicum</i>	14
2.	Equipo de extracción soxhlet.....	28
3.	Diagrama de equilibrio para el sistema binario alcohol etílico – agua en función de la fracción molar a 640 mmHg.....	36
4.	Diagrama de equilibrio líquido – vapor para el sistema binario alcohol etílico – agua a 640 mmHg.....	36
5.	Chile blanco (<i>Capsicum annuum A.</i>) proveniente de Santa Catalina La Tinta (100 msnm) departamento de Alta Verapaz.....	47
6.	Molécula de capsaicina.....	51
7.	Molécula de capsaicina en 3D.....	52
8.	Molécula de dihidrocapsaicina.....	52
9.	Molécula de nordihidrocapsaicina.....	53
10.	Molécula de homodihidrocapsaicina.....	54
11.	Molécula de homocapsaicina.....	55
12.	Curva de calibración para detección de capsaicina en oleorresina de chile blanco (<i>Capsicum annuum A.</i>) por HPLC.....	66
13.	Porcentajes de rendimiento de oleorresina de chile blanco (<i>Capsicum annuum A.</i>) obtenidos a partir de la extracción soxhlet en la primera corrida.....	73

14.	Porcentajes de rendimiento de oleorresina de chile blanco (<i>Capsicum annuum</i> A.) obtenidos a partir de la extracción soxhlet en la segunda corrida.....	74
15.	Porcentajes de rendimiento de oleorresina de chile blanco (<i>Capsicum annuum</i> A.) obtenidos a partir de la extracción soxhlet en la tercera corrida.....	74
16.	Porcentajes promedio de rendimiento de oleorresina de chile blanco (<i>Capsicum annuum</i> A.) obtenidos a partir de la extracción soxhlet.....	75
17.	Cuantificación en ppm de capsaicina presente en la oleorresina de chile blanco (<i>Capsicum annuum</i> A.) por medio de cromatografía líquida de alta eficiencia <i>HPLC</i>	75
18.	Unidades de calor Scoville (<i>SHU</i>) de la oleorresina de chile blanco (<i>Capsicum annuum</i> A.) en función de la cantidad de capsaicina presente.....	76
19.	Medias del porcentaje de rendimiento de oleorresina de chile blanco (<i>Capsicum annuum</i> A.) en función de la concentración de la solución alcohol etílico - agua.....	77
20.	Medias del porcentaje de rendimiento de oleorresina de chile blanco (<i>Capsicum annuum</i> A.) en función del estrato altitudinal de procedencia.....	78
21.	Medias de la cantidad de capsaicina presente en la oleorresina de chile blanco (<i>Capsicum annuum</i> A.) en función de la concentración de la solución alcohol etílico - agua.....	79
22.	Medias de la cantidad de capsaicina presente en la oleorresina de chile blanco (<i>Capsicum annuum</i> A.) en función del estrato altitudinal de procedencia.....	79

TABLAS

I. Clasificación del tipo de polvo.....	17
II. Solventes comunes utilizados en las extracciones soxhlet.....	25
III. Clasificación de los tipos de cromatografía.....	38
IV. Clasificación de capsaicinoides presentes en el <i>capsicum annuum</i>	50
V. Especificaciones del cromatógrafo líquido de alta eficiencia (HPLC) utilizado en el análisis de la oleorresina de chile blanco (<i>Capsicum annuum A</i>).....	65
VI. Curva de calibración para la detección de capsaicina en oleorresina de chile blanco (<i>Capsicum annuum A</i>).....	66
VII. Especificaciones de variables de operación del cromatógrafo líquido de alta eficiencia HPLC.....	67
VIII. Porcentajes de rendimiento de oleorresina de chile blanco (<i>Capsicum annuum A</i>) obtenidos por extracción soxhlet proveniente de Santa Catalina La Tinta.....	71
IX. Porcentajes de rendimiento de oleorresina de chile blanco (<i>Capsicum annuum A</i>) obtenidos por extracción soxhlet proveniente de Telemán.....	71
X. Porcentajes de rendimiento de oleorresina de chile blanco (<i>Capsicum annuum A</i>) obtenidos por extracción soxhlet proveniente de Panzós.....	72
XI. Cuantificación en ppm de capsaicina en la oleorresina de chile blanco (<i>Capsicum annuum A</i>) por medio de cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC).....	72

XII. Unidades de calor Scoville (<i>SHU</i>) de la oleorresina de chile blanco (<i>Capsicum annuum</i> A.) en función de la cantidad de capsaicina presente.....	73
XIII. Análisis de varianza para el porcentaje de rendimiento de la oleorresina de chile blanco (<i>Capsicum annuum</i> A.).....	77
XIV. Análisis de varianza para la cantidad de capsaicina presente en la oleorresina de chile blanco (<i>Capsicum annuum</i> A.).....	78

LISTADO DE SÍMBOLOS

Símbolo	Descripción
φ	Constante dieléctrica
ρ	Densidad en g /mL
Rf	Factor de retención
g	Gramos
Hz	Hertz en S ⁻¹
Hi	Hipótesis alternativa
Ho	Hipótesis nula
m	Metro
msnm	Metros sobre nivel del mar
mL	Mililitros
mmHg	Milímetros de mercurio

ppm	Partes por millón
%	Porcentaje
Hp	Potencia en caballos de fuerza
V/V	Relación volumen sobre volumen
α	Significancia
° C	Temperatura en grados Celsius
SHU	Unidades de calor Scoville
F_o	Valor de Fisher calculado
F_c	Valor de Fisher crítico

GLOSARIO

Capsaicina	Tiene un peso molecular de 305,46 g/mol, un punto de fusión de 65 °C y un punto de ebullición de 81 °C. Químicamente se define como la trans-8-metil-N-Vanillil-6-nonenamida con una fórmula molecular condensada $C_{18}H_{27}NO_3$.
Cromatografía	Método físico que permite la separación de mezclas de sustancias en sus componentes individuales. Esta técnica permite, igualmente, obtener información cualitativa y cuantitativa sobre las sustancias presentes en la mezcla.
Deshidratación	Pérdida parcial o total del contenido de agua que forma parte de la especie vegetal.
Destilación fraccionada	Procedimiento de separación de los componentes líquidos de una disolución, que se basa en sus diferentes puntos de ebullición.
Estrato altitudinal	Se refiere a la altura sobre el nivel del mar de la región de la cual es procedente la materia prima.

Hidrólisis	Reacción química mediante la cual resultan dos nuevos compuestos a partir de una sustancia compleja, mediante la adición de agua y su posterior descomposición.
Lixiviación	Proceso en el que un disolvente líquido se pone en contacto con un sólido pulverizado, para que se produzca la disolución de uno de los componentes del sólido.
Maceración	Proceso de extracción sólido-líquido en el que se pone en contacto íntimo la materia prima (sólido), la cual posee ciertos compuestos solubles en el líquido extractante, que son los que se desea extraer.
Oleorresina	Extractos líquidos de especies vegetales, los cuales se caracterizan por el olor, sabor y color de las especies naturales de las cuales provienen; se obtienen de la evaporación del disolvente de extracción, dejando una mezcla del aceite volátil y el material resinoso de la especie.
Pungencia	Es el principal atributo de los frutos de la especie de <i>capsicum annuum</i> y corresponde a la sensación resultante de la estimulación de receptores del dolor. Ésta se determina por la concentración y localización de la capsaicina y otros compuestos denominados capsaicinoides.

Solubilidad	Máxima cantidad de soluto que se puede disolver en determinada cantidad de disolvente a una temperatura específica.
Solvente	Sustancia que permite la dispersión de otra en su seno. También se puede definir como la sustancia que se encuentra en mayor proporción en una solución.
Temperatura de saturación	Es la temperatura a la cual una sustancia cambia de fase a una determinada presión.

RESUMEN

El objetivo del presente estudio fue la evaluación del porcentaje de rendimiento y caracterización fisicoquímica de la oleorresina de chile blanco (*Capsicum annuum* A.) obtenida por medio de la técnica de extracción soxhlet aplicándose a estratos altitudinales de 100 msnm, 60 msnm y 18 msnm, utilizando como solvente de extracción soluciones de alcohol etílico – agua a concentraciones del 45%, 70% y 95 % (v/v).

Se analizaron los datos mediante un diseño estadístico de bloques aleatorizados con repetición, evaluándose por medio de un análisis de varianza y comprobando dichos resultados por las pruebas estadísticas de *Tukey* y diferencias mínimas significativas (*LSD*).

Al realizar el análisis estadístico se logró determinar que el porcentaje de rendimiento de oleorresina depende solamente de la concentración de alcohol etílico – agua utilizada, y no presentó diferencias significativas para el estrato altitudinal, ni para la interacción de dichos factores, reportando valores promedio entre los $20,01\% \pm 1,34\%$ y $40,04\% \pm 9,82\%$.

Para la caracterización fisicoquímica de la oleorresina se determinó su contenido de capsaicina presente, mediante cromatografía líquida de alta eficiencia (*HPLC*). Según el análisis estadístico, tanto la concentración de alcohol etílico – agua, el estrato altitudinal y su interacción, presentaron diferencias significativas, reportando valores entre los 4,0539 y 20,9900 ppm.

Además se determinó la pungencia de las oleorresinas obtenidas en unidades de calor Scoville (*SHU*), siendo la más alta de 336 *SHU*.

ABSTRACT

This study aimed at evaluating the percentage yield and physicochemical characterization of the white chilli oleoresin (*capsicum annum A.*) obtained by the soxhlet extraction technique applied to altitudinal levels of 100 masl, 60 masl and 18 masl, using as solvent extraction ethyl alcohol – water solutions at concentrations of 45%, 70% and 95% (v / v).

Data were analyzed using a statistical randomized block design with repetition, assessed by an analysis of variance and checking these results by statistical tests of Tukey and low significant differences.

By statistical analysis it was determined that the percentage yield of oleoresin depends only on the concentration of ethyl alcohol - water used, and no significant differences for the altitude stratum or for the interaction of these factors, reporting values between $20,01\% \pm 1,34 \%$ and $40,04\% \pm 9,82\%$.

For the physicochemical characterization of the oleoresin was determined the present capsaicin content by high precision liquid chromatography (HPLC). According to statistical analysis the ethyl alcohol - water concentration, the stratum and their interaction showed significant differences, reporting values between 4,0539 and 20,9900 ppm.

It was also determined the pungency of the oleoresins obtained in Scoville heat units (SHU), being the highest of 336 SHU.

OBJETIVOS

General

Evaluación del porcentaje de rendimiento y caracterización fisicoquímica de la oleorresina de chile blanco (*Capsicum annuum* A.), obtenida por medio de la técnica de extracción soxhlet aplicándose a tres estratos altitudinales utilizando como solvente de extracción soluciones de alcohol etílico – agua, a escala laboratorio.

Específicos

1. Extraer la oleorresina de chile blanco (*Capsicum annuum* A.), procedente de estratos altitudinales a 100 msnm, 60 msnm y 18 msnm, utilizando como solvente extractivo soluciones alcohol etílico – agua a concentraciones del 95%, 70% y 45% en relación volumen aplicando la técnica de extracción soxhlet.
2. Evaluar el porcentaje de rendimiento de oleorresina de chile blanco (*Capsicum annuum* A.), para cada estrato altitudinal y concentración de la solución alcohol etílico – agua.
3. Determinar la mejor combinación entre estrato altitudinal y concentración de solución alcohol etílico – agua que proporcionen el mayor porcentaje de rendimiento de oleorresina de chile blanco (*Capsicum annuum* A.).

4. Cuantificar la capsaicina presente en la oleorresina de chile blanco (*Capsicum annuum* A.), por el método de cromatografía líquida de alta eficiencia (*HPLC*).

5. Establecer el nivel de pungencia en unidades de calor Scoville (*SHU*) de la oleorresina de chile blanco (*Capsicum annuum* A.), teniendo como referencia la cantidad de capsaicina presente.

HIPÓTESIS

Hipótesis Nula (H_0). No existe diferencia significativa en el porcentaje de rendimiento de oleorresina de chile blanco, obtenido con respecto al estrato altitudinal de procedencia y/o utilizando soluciones de alcohol etílico – agua a concentraciones del 95%, 70% y 45%.

Hipótesis Alternativa (H_1). Existe diferencia significativa en el porcentaje de rendimiento de oleorresina de chile blanco, obtenido con respecto al estrato altitudinal de procedencia y/o utilizando soluciones de alcohol etílico – agua a concentraciones del 95%, 70% y 45%.

Hipótesis Nula (H_0). No existe diferencia significativa en la cantidad de capsaicina presente en la oleorresina extraída de chile blanco, con respecto al estrato altitudinal de procedencia y/o utilizando soluciones de alcohol etílico – agua a concentraciones del 95%, 70% y 45%.

Hipótesis Alternativa (H_1). Existe diferencia significativa en la cantidad de capsaicina presente en la oleorresina extraída de chile blanco, con respecto al estrato altitudinal de procedencia y/o utilizando soluciones de alcohol etílico – agua a concentraciones 95%, 70% y 45%.

INTRODUCCIÓN

Guatemala es un país que cuenta con una gran variedad de cultivos de especies de hortalizas, en las que cabe mencionar la especie de chile, hortaliza, que va aumentando su importancia día a día, debido a los múltiples usos industriales y alimenticios.

En Guatemala, el chile blanco (*Capsicum annuum A.*), es una variedad de chile nativa la cual se cultiva al Norte y Costa Sur Occidental del país, la cual ha sido utilizada simplemente como sazónador de comidas en su estado fresco; sin embargo, la creciente necesidad de avanzar en nuevas tecnologías hacia alimentos más naturales, incentivan a la investigación de nuevos productos de origen vegetal. Entre estos se encuentran las oleorresinas, cuyo uso es práctico y económico, ya que no requiere de grandes espacios para su almacenamiento y permite preservar el producto por más tiempo; además, son de interés sus propiedades nutricionales, farmacológicas y colorantes.

Por otra parte, estudios realizados por países como India, México, Colombia y Estados Unidos, han logrado extraer y caracterizar fisicoquímicamente oleorresinas provenientes de diversas variedades de chile utilizando metodologías de extracción sólido-líquido con distintos tipos de solventes, esto debido a la importancia de este producto vegetal.

Debido a lo anterior en el presente trabajo de investigación se evaluó el porcentaje de rendimiento y se caracterizó fisicoquímicamente la oleorresina de chile blanco (*Capsicum annuum* A.), aplicando la técnica extractiva soxhlet variando el estrato altitudinal de procedencia y utilizando como solvente de extracción soluciones de alcohol etílico – agua a diferentes concentraciones.

1. ANTECEDENTES

La sección de Química Industrial del Centro de Investigaciones de Ingeniería se ha caracterizado por sus investigaciones multidisciplinarias en el grado de proyectos de investigación o bien tesis de grado para estudiantes de Ingeniería Química. En el 2010 se establece el Laboratorio de Investigación de Extractos Vegetales –LIEXVE- con el cual se pretendió dar auge a la investigación de especies vegetales en toda su amplitud.

En la temática de oleorresinas se han realizado los siguientes proyectos:

En el 2000, los ingenieros Cano Telma, Benítez Ingrid, Chávez Blanca y Aguilar Byron, ejecutaron el proyecto 28-97 CONCYT denominado: “Obtención y caracterización de capsaicina, ingrediente activo de productos fitofarmacéuticos y agroindustriales de 3 especies de *capsicum* (*Capsicum chinense*, *Capsicum annuum L.V* y *Capsicum annuum*)”. Para el desarrollo del proyecto se trabajó con: chile habanero, chile jalapeño y chile verde o chocolate, clasificados según su especie respectivamente. El estudio consistió en un experimento bifactorial en que se utilizaron concentraciones de alcohol etílico al 70% y 95%, sobre materia fresca y seca. Se obtuvo que el mayor rendimiento de oleorresina fue de 14,62% para la especie de chile habanero seco (*Capsicum chinense*) a una concentración de alcohol etílico del 70%. El mayor porcentaje de capsaicina fue en la oleorresina de chile habanero con un valor de 10,28%, el cual figura en el rango del valor teórico esperado de aproximadamente 10% al 12%.

El mayor porcentaje en rendimiento de capsaicina, en función del solvente utilizado, reportó un valor de 0,002% para la especie de chile habanero (*capsicum chinense*) seco, empleando como solvente alcohol etílico al 95%.

Se determinó que el nivel de deshidratación del *capsicum* y la concentración del solvente, no influyen en el porcentaje de rendimiento de la oleorresina. Se estableció que para mejorar el rendimiento de la oleorresina los factores según su importancia son el nivel de deshidratación, especie vegetal y la concentración del solvente.

En el 2003, los ingenieros agrónomos M.A. Mynor Raúl Otzoy Rosales, M.Sc. Milton Leonel Chan Santisteban y Carlos Arturo Esteban García realizaron el proyecto titulado “Búsqueda, colecta y manejo agronómico, caracterización y obtención de cultivares y materiales de chile tradicional (*Capsicum annum*) en la zona Sur Occidental de Guatemala”. Esta investigación tuvo como objetivos: buscar, coleccionar, establecer el manejo agronómico, caracterizar y determinar cultivares y materiales tradicionales de chile (*Capsicum spp.*) en la zona Sur Occidental de Guatemala.

La caracterización se llevó a cabo en la granja docente “Zahorí”, ubicada en el municipio de Cuyotenango, del departamento de Suchitepéquez. La metodología empleada en dicha etapa se basó en el análisis de procedimientos univariado y multivariado, a través de *cluster* y componentes principales para identificar los grupos del chile tradicional. La investigación tuvo una duración de once meses, fue ejecutada por la Dirección General de Investigación de la Universidad de San Carlos de Guatemala y cofinanciada por el Centro Universitario de Sur Occidente (CUNSUROC).

En el 2004, el estudiante Julio Gabriel López Mazín realizó la tesis de grado con el tema “Evaluación del rendimiento de oleorresina de las hojas de laurel (*Litsea guatemalensis*) de Tecpán, Chimaltenango en función del tamaño de partícula, utilizando dos solventes distintos a nivel planta piloto” el cual fue asesorado por la Inga. Telma Maricela Cano Morales.

En esta investigación se evaluó el rendimiento porcentual de la oleorresina de las hojas secas de laurel (*Litsea guatemalensis*) a nivel planta piloto, utilizando como método de extracción la maceración de la hoja molida, filtración y posterior concentración del extracto obtenido; se manejó como variables controlables, los tamaños de partícula de las hojas utilizadas, siendo estos los comprendidos entre los tamices No. 5 y No.7 y los comprendidos entre los tamices No.7 y No. 20; y dos solventes distintos, el etanol grado industrial al 66,64% p/v y el hexano grado industrial 84,6% p/v. El mayor rendimiento de oleorresina de laurel (*Litsea guatemalensis*) fue de 7,5% y se obtuvo de la extracción con etanol para la partícula de hoja comprendida entre el tamiz No.7 y el No.20. El rendimiento de oleorresina de laurel (*Litsea guatemalensis*) de la extracción por maceración y concentración depende del solvente que se utilice. Los rangos de tamaño de partícula utilizados para los tamices No.5 y No.7 y los tamices No.7 y No.20, no afectan significativamente el rendimiento de la oleorresina. La interacción del solvente utilizado y el tamaño de partícula utilizado, sí afecta significativamente el rendimiento de la oleorresina. Los tres componentes mayoritarios del aceite esencial extraído con etanol y hexano, son: cineol, linalol y terpinol.

En el 2005, el estudiante Tito Estuardo Vides Quiñónez realizó la tesis de grado con el tema “Obtención y caracterización de oleorresina de clavo (*Eugenia Cariophyllata, Thunb*), cultivado en Guatemala, a nivel planta piloto” el cual fue asesorado por la Inga. Telma Maricela Cano Morales.

En esta investigación se evaluó el porcentaje de rendimiento de la oleorresina de clavo (*Eugenia caryophyllata Thunb*) a nivel planta piloto, en función del tiempo de maceración, utilizando como método de extracción la maceración sin agitación o recirculación del clavo molido, filtración y posterior concentración del extracto.

Se utilizó como solvente una solución acuosa de etanol al 70% y se manejó como variable controlable tres diferentes tiempos de maceración, siendo estos 12, 24 y 36 horas. Se determinó que el rendimiento de la oleorresina de clavo (*Eugenia caryophyllata Thunb*) extraído en la planta piloto es de 19,5% para un tiempo de 12 horas, 20,8% para un tiempo de 24 horas y 22,6% para un tiempo de 36 horas, con composición y propiedades semejantes. Para la interpretación estadística de los resultados se utilizó un nivel de significancia del 5% sobre esta base, y se determinó que el rendimiento no se ve afectado significativamente por el tiempo de maceración. Se realizó un análisis cualitativo, por medio de cromatografía de capa fina de la oleorresina obtenida para confirmar la presencia de los compuestos mayoritarios, siendo éste el eugenol.

En febrero de 2009, el estudiante Keny Abdón López Salazar presenta su estudio de tesis de grado con el tema “Extracción y caracterización fisicoquímica de la oleorresina de la hoja de laurel (*Litsea guatemalensis Mez.*) a nivel laboratorio, utilizando tres concentraciones de solvente”, asesorado por la Inga. Telma Maricela Cano Morales. Se evaluó el rendimiento de la oleorresina de las hojas de laurel (*Litsea guatemalensis Mez*) a nivel laboratorio mediante lixiviación, utilizando como método de extracción maceración dinámica de la hoja molido, posterior filtración y concentración del extracto obtenido. Se manejó como variables controlables, el tamaño de partícula comprendidos entre los tamices No.5 (4 mm) y No. 200 (75 µm) y 3 concentraciones de etanol (35%, 70% y 95% v/v).

El método experimental se planteó como un diseño completamente al azar con un arreglo combinatorio, se llevaron a cabo 3 repeticiones de cada una, completando 9 experimentos, manteniéndose constante una masa inicial de 50 g de hoja triturada y una relación solvente de 1:10 (w/v).

Para la interpretación estadística de los resultados experimentales se utilizó el análisis de varianza con nivel de significancia del 5%. Sobre la base del análisis estadístico se determinó que el rendimiento, la densidad, el índice de refracción y el número de componentes se ve afectado por la concentración del solvente utilizado.

El etanol al 95% es el mejor para las extracciones de este tipo de oleorresina, ya que el mayor rendimiento de oleorresina obtenido fue para este último con 22,03% y es el extracto en donde mayor número de componentes se logran identificar. Se realizó un análisis cualitativo por medio de cromatografía gaseosa acoplada a la espectrometría de masa de la oleorresina obtenida para determinar la presencia de los compuestos mayoritarios, siendo 1,8 cineol (14%), linalol (22%) y nerolidol (13%)

En julio 2009, el estudiante Adrian Antonio Soberanis Ibáñez presenta su estudio de tesis con el tema “Evaluación de las propiedades fisicoquímicas de la oleorresina de cardamomo (*Elleteria cardamomum*, L. Matton) obtenida a nivel laboratorio utilizando dos métodos de lixiviación a tres diferentes temperaturas”. Asesorado por la Inga. Telma Maricela Cano Morales.

Se caracterizaron dos métodos diferentes de extracción sólido-líquido para la obtención de oleorresina de cardamomo (*Elleteria cardamomum*, L. Matton), tomando como parámetros de comparación los rendimientos obtenidos, así como las propiedades fisicoquímicas y fitoquímicas de los extractos obtenidos.

Se utilizaron dos métodos de extracción, maceración dinámica y maceración estática, utilizando como solvente etanol al 95% v/v y cardamomo con un tamaño entre 840 y 1 190 micrones y una humedad menor a 15% w/w. Se analizaron dos métodos: estático y dinámico (800 rpm), cada extracción se llevó a cabo a tres diferentes temperaturas, 25 °C, a 50 °C y 78 °C. Esto para poder determinar el efecto de la temperatura en el rendimiento y propiedades de las oleorresinas obtenidas.

Al realizar el análisis estadístico se logró determinar que existe diferencia significativa entre cada uno de los métodos. El método con mayor rendimiento fue la maceración dinámica a 25°C con un rendimiento de 20,968% ± 1,073 %. Además, se determinaron cuáles son los metabolitos secundarios de mayor presencia en la oleorresina de cardamomo, siendo estos: acetato de α -terpinilo, limoneno, α -terpineol, linalool y nerolidol. La presencia de estos fue determinada a través de cromatografía en capa fina y cromatografía gaseosa acoplada a espectrometría de masas.

En febrero de 2010, la Ingeniera Telma Maricela Cano Morales investigadora principal presentó el informe final del proyecto “Obtención y caracterización del aceite esencial y oleorresina de dos especies de laurel y orégano”, proyecto Fodecyt No. 111-2006.

El objetivo principal de la presente investigación fue la obtención y caracterización de aceite esencial y oleorresina de orégano (*Lippia graveolens* HBK) y dos especies de laurel (*Litsea guatemalensis* Mez, *Litsea glaucescens* HBK), plantas medicinales y aromáticas cultivadas en Guatemala, para obtener productos utilizables en la diversidad de industrias.

Se determinó que el rendimiento de aceite esencial de las dos especies de laurel (*Litsea guatemalensis* Mez, *Litsea glaucescens* HBK) son similares 0,85% y 0,87%, a nivel laboratorio, que coincide con los valores reportados en la literatura; el rendimiento de aceite esencial de orégano (*Lippia graveolens* HBK) es 3,99% a nivel laboratorio, el valor reportado en la literatura es de 1,8% y hace que el orégano (*Lippia graveolens* HBK) sea una especie vegetal promisor para la industrialización de ese aceite esencial.

De los componentes mayoritarios del aceite esencial de laurel (*Litsea guatemalensis* Mez) únicamente está presente en la oleorresina, el nerolidol en un 21,12% en materia prima no exhausta y en un 7,22% en materia prima exhausta.

De los compuestos mayoritarios del aceite esencial de laurel (*Litsea glaucescens* HBK), solo el nerolidol está presente en la oleorresina obtenida, en un 6,05% en oleorresina de materia no exhausta y en un 38,42% en materia prima exhausta.

2. MARCO TEÓRICO

2.1. Oleorresinas

De acuerdo con la Comunidad Económica Europea (CEE) son “extractos de especies de los que se ha evaporado el disolvente de extracción, dejando una mezcla del aceite volátil y el material resinoso de la especia”, estos se obtienen por tratamiento de la droga seca con solventes. Los solventes empleados son eliminados casi completamente por procesos de destilación al vacío, destilación azeotrópica, o ambas. Las oleorresinas tienen uso en las industrias de alimentos y medicamentos, sustituyendo las plantas secas o las tinturas. Las oleorresinas contienen los aceites esenciales, los aceites fijos, los colorantes y los principios activos de las plantas.

