

**Región Norte
Cadena de Chile Cahabonero**

“OBTENCIÓN DE CAPSAICINA Y DEHIDROCAPSAICINA DEL CHILE CAHABONERO (*Capsicum annum var ceraciforme*) COMO ALTERNATIVA DE TRANSFORMACIÓN PARA LOS PRODUCTORES DE SANTA MARÍA CAHABÓN, ALTA VERAPAZ.

Investigador Principal: Ing. Hermes E. Bol Kloth.

Auxiliar: Mario Bartolomin.

Cobán, Alta Verapaz. Noviembre de 2018.



CRIA

Programa Consorcios Regionales de Investigación Agropecuaria



“Este proyecto fue ejecutado gracias al apoyo financiero del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA, por sus siglas en inglés). El contenido de ésta publicación es responsabilidad de su(s) autor(es) y de la institución(es) a las que pertenecen. La mención de empresas o productos comerciales no implica la aprobación o preferencia sobre otros de naturaleza similar que no se mencionan”.

Lista de Acrónimos

CRIA	Consortios Regionales de Investigación Agropecuaria
ICTA	Instituto de Ciencia y Tecnología Agrícola
IICA	Instituto Interamericano de Cooperación Agrícola
IQB	Instituto de Investigaciones Químicas, Bioquímicas y Biomédicas
ITMES	Instituto Tecnológico Maya de Estudios Superiores
MAGA	Ministerio de Agricultura, Ganadería y Alimentación
SHU	Unidades de Calor Scoville
UMG	Universidad Mariano Galvez
USAC	Universidad de San Carlos de Guatemala
USDA	Departamento de Agricultura de los Estados Unidos
HPLC	Cromatografía Líquida de Alta Eficiencia
TLC	Cromatografía en Capa Fina

ABSTRAC

In this research, the effectiveness of four organic solvents were compared to recover Capsaicin and Dehydrocapsaicin from the extraction of oleoresins from Chile Cahabonero¹ (*Capsicum annum* var. *Ceraciforme*) by continuous extraction method Soxhlet and Dynamic Maceration.

Chile Cahabonero was harvested, conditioned and it was extracted using four extractive systems which were selected based on its polarity index analysis to enhance the recovery of capsaicinoids by performing three repetitions for each one: Ethyl-Ethanol Acetate Water (82.2: 9.7: 8) and Ethyl-Ethanol Acetate (93.9: 6.1) for the continuous extraction technique Soxhlet. In Dynamic Maceration Ethyl Acetate: Acetonitrile (50:50) and Acetonitrile (100%) were used.

The oleoresins obtained were concentrated to separate and purified solutes to calculate the extractive yield and subsequently to quantify the concentration of Capsaicin and Dehydrocapsaicin in HPLC (High Efficiency Liquid Chromatography). It was statistically determined that there is no significant difference about the yield of oleoresins and for the concentration of capsaicinoids (Capsaicin and Dehydrocapsaicin) presented in the extracts obtained using the four extractive systems. However, the results could vary in favor of Acetonitrile in Dynamic Maceration because the first oleoresin sample of the three extractions performed (repetitions) presented problems during the rotoevaporation and a considerable amount of oleoresin was lost. Therefore, the RD1 sample contained a small amount of oleoresin and its detection was not possible at the time of its HPLC analysis.

It was found that 100% Acetonitrile in Dynamic Maceration presented the experimental unit with the highest pungency value which is 1377600 SHU compared to 219200 SHU (Scoville Units) of the experimental unit with less pungency for the Soxhlet method using Acetate. Ethyl-Ethanol-Water (82.2: 9.7: 8) this is the reason why this study reveals that oleoresins can be obtained from Chile Cahabonero with a highly significant level of pungency and there is not previous information of the theoretical values to compare the acceptability of the concentration of capsaicinoids in Chile Cahabonero. It has a better quality compared with commercialized capsaicin extracts in the free market of Mexico with pungency levels of up to 1000000 SHU.

It is concluded that in an extraction of solvents of Chile Cahabonero, similar yields of Capsaicinoides are obtained using the four extractive systems. However, the Dynamic Maceration method would favor the application on an industrial scale as an alternative for the production of oleoresin from Cahabonero Chile to stimulate the demand, potentiate production, take advantage of the transfer of the current agricultural technology of Chile Cahabonero-CRIA and improve the quality of the production increasing and generating greater possibilities of the profits of the producers.

¹ Chili from Cahabon area.

1. RESUMEN

En el presente estudio se compararon 4 solventes orgánicos y su efectividad para la recuperación de Capsaicina y Dehidrocapsaicina a partir de la extracción de oleorresinas de Chile Cahabonero (*Capsicum annumm var ceraciforme*) mediante el método de extracción continua Soxhlet y Maceración Dinámica.

Se recolectó el Chile Cahabonero y una vez acondicionado se sometió a extracción utilizando 4 sistemas extractivos los cuales fueron seleccionados en base a un análisis de su índice de polaridad para potenciar la recuperación de capsaicinoides, realizando 3 repeticiones para cada uno: Acetato de Etilo-Etanol-Agua (82.2:9.7:8) y Acetato de Etilo-Etanol (93.9:6.1) para la técnica de extracción continua Soxhlet. Y para Maceración Dinámica se utilizaron el Acetato de Etilo: Acetonitrilo (50:50) y Acetonitrilo (100%).

Las oleorresinas obtenidas fueron concentradas para la separación y purificación de los solutos para luego calcular el rendimiento extractivo y posteriormente cuantificar la concentración de Capsaicina y Dehidrocapsaicina en HPLC (Cromatografía Líquida de Alta Eficiencia). Se determinó estadísticamente que no existe diferencia significativa tanto para el rendimiento de oleorresinas como para la concentración de capsaicinoides (Capsaicina y Dehidrocapsaicina) presentes en los extractos obtenidos utilizando los 4 sistemas extractivos. Sin embargo, los resultados pudieron variar a favor del Acetonitrilo en Maceración Dinámica debido a que la primera muestra de oleorresina de las tres extracciones realizadas (repeticiones) presentó problemas durante la rotoevaporación y se perdió una considerable cantidad de oleorresina. Por ello la muestra RD1 contenía poca cantidad de oleorresina y no fue posible su detección al momento de su análisis en HPLC.

Se encontró que el Acetonitrilo 100% en Maceración Dinámica presentó la unidad experimental con el mayor valor de pungencia siendo ésta de 1377600 SHU en comparación a los 219200 SHU (Unidades Scoville) de la unidad experimental con menor pungencia para el método de Soxhlet utilizando Acetato de Etilo-Etanol-Agua (82.2:9.7:8) motivo por el cual este estudio revela que se puede obtener oleorresinas del Chile Cahabonero con un nivel de pungencia altamente significativo y debido a que no existe información previa de los valores teóricos para comparar la aceptabilidad de la concentración de capsaicinoides en el Chile Cahabonero se concluye su calidad comparándolo con los concentrados de capsaicina comercializados en el mercado libre de México con niveles de pungencia de hasta 1000000 SHU.

Se concluye que en una extracción con disolventes sobre Chile Cahabonero, se obtienen rendimientos similares de Capsaicinoides empleando los 4 sistemas extractivos, sin embargo el método de Maceración Dinámica favorecería la aplicación a escala industrial como alternativa para la producción de oleorresina de Chile Cahabonero para estimular la demanda, potencializar la producción, aprovechar la transferencia de la tecnología agrícola actual del CRIA-Chile Cahabonero y mejorar la calidad de la producción aumentando y generando mayores posibilidades de incrementar las utilidades de los productores.

2. INTRODUCCIÓN

Dado el volumen de producción, usos, aplicaciones farmacéuticas y agroindustriales de las distintas variedades de Capsicum, en la actualidad los chiles tienen una relevante importancia a nivel mundial. Por su contenido de productos fitoquímicos, estos vegetales tienen el potencial de aportar considerables contenidos de capsaicinoides. Las oleorresinas del Capsicum son utilizadas como ingrediente activo en la industria alimentaria, en conglomerados tales como: refrescos y bebidas gasificadas, aderezos, salsas, dulces y confiterías, aromas, sabores esencias naturales y condimentos artificiales.

Actualmente se estudian los beneficios que ofrece el género Capsicum en la industria de alimentos y farmacológica. Estudiar las especies cultivadas en Guatemala, podría impulsar nuevas alternativas para diversificación y mejoramiento de la agricultura; promoviendo así la agroindustria a nivel nacional. Por tal razón los estudios acerca del contenido de capsaicinoides son de vital importancia para las regiones productoras de Guatemala.

El chile Cahabonero cuya producción es primordial para la economía en la región de Alta Verapaz, específicamente de los municipios de Santa María Cahabon y Lanquín, abre un amplio panorama para la investigación de sus compuestos fitoquímicos y su utilización en los distintos sectores agroindustriales. La carencia de investigaciones de este Capsicum y sus compuestos, retrasa la posibilidad de llevar esta materia prima tan abundante en la región; a procesos de aprovechamiento más complejos y tecnificados que promuevan el desarrollo de toda la cadena de valor.

3. MARCO TEÓRICO

3.1 Antecedentes

3.1.1 Estudios de variedades de Capsicum.

Dado el volumen de producción, usos, aplicaciones farmacéuticas y agroindustriales de las distintas variedades de Capsicum, en la actualidad los chiles tienen una relevante importancia mundial.

Los estudios acerca de estos productos son de vital importancia especialmente para las regiones productoras en Guatemala, tanto por los niveles de producción y sus variedades que forman parte de la cultura de sus pueblos así como de su economía, tal es el caso del Chile Cobanero o Cahabonero como se conoce tradicionalmente, la cual es producida principalmente en los municipios de Lanquín, Senaú y Santa María Cahabón.

En el documento Le Ik, desarrollado por el Señor Helmer Dagoberto Ayala Vargas de la Facultad de Agronomía de la Universidad de San Carlos de Guatemala, se describe que el chile es una de las hortícolas de mayor importancia para la cultura del país evidenciado desde la época colonial, y que en su proceso de domesticación se han generado variedades de formas, sabores y aromas. Estos se han adaptado a usos específicos tales como acompañantes de comidas, especias o condimento. Permitiendo la diversidad de platillos característicos de cada región.

Por ello muchas de estas variedades reciben el nombre del mismo lugar en el cual son producidos o cuyo consumo es muy característico del lugar, tal es el caso del Chile Cobanero (*Capsicum Annum Var Ceraciforme*), cuyo nombre originalmente es Chile Cahabonero, pero que popularmente se ha adoptado este como el más conocido comercialmente.

En cuanto a la Facultad de Ingeniería de la Universidad de San Carlos de Guatemala, el Centro de Investigaciones de Ingeniería, se ha caracterizado por sus multidisciplinarias investigaciones en el grado de proyectos de investigación o tesis para estudiantes de ingeniería.

En 1998, las Ingenieras; Telma Cano Morales, Ingrid Benítez, Blanca Chávez y el Ingeniero Byron Aguilar, ejecutaron el proyecto 28-97 del CONCYT, denominado: “Obtención y caracterización de capsaicina, ingrediente activo de productos fitofarmacéuticos y agroindustriales de 3 especies de *capsicum* (*Capsicum chinense*, *Capsicum annum L.V* y *Capsicum annum*”). Para el desarrollo del proyecto se trabajó con chile habanero, chile jalapeño y chile verde o chocolate, clasificados según su especie respectivamente y evaluando el rendimiento y la calidad en función de dos factores: concentración de alcohol etílico utilizado y el nivel de deshidratación. Para el primer factor se utilizaron 2 niveles: alcohol etílico con concentración al 70% y alcohol etílico con concentración al 95% y para el segundo factor 2 niveles: en fresco y en seco con una humedad del 10%. Los resultados obtenidos de porcentaje de capsaicina en la oleorresina y porcentaje

de capsaicina en mezclas clorofórmicas de las 3 especies vegetales estudiadas se interpretaron por medio de un análisis de varianza llegando a concluir que: en el rendimiento de oleorresina obtenida, existe efecto significativo en la interacción de la concentración del solvente con el nivel de deshidratación. Los tres factores estudiados influyen en el porcentaje de capsaicina contenido en la oleorresina, pero de manera individual: comparativamente existen mayores porcentajes de alcaloide para chile habanero sobre el jalapeño y el verde, para el material seco sobre el fresco y para concentración de alcohol etílico al 95% y 70%. Después de aislar el alcaloide, sin embargo no hay diferencia significativa para el contenido de capsaicina por efecto de los factores estudiados.

De las 3 especies de *Capsicum* estudiadas la que reporto mayor porcentaje de capsaicina en la oleorresina fue con el *Capsicum Chinense*, cuyo valor fue de 10.28%, que está dentro del rango del valor teórico esperado que es entre 10%-12%.

Se determinó también que el más alto porcentaje de rendimiento de oleorresina fue de 14.6221%, para el Chile habanero seco utilizando alcohol etílico al 70%. Y el mayor porcentaje de rendimiento de capsaicina, en función del solvente utilizado fue de 0.002% para la especie de Chile Habanero seco, utilizando alcohol etílico al 95%.

Así mismo el estudio demostró que el nivel de deshidratación del capsicum (fresco y seco con humedad al 10%) y la concentración del solvente no influye en el porcentaje de rendimiento de oleorresina. Se determinó que para obtener el más alto porcentaje de capsaicina en la oleorresina, la variable que produce el mayor efecto es el nivel de deshidratación, seguido de la especie y concentración del solvente.

En el año 2010 se fundó el Laboratorio de Investigación de Extractos Vegetales –LIEXVE– con el propósito de incrementar la investigación de especies vegetales. En relación a los estudios que involucran el tema de la capsaicina se tiene documentación científica de los siguientes proyectos:

En el año 2011 el estudiante Aldo Alexander de la Cruz Leonardo, realizó el trabajo de graduación titulado: “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”. El objetivo de este proyecto de investigación fue la evaluación del porcentaje de rendimiento y la 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).

Luego de 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 40 539 y 20 9900 ppm. Así mismo se determinaron las Unidades de calor Scoville (SHU) en la cual la más alta reporto un valor de 336 SHU.

Otro de los datos relevantes que dicho estudio demostró fue el confirmar las diferencias significativas en el porcentaje de rendimiento de oleorresina del chile blanco según la concentración de la solución alcohol etílico-agua utilizada en la extracción, cuyos valores oscilaron entre los 20.01%, 1.34% y 40.04% +/- 9.82% siendo la concentración al 45% la que reportó el mayor porcentaje de rendimiento.

Se logró demostrar que 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%. Sin embargo 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.

Posteriormente, en el año 2012 la estudiante de Ingeniería Química, María José Ortiz García, realizó el trabajo de graduación titulado: “Evaluación del rendimiento y caracterización fisicoquímica de oleorresina de chile chamborote (*Capsicum annum app.*) Proveniente de tres regiones de Guatemala, utilizando maceración dinámica con reflujo a nivel laboratorio en función del tiempo de extracción”, asesorado por la Ingeniera Química Telma Maricela Cano Morales.

En este trabajo se evaluó el rendimiento de la extracción de la oleorresina del Chile chamborote proveniente de tres regiones de Guatemala: Chuarrancho, San Juan Sacatepéquez, aldea Montúfar y San Raimundo. Se utilizó maceración dinámica con reflujo a nivel laboratorio utilizando como solvente alcohol etílico al 70%, manejando como variables controlables tres diferentes tiempos de extracción: 2, 3 y 4 horas.

El estudio determinó que existe diferencia significativa en el rendimiento de oleorresina en función de la región de origen de la materia prima, y que no existe una diferencia significativa en los resultados utilizando cualquiera de los tres tiempos de extracción. Y para el tiempo de extracción utilizando 2, 3 o 4 horas de extracción para la obtención de oleorresina de chile chamborote con maceración dinámica con reflujo se demostró que no existe diferencia significativa.

En el año 2013, la estudiante de Ingeniería Química, Vera Lucía Barrientos Mendoza desarrolló el trabajo de graduación titulado: “Obtención y caracterización fisicoquímica de la oleorresina de Chile Cobanero (*Capsicum Annumm Var Ceraciforme*), procedente de tres niveles altitudinales de Guatemala y evaluación del rendimiento con cuatro diferentes técnicas”.

En dicho estudio, se evaluó el rendimiento de extracción de oleorresina del Chile Cobanero (*Capsicum annuum var cerasiforme*) proveniente de tres diferentes regiones de Guatemala donde se utilizaron las técnicas de lixiviación por maceración dinámica a temperatura ambiente, maceración estática a temperatura ambiente, maceración dinámica con reflujo y maceración estática con reflujo a escala laboratorio. En este, se determinó que el porcentaje de rendimiento de oleorresina varió solamente en función de la técnica de extracción, siendo la maceración dinámica con reflujo la técnica con mayor rendimiento de oleorresina y no presentó diferencias significativas para el estrato altitudinal ni para la interacción de dichos factores.

Mediante este estudio, se determinó que existe diferencia significativa entre las cuatro diferentes técnicas de extracción evaluadas en el rendimiento de la oleorresina de chile cobanero y que los valores de capsaicina en el capsicum mencionado, varían entre 4,93 y 10,53 ppm, por lo que comparada con la capsaicina pura que se registra en la literatura con un valor de 1 000 000 ppm, este, no es una fuente significativa.

Se concluyó que el estrato altitudinal de procedencia de la materia prima y su interacción con las técnicas de extracción presentaron diferencias significativas en el porcentaje de rendimiento de oleorresina de chile cobanero. Que la Maceración dinámica con reflujo produce mayor rendimiento de extracción de oleorresina y que la Maceración Dinámica obtuvo mayor cantidad de capsaicina.

Mediante un análisis de las fuentes bibliográficas consultadas se puede identificar aspectos de gran importancia que valen la pena mencionar, por ejemplo:

Los estudios demuestran que el contenido de humedad del Capsicum es determinante para la concentración final de Capsaicina en la oleorresina extraída superando la cantidad presente en oleorresinas de producto seco sobre el producto fresco. Esta condición puede explicarse debido a muchos factores pero el principal sería por el efecto que tiene el agua contenida sobre la acción del solvente que se esté manipulando. Esto está relacionado con el efecto que tiene la interacción del nivel de deshidratación y la concentración del solvente; los estudios consultados demuestran que entre más concentrado esté el solvente a utilizar menor será el % de rendimiento de oleorresina pero mayor será el contenido de Capsaicina presente en la oleorresina.

Por lo tanto la concentración del solvente a utilizar tendrá un efecto muy importante en el contenido de capsaicina arrastrado aunque esto no signifique alguna ventaja en el rendimiento de oleorresina como los resultados de estas investigaciones lo revelan. De cualquier manera la concentración de los solvente si tienen un efecto en el rendimiento de oleorresinas, los estudios demuestran que entre menos concentrados estén mayor será el rendimiento.

De igual manera se observa que el efecto que tiene el estrato altitudinal de manera individual; no influye en el rendimiento de la oleorresina, pero la concentración de solvente y su interacción con el estrato altitudinal de la materia prima si influye en el contenido de Capsaicina de la oleorresina extraída. Para el caso del estrato altitudinal y su interacción con

la técnica de extracción se puede notar un efecto tanto para el rendimiento de la oleoresina como para el contenido de Capsaicina. Por último, cabe mencionar que la región de origen de la materia prima en general si influye en el % de rendimiento de la oleoresina así como la técnica de extracción, aunque para ésta última, en el caso de la Maceración Dinámica el tiempo extractivo no representa una diferencia significativa en el rendimiento de la misma.

3.2 Marco Conceptual

3.2.1 El Género Capsicum

El chile es una solanácea con seis especies principales y diez especies secundarias. Es una planta anual, herbácea, de crecimiento determinado. Su raíz es pivotante con numerosas raíces adventicias, alcanzando una profundidad de 70-120 cm. La altura de las plantas varía de 0,30 a 1 m, según las variedades. La flor del chile es frágil. El fruto es una baya generalmente amarilla o roja en su madurez. “Las semillas son aplastadas y lisas, pudiendo contarse de 150-200 por gramo; ricas en aceite y conservan su poder germinativo durante tres o cuatro años.”¹

3.2.2 Origen

Según Simmonds (1979), las semillas de chile fueron reportadas arqueológicamente 5,000 años A.C. en Tehuacan, México, y probablemente proceden de las plantas silvestres de *Capsicum annum* L. fue la primera especie que encontraron los españoles en América, y en las regiones agrícolas más avanzadas de México y Perú, su uso era más intenso y variado (Fundación de Desarrollo Agropecuario, Inc. (FDA), 1994).

Diversos estudios han definido como centro de origen de las especies del género, a una área ubicada entre el sur de Brasil y el este de Bolivia, oeste de Paraguay y norte de Argentina. En ésta área han sido observados la mayor distribución de especies silvestres en el mundo (De Witt y Bosland, 1993 citado por Figueroa, 2010). Posteriormente fueron distribuidos por toda la región americana desde el sur de los Estados Unidos hasta Argentina. Sin embargo, las formas silvestres relacionadas a *C. annum* se encuentran entre México y Centro América. Los *C. frutescens* y *C. chinense* se encuentran en la Amazonia y el Perú y el centro de origen del *C. baccatum* y del *C. pubescens* en Bolivia (Figueroa, 2010).

¹ CANO, Manuel Francisco. Perfil Ambiental del departamento de Petén. Ministerio de Agricultura, Ganadería y Alimentación para Asuntos Específicos de Petén. 1997. p. 26. (10 01 2018)

De acuerdo a Azurdia (2004), existen cinco especies de chile cultivadas, *C. annum*, *C. frutescens*, *C. chinense*, *C. pubescens* y *C. baccatum*. En Guatemala se encuentran cultivadas las primeras cuatro especies anotadas; sin embargo, se considera que solamente *C. annum* y *C. frutescens* son nativas del país, mientras que *C. chinense* y *C. pubescens* fueron introducidas en tiempos prehispánicos desde su centro de origen que está ubicado en la América del sur. En este sentido, la gran diversidad presente en Guatemala corresponde principalmente a materiales genéticos nativos pertenecientes a *C. annum*.

La gran diversidad del chile en Guatemala corresponde principalmente a variedades nativas pertenecientes a *C. annum*. Además, en el país existen cinco especies silvestres: *Capsicum annum* var. *glabriusculum*, *C. ciliatum*, *C. frutescens*, *C. lanceolatum* y *C. rhomboideum* (Azurdia, 2008).

Aparentemente para Azurdia (2004), no existen barreras bien definidas entre las especies de chile, debido a que se han obtenido híbridos en todas las combinaciones de las diferentes especies (excepto en *C. pubescens*), los cuales han mostrado diferentes grados de fertilidad.

Para Heiser (1995) citado por Azurdia (2004), de igual manera se han obtenido híbridos entre las especies cultivadas y sus parientes silvestres más cercanos. Se considera que las especies cultivadas son auto compatibles, mientras que las silvestres son auto incompatibles. Por esta razón, es de esperarse la existencia de flujo genético entre materiales silvestres y cultivados en las dos vías, aspecto de crucial importancia ante la introducción de plantas transgénicas.²

3.2.3 Características Botánicas del Anuum

De acuerdo a Montes (2010), *Capsicum annum*, se reconoce toda la diversidad domesticada de esta especie. Se distingue de las otras especies cultivadas por la presencia de un cáliz dentado y una flor blanca grande en cada nudo. Su descripción taxonómica es la siguiente: 5 Plantas herbáceas o arbustivas de 1.5 m de alto, perennes o anuales, principalmente glabras: flores solitarias, raramente en pares, ocasionalmente fasciculadas, sin constricción en la base del cáliz y pedicelo, aunque a veces un poco rugoso; cáliz dentado, ausente o rudimentario; corola de color blanco a azul, raramente violeta, sin manchas difusas en la base de los pétalos; pétalos usualmente rectos; anteras normalmente de color azul a violeta, filamentos cortos: frutos inmaduros de color verde y rojos, cuando maduros de color naranja y púrpura-amarillo, persistentes, pendientes, raramente erectos, variables en su tamaño y forma; semillas de color crema a amarillo (D'Arcy y Eshbaugh, 1974 citado por Montes, 2010).

