



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

**“EXTRACCIÓN DE COLORANTE Y OLEORRESINA DE CHILE
CHILHUASTLE (CAPSICUM ANNUUM)”**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

QUÍMICA DE ALIMENTOS

P R E S E N T A:

MARÍA DE LA LUZ LÓPEZ OCAMPO



MÉXICO

2010



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO

JURADO ASIGNADO

Presidente

Vocal

Secretario

1°. Suplente

2°. Suplente

PROFESORES

Prof. Federico Galdeano Bienzobas

Prof. María De Lourdes Gómez Ríos

Prof. María de Lourdes Osnaya Suárez

Prof. Karla Mercedes Díaz Gutiérrez

Prof. Fabiola González Olguín

Sitio donde se desarrolló el tema:

UNAM. Departamento: Alimentos y Biotecnología. Facultad de Química, Edificio A, Laboratorio 4B.

Asesor del Tema

I.Q. Federico Galdeano Bienzobas

Sustentante

María de la luz López Ocampo

AGRADECIMIENTOS

A Dios por ser mi guía,

A mi familia: mi mamá por apoyarme y patrocinarme siempre e incondicionalmente, a mi abue por su apoyo, fe y confianza y a mi hija, por ser mi inspiración.

Al profesor Federico Galdeano por su gran apoyo, experiencia y sabiduría proporcionada durante este proyecto.

Al Sr. Palacios por su apoyo, confianza y por los *buenos* momentos.

A mis amigos y amigas porque compartir esta etapa con ustedes fue genial.

A la Universidad Nacional Autónoma de México por creer en todos nosotros.

1. Introducción	6
2. Objetivos	7
3. Antecedentes	8
3.1. Taxonomía del chile.....	10
3.2. Composición nutrimental del chile.....	13
3.3. Propiedades funcionales de los colorantes.....	14
3.4. Propiedades funcionales de las oleorresinas.....	16
3.5. Capsaicinoides.....	17
3.6. Identificación y determinación de Capsaicinoides.....	19
3.7. Métodos extractivos.....	20
4. Metodología	22
4.1. Procedimiento general.....	22
4.2. Recepción y limpieza de materia prima.....	23
4.3. Análisis proximal.....	25
4.3.1 <i>Determinación de cenizas</i>	25
4.3.2 <i>Determinación de humedad</i>	27
4.3.3 <i>Determinación de lípidos</i>	29
4.3.4 <i>Determinación de proteínas</i>	31
4.3.5 <i>Determinación de carbohidratos (por diferencia)</i>	33
4.4. Pruebas de calidad.....	34
4.4.1 <i>Extracción de oleorresina</i>	34
4.4.2 <i>Determinación de capsaicina en la oleorresina</i>	36
4.4.3 <i>Determinación de capsaicina por HPLC</i>	38
4.4.4 <i>Extracción de colorantes</i>	40
4.4.5 <i>Determinación de color extractable por el método ASTA 20-1 para colorantes (capsantina y capsorrubina)</i>	41
4.4.6 <i>Determinación de la concentración de carotenos y xantofilas en plantas deshidratadas y alimentos mezclados. Métodos oficiales AOAC 970.64 (1995)</i>	43
5. Resultados y discusión	47
5.1 Análisis proximal.....	49
5.1.1 <i>Determinación de humedad</i>	49
5.1.2 <i>Determinación de cenizas</i>	52
5.1.3 <i>Determinación de lípidos</i>	52
5.1.4 <i>Determinación de proteínas</i>	54
5.2 Extracción de oleorresina.....	56
5.3 Cuantificación de capsaicina en la oleorresina por el método espectrofotométrico.....	59
5.4 Cuantificación de capsaicina por HPLC.....	61
5.5 Determinación de colorante extractable método ASTA 20-1.....	67

5.6	Determinación de la concentración de carotenos y xantofilas. Método oficial AOAC 970.64.....	67
6.	Conclusiones.....	71
7.	Bibliografía.....	73
8.	Anexo I.....	76

1. INTRODUCCIÓN

El presente trabajo tiene como función principal, aprovechar algunas de las cualidades funcionales del chile chilhuacle, mediante la extracción de colorante a partir de la pulpa y la oleorresina a partir de las semillas. Este chile es poco conocido y su uso se limita a la gastronomía regional oaxaqueña en el mole negro.