El proceso de extracción de las oleorresinas se inicia con la molienda de la planta. El proceso de molienda involucra generación de calor, lo que perjudica la calidad del producto final en lo relacionado con la calidad de los componentes volátiles. Por esta razón, para el proceso de molienda se utiliza enfriamiento.

Especies, como la nuez moscada, cardamomo, clavo y pimienta negra pueden ser molidas en un molino de martillos adicionando hielo seco. Otras especias, como el anís, el cilantro, el hinojo y la hierba dulce deben ser molidas utilizando como proceso de enfriamiento nitrógeno líquido.

El tamaño de partícula debe ser establecido experimentalmente para cada especia procesada, teniendo en cuenta la naturaleza del solvente y el equipo empleado en la extracción. El proceso de extracción puede ser conducido en una o dos fases. Cuando se utiliza solamente una fase, la droga es extraída totalmente con el solvente y éste se remueve del extracto por destilación.

En el proceso de extracción en dos fases, la droga se somete a la extracción del aceite esencial utilizando destilación con vapor y, posteriormente, se extrae con solventes. Después de la destilación del solvente, el residuo de este proceso se mezcla con el aceite esencial. Los solventes para la extracción de aceites esenciales y oleorresinas deben estar conforme a la legislación nacional sobre alimentos. En la mayoría de los países es permitido el uso de etanol, acetona, hexano y del alcohol isopropílico. Los solventes clorados han tenido una serie de restricciones con relación a su uso. Las oleorresinas pueden ser mejoradas por la adición del aceite esencial o aceites vegetales comestibles. Este proceso busca reconstituir el patrón en relación al aroma y sabor observados en la droga vegetal para atender a las conveniencias de la industria de alimentos. Sin embargo, cualquier aditivo que no haga parte de la droga vegetal debe ser anotado en la etiqueta del producto.

En general, las oleorresinas se aplican en el mundo como ingrediente para aportar sabor y aroma. Variando la solubilidad, se aumenta la posibilidad de diversificar las aplicaciones y se usan también en la industria cosmética, farmacéutica, alimentación animal y en aplicaciones agrícolas.

2.1.1. Usos de las oleorresinas

- Gran potencial en el desarrollo de nuevos productos

- Consistencia en sabor
- Conveniencia en su uso ya puede ser mezclado para obtener las características deseadas en el producto final
- Conveniente sustituto higiénico para pungencia en perfiles de sabores de productos alimenticios
- Excelente realizador de sabor en la cocina

2.1.2. Ventajas del uso de oleorresinas

2.1.2.1. Economía

Puede darse una tasa de reemplazo de hasta 100 kilogramos del producto en polvo, por uno o dos kilogramos de oleorresina, dependiendo de la concentración de esta última.

2.1.2.2. Uniformidad

Los ingredientes activos color, sabor y propiedades físicas son estandarizadas.

2.1.2.3. Natural

Es un producto totalmente natural libre de residuos de solventes y pesticidas.

2.1.2.4. Pureza

Son productos libres de impurezas y materia extraña.

2.1.2.5. Esterilidad

No presenta contaminación microbiana.

2.1.2.6. Cumplimiento de las especificaciones

Sus bases legales están reguladas por la *FDA (food and drug administration)* y están en la clasificación de *GRAS (generally recognized as safe)*, y según la Directiva 95/45/CE referente a criterios específicos de pureza, en relación con los colorantes utilizados en los productos alimenticios, esto permite la libre adición de la oleorresina dentro de las formulaciones de los productos alimenticios.

2.1.2.7. Vida de anaquel

Su alta concentración y la ausencia de agua, le permiten tener mayor vida debido a su baja probabilidad de degradación por oxidación o pérdida de sabor, y se elimina el deterioro debido a plagas y microbios.

2.1.2.8. Dilución

La oleorresina puede ser diluida hasta obtener la concentración deseada con el fin de adecuarse a las necesidades del producto final.

2.1.3. Proceso de extracción de oleorresinas

Debido a su naturaleza oleosa, las técnicas más apropiadas son las que emplean solventes. El fenómeno de transferencia de componentes entre la droga y el solvente se lleva a cabo por lixiviación con solventes orgánicos como: el hexano, el acetato de etilo, acetona.

Otras técnicas emplean diversas tecnologías combinadas con solventes, como: acetona, dioxano, etanol, metanol y tetrahidrofurano; encontrando diferencias de selectividad dependiendo de los solventes.

Los últimos avances en las extracciones de oleorresinas han empleado tecnologías libre de solventes orgánicos y empleando bajas temperaturas, ésta es la extracción con fluidos supercríticos, específicamente con dióxido de carbono supercríticos (SsCO₂), los resultados publicados establecen condiciones de trabajo a 40 °C, con una presión de 120 bares con un tiempo de extracción de 4 horas. Los resultados fueron evaluados frente a extracciones tradicionales con solventes como: n-hexano, y mostraron resultados más satisfactorios en cuanto a pureza, integridad de carotenoides y concentración de los mismos en la oleorresina obtenida.

2.1.4. Oleorresinas de *capsicum*

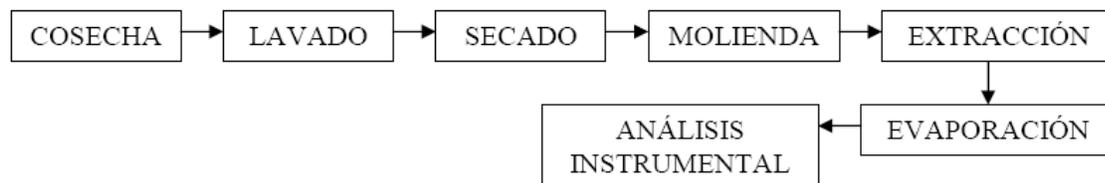
Este tipo de oleorresina se encuentra compuesta en su mayoría por diversos tipos de carotenoides, entre los que se encuentra la capsantina la cual es el principal carotenoide del pimiento común, este representa hasta el 60% del total de carotenoides presentes. Su estructura tiene la particularidad de que el anillo de uno de sus extremos es solamente de cinco eslabones. También se encuentran los capsaicinoides, básicamente con propiedades pungentes (picantes) y pigmentantes (coloración). Estas oleorresinas contienen como principal compuesto de pungencia a la capsaicina y la dihidrocapsaicina.

En la actualidad se realizan estudios con la tendencia de caracterizar las oleorresinas de numerosas variedades de géneros; sin embargo, las condiciones de extracción son un parámetro crítico pues se pueden perder numerosos compuestos de alta volatilidad.

2.1.5. Parámetros en el proceso de producción de la oleorresina de *capsicum*

El tratamiento industrial al que es sometida la materia prima puede variar y/o puede saltarse algunos pasos, pero en general puede seguir el siguiente esquema:

Figura 1. Diagrama cronológico del proceso de producción de oleorresina de *capsicum*



Fuente: elaboración propia.

2.1.5.1. Cosecha

Desde que el chile brota en la planta, se comienza a bio-sintetizar capsaicinoides en la placenta, en muy bajas cantidades. A medida que el fruto comienza a crecer y a madurar en la planta, la concentración comienza a incrementarse hasta llegar a un valor máximo (valor óptimo) después del cual la cantidad de capsaicinoides comienza a decrecer como consecuencia de su oxidación con peróxido de hidrógeno, también presente en el fruto. Los períodos de sequía y de lluvia influyen en el contenido de los principios activos.

Por ejemplo, el contenido de los alcaloides disminuye después de las lluvias, y el de los aceites esenciales aumenta.

2.1.5.2. Limpieza

Este paso es fundamental. Sus objetivos son:

- Remover materiales extraños como: tierra, piedras, lodo, raíces, hojas, y demás materia orgánica que está presente con el fruto;
- Asegurar que el chile a utilizar se encuentre en buen estado de maduración, es decir, remover aquéllos que presentan evidencias de daño por plagas o putrefacción.

2.1.5.3. Procesamiento pos- cosecha

Tiene como objetivo la conservación de las características físicas, químicas, organolépticas y farmacológicas de la droga vegetal. Un procesamiento pos-cosecha inadecuado da como resultado una materia prima de baja calidad, con pérdida de principios activos, así como un aumento de la carga microbiana y una pésima presentación comercial. La etapa más importante del procesamiento pos-cosecha es, sin duda, el secado.

2.1.5.4. Secado

El contenido de humedad en las plantas frescas o frutos varía de 60% a 80%. El proceso de secado reduce este contenido entre el 5% y 12%. El secado interrumpe los procesos de degradación causados por enzimas o fermentos, impide el desarrollo de microorganismos y las reacciones de oxidación y de hidrólisis.

Para operaciones de maceración y extracción sólido-líquido de materiales orgánicos se aconseja el secado, ya que éste rompe la pared celular, facilitando el acceso al solvente en el interior de la estructura del sólido. Por otro lado, el secado favorece un contacto más efectivo entre el solvente y el material orgánico, pues al romperse la pared celular se maximiza el área de transferencia de masa que propicia un mejor fluido interfacial.

Sin embargo, como este proceso involucra calor, pueden presentarse pérdidas de aceites esenciales y de sustancias volátiles, así como el riesgo de degradación de las sustancias termolábiles. La manera cómo va a ser realizado el secado debe determinarse experimentalmente para cada droga vegetal. Un secado lento puede causar alteraciones perjudiciales antes de que el proceso se haya terminado, debido a la acción de las enzimas, los hongos y las bacterias. Un proceso de secado muy rápido endurece la capa superficial de las células e impide la evaporación del agua que está dentro del órgano, lo que propicia la acción de enzimas en su interior, causa la volatización de los aceites esenciales originando productos con una pésima presentación comercial. Los mejores resultados se obtienen utilizando secadores solares o secadores que operan con aire caliente.

2.1.5.5. Almacenamiento

La conservación de la materia prima vegetal por períodos prolongados de tiempo depende de las condiciones de almacenamiento; las condiciones apropiadas impiden que el producto tenga contacto con el sol, el polvo, los roedores e insectos y otros factores de degradación, impidiendo la pérdida de los principios volátiles. El uso de sacos de plástico debe evitarse porque estos no permiten la ventilación necesaria. El lugar en donde se va a realizar el almacenamiento debe ser limpio, sin incidencia de la luz solar directa.

2.1.5.6. Molienda

Tiene como objetivo la disminución del tamaño de las partículas de la droga vegetal para adecuarla a la etapa siguiente del proceso de extracción. La extracción de una droga entera o dividida en fragmentos gruesos sería incompleta, debido a la pobre penetración del solvente en el tejido vegetal, y sería igualmente lenta, una vez que las membranas celulares actúan como verdaderas barreras que dificultan el proceso de extracción. Pero, la división excesiva, puede producir polvos finos, los cuales causarán problemas en el transcurso de la extracción. La molienda del material vegetal, independientemente de su naturaleza y del tipo de molino usado, da como resultado la producción de una cierta cantidad de partículas muy finas, las cuales deben ser separadas, por lo cual la operación de molienda debe ser seguida por el tamizaje del material obtenido.

La farmacopea brasileña clasifica los polvos en:

Tabla I. **Clasificación del tipo de polvo**

Tipo de polvo	Pasa en totalidad	Máximo
Grueso	por el tamiz No. 10	un 40% por tamiz No. 44
Moderadamente grueso	por el tamiz No. 22	un 40% por tamiz No. 60
Semi-fino	por el tamiz No. 44	un 40% por el tamiz No.85
Fino	por el tamiz No. 85	No aplica
Finísimo	por el tamiz No. 120	No aplica

Fuente: SHARAPIN, Nikolai Fundamentos de tecnología de productos fitoterapéuticos, p. 16.

2.2. Procesos de extracción sólido-líquido

2.2.1. Proceso de lixiviación

La extracción de capsaicinoides para la obtención de oleorresina de *capsicum* (OC) es una extracción de tipo sólido-líquido. La literatura reporta una gran variedad de técnicas de extracción, desarrolladas a nivel laboratorio para la obtención de OC para distintos fines. Pese a que algunas metodologías consiguen buenas recuperaciones, su implementación industrial todavía está obstaculizada por los altos costos del equipo, la falta de tecnología en la industria y la escasa comprensión del proceso que impide modelarlo y controlarlo de manera óptima. La extracción de capsaicinoides, típicamente se ha logrado a través de los métodos más simples como la maceración y extracción soxhlet, dado que las limitaciones tecnológicas actuales y la gran complejidad de algunas técnicas novedosas siguen encareciendo su implementación en la industria.

La lixiviación es utilizada para separar el soluto deseado o eliminar un soluto indeseable de la fase sólida, ésta se pone en contacto con una fase líquida. Ambas fases entran en íntimo contacto y el soluto o solutos se difunden desde el sólido a la fase líquida, lo que permite una separación de los componentes originales del sólido. La operación unitaria se puede considerar una extracción, aunque el término también se refiere a la extracción líquido-líquido. Cuando la lixiviación tiene por objeto eliminar con agua un componente indeseable de un sólido, el proceso recibe el nombre de lavado.

Los materiales biológicos tienen estructura celular y los constituyentes solubles suelen estar dentro de las células.

En ocasiones, la velocidad de lixiviación es bastante baja, debido a que las paredes celulares constituyen una resistencia adicional a la difusión. No obstante, es práctico moler los materiales biológicos a tamaño suficientemente pequeño para exponer el contenido de las células individuales. Para lixiviar productos con aplicación farmacéutica o alimenticia de hojas, tallos y raíces, el secado del material, antes de la extracción, ayuda a romper las paredes celulares. De esta manera el disolvente ataca directamente al soluto. Las células son de tamaño más pequeño, pero sus paredes se rompen y el aceite vegetal queda más accesible a la acción del disolvente.

2.2.2. Maceración

Consiste en la transferencia selectiva de uno o varios componentes de un sólido hacia un líquido soluble. Este líquido se llama solvente, debe tener una gran afinidad química con el componente que se desea extraer. Además es deseable que su volatilidad sea moderada (punto de ebullición entre 0 °C y 200 °C), y su toxicidad baja. En la maceración la recuperación aumenta con la temperatura, debido a que la solubilidad de los sólidos es directamente proporcional y sensible a esta variable. Es evidente que la máxima temperatura operable en la maceración es la de vaporización del solvente, pues un contacto gas líquido resulta menos eficiente que uno líquido-líquido. Es por ello, que las lixivaciones se llevan a cabo a punto de burbuja.

2.2.3. Maceración con reflujo

Es una modificación de la técnica tradicional de maceración en la que se busca la recuperación del solvente, por condensación directa, y así reducir los costos de operación. Esta técnica se lleva a cabo en punto de burbuja del solvente.

Al equipo de maceración se le coloca un condensador en la parte superior, el cual restaura el solvente que por calentamiento escapa en forma de vapor.

2.2.4. Técnica de extracción soxhlet

La extracción es una de las operaciones básicas del laboratorio. Se define como la acción de separar con un líquido una fracción específica de una muestra, dejando el resto lo más íntegro posible. Se pueden realizar desde los tres estados de la materia, y se llaman de la siguiente manera: extracción sólido-líquido; líquido-líquido y gas-líquido.

La extracción sólido-líquido es la más utilizada con el equipo soxhlet. Como ejemplo se pueden citar todas las obtenciones de principios activos de los tejidos vegetales.

La extracción líquido-líquido tiene usos especialmente en química analítica, cuando se extrae el producto de una reacción efectuada en fase líquida con un solvente específico para separar uno o algunos de los componentes.

Por último la extracción gas-líquido, que ordinariamente se llama 'lavado de gases', es el burbujeo por una fase líquida de un gas que se quiere lavar o purificar. El proceso de extracción de la mayoría de las sustancias tiene muy baja eficiencia, es decir, una vez que se agrega el solvente, lo que está en contacto íntimo con lo extraíble se satura enseguida, por lo que hay que filtrar y volver a tratar con solvente fresco.

Eso implica gran cantidad y mucha manipulación del solvente aparte de la atención personalizada que la operación requiere. Como muchas veces lo que se quiere recuperar es el extracto y no la muestra extraída, habrá que evaporar todo el solvente para recuperarlo.

Por otro lado, estas tareas se deben hacer en una campana espaciosa dado que los solventes suelen utilizarse calientes, es decir, con una alta tensión de vapor. Lo que hace el extractor soxhlet es realizar un sinfín de extracciones de manera automática, con el mismo solvente que se evapora y condensa llegando siempre de manera pura al material.

La extracción soxhlet se fundamenta en las siguientes etapas:

- Colocación del solvente en un balón;
- Ebullición del solvente que se evapora hasta un condensador a reflujo;
- El condensado cae sobre un recipiente que contiene un cartucho poroso con la muestra en su interior;
- Ascenso del nivel del solvente cubriendo el cartucho hasta un punto en que se produce el reflujo que vuelve el solvente con el material extraído al balón;
- Se vuelve a producir este proceso la cantidad de veces, para que la muestra quede agotada. Lo extraído se va concentrando en el balón del solvente.

2.2.4.1. Preparación de la muestra

La operación comienza por la preparación de la muestra. Cada sistema de trabajo tiene su manera de preparar la muestra. Con frecuencia debe ser dividida en fragmentos de mayor o menor tamaño. Con esta muestra así alistada se carga el cartucho de extracción.

2.2.4.2. Cartuchos

Este cartucho consiste en un recipiente cilíndrico con base semiesférica para que apoye perfectamente en la base del equipo extractor y sea además, más resistente. Los materiales más utilizados son el algodón prensado y la porcelana porosa, asimismo la celulosa.

Los primeros son más económicos, pero menos durables. Los de porcelana, además se pueden lavar periódicamente con mezcla sulfocrómica. Los de algodón se van contaminando con el tiempo con los extractivos. En el caso de sustancias que contienen taninos, como la madera y muchos otros vegetales, van quedando marrón rojizo. Es conveniente lavarlos con un solvente de polaridad distinta con el que se mancharon. En el caso de hidrocarburos agua o alcohol. Los cartuchos se llenan hasta la mitad o un poco más, y en lo posible, no es conveniente comprimir demasiado la muestra para que no se vea impedida la difusión. La cantidad de muestra lo condiciona el tamaño del cartucho y éste el del extractor. Es por eso que existen varios tamaños de soxhlet, y es conveniente antes de comenzar a trabajar definir cuál es la medida que se requiere.

2.2.4.3. Tapón del cartucho

Una vez cargado el material que se puede hacer con la mano, en el caso de hojas, tallos etc., o bien con un embudo o con una cuchara de cocina si está molido, se debe colocar un tapón por si la muestra tiende a flotar e irse del cartucho. El más utilizado es el hecho con una torunda de algodón envuelta o no en gasa. Dado que las paredes del cartucho suelen ser ásperas hay que conseguir que el tapón llegue al fondo por medio de los dedos o de una espátula.

Es conveniente asegurarse que no estamos ingresando extractivos con el algodón, por lo que se recomienda realizar el lavado previo de una provisión del mismo, así ya se tiene para futuras necesidades. Aunque los algodones actuales vienen lavados, no está mal asegurarse de eliminar restos de aceites que pueda contener.

2.2.4.4. Colocación del solvente

La cantidad de solvente debe ser la necesaria, para que al ascender al cartucho y antes de que se haga la sifonada, no quede seco el balón inferior, porque de esa manera, o se seca la muestra y se quema, o cuando caiga el líquido de la sifonada sobre el vidrio recalentado se puede producir una explosión de los vapores con el consiguiente riesgo de accidente. Si la cantidad a agregar no está estipulada en la norma, se carga el solvente desde arriba lentamente, para que vaya cubriendo el cartucho y luego produzca el rechupe. Esta es la cantidad mínima. Pero, como durante la operación hay pérdida del solvente por evaporación, y además debe quedar una cantidad mínima en el balón para que no se concentre el extracto demasiado, hay que agregar, por lo menos, una cantidad semejante en exceso.

2.2.4.5. Solventes a utilizar

Si se sigue una norma o técnica, el solvente a utilizarse estará indicado. Con frecuencia, particularmente en los laboratorios de investigación, suelen realizarse extracciones no normalizadas. Por eso es conveniente saber el rango de estas sustancias que se pueden utilizar en el extractor soxhlet. Existe una temperatura máxima y mínima de ebullición, en la que el equipo funciona adecuadamente. En el extremo inferior se encuentra: el diclorometano (cloruro de metilo) que se utiliza para la extracción de grasas y resinas de manera selectiva.

Este solvente tiene un punto de ebullición de 40 °C muy cercano a la temperatura ambiente particularmente en los climas cálidos. Con respecto al extremo superior, hay que decir que, para la cantidad de energía limitada que generan los calentadores eléctricos comunes, a medida que aumenta el punto de ebullición, disminuye significativamente el caudal de solvente que se evapora y por ende la velocidad de extracción.

Sin embargo, hay que hacer notar que además, del punto de ebullición es importante el calor latente de evaporación. Así se puede, por ejemplo, trabajar con esencia de trementina con cierta facilidad, aunque se evapore a 145 °C, y no obstante las extracciones con agua se hacen demasiado lentas casi al punto de que no sean factibles. En la tabla II se expone una lista, no exhaustiva, de los solventes comunes utilizados en las extracciones con soxhlet.

Otra característica importante, en cuanto al tipo de solventes es que los de carácter no polar suelen tener alguna dificultad en sifonar, puesto que no mojan el vidrio. Esto es frecuente con los derivados clorados como: el diclorometano, el cloroformo y los hidrocarburos superiores al hexano. En los casos en los que se utiliza mezcla de solventes, como en la extracción de la madera, es imprescindible trabajar con mezclas azeotrópicas, porque de otra manera la extracción sería heterogénea en cuanto a la composición del solvente.

Tabla II. **Solventes comunes utilizados en las extracciones soxhlet**

Solvente	Punto de ebullición (°C)
Éter	35
Diclorometano	40
Éter de petróleo	35-50
Cloroformo	62
Metanol	65
Etanol - benceno	65
Hexano	69
Etanol - tolueno	73
Acetato de etilo	77
Etanol	78
Benceno	80

Fuente: elaboración propia.

2.2.4.6. Calentamiento

Comúnmente se utilizan calentadores eléctricos de los llamados múltiples, que además poseen reóstatos para variar el tiempo en el que las resistencias están encendidas. Con alguna frecuencia sucede que al comienzo de la evaporación el solvente se sobrecalienta y posteriormente produce una evaporación explosiva, que hace que gran cantidad de vapores lleguen al refrigerante que no se da abasto en la condensación. Inclusive puede darse, que si el equipo no está bien sujeto en los dos lugares necesarios, es decir en el balón y en el extractor, salte la parte superior y escapen vapores calientes del solvente, circunstancia que puede ser peligrosa.

Si lo que se va a utilizar es el residuo sólido, se pueden colocar núcleos de evaporación en el balón, como trozos de porcelana porosa o piedra pómez.

En el caso de tener que cuantificar el extracto, se conoce una sola forma segura de evitar el sobrecalentamiento y es introduciendo un trozo de capilar de teflón de manera que toque la pared del balón en dos partes diferentes.

2.2.4.7. Refrigeración

Las conexiones se pueden realizar en serie o en paralelo. La conexión en serie es más práctica, usa menos manguera y un solo desagüe. Su única limitación es el aumento de la temperatura del agua de refrigeración a medida que el mismo líquido pasa de un refrigerante al otro, y un defecto es que el sistema queda como un todo y si se saca un equipo hay que acomodar las mangueras de nuevo. En el sistema en paralelo o individual cada equipo tiene su entrada y salida de agua independiente, por lo que se requerirán más desagües, aunque se puede instalar un sistema de evacuación con varias salidas y un colector de efluentes.

El flujo de agua debe regularse para utilizar solamente lo necesario, dado que el consumo es muy alto, particularmente en el caso de que se use agua potable.

2.2.4.8. Operación de extracción

Una vez que el equipo está armado, abierta el agua del refrigerante, cargado el cartucho con muestra e introducido el solvente, sólo resta encender el calentador y comenzar la operación. Llegada la temperatura a la de ebullición del solvente éste comienza a evaporarse y, luego de que calienten las paredes del equipo, comienza a condensar en el refrigerante y a caer en forma de gotas sobre el cartucho. La primera operación es totalmente atípica y no debe contabilizarse en el recuento que se hace para regular la velocidad de extracción, como suelen pedir las normas.

A medida que el condensado va cayendo sobre el cartucho éste comienza a escurrir por la parte inferior del mismo, llenando el recipiente de extracción hasta que llega al nivel de la bajada del sifón y rechupa, con todo el material disuelto hacia el balón inferior. El tope del sifón está por encima del cartucho para asegurar que todas las veces el material a extraer quede embebido en el solvente.

Una vez que el sistema está en régimen, las sifonadas se producen a intervalos regulares. Los tiempos comunes del sifonado están entre 5 y 20 minutos, según la potencia del calentador, el solvente, la temperatura externa, etc. La cantidad de sifonadas están estipuladas en la norma que se use, pero hay oportunidades en las que se trabaja en sistemas sobre los que no se posee información. Para eso, es interesante saber con alguna aproximación el comportamiento general de la extracción.

Con ese fin se puede utilizar un equipo de extracción que tiene adosado un robinete en la parte inferior con el que se pueden extraer muestras sin tener que desarmar el equipo. En una curva general de extracción, en función del número de sifonadas, se puede ver que las primeras son las que más material disuelven y que luego la curva se hace casi asintótica. Este mecanismo de extracción es lógico y normal, dado que al comienzo hay mucho material para extraer y dentro de él hay fracciones de fácil separación, pero a medida que avanza el proceso cada vez es más difícil extraer la pequeña fracción remanente, hasta que en las etapas finales no se extrae nada más.

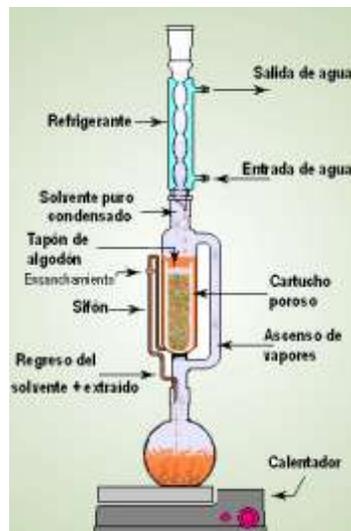
Como en todo este tipo de procesos es de suma importancia definir el punto final que dependerá del sistema conformado por el equipo, la muestra y las condiciones de temperatura. Por eso es conveniente tener controlado este aspecto de la extracción cuando se trabaja con sistemas desconocidos.