² Efecto de cuatro densidades de siembra y tres programas de fertilización en Chile Cobanero (*Capsicum Annum*); San Luis, Petén. <http://recursosbiblio.url.edu.gt/tesisjcem/2014/Perez-Dimas.pdf>, (10 01 2018)

Es una planta de comportamiento anual y perenne, tiene tallos erectos, herbáceos y ramificados de color verde oscuro, el sistema de raíces llega a profundidades de 0.70 a 1.20 m, y lateralmente hasta 1.20 m, la altura promedio de la planta es de 60 cm, las hojas son planas, simples y de forma ovoide alargada (Montes, 2010). Las flores son perfectas (hermafroditas), formándose en las axilas de las ramas; son de color blanco y a veces púrpura, el fruto en algunas variedades se hace curvo cuando se acerca a la madurez; para el caso de los pimientos verdes usualmente se cosechan cuando están grandes y firmes en la fase verde inmadura, también se puede permitir que maduren al color rojo, amarillo, naranja, morado u otros colores (Montes, 2010).

En el caso de la forma, tamaño y color de los frutos, estos varían en forma alargada, cónica o redonda; de 1 a 30 cm de longitud; fruto de cuerpo grueso, macizo o aplanado. Presentan coloración verde y amarillo cuando están inmaduros; rojos, amarillos, anaranjados y café en estado maduro (Pozo, 1981 citado por Montes, 2010). Los frutos de chile contienen capsaicina, la cual es el principio que le da el carácter picante.

El contenido varía mucho según la variedad y en su formación los factores ambientales tienen un papel principal. La capsaicina en los frutos maduros sólo se encuentra en las capas externas de las placentas o sean los tejidos que sostienen las semillas. También se halla debajo de la epidermis, que es gruesa e irregular. Esta sustancia puede a menudo reconocerse en soluciones hasta de una parte en 50,000. No es soluble en agua y en los chiles secos forma pequeñas masas cristalinas y amarillentas. Parece haber una relación inversa entre el tamaño del fruto y su contenido de capsicina (León, 1968 citado por Otzoy, Chan y García, 2003)³

3.2.4 Diversidad genética del Capsicum en Guatemala

De acuerdo a los reportes de González y Azurdia (1985), establecen que a nivel mundial existen cinco especies de chile cultivadas: *Capsicum annum*, *C. baccatum*, *C. frutescens*, *C. chinense* y *C. pubescens*.

Según González y Azurdia (1985), Guatemala es parte del centro de origen y diversidad de *Capsicum annum*, de tal manera que la mayor parte de chiles cultivados que se presentan en el país pertenecen a dicha especie. Además la especie mencionada tiene en Guatemala su especie silvestre ligada (*Capsicum annum* var. *aviculare*), conocida con el nombre común de chiltepe. Por otra parte a pesar de que *C. pubescens* es originario de los Andes, *C. frutescens* de Sur América y *C. chinense* del área Amazónica, desde la época precolombina ya se encontraban cultivados por los Mayas, suponiéndose que fueron traídos de su centro de origen.

³ Efecto de cuatro densidades de siembra y tres programas de fertilización en Chile Cobanero (*Capsicum Annum*); San Luis, Petén. <http://recursosbiblio.url.edu.gt/tesisjcem/2014/Perez-Dimas.pdf>, (10 01 2018)

De esta manera actualmente se tiene en Guatemala el chile de caballo (*C. pubescens*) distribuido en las zonas templadas del país; chile habanero (*C. chinense*) localizado únicamente en los alrededores del lago Petén Itzá y un tipo especial de chiltepe distribuido en la región del Petén (*C. frutescens*) acompañado a la gran diversidad restante de chiles cultivados, todos pertenecientes a *Capsicum annum*. Finalmente hay que agregar que existen tres especies de chiles silvestres, *C. ciliatum*, *C. frutescens* y *C. lanceolatum*. Azurdia y Martínez (1983), afirman que de las 104 especies consideradas como autóctonas de la región de Mesoamérica, el 48% se encuentran en Guatemala. En el cuadro 1, se presenta, la presencia de chiles en Guatemala y su distribución.⁴

Cuadro No. I. Chiles en Guatemala y su distribución

Nombre común	Nombre científico	Distribución
Chile habanero	<i>Capsicum chinense</i>	Alrededor del Lago Petén Itzá, montañas superiores a los 1800 msnm, Altiplano central y occidental.
Chile de caballo	<i>C. pubescens</i>	
Chile guaque	<i>C. annum</i>	
Chile chamborote	<i>C. annum</i>	Churranchito, San José del Golfo y partes bajas de Sacatepéquez.
Chile blanco	<i>C. annum</i>	Costa Sur y Atlántica, Altiplano Central, de 1500-2000 msnm.
Chile huerta	<i>C. annum</i>	
Chile cobanero	<i>C. annum</i>	Alta Verapaz, Norte de Izabal y centro y sur de Petén, partes cálidas del país, principalmente Izabal y la Costa Sur.
Chile chocolate	<i>C. annum</i>	
Chile sambo	<i>C. annum</i>	Alta Verapaz, Petén, partes cálidas del país de 0 a 1500 msnm.
Chile pico de gallina	<i>C. annum</i>	
Chiltepe	<i>C. frutescens</i>	
Chiltepe	<i>C. annum</i> var <i>aviculare</i>	Tajumulco, San Marcos. Cuilco, Huehuetenango.
Muco	<i>C. annum</i>	
Huixtla	<i>C. annum</i>	

Fuente: Azurdia y González (1985)

⁴ Efecto de cuatro densidades de siembra y tres programas de fertilización en Chile Cobanero (*Capsicum Annum*); San Luis, Petén. <http://recursosbiblio.url.edu.gt/tesisjcem/2014/Perez-Dimas.pdf>, (10 01 2018)

3.2.5 Clasificación taxonómica y descripción

Según la Unión Mundial para La Naturaleza (1999) citado por Castillo (2001), la clasificación taxonómica del chile cobanero se presenta en el cuadro 2. Cuadro 2. Clasificación taxonómica de la planta de chile cobanero.

Tabla No. I Clasificación taxonómica de la planta de Chile cobanero.

Categoría	Nombre
Reino	Plantae
Subreino	Embryobionta
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Subclase	Asteridae
Orden	Polemoniales
Familia	Solanaceae
Género	Capsicum
Especie	Capsicum annum L.

Fuente: Castillo (2001)

La planta de chile cobanero es erecta y en algunos casos postrada, con alturas que pueden presentarse entre 45 cm a 80 cm, el ancho presenta variaciones que van de 60 a 85 cm. El fruto puede presentarse en pendiente y erecta en los nudos, pequeño y 8 de forma cónica a ovalada, mide regularmente entre 1 a 3 cm de largo, y 1 a 1.5 de ancho, de color verde oscuro en estado inmaduro y en ocasiones presenta color negruzco por la presencia de antocianinas, al madurar es de color rojo intenso (Ayala, 2003).

Este es un grupo de chiles que es cultivado originalmente en la región de Alta Verapaz, entre los 200 y 500 msnm, específicamente en los municipios de Lanquín, Cahabón, y Senahú, algunas comunidades quechies de Izabal y en el Sur del Peten, sin embargo en la actualidad existe una gran expansión del cultivo habiéndose incorporado en áreas de la Franja Transversal del Norte debido a que la demanda y el precio en el mercado nacional van en aumento. (Ayala, 2003).

Con relación a su producción pueden diferenciarse dos sistemas de cultivo dependiendo la zona de que se trate. En el área de Lanquín y Cahabón su producción se realiza de forma tradicional intercalando la siembra de chile a la cosecha del maíz, en los meses de noviembre a diciembre, durando en el campo alrededor de 5 a 6 meses aunque su producción se puede prolongar hasta el octavo mes, los rendimientos son bastante variables ya que estos se producen en la época en que las lluvias van descendiendo y los materiales sembrados son altamente variables, pues en ellos es posible encontrar materiales de diferentes formas como redondos, cónicos, y alargados. Sin embargo, los comerciantes dedicados a la compra de éste chile sugieren que el que obtiene el mejor precio en el mercado es el de bolita o bolonillo (Ayala, 2003).

La siembra se efectúa al voleo, en forma directa, es decir que la semilla se esparce por el campo donde han quedado los restos de las plantas del maíz. Se utiliza para el efecto 1 kg aproximadamente de semilla por cuerda (20 x 20 m). El rendimiento obtenido bajo tales condiciones es muy bajo, pero se conoce que puede alcanzar mejores rendimientos bajo cultivo, incorporando técnicas de manejo. Se pueden obtener rendimientos 35 y 40 t/ha de frutos frescos y entre 8 y 10 t/ha, en fruto seco (Ayala, 2003; Escobar, 1987).

En la zona de la Franja Transversal del Norte existe una variante muy importante en la producción, debido a que allí se incorporan técnicas modernas de producción, que van desde la siembra en hileras distanciadas a 1 m con separación entre plantas de 0.60 a 0.80 m, aplicación de fertilizantes y en monocultivo. Sin embargo, los cultivares presentan la misma variabilidad encontrada en los materiales sembrados en el área de Lanquin y Cahabón (Ayala, 2003).

Bajo esas condiciones la planta inicia floración a los 65 días después de la siembra y teniendo fruto disponible para corte a los 130 días después de la siembra, hay un período aproximado entre la primera floración y el primer corte de 65 días, el número de cortes puede ser variable dependiendo de las condiciones de humedad del suelo y desarrollo del cultivo (Ayala, 2003; Escobar, 1987).⁵

3.2.6 Importancia Alimenticia

Los usos de los chile son múltiples, aparte del consumo en fresco, cocido, o como un condimento o especia en comidas típicas, existe una gran gama de productos industriales que se usan en la alimentación humana: congelados, deshidratados, encurtidos, enlatados, pastas y salsas, se utiliza como materia prima para la obtención de colorantes y de oleoresinas para fines industriales e incluso para fines medicinales.

La variación en el contenido de capsaicina y dihidrocapsaicina de diversos morfotipos de chile analizados, tuvo fuerte asociación con los usos específicos para cocinar (Cázares, Ramírez, Castillo, Soto, Rodríguez y Chávez, 2005). Por otro lado, como producto medicinal se utiliza en la medicina tradicional para remediar el efecto del asma, de la tos, irritación de garganta y otros desordenes respiratorios (Andrews, 1995; Long-Solís, 1986).

⁵ Efecto de cuatro densidades de siembra y tres programas de fertilización en Chile Cobanero (*Capsicum Annuum*); San Luis, Petén. <http://recursosbiblio.url.edu.gt/tesisjcem/2014/Perez-Dimas.pdf>, (10 01 2018)

El contenido nutricional de los chiles en general tiene ciertas variaciones según el tipo de chile o su forma de cultivarlo. Según estudios realizados por Azurdía (1995), establece que los chiles cultivados poseen diferencias notables en comparación con los chiles que crecen naturalmente como maleza. Por ejemplo: los chiles que crecen naturalmente contienen mayor cantidad de kilocalorías/gramo, así como más fibra cruda; pero presentan menor contenido de carotenos, ácido ascórbico y humedad, (cuadro 3). Aparentemente la tendencia que se ha dado al mejorar las poblaciones de chile es de disminuir el contenido de fibra en el fruto.⁶

Cuadro II. Algunos componentes bromatológicos de los chiles secos (*Capsicum* spp).

Tipo de chile	Proteína %	Cenizas %	Kcal /gr.	Fibra %	Carotenos Mg.	Ácido ascórbico	Humedad %
Chocolate	ND	7.58	5.83	13.73	18.73	1403	77.83
Cobanero	ND	9.42	5.84	13.74	12.81	1093	73.10
Sambo	10.90	8.00	ND	11.30	23.27	ND	82.97
Guaque	11.41	4.51	ND	17.95	36.40	ND	71.71

ND: No Datos

Fuente: Azurdía 1995

3.2.7 Usos e Industrialización del Chile

El chile es un cultivo que no obstante sus materiales son diversificados, en la actualidad son muy pocos los que se han industrializado, de los cuales en Guatemala se menciona los siguientes: chile pimienta dulce, chile serrano y chile jalapeño. De acuerdo con las investigaciones efectuadas se cuenta con otros materiales que podrían industrializarse, con lo cual se estaría incrementando los materiales a industrializar en el medio (Blanco y Cannesa, 1978). Costa Rica tiene la experiencia de que se sometió a prueba el chile dulce, que se ha convertido en una actividad agro-industrial de suma importancia, como consecuencia de la relacionada introducción de materiales mejorados y que se ve con muy buenas perspectivas, incluso se está aprovechando también en la industria de colorantes vegetales (Blanco y Cannesa, 1978). Así mismo Blanco y Cannesa (1978), reportan que puede mencionarse el caso de México que es un país en donde esta industria, ha alcanzado un desarrollo notable, 11juntamente con la industrialización de salsas, encurtidos, paprika, pimientos frescos enlatados, envasados, especias en salsas de tomate, latas de sardina, otros.⁷

^{6,7} Efecto de cuatro densidades de siembra y tres programas de fertilización en Chile Cobanero (*Capsicum Annuum*); San Luis, Petén. <http://recursosbiblio.url.edu.gt/tesisjcem/2014/Perez-Dimas.pdf>, (10 01 2018)

3.2.8 Capsaicina

El compuesto químico **capsaicina** o **capsicina** (8-metil-N-vanillil-6-nonenamida) es una Oleorresina, componente activo de los pimientos picantes (*Capsicum*). Es irritante para los mamíferos; produce una fuerte sensación de ardor (pungencia) en la boca. La capsaicina y otras sustancias relacionadas se denominan **capsaicinoides** y se producen como un metabolito secundario en diversas especies de plantas del género *Capsicum*, lo que probablemente les impide ser consumidas por animales herbívoros. Las aves en general no son sensibles a los capsaicinoides. La capsaicina pura es un compuesto lipofílico, inodoro, incoloro, parecido a la cera.

La capsaicina es el componente responsable del Comportamiento picante, en mayor o menor grado, de los frutos de la familia *Capsicum*, localizándose, fundamentalmente, en sus semillas y membranas. Es un compuesto orgánico de nitrógeno de naturaleza lipídica, encontrándose se trata de un protoalcaloide. El nombre fue aplicado, en 1876, a un compuesto incoloro aislado de la oleorresina el *Capsicum*. En los años 60 el compuesto natural fue adecuadamente caracterizado. La capsaicina es el principio picante de la especie, cuya fórmula empírica es $C_{18}H_{27}O_3N$, siendo un producto de condensación del ácido decilénico y de la 3-hidroxi-4-metoxi benzilamida.

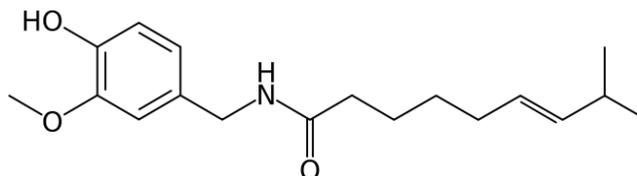
En la actualidad, se sabe que la capsaicina no es un compuesto simple, sino que se trata de una mezcla de varias amidas, que son comúnmente conocidas con el nombre de capsacinoides (figura 1), siendo la capsaicina el más importante entre ellas.

El contenido en capsaicina es mayor en la placenta y en el septo, en donde representa un 2,5 % de la materia seca, mientras que el contenido medio del fruto es del 0,6 %, el de las semillas del 0,7 % y el del pericarpio del 0,03 %. El contenido en capsaicina depende de a variedad y de los cambios de los factores ambientales básicos. La formación de capsaicina es mayor a temperaturas elevadas (en torno a los 30 grados Celsius) que a temperaturas suaves (21-24 grados Celsius). La capsaicina purificada, diluida cien mil veces, sigue siendo tan activa aún es capaz de producir ampollas en la lengua. La capsaicina es la responsable de la sensación de ardor, e incluso dolor, en la mucosa oral. Estimula las secreciones gástricas y si se usa en demasía ocasiona inflamación. Se sabe que esta molécula es capaz de actuar sobre fibras no mielinizadas delgadas, activando a ciertas poblaciones de neuronas sensoriales, también posee cualidades descongestivas y a concentraciones adecuadas, favorece en el cerebro la producción de endorfinas, que son moléculas que promueven la sensación de bienestar. Debido a sus acciones específicas la capsaicina es utilizada en los laboratorios de investigación neuronal ya que, dependiendo de su dosis puede provocar efectos analgésicos, antiinflamatorios o, por el contrario, favorecer la muerte neuronal. Asimismo, ha permitido definir las funciones de las neuronas sensoriales peptidérgicas.

También el estudio de las acciones selectivas neuronales de la capsaicina está ayudando al progreso del conocimiento de ciertas funciones neuronales. Aunque ello parezca extraño, la capsaicina por sí misma es una molécula sin sabor ni olor. Sus acciones se ejecutan a través de su reconocimiento por parte de una proteína receptora, que no es específica para ella, sino que efectúa otras funciones de reconocimiento.

"Al estimularse el receptor de la capsaicina se facilita la entrada de iones calcio a las células, a través de canales específicos (fenómeno de despolarización de las membranas celulares). Ello significa una especie de mensaje, que es transportado hasta el cerebro donde es traducido en forma de sensación de quemazón o ardor".⁸

Figura I. Molécula de Capsaicina (8-metil-N-vanillil-6-nonenamida)

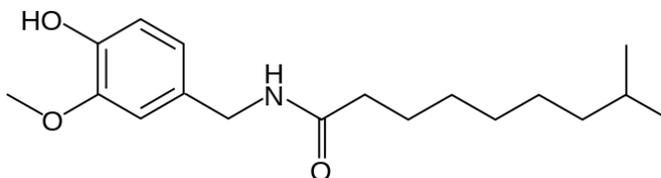


Fuente: <http://www.etsimo.uniovi.es>. (10 01 2018)

3.2.9 Dihidrocapsaicina

La dihidrocapsaicina representa aproximadamente el 22% de la mezcla total de capsaicinoides y tiene casi, pero no exactamente, la misma acritud que la capsaicina. La dihidrocapsaicina pura es un compuesto incoloro, cristalino a ceroso, sin olor lipófilo. Es soluble en dimetilsulfóxido y etanol al 100%.

Figura II. Molécula de Dihidroapsaicina (8-metil-N-vanillil-6-nonenamida)



Fuente: <http://www.etsimo.uniovi.es>. (02 01 2018)

“La capsaicina es un alcaloide de fórmula $C_{18}H_{27}O_3 N$ que es sólido a temperatura ambiente (punto de fusión $64^{\circ}C$). Su nombre IUPAC es (E)-N-(4-hidroxi-3-metoxibencil)-8-metilnon-6-enamida. Conjuntamente con la dihidrocapsaicina (capsaicina que ha perdido el doble enlace por hidrogenación), forman el 90% de todos los compuestos responsables del picor del ají y los pimientos.”⁹

⁸ El repositorio.com. <http://repositorio.bib.upct.es/dspace/bitstream/10317/255/1/pfc2156.pdf>. (02 01 2018)

Figura III. Capsaicinoides



Capsaicina

Dihydrocapsaicina

Fuente: <http://www.etsimo.uniovi.es>. (02 12 2017)

3.2.10 Escala Scoville

En 1912, el químico Wilbur Scoville desarrolló la escala Scoville que mide el grado de picor de un pimiento. Scoville asignó un valor de cero a los pimientos dulces, que no pican.¹ En el otro extremo de la escala ubicó a la capsaicina a la que le dio un valor de ¡¡¡dieciséis millones!!! como la sustancia más picante.

La escala debe entenderse como el factor de dilución que origina que la sustancia en mención deje de picar. Así, para que nuestro gusto no perciba la capsaicina, esta debe ser diluida en un factor de 16 millones, es decir, una solución de capsaicina recién deja de ser picante a concentraciones menores a 62 ppb (partes por billón). Definitivamente, es la sustancia más picante de todas.

Este picor, al igual que en los humanos, es detectado por un receptor general del dolor: al entrar en contacto con la capsaicina se facilita la entrada de iones calcio a las células, lo cual es transmitido al cerebro como un mensaje. Este mensaje se traduce como una sensación de quemazón o ardor. Pero no hay que pensar que la capsaicina es una molécula que sólo pica, también tiene otras importantes propiedades. Por ejemplo, la capsaicina es un analgésico que se absorbe eficientemente a través de la piel. Una solución de capsaicina al 3% es capaz de aliviar eficientemente el dolor muscular. Existen productos comerciales en forma de aerosoles para este propósito. A la capsaicina también se le atribuyen propiedades anticancerígenas debido a que se ha observado que induce apoptosis en estudios hechos con líneas celulares de cáncer de páncreas. Otro uso menos medicinal de la capsaicina pero más práctico lo encontramos en los aerosoles de protección personal.

⁹ *La capsaicina*. revistas.pucp.edu.pe/index.php/quimica/article/viewFile/7590/7835 (18 01 2018).

**Cuadro III. Escala Unidades de Calor Scoville**

Unidades Scoville	Tipo de chile
15.000.000–16.000.000	Capsaicina pura ³
8.600.000–9.100.000	Varios capsaicinoides, como homocapsaicina, homodihydrocapsaicina y nordihydrocapsaicina
2.000.000–5.300.000	Nivel estándar del aerosol de pimienta en EE.UU., ⁴ munición irritante del FN 303
1.300.000–2.000.000	Naga Viper, Trinidad Scorpion Butch T
855.000–1.041.427	Naga Jolokia ^{5 6 7 8}
350.000–580.000	Habanero Savinas Roja ^{9 10}
100.000–350.000	Chile habanero, ¹¹ Scotch Bonnet, ¹¹ Chile datil, Capsicum chinense
100.000–200.000	Rocoto, chile jamaicano picante, ⁴ piri piri
50.000–100.000	Chile thai, chile malagueta, chile chiltepín, chile piquín
30.000–50.000	Pimienta roja o de cayena, ají escabeche, ¹¹ chile tabasco, algunas tipos de chile chipotle
10.000–23.000	Chile serrano, algunos tipos de chile chipotle
5.000–8.000	Variedad de Nuevo México del chile anaheim, ¹² chile húngaro de cera ¹³
2.500–5.000	Chile jalapeño, Pimiento de Padrón, Salsa Tabasco
1.500–2.500	Chile rocotillo
1.000–1.500	Chile poblano
500–1.000	Chile anaheim ¹⁴
100–500	Pimiento, ⁴ pepperoncini
0	No picante, pimiento verde ⁴

Fuente: <https://www.google.com.gt/search?q=escala+scoville> (18.01.2018)

3.2.11 Oleorresinas

Las oleorresinas se producen mediante la extracción de los compuestos aromáticos de las especias deshidratadas con solventes orgánicos.

Los compuestos volátiles y no volátiles extraídos de las especias, representan el sabor completo de la especia fresca en una forma concentrada. Por esta razón, las oleorresinas son el extracto de especias preferido para saborizar productos.

La alta concentración de las oleorresinas y el estar prácticamente libres de agua, asegura una mayor vida de anaquel debido a la baja degradación por oxidación o pérdida de sabor, y se elimina el deterioro debido a plagas y microbios. El extracto concentrado puede ser diluido para obtener diferentes concentraciones a fin de adecuar el producto a las necesidades del cliente.

Ventajas de las oleorresinas:

Economía: Dependiendo de la concentración de la oleorresina, pueden sustituirse hasta 100 kg. Del producto en polvo por uno o dos kg. De oleorresina.

Uniformidad: Los ingredientes activos color, sabor y propiedades físicas son estandarizadas, lo que garantiza la uniformidad entre lotes.

Natural: Es un producto 100% natural libre de residuos de solvente y de residuos de pesticidas.

Pureza: Son productos libres de impurezas y materia extraña

Esterilidad: No presentan contaminación microbiana: Cumplimiento de las especificaciones: de la FDA y están clasificadas como GRAS (Generally Recognise as Safe), lo que permite su libre adición dentro de las formulaciones.

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 oleoresina dentro de las formulaciones de los productos alimenticios.

Mayor vida de anaquel: La alta concentración de oleorresinas y el estar prácticamente libres de agua, asegura esta condición debido a la baja degradación por oxidación o pérdida de sabor y se elimina el deterioro debido a plagas y microbios.

Posibilidad de dilución: el extracto concentrado puede ser diluido para obtener diferentes concentraciones con el fin de adecuar el producto a las necesidades de cada producto.

3.3 Oleorresina de *Capsicum*

Las oleorresinas de este tipo se encuentran compuestas en su mayoría por diversos tipos de carotenoides, entre los que se encuentra la capsantina la cuales el principal carotenoide del pimiento común, este representa hasta el 60% del total de carotenoides presentes. 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 di hidro capsaicina. 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.