La tendencia actual en la alimentación es ofrecer, productos naturales y funcionales al más bajo costo, esto a su vez ha provocado que las industrias se preocupen por ofrecer en sus productos, aditivos de origen natural.

Los chiles aportan además de los carotenos, moléculas responsables de la pungencia como los capsaicinoides que son de gran interés incluso para la industria farmacéutica.

Tanto los carotenos como los capsaicinoides aportan características específicas a otros alimentos industrializados como las botanas, conservas y encurtidos entre otros.

Estos capsaicinoides se encuentran en el extracto oleoso mejor conocido como oleorresina, éstas presentan beneficios en su manejo como la dosificación, el almacenamiento y el control microbiológico y de calidad, por lo cual su uso es cada vez mayor.

Se pueden encontrar en estas oleorresinas de *Capsicum*, capsaicinoides como capsorrubina, capsantina, dihidrocapsaicina, nordihidrocapsaicina y la capsaicina. Los dos primeros capsaicinoides mencionados son responsables de la coloración y los tres últimos de la pungencia.

El mercado de los colorantes naturales es limitado, y esto provoca que los costos aumenten considerablemente en comparación con los colorantes sintéticos.

2. OBJETIVOS

⚙ OBJETIVO GENERAL

- Al ser el chile chilhuacle una especie de *Capsicum* poco conocida y poco aprovechada se busca extraer colorante y oleorresina de posible interés comercial y así fomentar su cultivo diversificando su uso.

⚙ OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Realizar un análisis proximal para cuantificar el contenido de macrocomponentes en el chile chilhuacle.
- Extraer, purificar y cuantificar el contenido de colorante, específicamente carotenos y xantofilas de acuerdo a la metodología oficial.
- Extraer la oleorresina a partir de las semillas de chile chilhuacle y comparar el contenido de capsaicina mediante dos metodologías: HPLC y UV.
- Evaluar parámetros de calidad de la oleorresina que se obtenga a partir del chile chilhuacle, determinando su contenido de capsaicina y colorantes como son xantofilas y carotenoides.

3. ANTECEDENTES

Desde tiempos ancestrales el chile (*Capsicum annum*) o chilli (del náhuatl) ha tenido importancia cultural, religiosa y gastronómica. Sus orígenes se sitúan en el continente Americano, específicamente en Mesoamérica, México es uno de los principales centros de origen y domesticación del género *Capsicum*, en particular de la especie *annuum*, como lo indican vestigios arqueológicos de semillas encontradas en el valle de Tehuacán, con una antigüedad de 8500 años y desde entonces ha sido elemento base en la comida tradicional mexicana, su uso es tanto en seco como en fresco, y con ingredientes dulces y salados. (18)

Los aztecas lo empleaban no sólo como parte esencial de su dieta diaria, sino que le habían asignado una diversidad notable de usos: militares (el humo de chiles arrojados al fuego se empleaba como hoy se usan los gases bélicos), medicinales, comerciales, impositivos y aún pedagógicos: un poco de humo de chile inhalado servía para corregir a la infancia testaruda, como lo testimonian algunas escenas de ciertos códices. A la diosa del chile la llamaban "Respetable señora del chilito rojo", y era hermana de Tláloc, señor de la lluvia, y de Chicomecóatl, señora de los mantenimientos. (18)

A pesar de que México es el país con la mayor diversidad de *Capsicum* y de que el chile es casi un sinónimo de nacionalidad mexicana y de su cocina, no es el productor más importante: ocupa el sexto lugar mundial en producción de chile. Los países con mayor producción de chile en el mundo son China, España, Turquía, Nigeria, India y México. Además, aunque en México el chile es un producto culturalmente importante, existe poca investigación sobre esta especie.