Hay que tener en cuenta que, con muchas repeticiones, una pequeña solubilidad o degradación puede concluir en errores considerables.

2.2.4.9. Culminación de la operación

Una vez que se ha dado por terminada la operación de extracción, es conveniente esperar un cierto tiempo para que el sistema se enfríe hasta que sea fácil manipularlo. A continuación, no hay que olvidarse de cerrar el agua de refrigeración para no realizar consumo innecesario. Después se desarma el equipo y se extrae el cartucho que está saturado de solvente y se coloca en un sitio aireado o en la campana para que se seque la muestra. La extracción de la muestra del cartucho húmedo puede ocasionar su deterioro. Si es necesario se deberá enjuagar el extractor para que quede listo para la próxima vez. Y con esto se da por terminada la operación de extracción.

Figura 2. **Equipo de extracción soxhlet**



Fuente: <http://en.wikipedia.org/wiki/soxhlet>.

2.2.5. Velocidad de lixiviación

En la lixiviación de materiales solubles del interior de una partícula por acción de un disolvente, el proceso general consiste en los siguientes pasos: el disolvente se transfiere del volumen de solución a la superficie del sólido. Después, dicho disolvente penetra o se difunde en el sólido. El soluto se disuelve en el disolvente. Entonces, el soluto se difunde a través de la mezcla de sólido y disolvente hasta la superficie de la partícula. Finalmente, el soluto se transfiere a la solución general.

Los numerosos fenómenos que se presentan en este proceso hacen poco práctico y casi imposible aplicar una teoría definida a la acción de lixiviación. La velocidad de transferencia del disolvente de la solución general, hasta la superficie del sólido es bastante rápida, y la velocidad hacia el interior del sólido puede ser rápida o lenta. Sin embargo, en la mayoría de los casos éstas no son las etapas que limitan la velocidad del proceso total de lixiviación. La transferencia de disolventes suelen ocurrir al principio, cuando las partículas se ponen en contacto con el disolvente; aun así, la disolución del soluto en el disolvente en el interior del sólido puede ser un simple proceso físico de disolución o una verdadera reacción química que libera al soluto para la disolución. El conocimiento del proceso de disolución es bastante limitado y el mecanismo puede ser diferente en cada caso.

La velocidad de difusión del soluto a través del sólido, y la del disolvente, hasta la superficie del sólido suelen ser la resistencia que controla el proceso global de lixiviación y dependen de diversos factores. Si el sólido está constituido por una estructura inerte porosa, con el soluto y el disolvente localizados en los poros del sólido, la difusión a través del sólido poroso se puede describir como una difusividad efectiva.

Se requieren entonces, la fracción de espacios huecos y la sinuosidad, para la difusión en sólidos porosos. En sustancias biológicas o naturales hay complejidades adicionales debido a la presencia de células.

2.3. Extracción de oleoresina de *capsicum*

2.3.1. Consideraciones iniciales

Antes de iniciar el proceso extractivo se debe definir la selectividad del solvente a utilizar en el proceso. Normalmente se utiliza un solvente de naturaleza general, de alta polaridad, como el alcohol etílico o el metanol. Inicialmente el solvente penetra en la célula vegetal y expulsa el aire contenido en el citoplasma, dándose inicio de esta forma al proceso extractivo. La penetración del solvente en la célula induce un momento dipolar en las moléculas de los compuestos que van a ser extraídos. Es de esta manera como las sustancias extraíbles se adhieren a las moléculas del solvente. La capacidad de asociación puede expresarse en términos de la constante dieléctrica (ϵ). Cuanto más polar sea un solvente, mayor será su respectiva constante dieléctrica.

Compuestos ionizables y/o altamente polares se disuelven en solventes de elevada constante dieléctrica; al igual que compuestos apolares se disolverán en solventes de baja constante dieléctrica. La capacidad de una mezcla de solventes de inducir un momento dipolar puede ser calculada. La constante dieléctrica del sistema depende de la constante de cada uno de ellos y de su respectivo porcentaje en la mezcla.

La constante dieléctrica se puede calcular por medio de la ecuación 1:

$$\varphi \text{ del sistema} = \frac{\varphi A * \%A + \varphi B * \%B + \dots \varphi n * \%n}{100} \quad \text{Ecuación 1}$$

El agua utilizada en los procesos extractivos no necesita ser desmineralizada o destilada, puesto que la materia prima vegetal contiene sustancias minerales en diferentes concentraciones. Durante el proceso extractivo se dan dos fenómenos al mismo tiempo:

- La lixiviación de las sustancias solubles de células dañadas o rotas;
- La disolución y difusión de las sustancias solubles de células sin daño estructural.

Mientras la lixiviación de las sustancias de las células dañadas es rápida, la difusión de las sustancias a través de la membrana de células no dañadas es lenta y requiere una serie de pasos o etapas consecutivas para lograr aumentar su permeabilidad de la membrana. El proceso extractivo comprende 3 etapas:

- La penetración del solvente a la célula
- La disolución de las sustancias o compuestos extraíbles
- La difusión o salida de la solución rica en componentes de la célula vegetal

2.3.2. Factores del proceso extractivo

Los factores que afectan el proceso extractivo de la oleorresina de *capsicum* son:

- El estado de división de la especie vegetal
- La agitación

- La temperatura
- La naturaleza del solvente
- El tiempo de extracción

2.3.2.1. Estado de división de la especie vegetal

La eficacia del proceso extractivo sería mayor, cuanto menor sea el tamaño de las partículas, ya que se logra una mayor área superficial de contacto materia vegetal-solvente. Pero, la práctica muestra que al estar trabajando con finos se da una compactación del material vegetal con lo cual se forman falsas vías en proceso de percolación, con lo que, en procesos de maceración, las partículas pasan al extracto, teniendo que hacer un proceso de filtrado para su separación. Por tanto, se recomienda la utilización de polvos moderadamente gruesos para la gran mayoría de materiales vegetales.

2.3.2.2. Agitación

Parte fundamental en el proceso extractivo, ya que es función del equilibrio de saturación del solvente. El movimiento del líquido, con ayuda de agitadores magnéticos, hace que se produzca una recirculación del solvente, con lo cual el equilibrio se desplaza en el sentido de la saturación del solvente, esto conlleva al aumento de la eficiencia del proceso extractivo.

2.3.2.3. Temperatura

El aumento de temperatura facilita la disolución de sustancias extraíbles, de la misma manera que la agitación, la temperatura contribuye al desplazamiento de la constante de equilibrio de saturación, y por consiguiente aumenta la eficiencia del proceso.

A pesar de esta contribución muchos compuestos o principios activos tienden a ser destruidos total o parcialmente por temperaturas elevadas. El aumento de temperatura también puede incidir en la disminución o pérdida de las sustancias volátiles, como los aceites esenciales.

2.3.2.4. Naturaleza del solvente

Entre los solventes generales, los más empleados son los alcoholes alifáticos de hasta 3 carbonos o mezclas de éstos con el agua. La utilización de estos solventes se debe a que logran extraer la gran mayoría de las sustancias naturales de interés en la especie vegetal, tales como alcaloides, capsaicinoides entre otros. Debido a su poder extractivo, estos solventes son los indicados para los casos en que los constituyentes activos de las especies vegetales no son bien conocidos, siendo necesario agotar completamente la especie.

La decisión sobre qué solvente de extracción utilizar está basado sobre varios parámetros entre los que se encuentran:

- Su afinidad por el soluto
- Constantes dieléctricas
- Facilidad en su obtención y recuperación
- Grado de toxicidad

Entre los solventes comúnmente utilizados se encuentran: el hexano y el alcohol etílico.

2.3.2.5. Tiempo de extracción

El tiempo de extracción se determina experimentalmente en función del solvente y del equipo de extracción a utilizar. Esta variable es dependiente de todos los parámetros antes mencionados. El tiempo de extracción debe ser suficiente para agotar completamente el material vegetal, aunque se debe prestar atención en que no sea excesivo, esto se podría lograr manteniendo una densidad constante en los extractos o encontrando una tendencia, por ejemplo, con el índice de refracción, esto indicaría el tiempo necesario para que la difusión cese. Prolongar el tiempo de extracción, no influye en el proceso negativamente, pero si influye en los costos del consumo de energía y de mano de obra no necesaria, lo que podría propiciar un encarecimiento del proceso extractivo.

2.3.3. Procesos extractivos

En los procesos de extracción la variación se da por factores, tales como: la naturaleza y calidad de la materia prima, naturaleza del solvente. Los procesos extractivos sobre material vegetal se dividen en dos:

- Procesos que dan como resultado un equilibrio de la concentración entre el soluto y el residuo;
- Procesos que agotan completamente el material vegetal.

Entre los procesos que agotan completamente la droga se pueden mencionar: la percolación, la repercolación y la extracción en contracorriente.

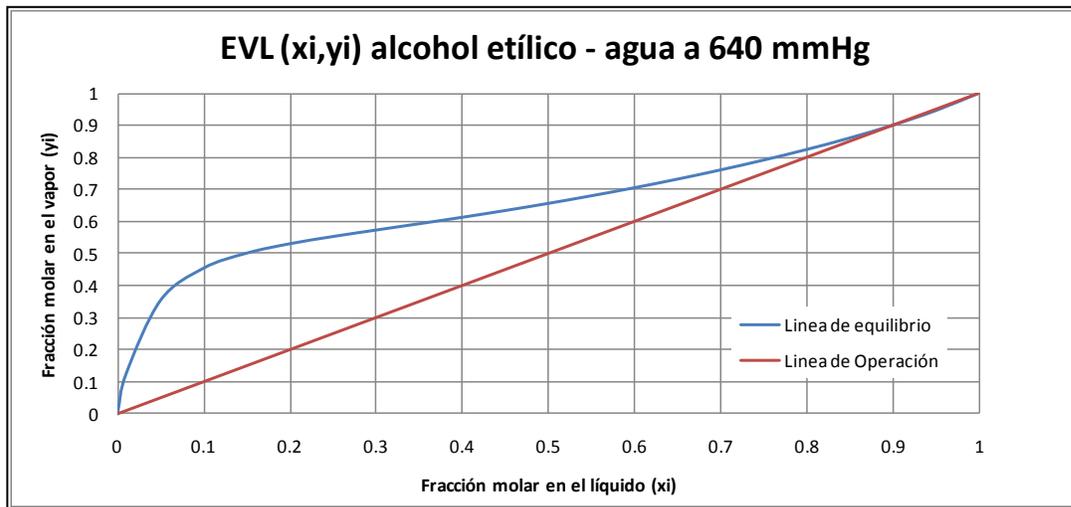
2.4. Equilibrio binario líquido-vapor

Los capsaicinoides son compuestos predominantemente no polares, al contener una cadena larga alifática y un anillo bencénico en su estructura. No obstante, la presencia de grupos polares como lo son un amino, un carboxilo, un hidroxilo y un éster, le quitan a los capsaicinoides el carácter de “extremadamente no polar”, convirtiéndolos en moléculas con características de solubilidad interesantes. Por ejemplo, los capsaicinoides son prácticamente insolubles en agua, pero bastante solubles en solventes orgánicos de relativamente baja volatilidad como los alcoholes y alcanos de alto peso molecular, ésteres, y muchos otros compuestos.

Como regla general puede decirse que un buen solvente de extracción de capsaicinoides será aquel que posea los mismos grupos funcionales que éstos, y además tenga una polaridad similar, es decir, el mismo balance entre grupos polares y no polares en su estructura. Para extracción de capsaicinoides a presión atmosférica, la literatura sugiere que los solventes óptimos para la extracción de capsaicinoides son: etanol puro, acetona, acetonitrilo, según varios autores; sin embargo, algunos sugieren el uso de mezclas de varios solventes y/o disoluciones acuosas.

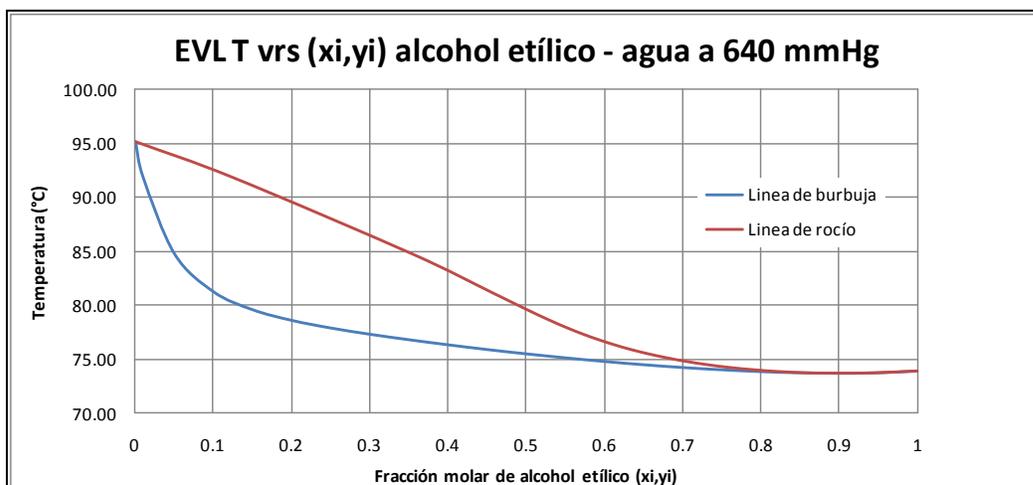
Uno de los motivos para experimentar con mezclas etanol-agua, es que el costo del solvente se reduciría de manera importante, además que se manejaría una oleorresina con un grado de inflamabilidad y toxicidad bastante inferior.

Figura 3. Diagrama de equilibrio líquido–vapor para el sistema binario alcohol etílico – agua en función de la fracción molar a 640 mmHg



Fuente: elaboración propia.

Figura 4. Diagrama de equilibrio líquido–vapor para el sistema binario alcohol etílico – agua a 640 mmHg



Fuente: elaboración propia.

2.5. Cromatografía como técnica de análisis

2.5.1. Definición

La cromatografía es un método físico que permite la separación de mezclas de sustancias en sus componentes individuales. Esta técnica permite, igualmente, obtener información cualitativa y cuantitativa sobre las sustancias presentes en la mezcla. La técnica cromatográfica aumenta la eficiencia en el análisis de productos fitoterapéuticos, ya que éstos son definidos como fitocomplejos por el hecho de estar constituidos por una gran cantidad de sustancias individuales, algunas de ellas asociadas entre sí y otras no.

Para seleccionar la mejor técnica cromatográfica para el análisis de una determinada planta, es necesario evaluar los límites de detección, la complejidad de los extractos, y la estructura química de las sustancias que van a ser analizadas.

2.5.2. Clasificación

Existen varias clases de cromatografía entre las cuales, las más importantes son: la de adsorción, la de reparto, de intercambio iónico y la filtración molecular. Los diferentes tipos de cromatografía pueden ser utilizados a través de diversas técnicas, siendo las principales: la cromatografía en papel, la cromatografía en capa fina, la cromatografía de gases (CG), la cromatografía en columna y la cromatografía líquida de alta eficiencia (*HPLC*).

Sus características principales se resumen en la tabla III.

Tabla III. **Clasificación de los tipos de cromatografía**

	Adsorción	Reparto	Intercambio iónico	Filtración molecular
Fase estacionaria	sólida	líquida	sólida	sólida
Fase móvil	líquida o gaseosa (CG)	líquida o gaseosa	líquida o gaseosa	líquida
La velocidad de la migración varía	interacción molecular entre el soluto y el solvente	solubilidad diferencial del soluto entre las fases	intercambio de iones entre la solución y la fase estacionaria	grado de inclusión en los poros de la fase estacionaria
Propiedad diferenciadora	polaridad	solubilidad	ionización	tamaño molecular

Fuente: MACHADO, Leandro Fundamentos de tecnología de productos fitoterapéuticos, p. 160.

2.5.3. Cromatografía en capa fina

La cromatografía en capa fina consiste en la separación de los componentes de una mezcla a través de la migración diferencial, sobre una capa fina de adsorbente, retenida sobre una superficie plana. En esta técnica, una solución de la muestra, que va a ser analizada, se aplica por medio de un tubo capilar sobre la superficie de un adsorbente inerte (sílica, alúmina, etc.) distribuido uniformemente sobre una placa de vidrio o de aluminio. La placa se coloca verticalmente dentro de una cámara previamente saturada con el vapor del efluente adecuado, de tal forma, que la parte inferior de la placa que contiene la muestra entre en contacto con la fase móvil. El efluente va a migrar por capilaridad en la placa cromatográfica, separando por migración diferencial los diversos componentes de la mezcla a ser estudiada.

Después de que ha ocurrido se evapora el efluente y la placa se analiza utilizando luz UV o luz visible, o aplicando reactivos que dan como resultado reacciones de coloración con las sustancias contenidas en la mezcla analizada. El factor de retención (R_f) es la medida de la migración de una sustancia determinada en un solvente dado.

$$R_f = \frac{\text{Distancia recorrida por la sustancia}}{\text{Distancia recorrida por el solvente}} \quad \text{Ecuación 2}$$

Los siguientes factores causan variaciones en el valor del R_f , no permitiendo que sea un valor absoluto: las variaciones de temperatura del medio ambiente, el grado de pureza de los solventes utilizados y las variaciones de homogeneidad de las diferentes placas de capa fina. Debido a estos factores, el uso de una sustancia de referencia para garantizar la identificación, es muy importante, principalmente cuando se trata de extractos de plantas.

Las ventajas del uso de la cromatografía en capa fina pueden ser resumidas de la siguiente manera:

- Se necesita equipo simple y de bajo costo
- Es fácil su comprensión y ejecución
- Rapidez, reproducibilidad y versatilidad en el análisis
- Utilización de una pequeña cantidad de solvente y de la muestra a ser analizada
- Posibilidad de analizar varias muestras en una sola placa cromatográfica

2.5.4. Cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC)

El sistema de cromatografía líquida de alta eficiencia es una técnica cromatográfica que permite trabajar con diferentes modalidades de cromatografía: adsorción, reparto, intercambio iónico y filtración molecular. Para realizar esto, sólo es necesario cambiar el tipo de fase estacionaria y la utilización de eluentes adecuados.

Las principales ventajas son las siguientes:

- Capacidad de separación bastante elevada
- Separaciones a temperatura ambiente
- No está limitada a la volatilidad o a la estabilidad térmica de las sustancias
- Rapidez y reproducibilidad de los análisis
- Las muestras no son destruidas por el detector y pueden ser recogidas y utilizadas puras (separaciones en escala preparativa)

El análisis cuantitativo se realiza, normalmente, a través de la técnica de calibración con patrón externo. Se preparan como mínimo tres soluciones de un patrón de la sustancia que va a ser analizada, con una concentración conocida y cada una de ellas se inyecta por triplicado en el cromatógrafo. Se elabora una curva de calibración con los valores medios de tres determinaciones del área o altura del pico, versus concentración. Una vez construida esta curva, la o las sustancias se pueden cuantificar a través de su inyección en el sistema la lectura del área de la señal correspondiente. Interpolando el valor en la curva de calibración se obtiene la cuantificación de la sustancia en el fitocomplejo, con alto grado de exactitud y reproducibilidad.

Las separaciones por cromatografía líquida de alta eficiencia son realizadas, normalmente, a temperatura ambiente. Incluso sustancias termolábiles van a pasar por el sistema cromatográfico, sin que ocurra degradación, por lo cual, es bastante recomendable el uso de productos fitoterapéuticos. El proceso puede ser automatizado, lo que permite una mejor reproducibilidad de los resultados y aún más, que los análisis puedan ser realizados en las horas de la noche, tiempo durante el cual el equipo está desocupado.

2.5.5. Cromatografía en fase gaseosa

Es una técnica que permite la separación de sustancias volatizables. La separación tiene como base la distribución diferencial de las sustancias entre una fase estacionaria (sólida o líquida) y una fase móvil (gaseosa). La muestra es introducida en una columna que contiene la fase estacionaria, a través del sistema de inyección. Temperaturas apropiadas en el sitio de la inyección y en la columna, posibilitan la volatilización de los componentes de la muestra, los cuales, de acuerdo con sus propiedades y las de la fase estacionaria, son retenidos por tiempos variables y llegan al final de la columna en tiempos diferentes. Un detector adecuado, a la salida de la columna, permite la detección y la cuantificación de las sustancias.

La cromatografía en fase gaseosa es una técnica de análisis que ofrece resoluciones excelentes, con sensibilidad del orden de miligramos a picogramos. Los resultados son cuantitativos y se obtienen en un espacio de tiempo relativamente corto.

Las desventajas son: los componentes de las muestras deben ser estables a la temperatura de operación, las muestras tienen que ser volátiles; es necesario hacer un tratamiento preliminar de las muestras, lo que convierte el proceso en difícil y complejo, además de que su eficacia no es muy alta, como técnica para las identificaciones cualitativas. La identificación de las sustancias presentes en la muestra necesita de técnicas auxiliares.

2.5.6. Cromatografía en fase gaseosa acoplada a espectrometría de masas

La cromatografía de gases es una técnica separativa que tiene la cualidad de conseguir la separación de mezclas muy complejas. Pero una vez separados, detectados, e incluso cuantificados todos los componentes individuales de una muestra problema, el único dato de que disponemos para la identificación de cada uno de ellos es el tiempo de retención de los correspondientes picos cromatográficos. Este dato no es suficiente para una identificación inequívoca, sobre todo cuando analizamos muestras con un número elevado de componentes, como es frecuente en cromatografía de gases capilar.

Por otra parte, la espectrometría de masas puede identificar, de manera casi inequívoca, cualquier sustancia pura, pero normalmente no es capaz de identificar los componentes individuales de una mezcla sin separar previamente sus componentes, debido a la extrema complejidad del espectro obtenido por superposición de los espectros particulares de cada componente. Por lo tanto, la asociación de las dos técnicas, *GC* (Cromatografía gaseosa) y *MS* (Espectrometría de masas) da lugar a una técnica combinada *GC-MS* que permite la separación e identificación de mezclas complejas.

La utilización de la cromatografía de gases acoplada a un espectrómetro de masas requiere sistemas especiales de conexión. En principio, se trata de dos técnicas que trabajan en fase gaseosa y necesitan una muy pequeña cantidad de muestra para su análisis, por lo que son muy compatibles. El único obstáculo serio a la hora de realizar su acoplamiento es que el efluente que emerge de la columna cromatográfica sale a presión atmosférica y debe introducirse en el interior del espectrómetro de masas que trabaja a alto vacío. Actualmente, el acoplamiento directo resulta fácil cuando se utiliza la cromatografía de gases capilar, que es el caso más habitual.

Una mezcla de compuestos inyectada en el cromatógrafo de gases se separa en la columna cromatográfica obteniendo la elución sucesiva de los componentes individuales aislados que pasan inmediatamente al espectrómetro de masas. Cada uno de estos componentes se registra en forma de pico cromatográfico y se identifica mediante su respectivo espectro de masas. La necesidad de caracterizar los componentes químicos presentes en extractos vegetales está relacionada en muchos aspectos, bien sea para el desarrollo de productos, para la detección de adulteraciones (fraudes), para la determinación de vida útil del producto almacenado o para la obtención de "*finger print*", perfil cromatográfico característico para la determinación de ciertas especies.

Un gran número de problemas relacionados con la identificación de los compuestos orgánicos presentes en mezclas complejas fueron solucionados después de la introducción de esta técnica de análisis, técnica que tiene la ventaja de que, una vez separados los constituyentes, los identifica por simple comparación de sus datos espectrales, relacionándolos con una referencia obtenida de una base de espectros, lo que conlleva a la obtención de resultados confiables y rápidos.

2.6. Análisis de los niveles de calidad de las oleorresinas

La demanda de investigación y desarrollo de nuevas tecnologías están orientadas a diseñar procesos con el propósito de lograr productos de la más alta calidad desde el punto de vista alimenticio, comercial y tecnológico. El índice de refracción y la densidad dependen del solvente utilizado en la extracción y están relacionados con el contenido de semilla que existe en la materia prima. En oleorresinas comerciales, nos indica la proporción de aceite utilizado en la dilución del extracto.

Entre los compuestos activos más importantes que se encuentran en las oleorresinas de *Capsicum* está la capsaicina y la dihidrocapsaicina; sin embargo, una gran variedad de carotenoides y otros capsaicinoides están presentes. Entre los principales métodos de análisis de la oleorresina se tiene la cromatografía líquida de alta eficiencia (*HPLC*), la cromatografía en capa fina y la cromatografía en fase gaseosa acoplada a espectrometría de masas. Con respecto de la medición de la pungencia o picor de la oleorresina se utiliza la escala Scoville.

2.7. Chile

El chile (*Capsicum spp.*), siendo originario de América, ha sido utilizado 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 sazonamiento de comidas), hasta el empleo en la medicina tradicional.

El término "*capsicum*" es el nombre del género que comprende veinte especies y unas 300 variedades diferentes de vegetales que producen las vainas carnosas. Botánicamente, forma parte de la familia solanácea, que también nos da los tomates y el tabaco. Las tres especies más importantes son: *capsicum annuum*, *capsicum frutescens* y *capsicum fastigiatum*. El género *capsicum*, cuyo fruto llamado en diversos países ají, chile (chilli), pimiento, guindilla, Morrón; se consume en diferentes preparaciones y se emplea como base para colorantes en alimentos y cosméticos.

Las especies de *capsicum* son, casi sin excepción, plurianuales. La planta, de tallo leñoso, forma normalmente un arbusto de hasta 1.5 m de altura; algunas variedades alcanzan tamaños superiores. Las flores son blancas o verdosas en la mayoría de las variedades, salvo en el *C. pubescens*, en que tienen un color violáceo.

El fruto técnicamente es una baya, ésta varía en coloración y tamaño de acuerdo a la variedad; puede ser cúbico, cónico o esférico. De interior hueco, está dividido en dos o cuatro costillas verticales interiores que portan las semillas, de color amarillo pálido salvo en *C. pubescens*, que las presenta negras. Sin embargo, la mayor cantidad de semillas se aloja en la parte superior, junto al tallo. La carnosidad del pimiento también varía según la especie. Cuando el fruto madura sus colores abarcan, según la especie, desde el blanco y el amarillo hasta el morado intenso, pasando por el naranja, el rojo brillante y el lavanda; el color verde es señal de inmadurez, aunque muchas especies se consumen también de ese modo.