3.3.1 Extracción Soxhlet

La extracción Soxhlet ha sido (y en muchos casos, continua siendo) el método estándar de extracción de muestras sólidas más utilizado desde su diseño en el siglo pasado, y actualmente, es el principal método de referencia con el que se comparan otros métodos de extracción. Además de muchos métodos de la EPA (U.S. Environmental Protection Agency) y de la FDA (Food and Drugs Administration) utilizan esta técnica clásica como método oficial para la extracción continua de sólidos.

En este procedimiento la muestra sólida finamente pulverizada se coloca en un cartucho de material poroso que se sitúa en la cámara del extractor soxhlet (ver figura). Se calienta el disolvente extractante, situado en el matraz, se condensan sus vapores que caen, gota a gota, sobre el cartucho que contiene la muestra, extrayendo los analitos solubles. Cuando el nivel del disolvente condensado en la cámara alcanza la parte superior del sifón lateral, el disolvente, con los analitos disueltos, asciende por el sifón y retorna al matraz de ebullición. Este proceso se repite hasta que se completa la extracción de los analitos de la muestra y se concentran en el disolvente. La extracción con Soxhlet presenta las siguientes ventajas:

- La muestra está en contacto repetidas veces con porciones frescas de disolvente.
- La extracción se realiza con el disolvente caliente, así se favorece la solubilidad de los analitos.
- No es necesaria la filtración después de la extracción.
- La metodología empleada es muy simple.
- Es un método que no depende de la matriz.
- Se obtienen excelentes recuperaciones, existiendo gran variedad de métodos oficiales cuya etapa de preparación de muestra se basa en la extracción con Soxhlet.

Por otra parte, las desventajas más significativas de este método de extracción son:

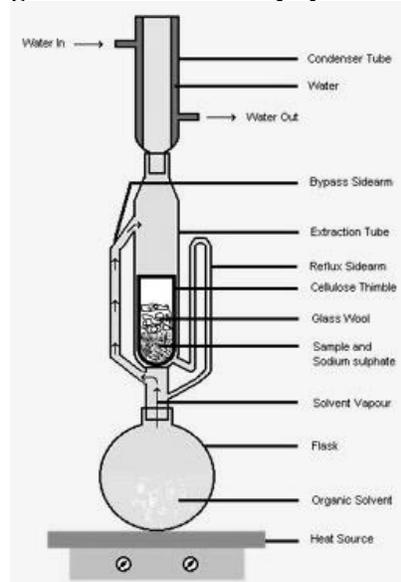
- El tiempo requerido para la extracción normalmente está entre 6-24 horas.
- La cantidad de disolvente orgánico (50-300 ml)
- La descomposición térmica de los analitos termolábiles, ya que la temperatura del disolvente orgánico está próxima a su punto de ebullición.
- No es posible la agitación del sistema, la cual podría acelerar el proceso de extracción.
- Es necesaria una etapa final de evaporación del disolvente para la concentración de los analitos.
- Esta técnica no es fácilmente automatizable.

La extracción Soxhlet es la técnica de separación sólido-líquido comúnmente usada para la determinación del contenido graso en muestras de diferente naturaleza. De igual modo, puede ser usada como técnica preparativa de muestra como paso previo al análisis mediante otra técnica instrumental, por ejemplo, la extracción de ácidos grasos en muestras de tocino para su posterior determinación mediante cromatografía de gases. Aunque su campo de aplicación es fundamentalmente el agroalimentario es también de utilidad en el área medioambiental, así es el método de análisis recomendado para la determinación del aceite y la grasa total recuperable en aguas de vertidos industriales permitiendo la determinación de hidrocarburos relativamente no volátiles, aceites vegetales, grasas animales, ceras, jabones y compuestos relacionados.

Como ya hemos comentado, el contenido de materia grasa es uno de los parámetros analíticos de interés en los productos destinados a la alimentación, tanto humana como animal, y, en consecuencia, su determinación es muy habitual. El procedimiento para llevar a cabo su extracción se basa en la extracción sólido-líquido en continuo, empleando un disolvente, con posterior evaporación de éste y pesada final del residuo. El resultado

representa el contenido de sustancias extraíbles, que mayoritariamente son grasas, aunque también hay otras sustancias como las vitaminas liposolubles y pigmentos en el caso de su determinación en alimentos. El procedimiento puede aplicarse a distintos tipos de alimentos sólidos. Tiene una importancia esencial que la muestra sea anhidra (que esté seca), porque el éter dietílico se disuelve parcialmente en agua, que a su vez extraerá azúcares entre otros compuestos, lo que puede ser fuente de error.

Figura IV. Partes del equipo Soxhlet



Fuente: <https://www.google.com.gt/search?q=partes+delsoxhlet>. (18.01.2018)

3.3.2 Maceración Dinámica

Consiste en poner en contacto la materia vegetal y el solvente, durante varios días, con agitación ocasional, es un proceso lento que se conoce como proceso de maceración simple o estática. Cuando se requiere abreviar el tiempo de operación, se recurre a la agitación constante de la especie y el solvente denominándose proceso de maceración dinámica. Este proceso tiene como resultado el equilibrio entre la especie y el solvente, dependiendo de factores relacionados con la especie como: naturaleza, tamaño de partícula, contenido de humedad y cantidad. Y factores relacionados con el solvente como: selectividad y cantidad. La velocidad con la que se obtiene el equilibrio esta en función del tamaño de partícula de la especie, del grado de hinchamiento de las células (proporcionando permeabilidad a la pared celular y la difusión del solvente) y de las propiedades del solvente.

El rendimiento del extracto disminuye cuando la relación especie/solvente aumenta. La maceración tiene como etapa final el prensado o centrifugación del residuo con el objeto de recuperar la parte del extracto retenido en él. A manera de resumen a menos que se especifique lo contrario, el material crudo que se va a extraer, es reducido a pedazos de tamaño apropiado, mezclado con el solvente especificado y dejado en reposo a temperatura ambiente en un recipiente por tiempo apropiado, con frecuente agitación hasta que la materia soluble se disuelva. La mezcla se filtra, el material insoluble se lava con el mismo disolvente

utilizado para la maceración y los filtrados se combinan y concentran a la consistencia deseada, bajo presión reducida y temperatura controlada. (Deulofeu, 2006)

3.3.3 Cromatografía Líquida de Alta Resolución HPLC

El HPLC es una técnica utilizada para separar los componentes de una mezcla basándose en diferentes tipos de interacciones químicas entre las sustancias analizadas y la columna cromatografía. En la HPLC isocrática el compuesto pasa por la columna cromatografía a través de la fase estacionaria (normalmente, un cilindro con pequeñas partículas redondeadas con ciertas características químicas en su superficie) mediante el bombeo de líquido (fase móvil) a alta presión a través de la columna. La muestra a analizar es introducida en pequeñas cantidades y sus componentes se retrasan diferencialmente dependiendo de las interacciones químicas o físicas con la fase estacionaria a medida que adelantan por la columna. El grado de retención de los componentes de la muestra depende de la naturaleza del compuesto, de la composición de la fase estacionaria y de la fase móvil. El tiempo que tarda un compuesto a ser eluido de la columna se denomina tiempo de retención y se considera una propiedad identificativa característica de un compuesto en una determinada fase móvil y estacionaria. La utilización de presión en este tipo de cromatografías incrementa la velocidad lineal de los compuestos dentro la columna y reduce así su difusión dentro la columna mejorando la resolución de la cromatografía. Los disolventes más utilizados son el agua, el metanol y el acetonitrilo. El agua puede contener tampones, sales, o compuestos como el ácido trifluoroacético, que ayudan a la separación de los compuestos. Una mejora introducida a la técnica de HPLC descrita es la variación en la composición de la fase móvil durante el análisis, conocida como elución en gradiente. Un gradiente normal en una cromatografía de fase reversa puede empezar a un 5% de acetonitrilo y progresar de forma lineal hasta un 50% en 25 minutos. El gradiente utilizado varía en función de la hidrofobicidad del compuesto. El gradiente separa los componentes de la muestra como una función de la afinidad del compuesto por la fase móvil utilizada respecto a la afinidad por la fase estacionaria. En el ejemplo, utilizando un gradiente agua/acetonitrilo los compuestos más hidrofílicos eluirán a mayor concentración de agua, mientras que los compuestos más hidrofóbicos eluirán a concentraciones elevadas de acetonitrilo. A menudo, hace falta realizar una serie de pruebas previas por tal de optimizar el gradiente de forma que permita una buena separación de los compuestos.

4. OBJETIVOS

4.1 General

4.1.1 Obtener la Capsaicina y Dihidrocapsaicina del Chile Cahabonero mediante la extracción de oleorresinas con dos métodos y 4 solventes orgánicos, dirigido a los productores de Santa María Cahabon para potencializar la producción.

4.2 Específicos:

4.2.1 Cuantificar en HPLC la concentración de Capsaicina y Dehidrocapsaicina presentes en oleorresinas de Chile Cahabonero extraídas por el método Soxhlet y Maceración Dinámica.

4.2.2 Comparar la efectividad de arrastre de C y DH de 4 solventes orgánicos: Acetato de Etilo-Etanol-Agua (82.2:9.7:8) y Acetato de Etilo-Etanol (93.9:6.1) para el método Soxhlet. Y para Maceración Dinámica empleando Acetonitrilo (100%) y Acetato de Etilo: Acetonitrilo (50:50).

4.2.3 Calcular el nivel de pungencia en Unidades de Calor Scoville (SHU) para la oleorresina del Chile Cahabonero, del municipio de Sta. María Cahabón.

4.2.4 Mostrar los resultados obtenidos a productores como potencial alternativa de negocios más eficientes.

5. HIPÓTESIS

HA: Existe diferencia significativa en el rendimiento de oleorresinas utilizando los métodos extractivos y los solventes orgánicos. ($\mu d \neq 0$)

HA: Existe diferencia significativa en la obtención de Capsaicina y Dehidrocapsaicina utilizando los métodos extractivos y los solventes orgánicos. ($\mu d \neq 0$)

6. METODOLOGÍA

6.1 Diseño Metodológico

A continuación se describe la metodología en las siguientes fases generales: a) extracción de oleorresina cápsica mediante 4 sistemas extractivos, b) cuantificación de los principios pungentes (Capsaicina y Dehidrocapsaicina) en HPLC y c) ensayos de Extracción por Columna para el aislamiento de capsaicinoides.

6.1.1 Definición de parámetros.

Tabla I. Parámetros de extracción de Oleorresina Cápsica.

Parámetro	Constante	Variable	Dependiente	Independiente	Controlable
Porcentaje de rendimiento		X	X		
Densidad de oleorresinas		X	X		
Tamaño de partícula	X		X		X
Técnica de Extracción		X		X	X
Solvente extractivo		X		X	X
Relación m.p / solvente	X			X	X
Tiempo de Extracción	X			X	X
Temperatura de Extracción	X			X	X
Velocidad de Agitación	X			X	X

Fuente: Elaboración propia

Tabla III. Parámetros para cuantificación de C y DHC en HPLC.

Parámetro	Constante	Variable	Dependiente	Independiente	Controlable
Concentración de C y Dh		X	X		
Método de cuantificación	X			X	X
Fase Estacionaria HPLC	X			X	X
Flujo de inyección	X			X	X
Longitud de onda	X			X	X
Temperatura de la columna	X			X	X
Volumen de inyección	X			x	X
Concentración de C y Dh		X	X		
Método de cuantificación	X			X	X

Fuente: Elaboración propia

Tabla IV. Parámetros; ensayos para aislamiento de Capsaicina

Parámetro	Constante	Variable	Dependiente	Independiente	Controlable
Cantidad de muestra		X		X	X
Tipo de adsorbente		X		X	X
Sistema de eluyentes		X	X		X
Cantidad de adsorbente		X		X	X
Tamaño de columna		X	X		
Altura de columna		X	X		
Diámetro de columna		X	X		

Fuente: Elaboración propia

6.2 Delimitación del campo de estudio

La extracción de oleorresinas se limitó a la variedad de Chile Cahabonero producido en el municipio de Sta. María Cahabón, mediante 4 sistemas extractivos (combinación de método y solvente orgánico) los cuales se describen a continuación:

Tabla V. Sistemas extractivos de oleorresinas de Chile Cahabonero

Código por orden de repetición	Sistema extractivo	
	Solvente orgánico	Técnica extractiva
RA	Acetato de Etilo-Etanol-Agua (82.2:9.7:8)	Soxhlet
RB	Acetato de Etilo-Etanol (93.9:6.1)	
RC	Acetato de Etilo: Acetonitrilo (50:50)	Maceración Dinámica
RD	Acetonitrilo (100%)	

Fuente: Elaboración propia

La determinación de capsaicinoides en HPLC se limitó únicamente a la Capsaicina y Dehidrocapsaicina. La Capsaicina conforma el 69% del total y tiene un nivel de pungencia (SHU) de 16000000, la Dehidrocapsaicina el 22% y un nivel de pungencia (SHU) de 16000000. Seguidamente la Norhidrocapsaicina que conforma el 7% y un nivel de pungencia de 9100000. Finalmente la Homodihidrocapsaicina y Homocapsaicina con 1% para ambas y nivel de pungencia de 8600000 (SHU) para cada una.

Los ensayos de Cromatografía por Columna para el aislamiento de capsaicinoides se limitaron a la oleorresina correspondiente al sistema extractivo RD (Acetonitrilo en Maceración Dinámica, debido a la concentración superior de Capsaicina/Dehidrocapsaicina determinadas en HPLC). Para dichos ensayos en columna se utilizaron 2 fases estacionarias: Sílica Gel 60 y Alúmina Ácida. Tomando como criterio para la selección de los solventes de la fase fluida, que la secuencia o el orden aumenta la fuerza de elución de la muestra por orden de polaridad. Cabe mencionar que esta fase se realizó para discernir las mejores condiciones de separación de la Capsaicina y dejar un antecedente de lo que pudiera una alternativa para su aislamiento.

6.2.1 Ubicación

La recolección de la materia prima se realizó en el Municipio de Santa María Cahabón y la fase experimental se desarrolló en laboratorios específicos que son:

- Previo a la extracción de oleorresinas, la materia prima debía presentar una humedad < 10%. Para ello se evaluó dicho parámetro en el laboratorio de análisis fisicoquímicos y microbiológicos VERTICAL utilizando el método NTE_INEN_63. Quesos. “Determinación del Contenido de Humedad”
- La extracción de oleorresinas mediante los 4 sistemas extractivos formados por 2 métodos y 4 solventes orgánicos se realizó en las instalaciones del Laboratorio de Investigación de Extractos Vegetales –LIEXVE- del Centro de Investigaciones de Ingeniería –CII- de la USAC.
- En el Instituto de Investigaciones Químicas, Biológicas, Biomédicas y Biofísicas –I²QB³- de la Universidad Mariano Gálvez de Guatemala, se utilizó un equipo de Cromatografía Líquida de Alta Eficiencia HPLC, de fase reversa, para la separación, determinación y cuantificación de Capsaicina y Dehidrocapsaicina basando el procedimiento de cuantificación en el método ASTA Analytical No. 21.3.
- En el Instituto Tecnológico Maya de Estudios Superiores ITMES, se realizaron los ensayos para discernir las mejores condiciones en las que pudiera replicarse un método para el aislamiento de Capsaicina, esto debido a la cantidad de reactivos disponibles los cuales únicamente suplieron dos únicas pruebas realizadas: una columna para Sílica Gel 60 y otra para Alúmina Ácida.

6.3 Recursos

Humanos:

- ✓ Tesista: Mario Domingo Bartolomin Sacán.
- ✓ Asesor: Ing. Hermes Enmanuel Bol Cloth.

Materia Prima extracción de oleorresinas:

- ✓ Chile Cahabonero proveniente de Santa María Cahabón.
- ✓ Solventes extractivos de oleorresina cápsica:
 - a) Acetato de Etilo-Etanol (93.9:6.1) Soxlhet
 - b) Acetato de Etilo-Etanol-Agua (82.2:9.7:8) Soxlhet
 - c) Acetonitrilo-Acetato de Etilo (50:50) Maceración Dinámica
 - d) Acetonitrilo (100%) Maceración Dinámica

Materia prima cuantificación de C y Dh en HPLC:

- ✓ Oleorresinas extraídas con 4 sistemas extractivos:
- ✓ Patrón de Capsaicina Marca Sigma 95%
- ✓ Patrón Dehidrocapsaicina Marca Sigma 85%
- ✓ Acetona SupraSolv, cromatografía de gases ECD y FID (99.8%)
- ✓ Acetonitrilo: Agua 60:40 para la fase móvil en HPLC.
- ✓ Columna ZORBAX SB-C18, Agilent fase reversa,
- ✓ Etanol grado reactivo (95%)

Materia prima para ensayos para aislamiento de C y Dh.

- ✓ Oleorresina del sistema extractivo RD.
- ✓ Silica Gel 60 y Alúmina Ácida como adsorbentes en columnas.
- ✓ Hexano, Acetato de Etilo, Etanol, Acetona, Acetonitrilo: fase fluida de la Cromatografía en Columna.
- ✓ Placas de TLC de sílice clásica o Cromatografía en Capa Fina.

Equipos:

- ✓ Licuadora Industrial para molienda de materia prima.
- ✓ Tamiz No. 12 para obtención de tamaño de partícula.
- ✓ Balanza digital Adventur Ohaus serie G1551202020548, cap. Max 210g, rango de medición 0.0001-210g. Voltaje: 8-14.5 V y frecuencia de 50-60 Hz.
- ✓ Equipo de extracción continua Soxlhet.
- ✓ Plancha de calentamiento con agitación, marca WJR, cat No. 12365-382. 120 Voltios AC, 900 watts, 50-60 Hertz 1 fase.
- ✓ Rotoevaporador marca Büchi, Voltaje 120. 50-60 Hz. Potencia: 120W.
- ✓ Bomba de Vacío marca GE Commercial motors. Modelo 0523-V4F-G588DX. Vacío hasta 26 mm Hg. r.p.m. 1725/1425

- ✓ Campana de extracción marca Serproma, Capacidad de motor: 3/4 Hp. Voltaje 110 y Potencia de 900W.
- ✓ Balanza, Denver Instrument. Modelo P-314.3
- ✓ Cromatógrafo HPLC marca Agilent. Modelo 1100.
- ✓ Bomba cuaternaria G1311A Quatpump. Marca Agilent 1100 Series.
- ✓ Detector Ultravioleta marca Agilent. 1100 Series. Modelo G1314a VWD.
- ✓ Automuestreador 1100 Series. Marca Agilent.
- ✓ Columna marca Agilent. Modelo Zorbax SB-C18 4.6 x 150mm, 5µm poro.
- ✓ Detector UV
- ✓ Secador Eléctrico
- ✓ Lámpara de Luz UV

Cristalería

- ✓ Balones Earlenmeyer de 500 mililitros
- ✓ Balones Earlenmeyer de 50 mililitros
- ✓ Embudos de vidrio marca Pyrex
- ✓ Probeta de 100 y 500 ml
- ✓ Condensador de bolas boquilla 24/40, marca Cornin-Pirex
- ✓ Termómetro de mercurio 0°-100°C
- ✓ Varillas de agitación
- ✓ Agitador magnético
- ✓ Vidrio de reloj
- ✓ Beakers de 50, 100 y 250 mililitros marca Pirex
- ✓ Varillas de agitación
- ✓ Probetas de 100 mililitros
- ✓ Micropipetas
- ✓ Viales ámbar 5ml para almacenamiento de oleorresinas y diluciones para inyección en HPLC.
- ✓ Picnómetro
- ✓ Matraz 50 ml
- ✓ Filtro de jeringa
- ✓ Pipetas Pasteur de vidrio
- ✓ Tubos de ensayo 13X100 mm (7ml) marca Pyrex.
- ✓ Bulbos para micropipetas.
- ✓ Gradilla de 13 mm y 90 plazas.
- ✓ Geringa de 10 ml
- ✓ Columna para cromatografía por columna
- ✓ Mascarilla 3M modelo 6200

Otros

- ✓ Guantes de látex, papel parafilm, arena de río, algodón
- ✓ Bolsas plásticas, papel mayordomo, y papel aluminio.

6.4 Técnica cuantitativa y cualitativa

6.4.1 Análisis cuantitativo de capsaicinoides en fase de oleorresina.

Análisis HPLC, de oleorresinas de Chile Cahabonero

Se realizó un análisis cuantitativo, en Cromatografía Líquida de Alta eficiencia HPLC, a las oleorresinas obtenidas por medio de los cuatro sistemas extractivos con el fin de conocer el porcentaje de Capsaicina y Dehidrocapsaicina contenidas en cada una y así determinar el sistema extractivo más eficiente.

La Cromatografía Líquida de Alta Eficiencia es una técnica de separación altamente versátil y se basa en la distribución de los componentes de una mezcla entre dos fases inmiscibles, una fija o estacionaria y otra móvil. Este es un líquido que fluye a través de una columna que contiene la fase fija. Actualmente es una herramienta analítica para separar, determinar y cuantificar compuestos químicos y son indispensables para los procedimientos de control de la calidad en la Industria Alimentaria y Farmacéutica.

Densidad de oleorresinas de Chile Cahabonero

Se analizó determinaron las densidades de las oleorresinas correspondientes a cada uno de los cuatro sistemas extractivos y se registraron las densidades obtenidas a partir de la división del peso en gramos dentro del volumen de oleorresinas.

6.4.2 Análisis cualitativo de capsaicinoides

Análisis en placas TLC, de extractos obtenidos en Cromatografía por Columna (Ensayos para obtención de Capsaicina).

Se realizó un análisis cualitativo en placas de TLC, de los extractos obtenidos mediante la técnica de Cromatografía por Columna las cuales fueron realizadas a partir de la oleorresina correspondiente al sistema extractivo de Maceración Dinámica con Acetonitrilo 100%. Este análisis cualitativo de los extractos obtenidos se realizó mediante un análisis teórico de los resultados obtenidos en las observaciones de las corridas en placas de TLC a través de una lámpara de luz UV.

Las placas de sílice clásica tienen una excelente eficacia de separación para una amplia gama de sustancias. Estos permiten el análisis de prácticamente cualquier sustancia cuando se combinan con una fase móvil adecuada. Cubren casi el 80% de las aplicaciones para adsorción y partición de cromatografía de capa fina. Se basan en gel de sílice 60 combinados con un aglutinante polimérico único lo que da como resultado una superficie uniforme y dura que no se agrieta ni se ampolla. Son utilizados en control de proceso para síntesis de fármacos. Pruebas de identidad y estabilidad de drogas. Control de calidad de productos farmacéuticos, alimentos y compuestos ambientales. Tienen un espesor de capa de 250µm para vidrio o 200 µm para láminas de aluminio o plástico, con tamaño de partícula promedio de 10 a 12 µm. Las láminas flexibles de aluminio o plástico se pueden cortar

fácilmente con tijeras para adaptarse a los requisitos de separación individuales. Para detección UV de sustancias incoloras existes dos tipos de indicadores fluorescentes inorgánicos: Verde fluorescente o fluorescente azul estable al ácido. Ambos emiten fluorescencia en luz UV a longitud de onda de excitación de 254 nm.

6.5 Procesamiento, tabulación y ordenamiento de la información

El procesamiento de la información y los registros de experimentos para las 3 fases generales: a) extracción de oleorresina cápsica mediante 4 sistemas extractivos, b) cuantificación de los principios pungentes Capsaicina y Dehidrocapsaicina en HPLC y c) ensayos de Extracción por Columna para el aislamiento de capsaicinoides, se describen en el siguiente orden:

6.5.1 Oleorresinas

Para la recolección de datos se utilizaron 2 Métodos extractivos y 4 solventes orgánicos para extracción de oleorresinas de Chile Cahabonero procedente de Sta María Cahabón, Alta Verapaz. Los rendimientos de oleorresinas fueron tabulados según el solvente y la técnica de extracción utilizada.