Por el contrario, en otros países existen instituciones públicas y privadas que dedican programas de investigación sobre esta planta con el fin de obtener variedades mejoradas, además de estudiar los aspectos nutricionales, bioquímicos y biomédicos.

En México el mole es un platillo que nos representa a nivel mundial, su minuciosa elaboración lleva consigo una larga lista de ingredientes indispensables para obtener esas notas y sabores inigualables, y es aquí donde el chile aporta su riqueza en color y sabor.

Existe una amplia variedad de moles, la gran mayoría a base de chiles secos, su diferencia radica en el tipo de chiles que se utilizan así como en las especias.

En Oaxaca existen siete tipos de mole, entre ellos el mole negro; el cual es el más elaborado y que utiliza como ingrediente principal e indispensable el chile chilhuacle negro que aporta principalmente el color y notas supremas a chocolate, tabaco, café y una ligera pungencia.

El chile chilhuacle es un tipo de chile oriundo de Oaxaca de la zona de Cañada y cuyo significado en nahua es “chile viejo” se conocen tres tipos de chilhuacle: negro, amarillo y rojo.

Su piel es tersa y sin arrugas estando secos, lo que permite su diferenciación entre otros chiles, son escasos y su precio en el mercado es alto pero resultan imprescindibles en el mole auténtico Oaxaqueño.

El chile chilhuacle negro tiene forma de pimienta, es grande y gordo, casi cúbico, su sabor es afrutado, con notas a tabaco, chocolate y café tostado.

El chile chilhuacle además de ser muy poco conocido en el mercado es caro debido a que su uso es regional y su cultivo no ha sido explotado industrialmente.



Figura 1. Imágenes muestra de chile chilhuacle tomadas en el transcurso del proyecto.

3.1 TAXONOMÍA DEL CHILE

Taxonómicamente el chile o chilli presenta las siguientes características:

Reino	Plantae
Nombre científico	Capsicum annum L.
División	Embriophyta Asiphonograma
Subdivisión	Angiospermas
Clase	Dicotiledóneas
Orden	Polemoniales
Familia	Solanáceae
Genero	Capsicum
Especie	annuum.

Tabla 1. Características taxonómicas de Capsicum annum (7)

Fisiológicamente es una baya cuya forma puede variar entre cúbica, cónica o esférica; (aunque casi siempre cúbica) su interior es hueco y dividido en 4 compartimientos, las semillas se alojan en los tabiques y cerca al tallo.

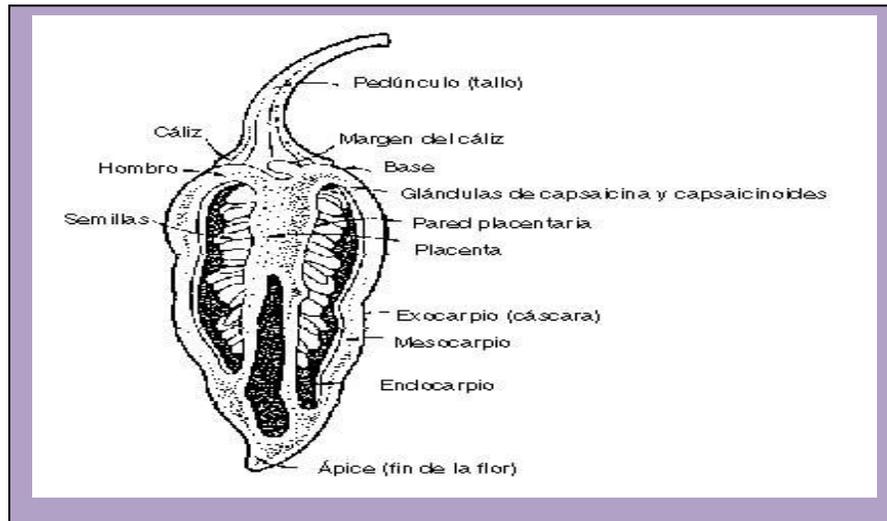


Figura 2. Corte Longitudinal de un fruto típico de Capsicum (2).