El chile es el fruto de la planta del mismo nombre. Pertenece al reino *Plantae*, división *Magnoliophyta*, clase *Magnoliopsida*, orden *Solanales*, familia *Solanaceae*, género *Capsicum*, especie *annuum*, variedad *Annuum*.

El chile contiene: 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.

La forma de propagación es mediante semillas que se mantienen viables hasta por tres años, si se conservan en un ambiente adecuado. El fruto es una baya con varias celdas, las cuales están ligeramente unidas entre sí, pues los tabiques que las separan no están interconectados. El género *capsicum* está muy distribuido a nivel mundial y se encuentra en gran diversidad de formas, tamaños, colores y niveles de picor o pungencia. Están compuestos en un gran porcentaje por agua, en promedio un 74,3%. El contenido de proteína es de 2,3%, y el de carbohidratos de 15,8%; otros de los componentes son vitaminas y minerales.

2.8. Chile blanco (*Capsicum annuum* var. *Annuum*)

Se localiza únicamente en algunas localidades del Norte y Costa Sur de Guatemala. Es un cultivo de importancia económica en regiones cálidas, húmedas y secas del país. Los frutos maduros se deshidratan y se consumen directamente en esa forma, o bien se muelen para convertirlo en polvo.

Entre sus características propias está el hábito erecto; pubescencia de los tallos y nudos es abundante o esparcida; tallos de color verde y nudos púrpura o verde; pedicelo pendiente, intermedio o erecto; cáliz intermedio o dentado; corola blanca, verdosa o blanco verdosa; anteras azules, azul pálido o púrpura, filamento blanco a azul; ausencia de constricción anular en la unión del cáliz y el pedicelo; frutos en posición erecta intermedia o pendiente.

Cuando son inmaduros son de color amarillo blanquecino, estado en el que son consumidos. Tiene forma elongada, base obtusa o aguda ápice punteado y no presenta cuello en la base, periferia intermedia, ligeramente corrugada o muy corrugada, pungente; semillas pajizas. Las dimensiones de los frutos son: largo 8,48 cm en promedio y un rango de 7,0 a 9,96 cm; ancho 1,69 rango 1,1-1,85 cm; grosor de pericarpio 1,23 mm, rango 0,5 a 1,80 mm.

2.8.1. Clasificación científica

Esta especie vegetal pertenece al reino *Plantae*, división *Magnoliophyta*, clase *Magnoliopsida*, subclase *Asteridae*, orden *Solanales*, Familia *Solanaceae*, género *Capsicum*, especie *C. annuum*.

Figura 5. **Chile Blanco (*Capsicum annuum* A.), proveniente de Santa Catalina La Tinta (100 msnm) departamento de Alta Verapaz**



Fuente: elaboración propia.

2.8.2. Composición química

La composición química de las especies de *capsicum* incluye un aceite básico, capsaicinoides, aceite volátil y pigmentos de carotenoides, en su mayoría capsantinas. Además, de la capsaicina, el sabor acre se debe en su mayoría a su aceite esencial. El aroma del chile es debido al rango de alquil-metoxipirazinas. Entre otros compuestos comunes, también se encuentran: agua, carbohidratos, proteínas, grasas, fibra, vitamina A, B1 (tiamina), B2 (riboflavina), B6, B12, vitamina C, calcio, azufre, fósforo, hierro, magnesio, niacina, potasio, sodio y yodo.

2.8.3. Anatomía y características del chile *capsicum*

El chile *capsicum* está compuesto por 4 partes principales que son: el pericarpio, la placenta, las semillas y el tallo. El pericarpio es la capa o pared del fruto que forma aproximadamente el 38% del chile, en él se identifican 3 subcapas: el exocarpio que es la capa más externa, delgada y pobremente endurecida, el mesocarpio es una capa intermedia de tipo carnosa y el endocarpio que representa la capa interior del fruto con una consistencia poco leñosa. Aproximadamente, la placenta comprende el 2% del chile, 56% de semillas y un 4% de tallos. La propiedad que separa a la familia *capsicum* de otros grupos vegetales, y que es la quinta esencia del pimiento chile, es un alcaloide denominado capsaicina, una sustancia cristalina excepcionalmente potente y acre, que no existe en ninguna otra planta.

La capsaicina es la fuente de la acritud y el calor en el pimiento *capsicum*. Los pigmentos o carotenoides son compuestos que regulan directamente el color en los frutos *capsicum*. Los carotenoides exclusivos del género *capsicum* son capsantín, capsoburín y capsantín 5,6 epóxido.

Los carotenoides son los responsables del color tan atractivo de los frutos, cuando son ingeridos, ejercen una acción biológica importante como antioxidante y refuerzan el sistema inmunológico.

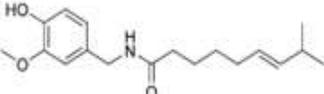
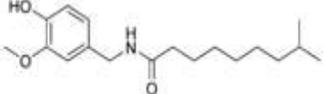
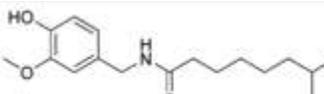
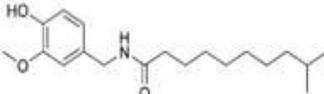
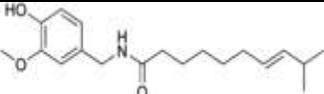
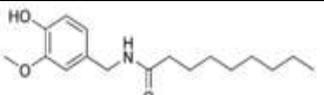
2.8.4. Capsaicinoides

El ingrediente activo potente, considerado inicialmente como una sola sustancia, "capsaicina", demostró muy pronto ser una mezcla de dos homólogos insaturados y tres saturados. Esta mezcla se llama ahora: capsaicinoides. Los componentes acres de *capsicum annuum* incluyen por lo menos cinco compuestos, conocidos como capsaicinoides:

Capsaicina (trans-8-metil-N-Vanillil-6-nonenamida), dihidrocapsaicina (8-metil-N-Vanillil-nomamida), nordihidrocapsaicina (7-metil-N-Vanillil-octamida), homodihidrocapsaicina (9-metil-N-vanillil-decamida), homocapsaicina (trans-9-metil-N-vanillil-7-decenamida).

Los capsaicinoides son producidos por glándulas en la placenta del pimiento, que se encuentran en la parte superior de la separación, inmediatamente por debajo del tallo. A parte de los seis capsaicinoides naturales, un miembro sintético de la familia de los capsaicinoides existe. Vanillilamida de ácido nonanoico (VNA) es usado como sustancia de referencia para determinar la pungencia relativa de los capsaicinoides.

Tabla IV. **Clasificación de capsaicinoides presentes en el *capsicum annum***

Nombre del capsaicinoide	Abreviatura	Contenido típico relativo	Unidades de calor Scoville	Estructura química
Capsaicina	C	69 %	16 000 000	
Dihidrocapsaicina	DHC	22%	15 000 000	
Nordihidrocapsaicina	NDHC	7%	9 100 000	
Homo-dihidrocapsaicina	HDHC	1%	8 600 000	
Homocapsaicina	HC	1%	8 600 000	
Nonivamida	PAVA			

Fuente: <http://es.wikipedia.org/wiki/Capsaicina>.

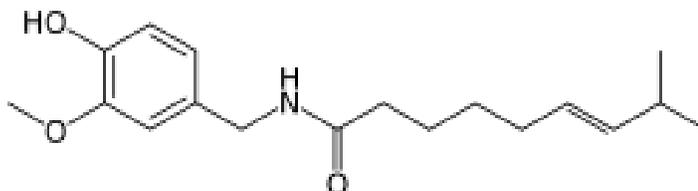
2.8.4.1. Capsaicina

La capsaicina (trans-8-metil-N-Vanillil-6-nonenamida) con una fórmula molecular condensada $C_{18}H_{18}NO_3$, es un compuesto incoloro, cristalino, amargo, presente en el pimiento *capsicum* (previamente conocido como capsicina).

Tiene un peso molecular de 305,46, un punto de fusión de 65°C, un punto de ebullición de 81°C, presión de vapor de 40 y densidad de vapor de 1,59 (aire = 1). Los límites en contenido de capsaicina en el pericarpio de un pimiento *capsicum* normal, son de alrededor de 0,17% a 0,58%, y en la vaina interior del 6,6 al 7,7%; el color se concentra mayormente en el pericarpio. Las semillas de chile contienen 19% de aceite con un contenido de capsaicina del 0,024%. El porcentaje de capsaicina en la planta de pimiento depende de la especie, del origen geográfico y de las condiciones climáticas.

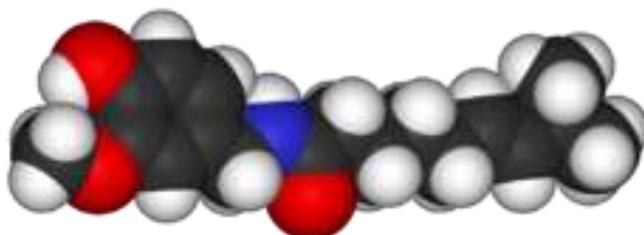
La capsaicina es producida por glándulas que se encuentran en el punto de unión de la placenta y la pared de la vaina. La capsaicina se extiende disparejamente a través del interior de la vaina y se concentra mayormente en el tejido placentario. Las semillas no son fuentes de calor como se cree comúnmente.

Figura 6. **Molécula de capsaicina**



Fuente: <http://en.wikipedia.org/wiki/Capsaicin>.

Figura 7. **Molécula de capsaicina en 3D**

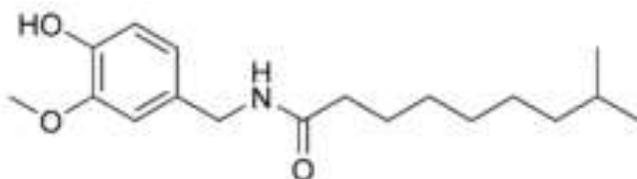


Fuente: <http://en.wikipedia.org/wiki/Capsaicin>.

2.8.4.2. **Dihidrocapsaicina**

La dihidrocapsaicina (8-metil-N-Vanillil-nomamida) 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.

Figura 8. **Molécula de dihidrocapsaicina**



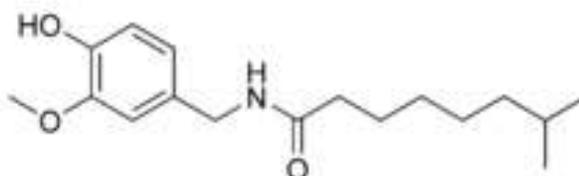
Fuente: <http://en.wikipedia.org/wiki/Dihydrocapsaicin>.

2.8.4.3. Nordihidrocapsaicina

La nordihidrocapsaicina (7-metil-N-Vanillil-octamida) 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) significativamente mayor que el spray de Chile.

Figura 9. Molécula de nordihidrocapsaicina



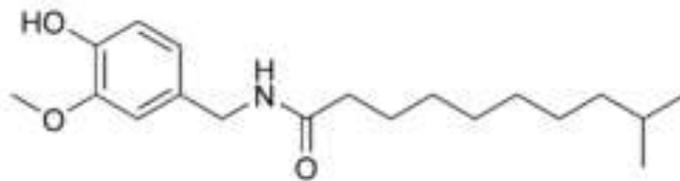
Fuente: <http://en.wikipedia.org/wiki/Nordihydrocapsaicin>.

2.8.4.4. Homodihidrocapsaicina

La homodihidrocapsaicina (9-metil-N-vanillil-decamida) 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).

Figura 10. **Molécula de homodihidrocapsaicina**

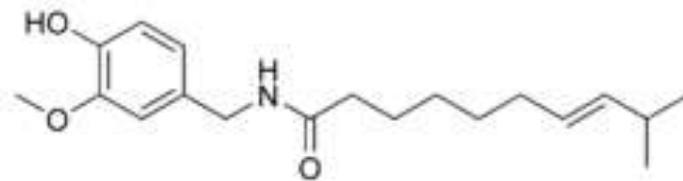


Fuente: <http://en.wikipedia.org/wiki/Homodihydrocapsaicin>.

2.8.4.5. Homocapsaicina

La homocapsaicina (trans-9-metil-N-vanillil-7-decenamida) 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. (Véase figura 11).

Figura 11. **Molécula de homocapsaicina**



Fuente: <http://en.wikipedia.org/wiki/Homocapsaicin>.

2.8.5. Medidas de pungencia

La pungencia o cualidad de picante de la mayoría de las especies de chiles se debe a un alcaloide. La capsaicina es una sustancia alcalina y aceitosa, no soluble en agua, que solamente está presente en la placenta de los frutos. Esto explica por qué enjuagarse la boca con agua no elimina el picante. La herencia de la pungencia se debe a un gen dominante simple, sujeto a modificadores del gen mayor y a condiciones ambientales: más iluminación, más altitud o menor tensión de CO₂ menor fertilidad, mayor estrés hídrico igual mayor pungencia.

La pungencia se mide en grados o unidades Scoville (Wilbur Scoville inventó la técnica), que indica cuánto debe diluirse una muestra para dejar de percibir el gusto picante. Dado que las unidades Scoville tienen una base organoléptica y varían entre catadores, se usa con más precisión la cromatografía líquida de alta eficiencia (*HPLC*). Una de las razones por las que los humanos y animales carnívoros perciben el picante, es porque la saliva es levemente alcalina, pH 7,2. Cuando la capsaicina entra en contacto con la lengua o la mucosa bucal, envía señales de dolor al cerebro, que a su vez, libera endorfinas que causan una leve euforia.

Se debe recordar que las endorfinas son opiáceos naturales, con efecto similar a los derivados del opio de las amapolas. Cada nuevo estímulo al cerebro lo obliga a liberar más endorfinas para aliviar la picazón. De modo que cuanto más picante se ingiere, mejor se siente el organismo.

2.8.5.1. Escala Scoville

Es una medida del *hotness* o correctamente la pungencia de un chile *capsicum*. Esta escala fue nombrada por Wilbur Scoville, quien desarrolló el examen organoléptico Scoville en 1912. Éste consiste en una solución con extracto del chile, que es diluida en agua azucarada hasta que el picante ya no puede ser detectado por un comité de (normalmente cinco) examinadores; el grado de disolución del extracto da su medida en la escala. La gran debilidad de este método recae en su imprecisión, pues la prueba está sujeta a la subjetividad humana.

Actualmente, ya no se utiliza la medida organoléptica, se utilizan métodos de análisis cuantitativo. El calor de la especie ahora es medido, generalmente, por el método de cromatografía líquida de alta eficiencia (*HPLC*). Esto identifica y mide los productos químicos que producen la pungencia. Entonces se utiliza un factor matemático, según su capacidad relativa de producir una sensación de calor. Este método rinde resultados, no en unidades Scoville, sino en unidades de la acritud de *ASTA* (Asociación americana de comercio de especias). La relación aproximada es que por cada parte por millón de capsaicina corresponde cerca de 16 unidades Scoville, y con esto ya pueden ser publicadas las escalas de pungencia en unidades Scoville.

2.8.6. Importancia nutricional del chile *capsicum*

Es necesario conocer cuáles son los elementos nutritivos que contiene el *capsicum*, ya que mucha gente cree que solamente sirve para estimular el apetito. El *capsicum* posee elementos nutritivos como: proteínas, vitamina A, tiamina, riboflavina, vitamina C y hierro.

2.8.7. Usos que se le dan al chile *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 otros. A continuación se describen los usos que se le dan actualmente al *capsicum*.

2.8.7.1. Medicina

Entran en la composición de algunos medicamentos utilizados para combatir la atonía gastrointestinal y algunos casos de diarrea.

2.8.7.2. Como especia

Es utilizado en la elaboración de gran número de comidas, entre algunas: la composición del curry indio, asociado al coriandro, usando también en la confección de *Pickles* y de los picalili.

2.8.7.3. Oleorresina

Según la *FDA* título 21 parte 70 relativa a aditivos alimentarios distintos de los colorantes y edulcorantes, puede ser utilizada en la industria alimenticia como colorante natural.

3. DISEÑO METODOLÓGICO

El tratamiento al que fue sometido el chile blanco (*Capsicum annuum* A.) para la obtención de su oleorresina conllevó una serie de procesos cronológicos que fueron, desde su secado hasta su análisis fisicoquímico.

El proceso inició con el secado del chile blanco (*Capsicum annuum* A.) que se llevó a cabo mediante un secador eléctrico de flujo transversal a una temperatura no mayor de 50 °C. El secado finalizó al obtener un porcentaje inferior al 10% de humedad relativa en la muestra. Al secado le sucedió la molienda, la cual a partir de un molino de discos, redujo el fruto seco a un tamaño de partícula que se retenga en tamiz No. 12.

Con el chile molido y seco se realizó la extracción de la oleorresina aplicando la técnica de extracción soxhlet, utilizando como solvente extractivo soluciones alcohol etílico-agua a concentraciones del 95%, 70% y 45 % (v/v). El sistema extractivo operó a presión atmosférica y a temperatura de saturación de las soluciones establecidas. Finalizada la extracción, se procedió a concentrar los extractos etanólicos en un rotaevaporador al vacío hasta llevar la oleorresina a punto miel.

La oleorresina obtenida se almacenó en frascos ámbar de 4 mL debidamente identificados. Se procedió a la evaluación del porcentaje de rendimiento y a caracterizarla fisicoquímicamente por cromatografía líquida de alta eficiencia (*HPLC*), además se estableció la medida de pungencia de la oleorresina a partir de las unidades de calor Scoville (*SHU*).

3.1. Variables

3.1.1. Variables independientes

3.1.1.1. Concentración de la solución etanólica

Para realizar el proceso extractivo de la oleorresina de chile blanco (*Capsicum annuum* A.) aplicando la técnica de extracción soxhlet se procedió a utilizar como solvente de extracción soluciones de alcohol etílico – agua a concentraciones del 95%, 70% y 45% en relación volumen respectivamente.

3.1.1.2. Estrato altitudinal de procedencia

El chile blanco (*Capsicum annuum* A.) utilizado es originario de tres estratos altitudinales del departamento de Alta Verapaz, región Norte de la república de Guatemala. Estas regiones son:

Santa Catalina la Tinta (municipio)

Departamento: Alta Verapaz

Altura sobre nivel del mar: 100 m.s.n.m

Coordenadas:

Longitud: 89° 52' 30''

Latitud: 15° 19' 10''

Telemán (municipio)

Departamento: Alta Verapaz

Altura sobre nivel del mar: 60 m.s.n.m

Coordenadas:

Longitud: 89° 44' 20''

Latitud: 15° 20' 10''

Panzós (municipio)

Departamento: Alta Verapaz

Altura sobre nivel del mar: 18 m.s.n.m

Coordenadas:

Longitud: 89° 37' 55"

Latitud: 15° 3' 10"

3.1.2. Variables dependientes

3.1.2.1. Porcentaje de rendimiento de oleorresina

Se evaluó y comparó el porcentaje de rendimiento de la oleorresina de chile blanco (*Capsicum annuum* A.) para determinar la mejor combinación entre estrato altitudinal y solución alcohol etílico-agua.

3.1.2.2. Determinación de capsaicina

Se utilizó un estándar de capsaicina *USP*, con etanol grado *HPLC*. Se utilizó cromatografía líquida de alta eficiencia para la cuantificación de capsaicina en las muestras de oleorresina de chile blanco (*Capsicum annuum* A.).

3.1.2.3. Unidades de calor Scoville (SHU)

Para determinar el valor de pungencia en unidades Scoville (SHU) para cada una de las muestras fue necesario multiplicar la concentración de capsaicina presente (ppm) por el *SHU* de la capsaicina pura.

3.2. Delimitación del campo de estudio

El campo de estudio fueron los productos naturales a partir de la extracción y caracterización fisicoquímica de la oleorresina de chile blanco (*Capsicum annuum* A.), a escala laboratorio.

3.3. Recursos disponibles

3.3.1. Recurso humano

- Asesora: Ing. Qca. Telma Maricela Cano morales
- Directora Centro de Investigaciones de Ingeniería, Facultad de Ingeniería, Universidad de San Carlos de Guatemala

- Co- Asesor: Ing. Qco. Mario José Mérida Meré
- Coordinador Laboratorio de Investigación de Extractos Vegetales –LIEXVE-, Sección Química Industrial, Centro de Investigaciones de Ingeniería, Facultad de Ingeniería, Universidad de San Carlos de Guatemala.

- Investigador: Br. Aldo Alexander de la Cruz Leonardo

3.3.2. Recurso físico

- Laboratorio de Investigación de Extracto Vegetales –LIEXVE- Sección Química Industrial del Centro de Investigaciones de Ingeniería, edificio T-5, Facultad de Ingeniería, Universidad de San Carlos de Guatemala.

- Laboratorio de la Unidad de Análisis Instrumental, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala.
Coordenadas Ciudad Universitaria
Longitud: -90° 33' 6.25"
Latitud: 14° 35' 17.46"

3.4. Recursos materiales disponibles

3.4.1. Materia prima y reactivos

- Chile blanco (*Capsicum annuum* A.) molido a un porcentaje de humedad menor del 10%
- Soluciones de alcohol etílico al 95%, 70% y 45% (v/v)
- Agua desmineralizada
- Estándar de oleorresina de *capsicum* USP

3.4.2. Cristalería y equipos

3.4.2.1. Cristalería y materiales auxiliares

- Bolsas transparentes marca Ziploc® para guardar materia prima húmeda y a un porcentaje de humedad menor del 10%
- Frascos color ámbar con rosquilla para almacenar la oleorresina de chile blanco de 4 mL
- Equipo de extracción soxhlet (Balón de 500 mL, soxhlet y condensador de serpentín)
- Beakers de 50 mL, 100 mL, 250 mL y de 600 mL marca *Pirex*
- Probeta de 10 mL, 50 mL, 250 mL y 500 mL
- Earlenmeyers de 150 mL

- Varillas de agitación
- Termómetro de mercurio 0°C-150°C
- Picnómetro
- Dedales de celulosa

3.4.2.2. Equipos

- Secador eléctrico de flujo transversal marca Premlab, 120 voltios, 50-60 hertz
- Balanza de humedad marca Boeco Germany 100-120 voltios 60 hertz
- Molino manual de discos, fabricado de acero inoxidable
- Recirculador de agua en circuito cerrado marca VWR modelo 1112 A 120 voltios, 50-60 hertz 1 fase
- Rotaevaporador marca Büchi R-200 120 voltios, 50-60 hertz
- Balanza marca: Adventur serie: G1231202040133 Voltaje 8-14,5 V, frecuencia 50/60 Hz. máxima capacidad 150 g, lectura mínima 0,001 g. Hecha en U.S.A.
- Plancha de calentamiento con agitación, Marca VWR, cat No. 12365-382 120 voltios AC, 900 watts, 50-60 Hertz 1 fase
- Bomba de vacío, marca General Electric comercial motors ¼ Hp, 100-115 voltios, 50-60 hertz, 1725-1425 RPM

3.5. Técnica cualitativa o cuantitativa

3.5.1. Cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC)

Tabla V. Especificaciones del cromatógrafo líquido de alta eficiencia (HPLC) utilizado en el análisis de la oleorresina de chile blanco (*Capsicum annuum* A.)

Nombre	Marca	Modelo	Observaciones
Cromatógrafo líquido de alta eficiencia	Agilent	1100	-----
Bomba	Agilent	HP 1100	Bomba inteligente
Detector con arreglo de diodos	Agilent	HP 1100	UV-VIS
Columna	Merck	LiChrospher Rp-18e 250X22.5 mm	-----
Automuestreador	Agilent	HP 1100	-----
Balanza	AND	FR-200 MKII	-----

Fuente: Unidad de análisis instrumental, Usac, cromatógrafo líquido de alta eficiencia.

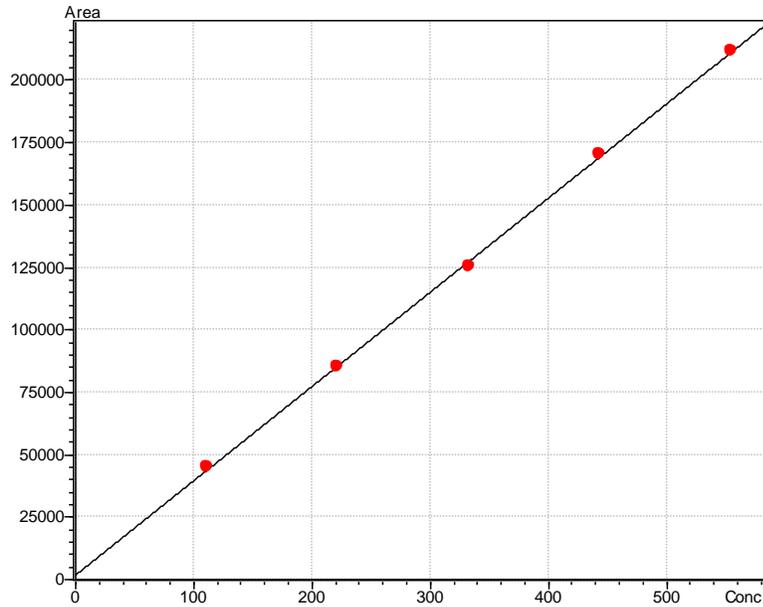
3.5.1.1. Preparación de los estándares

A partir de la solución *stock* se realizaron las correspondientes diluciones para realizar la curva de calibración.

3.5.1.2. Curva de calibración

Se inyectaron 20 μ L de cada estándar y se realizó una correlación de mínimos cuadrados entre la concentración de capsaicina y su respectiva área de pico en el cromatograma, con lo cual se tuvo la referencia para las posteriores mediciones.

Figura 12. **Curva de calibración para detección de capsaicina en oleorresina de chile blanco (*Capsicum annuum* A.) por HPLC**



Fuente: Unidad de análisis instrumental, Usac, cromatógrafo líquido de alta eficiencia.

Tabla VI. **Curva de calibración para la detección de capsaicina en oleorresina de chile blanco (*Capsicum annuum* A.)**

Estándar	Concentración de capsaicina (ppm)
1	4,0360
2	8,0720
3	12,1080
4	16,1400
5	20,1800

Fuente: Unidad de análisis instrumental, Usac, cromatógrafo líquido de alta eficiencia.

3.5.1.3. Cuantificación de las muestras

Las muestras fueron cuantificadas a partir de las presentes condiciones de separación en la columna cromatográfica.