Tabla VI. Definición de parámetros para extracción de oleorresinas

PARÁMETROS	SOXLHET				MACERACIÓN DINÁMICA			
	Acetato de Etilo-Etanol-Agua		Acetato Etilo-Etanol		Acetonitrilo-Acetato de Etilo		Acetonitrilo	
Relación de solventes	82.2 : 9 : 7.8		93.9 : 6.1		50:50		100%	
T° de Ebullición	70.3°C		77 y 79 °C		82°C y 77°C		82°C	
Humedad de Muestra	Seco <10%		Seco <10%		Seco <10%		Seco <10%	
Tamaño de Partícula	Malla No. 8 y 12		Malla No. 8 y 12		Malla No. 8 y 12		Malla No. 8 y 12	
Muestra/solvente	1:10 p/v		1:10 p/v		1:15 p/v		1:15 p/v	
Tiempo de contacto muestra/solvente	No. repeticiones	Tiempo	No. repeticiones	Tiempo	No. repeticiones	Tiempo	No. repeticiones	Tiempo
	1	2.5	1	2.5	1	2.5	1	2.5
	2	2.5	2	2.5	2	2.5	2	2.5
	3	2.5	3	2.5	3	2.5	3	2.5
Temperatura de trabajo	T° de ebullición		T° de ebullición		50° C		50° C	
Agitación	NO		NO		500 rpm		500 rpm	
Filtración	NO		NO		SI		SI	
Rota Evaporación	SI		SI		SI		SI	
Rendimiento	SI		SI		SI		SI	
Densidad	SI		SI		SI		SI	

Fuente: Elaboración propia

Tabla VII. Diseño para recolección de rendimiento de oleorresinas

Método	Tipo y proporción solvente (%)	Tiempo (h)	Corrida	Rendimiento (%)	Rendimiento promedio (%)
Soxhlet/Maceración Dinámica.	X	2.5	1	A	X
			2	B	
			3	C	
	Y	2.5	1	A	Y
			2	B	
			3	C	

Fuente: Elaboración propia

Tabla VIII. Diseño para recolección de datos para densidades de oleorresinas

Método	Tipo y proporción solvente (%)	Tiempo (h)	Corrida	Densidad (%)	Densidad promedio (%)
Soxhlet/Maceración Dinámica.	X	2.5	1	A	X
			2	B	
			3	C	
	Y	2.5	1	A	Y
			2	B	
			3	C	

Fuente: Elaboración propia

6.5.2 Capsaicinoides en HPLC

Para la recolección de datos se utilizaron los resultados del análisis de la cuantificación de Capsaicina y Dehidrocapsaicina en Cromatografía Líquida de Alta Eficiencia HPLC, realizados a las oleorresinas de Chile Cahabonero.

Tabla IX. Diseño para recolección de concentración de capsaicinoides

Identificación de la muestra		Ppm		Total ppm	%p/p		Total %p/p	Promedio %ppm	Promedio % p/p
m.p	Solvente (%)	Corrida	C		DH	C			

Fuente: Elaboración propia

6.5.3 Ensayos de Cromatografía por Columna para aislamiento de Capsaicina

Se emplearon 2 columnas extractivas: una con alúmina ácida y otra con sílica gel 60. Se midió el volumen obtenido de la serie de eluatos de cada columna y posteriormente se realizó un análisis cualitativo en placas de TLC, con el fin de discriminar las condiciones óptimas de separación de Capsaicinoides por medio de Cromatografía en Columna.

Tabla X. Diseño para recolección de eluatos en ensayos de aislamiento

No. (Orden de elución)	Columna sílica gel 60		Columna alúmina ácida	
	Eluato	Volumen	Eluato	Volumen

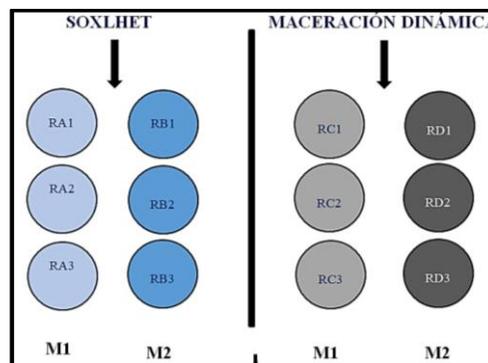
Fuente: Elaboración propia.

6.6 Tratamientos y combinaciones

6.6.1 Extracción de oleorresina y cuantificación en HPLC

El Chile Cahabonero trabajado fue propiamente del municipio de Sta. María Cahabón, Alta Verapaz empleando 2 solventes orgánicos para Soxhlet y 2 para Maceración Dinámica haciendo un total de 4 sistemas extractivos. Se realizaron 3 repeticiones por cada sistema extractivo equivalente a 6 unidades experimentales por cada método teniendo en total 12.

Cuadro IV. Esquema de tratamientos y combinaciones



Fuente: Elaboración Propia

Donde:

RA= Azeótropo conformado por Acetato de Etilo-Etanol-Agua (82.2:9.7:8)

RB= Mezcla de Acetato de Etilo-Etanol (93.9:6.1)

RC= Mezcla Acetato de Etilo: Acetonitrilo (50:50)

RD= Acetonitrilo (100%)

M1- M2 = Medias de los solventes extractivos.

6.6.2 Ensayos para aislamiento de Capsaicina

Se prepararon únicamente 2 columnas extractivas variando el adsorbente: En la primera columna se empleó Sílica Gel 60 y en la segunda Alúmina Ácida Debido a que los ensayos para el aislamiento de Capsaicina se realizaron con el fin de discernir las mejores condiciones de separación utilizando en este método.

6.7 Manejo Experimental de oleorresinas y cuantificación en HPLC

6.7.1 Manejo y tratamiento de muestras

Análisis de humedad y secado del Chile Cahabonero

Se obtuvo el Chile Cahabonero, del municipio de Santa María Cahabón de Alta Verapaz. La humedad de la materia prima es un punto crítico a controlar debido a su influencia en el proceso de extracción de oleorresinas el cual actúa como sustancia interferente para la recuperación óptima de los compuestos deseados, por ello el producto seco se evaluó para verificar su contenido de humedad el cual debe de estar <10%, determinando en el laboratorio VERTICAL un porcentaje de 13.01% mediante el método NTE_INEN_63. Quesos. “Determinación del Contenido de Humedad”. Por el resultado obtenido se realizó un proceso de secado solar estimando los valores peso/tiempo mediante curvas de humedad hasta alcanzar una humedad de por debajo del 10%.

Molienda

Con el fin de obtener el tamaño de partícula deseado para lograr un área de transferencia de masa eficiente se procedió a la molienda de la muestra de Chile Cahabonero previo a los procesos de lixiviación con 2 métodos y 4 solventes orgánicos. Una vez obtenida la molienda se guardó la muestra molida en bolsas plásticas de cierre hermético.

Tamizado

El producto molido se tamizó y se tomaron las partículas que pasaron el tamiz no. 8 y las que retuvo el no. 12.

6.7.2 Condiciones de extracción de oleorresinas

Debido a que los 4 sistemas extractivos fueron propuestos específicamente para potenciar y comparar la eficiencia de extracción de Capsaicinoides a través de la extracción de oleorresinas, se analizaron los solventes utilizados en función de la capacidad de arrastre y de la seguridad para su manipulación en los métodos respectivos teniendo en cuenta que presente riesgos menores poniendo mucha atención a la ebullición del solvente.

Para el método Soxhlet se seleccionó el azeótropo formado por Acetato de Etilo-Etanol-Agua (82.2:9.7:8) y la mezcla de Acetato de Etilo-Etanol (93.9:6.1) y se trabajó con

una relación de muestra/ solvente de 1:20 (p/v) a temperatura de ebullición de los solventes y 2.5 horas. Se realizaron repeticiones para cada solvente y la temperatura se programó en una plancha de calentamiento.

Para Maceración Dinámica se seleccionaron los solventes más convenientes en cuanto al menor riesgo en el manejo y eficiencia extractiva: Acetato de Etilo: Acetonitrilo (50:50) y Acetonitrilo (100%) se realizaron repeticiones de cada solvente empleando un tiempo de 2.5 h a temperatura de 50°C y agitación constante a 500 rpm. Para el control de la temperatura y agitación se utilizó una plancha de calentamiento y agitación magnética.

Los factores más importantes que influyen el proceso de extracción son el tamaño de partícula, tiempo de extracción, naturaleza del solvente y la temperatura.

El tamaño de partícula

Se definido para los 4 sistemas extractivos fueron las que pasaron el tamiz no. 8 y las que retuvo el no. 12, basado en fuentes bibliográficas de estudios similares. Esto busca obtener un mayor contacto entre muestra solvente sin embargo las partículas muy finas tampoco son recomendables debido al problema de compactación que presentan para el método de Maceración Dinámica lo cual hacen necesario un proceso de filtrado.

El tiempo de extracción

Fue de 2.5 horas tanto para los sistemas extractivos por el método Soxhlet como para Maceración dinámica.

Naturaleza de Solventes

Los utilizados fueron analizados y seleccionados en base a las características fisicoquímicas y específicas de las moléculas de Capsaicina y Dehidrocapsaicina buscando las partes polares en las cuales el solvente o combinación de solventes pudiesen arrastrar los compuestos para potenciar la extracción y la calidad de la oleoresina en cuanto a nivel de pungencia.

Velocidad de agitación

La importancia de la agitación es hacer que el solvente entre en contacto con el sólido de manera más eficiente alcanzando un nuevo punto de equilibrio de saturación, aumentando la eficacia del proceso o extracción.

Temperatura

Facilita la disolución de las sustancias extraíbles y al igual que la agitación, el aumento de la temperatura contribuye al desplazamiento de la constante de equilibrio de saturación aumentando la eficiencia del proceso.

Filtración

Las muestras obtenidas por Maceración dinámica fueron filtradas con un quitasato al vacío utilizando una manta y posteriormente se midieron las densidades para ambos métodos.

Concentración

Se llevó a cabo en un rotovapor a temperatura de ebullición para cada solvente utilizado durante la extracción. Posteriormente se almacenaron las oleorresinas identificándolas debidamente en viales ámbar para su posterior separación, identificación y cuantificación de capsaicinoides en HPLC.

6.7.3 Condiciones del equipo HPLC para cuantificación de capsaicinoides, basando el procedimiento de cuantificación del método ASTA Analytical No. 21.3

Preparación de Solución Stock

Se pesaron 10.5 mg de estándar de capsaicina y 11.8 mg de dehidrocapsaicina en dos balones de 10 mililitros y se agregó etanol grado cromatográfico hasta aforar cada balón. La proporción del estándar fue de 0.01g de patrón en 10ml de etanol rectificado (Equivalente a 1000 ppm.) Es importante el uso de guantes y mascarilla para evitar manipular e inhalar los compuestos concentrados por su alta irritabilidad de la piel y las mucosas.

Preparación de estándares

Partiendo de la solución Stock de Capsaicina y Dehidrocapsaicina se realizaron las diluciones correspondientes para obtener soluciones más diluidas. La concentraciones de la curva de calibración se hicieron mezclando ciertas cantidades de las soluciones madre de Capsaicina y Dehidrocapsaicina (1000ppm) y se agregaron a un balón de 10 mililitros agregando etanol rectificado hasta el punto de aforo.

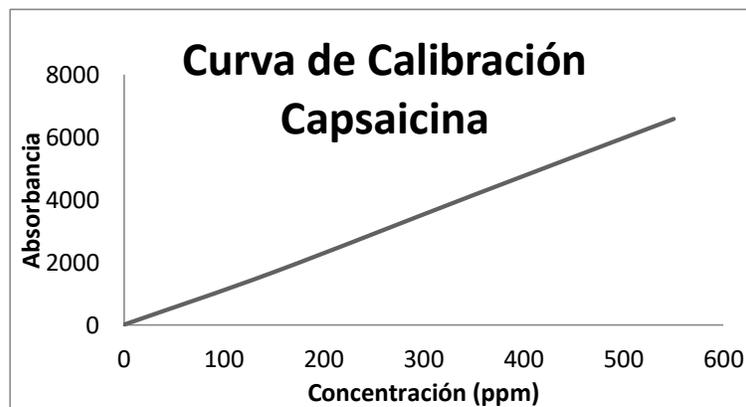
Curva de calibración

Se inyectaron 20 μ L de cada uno de los estándares y se realizó una correlación de mínimos cuadrados entre la concentración de Capsaicina y Dehidrocapsaicina y su respectiva área de pico presente en el cromatograma obtenido. Estas fueron las referencias necesarias para las mediciones las muestras de oleorresinas.

Tabla XI. Concentración de patrones y áreas de pico.

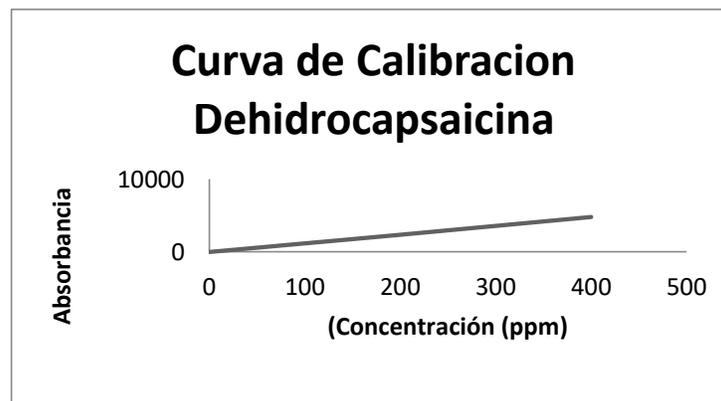
Estándar	Concentraciones	Área
1	150 ppm Capsaicina	1681.47 Capsaicina
	100 ppm Dehidrocapsaicina	1184.99 Dehidrocapsaicina
2	350 ppm Capsaicina	4153.68 Capsaicina
	200 ppm Dihidrocapsaicina	2365.21 Dehidrocapsaicina
3	550 ppm Capsaicina	6590.78 Capsaicina
	400 ppm Dehidrocapsaicina	4819.86 Dehidrocapsaicina

Fuente: I2QB3, UMG, cromatografía líquido de alta eficiencia.

Cuadro V. Curva de calibración Capsaicina


$$R = 0,9984 \quad m = 12,0385 \quad b = -51,8298$$

Fuente: I2QB3, UMG, cromatografía líquida de alta eficiencia.

Cuadro VI. Curva de calibración Dehidrocapsaicina


$$R = 0,99996 \quad m = 12,0645 \quad b = 15,2400$$

Fuente: I2QB3, UMG, Cromatografía Líquido de Alta Eficiencia.

6.7.4 Cuantificación de muestras en HPLC

Una vez preparados los estándares y obtenidas las curvas de calibración, las muestras fueron preparadas en orden y luego se tomaron 100 mg de oleoresina para cada muestra (Excepto la unidad experimental “RD1” correspondiente a la oleoresina obtenida con Acetonitrilo en Maceración Dinámica, esta no contenía la cantidad requerida para el análisis, debido a repetidas proyecciones en el rotovapor y los lavados realizados para su recuperación, por lo cual los compuestos analizados no fueron detectados en HPLC).

Posteriormente se agregaron de 2 – 3 ml de acetona grado reactivo al 95% en un matraces de 50 ml y llevaron a aforo con etanol grado reactivo al 95%. Se tomaron de 4-5 ml de muestra de la cual se descartaron los primeros 2 ml y se filtraron utilizando filtros de jeringa y a la vez fueron depositados en viales ámbar e identificados para luego ser colocados en la canasta des automuestreador. El equipo de HPLC fue programado para trabajar bajo las siguientes condiciones:

Tabla XII. Condiciones de separación, identificación y cuantificación de C y DHC

Nombre	Especificación
Fase Estacionaria	Columna ZORBAX SB-C18, Agilet fase reversa, Acero Inoxidable. 4.6 x 150 m, 5 µm tamaño partícula.
Fase móvil	Acetonitrilo + Agua / 65:35
Flujo de inyección	1ml/min
Longitud de onda	UV-VIS 280nm
Temperatura de columna	30°C
Volumen de inyección	20µl

Fuente: Elaboración propia en base a datos del I²QB³/UMG, HPLC.

Se realizó la determinación de la concentración de capsaicinoides utilizando los estándares (Capsaicina Marca Sigma 95% y Dehidrocapsaicina Marca Sigma 85%). Las gráficas de calibración fueron expresadas como áreas de pico cromatográfico de estándar vs su correspondiente concentración de estándar en el rango especificado con anterioridad. (No se aplica para la muestra RD1, debido a que no tenía una cantidad suficiente para pesar)

El límite de detección se determinó utilizando la señal proveniente del blanco más tres desviaciones estándar de la señal de ruido instrumental, asumiendo una distribución normal con respecto a la regresión lineal obtenida de los datos experimentales en el rango de concentraciones establecidas.

6.7.5 Determinación de Unidades de Calor Scoville (SHU)

Para calcular las Unidades Scoville (SHU) o la pungencia para cada muestra se multiplica la concentración de capsaicina presente (g/g) por el SHU de los compuestos puros (16000000 SHU para Capsaicina y Dehidrocapsaicina) empleando la siguiente fórmula:

$$(\text{Capsaicina (g/g)} \times (16 \times 10^6)) = \text{Pungencia en Unidades Scoville}$$

Aplica también para la Dehidrocapsaicina (con 16000000 SHU)

6.8 Manejo experimental para ensayos de aislamiento de Capsaicina

Con el fin de discriminar las condiciones óptimas para una posible metodología de aislamiento de Capsaicina, se trabajó con la oleoresina del sistema extractivo con mayor concentración de Capsaicina y Dehidrocapsaicina determinados en HPLC. Para ello se replicaron las 3 extracciones de oleoresina con Acetonitrilo 100% en Maceración Dinámica, para una cantidad de muestra de 20g, relación muestra solvente m/p 1:15, tiempo de 2.5h a 500 rpm y calentamiento a 50° C. Posteriormente la muestra se guardó en viales para contar con la materia prima necesaria para 2 ensayos en Cromatografía por Columna. Dichas muestras se utilizarán directamente sin dilución, tal y como se obtienen de la maceración dinámica.

6.8.1 Análisis de características físicas y químicas de la Capsaicina

- Fórmula: $C_{18}H_{27}O_3N$.
- Peso molecular: 305.199 g/mol; C 70,78 %, H 8,9 %, N 4,59 %, O 15,72 %.
- Punto de fusión: 337.65 K (64.65 °C).
- Punto de ebullición: 438 – 493 K (210 – 220 °C).
- Forma cristales en forma de aguja, es inodora.
- A una presión absoluta de 0.01 mmHg, sublima a 115 °C.
- Insoluble en agua a temperatura ambiente y soluble en: éter etílico, alcohol etílico, acetona, alcohol metílico, ácido acético, tetracloruro de carbono, benceno y álcalis calientes, grasas, aceites.
- Por la presencia de un anillo bencénico, los capsaicinoides pueden absorber la luz en la región ultravioleta (UV), como su máxima absorción, a una longitud de onda de 227 - 281 nm.
- Cristaliza en forma de placas rectangulares, monoclinicas; escamas en éter de petróleo. Insoluble en agua fría, fácilmente soluble en álcalis, éter, benceno y cloroformo.
- Test de ardor: 1:100.000 (detección)
- La capsaicina purificada, diluida cien mil veces, sigue siendo tan activa que aún es capaz de producir ampollas en la lengua.

“Capsaicina, Dihidrocapsaicina y Nordihidrocapsaicina representan el 90 % del contenido de estos presentes en las variedades de chiles, los demás capsaicinoides en conjunto representan el 10 %”.

Tabla XIII. Análisis de solventes (fase móvil)

Serie elutropica	Índice Polaridad	P.Eb. °C	P. Vap (mbar) 20°C	Viscosidad Dinámica (mPa.s) 22°C/40°C		Constante Dieléctrica DK (20 o 25°C)	Momento Dipolar (Debye)	Coeficiente de flujo x (mm ² /s) Silica Gel 60. Placa Pre-recubierta 20°C Distancia de migración (mm)			Masa molar (g/mol)	Índice de Refracción
								50	75	100		
n-Hexano	0.0	68.9	160	0.40	0.33	1.9	0	12.5	13.9	14.6	86.18	1.375
Acetonitrilo	6.2	81.6	97	0.39	-	37.5	3.44	12.6	14.0	15.4	41.05	1.344
Acetato de etilo	4.3	77.1	97	0.44	0.36	6.0	1.78	9.5	10.9	12.1	88.10	1.372
Acetona	5.4	56.2	233	0.32	0.27	20.7	2.70	12.7	14.7	16.2	58.08	1.359
Etanol	5.2	78.5	53	1.20	0.83	24.3	1.70	3.4	3.9	4.2	46.07	1.361
Agua	9.0	100	23	0.95	0.65	80.2	1.85	5.1	5.7	5.8	18.01	1.333

Fuente: Elaboración Propia

Tabla XIV. Miscibilidad entre solventes orgánicos para Fases Móviles.

No	Solvente	Solubilidad
1	n-Hexano	Acetato de Etilo, Acetona, Ciclohexano, Cloroformo, Etanol, Eter Dietilico, Hexano.
2	Acetonitrilo	Acetato de etilo, Acetona, Acetonitrilo, Cloroformo, Diclorometano, Etanol, Eter Dietilico, Metanol, Tolueno.
3	Acetato de etilo	Acetato de etilo, Acetona, Acetonitrilo, Cloroformo, Diclorometano, Etanol, Eter Dietilico, Metanol, Tolueno.
4	Acetona	Acetato de etilo, Acetona, Acetonitrilo, Cloroformo, Diclorometano, Etanol, Eter Dietilico, Metanol, Tolueno.
5	Etanol	Acetato de etilo, Acetona, Acetonitrilo, Cloroformo, Diclorometano, Etanol, Eter Dietilico, Metanol, Tolueno.
6	Agua	Acetona, Acetonitrilo, Agua, Etanol, Metanol.

Fuente: Elaboración Propia

6.8.2 Cromatografía en Columna

Preparación de la columna de la Sílica gel 60

Se insertó algodón en el fondo de la columna utilizando una varilla de vidrio y se introdujo de 3 a 5 cm de arena de mar sobre la capa de algodón. Luego se introdujeron 30

cm³ de una disolución de Acetona/Hexano en proporción 7:3 con la llave de la columna cerrada. Se adicionaron 10 g de Sílica gel y se dejó asentar.

Preparación de la columna de la Sílica gel 60

Se drenó la alúmina a 100°C en horno eléctrico por 24 horas y se insertar algodón mediante una varilla de vidrio hasta el fondo de la columna. Se introdujo de 3 a 5 cm de arena de mar sobre la capa de algodón y se añadieron 30 ml de disolución de Etanol grado absoluto estando la llave cerrada. Posteriormente se adicionaron 25 g de alúmina, tomada directamente del desecador y pesada en caliente para luego dejar asentar. Se drenó la columna hasta 0.5 cm por arriba de la superficie de la alúmina y se adicionaron 3 cm de arena de mar sobre la superficie de la Alúmina.

6.8.3 Técnica extractiva en Sílica gel

Se transfirieron 2 cm³ del extracto de oleorresina a la columna y se drenó la columna aproximadamente 0.5 cm por arriba de la Sílica. Se lavó la Sílica gel con Hexano, Acetato de Etilo, Acetona y se drenó hasta 0.5 cm por arriba de la alúmina después de los primeros lavados. La columna se deja drenar hasta sequedad después del último lavado. Se procedió a eluir la capsaicina con 30 ml de Acetonitrilo pureza absoluta; se recolectó el lavado y después de la evaporación del solvente se guadó en viales para su análisis posterior.

6.8.4 Técnica extractiva en Alúmina

Se transfirieron 2 cm³ del extracto de oleorresina a la columna y se drenó aproximadamente 0.5 cm por arriba de la alúmina. Se lavó la alúmina con Hexano, acetato de etilo, Etanol, en proporciones y se drenó hasta 0.5 cm por arriba de la alúmina después de los primeros lavados. La columna se dejó drenar hasta sequedad después del último lavado y procedió a eluir la capsaicina con 30 ml de Acetonitrilo pureza absoluta recolectando el lavado y posterior a la evaporación del solvente se guardó en viales para su análisis posterior.

Los flujos a utilizado en el procedimiento de cromatografía fue aproximadamente de 4 cm³/minuto para los lavados tanto de las sustancias interferentes como para el resto de sustancias presentes en la oleorresina.

6.8.5 Identificación de capsaicinoides por Cromatografía en Capa Fina TLC.

Se seleccionaron determinados eluatos obtenidos (ver tabla XXV) y se identificaron en placas de TLC de Sílica gel como soporte o fase estacionaria y Acetona/Etanol como fase móvil en proporción de 7:3 para 2 placas y Hexano como fase móvil para dos placas más. Se realizaron siembras de las muestras desarrollando la cromatoplaça y se revelaron mediante luz UV o fluorescencia.