Se cultiva en tierras templadas y calientes. En general alcanza de 30 a 80 cm de altura. El tallo es erguido, ramoso y liso. Las hojas son simples, alternas, generalmente aovadas, enteras, lisas y lustrosas, de 5 a 12 cm de largo. Las flores son hermafroditas, blancas, verdosas o purpúreas; el cáliz es corto, generalmente pentalobulado. El fruto, llamado chile, es una planta erguida o péndula, incompletamente bilocular o trilocular, de forma y tamaño variable, dulce o picante, rojo o anaranjado cuando maduro, blanco o purpúreo cuando inmaduro; contiene numerosas semillas reniformes pequeñas, las cuales, junto con las placentas (venas) que las unen a la pared del fruto, contienen en mayor proporción la oleorresina. (19)

Las plantas de chile crecen mejor en suelos cálidos, las plantas no son sensibles al pH del suelo, pero generalmente se obtienen mejores frutos en el rango de un pH de 6.0 a 6.8.

En general los chiles comprenden un 38% de pericarpio, un 2% de la vaina interior, un 56% de semillas y un 4% de tallos aunque estos valores pueden variar de acuerdo a cada variedad de chile. La propiedad que separa a la familia *Capsicum* de otros grupos vegetales y que es la quinta esencia del chile, es un alcaloide denominado capsaicina, una sustancia cristalina excepcionalmente potente y acre, que no existe en ninguna otra planta. La cual es la característica de picor del chile proviene de una mezcla de capsaicinoides y resulta ser el componente más abundante. (19)

En México se encuentra el mayor número de variedades de *Capsicum*, las cuales dependen de la región (ya que algunas se adaptan mejor a ciertas condiciones ambientales), así como de la cultura productiva y de consumo. Por ejemplo es posible distinguir que en la zona del Golfo destacan las variedades de Jalapeño y Serrano; en el Bajío predominan los chiles secos como el Ancho, Pasilla y Mulato; en la Meseta Central el Poblano, Serrano, Carricillo; en el Pacífico Norte el pimiento Bell, Anaheim, Caribe y Fresno; mientras que en el Sur aparece nuevamente el Jalapeño, pero ahora combinado con variedades más locales como es el Costeño y Habanero. (32)

3.2 COMPOSICIÓN NUTRIMENTAL DEL CHILE

Análisis proximal de acuerdo al Instituto Nacional de Nutrición Salvador Zubirán (2000).

COMPONENTE	MÍNIMO	MÁXIMO
Agua (%)	20.7	93.1
Carbohidratos (%)	5.3	63.8
Proteínas (%)	0.8	6.7
Lípidos (%)	0.3	0.8
Fibra (%)	1.4	23.2
Cenizas (%)	0.6	7.1
Calcio (mg)	7.0	116.0
Fosforo (mg)	31.0	200.0
Hierro (mg)	1.3	15.1
Carotenos(mg)	0.03	25.2
Tiamina(mg)	0.03	1.09
Riboflavina(mg)	0.07	1.73
Niacina (mg)	0.75	3.30
Ac. Ascórbico (mg)	14.4	157.5
Calorías (Kcal/g)	23	233
Capsaicina (mg/10g de peso)	150	335

Tabla 2. Análisis proximal de *Capsicum annum*, INCMNSZ (2000).

Destaca su alto contenido de ácido ascórbico, valor que incluso es superior al de los cítricos; los chiles (ajíes) presentan un valor casi 10 veces más alto de vitamina A que los pimientos y, además, son de elevada pungencia, aspecto que los caracteriza. (27)

3.3 PROPIEDADES FUNCIONALES DE LOS COLORANTES

Los colorantes han estado presentes en los alimentos desde siempre, sin embargo es hasta el desarrollo del análisis sensorial cuando toman gran relevancia.

Los principales compuestos que componen a los colorantes naturales son los carotenos, cuya función principal es captar la energía solar para su transformación en la fotosíntesis. (19)

En las moléculas de estos compuestos se encuentran grupos cromóforos que consiste en una cadena de dobles enlaces conjugados, los cuales proporcionan a ciertos frutos colores rojizos, anaranjados y amarillos.