Tabla VII. **Especificaciones de variables de operación del cromatógrafo líquido de alta eficiencia HPLC**

Fase Estacionaria	Columna C ₁₈ / Largo 30 cm de 5 µm Rp-18 Merck
Fase móvil	Acetonitrilo: agua 65:35
Flujo	1 mL/min
Longitud de onda	UV-Vis 280 nm
Temperatura de columna	50 °C
Volumen de inyección	20 µL

Fuente: Unidad de análisis instrumental, Usac, cromatógrafo líquido de alta eficiencia.

3.5.2. Caracterización fisicoquímica de la oleorresina de chile blanco (*Capsicum annuum* A.)

3.5.2.1. Cuantificación de capsaicina

Se utilizó un estándar de capsaicina *USP*, con etanol grado *HPLC*. Se utilizó la cromatografía líquida de alta eficiencia para la cuantificación en las muestras de oleorresina de chile blanco (*Capsicum annuum* A.)

3.5.2.2. Unidades de calor Scoville (SHU)

Para determinar el valor de pungencia en unidades scoville (SHU) para cada una de las muestras fue necesario multiplicar la concentración de capsaicina presente (ppm) por el SHU de la capsaicina pura de 16 SHU.

Cálculo:

$$SHU_{(muestra)} = Capsaicina (ppm) * 16 \quad \text{Ecuación 3}$$

3.6. Recolección y ordenamiento de la información

Para la recolección de datos se utilizó la técnica de extracción soxhlet empleando soluciones de alcohol etílico-agua a concentraciones del 95%, 70% y 45% respectivamente en relación (v/v). Se trabajó con chile blanco (*Capsicum annuum* A.), proveniente de 3 estratos altitudinales (100 msnm, 60 msnm y 18 msnm) del departamento de Alta Verapaz, región Norte de Guatemala a 3 repeticiones por tratamiento, obteniendo 27 unidades experimentales. Los porcentajes de rendimiento de oleorresina fueron tabulados según la solución de alcohol etílico-agua y estrato altitudinal de procedencia.

3.7. Tabulación, ordenamiento y procesamiento de la información

Durante el proceso extractivo de la oleorresina de chile blanco (*Capsicum annuum* A.) se recopilaron y tabularon datos de tiempo de extracción, índice de refracción, densidades de los extractos etanólicos, porcentajes de rendimiento y los parámetros de análisis de calidad de las oleorresinas, los cuales fueron tabulados en hojas electrónicas del programa *Microsoft Excel*® para su evaluación numérica y gráfica. (diagramas de dispersión y barras).

3.8. Análisis estadístico

El diseño estadístico utilizado fue el de bloques aleatorios con $n > 1$ (repetición), en el cual se estudiaron dos variables en tres niveles cada una. Los resultados obtenidos en el laboratorio fueron tratados por medio del análisis de varianza (*ANOVA*); además, se aplicó la prueba de comparación de medias de *Tukey* y la de diferencias mínimas significativas *LSD*.

4. RESULTADOS

Tabla VIII. **Porcentajes de rendimiento de oleorresina de chile blanco (*Capsicum annum A.*) obtenidos por extracción soxhlet proveniente de Santa Catalina La Tinta**

Santa Catalina La Tinta (100 msnm)	Código	Corrida 1 R1	Corrida 2 R2	Corrida 3 R3	Promedio	Desviación estándar
	CBA145	37,83	44,61	37,68	40,04	3,95
	CBA170	28,69	30,49	30,68	29,59	1,27
	CBA195	21,01	21,50	19,15	20,55	1,24

Fuente: elaboración propia.

Tabla IX. **Porcentajes de rendimiento de oleorresina de chile blanco (*Capsicum annum A.*) obtenidos por extracción soxhlet proveniente de Telemán**

Telemán (60 msnm)	Código	Corrida 1 R1	Corrida 2 R2	Corrida 3 R3	Promedio	Desviación estándar
	CBA245	37,06	40,41	34,65	38,73	2,37
	CBA270	28,44	30,41	32,33	30,40	1,95
	CBA295	20,39	19,63	18,34	20,01	0,54

Fuente: elaboración propia.

Tabla X. **Porcentajes de rendimiento de oleorresina de chile blanco (*Capsicum annum* A.) obtenidos por extracción soxhlet proveniente de Panzós**

Panzós (18 msnm)	Código	Corrida 1 R1	Corrida 2 R2	Corrida 3 R3	Promedio	Desviación estándar
		CBA345	33,90	37,34	38,69	35,62
	CBA370	34,23	28,05	30,26	30,85	3,13
	CBA395	24,80	26,64	23,53	24,99	1,56

Fuente: elaboración propia.

Tabla XI. **Cuantificación en ppm de capsaicina en la oleorresina de chile blanco (*Capsicum annum* A.) por medio de cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC)**

Código	Corrida 1	Corrida 2	Promedio	Desviación estándar
CBA145	4,5620	4,3680	4,4650	0,1372
CBA170	4,0241	4,0836	4,0539	0,0421
CBA195	16,3495	17,0930	16,7213	0,5257
CBA245	9,3433	9,8379	9,5906	0,3497
CBA270	8,1120	8,4612	8,2866	0,2469
CBA295	10,4482	11,1223	10,7852	0,4767
CBA345	6,1617	6,1612	6,1615	0,0004
CBA370	5,2012	5,0359	5,1186	0,1169
CBA395	21,1540	20,8260	20,9900	0,2319

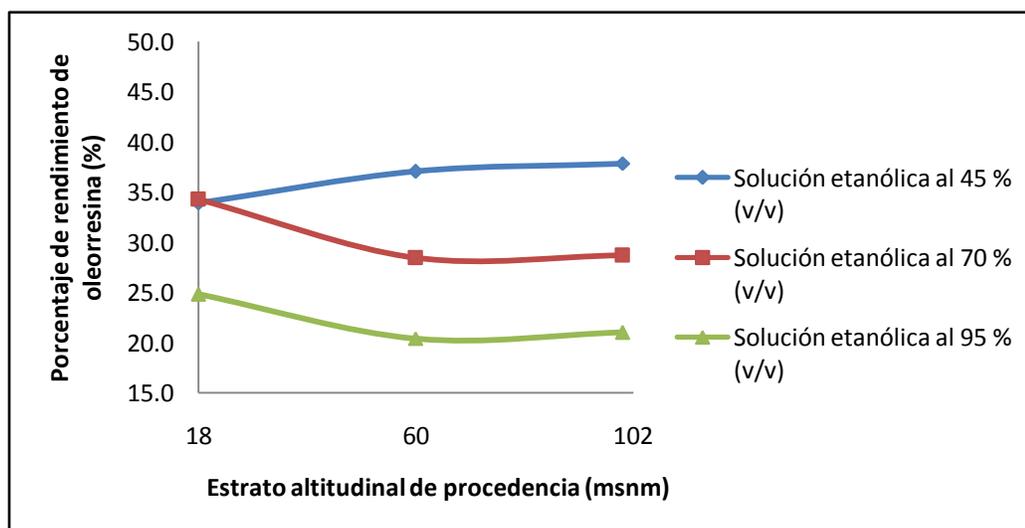
Fuente: elaboración propia.

Tabla XII. **Unidades de calor Scoville (SHU) de la oleorresina de chile blanco (*Capsicum annuum* A.) en función de la cantidad de capsaicina presente**

Código	Unidades de calor (SHU) de la oleorresina de chile blanco
CBA145	71
CBA170	65
CBA195	268
CBA245	153
CBA270	133
CBA295	173
CBA345	99
CBA370	82
CBA395	336

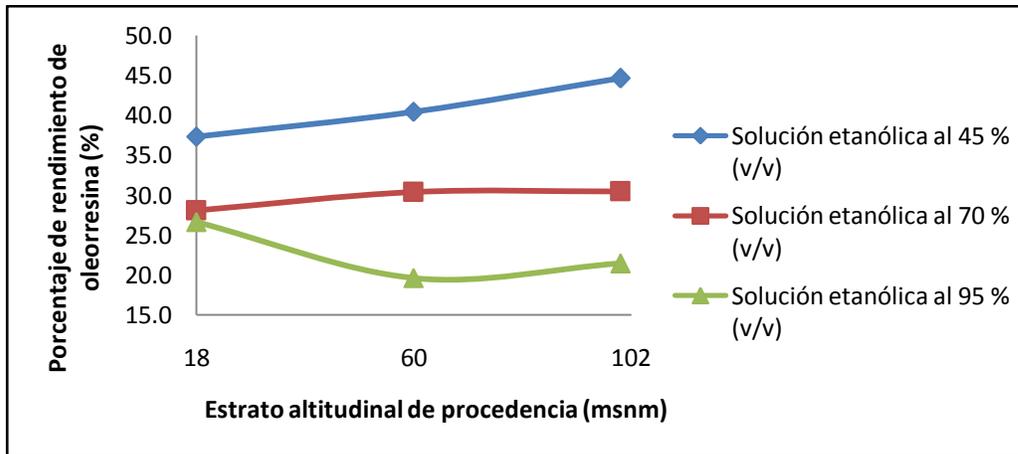
Fuente: elaboración propia.

Figura 13. **Porcentajes de rendimiento de oleorresina de chile blanco (*Capsicum annuum* A.) obtenidos a partir de la extracción soxhlet en la primera corrida**



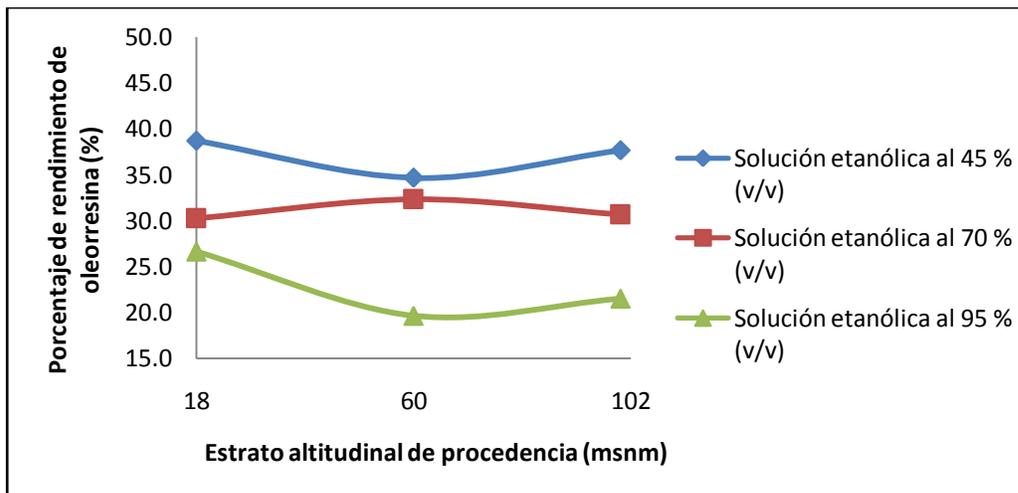
Fuente: elaboración propia.

Figura 14. **Porcentajes de rendimiento de oleorresina de chile blanco (*Capsicum annuum* A.) obtenidos a partir de la extracción soxhlet en la segunda corrida**



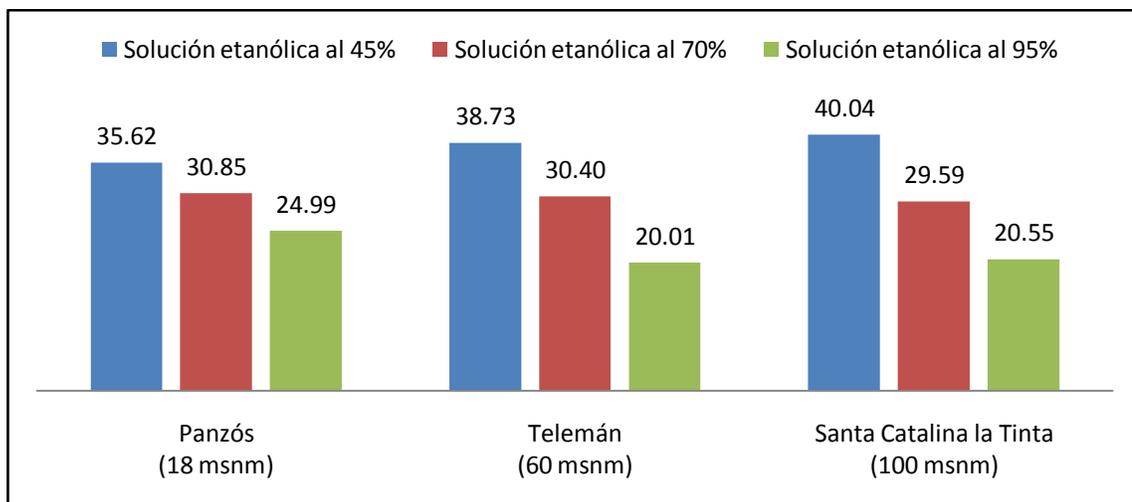
Fuente: elaboración propia.

Figura 15. **Porcentajes de rendimiento de oleorresina de chile blanco (*Capsicum annuum* A.) obtenidos a partir de la extracción soxhlet en la tercera corrida**



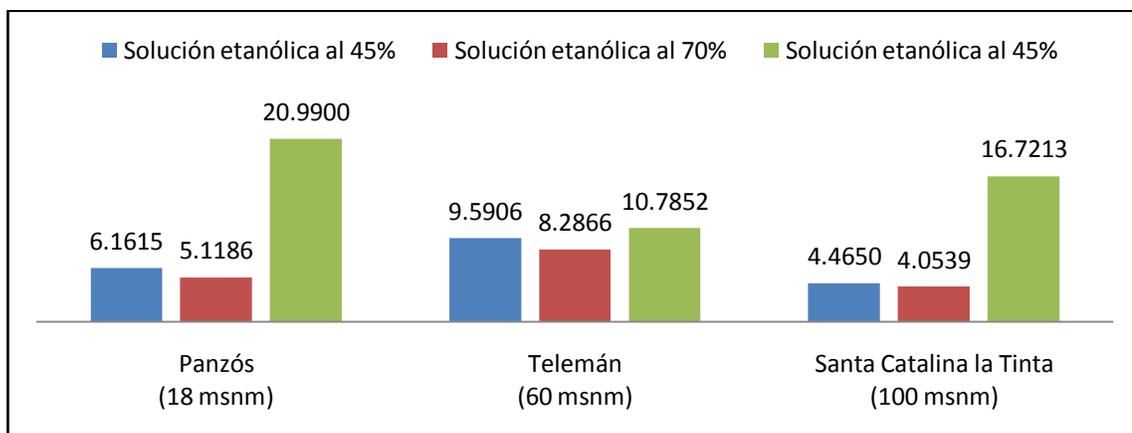
Fuente: elaboración propia.

Figura 16. **Porcentajes promedio de rendimiento de oleorresina de chile blanco (*Capsicum annuum* A.) obtenidos a partir de la extracción soxhlet**



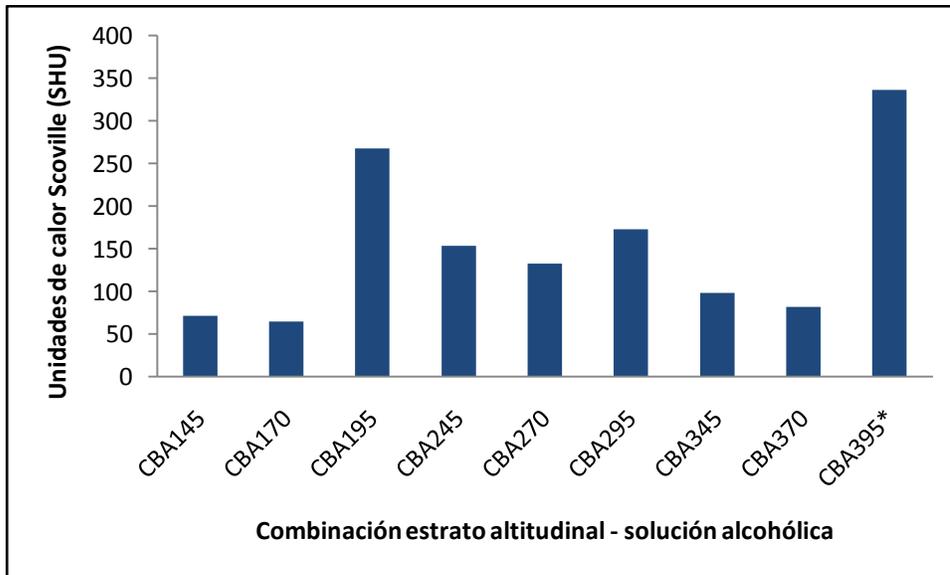
Fuente: elaboración propia.

Figura 17. **Cuantificación en ppm de capsaicina presente en la oleorresina de chile blanco (*Capsicum annuum* A.) por medio de cromatografía líquida de alta eficiencia HPLC**



Fuente: elaboración propia.

Figura 18. **Unidades de calor Scoville (SHU) de la oleorresina de chile blanco (*Capsicum annuum* A.) en función de la cantidad de capsaicina presente**



Fuente: elaboración propia.

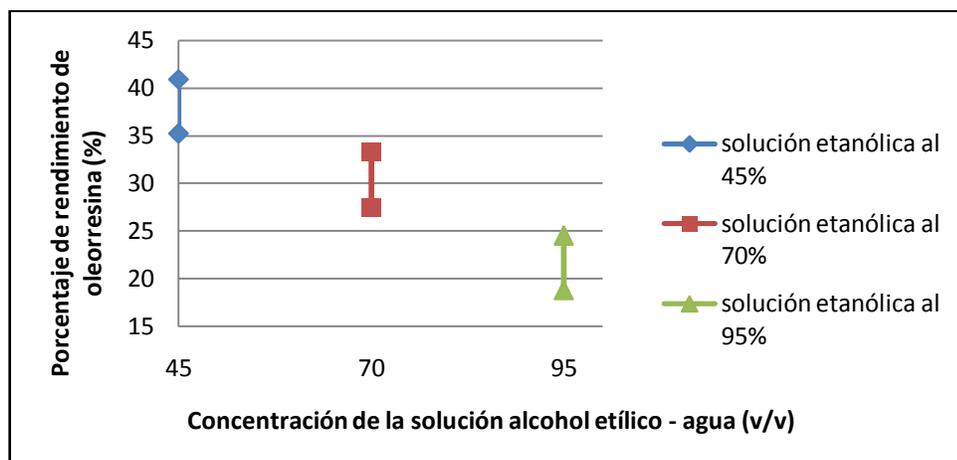
4.1. Análisis de varianza para dos factores con varias muestras por grupo

Tabla XIII. Análisis de varianza para el porcentaje de rendimiento de la oleorresina de chile blanco (*Capsicum annuum* A.)

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Valor crítico para F	Hipótesis
Estratos	14,16	2	7,08	1,27	3,55	Ho aceptada
Concentración	1 205,29	2	602,65	108,50	3,55	Hi aceptada
Interacción	57,77	4	14,44	2,60	2,93	
Error	99,98	18	5,55			
Total	1 377,20	26				

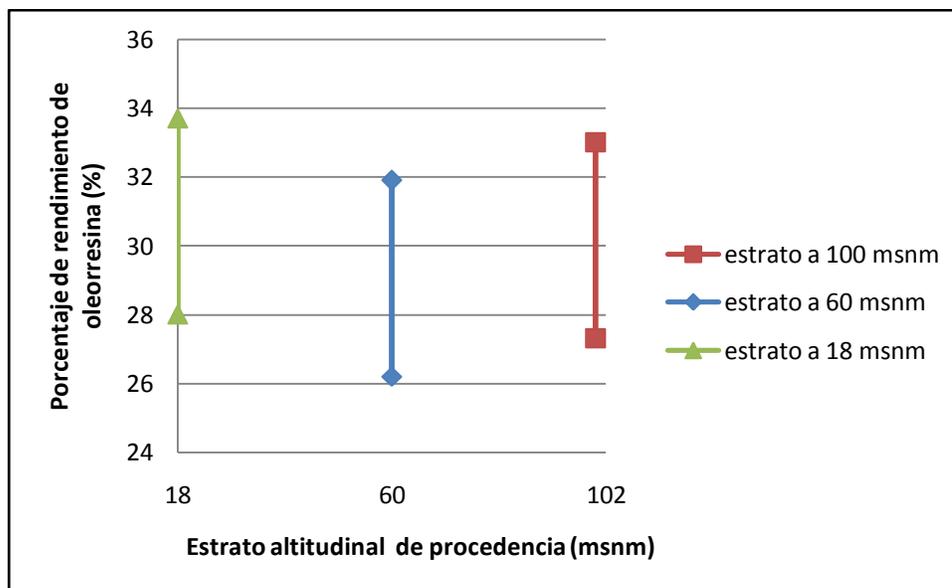
Fuente: elaboración propia.

Figura 19. Medias del porcentaje de rendimiento de oleorresina de chile blanco (*Capsicum annuum* A.) en función de la concentración de la solución alcohol etílico – agua



Fuente: elaboración propia.

Figura 20. **Medias del porcentaje de rendimiento de oleorresina de chile blanco (*Capsicum annuum* A.) en función del estrato altitudinal de procedencia**



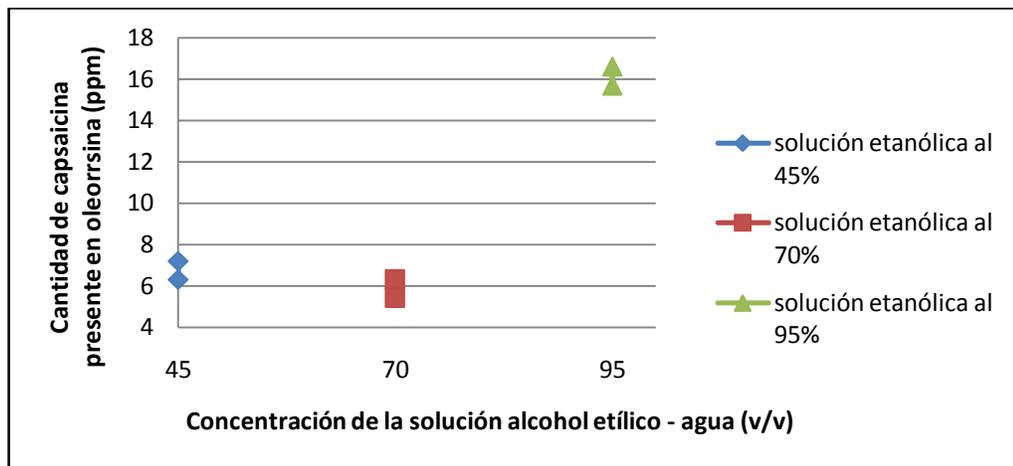
Fuente: elaboración propia.

Tabla XIV. **Análisis de varianza para la cantidad de capsaicina presente en la oleorresina de chile blanco (*Capsicum annuum* A.)**

Origen de las variaciones	Suma de cuadrado	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Valor crítico para F	Hipótesis
Estratos	16,48	2	8,24	95,68	4,26	Hi aceptada
Concentración	393,48	2	196,74	2 284,93	4,26	Hi aceptada
Interacción	135,25	4	33,81	392,70	3,63	
Error	0,77	9	0,09			
Total	545,98	17				

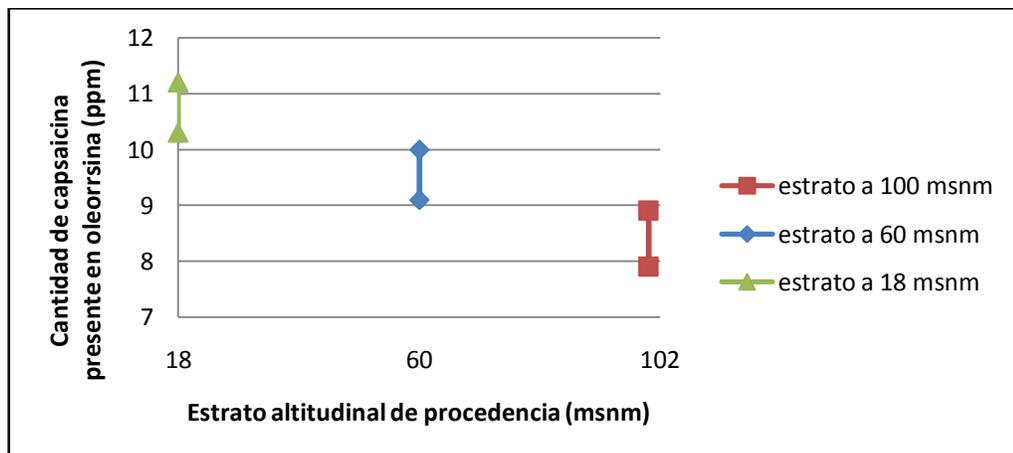
Fuente: elaboración propia.

Figura 21. **Medias de la cantidad de capsaicina presente en la oleorresina de chile blanco (*Capsicum annuum* A.) en función de la concentración de la solución alcohol etílico - agua**



Fuente: elaboración propia.

Figura 22. **Medias de la cantidad de capsaicina presente en la oleorresina de chile blanco (*Capsicum annuum* A.) en función del estrato altitudinal de procedencia**



Fuente: elaboración propia.

5. INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

En el presente trabajo de graduación se llevó a cabo la extracción de la oleorresina del fruto maduro de chile blanco (*Capsicum annuum* A.) a partir de la técnica soxhlet con la finalidad de evaluar su porcentaje de rendimiento y caracterizarla fisicoquímicamente.

Se analizaron tres estratos altitudinales de procedencia y se utilizó como solvente extractivo, soluciones de alcohol etílico-agua a concentraciones iniciales del 45%, 70% y 95% (v/v).

El chile blanco se obtuvo directamente de las plantaciones de los agricultores localizadas en tres regiones del departamento de Alta Verapaz, las cuales fueron Santa Catalina La Tinta (100 msnm), Telemán (60 msnm) y Panzós (18 msnm).

Previo a realizar la extracción soxhlet, se realizaron análisis preliminares para determinar las variables de proceso. Se procedió a realizar calibraciones de los equipos de calentamiento, esto para normalizar los procedimientos experimentales que se llevaron a cabo.

Se realizaron pruebas preliminares para determinar parámetros de control del proceso extractivo, en las cuales se determinó el tiempo de extracción, la temperatura de operación y la relación soluto-solvente por medio del monitoreo de la densidad e índice de refracción del extracto etanólico dentro de la unidad de extracción, como se puede observar en el apéndice A y B.