6.9 Análisis Estadístico

6.9.1 Variables Independientes

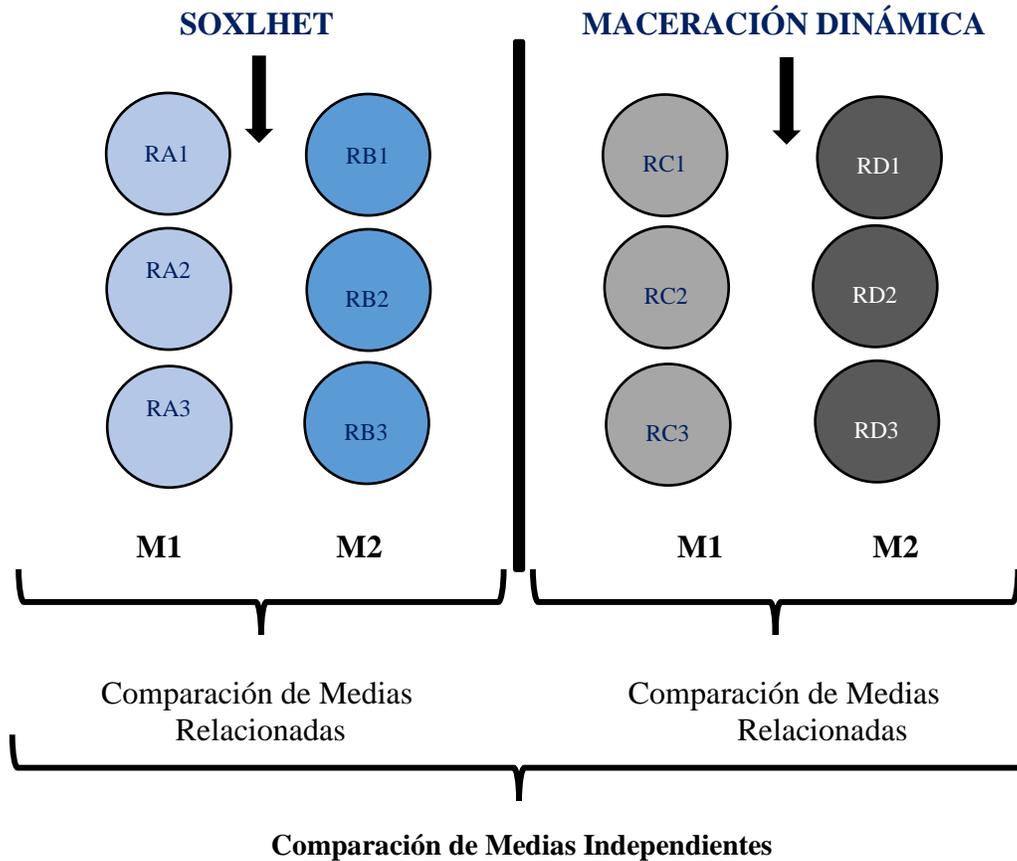
Técnica Extractiva
Solvente Extractivos

6.9.2 Variables de respuesta

% de rendimiento de oleoresina
Concentración de Capsaicinoides (p/p%)

6.9.3 Tratamientos y Combinaciones

Cuadro VI. Esquema de análisis de tratamientos y combinaciones



Donde:

RA= Azeótropo conformado por Acetato de Etilo-Etanol-Agua (82.2:9.7:8)

RB= Mezcla de Acetato de Etilo-Etanol (93.9:6.1)

RC= Mezcla Acetato de Etilo: Acetonitrilo (50:50)

RD= Acetonitrilo (100%)

M1- M2 = Medias de los rendimientos de oleorresina y concentración de Capsaicinoides.

6.10 Modelo Estadístico

6.10.1 Prueba t para medias de dos muestras emparejadas

Para determinar las diferencias entre las medias de los rendimientos de extracción de oleorresina y la concentración de capsaicinoides entre los solventes de cada método, se utilizó la Distribución t Student y el estadístico de prueba de hipótesis para Diferencia de Medias Pareadas para $n < 30$.

Dos medias son dependientes o pareadas cuando proceden de grupos o muestras dependientes, esto es, cuando existe una relación entre las observaciones de las muestras.

Supuestos:

Normalidad: Solo es aplicable si se puede asumir que las dos poblaciones que se comparan se distribuyen de forma normal. La normalidad se tiene que cumplir en las poblaciones. Sin embargo, cuando no se dispone de información sobre las poblaciones, la única forma de estimar su distribución es a partir de las muestras.

Varianza: No es necesario que las variancias de ambos grupos sean iguales (homocedasticidad no necesaria).

Hipótesis: $H_0 (\mu d=0)$ / $H_a (\mu d \neq 0)$

Estadístico o parámetro estimado: El estadístico es el valor que se calcula a partir de la muestra y que se quiere extrapolar a la población de origen. En este caso es el promedio de las diferencias entre cada par de observaciones.

Tipo de test: dos colas, $\alpha=0.05$

Prueba estadística:

$$t_0 = \frac{\bar{D}_0}{s_D / \sqrt{n}}$$

Donde:

1. “ t_0 ” tiene probabilidad de ocurrencia en la tabla de distribución t de Student con $n-1$ grados de libertad.
2. \bar{D} es la diferencia promedio entre las parejas de datos.
3. s_D es la desviación estándar de las diferencias entre las parejas de datos.
4. n es el tamaño de la muestra (número de parejas de datos).

6.10.2 Prueba t para medias de dos muestras Independientes

Para la determinar las diferencias entre las medias de los rendimientos de extracción de oleoresina y la concentración de capsaicinoides entre cada método se utilizó la Distribución t Student y el estadístico de prueba de hipótesis para Diferencia de Medias Independientes para $n < 30$

Supuestos:

Independencia: Las observaciones tienen que ser independientes unas de las otras. Para ello el muestreo debe ser aleatorio y el tamaño de la muestra inferior al 10% de la población.

Normalidad: Las poblaciones que se comparan tienen que distribuirse de forma normal. A pesar de que la condición de normalidad recae sobre las poblaciones, normalmente no se dispone de información sobre ellas por lo que las muestras (dado que son reflejo de la población) tienen que distribuirse de forma aproximadamente normal. En caso de cierta asimetría los *t-test* son considerablemente robustos cuando el tamaño de las muestras es mayor o igual a 30.

Igualdad de varianza (homocedasticidad): la varianza de ambas poblaciones comparadas debe de ser igual.

Hipótesis: $H_0 (\mu d=0) / H_a (\mu d \neq 0)$

Estadístico o parámetro estimado: El estadístico es el valor que se calcula a partir de la muestra y que se quiere extrapolar a la población de origen. En este caso es el promedio de las diferencias entre cada par de observaciones.

Tipo de test: dos colas, $\alpha=0.05$

Prueba estadística:

$$t_0 = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{\sqrt{s^2 \times \left[\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2} \right]}}$$

1. “ t_0 ” tiene probabilidad de ocurrencia en la tabla de distribución t de Student con $n_1 + n_2 - 2$ grados de libertad.

2. $s^2 = \frac{(n_1 - 1)s_1^2 + (n_2 - 1)s_2^2}{n_1 + n_2 - 2}$ es la varianza común estimada.

3. \bar{x}_1 es el promedio de la muestra 1 y \bar{x}_2 es el promedio de la muestra 2.
 4. n_1 y n_2 son los tamaños de las respectivas muestras.

6.10.3 Análisis de medias para rendimiento de oleorresinas

Prueba t de medias emparejadas:

Cuadro VI. Oleorresinas obtenidas por solventes empleados en el método Soxhlet.

Prueba t para medias de dos muestras emparejadas		
Parámetro	Solvente A	Solvente B
Media	10,20733333	15,1748333
Varianza	5,687341583	23,9123181
Observaciones	3	3
Coefficiente de correlación de Pearson	-0,97704205	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	2	
Estadístico t	-1,188730629	
P(T<=t) una cola	0,178278421	
Valor crítico de t (una cola)	2,91998558	
P(T<=t) dos colas	0,356556843	
Valor crítico de t (dos colas)	4,30265273	

Fuente: Elaboración propia

Solvente A= Acetato de Etilo-Etanol-Agua (82.2:9.7:8)

Solvente B= Acetato de Etilo-Etanol (93.9:6.1)

La hipótesis alternativa ($\mu_d \neq 0$) es rechazada debido a que el valor crítico de t (dos colas) es superior al estadístico t calculado cuyo valor absoluto es menor. Lo que significa que las medias entre los rendimientos obtenidos empleando los solventes del método Soxhlet son iguales con un nivel de significancia de 0.05%

Cuadro VII. Oleorresinas obtenidas por solventes empleados en Maceración Dinámica.

Prueba t para medias de dos muestras emparejadas		
Parámetro	Solvente C	Solvente D
Media	7,53043333	5,6281
Varianza	12,3999168	6,50127433
Observaciones	3	3
Coefficiente de correlación de Pearson	0,6589212	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	2	
Estadístico t	1,23929317	
P(T<=t) una cola	0,17046823	
Valor crítico de t (una cola)	2,91998558	
P(T<=t) dos colas	0,34093646	
Valor crítico de t (dos colas)	4,30265273	

Fuente: Elaboración propia

Solvente C= Acetato de Etilo-Acetonitrilo (50:50)

Solvente D= Acetonitrilo (100%)

La hipótesis alternativa ($\mu_d \neq 0$) es rechazada debido a que el valor crítico de t (dos colas) es superior al estadístico t calculado cuyo valor absoluto es menor. Lo que significa que las medias entre los rendimientos obtenidos empleando los solventes del método Maceración Dinámica son iguales con un nivel de significancia de 0.05%

Prueba t para Medias Independientes

Cuadro VIII. Oleorresinas obtenidas en el Método Soxhlet y Maceración Dinámica.

Prueba t para medias de dos muestras Independientes		
Parámetro	Soxhlet	M. Dinámica
Media	12,6960833	6,57926667
Varianza	19,2173297	8,6461381
Observaciones	6	6
Coefficiente de correlación de Pearson	-0,11899478	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	5	
Estadístico t	2,69403231	
P(T<=t) una cola	0,02154518	
Valor crítico de t (una cola)	2,01504837	
P(T<=t) dos colas	0,04309035	
Valor crítico de t (dos colas)	2,57058184	

Fuente: Elaboración propia

Soxhlet= Acetato de Etilo-Etanol-Agua y Acetato de Etilo-Etanol.

Maceración Dinámica= Acetato de Etilo-Acetonitrilo y Acetonitrilo.

La hipótesis alternativa ($\mu_d \neq 0$ ó $\mu_d > 0$) es aceptada debido a que el valor crítico de t (dos colas) es inferior al estadístico t calculado cuyo valor absoluto es mayor. Lo que significa que la media de los rendimientos de oleorresinas obtenidas empleando el método Soxhlet es mayor que los de Maceración Dinámica, con un nivel de significancia de 0.05%

6.11.3 Análisis de medias para para contenido de Capsaicinoides (C y DHC)

Análisis de Medias Emparejadas:

Cuadro IX. Concentración de capsaicinoides recuperados en oleorresinas obtenidas por el método Soxhlet.

Prueba t para medias de dos muestras emparejadas		
Parámetro	Oleorresinas del Solvente A	Oleorresinas del Solvente B
Media	2,21333333	2,84333333
Varianza	0,53343333	0,80123333
Observaciones	3	3
Coefficiente de correlación de Pearson	0,96905827	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	2	



Estadístico t	-4,19689234	
P(T<=t) una cola	0,02617737	
Valor crítico de t (una cola)	2,91998558	
P(T<=t) dos colas	0,05235475	
Valor crítico de t (dos colas)	4,30265273	

Fuente: Elaboración propia

Oleorresinas del solvente A= Acetato de Etilo-Etanol-Agua (82.2:9.7:8)

Oleorresinas del solvente B= Acetato de Etilo-Etanol (93.9:6.1)

La hipótesis alternativa ($\mu \neq 0$) es rechazada debido a que el valor crítico de t (dos colas) es superior al estadístico t calculado cuyo valor absoluto es menor. Lo que significa que las medias entre la concentración de Capsaicina y Dehidrocapsaicina recuperadas en las oleorresinas empleando los solventes del método Soxhlet son iguales con un nivel de significancia de 0.05%.

Cuadro X. Concentración de capsaicinoides recuperados en oleorresinas obtenidas por Maceración Dinámica.

Prueba t para medias de dos muestras emparejadas		
Parámetro	Solvente C	Solvente D
Media	4,54333333	5,24333333
Varianza	10,4356333	21,1744333
Observaciones	3	3
Coefficiente de correlación de Pearson	0,39340586	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	2	
Estadístico t	-0,27169292	
P(T<=t) una cola	0,40566712	
Valor crítico de t (una cola)	2,91998558	
P(T<=t) dos colas	0,81133423	
Valor crítico de t (dos colas)	4,30265273	

Fuente: Elaboración propia

Oleorresinas del solvente C= Acetato de Etilo-Acetonitrilo (50:50)

Oleorresinas del solvente D= Acetonitrilo (100%)

La hipótesis alternativa ($\mu \neq 0$) es rechazada debido a que el valor crítico de t (dos colas) es superior al estadístico t calculado cuyo valor absoluto es menor. Lo que significa

que las medias entre la concentración de Capsaicina y Dehidrocapsaicina recuperadas en las oleorresinas empleando los solventes de la Maceración Dinámica son iguales con un nivel de significancia de 0.05%.

Análisis de Medias Independientes:

Cuadro XI. Concentración de capsaicoides recuperados en oleorresinas obtenidas por Soxhlet y Maceración Dinámica.

Prueba t para medias de dos muestras independientes		
Parámetro	Soxhlet	M. Dinámica
Media	2,52833333	4,89333333
Varianza	0,65293667	12,7910267
Observaciones	6	6
Coeficiente de correlación de Pearson	6,72198167	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	10	
Estadístico t	-1,57994915	
P(T<=t) una cola	0,07259959	
Valor crítico de t (una cola)	1,81246112	
P(T<=t) dos colas	0,14519918	
Valor crítico de t (dos colas)	2,22813885	

Fuente: Elaboración propia

Soxhlet= Acetato de Etilo-Etanol-Agua y Acetato de Etilo-Etanol.

Maceración Dinámica= Acetato de Etilo-Acetonitrilo y Acetonitrilo.

La hipótesis alternativa ($\mu \neq 0$) es rechazada debido a que el valor crítico de t (dos colas) es superior al estadístico t calculado cuyo valor absoluto es menor. Lo que significa que las medias entre la concentración de Capsaicina y Dehidrocapsaicina recuperadas en las oleorresinas obtenidas por el método Soxhlet y Maceración Dinámica son iguales con un nivel de significancia de 0.05%.

7. RESULTADOS

7.1 Extracción de oleorresinas

7.1.1 Rendimientos

Tabla XV. Porcentaje de rendimiento de oleorresinas de Chile Cahabonero extraídas mediante el método Soxhlet.

M.p	Tipo y proporción solvente (%)	Tiempo (h)	Corrida	Rendimiento (%)	Rendimiento promedio (%)
Chile Cahabonero proveniente de Sta. María Cahabon. A.V.	Acetato de Etilo+Etanol+Agua (82,2:9:7,8)	2.5	RA1	7.6635	10.20.63 +/-2.38
			RA2	10.5660	
			RA3	12.3925	
	Acetato de Etilo+Etanol (93,9:6,1)	2.5	RB1	19.8105	15.1748 +/- 4.89
			RB2	15.6490	
			RB3	10.0650	

Fuente: Datos experimentales LIEXVE.

Tabla XVI. Porcentaje de rendimiento de oleorresina de Chile Cahabonero extraídas mediante Maceración Dinámica.

M.p	Tipo y proporción solvente (%)	Tiempo (h)	Corrida	Rendimiento (%)	Rendimiento promedio (%)
Chile Cahabonero proveniente de Sta. María Cahabon. A.V.	Acetato de Etilo+Acetonitrilo (50:50)	2.5	RC1	10.0617	7.5304+/-2.380
			RC2	9.0206	
			RC3	3.5090	
	Acetonitrilo (100)	2.5	RD1	8.5690	5.6281 +/- 2.5497
			RD2	4.2785	
			RD3	4.0368	

Fuente: Datos experimentales LIEXVE.

7.1.2 Densidad de oleorresinas

Tabla XVII. Densidad de oleorresina de Chile Cahabonero extraídas mediante el método Soxhlet.

M.p	Tipo y proporción solvente (%)	Tiempo (h)	Corrida	Densidad	Densidad promedio
Oleorresina de Chile Cahabonero proveniente de Sta. María Cahabon. A.V.	Acetato de Etilo+Etanol+Agua (82,2:9:7,8)	2.5	RA1	1.0214	1.0221
			RA2	1.0180	
			RA3	1.0270	
	Acetato de Etilo+Etanol (93,9:6,1)	2.5	RB1	0.9074	0.9771
			RB2	0.9076	
			RB3	1.1165	

Fuente: Elaboración propia.

Tabla XVIII. Densidad de oleorresinas de Chile Cahabonero extraídas mediante Maceración Dinámica.

M.p	Tipo y proporción solvente (%)	Tiempo (h)	Corrida	Densidad	Densidad promedio
Oleorresina de Chile Cahabonero proveniente de Sta. María Cahabon. A.v.	Acetato de Etilo+Acetonitrilo (50:50)	2.5	RC1	1.0220	1.0721
			RC2	1.0320	
			RC3	1.0620	
	Acetonitrilo (100)	2.5	RD1	0.8935	0.9071
			RD2	0.9102	
			RD3	0.9200	

Fuente: Elaboración propia.

7.2 Capsaicina y Dehidrocapsaicina recuperadas

7.2.1 Concentraciones

Tabla XIX. Rendimiento de C y DHC en oleorresinas extraídas mediante Soxhlet

Identificación de la muestra			ppm		Total ppm	%p/p		Total %p/p	Promedio ppm	Promedio % p/p
M.p	Solvente (%)	Corrida	C	DHC		C	DHC			
Oleorresinas Chile Cahabonero	Acetato de Etilo+Etanol+agua (82,2:9:7,8)	RA1	182.3341	119.98	302.3141	1.59	1.04	2.63	236.7099	2.1800%
		RA2	155.9687	105.64	261.6087	1.54	1.00	2.54		
		RA3	88.4769	57.73	146.2069	0.83	0.54	1.37		
	Acetato de Etilo+Etanol (93,9:6,1)	RB1	217.2637	150.63	367.8937	2.10	1.46	3.56	296.4175	2.8433%
		RB2	190.9315	129.14	320.0715	1.87	1.26	3.13		
		RB3	119.4774	81.81	201.2874	1.09	0.75	1.84		

Fuente: Elaboración propia en base a datos experimentales I²QB³/UMG

Tabla XX. Rendimiento de C y DHC en oleorresinas extraídas por M. Dinámica

Identificación de la muestra			Ppm		Total ppm	%p/p		Total %p/p	Promedio ppm	Promedio % p/p
m.p	Solvente (%)	Corrida	C	DHC		C	DHC			
Oleorresinas Chile Cahabonero	Acetato de Etilo+Acetonitrilo (50:50)	RC1	155.9687	105.64	161.6087	1.55	0.99	2.54	281.2567	4.5400%
		RC2	182.8076	119.08	301.8876	1.71	1.11	2.82		
		RC3	227.0240	153.25	380.2740	4.94	3.33	8.27		
	Acetonitrilo (100)	RD1	ND	ND	ND	ND	ND	ND	817.1642	7.8850%
		RD2	523.8301	353.52	877.3501	5.14	3.47	8.61		
		RD3	451.6284	305.35	756.9784	4.25	2.87	7.16		

Fuente: Elaboración propia en base a datos experimentales I²QB³/UMG

ND= No detectado. Esto se debió a la poca cantidad de oleorresina obtenida por errores sistemáticos durante el proceso extractivo y la rotaevaporación dando lugar a una pérdida considerable de oleorresina. El promedio de RD se basa únicamente en RD2 Y RD3.

Tabla XXI. Unidades de Calor Scoville para oleorresinas extraídas mediante Soxhlet

Identificación de la muestra			g C/g Oleorresina	g DH/g Oleorresina	g capsaicinoides/ g Oleorresina	*10 ⁶ (SHU)	Promedio (SHU)
m.p	Solvente (%)	Corrida					
Oleorresinas Chile cababonero	Acetato de Etilo+Etanol+Agua (82,2:9:7,8)	RA1	0.0159	0.0104	0.0263	420800	348800
		RA2	0.0154	0.0100	0.0254	406400	
		RA3	0.0083	0.0054	0.0137	219200	
	Acetato de Etilo+Etanol (93,9:6,1)	RB1	0.0210	0.0146	0.0356	569600	454933.3
		RB2	0.0187	0.0126	0.0313	500800	
		RB3	0.0109	0.0075	0.0184	294400	

 Fuente: Elaboración propia en base a datos experimentales I²QB³/UMG

Tabla XXII. Unidades Calor Scoville para oleorresinas extraídas por M. Dinámica

Identificación de la muestra			g C/g Oleorresina	g DHC / g Oleorresina	g capsaicinoides/g Oleorresina	*10 ⁶ (SHU)	Promedio (SHU)
m.p	Solvente (%)	Corrida					
Oleorresinas Chile Cababonero	Acetato de Etilo+Acetonitrilo (50:50)	RC1	0.0155	0.0100	0.0255	408000	727466.6
		RC2	0.0171	0.0111	0.0282	451200	
		RC3	0.0494	0.0333	0.0827	1323200	
	Acetonitrilo (100)	RD1	ND	ND	ND	ND	1258400
		RD2	0.0514	0.0347	0.0861	1377600	
		RD3	0.0425	0.0287	0.0712	1139200	

 Fuente: Elaboración propia en base a datos experimentales I²QB³/UMG

ND= No detectado. Esto se debió a la poca cantidad de oleorresina obtenida por errores sistemáticos durante el proceso extractivo y la rotaevaporación dando lugar a una pérdida considerable de oleorresina. El promedio de RD se basa únicamente en RD2 Y RD3.

7.3 Ensayos para aislamiento de Capsaicina y Dehidrocapsaicina.

Tabla XXIII. Eluatos obtenidos de Columna con Sílica Gel 60.

Cantidad de adsorbente 10g Altura de Columna 4.6 cm Diámetro de Columna 1.6		
No.	Solvente	ml
1	Hexano	0,8*
1.1	Acetato de Etilo	3,2*
2	Acetona	2,8*
3	Acetona	2,5*
4	Acetona	3,6
5	Acetona	2
6	Acetona	1,8*
7	Acetona	2,5*
8	Acetona	2,5
9	Acetona	3.4
10	Acetona	0,8*
11	Acetona	2,2*
12	Acetona	2,3*
13	Acetona	2,2*
14	Acetonitrilo	4,1*

Fuente: Elaboración propia

*Números con negrita fueron sembradas en placas de TLC.

Tabla XXIV. Eluatos obtenidos de Columna con Alúmina Ácida

Cantidad de adsorbente 25g Altura de Columna 22.7 Diámetro de Columna 3cm		
No.	Solvente	ml
1	Hexano	4,8
2	Acetato de Etilo	03*
3	Etanol	11
4	Etanol	12
5	Etanol	6,6
6	Acetonitrilo	6,4*

Fuente: Elaboración propia.

*Números con negrita fueron sembradas en placas de TLC.

Tabla XXV. Corridos en placas de Capa Fina, TLC de Sílica Gel.

No. Placa	Columna	No.	Eluato	Fase móvil
1	Sílica Gel 60	1	Hexano	Acetona/Etanol 7:3
		2	Acetona	
			Acetona	
		6	Acetona	
		7	Acetona	
2	Sílica Gel 60	2	Acetato de Etilo	Acetona/Etanol 7:3
		14	Acetonitrilo	
	Alúmina Ácida	2	Acetato de Etilo	
		6	Acetonitrilo	
3	Sílica Gel 60	2	Acetato de Etilo	Hexano 100%
		14	Acetonitrilo	
	Alúmina Ácida	2	Acetato de Etilo	
		6	Acetonitrilo	
4	Sílica Gel 60	10	Acetona	Hexano 100%
		11	Acetona	
		12	Acetona	
		13	Acetona	

Fuente: Elaboración Propia

8. ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

En el presente estudio se compararon los rendimientos de oleorresinas obtenidas de Chile Cahabonero así como la concentración de Capsaicina y Dehidrocapsaicina recuperadas empleando 4 sistemas extractivos: Acetato de Etilo-Etanol-Agua (82.2:9.7:8) y Acetato de Etilo-Etanol (93.9:6.1) para el método Soxhlet. Y Acetato de Etilo: Acetonitrilo (50:50) y Acetonitrilo (100%) para Maceración Dinámica.

La materia prima se obtuvo directamente en el municipio de Santa María Cahabón, Alta Verapaz, asegurando que la humedad se encuentre por debajo del 10%. Se procedió a la molienda y posteriormente se tamizó la muestra tomando las partículas que pasaron el tamiz no. 8 y las que retuvo el no. 12. Luego el producto se sometió a las lixiviaciones correspondientes empleando 4 solventes orgánicos los cuales, fueron seleccionados en base a un análisis de sus características y su índice de polaridad; buscando potenciar la extracción de Capsaicina y Dehidrocapsaicina.

Para el método Soxhlet se trabajó con una relación de muestra/ solvente de 1:20 (p/v) a temperatura de ebullición de los solventes y un tiempo de 2.5 horas. Se realizaron 3 repeticiones para cada solvente programando la temperatura en una plancha de calentamiento.

Para Maceración Dinámica se realizaron 3 repeticiones de cada solvente, con tiempos de 2.5 h para cada una a temperatura de 50°C y agitación constante a 500 rpm. Para el control de la temperatura y agitación se utilizó una plancha de calentamiento con agitador magnético. Los extractos fueron concentrados a presión reducida respectiva de cada solvente a través de un rotaevaporador girando a una velocidad determinada de manera continua hasta que la muestra no tuviera presencia de solvente. Posteriormente se analizaron los rendimientos obtenidos (ver tablas XV y VII) y se tomaron las densidades correspondientes (ver tablas XVII y XVIII).

Para el análisis estadístico utilizando la prueba t para medias de dos muestras emparejadas se compararon los rendimientos de oleorresinas entre los solventes de cada método. Comprobando así que el rendimiento obtenido empleando Acetato de Etilo-Etanol-Agua (82.2:9.7:8) y Acetato de Etilo-Etanol (93.9:6.1) en el Método Soxhlet no tienen diferencia significativa en cuanto al rendimiento obtenido. Así mismo se comprobó que el rendimiento obtenido empleando Acetato de Etilo: Acetonitrilo (50:50) y Acetonitrilo (100%) en el método de Maceración Dinámica tampoco tienen diferencia significativa. Sin embargo se comprobó mediante una prueba t para medias independientes que el rendimiento de oleorresinas obtenidas con los solventes del método Soxhlet son mayores que los obtenidos en Maceración Dinámica. Confirmando así la H_a ($\mu_d \neq 0$) pues sí existe diferencia significativa en el rendimiento de oleorresinas utilizando los métodos extractivos, mas no entre los solventes orgánicos de cada método.

Por otro lado, basando el procedimiento de cuantificación en el método ASTA Analytical No. 21.3 se determinó la concentración de Capsaicina y Dehidrocapsaicina en HPLC. Estos compuestos conforman el 69% y 22% del total de capsaicinoides cuyo nivel de pungencia es de 16000000 SHU para ambos. Se calcularon las ppm y su equivalente en Unidades de Calor Scoville para las oleorresinas analizadas y luego se compararon estadísticamente las medias de los resultados obtenidos para cada método.

Para el análisis estadístico utilizando la prueba t para medias de dos muestras emparejadas se compararon las concentraciones de capsaicinoides recuperados en oleorresinas obtenidas con los solventes de cada método. Se comprobó que las concentraciones (%p/p) obtenidas empleando Acetato de Etilo-Etanol-Agua (82.2:9.7:8) y Acetato de Etilo-Etanol (93.9:6.1) en el Método Soxhlet no tienen diferencia significativa en cuanto a la recuperación de Capsaicina y Dehidrocapsaicina.

De igual manera, se comprobó que las concentraciones obtenidas empleando Acetato de Etilo: Acetonitrilo (50:50) y Acetonitrilo (100%) en el método de Maceración Dinámica tampoco tienen diferencia significativa en cuanto a la recuperación de capsaicinoides. Cabe recordar que el valor de la concentración de capsaicinoides para la muestra RD1 no fue detectado en HPLC (ver tabla XX). Esto se debió a la poca cantidad de oleorresina obtenida por errores sistemáticos durante el proceso extractivo y la rotaevaporación dando lugar a una pérdida considerable de oleorresina. No obstante, en base a los experimentos RD2 y RD3 se estima que el valor de RD1 sería de 7.8850 (%p/p). Por último se comprobó mediante una prueba t para medias independientes que los porcentajes (%p/p) de capsaicinoides recuperados con los solventes del método Soxhlet no son significativamente diferentes a los obtenidos en Maceración Dinámica. Rechazando así la H_0 ($\mu_d \neq 0$) ya que no existe diferencia significativa en la obtención de Capsaicina y Dehidrocapsaicina utilizando los métodos extractivos y los solventes orgánicos.

Las comparaciones indican que la calidad de la oleorresina del Chile Cahabonero en cuanto a su concentración de capsaicinoides y su nivel de pungencia, empleando los 4 métodos extractivos son similares y de buena calidad. Al comparar los valores con los concentrados de Capsaicina en el mercado libre de México (1000,000 SHU) con los valores de Unidades Scoville de las oleorresinas obtenidas en este estudio podemos afirmar que se puede obtener oleorresinas del Chile Cahabonero con un nivel de pungencia altamente significativos que rondan entre las 236.7099 - 817.1642 ppm o lo que es su equivalente a 348800 - 1258400 Unidades de Calor Scoville.

Obtener un sistema extractivo aplicable a escala industrial para la producción de oleorresina de Chile Cahabonero estimularía la demanda de este producto, con ello se potenciaría la producción aprovechando la transferencia actual de tecnología a los productores del municipio de Sta. María Cahabón. Cobrarían su importancia real puesto que los productores se verían obligados a mejorar la calidad de la cosecha para cumplir con los estándares necesarios requeridos para la producción de oleorresina. Como resultado final el productor tendría la posibilidad de incrementar sus ganancias económicas eficientando así su producción.

Cromatografía por columna:

Por último se realizaron ensayos para discriminar las mejores condiciones para aislamiento de capsaicinoides empleando Cromatografía por Columna. Dichas pruebas consistieron en aplicar una metodología específica a partir de dos columnas cuyo adsorbente varió en cada uno: Sílica gel 60 y Alúmina Ácida. Mediante un análisis teórico sobre los ensayos realizados en los cuales se obtuvieron los eluatos correspondientes se determinó que la elución utilizada fue en orden ascendente de polaridad, esto con el objetivo de realizar un gradiente de solvente principalmente para hacer variar las características de la fase móvil para obtener una mejor separación. Por esto se utilizaron solventes no polares al principio tales como el Hexano, pasando por Acetato de Etilo, Etanol, Acetona y finalmente Acetonitrilo, el solvente más polar disponible. Este orden de solventes permite la separación selectiva de los componentes de la muestra en función de su naturaleza polar o apolar.

Para el caso de la columna de Sílica Gel 60; considerando su característica polar acida, la característica teóricamente apolar de la capsaicina y debido a una larga cadena apolar que presenta en su estructura química, la interacción de la capsaicina con la Sílica teóricamente debería ser la siguiente:

Posee una cabeza polar y una cola apolar muy larga, la cabeza polar es atrapada por la Sílica mediante fuerzas electrónicas fuertes, sin embargo la cola muy larga interacciona con la Sílica de forma muy débil y de forma muy fuerte con la fase móvil apolar. Debería ser soluble en solventes no polares o apolares y por eso se utiliza hexano inicialmente como primer eluyente o fase móvil; sin embargo luego de sembrar la oleorresina y agregar 8 ml de este solvente se observa la elución en base a los colores, que aparentemente todos los compuestos van eluyendo al mismo tiempo, esto es debido probablemente a que en la oleorresina se encuentran además de los capsaicinoides, pigmentos vegetales. Los más característicos y evidentes son carotenos, los cuales presentan coloraciones que van desde el amarillo pálido, pasando por anaranjado, hasta el rojo oscuro y Xantofila que presentan coloraciones amarillas. Estos pigmentos vegetales al igual que los capsaicinoides, son solubles en solventes apolares tales como Éter de Petróleo y en este caso Hexano, específicamente el Alfa caroteno y las Xantofilas.

Por lo tanto como primer eluato se obtiene uno amarillento correspondiente a las Xantofilas y Alfa carotenos que son más solubles en solventes apolares y en estas fracciones podría encontrarse también una fracción de los capsaicinoides presentes en toda la muestra. Luego se agregaron 3.2 ml de Acetato de Etilo obteniendo coloraciones rojizas correspondientes a carotenos y betacarotenos solubles en solventes polares. Se observa que este solvente aun deja en la columna una cantidad considerable de pigmentos por lo que después se utiliza un solvente más polar aún, en este caso acetona para separar los pigmentos y los capsaicinoides por su cabeza polar.

Se observaron eluciones con coloración rojiza y amarillenta en forma de gradiente de colores correspondientes a los beta carotenos presentes por lo que puede inferirse que no existe cantidad significativa de capsaicinoides en dichos extractos considerando que los beta carotenos presentan también solubilidad en solventes polares. Se ocupa en total 25.3 ml de acetona para lograr la elución de todos los pigmentos. Y finalmente se terminó la elución con 30 ml de acetonitrilo, un solvente mucho más polar que la acetona esperando que este lograra

la recuperación de la capsaicina total retenida por las fuerzas electrónicas fuertes con el adsorbente en mención este último concentró en una plancha de calentamiento eléctrico a temperatura de ebullición per sin embargo la coloración permaneció igual a pesar de la disminución del volumen.

La Alúmina es un adsorbente aún más polar que la Sílica utilizada en la columna anterior. Teóricamente retiene con muy poca fuerza a los compuestos apolares o de polaridad nula; sin embargo, considerando la naturaleza dual de las moléculas de capsaicinoides, es decir, cabeza polar y cola apolar, la cola se retendría muy poco en el adsorbente alúmina, porque sería más soluble en fases móviles más apolares, pero la cabeza se retendría con más fuerza a la alúmina por su carácter polar.

Para esta columna se utilizó un mejor gradiente de eluyentes, utilizándose más solventes con diferencias de polaridades ligeramente más marcados. Iniciando con Hexano como en la columna anterior se observa primero la elución de los pigmentos amarillentos correspondiente a Xantofilas y Alfa Carotenos y al final las coloraciones más intensas. Aquí no se observa una separación tan efectiva como en la columna de Sílica aunque se utilizó aproximadamente el doble de cantidad de fase móvil, sin embargo se utilizó una columna con el doble de longitud también (ver tabla XXVI).

Los solventes utilizados fueron, además del Hexano; el Acetato de etilo, Etanol y Acetonitrilo, todos muy polares. Se observó una mejor separación entre Carotenos y Xantofilas pero no se obtuvo un gradiente de colores como en Sílica. En este caso las coloraciones rojizas correspondiente a los carotenos solubles en solventes polares se eluyo con Acetato de Etilo y Etanol en su mayor parte y una mínima parte con acetonitrilo.

Cromatografía en Capa Fina, TLC:

Para la identificación de eluatos obtenidos en cromatografías por columna se corrieron cuatro placas de silica gel como fase estacionaria.

Placa 1: Se sembraron 4 muestras de eluyentes correspondientes a Hexano y Acetona. La de Hexano presentaba coloración amarillenta y las otras presentan coloraciones rojizas o anaranjadas. Todas estas muestras se extrajeron de las columnas de silica. Se Utilizo una fase móvil muy polar como es la mezcla de Acetona/Etanol en proporción 7:3 se observa que todas las muestras sembradas al final de la corrida poseen exactamente el mismo valor de Rf. Indicando de esta forma que todas son afines a solventes polares en la misma proporción, además todas presentan coloración; y finalmente al ser irradiadas estas muestras con una lámpara de luz UV ninguna de estas es capaz de absorber esta longitud de onda de luz debido a que absorben longitudes de onda de luz visible y por eso presentan coloración a simple vista. Podría inferirse tentativamente que estos eran todos compuestos carotenoides y que por su estructura química no son capaces de absorber luz a esta longitud de onda.

Placa 2: Se sembraron 2 eluatos, correspondientes a la columna de alúmina: Acetato de Etilo y Acetonitrilo. Y de igual manera 2 eluatos de la columna de silica correspondientes a los mismos eluyentes. Una de las muestras de la columna de Alúmina (Acetato de Etilo)

presentaba coloración rojiza o anaranjada y la otra de Alúmina junto con las otras dos de Silica presentaban coloración amarillenta. Se corrió con la misma fase móvil que en la placa uno y en la misma proporción. Las muestras de alúmina poseen un recorrido en la placa muy similar y las muestras de silica también muestran un recorrido similar entre sí. Además las diferencias en el recorrido sobre la placa de silica gel entre las muestras de la columna de Alúmina y las de Silica no son tan diferentes. En la irradiación con luz UV de esta placa ninguna de las muestras presenta absorción y también se infiere tentativamente que estos son compuestos carotenoides que no son capaces de absorber luz debido a su estructura química molecular.

Placa 3: En esta placa se sembraron las mismas muestras utilizadas en la placa No. 2. con el mismo orden, modificando únicamente la fase móvil la cual consistió en una disolución pura de Hexano, un solvente predominantemente apolar, esto para evaluar el comportamiento de las muestras en este tipo de solventes. Al realizar el recorrido en esta fase móvil, se observa que únicamente una de las muestras obtenidas de la columna de Alúmina presenta un leve recorrido (Acetato de Etilo) y una separación de sustancias, una amarilla y otra rojiza, evidenciándose aquí la teórica afinidad de las xantofilas, amarillas, y alfa carotenos con solventes poco polares o apolares. Es debido a esto que se da una leve separación y también un leve recorrido. En la irradiación con luz UV a esta placa, tampoco se observa ninguna absorción; además, presentan coloración a simple vista, evidencia de que absorben luz visible correspondiente a diferentes longitudes de onda de la luz ultra violeta, por lo tanto se puede inferir que las muestras corresponden a compuestos carotenoides.

Placa 4: En esta placa se sembraron eluatos de acetona obtenidos de la columna de silica; se utilizó como fase móvil Hexano, un solvente apolar. Las muestras presentaban todas coloraciones amarillentas. Todas las muestras presentaron, luego del recorrido cromatografico en la cámara saturada con este solvente, un valor de Rf muy similar ya que se observan las muestras todas a la misma altura de la placa. Después de ser irradiada la placa con luz UV se observa que todas estas muestras son capaces de absorber esta longitud de onda y que considerando la estructura química de la capsaicina, la cual presenta un anillo aromático en tal estructura y es la responsable de la absorción de luz Ultra Violeta. Por lo tanto se puede inferir tentativamente que todas estas estas muestras corresponden a compuestos capsaicinoides, debido a que poseen afinidad por los solventes apolares y que además absorben la luz a longitudes de onda que se encuentran en los rangos de luz Ultra Violeta. Según las referencias bibliográficas la absorción máxima de los capsaicinoides se da entre 227 – 281 nm.

9. CONCLUSIONES

Los mayores rendimientos de oleorresinas se obtienen con los solventes del método Soxhlet con valores porcentuales de 12.69% en comparación a la Maceración Dinámica con valores promedios de 6.57%.

La concentración de capsaicinoides (Capsaicina y Dehidrocapsaicina) presentes en oleorresinas de Chile Cahabonero, en base a los resultados obtenidos en HPLC ronda entre las 236.7099 y 817.1642 ppm. El primero rango para el método Soxhlet y el segundo para Maceración Dinámica.

Los 4 solventes orgánicos: Acetato de Etilo-Etanol-Agua (82.2:9.7:8) y Acetato de Etilo-Etanol (93.9:6.1) para la técnica de Soxhlet; así mismo, Acetato de Etilo: Acetonitrilo (50:50) y Acetonitrilo (100%) para Maceración Dinámica según las comparaciones realizadas poseen la misma efectividad de arrastre de Capsaicina y Dehidrocapsaicina.

La concentración de capsaicinoides (Capsaicina y Dehidrocapsaicina) presentes en oleorresinas de Chile Cahabonero, en base a los resultados obtenidos en HPLC ronda entre las 348800 y 1,258,400 Unidades de Calor Scoville. El primero rango para el método Soxhlet y el segundo para Maceración Dinámica.

El Chile Cahabonero, propiamente del Municipio de Sta. María Cahabón sí es una fuente significativa de Capsaicinoides, aun así queda lejos del valor pungente de la Capsaicina pura el cual asciende a los 16000000 SHU.

Las evidencias observadas durante la elución de los carotenoides en la columna de Sílica, tanto antes como después de los capsaicinoides y empleando para ello acetona (esto, confirmado en la Cromatografía en Capa Fina), podría considerarse el tamaño del poro de los adsorbentes y el tamaño de las moléculas estudiadas. Debido a que la fuerza de retención de la Capsaicina es mayor en Sílica, este comportamiento podría atribuirse a su tamaño más pequeño (menor peso molecular) en comparación al tamaño y peso molecular mucho mayor de los compuestos carotenoides: “se obtiene la Capsaicina después que a los carotenoides pero utilizándose el mismo solvente para su elución correspondiente”.

10. RECOMENDACIÓN:

Enfatizar mediante estudio de prefactibilidad la posibilidad de transferir a escala industrial alguno de los sistemas extractivos desde el punto de vista de legalidad, seguridad, técnico, ambiental y financiero, en especial el método de Maceración Dinámica.

11. ANEXOS.

Extracción de Oleorresinas



1. Selección de Chile Cahabonero



2. Muestra molida previo a tamizado



3. Extracción de oleorresinas según especificaciones de sistemas extractivos.



4. Rotaevaporación de extractos

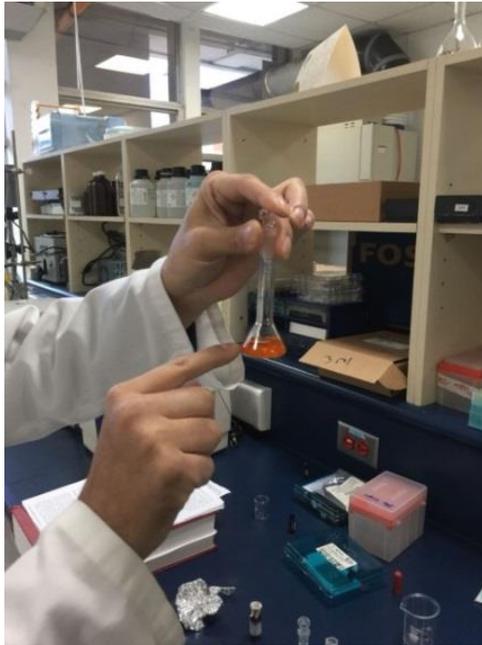


5. Oleorresina



6. Extracción de oleorresinas según especificaciones de sistemas extractivos.

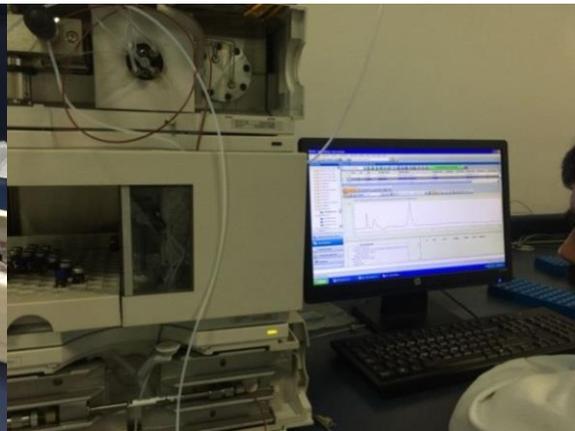
Determinación de Capsaicinoides en HPLC



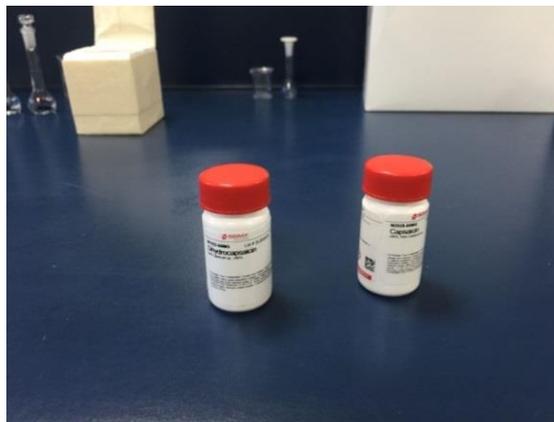
1. Evaluación de muestra



2. Dilución de analito con acetona



3. Balones de 50 ml para aforo de solución madre estándar y verificación de software para ensayos de corridas cromatográficas



4. Estándar de Capsaicina y Dehidrocapsaicina



Foto. 7. Dilución de oleorresinas



Foto. 8 Filtración de muestras



9. Ingreso a sistema de Inyección HPLC



10. Preparación de contra muestra.

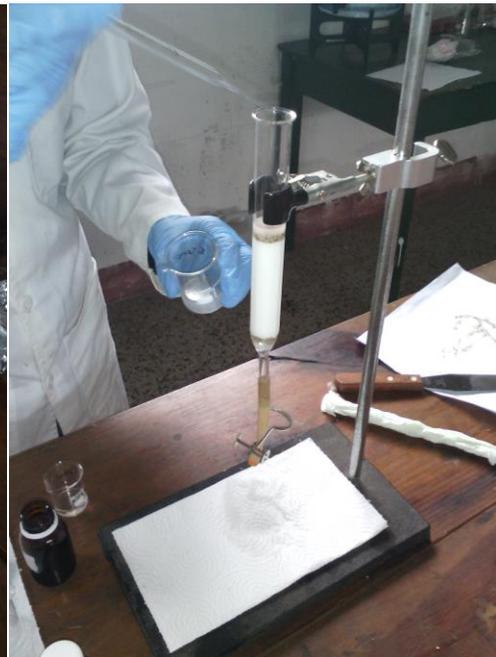
Ensayos de Cromatografía por Columna



1 Preparación de columnas cromatográficas



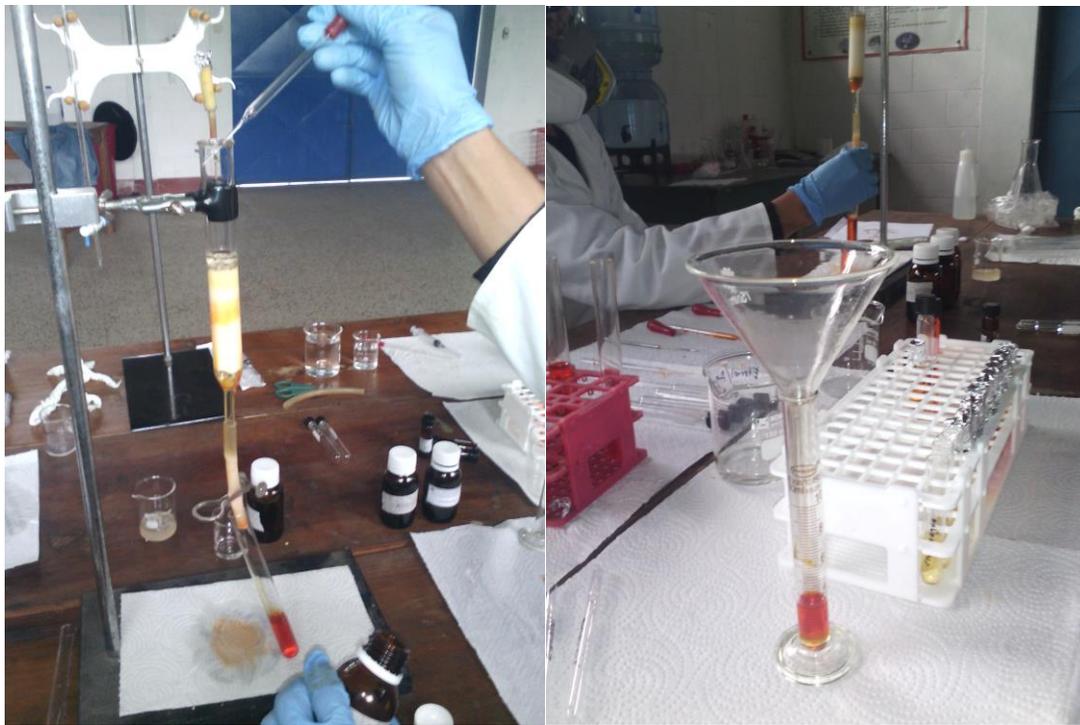
2. Medición de Adsorbente



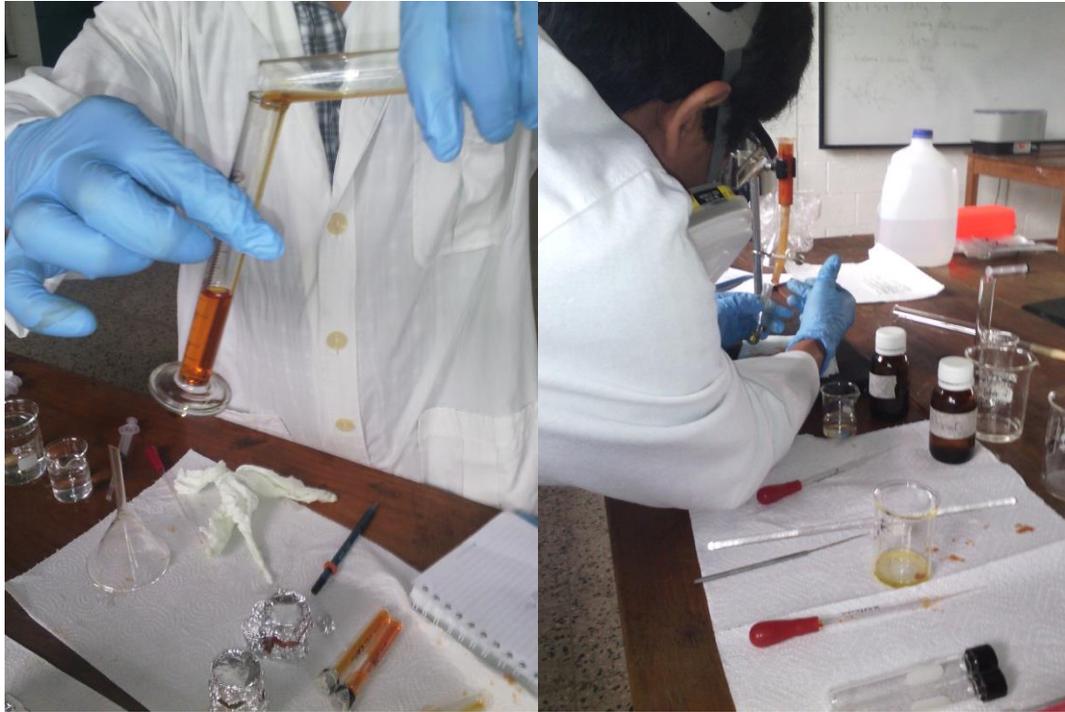
3. Preparación de columna



4. Siembra de muestra de oleoresina



5. Lavado de adsorbente y medición de volumen de eluatos



6. Obtención de eluatos



7 Gradiente de eluatos obtenidos .

Análisis de % de humedad previo al secado solar (para %h <10) del Chile Cahabonero controlado mediante curvas de humedad.