Se observó que el comportamiento del proceso extractivo no fue contante, debido a que presentó una serie de altibajos durante su desarrollo; sin embargo, aproximadamente al cabo de 10 ciclos en adelante, tanto la densidad como el índice de refracción presentaron una cierta estabilización, lo que dio la pauta a que el proceso extractivo había finalizado. El tiempo de extracción osciló entre los 115 a 140 minutos. La temperatura de operación se estableció como la temperatura de saturación de la solución alcohol etílico-agua escogida.

La relación soluto-solvente se determinó mediante el aforo de la cámara extractiva del equipo soxhlet y la cantidad de chile que pudo almacenar el dedal de celulosa utilizado en el equipo, dando una relación de 1 g : 6 mL.

Determinadas las variables del proceso se realizaron nueve extracciones por corrida, en donde cada estrato altitudinal fue sometido a las tres concentraciones de alcohol etílico en tres repeticiones; teniendo veintisiete extracciones en total. Finalizada cada extracción se reportó la densidad e índice de refracción del extracto etanólico, como se observa en el apéndice B.

Concluida la fase extractiva se realizó la rotaevaporación, a partir de la cual la oleorresina fue llevada a punto miel por medio de la eliminación del solvente.

Posteriormente se evaluó el porcentaje de rendimiento como se puede observar en las tablas VIII a la X y se cuantificó la cantidad de capsaicina presente como se puede observar en la tabla XI.

Para determinar cuál estrato altitudinal y qué concentración de alcohol etílico reportaron el mayor rendimiento de oleorresina se realizó un análisis estadístico, utilizando un diseño experimental de bloques aleatorizados con repetición. Según el análisis de varianza, dado que para la concentración de alcohol etílico el estadístico de Fisher calculado $F_o = 108,50$, resultó mayor que el estadístico de Fisher crítico $F_c = 3,55$, obtenido de una tabla de distribución de referencia para un nivel de confianza del 95%, se determinó que existen diferencias significativas entre las medias de los tratamientos, y al menos dos de los niveles de concentración de alcohol etílico son diferentes entre sí, en cuanto al efecto que ejercen sobre el porcentaje de rendimiento de oleorresina.

Además, para los estratos altitudinales y su interacción con la concentración de alcohol etílico estos factores no presentaron diferencias significativas en cuanto a sus medias, debido a que el estadístico de Fisher calculado para un nivel de significancia $\alpha = 0,05$ resultó menor que su respectivo valor crítico, como se puede observar en la tabla XIII.

Por tanto, la variación de altura sobre el nivel del mar no tiene influencia en el porcentaje de rendimiento de oleorresina. Sin embargo, debido a que se rechazó la igualdad de las tres concentraciones de alcohol etílico, se averiguó cuáles de ellas son diferentes entre sí y se hizo por medio de dos métodos de comparación de parejas de medias, el método de la diferencia mínima significativa (*LSD*) y el método de *Tukey*.

En estos métodos se comprobó que las tres concentraciones de alcohol etílico son diferentes entre sí, y de acuerdo con las medias, se determinó que la concentración de alcohol etílico al 45% da un mayor porcentaje de rendimiento de oleorresina que las concentraciones al 70% y 95%, como se puede observar en el apéndice E.

Gráficamente se puede observar en la figura 19 que ninguno de los intervalos de medias se traslapa, con esto se confirma que las tres concentraciones de alcohol etílico son diferentes entre sí.

En contraparte, la figura 20 muestra el traslape que existe entre las medias de los estratos altitudinales lo cual coincide con que no existan diferencias significativas en el porcentaje de rendimiento de oleorresina obtenido debidas a este factor.

Además, en la figura 16 se observa que los porcentaje de rendimiento de oleorresina oscilaron entre los valores del $20,01\% \pm 1,34\%$ y $40,04\% \pm 9,82\%$. La tendencia creciente en el porcentaje de rendimiento al disminuir la cantidad de alcohol etílico en la solución, se debió a que la capacidad extractiva de compuestos polares e hidrofílicos aumenta para constantes dieléctricas altas, siendo la solución al 45% de concentración de alcohol etílico la que cumplió con esta condición en comparación a las concentraciones del 70% y 95%. Otro factor de influencia fue que la temperatura de operación más alta, como se puede observar en el apéndice D, fue nuevamente la de la solución alcohol etílico-agua al 45%, con esto se logró una mayor solubilización de los compuestos presentes y por ende un mejor proceso extractivo. Esto demostró que en el fruto del chile blanco existen gran cantidad de compuestos con afinidad al agua.

Para la caracterización fisicoquímica se procedió a la cuantificación de la capsaicina, debido a que este compuesto es el parámetro más importante para evaluar la calidad de las oleorresinas extraídas de *capsicum*. Dicha cuantificación se realizó mediante la comparación con un patrón de capsaicina USP, por medio de un análisis de cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC).

Se tomó una corrida al azar, la cual fue analizada por este método y cuyos resultados se muestran en la tabla XI. Nuevamente se procedió a realizar un análisis de varianza para determinar si existen diferencias significativas en las cantidades de capsaicina reportadas en función de la concentración de alcohol etílico y del estrato altitudinal de procedencia.

Según el análisis de varianza, como se puede observar en la tabla XIV, la concentración de alcohol etílico, los estratos altitudinales y la interacción entre ellos tuvieron un efecto significativo sobre la cantidad de capsaicina recuperada en el proceso extractivo, esto debido a que todos los valores estadísticos de Fisher calculados F_0 son mayores a los valores críticos, por tanto se procedió a la comparación de parejas de medias por los métodos de diferencia mínima significativa *LSD* y *Tukey*.

Dichos métodos estadísticos aplicados con los mismos criterios de confiabilidad y significancia que en la evaluación del porcentaje de rendimiento de oleorresina comprobaron que efectivamente existen diferencias significativas en la cantidad de capsaicina extraída, dando como resultado, que de acuerdo a las medias la concentración de alcohol etílico al 95% es la que realiza la mejor extracción de capsaicina, como se puede observar en la figura 21; sin embargo, también se observa que entre las concentraciones de alcohol etílico al 45% y 70%, existe una mínima diferencia sobre la cantidad de capsaicina extraída.

Esto se debe a que las capacidades extractivas de dichas soluciones son muy parecidas entre ellas, en función de su constante dieléctrica, y siendo la capsaicina un compuesto mayormente no polar encuentra la mayor afinidad por la concentración de alcohol etílico al 95%, ya que fue la que menor constante dieléctrica reportó.

En la figura 17 se puede observar que la cantidad de capsaicina recuperada en la oleorresina osciló entre las 4,0539 ppm y 20,9900 ppm, debido a esto se estableció que a pesar de que existen diferencias significativas entre los factores analizados como lo fueron la concentración de alcohol etílico, los estratos altitudinales y la interacción entre ellos, la oleorresina de chile blanco no es una fuente significativa de capsaicina comparada con la capsaicina pura que registra según la literatura un valor de 1 000 000 ppm.

Por último, se procedió a establecer las unidades de calor Scoville (*SHU*) de la oleorresina de chile blanco con base en la cantidad de capsaicina presente como se puede observar en la figura 18. Se determinó que la oleorresina de chile blanco con el mayor número de unidades de calor Scoville fue de 336 *SHU*; sin embargo, no es una oleorresina de alta pungencia debido a su poca cantidad de capsaicina presente.

CONCLUSIONES

1. El monitoreo de la densidad en el curso de la extracción soxhlet presentó 2 periodos extractivos durante la totalidad del proceso.
2. El análisis estadístico permitió establecer que sí existen diferencias significativas en el porcentaje de rendimiento de oleorresina de chile blanco según la concentración de la solución alcohol etílico – agua utilizada en la extracción, cuyos valores oscilaron entre los $20,01\% \pm 1,34\%$ y $40,04\% \pm 9,82\%$, siendo la concentración al 45% la que reportó el mayor porcentaje de rendimiento.
3. El estrato altitudinal de procedencia y su interacción con la concentración de la solución alcohol etílico – agua, según el análisis estadístico no presentaron diferencias significativas en el porcentaje de rendimiento de oleorresina de chile blanco, esto para un nivel de confianza del 95%.
4. Con base al análisis estadístico realizado tanto los tratamientos, los estratos altitudinales y la interacción entre ellos tienen un efecto significativo sobre la cantidad de capsaicina recuperada en el proceso extractivo
5. Los valores de capsaicina reportados varían entre 4,0539 y 20,9900 ppm, debido a esto se estableció que la oleorresina de chile blanco no es una fuente significativa de capsaicina comparada con la capsaicina pura que registra según la literatura un valor de 1 000 000 ppm.

6. Se determinó que la oleorresina de chile blanco con el mayor número de unidades de calor Scoville fue de 336 *SHU*; sin embargo, no es una oleorresina de alta pungencia debido a su poca cantidad de capsaicina presente.

RECOMENDACIONES

1. Evaluar la metodología tratada utilizando solventes con constantes dieléctricas debajo de 31, debido a la mayor afinidad que presentó la capsaicina por solventes no polares.
2. Evaluar otros parámetros de control como el pH, sólidos totales, conductividad entre otros con la finalidad de caracterizar la extracción de tipo soxhlet.
3. Evaluar la eficiencia de otras metodologías de extracción sólido-líquido como la maceración dinámica, maceración estática o maceración a reflujo en la extracción de este producto vegetal.
4. Realizar cromatografía gaseosa con espectrofotometría de masas para determinar que otros compuestos se extraen, además de la capsaicina.
5. Realizar estudios sobre oleorresinas de *capsicum* en base a especies de chiles que posean registros con altos índices de capsaicina.
6. Realizar estudios sobre las propiedades colorantes de las oleorresinas de *capsicum* y sus posibles usos en la tinción para la industria textil.

BIBLIOGRAFÍA

1. ARJONA, Mila, et al. *Contenido total de carotenoides en pimentón y oleorresina de la variedad Capsicum annuum I. Trompa de elefante*. Universidad nacional de Catamarca, Argentina: Producciones científicas, 2003, 8 p.
2. GILDARDO, Francisco, et al. "Comparación de métodos de extracción de oleorresina de pprika (*Capsicum annuum* L.) convencionales con una tecnología amigable al medio ambiente". *Producción más limpia*. 2009, vol 47, núm. 1, p. 17-26.
3. GUZMAN, Ivette, et al. "Variability of carotenoid biosynthesis in orange colored *Capsicum* spp." *Plant Science*. 2010, vol 179, núm. 1-2, p. 49-59.
4. PERRY, Robert; DON, Green. *Manual del Ingeniero Químico*. 7^{ma} edición. España: McGraw-Hill, 2001. p. 18-68 – 18-72.
5. SHARAPIN, Nikolai, et al. *Fundamentos de tecnología de productos fitoterapéuticos*. 1^{ra} edición. Colombia: Cyted, 2000. p. 248
6. UQUICHE, Edgar; DEL VALLE, José; ORTIZ, Jaime. "Supercritical carbon dioxide extraction of red pepper (*Capsicum annuum* L.) oleoresin". *Journal of food engineering*. 2004, vol 65, núm. 1, p. 55-66.

7. WADE, L. *Química Orgánica*. (Ángel-Manuel Montaña Pedrero). 5^{ta} edición. España: Pearson Prentice Hall, 2008. p.1296
8. WIKIPEDIA. *Capsaicin* [en línea]. [ref. de 27 de octubre 2010].
Disponible en web: <http://en.wikipedia.org/wiki/capsaicin>
9. WIKIPEDIA. *Escala Scoville* [en línea]. [ref. de 27 de diciembre 2010].
Disponible en web: http://es.wikipedia.org/wiki/Escala_Scoville

APÉNDICES

APÉNDICE A

Monitoreo de la humedad relativa durante el secado de chile blanco (*Capsicum annuum* A.) previo al proceso extractivo

Medición	Tiempo (horas)	Humedad relativa (%)
1	0,00	92,43
2	15,50	65,57
3	24,00	24,00
4	39,50	21,54
5	48,00	6,32

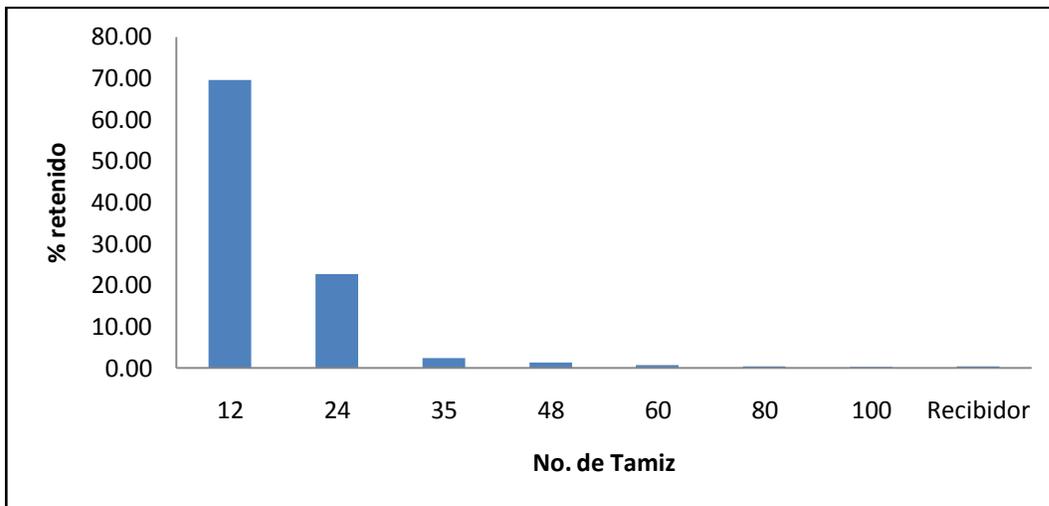
Fuente: elaboración propia.

Datos de los tamices para obtener el tamaño de partícula a utilizar en la extracción soxhlet

#	No. tamiz	Abertura efectiva (mm)	Peso de tamiz (g)	Peso de tamiz + materia (g)	Cantidad de chile retenido (g)	Porcentaje retenido
1	12	1,397	470,50	551,32	80,82	69,56
2	24	0,701	395,50	421,98	26,48	22,79
3	35	0,417	431,00	433,77	2,77	2,38
4	48	0,295	347,00	348,57	1,57	1,35
5	60	0,246	337,00	337,95	0,95	0,82
6	80	0,175	336,00	336,48	0,48	0,41
7	100	0,147	325,00	325,42	0,42	0,36
Recibidor					0,54	0,46
Pérdida por manipulación					2,15	1,85
Total retenido					114,03	
Total tamizado					116,18	100,00

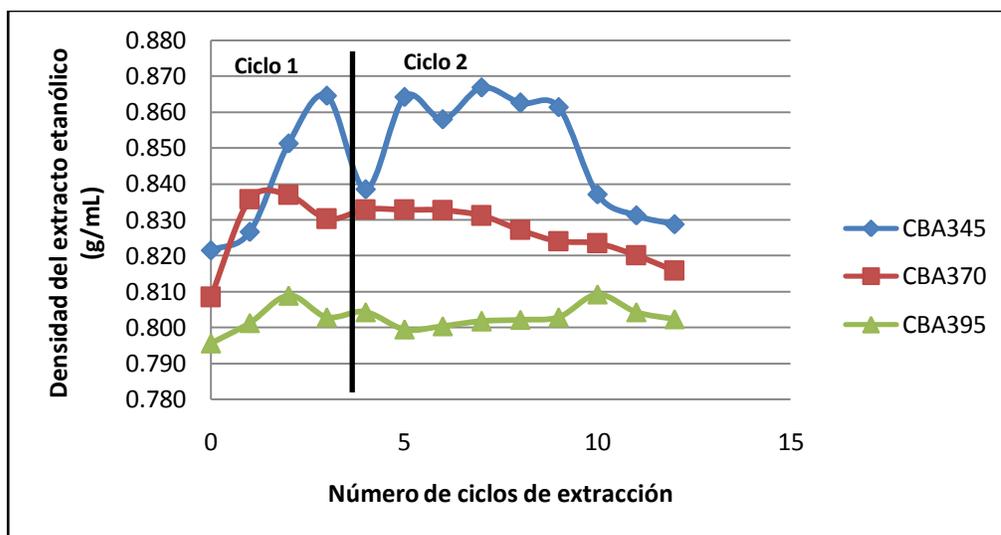
Fuente: elaboración propia.

Porcentaje retenido de chile blanco (*Capsicum annuum* A.) en cada tamiz



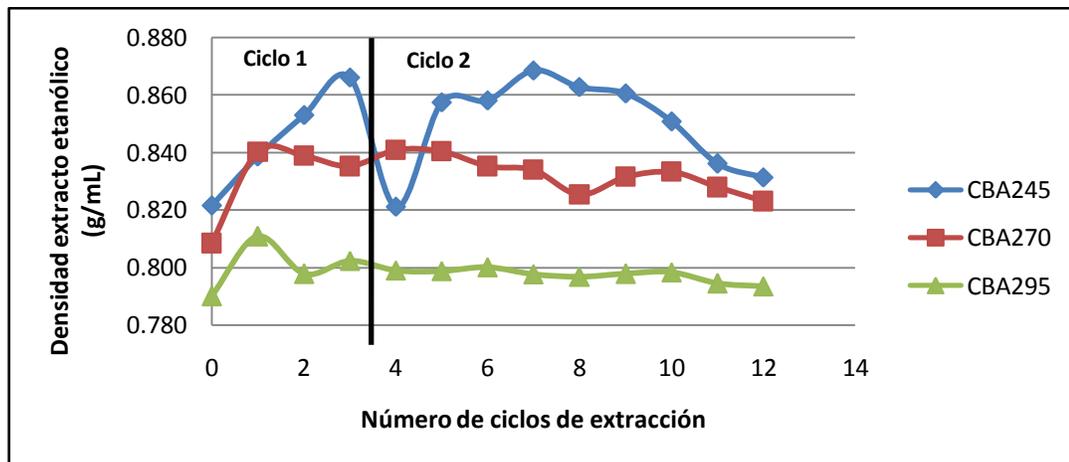
Fuente: elaboración propia.

Comportamiento de la densidad en el extracto etanólico durante el proceso extractivo de la oleorresina de chile blanco (*Capsicum annuum* A.) por la técnica soxhlet para el estrato de 18 msnm



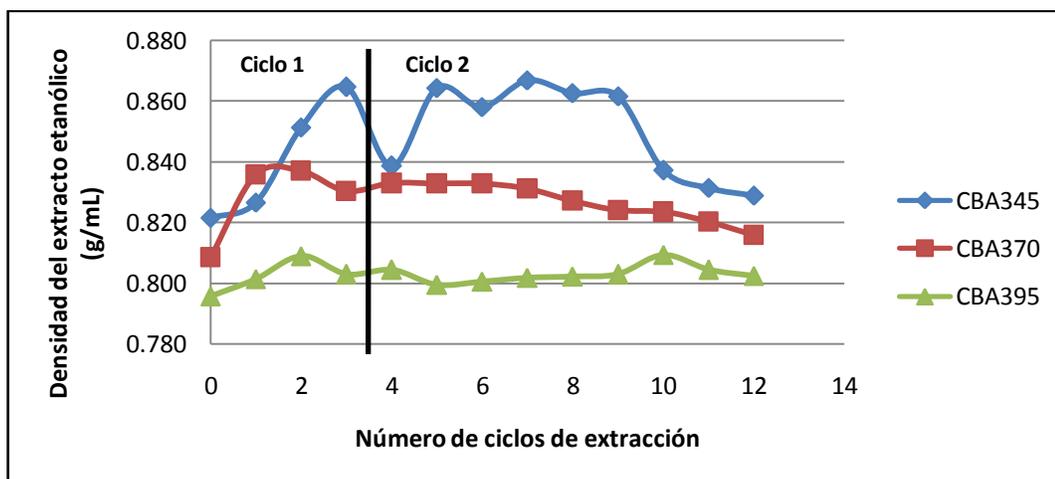
Fuente: elaboración propia.

Comportamiento de la densidad en el extracto etanólico durante el proceso extractivo de la oleorresina de chile blanco (*Capsicum annuum* A.) por la técnica soxhlet para el estrato de 60 msnm



Fuente: elaboración propia.

Comportamiento de la densidad en el extracto etanólico durante el proceso extractivo de la oleorresina de chile blanco (*Capsicum annuum* A.) por la técnica soxhlet para el estrato de 100 msnm



Fuente: elaboración propia.

APÉNDICE B

Monitoreo de la densidad e índice de refracción durante el proceso extractivo de la especie CBA145R1

Ciclo	Masa (g)	Volumen (mL)	Densidad (ρ) (g/mL)	IR	Tiempo (min)
0	5,1005	1,027	0,827	1,3595	0,00
1	5,1199	1,027	0,846	1,3685	19,58
2	5,1289	1,027	0,855	1,3670	34,40
3	5,1143	1,027	0,840	1,3670	49,40
4	5,1355	1,027	0,861	1,3660	64,00
5	5,1330	1,027	0,859	1,3650	79,00
6	5,1409	1,027	0,866	1,3645	95,00
7	5,1380	1,027	0,863	1,3640	109,00
8	5,1384	1,027	0,864	1,3635	125,00
9	5,1365	1,027	0,862	1,3635	140,00
10	5,1120	1,027	0,838	1,3635	153,00

Fuente: elaboración propia.

Monitoreo de la densidad e índice de refracción durante el proceso extractivo de la especie CBA170R1

Ciclo	Masa (g)	Volumen (mL)	Densidad (ρ) (g/mL)	IR	Tiempo (min)
0	5,0750	1,027	0,804	1,3610	0,00
1	5,1053	1,027	0,834	1,3665	13,20
2	5,1136	1,027	0,842	1,3690	27,50
3	5,1120	1,027	0,840	1,3670	41,02
4	5,1122	1,027	0,840	1,3655	58,50
5	5,1085	1,027	0,837	1,3640	68,30
6	5,1020	1,027	0,830	1,3640	82,45
7	5,0980	1,027	0,827	1,3635	97,30
8	5,1023	1,027	0,831	1,3635	112,12
9	5,1030	1,027	0,832	1,3630	127,25
10	5,1035	1,027	0,830	1,3630	139,00

Fuente: elaboración propia.

Monitoreo de la densidad e índice de refracción durante el proceso extractivo de la especie CBA195R1

Ciclo	Masa (g)	Volumen (mL)	Densidad (ρ) (g/mL)	IR	Tiempo (min)
0	5,0650	1,027	0,792	1,3615	0,00
1	5,0722	1,027	0,799	1,3635	15,11
2	5,0752	1,027	0,802	1,3635	30,10
3	5,0743	1,027	0,801	1,3640	42,32
4	5,0713	1,027	0,798	1,3635	58,00
5	5,0706	1,027	0,798	1,3640	73,00
6	5,0682	1,027	0,795	1,3635	88,00
7	5,0744	1,027	0,801	1,3630	101,00
8	5,0745	1,027	0,802	1,3630	115,20
9	5,0747	1,027	0,802	1,3625	129,00
10	5,0820	1,027	0,809	1,3625	144,25
11	5,0720	1,027	0,799	1,3620	160,00
12	5,0745	1,027	0,802	1,3620	173,50

Fuente: elaboración propia.

Monitoreo de la densidad e índice de refracción durante el proceso extractivo de la especie CBA245R1

Ciclo	Masa (g)	Volumen (mL)	Densidad (ρ) (g/mL)	IR	Tiempo (min)
0	5,0950	1,027	0,822	1,3595	0,00
1	5,1125	1,027	0,839	1,3670	14,05
2	5,1273	1,027	0,853	1,3670	31,00
3	5,1407	1,027	0,866	1,3650	42,50
4	5,0945	1,027	0,821	1,3640	56,09
5	5,1318	1,027	0,857	1,3640	71,20
6	5,1326	1,027	0,858	1,3630	85,00
7	5,1433	1,027	0,869	1,3630	99,00
8	5,1373	1,027	0,863	1,3630	114,00
9	5,1350	1,027	0,860	1,3625	130,00
10	5,1250	1,027	0,851	1,3625	145,00
11	5,1099	1,027	0,836	1,3620	163,50
12	5,1050	1,027	0,831	1,3620	176,00

Fuente: elaboración propia.

Monitoreo de la densidad e índice de refracción durante el proceso extractivo de la especie CBA270R1

Ciclo	Masa (g)	Volumen (mL)	Densidad (ρ) (g/mL)	IR	Tiempo (min)
0	5,0750	1,027	0,808	1,3610	0,00
1	5,1077	1,027	0,840	1,3660	11,00
2	5,1062	1,027	0,839	1,3675	21,00
3	5,1025	1,027	0,835	1,3660	32,00
4	5,1083	1,027	0,841	1,3645	43,00
5	5,1078	1,027	0,840	1,3640	54,00
6	5,1025	1,027	0,835	1,3635	65,00
7	5,1012	1,027	0,834	1,3630	75,00
8	5,0924	1,027	0,825	1,3630	86,00
9	5,0987	1,027	0,831	1,3625	100,00
10	5,1005	1,027	0,833	1,3625	115,00
11	5,0950	1,027	0,828	1,3620	129,00
12	5,0900	1,027	0,823	1,3620	146,00

Fuente: elaboración propia.

Monitoreo de la densidad e índice de refracción durante el proceso extractivo de la especie CBA295R1

Ciclo	Masa (g)	Volumen (mL)	Densidad (ρ) (g/mL)	IR	Tiempo (min)
0	5,0650	1,027	0,792	1,3615	0,00
1	5,0818	1,027	0,811	1,3665	13,40
2	5,0684	1,027	0,798	1,3665	27,12
3	5,0730	1,027	0,802	1,3645	42,20
4	5,0696	1,027	0,799	1,3640	56,59
5	5,0694	1,027	0,799	1,3635	71,40
6	5,0708	1,027	0,800	1,3635	85,40
7	5,0682	1,027	0,798	1,3630	101,00
8	5,0674	1,027	0,797	1,3630	115,48
9	5,0684	1,027	0,798	1,3630	130,50
10	5,0690	1,027	0,798	1,3625	144,25
11	5,0650	1,027	0,794	1,3620	160,50
12	5,0640	1,027	0,793	1,3620	174,00

Fuente: elaboración propia.