N2-1

L-5

11/04/2014-2

Página 1 de 1

INFORME DE ENSAYOS FISICOQUÍMICOS Y QUÍMICOS EN ALIMENTOS

INGRESO: 13573 **CORRELATIVO:** 52228
CLIENTE: IICA CRIA
RESPONSABLE: SR. MARIO BARTOLOMIN
CAPTADA POR: CLIENTE **FECHA Y HORA:** 27/09/2017 10:00
EN: MUNICIPIO DE SANTA MARIA CAHABON, ALTA VERAPAZ
INGRESÓ: 27/09/2017 14:00 **INICIO DE ENSAYO:** 28/09/2017 **FINAL DE ENSAYO:** 28/09/2017
IDENTIFICACIÓN: Muestra de Chile Cobanero (materia prima)

ENSAYO	RESULTADOS	MÉTODO
Porcentaje_de_humedad	13.1	Porcentaje_b NTE_INEN_63

NORMA: 0

*Este informe no puede ser reproducido parcial o totalmente por el cliente o parte interesada, sin la autorización escrita por parte de VERTICAL.

*Los resultados de este informe pertenecen exclusivamente a la muestra analizada tal y como fue recibida en el laboratorio.

SMEWW Standard methods for the examination of water and wastewater

BAM Bacteriological analytical manual

APHA American public health association

_XX Dos cianias letras al final de dimensional código interno

SMEIDP Standard methods for the examination of dairy products

Lic. Rafael A. López González
 Químico Biólogo
 Colegiado No. 3791

Lic. Rafael López_Q.B.
 COLEGIADO(A) No. 3791
 Coordinador de calidad

VERTICAL
 Laboratorio de Análisis
 Químicos y Microbiológicos
 4^a. Calle 10-39, Zona 3 de Mixco
 Nueva Montserrat
 P.B.X. (502) 2224-6363

ULTIMA LINEA



Oleorresinas extraídas mediante Soxhlet y Maceración Dinámica.

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

No. 2374

RESULTADOS

Tabla No. 1 Porcentaje de Rendimiento para la Oleorresina de Chile Cahabonero (*Capsicum annuum var Cerasiforme*) por Soxhlet

MATERIA PRIMA	PROPORCIÓN SOLVENTE (%)	TIEMPO (h)	CORRIDA	RENDIMIENTO (%)	RENDIMIENTO PROMEDIO (%)
Chile Cahabonero	Acetato de Etilo/Acetato/Agua (82.29/7.8)	2.5	1	7.6655	10.2173 +/- 2.38
			2	10.5950	
			3	12.3925	
Chile Cahabonero	Acetato de Etilo/Cetanol (93.96.1)	2.5	1	19.8105	15.1748 +/- 4.8500
			2	15.6490	
			3	10.0650	

Fuente: Datos experimentales LIEVE

Tabla No. 2 Porcentaje de Rendimiento para la Oleorresina de Chile Cahabonero (*Capsicum annuum var Cerasiforme*) por Maceración Dinámica

MATERIA PRIMA	PROPORCIÓN SOLVENTE (%)	TIEMPO (h)	CORRIDA	RENDIMIENTO (%)	RENDIMIENTO PROMEDIO (%)
Chile Cahabonero	Acetato De Etilo/Acetonitrilo (50/50)	2.5	1	10.0617	7.5304 +/- 3.5213
			2	9.0205	
			3	3.5899	
Chile Cahabonero	Acetonitrilo (100)	2.5	1	8.5890	5.6281 +/- 2.5497
			2	4.2785	
			3	4.0368	

Fuente: Datos experimentales LIEVE

No. 2375

Materia Prima de Chile Cahabonero (*Capsicum annuum var Cerasiforme*)

Lixiviación por soxhlet y maceración dinámica; concentración de oleorresina por rotavaporación

Ing. Qto. María Soledad Méndez Méndez
JEFE
Laboratorio de Investigación de Extractos Vegetales
LIEVE
Sección Química Industrial CIUSAC

Ing. Qto. César Augusto García Guzmán
JEFE
Sección Química Industrial
Centro de Investigaciones de Ingeniería USAC

Vo.Bo. Ing. Francisco Javier Guzmán De La Cruz
DIRECTOR
Centro de Investigaciones de Ingeniería USAC

Página 2

CROMATOGRAMAS



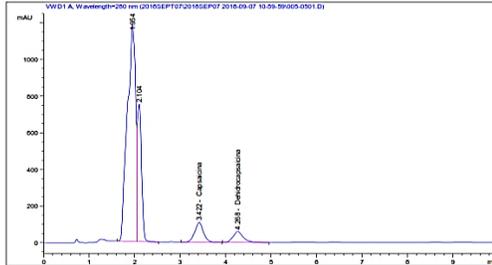
CRIA

Programa Consorcios Regionales de Investigación Agropecuaria



Data File C:\CHEM32\1\DATA\2018SEP07\2018SEP07 2018-09-07 10-59-59\005-0501.D
Sample Name: Muestra 077918

Acq. Operator : WQ Seq. Line : 5
Acq. Instrument : HPLC UMG Location : Vial 5
Injection Date : 07/09/2018 11:45:19 a.m. Inj : 1
Inj Volume : 20.0 µl
Acq. Method : C:\CHEM32\1\DATA\2018SEP07\2018SEP07 2018-09-07 10-59-59\CAPSAICINA_2018A.M
M
Last changed : 07/09/2018 10:59:57 a.m. by WQ
Analysis Method : C:\CHEM32\1\METHODS\CAPSAICINA_2018A.M
Last changed : 18/09/2018 09:01:46 a.m. by WQ
(modified after loading)
Method Info : Determinación de capsaicina y dehidrocapsaicina en muestras de materia prima u oleoresinas
Sample Info : Oleoresina Extracto Cahabonero, Maceracion Dinamica Ace tonitrilo Corrida 1

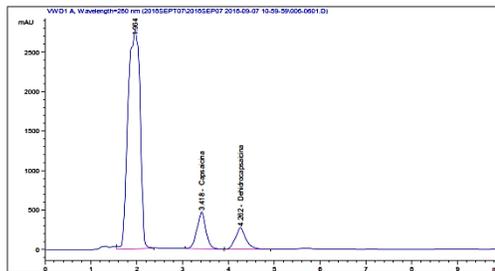


Sorted By : Signal
Calib. Data Modified : 10/09/2018 10:34:12 a.m.
Multiplier : 1.0000
Dilution : 1.0000
Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs

Corrida 1 Maceración Dinámica, Acetonitrilo.

Data File C:\CHEM32\1\DATA\2018SEP07\2018SEP07 2018-09-07 10-59-59\006-0601.D
Sample Name: Muestra 078018

Acq. Operator : WQ Seq. Line : 6
Acq. Instrument : HPLC UMG Location : Vial 6
Injection Date : 07/09/2018 11:56:25 a.m. Inj : 1
Inj Volume : 20.0 µl
Acq. Method : C:\CHEM32\1\DATA\2018SEP07\2018SEP07 2018-09-07 10-59-59\CAPSAICINA_2018A.M
M
Last changed : 07/09/2018 10:59:57 a.m. by WQ
Analysis Method : C:\CHEM32\1\METHODS\CAPSAICINA_2018A.M
Last changed : 18/09/2018 09:01:46 a.m. by WQ
(modified after loading)
Method Info : Determinación de capsaicina y dehidrocapsaicina en muestras de materia prima u oleoresinas
Sample Info : Oleoresina Extracto Cahabonero, Maceracion Dinamica Ace tonitrilo Corrida 2



Area Percent Report

Sorted By : Signal
Calib. Data Modified : 10/09/2018 10:34:12 a.m.
Multiplier : 1.0000
Dilution : 1.0000
Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs

Corrida 2 Maceración Dinámica, Acetonitrilo

INFORME DE RESULTADOS
CUANTIFICACION POR MEDIO DE CROMATOGRAFIA LIQUIDA HPLC

DATOS DEL CLIENTE
Nombre: IICA - CRIA
Direccion: Ciudad de Guatemala

DATOS DE LA MUESTRA
ID Laboratorio: 07791805230
ID cliente (nombre del cliente): Oleoresina Extracto Cahabonero, Maceracion Dinamica Acetonitrilo, Corrida 1
Descripción: Líquido acetoso color rojo obscuro
Fecha de ingreso: 23/05/2018

COMPUESTO	FECHA DE ANALISIS	% pp ¹
Capsaicina	07/09/2018	ND ²
Dehidrocapsaicina	07/09/2018	ND ²

¹ La concentración se expresa en % pp, es decir gramos de capsaicina o dehidrocapsaicina por cada 100 gramos de muestra
² ND = No detectado
³ Basado en el Método ASTM Analytical No. 21.3

Fecha de emisión del informe: 13/09/2018

Lic. William Quiros
Coordinador de Laboratorio

Cristina De León, Ph.D.
Coordinadora Área de Química

3a. Avenida 9-00, Zona 2, Interior Finca El Zapote, 01002 Guatemala, Apartado Postal 1811
Tel.: PBX: (502) 2411-1800 Ext. 1310 / 1176. • Fax: Ext. 1189 • Directo (502) 2288-9372
Página Web: <http://iqa200.umg.edu.gt/> e-mail: iqb3@umg.edu.gt

INFORME DE RESULTADOS
CUANTIFICACION POR MEDIO DE CROMATOGRAFIA LIQUIDA HPLC

DATOS DEL CLIENTE
Nombre: IICA - CRIA
Direccion: Ciudad de Guatemala

DATOS DE LA MUESTRA
ID Laboratorio: 07801805230
ID cliente (nombre del cliente): Oleoresina Extracto Cahabonero, Maceracion Dinamica Acetonitrilo, Corrida 2
Descripción: Líquido acetoso color rojo obscuro
Fecha de ingreso: 23/05/2018

COMPUESTO	FECHA DE ANALISIS	% pp ¹
Capsaicina	07/09/2018	5.14
Dehidrocapsaicina	07/09/2018	3.47

¹ La concentración se expresa en % pp, es decir gramos de capsaicina o dehidrocapsaicina por cada 100 gramos de muestra
² Basado en el Método ASTM Analytical No. 21.3

Fecha de emisión del informe: 13/09/2018

Lic. William Quiros
Coordinador de Laboratorio

Cristina De León, Ph.D.
Coordinadora Área de Química

3a. Avenida 9-00, Zona 2, Interior Finca El Zapote, 01002 Guatemala, Apartado Postal 1811
Tel.: PBX: (502) 2411-1800 Ext. 1310 / 1176. • Fax: Ext. 1189 • Directo (502) 2288-9372
Página Web: <http://iqa200.umg.edu.gt/> e-mail: iqb3@umg.edu.gt



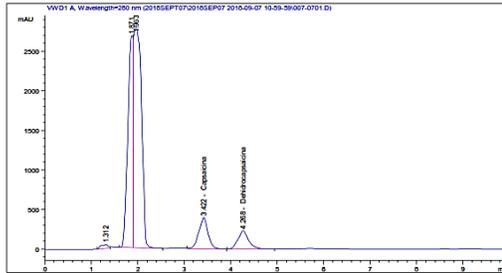
CRIA

Programa Consorcios Regionales de Investigación Agropecuaria



Data File C:\CHEM32\1\DATA\2018SEPT07\2018SEPT07 2018-09-07 10:59:59\007-0701.D
Sample Name: Muestra 078118

Acq. Operator : WQ Seq. Line : 7
Acq. Instrument : HPLC UMG Location : Vial 7
Injection Date : 07/09/2018 12:07:32 p.m. Inj : 1
Inj Volume : 20.0 µl
Acq. Method : C:\CHEM32\1\DATA\2018SEPT07\2018SEPT07 2018-09-07 10:59:59\CAPSAICINA_2018A.M
Last changed : 07/09/2018 10:59:57 a.m. by WQ
Analysis Method : C:\CHEM32\1\METHODS\CAPSAICINA_2018A.M
Last changed : 18/09/2018 09:01:46 a.m. by WQ
(modified after loading)
Method Info : Determinación de capsaicina y dehidrocapsaicina en muestras de materia prima u oleoresinas
Sample Info : Oleoresina Extracto Cahabonero, Maceración Dinámica Ace tonitrilo Corrida 3



Area Percent Report

Sorted By : Signal
Calib. Data Modified : 10/09/2018 10:34:12 a.m.
Multiplier : 1.0000
Dilution : 1.0000
Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs

HPLC UMG 18/09/2018 09:04:30 a.m. WQ

Page 1 of 2

Corrida 3 Maceración Dinámica, Acetonitrilo

INFORME DE RESULTADOS
CUANTIFICACIÓN POR MEDIO DE CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA HPLC

DATOS DEL CLIENTE
Nombre: IICA - CRIA
Dirección: Ciudad de Guatemala

DATOS DE LA MUESTRA
ID Laboratorio: 07811805230
ID Cliente (otro/código): Oleoresina Extracto Cahabonero, Maceración Dinámica Acetonitrilo, Corrida 3
Descripción: Líquido acetoso color rojo obscuro
Fecha de ingreso: 23/05/2018

RESULTADOS		
COMPUESTO	FECHA DE ANALISIS	% pp ¹
Capsaicina	07/09/2018	4.25
Dehidrocapsaicina	07/09/2018	2.87

¹ La concentración se expresa en % pp, es decir gramos de capsaicina o dehidrocapsaicina por cada 100 gramos de muestra.
* Basado en el Método ASTM Analytical No. 21.3

Fecha de emisión del informe: 13/09/2018

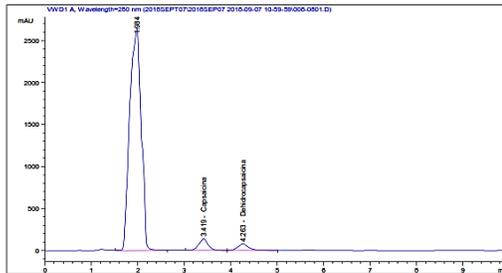
Lic. William Quirós
Coordinador de Laboratorio

Cecilia De León Ph.D
Coordinadora Área de Química

3a. Avenida 9-00, Zona 2, Interior Finca El Zapicho, 01002 Guatemala, Apartado Postal 1811
Tel.: PBX: (502) 2411-1800 Ext. 1310 / 1176 - Fax: Ext. 1159 - Dirección (502) 2288-9372
Página Web: <http://iqbb.usmg.edu.gt/> e-mail: iqbb@usmg.edu.gt

Data File C:\CHEM32\1\DATA\2018SEPT07\2018SEPT07 2018-09-07 10:59:59\008-0801.D
Sample Name: Muestra 078218

Acq. Operator : WQ Seq. Line : 8
Acq. Instrument : HPLC UMG Location : Vial 8
Injection Date : 07/09/2018 12:18:37 p.m. Inj : 1
Inj Volume : 20.0 µl
Acq. Method : C:\CHEM32\1\DATA\2018SEPT07\2018SEPT07 2018-09-07 10:59:59\CAPSAICINA_2018A.M
Last changed : 07/09/2018 10:59:57 a.m. by WQ
Analysis Method : C:\CHEM32\1\METHODS\CAPSAICINA_2018A.M
Last changed : 18/09/2018 09:01:46 a.m. by WQ
(modified after loading)
Method Info : Determinación de capsaicina y dehidrocapsaicina en muestras de materia prima u oleoresinas
Sample Info : Oleoresina Extracto Cahabonero, Maceración Dinámica Ace tato de Etilo/Acetonitrilo Corrida 1



Area Percent Report

Sorted By : Signal
Calib. Data Modified : 10/09/2018 10:34:12 a.m.
Multiplier : 1.0000
Dilution : 1.0000
Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs

HPLC UMG 18/09/2018 09:04:48 a.m. WQ

Page 1 of 2

Corrida 1 Maceración Dinámica, Acetonitrilo: Acetato de Etilo.

INFORME DE RESULTADOS
CUANTIFICACIÓN POR MEDIO DE CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA HPLC

DATOS DEL CLIENTE
Nombre: IICA - CRIA
Dirección: Ciudad de Guatemala

DATOS DE LA MUESTRA
ID Laboratorio: 07821805230
ID Cliente (otro/código): Oleoresina Extracto Cahabonero, Maceración Dinámica Acetato de Etilo / Acetonitrilo, Corrida 1
Descripción: Líquido acetoso color rojo obscuro
Fecha de ingreso: 23/05/2018

RESULTADOS		
COMPUESTO	FECHA DE ANALISIS	% pp ¹
Capsaicina	07/09/2018	1.55
Dehidrocapsaicina	07/09/2018	0.99

¹ La concentración se expresa en % pp, es decir gramos de capsaicina o dehidrocapsaicina por cada 100 gramos de muestra.
* Basado en el Método ASTM Analytical No. 21.3

Fecha de emisión del informe: 13/09/2018

Lic. William Quirós
Coordinador de Laboratorio

Cecilia De León Ph.D
Coordinadora Área de Química

3a. Avenida 9-00, Zona 2, Interior Finca El Zapicho, 01002 Guatemala, Apartado Postal 1811
Tel.: PBX: (502) 2411-1800 Ext. 1310 / 1176 - Fax: Ext. 1159 - Dirección (502) 2288-9372
Página Web: <http://iqbb.usmg.edu.gt/> e-mail: iqbb@usmg.edu.gt



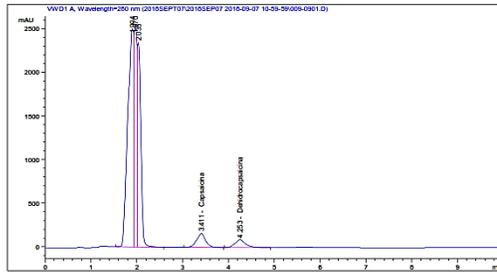
CRIA

Programa Consorcios Regionales de Investigación Agropecuaria



Data File C:\CHEM32\1\DATA\2018SEP07\2018SEP07 2018-09-07 10-59-59\009-0301.D
Sample Name: Muestra 078318

Acq. Operator : WQ Seq. Line : 9
Acq. Instrument : HPLC UMG Location : Vial 9
Injection Date : 07/09/2018 12:29:45 p.m. Inj : 1
Inj Volume : 20.0 µl
Acq. Method : C:\CHEM32\1\DATA\2018SEP07\2018SEP07 2018-09-07 10-59-59\CAPSACINA_2018A.M
Last changed : 07/09/2018 10:59:57 a.m. by WQ
Analysis Method : C:\CHEM32\1\METHODS\CAPSACINA_2018A.M
Last changed : 18/09/2018 09:01:46 a.m. by WQ
(modified after loading)
Method Info : Determinación de capsaicina y dehidrocapsaicina en muestras de materia prima u oleoresinas
Sample Info : Oleoresina Extracto Cahabonero, Maceración Dinámica Ace tato de Etilo/Acetonitrilo Corrida 2



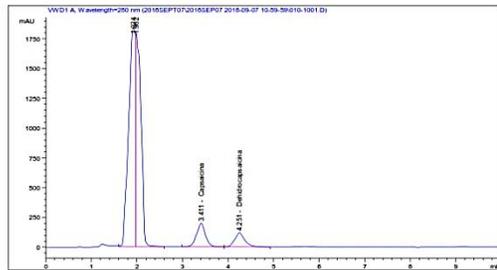
Area Percent Report

Sorted By : Signal
Calib. Data Modified : 10/09/2018 10:34:12 a.m.
Multiplier: : 1.0000
Dilution: : 1.0000
Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs

Corrida 2 Maceración Dinámica, Acetato de Etilo: Acetonitrilo

Data File C:\CHEM32\1\DATA\2018SEP07\2018SEP07 2018-09-07 10-59-59\010-1001.D
Sample Name: Muestra 078418

Acq. Operator : WQ Seq. Line : 10
Acq. Instrument : HPLC UMG Location : Vial 10
Injection Date : 07/09/2018 12:40:53 p.m. Inj : 1
Inj Volume : 20.0 µl
Acq. Method : C:\CHEM32\1\DATA\2018SEP07\2018SEP07 2018-09-07 10-59-59\CAPSACINA_2018A.M
Last changed : 07/09/2018 10:59:57 a.m. by WQ
Analysis Method : C:\CHEM32\1\METHODS\CAPSACINA_2018A.M
Last changed : 18/09/2018 09:01:46 a.m. by WQ
(modified after loading)
Method Info : Determinación de capsaicina y dehidrocapsaicina en muestras de materia prima u oleoresinas
Sample Info : Oleoresina Extracto Cahabonero, Maceración Dinámica Ace tato de Etilo/Acetonitrilo Corrida 3



Area Percent Report

Sorted By : Signal
Calib. Data Modified : 10/09/2018 10:34:12 a.m.
Multiplier: : 1.0000
Dilution: : 1.0000
Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs



UNIVERSIDAD MARIANO GALVEZ DE GUATEMALA



INSTITUTO DE INVESTIGACIONES QUÍMICAS Y BIOLÓGICAS, BIOTECNOLÓGICAS Y BIOMÉDICAS

INFORME DE RESULTADOS
CUANTIFICACION POR MEDIO DE CROMATOGRAFIA LIQUIDA HPLC

DATOS DEL CLIENTE		
Nombre	IICA - CRIA	
Dirección	Ciudad de Guatemala	
DATOS DE LA MUESTRA		
ID Laboratorio	07831805290	
ID cliente (etiquetado)	Oleoresina Extracto Cahabonero, Maceración Dinámica Acetato de Etilo / Acetonitrilo, Corrida 2	
Descripción	Líquido aceitoso color rojo oscuro	
Fecha de ingreso	23/05/2018	

RESULTADOS		
COMPUESTO	FECHA DE ANALISIS	% pip ¹
Capsaicina	07/05/2018	1.71
Dehidrocapsaicina	07/05/2018	1.11

¹ La concentración se expresa en % pip, es decir gramos de capsaicina o dehidrocapsaicina por cada 100 gramos de muestra
² Basado en el Método ASTM Analytical No. 21.3

Fecha de emisión del informe: 13/09/2018

Lic. William Quirós
Coordinador de Laboratorio

Claudia De León, Ph.D
Coordinadora Adjunta de Química

Los resultados de esta prueba corresponden únicamente a la muestra(s) que se entregó en el momento de la muestra. No se garantiza la exactitud de los resultados de esta prueba. El cliente es responsable de la correcta preparación de la muestra para su análisis. No se garantiza la exactitud de los resultados de esta prueba si no se entregó la muestra correctamente preparada.

3a Avenida 9-00, Zona 2, Interior Finca El Zapote, 01002 Guatemala, Apartado Postal 1811
Tel.: PBX: (502) 2411-1800 Ext. 1310 / 1176, • Fax: Ext. 1189 • Directo (502) 2288-9372
Página Web: <http://iqb.ung.edu.gt/> e-mail: iqb@iqb.ung.edu.gt



UNIVERSIDAD MARIANO GALVEZ DE GUATEMALA



INSTITUTO DE INVESTIGACIONES QUÍMICAS Y BIOLÓGICAS, BIOTECNOLÓGICAS Y BIOMÉDICAS

INFORME DE RESULTADOS
CUANTIFICACION POR MEDIO DE CROMATOGRAFIA LIQUIDA HPLC

DATOS DEL CLIENTE		
Nombre	IICA - CRIA	
Dirección	Ciudad de Guatemala	
DATOS DE LA MUESTRA		
ID Laboratorio	07841805230	
ID cliente (etiquetado)	Oleoresina Extracto Cahabonero, Maceración Dinámica Acetato de Etilo / Acetonitrilo, Corrida 3	
Descripción	Líquido aceitoso color rojo oscuro	
Fecha de ingreso	23/05/2018	

RESULTADOS		
COMPUESTO	FECHA DE ANALISIS	% pip ¹
Capsaicina	07/05/2018	4.94
Dehidrocapsaicina	07/05/2018	3.33

¹ La concentración se expresa en % pip, es decir gramos de capsaicina o dehidrocapsaicina por cada 100 gramos de muestra
² Basado en el Método ASTM Analytical No. 21.3

Fecha de emisión del informe: 13/09/2018

Lic. William Quirós
Coordinador de Laboratorio

Claudia De León, Ph.D
Coordinadora Adjunta de Química

Los resultados de esta prueba corresponden únicamente a la muestra(s) que se entregó en el momento de la muestra. No se garantiza la exactitud de los resultados de esta prueba. El cliente es responsable de la correcta preparación de la muestra para su análisis. No se garantiza la exactitud de los resultados de esta prueba si no se entregó la muestra correctamente preparada.

3a Avenida 9-00, Zona 2, Interior Finca El Zapote, 01002 Guatemala, Apartado Postal 1811
Tel.: PBX: (502) 2411-1800 Ext. 1310 / 1176, • Fax: Ext. 1189 • Directo (502) 2288-9372
Página Web: <http://iqb.ung.edu.gt/> e-mail: iqb@iqb.ung.edu.gt



CRIA

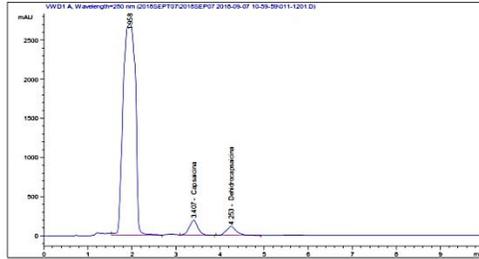
Programa Consorcios Regionales de Investigación Agropecuaria



Corrida 3 Maceración Dinámica, Acetato de Etilo: Acetonitrilo

Data File C:\CHEM32\1\DATA\2018SEP07\2018SEP07 2018-09-07 10-59-59\011-1201.D
Sample Name: Muestra 078518

Acq. Operator : WQ Seq. Line : 12
Acq. Instrument : HPLC UMS Location : Vial 11
Injection Date : 07/09/2018 01:03:09 p.m. Inj : 1
Inj Volume : 20.0 ul
Acq. Method : C:\CHEM32\1\DATA\2018SEP07\2018SEP07 2018-09-07 10-59-59\CAPSAICINA_2018A.M
Last changed : 07/09/2018 10:59:57 a.m. by WQ
Analysis Method : C:\CHEM32\1\METHODS\CAPSAICINA_2018A.M
Last changed : 18/09/2018 09:01:46 a.m. by WQ
(modified after loading)
Method Info : Determinación de capsaicina y dehidrocapsaicina en muestras de materia prima u oleoresinas
Sample Info : Oleoresina Extracto Cahabonero, Soxhlet Acetato de Etilo
o/Etanol Corrida 1



Area Percent Report

Sorted By : Signal
Calib. Data Modified : 10/09/2018 10:34:12 a.m.
Multiplier : 1.0000
Dilution : 1.0000
Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs



INFORME DE RESULTADOS CUANTIFICACION POR MEDIO DE CROMATOGRAFIA LIQUIDA HPLC

DATOS DEL CLIENTE		
Nombre	IICA - CRIA	
Dirección	Ciudad de Guatemala	

DATOS DE LA MUESTRA		
ID Laboratorio	0785180523Q	
ID cliente (etiquetado)	Oleoresina Extracto Cahabonero, Soxhlet Acetato de Etilo/Etanol Corrida 1	
Descripción	Líquido acetato color rojo oscuro	
Fecha de ingreso	23/05/2018	

RESULTADOS		
COMPUESTO	FECHA DE ANALISIS	% pp1
Capsaicina	07/09/2018	2.10
Dehidrocapsaicina	07/09/2018	1.46

* La concentración se expresa en % pp1, es decir gramos de capsaicina o dehidrocapsaicina por cada 100 gramos de muestra
* Basado en el Método ASTM Analyt/Nº. 21.3

Fecha de emisión del informe: 13/09/2018

Lic. William Quira
Coordinador de Laboratorio

Claudia De León, Ph.D
Coordinadora Área de Química

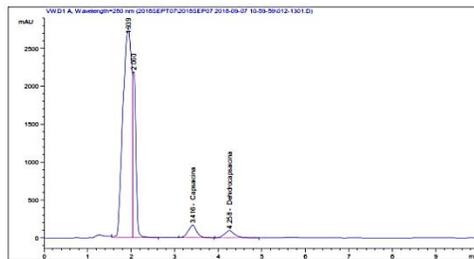
Los resultados de este informe constituyen confidencial y de carácter interno. No deben ser divulgados ni utilizados para fines ajenos a los autorizados por el cliente. El informe de este laboratorio es un servicio y no es responsable por daños o perjuicios derivados de la utilización de los resultados de este laboratorio. El cliente es responsable de la correcta interpretación de los datos reportados de la información generada por este laboratorio. No se garantiza la exactitud de los datos reportados por este laboratorio.

3a. Avenida 9-00, Zona 2, Interior Finca El Zapote, 01002 Guatemala, Apartado Postal 1811
Tel. PBX (502) 2411-1000 Ext. 1312 / 1176 - Fax Ext. 1159 - Correo (502) 2288-9372
Página Web: <http://iqb.ums.edu.gt> / e-mail: icab@iqb.ums.edu.gt

Corrida 1 Soxhlet, Acetato de Etilo: Etanol

Data File C:\CHEM32\1\DATA\2018SEP07\2018SEP07 2018-09-07 10-59-59\012-1301.D
Sample Name: Muestra 078618

Acq. Operator : WQ Seq. Line : 13
Acq. Instrument : HPLC UMS Location : Vial 12
Injection Date : 07/09/2018 01:14:14 p.m. Inj : 1
Inj Volume : 20.0 ul
Acq. Method : C:\CHEM32\1\DATA\2018SEP07\2018SEP07 2018-09-07 10-59-59\CAPSAICINA_2018A.M
Last changed : 07/09/2018 10:59:57 a.m. by WQ
Analysis Method : C:\CHEM32\1\METHODS\CAPSAICINA_2018A.M
Last changed : 18/09/2018 09:01:46 a.m. by WQ
(modified after loading)
Method Info : Determinación de capsaicina y dehidrocapsaicina en muestras de materia prima u oleoresinas
Sample Info : Oleoresina Extracto Cahabonero, Soxhlet Acetato de Etilo
o/Etanol Corrida 2



Area Percent Report

Sorted By : Signal
Calib. Data Modified : 10/09/2018 10:34:12 a.m.
Multiplier : 1.0000
Dilution : 1.0000
Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs



INFORME DE RESULTADOS CUANTIFICACION POR MEDIO DE CROMATOGRAFIA LIQUIDA HPLC

DATOS DEL CLIENTE		
Nombre	IICA - CRIA	
Dirección	Ciudad de Guatemala	

DATOS DE LA MUESTRA		
ID Laboratorio	0786180523Q	
ID cliente (etiquetado)	Oleoresina Extracto Cahabonero, Soxhlet Acetato de Etilo/Etanol Corrida 2	
Descripción	Líquido acetato color rojo oscuro	
Fecha de ingreso	23/05/2018	

RESULTADOS		
COMPUESTO	FECHA DE ANALISIS	% pp1
Capsaicina	07/09/2018	1.87
Dehidrocapsaicina	07/09/2018	1.26

* La concentración se expresa en % pp1, es decir gramos de capsaicina o dehidrocapsaicina por cada 100 gramos de muestra
* Basado en el Método ASTM Analyt/Nº. 21.3

Fecha de emisión del informe: 13/09/2018

Lic. William Quira
Coordinador de Laboratorio

Claudia De León, Ph.D
Coordinadora Área de Química

Los resultados de este informe constituyen confidencial y de carácter interno. No deben ser divulgados ni utilizados para fines ajenos a los autorizados por el cliente. El informe de este laboratorio es un servicio y no es responsable por daños o perjuicios derivados de la utilización de los resultados de este laboratorio. El cliente es responsable de la correcta interpretación de los datos reportados de la información generada por este laboratorio. No se garantiza la exactitud de los datos reportados por este laboratorio.

3a. Avenida 9-00, Zona 2, Interior Finca El Zapote, 01002 Guatemala, Apartado Postal 1811
Tel. PBX (502) 2411-1000 Ext. 1312 / 1176 - Fax Ext. 1159 - Correo (502) 2288-9372
Página Web: <http://iqb.ums.edu.gt> / e-mail: icab@iqb.ums.edu.gt

Corrida 2 Soxhlet, Acetato de Etilo: Etanol



CRIA

Programa Consorcios Regionales de Investigación Agropecuaria

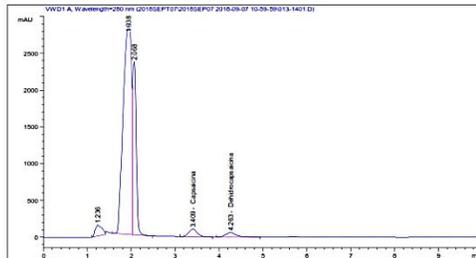


Data File C:\CHEM32\1\DATA\2018SEPT07\2018SEPT07 2018-09-07 10:59:59\013-1401.D
Sample Name: Muestra 078718

```

=====
Acq. Operator   : WQ                      Seq. Line : 14
Acq. Instrument : HPLC UMG                Location  : Vial 13
Injection Date  : 07/09/2018 01:25:21 p.m. Inj       : 1
                                                Inj Volume: 20.0 ul
Acq. Method    : C:\CHEM32\1\DATA\2018SEPT07\2018SEPT07 2018-09-07 10:59:59\CAPSAICINA_2018A.M
Last changed   : 07/09/2018 10:59:57 a.m. by WQ
Analysis Method : C:\CHEM32\1\METHODS\CAPSAICINA_2018A.M
Last changed   : 18/09/2018 09:01:46 a.m. by WQ
                (modified after loading)
Method Info    : Determinación de capsaicina y dehidrocapsaicina en muestras de materia
                prima u oleoresinas
Sample Info    : Oleoresina Extracto Cahabonero, Soxhlet Acetato de Etil
                o/Etanol Corrida 3
=====

```



Area Percent Report

```

=====
Sorted By      : Signal
Calib. Data Modified : 10/09/2018 10:34:12 a.m.
Multiplier    : 1.0000
Dilution      : 1.0000
Use Multiplier * Dilution Factor with ISTDs
=====

```



INFORME DE RESULTADOS
CUANTIFICACION POR MEDIO DE CROMATOGRAFIA LIQUIDA HPLC

DATOS DEL CLIENTE	
Nombre	IICA - CRIA
Dirección	Ciudad de Guatemala
DATOS DE LA MUESTRA	
ID Laboratorio	07871805270
ID cliente (usuario)	Oleoresina Extracto Cahabonero, Soxhlet Acetato de Etil/Etanol Corrida 3
Descripción	Líquido obtenido color rojo oscuro
Fecha de ingreso	23/05/2018

RESULTADOS		
COMPLETADO	FECHA DE ANALISIS	% pp*
Capsaicina	07/09/2018	1.09
Dehidrocapsaicina	07/09/2018	0.75

*La concentración se expresa en % pp, es decir gramos de capsaicina o dehidrocapsaicina por cada 100 gramos de muestra
* Basado en el Método ASTM Analytical No. 21.3

Fecha de emisión del informe: 13/09/2018

Lio. William Quirba
Coordinador de Laboratorio

Carlos De León Ph.D
Coordinadora Área de Química

Los resultados de este informe constituyen información a la muestra y no a la muestra de la muestra.
El cliente es responsable de la correcta interpretación de los datos generados, así como de la validez de los resultados de la información generada.
El cliente es responsable de la correcta interpretación de los datos generados y de la validez de los resultados de la información generada.
Este informe es propiedad de la Universidad Nacional Galvez y no debe ser reproducido, distribuido o utilizado para fines ajenos a los autorizados. No se permite la explotación económica ni la transformación de esta obra. Queda permitida la impresión en su totalidad en su forma original.

Corrida 3 Soxhlet, Acetato de Etil: Etanol



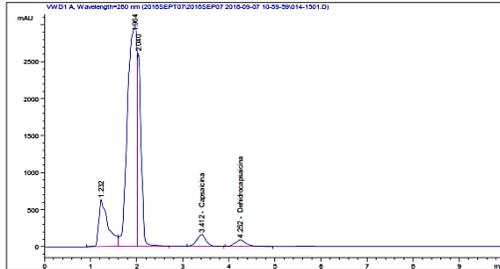
CRIA

Programa Consorcios Regionales de Investigación Agropecuaria



Data File C:\CHEM21\DATA\2018SEP07\2018SEP07 2018-09-07 10-59-59\014-1501.D
Sample Name: Muestra 078818

Acq. Operator : WQ Seq. Line : 15
Acq. Instrument : HPLC UMG Location : Vial 14
Injection Date : 07/09/2018 01:36:28 p.m. Inj : 1
Inj Volume : 20.0 µl
Acq. Method : C:\CHEM21\DATA\2018SEP07\2018SEP07 2018-09-07 10-59-59\CAPSAICINA_2018A.M
Last changed : 07/09/2018 10:59:57 a.m. by WQ
Analysis Method : C:\CHEM21\METHODS\CAPSAICINA_2018A.M
Last changed : 18/09/2018 09:01:46 a.m. by WQ
(modified after loading)
Method Info : Determinación de capsaicina y dehidrocapsaicina en muestras de materia prima u oleoresinas
Sample Info : Oleoresina Extracto Cahabonero, Soxhlet Acetato de Etil o/Etanol/Agua Corrida 1

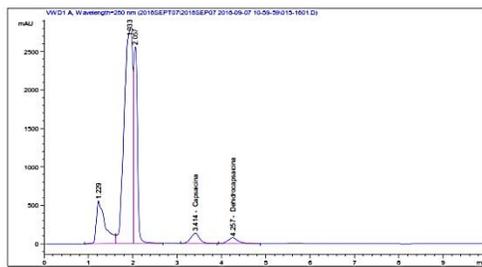


Sorted By : Signal
Calib. Data Modified : 10/09/2018 10:34:12 a.m.
Multiplier : 1.0000
Dilution : 1.0000
Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs

Corrida 1 Soxhlet, Acetato de etilo: etanol: agua

Data File C:\CHEM21\DATA\2018SEP07\2018SEP07 2018-09-07 10-59-59\015-1601.D
Sample Name: Muestra 078918

Acq. Operator : WQ Seq. Line : 16
Acq. Instrument : HPLC UMG Location : Vial 15
Injection Date : 07/09/2018 01:47:35 p.m. Inj : 1
Inj Volume : 20.0 µl
Acq. Method : C:\CHEM21\DATA\2018SEP07\2018SEP07 2018-09-07 10-59-59\CAPSAICINA_2018A.M
Last changed : 07/09/2018 10:59:57 a.m. by WQ
Analysis Method : C:\CHEM21\METHODS\CAPSAICINA_2018A.M
Last changed : 18/09/2018 09:01:46 a.m. by WQ
(modified after loading)
Method Info : Determinación de capsaicina y dehidrocapsaicina en muestras de materia prima u oleoresinas
Sample Info : Oleoresina Extracto Cahabonero, Soxhlet Acetato de Etil o/Etanol/Agua Corrida 1



Area Percent Report

Sorted By : Signal
Calib. Data Modified : 10/09/2018 10:34:12 a.m.
Multiplier : 1.0000
Dilution : 1.0000
Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs

Corrida 2 Soxhlet, Acetato de etilo: etanol: agua



INFORME DE RESULTADOS
CUANTIFICACION POR MEDIO DE CROMATOGRAFIA LIQUIDA HPLC

DATOS DEL CLIENTE		
Nombre	IICA - CRIA	
Dirección	Ciudad de Guatemala	

DATOS DE LA MUESTRA		
ID Laboratorio	07881805230	
ID cliente (etiquetado)	Oleoresina Extracto Cahabonero, Soxhlet Acetato de Etilo/Etanol/Agua Corrida 1	
Descripción	Líquido acetoso color rojo oscuro	
Fecha de ingreso	23/05/2018	

RESULTADOS		
COMPUESTO	FECHA DE ANALISIS	% ppb ¹
Capsaicina	07/09/2018	1.59
Dehidrocapsaicina	07/09/2018	1.04

¹La concentración se expresa en % ppb, es decir gramos de capsaicina o dehidrocapsaicina por cada 100 gramos de muestra
²Basado en el Método ASTA Analytical No. 21.3

Fecha de emisión del informe: 13/09/2018

Lic. William Quirós
Coordinador de Laboratorio

Claudia De León, Ph.D.
Coordinadora Área de Química

Este informe es una información confidencial y es propiedad de IICA. No debe ser distribuido ni publicado.
El informe es válido únicamente en el momento y en el lugar en que se emite. No debe ser utilizado para fines legales.
El cliente es responsable de la exactitud de los datos y de la información que se proporciona en el presente informe. No se garantiza la exactitud de los datos presentados en este informe.

3a. Avenida 5-50, Zona 2, Intersección Finca El Zapote, 01002 Guatemala, Apartado Postal 1811
Tel.: PBX: (502) 2411-1800 Ext. 1310 / 1170 • Fax: Ext. 1189 • Directo (502) 2288-9372
Página Web: <http://iqb3.umg.edu.gt/> e-mail: iqb3@umg.edu.gt



INFORME DE RESULTADOS
CUANTIFICACION POR MEDIO DE CROMATOGRAFIA LIQUIDA HPLC

DATOS DEL CLIENTE		
Nombre	IICA - CRIA	
Dirección	Ciudad de Guatemala	

DATOS DE LA MUESTRA		
ID Laboratorio	07891805230	
ID cliente (etiquetado)	Oleoresina Extracto Cahabonero, Soxhlet Acetato de Etilo/Etanol/Agua Corrida 2	
Descripción	Líquido acetoso color rojo oscuro	
Fecha de ingreso	23/05/2018	

RESULTADOS		
COMPUESTO	FECHA DE ANALISIS	% ppb ¹
Capsaicina	07/09/2018	1.54
Dehidrocapsaicina	07/09/2018	1.00

¹La concentración se expresa en % ppb, es decir gramos de capsaicina o dehidrocapsaicina por cada 100 gramos de muestra
²Basado en el Método ASTA Analytical No. 21.3

Fecha de emisión del informe: 13/09/2018

Lic. William Quirós
Coordinador de Laboratorio

Claudia De León, Ph.D.
Coordinadora Área de Química

Este informe es una información confidencial y es propiedad de IICA. No debe ser distribuido ni publicado.
El informe es válido únicamente en el momento y en el lugar en que se emite. No debe ser utilizado para fines legales.
El cliente es responsable de la exactitud de los datos y de la información que se proporciona en el presente informe. No se garantiza la exactitud de los datos presentados en este informe.

3a. Avenida 5-50, Zona 2, Intersección Finca El Zapote, 01002 Guatemala, Apartado Postal 1811
Tel.: PBX: (502) 2411-1800 Ext. 1310 / 1170 • Fax: Ext. 1189 • Directo (502) 2288-9372
Página Web: <http://iqb3.umg.edu.gt/> e-mail: iqb3@umg.edu.gt



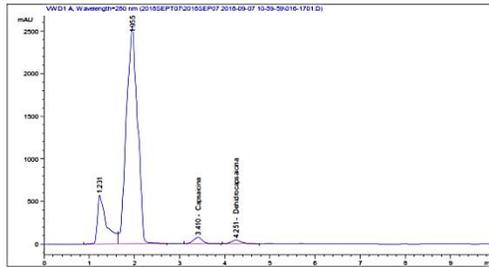
CRIA

Programa Consorcios Regionales de Investigación Agropecuaria



Data File C:\CHEM32\1\DATA\2018SEP07\2018SEP07 2018-09-07 10:59:59\016-1701.D
Sample Name: Muestra 079018

=====
Acq. Operator : WQ Seq. Line : 17
Acq. Instrument : HPLC UMG Location : Vial 16
Injection Date : 07/09/2018 01:58:40 p.m. Inj : 1
Inj Volume : 20.0 µl
Acq. Method : C:\CHEM32\1\DATA\2018SEP07\2018SEP07 2018-09-07 10:59:59\CAPSAICINA_2018A.M
Last changed : 07/09/2018 10:59:57 a.m. by WQ
Analysis Method : C:\CHEM32\1\METHODS\CAPSAICINA_2018A.M
Last changed : 18/09/2018 09:01:46 a.m. by WQ
(modified after loading)
Method Info : Determinación de capsaicina y dehidrocapsaicina en muestras de materia prima u oleoresinas
Sample Info : Oleoresina Extracto Cahabonero, Soxhlet Acetato de Etil
o/Etanol/Agua Corrida 1



Area Percent Report

Sorted By : Signal
Calib. Data Modified : 10/09/2018 10:34:12 a.m.
Multiplier : 1.0000
Dilution : 1.0000
Use Multiplier & Dilution Factor with ISTDs



INFORME DE RESULTADOS
CUANTIFICACION POR MEDIO DE CROMATOGRAFIA LIQUIDA HPLC

Table with 2 columns: Campo, Valor. Includes Nombre (IICA - CRIA) and Dirección (Ciudad de Guatemala).

Table with 2 columns: Campo, Valor. Includes ID Laboratorio (0760180523Q), ID cliente (060606060), Descripción (Líquido acetato color rojo oscuro), and Fecha de ingreso (23/05/2018).

Table with 3 columns: COMPUESTO, FECHA DE ANALISIS, % ppb. Lists Capsaicina (07/05/2018, 0.83) and Dehidrocapsaicina (07/05/2018, 0.54).

* La concentración se expresa en % ppb, es decir gramos de capsaicina o dehidrocapsaicina por cada 100 gramos de muestra
* Basado en el Método ASTM Analytical No. 21.3

Fecha de emisión del informe: 13/09/2018

Handwritten signatures and names: Lic. William Curraa, Coordinador de Laboratorio; and Celsa de León Ph.D, Coordinadora Área de Química.

Los resultados de este informe constituyen información y no asesoramiento y no deben ser utilizados para tomar decisiones de inversión.
El cliente es responsable de la exactitud de los datos y de la interpretación de los resultados.
El cliente es responsable de la exactitud de los datos y de la interpretación de los resultados.
El cliente es responsable de la exactitud de los datos y de la interpretación de los resultados.

Corrida 3 Soxhlet, Acetato de etilo: etanol: agua