Monitoreo de la densidad e índice de refracción durante el proceso extractivo de la especie CBA345R1

Ciclo	Masa (g)	Volumen (mL)	Densidad (ρ) (g/mL)	IR	Tiempo (min)
0	5,0950	1,027	0,822	1,3595	0,00
1	5,1002	1,027	0,827	1,3660	17,00
2	5,1255	1,027	0,851	1,3660	37,22
3	5,1392	1,027	0,865	1,3665	56,20
4	5,1125	1,027	0,839	1,3655	76,00
5	5,1389	1,027	0,864	1,3645	94,00
6	5,1325	1,027	0,858	1,3640	108,20
7	5,1415	1,027	0,867	1,3635	126,00
8	5,1371	1,027	0,863	1,3635	138,00
9	5,1360	1,027	0,861	1,3630	152,00
10	5,1110	1,027	0,837	1,3630	167,00
11	5,1050	1,027	0,831	1,3620	180,00
12	5,1025	1,027	0,829	1,3620	194,00

Fuente: elaboración propia.

Monitoreo de la densidad e índice de refracción durante el proceso extractivo de la especie CBA370R1

Ciclo	Masa (g)	Volumen (mL)	Densidad (ρ) (g/mL)	IR	Tiempo (min)
0	5,0750	1,027	0,808	1,3610	0,00
1	5,1030	1,027	0,836	1,3640	11,00
2	5,1042	1,027	0,837	1,3660	21,00
3	5,0974	1,027	0,830	1,3665	34,00
4	5,1001	1,027	0,833	1,3640	46,00
5	5,1000	1,027	0,833	1,3635	59,00
6	5,0999	1,027	0,833	1,3635	71,00
7	5,0983	1,027	0,831	1,3635	84,00
8	5,0942	1,027	0,827	1,3630	98,00
9	5,0910	1,027	0,824	1,3630	115,00
10	5,0904	1,027	0,823	1,3630	130,00
11	5,0870	1,027	0,820	1,3620	144,00
12	5,0825	1,027	0,816	1,3620	159,00

Fuente: elaboración propia.

Monitoreo de la densidad e índice de refracción durante el proceso extractivo de la especie CBA395R1

Ciclo	Masa (g)	Volumen (mL)	Densidad (ρ) (g/mL)	IR	Tiempo (min)
0	5,0650	1,027	0,792	1,3615	0,00
1	5,0709	1,027	0,801	1,3645	12,24
2	5,0787	1,027	0,809	1,3660	24,50
3	5,0725	1,027	0,803	1,3640	37,40
4	5,0740	1,027	0,804	1,3645	50,53
5	5,0690	1,027	0,798	1,3635	63,00
6	5,0700	1,027	0,793	1,3640	76,00
7	5,0713	1,027	0,802	1,3635	90,00
8	5,0717	1,027	0,802	1,3630	115,00
9	5,0725	1,027	0,803	1,3630	129,00
10	5,0790	1,027	0,809	1,3625	144,00
11	5,0740	1,027	0,804	1,3620	161,00
12	5,0720	1,027	0,802	1,3620	173,00

Fuente: elaboración propia.

Densidad e índice de refracción de los extractos etanólicos finales obtenidos del proceso extractivo

Código	Índice de Refracción (IR)	Densidad Extracto Etanólico (g/mL)
CBA145R1	1,3535	0,9710
CBA170R1	1,3645	0,9085
CBA195R1	1,3635	0,8187
CBA245R1	1,3550	0,9763
CBA270R1	1,3635	0,9172
CBA295R1	1,3635	0,8214
CBA345R1	1,3530	0,9722
CBA370R1	1,3645	0,8980
CBA395R1	1,3635	0,8195
CBA145R2	1,3535	0,9730
CBA170R2	1,3635	0,9111
CBA195R2	1,3640	0,8150
CBA245R2	1,3550	0,9693
CBA270R2	1,3645	0,9120
CBA295R2	1,3645	0,8202
CBA345R2	1,3545	0,9712
CBA370R2	1,3640	0,8997
CBA395R2	1,3640	0,8210
CBA145R3	1,3530	0,9677
CBA170R3	1,3635	0,9100
CBA195R3	1,3645	0,8106
CBA245R3	1,3555	0,9710
CBA270R3	1,3645	0,9154
CBA295R3	1,3635	0,8265
CBA345R3	1,3545	0,9724
CBA370R3	1,3650	0,9042
CBA395R3	1,3640	0,8223

Fuente: elaboración propia.

APÉNDICE C

- Cálculo de la densidad del extracto etanólico

Para determinar la densidad del extracto etanólico obtenido del proceso extractivo por medio de la técnica soxhlet se tomó la medición de la masa y volumen utilizando un picnómetro.

Se utilizó la siguiente ecuación:

$$\rho = \frac{Mt (g) - Mo(g)}{V (mL)} \quad \text{Ecuación 4}$$

Donde:

ρ = densidad del extracto etanólico (g/mL)

M_t = masa Total (masa picnómetro + masa extracto etanólico) (g)

M_o = masa inicial del picnómetro (g)

V = volumen del picnómetro (mL)

Ejemplo:

Datos obtenidos del proceso de extracción utilizando la técnica soxhlet para el tratamiento CBA145R1.

$$\rho = \frac{5.2432 (g) - 4.2460(g)}{1.027 (mL)} = \frac{0.9972}{1.027} = 0.9710 \text{ g/mL}$$

- Cálculo del porcentaje de rendimiento de oleorresina de chile blanco (*Capsicum annum A.*)

Para determinar el porcentaje de rendimiento de oleorresina se requiere la masa de materia prima utilizada en el proceso extractivo y la masa de oleorresina recuperada y se aplica la siguiente ecuación:

$$\% \text{ Rendimiento} = \frac{\text{masa de oleorresina recuperada}}{\text{masa inicial de muestra}} * 100 \quad \text{Ecuación 5}$$

Ejemplo:

Datos obtenidos del proceso de extracción utilizando la técnica soxhlet para el tratamiento CBA145R1.

Utilizando la ecuación 5:

$$\% \text{ Rendimiento} = \frac{5.323}{14.078} * 100 = 37.83\%$$

- Cálculo de las Unidades de calor Scoville (*SHU*) de la oleorresina de chile blanco (*Capsicum annum A.*)

Para determinar las unidades de calor Scoville en la oleorresina de chile blanco (*Capsicum annum A.*) se requiere la cantidad de capsaicina presente reportada en ppm a partir del análisis de cromatografía líquida de alta eficiencia (*HPLC*) y ese dato se multiplica por un factor de 16.

$$\text{Unidades de calor Scoville (SHU)} = \text{capsaicina (ppm)} * 16 \quad \text{Ecuación 6}$$

Ejemplo:

Datos obtenidos de la cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC) para el tratamiento CBA145.

Utilizando la ecuación 6:

$$\text{Unidades de calor Scoville (SHU)} = 4.47 \text{ (ppm)} * 16 = 71.52 \text{ SHU}$$

APÉNDICE D

Porcentaje de rendimiento de oleorresina de chile blanco (*Capsicum annum A.*)

Código	Peso inicial del balón (g)	Peso del balón + oleorresina (g)	Cantidad de chile blanco (g)	Porcentaje de rendimiento (%)
CBA145R1	73,745	79,068	14,078	37,83
CBA170R1	73,745	77,874	14,404	28,69
CBA195R1	73,745	76,783	14,460	21,01
CBA245R1	73,745	78,916	13,953	37,06
CBA270R1	73,745	77,465	13,093	28,44
CBA295R1	73,745	76,477	13,406	20,39
CBA345R1	73,745	78,512	14,052	33,90
CBA370R1	73,745	78,727	14,554	34,23
CBA395R1	73,745	77,105	13,548	24,80
CBA145R2	68,248	74,082	13,078	44,61
CBA170R2	68,248	72,390	13,586	30,49
CBA195R2	68,248	71,009	12,839	21,50
CBA245R2	68,248	73,116	12,045	40,41
CBA270R2	68,248	72,350	13,488	30,41
CBA295R2	68,248	70,749	12,743	19,63
CBA345R2	68,248	73,124	13,058	37,34
CBA370R2	68,248	71,811	12,702	28,05
CBA395R2	68,248	71,300	11,456	26,64
CBA145R3	68,248	73,504	13,948	37,68
CBA170R3	68,248	72,556	14,039	30,68
CBA195R3	68,248	70,900	13,754	19,15
CBA245R3	68,248	72,720	12,907	34,65
CBA270R3	73,745	77,646	11,963	32,33
CBA295R3	68,248	70,670	13,206	18,34
CBA345R3	68,248	72,443	10,844	38,69
CBA370R3	68,248	71,885	12,019	30,26
CBA395R3	68,248	71,152	12,341	23,53

Fuente: elaboración propia.

Unidades de calor Scoville (*SHU*) en función de la cantidad de capsaicina presente en la oleorresina de chile blanco (*Capsicum annum A.*)

Código	Promedio de capsaicina (ppm)	Unidades de calor Scoville (<i>SHU</i>)
CBA145	4,47	71
CBA170	4,05	65
CBA195	16,72	268
CBA245	9,59	153
CBA270	8,29	133
CBA295	10,79	173
CBA345	6,16	99
CBA370	5,12	82
CBA395*	20,99	336

Fuente: elaboración propia.

Temperaturas de saturación y constantes dieléctricas de soluciones alcohólicas según EVL binario alcohol etílico – agua a 640 mmHg

EtOH % (v/v)	Líquido		Vapor		T sat (°C)	constante dieléctrica (φ)	Δ constante dieléctrica (φ)
	Xi EtOH	Xi H2O	yi EtOH	yi H2O			
95	0,865	0,135	0,865	0,135	73	31,577	
70	0,423	0,577	0,622	0,378	76	44,694	13,117
45	0,204	0,796	0,532	0,468	78	49,547	4,853

Fuente: elaboración propia.

APÉNDICE E

Comprobación de resultados por medio de dos métodos de comparación de parejas de medias para el porcentaje de rendimiento de oleorresina

- Método *LSD* (diferencia mínima significativa)

$$LSD = t_{\frac{\alpha}{2}, (k-1)(n-1)} \sqrt{\frac{2CM_E}{n}}$$

Buscando el valor de $t_{0,025;18} = \text{DISTR.T.INV}(0,05;18) = 2,10$ o en tablas.

$$LSD = 2,10 \sqrt{\frac{2 * 5,55}{3}} = 4,04$$

Son 3 tratamientos, así que el número de pares de medias que se deben comparar son:

$$\frac{k(k-1)}{2} = \frac{3 * (3-1)}{2} = 3$$

¿Cuáles tratamientos son diferentes?

Hipótesis generales: $H_o : \mu_i = \mu_j$
 $H_A : \mu_i \neq \mu_j$

$$H_o : \mu_{45} = \mu_{70} \text{ vs } H_A : \mu_{45} \neq \mu_{70}$$

$$H_o : \mu_{45} = \mu_{95} \text{ vs } H_A : \mu_{45} \neq \mu_{95}$$

$$H_o : \mu_{70} = \mu_{95} \text{ vs } H_A : \mu_{70} \neq \mu_{95}$$

Se rechaza la hipótesis H_0 si ocurre que:

$$|\bar{Y}_i - \bar{Y}_j| > LSD$$

Diferencia de medias del porcentaje de rendimiento de oleorresina de chile blanco (*Capsicum annuum* A.) en función de la concentración de la solución alcohol etílico - agua por método *LSD*

Par de tratamientos	Diferencia entre medias en valor absoluto
45-70	$ 38,02 - 30,40 = 7,62$
45-95	$ 38,02 - 21,67 = 16,35$
70-95	$ 30,40 - 21,67 = 8,73$

Fuente: elaboración propia.

Se declaran significativas (se rechaza H_0) aquellas diferencias que son mayores a *LSD*:

Comparación de medias del porcentaje de rendimiento de oleorresina de chile blanco (*Capsicum annuum* A.) en función de la concentración de la solución alcohol etílico – agua por método *LSD*

Diferencia poblacional	Comparación	Decisión
$\mu_{45} - \mu_{70}$	$7,62 > 4,04$	significativa
$\mu_{45} - \mu_{95}$	$16,35 > 4,04$	significativa
$\mu_{70} - \mu_{95}$	$8,73 > 4,04$	significativa

Fuente: elaboración propia.

¿Cuáles bloques son diferentes?

$$H_o: \gamma_{100 \text{ msnm}} = \gamma_{60 \text{ msnm}} \text{ vs } H_A: \gamma_{100 \text{ msnm}} \neq \gamma_{60 \text{ msnm}}$$

$$H_o: \gamma_{100 \text{ msnm}} = \gamma_{18 \text{ msnm}} \text{ vs } H_A: \gamma_{100 \text{ msnm}} \neq \gamma_{18 \text{ msnm}}$$

$$H_o: \gamma_{60 \text{ msnm}} = \gamma_{18 \text{ msnm}} \text{ vs } H_A: \gamma_{60 \text{ msnm}} \neq \gamma_{18 \text{ msnm}}$$

Diferencia de medias del porcentaje de rendimiento de oleorresina de chile blanco (*Capsicum annum A.*) en función del estrato altitudinal de procedencia por método *LSD*

Par de bloques	Diferencia entre medias en valor absoluto
(100-60) msnm	1,11
(100-18) msnm	0,64
(60-18) msnm	1,75

Fuente: elaboración propia.

Se declaran significativas (se rechaza H_o) aquellas diferencias que son mayores a *LSD*:

Comparación de medias del porcentaje de rendimiento de oleorresina de chile blanco (*Capsicum annum A.*) en función del estrato altitudinal de procedencia por método *LSD*

Diferencia poblacional	Comparación	Decisión
$\gamma_{100 \text{ msnm}} - \gamma_{60 \text{ msnm}}$	$1,11 < 4,04$	no significativa
$\gamma_{100 \text{ msnm}} - \gamma_{18 \text{ msnm}}$	$0,64 < 4,04$	no significativa
$\gamma_{60 \text{ msnm}} - \gamma_{18 \text{ msnm}}$	$1,75 < 4,04$	no significativa

Fuente: elaboración propia.

- Método de *Tukey*

$$T_{\alpha} = q_{\alpha}(k, (k - 1)(b - 1))S_{\bar{y}_i}$$

Buscando en la tabla de puntos porcentuales del estadístico rango estudentizado (5%) el valor de q_{α} se obtiene:

$$q_{\alpha}(3, 18) = 3,61$$

$$S_{\bar{y}_i} = \sqrt{\frac{CM_E}{n}} = \sqrt{\frac{5,55}{3}} = 1,36$$

$$T_{\alpha} = 3,61 * 1,36 = 4,91$$

Se declaran significativamente diferentes los pares de medias cuya diferencia muestral en valor absoluto sea mayor que T_{α} , a continuación se hace la comparación:

Diferencia de medias del porcentaje de rendimiento de oleorresina de chile blanco (*Capsicum annuum* A.) en función de la concentración de la solución alcohol etílico - agua por método de *Tukey*

Par de tratamientos	Diferencia entre medias en valor absoluto
45-70	$ 38,02 - 30,40 = 7,62$
45-95	$ 38,02 - 21,67 = 16,35$
70-95	$ 30,40 - 21,67 = 8,73$

Fuente: elaboración propia.

Comparación de medias del porcentaje de rendimiento de oleorresina de chile blanco (*Capsicum annuum* A.) en función de la concentración de la solución alcohol etílico - agua por método de *Tukey*

Diferencia poblacional	Comparación	Decisión
$\mu_{45} - \mu_{70}$	$7,62 > 4,91$	significativamente diferentes
$\mu_{45} - \mu_{95}$	$16,35 > 4,91$	significativamente diferentes
$\mu_{70} - \mu_{95}$	$8,73 > 4,91$	significativamente diferentes

Fuente: elaboración propia.

Diferencia de medias del porcentaje de rendimiento de oleorresina de chile blanco (*Capsicum annuum* A.) en función del estrato altitudinal de procedencia por método de *Tukey*

Par de bloques	Diferencia entre medias en valor absoluto
(100-60) msnm	1,11
(100-18) msnm	0,64
(60-18) msnm	1,75

Fuente: elaboración propia.

Comparación de medias del porcentaje de rendimiento de oleoresina de chile blanco (*Capsicum annuum* A.) en función del estrato altitudinal de procedencia por método de *Tukey*

Diferencia poblacional	Comparación	Decisión
$\gamma_{100\ msnm} - \gamma_{60\ msnm}$	1,11 < 4,91	no significativa
$\gamma_{100\ msnm} - \gamma_{18\ msnm}$	0,64 < 4,91	no significativa
$\gamma_{60\ msnm} - \gamma_{18\ msnm}$	1,75 < 4,91	no significativa

Fuente: elaboración propia.

APÉNDICE F

Comprobación de resultados por medio de dos métodos de comparación de parejas de medias para la cantidad de capsaicina presente en la oleorresina de chile blanco

- Método *LSD* (diferencia mínima significativa)

$$LSD = t_{\frac{\alpha}{2}, (k-1)(n-1)} \sqrt{\frac{2CM_E}{n}}$$

Buscando el valor de $t_{0,025;18} = \text{DISTR.T.INV}(0,05;9) = 2.26$ o en tablas.

$$LSD = 2.26 \sqrt{\frac{2 * 0,09}{2}} = 0,66$$

Son 3 tratamientos, así que el número de pares de medias que se deben comparar son:

$$\frac{k(k-1)}{2} = \frac{3 * (3-1)}{2} = 3$$

¿Cuáles tratamientos son diferentes?

Hipótesis generales: $H_o : \mu_i = \mu_j$
 $H_A : \mu_i \neq \mu_j$

$$H_o : \mu_{45} = \mu_{70} \text{ vs } H_A : \mu_{45} \neq \mu_{70}$$

$$H_o : \mu_{45} = \mu_{95} \text{ vs } H_A : \mu_{45} \neq \mu_{95}$$

$$H_o : \mu_{70} = \mu_{95} \text{ vs } H_A : \mu_{70} \neq \mu_{95}$$

Se rechaza la hipótesis H_0 si ocurre que:

$$|\bar{Y}_i - \bar{Y}_j| > LSD$$

Calculando la diferencia de medias para cada par de tratamientos se obtiene:

Diferencia de medias de la cantidad de capsaicina presente en la oleorresina de chile blanco (*Capsicum annum A.*) en función de la concentración de la solución alcohol etílico - agua por método *LSD*

Par de tratamientos	Diferencia entre medias en valor absoluto
45-70	0,92
45-95	9,43
70-95	10,35

Fuente: elaboración propia.

Se declaran significativas (se rechaza H_0) aquellas diferencias que son mayores a *LSD*:

Comparación de medias de la cantidad de capsaicina presente en la oleorresina de chile blanco (*Capsicum annum A.*) en función de la concentración de la solución alcohol etílico - agua por método *LSD*

Diferencia poblacional	Comparación	Decisión
$\mu_{45} - \mu_{70}$	0,92 > 0,66	significativa
$\mu_{45} - \mu_{95}$	9,43 > 0,66	significativa
$\mu_{70} - \mu_{95}$	10,35 > 0,66	significativa

Fuente: elaboración propia.

¿Cuáles bloques son diferentes?

$$H_o: \gamma_{100 \text{ msnm}} = \gamma_{60 \text{ msnm}} \text{ vs } H_A: \gamma_{100 \text{ msnm}} \neq \gamma_{60 \text{ msnm}}$$

$$H_o: \gamma_{100 \text{ msnm}} = \gamma_{18 \text{ msnm}} \text{ vs } H_A: \gamma_{100 \text{ msnm}} \neq \gamma_{18 \text{ msnm}}$$

$$H_o: \gamma_{60 \text{ msnm}} = \gamma_{18 \text{ msnm}} \text{ vs } H_A: \gamma_{60 \text{ msnm}} \neq \gamma_{18 \text{ msnm}}$$

Diferencia de medias de la cantidad de capsaicina presente en la oleorresina de chile blanco (*Capsicum annuum* A.) en función del estrato altitudinal de procedencia por método *LSD*

Par de bloques	Diferencia entre medias en valor absoluto
(100-60) msnm	1,14
(100-18) msnm	2,34
(60-18) msnm	1,20

Fuente: elaboración propia.

Se declaran significativas (se rechaza H_o) aquellas diferencias que son mayores a *LSD*:

Comparación de medias de la cantidad de capsaicina presente en la oleorresina de chile blanco (*Capsicum annuum* A.) en función del estrato altitudinal de procedencia por método *LSD*

Diferencia poblacional	Comparación	Decisión
$\gamma_{100 \text{ msnm}} - \gamma_{60 \text{ msnm}}$	1,14 > 0,66	significativa
$\gamma_{100 \text{ msnm}} - \gamma_{18 \text{ msnm}}$	2,34 > 0,66	significativa
$\gamma_{60 \text{ msnm}} - \gamma_{18 \text{ msnm}}$	1,20 > 0,66	significativa

Fuente: elaboración propia.

- Método de *Tukey*

$$T_{\alpha} = q_{\alpha}(k, (k - 1)(b - 1))S_{\bar{y}_i}$$

Buscando en la tabla de puntos porcentuales del estadístico rango estudentizado (5%) el valor de q_{α} se obtiene:

$$q_{\alpha}(3,9) = 3,95$$

$$S_{\bar{y}_i} = \sqrt{\frac{CM_E}{n}} = \sqrt{\frac{0,09}{3}} = 0,03$$

$$T_{\alpha} = 3,95 * 0,03 = 0,12$$

Se declaran significativamente diferentes los pares de medias cuya diferencia muestral en valor absoluto sea mayor que T_{α} , a continuación se hace la comparación:

Diferencia de medias de la cantidad de capsaicina presente en la oleorresina de chile blanco (*Capsicum annum* A.) en función de la concentración de la solución alcohol étílico - agua por método *Tukey*

Par de tratamientos	Diferencia entre medias en valor absoluto
45-70	0,92
45-95	9,43
70-95	10,35

Fuente: elaboración propia.

Comparación de medias de la cantidad de capsaicina presente en la oleorresina de chile blanco (*Capsicum annuum* A.) en función de la concentración de la solución alcohol etílico - agua por método *Tukey*

Diferencia poblacional	Comparación	Decisión
$\mu_{45} - \mu_{70}$	$0,92 > 0,12$	significativa
$\mu_{45} - \mu_{95}$	$9,43 > 0,12$	significativa
$\mu_{70} - \mu_{95}$	$10,35 > 0,12$	significativa

Fuente: elaboración propia.

Diferencia de medias de la cantidad de capsaicina presente en la oleorresina de chile blanco (*Capsicum annuum* A.) en función del estrato altitudinal de procedencia por método *Tukey*

Par de bloques	Diferencia entre medias en valor absoluto
(100-60) msnm	1,14
(100-18) msnm	2,34
(60-18) msnm	1,20

Fuente: elaboración propia.

Comparación de medias de la cantidad de capsaicina presente en la oleorresina de chile blanco (*Capsicum annuum* A.) en función del estrato altitudinal de procedencia por método *LSD*

Diferencia poblacional	Comparación	Decisión
$\gamma_{100\ msnm} - \gamma_{60\ msnm}$	1,14 > 0,12	significativa
$\gamma_{100\ msnm} - \gamma_{18\ msnm}$	2,34 > 0,12	significativa
$\gamma_{60\ msnm} - \gamma_{18\ msnm}$	1,20 > 0,12	significativa

Fuente: elaboración propia.

APÉNDICE G

Primera fila izquierda: fruto de chile blanco (*Capsicum annuum* A.). Derecha: plantación chile blanco en Santa Catalina La tinta. Segunda fila izquierda: corte del fruto húmedo previo al secado. Derecha: secador eléctrico de flujo transversal.



Fuente: elaboración propia.

Primera fila izquierda: balanza de humedad. Derecha: molido de discos escala laboratorio. Segunda fila izquierda: torre de tamizaje. Derecha: separación y almacenaje posterior al tamizado.



Fuente: elaboración propia.

Primera fila izquierda: proceso extractivo de la oleoresina. Derecha: monitoreo del índice de refracción en el proceso extractivo. Segunda fila izquierda: medición densidad en el proceso extractivo. Derecha: cámara de extracción durante proceso extractivo.



Fuente: elaboración propia.

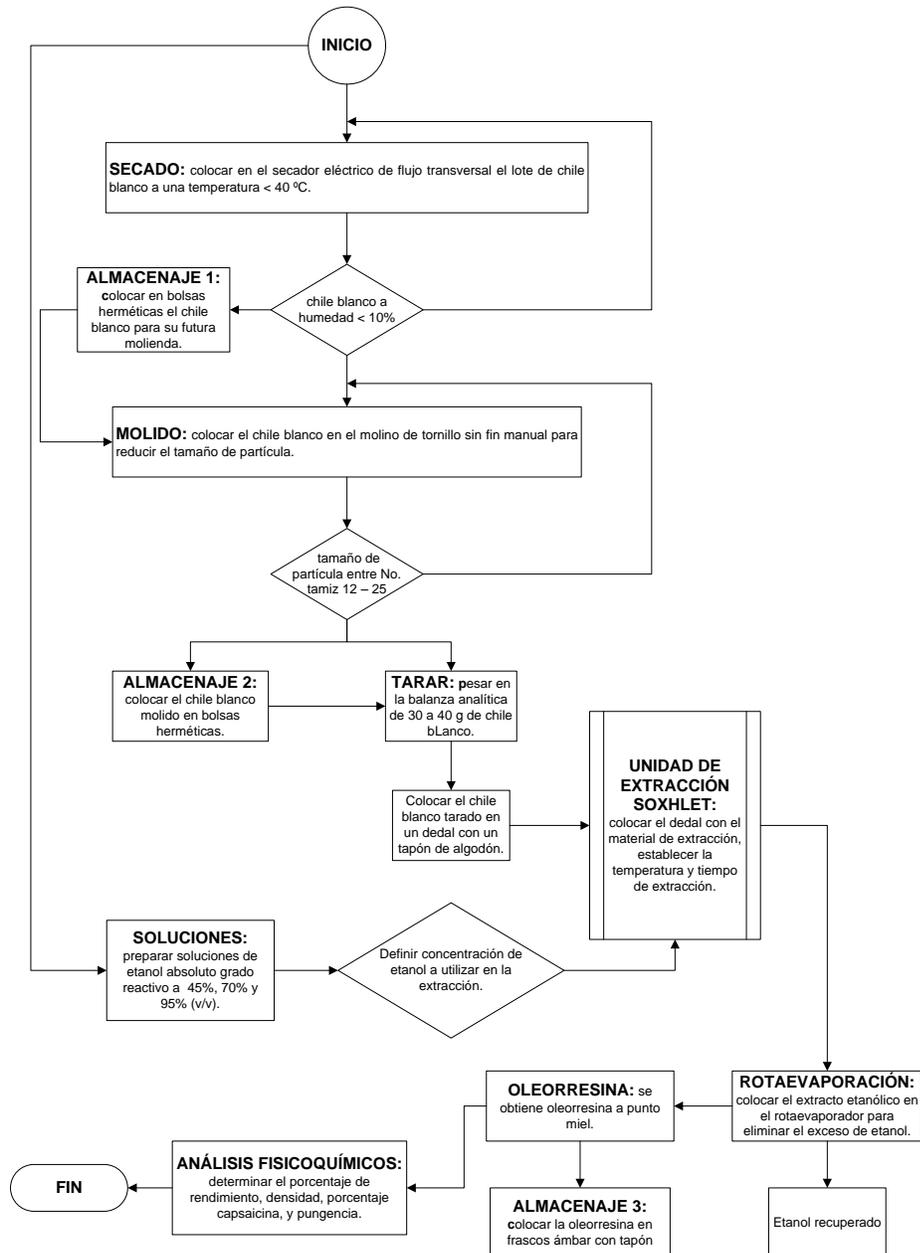
Primera fila izquierda: extracto etanólico obtenido. Derecha: rotaevaporación del extracto etanólico. Segunda fila izquierda: oleorresina de chile blanco a punto miel. Derecha: oleorresina de chile blanco obtenida de pruebas preliminares.



Fuente: elaboración propia.

APÉNDICE H

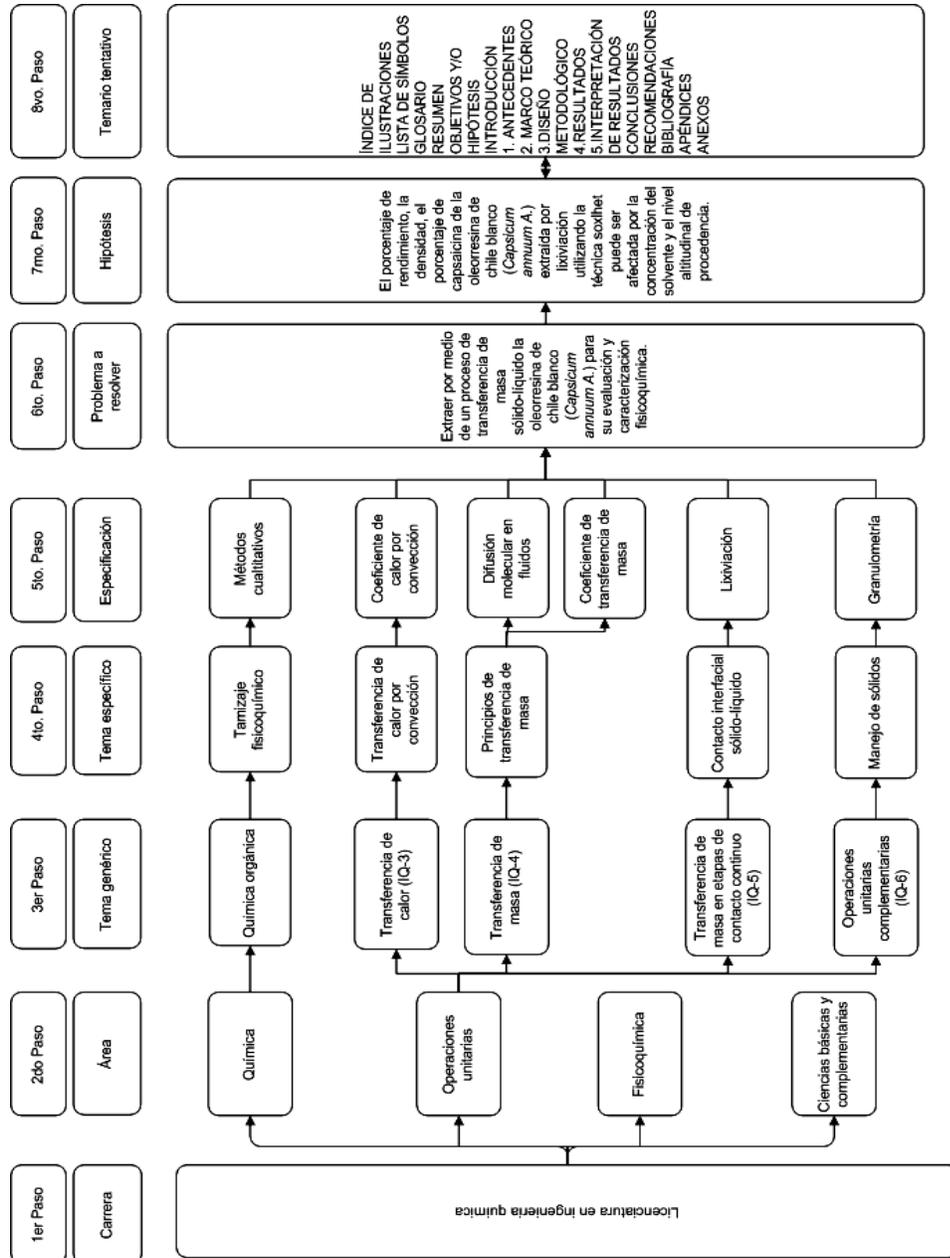
Procedimiento para la recolección de información, instrumentos a utilizar y métodos para el control de calidad de los datos



Fuente: elaboración propia.

APÉNDICE 1

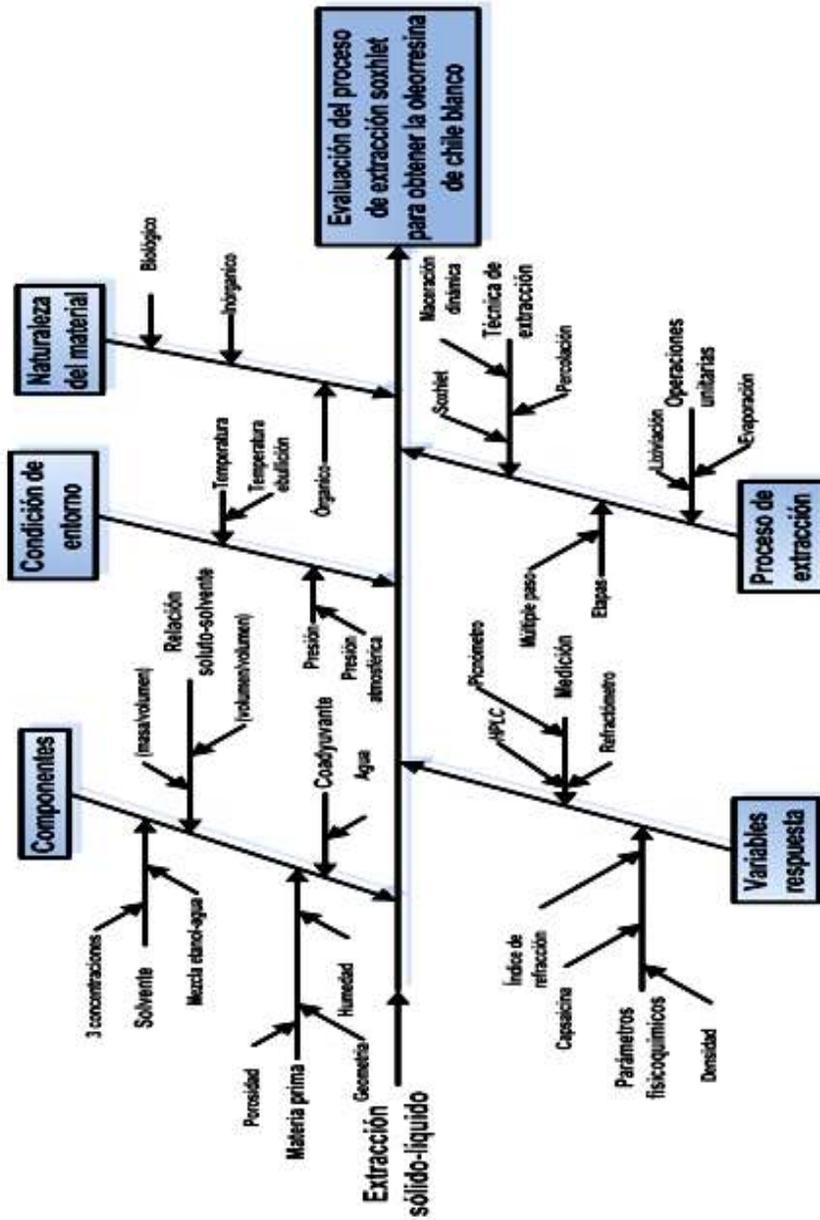
Diagrama de requisitos académicos



Fuente: elaboración propia.

APÉNDICE 2

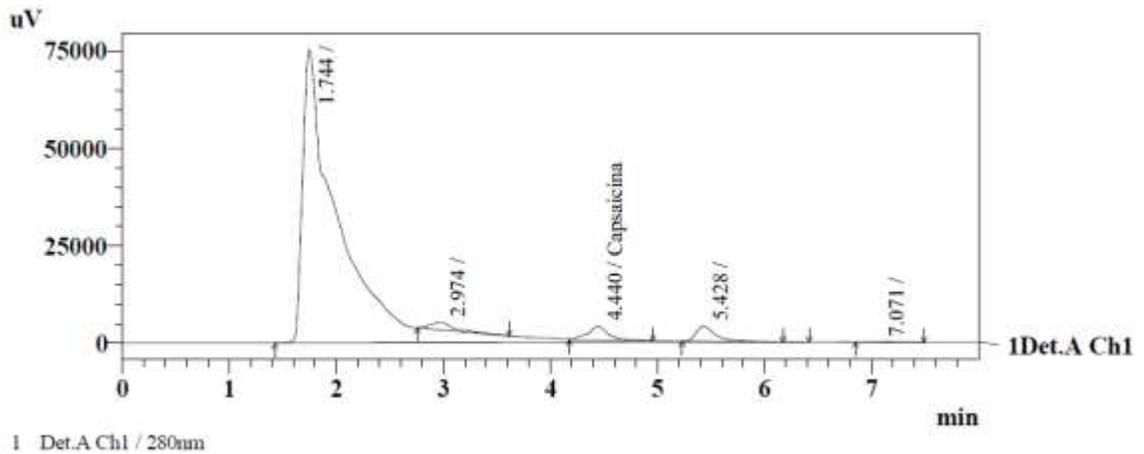
Diagrama de Ishikawa o árbol de problemas



Fuente: elaboración propia.

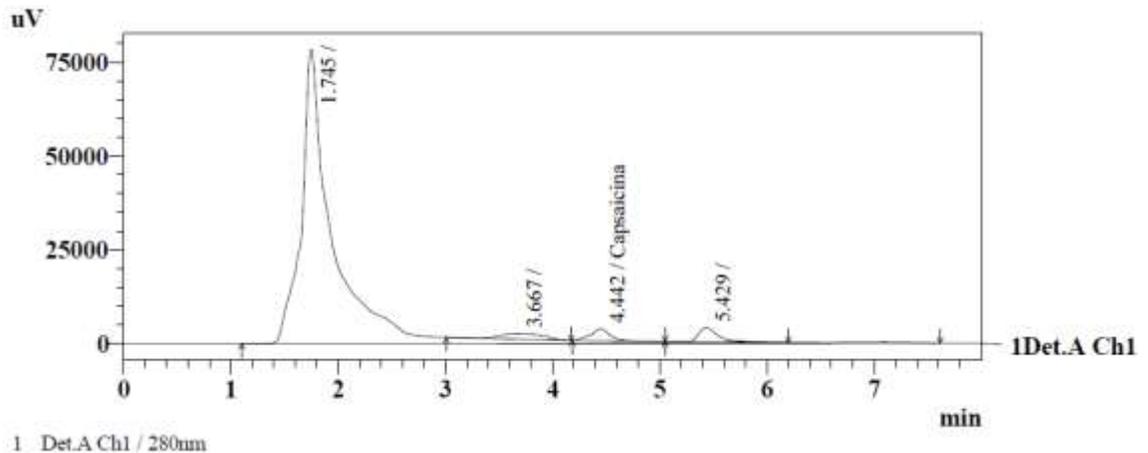
ANEXOS

Cromatograma de la cuantificación de capsaicina por *HPLC* para la oleorresina de chile blanco (*Capsicum annuum* A.) de la muestra CBA145R1



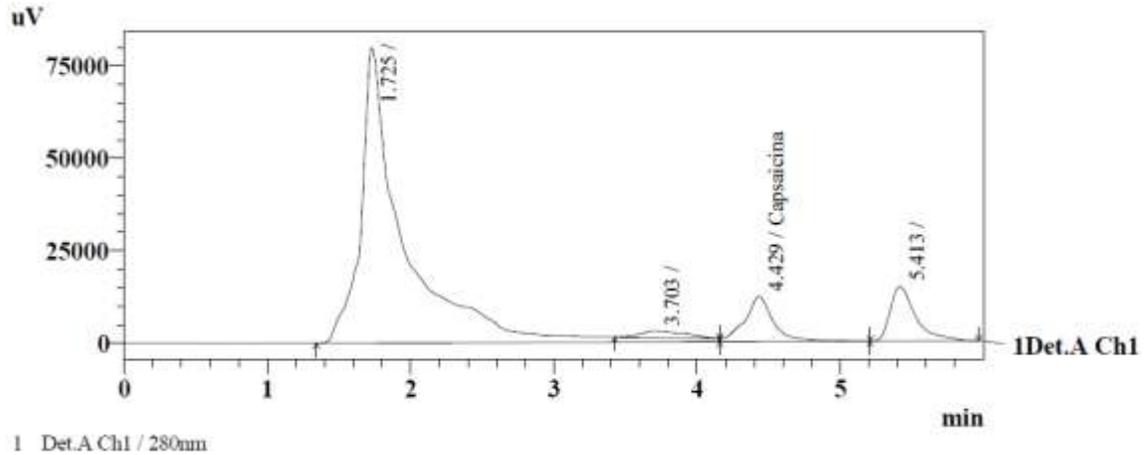
Fuente: Unidad de análisis instrumental, Usac, cromatógrafo líquido de alta eficiencia.

Cromatograma de la cuantificación de capsaicina por *HPLC* para la oleorresina de chile blanco (*Capsicum annuum* A.) de la muestra CBA170R1



Fuente: Unidad de análisis instrumental, Usac, cromatógrafo líquido de alta eficiencia.

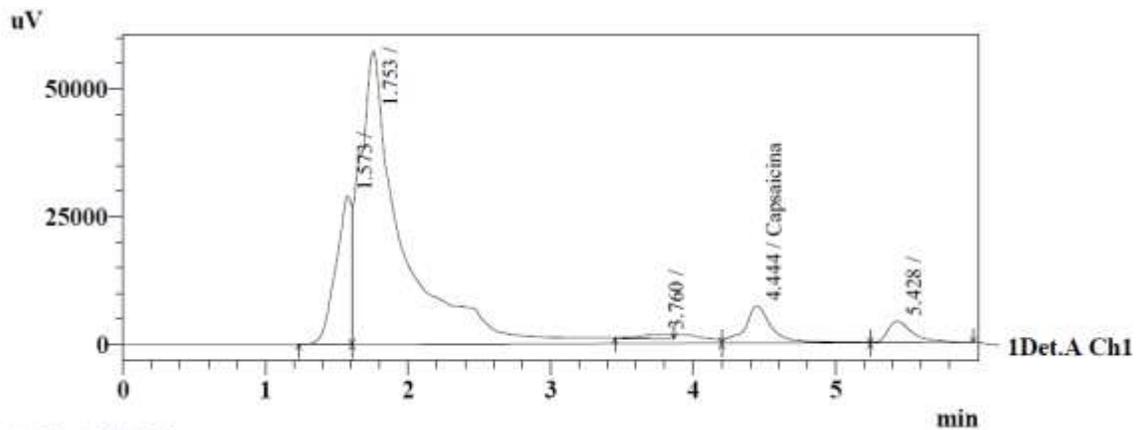
Cromatograma de la cuantificación de capsaicina por HPLC para la oleoresina de chile blanco (*Capsicum annuum* A.) de la muestra CBA195R1



1 Det.A Ch1 / 280nm

Fuente: Unidad de análisis instrumental, Usac, cromatógrafo líquido de alta eficiencia.

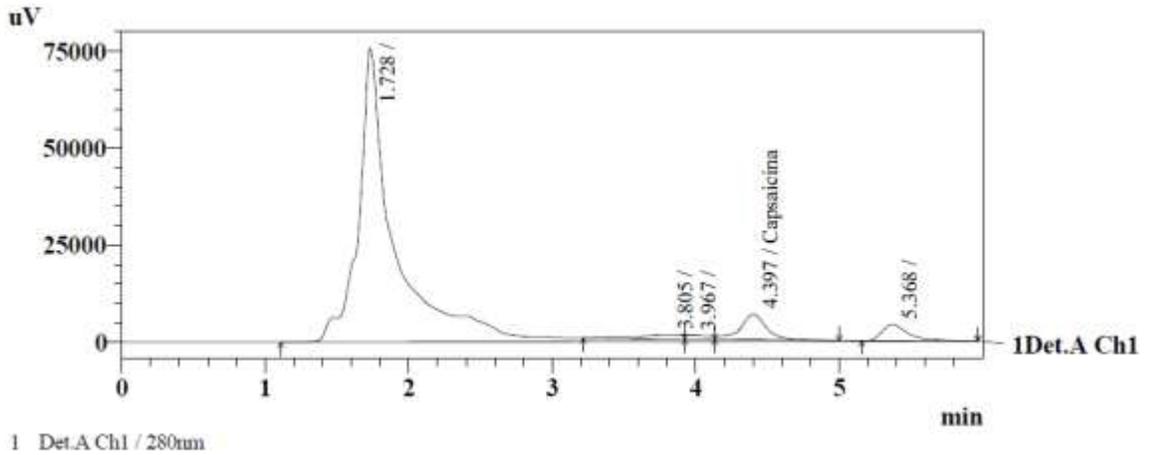
Cromatograma de la cuantificación de capsaicina por HPLC para la oleoresina de chile blanco (*Capsicum annuum* A.) de la muestra CBA245R1



1 Det.A Ch1 / 280nm

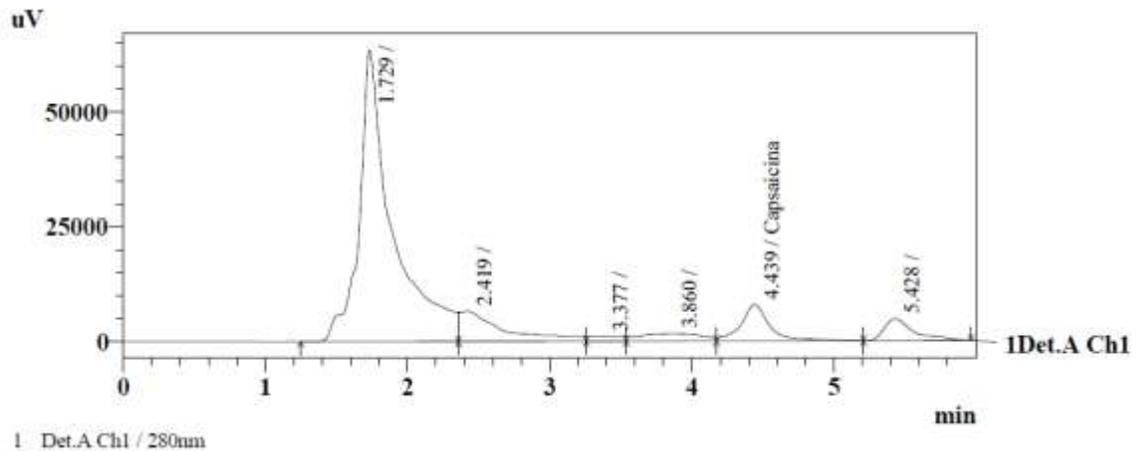
Fuente: Unidad de análisis instrumental, Usac, cromatógrafo líquido de alta eficiencia.

Cromatograma de la cuantificación de capsaicina por HPLC para la oleorresina de chile blanco (*Capsicum annuum* A.) de la muestra CBA270R1



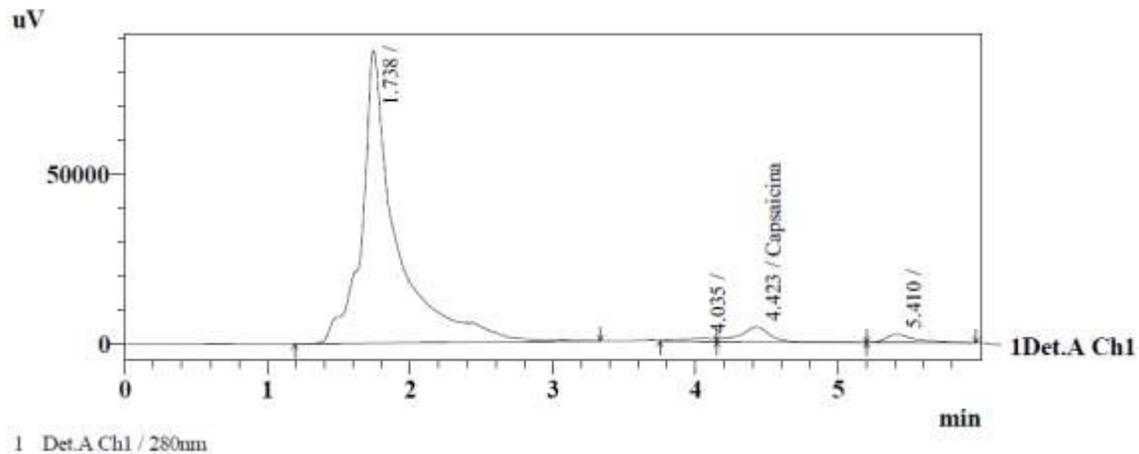
Fuente: Unidad de análisis instrumental, Usac, cromatógrafo líquido de alta eficiencia.

Cromatograma de la cuantificación de capsaicina por HPLC para la oleorresina de chile blanco (*Capsicum annuum* A.) de la muestra CBA295R1



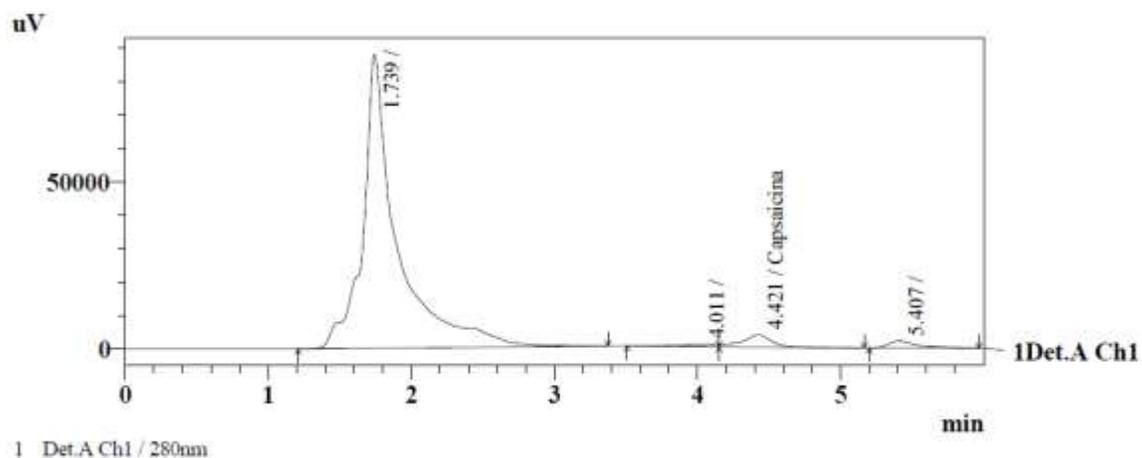
Fuente: Unidad de análisis instrumental, Usac, cromatógrafo líquido de alta eficiencia.

Cromatograma de la cuantificación de capsaicina por HPLC para la oleoresina de chile blanco (*Capsicum annuum* A.) de la muestra CBA345R1



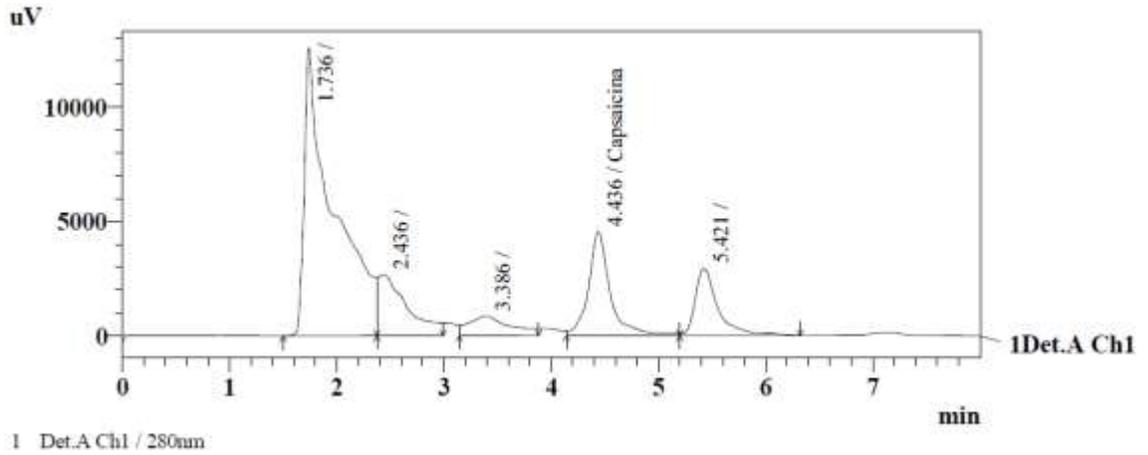
Fuente: Unidad de análisis instrumental, Usac, cromatógrafo líquido de alta eficiencia.

Cromatograma de la cuantificación de capsaicina por HPLC para la oleoresina de chile blanco (*Capsicum annuum* A.) de la muestra CBA370R1



Fuente: Unidad de análisis instrumental, Usac, cromatógrafo líquido de alta eficiencia.

Cromatograma de la cuantificación de capsaicina por *HPLC* para la oleoresina de chile blanco (*Capsicum annuum* A.) de la muestra CBA395R1



Fuente: Unidad de análisis instrumental, Usac, cromatógrafo líquido de alta eficiencia.