El contenido de carotenoides en las frutas aumenta durante el periodo de maduración, debido a la pérdida de la clorofila.

La siguiente tabla muestra la distribución de los carotenoides en diversos alimentos:

Distribución de carotenoides en diversos alimentos

Alimento	Carotenoides mayoritarios
Zanahoria (<i>Daucus carota</i>)	α - y β -caroteno
Naranja (<i>Citrus sinensis</i>)	Violaxantina, β -criptoxantina, luteína, zeaxantina
Mango (<i>Mangifera indica</i>)	Violaxantina, β -caroteno
Tomate (<i>Lycopersicum esculentum</i>)	Licopeno
Pimiento rojo (<i>Capsicum anuum</i>)	Capsantina, capsorrubina
Melocotón (<i>Prunus persica</i>)	β -criptoxantina, luteína
Papaya (<i>Carica papaya</i>)	β -criptoxantina, β -caroteno
Guayaba (<i>Psidium guajava</i>)	Licopeno, β -caroteno
Ciruela (<i>Spondias lutea</i>)	β -criptoxantina

Tabla 3. Distribución de carotenoides en diversos alimentos. (19)

Estos carotenoides se distribuyen ampliamente en la naturaleza y es en los vegetales en donde se encuentran en mayor medida pero también las bacterias, las algas y los hongos los poseen.

Los pigmentos pueden ser mayoritarios dependiendo de la especie vegetal o incluso exclusivos de cierta planta, un ejemplo claro es la especie Capsicum que posee casi exclusivamente la capsantina y la capsorrubina.

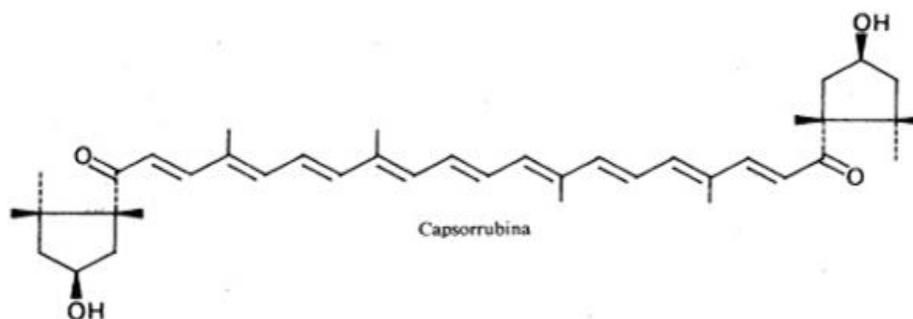


Figura 3. Molécula que representa a la Capsorrubina. (35)

El conjunto de compuestos orgánicos como los carotenoides conforman los colorantes naturales. De acuerdo a su naturaleza los colorantes pueden ser orgánicos y sintéticos, los primeros por ser naturales no requieren certificación, y su uso está en aumento.

Los colorantes naturales se dividen en “tintes” y “pigmentos”. Generalmente los tintes se definen como compuestos que interaccionan químicamente con el sustrato coloreado; usualmente se disuelven o dispersan en un solvente y el sustrato se trata en esta solución. Por otro lado, los pigmentos, muy usados en la industria farmacéutica, no forman enlaces químicos con el sustrato, y para que puedan adherirse a su superficie se tienen que mezclar con un adhesivo.

En México el 15% del total de chiles que se deshidrata se destina a la industria para la elaboración de chile en polvo y a la extracción de colorantes, los cuales, a su vez, se utilizan en la elaboración de alimentos para la industria avícola y de otros productos de consumo humano que requieren el uso de colorantes naturales.(13)

3.4 PROPIEDADES FUNCIONALES DE LAS OLEORRESINAS

El mercado de las oleorresinas surge en la década de los 30's, esta metodología implica la concentración de la misma por evaporación del disolvente o simplemente llevar a cabo la extracción con disolventes, es importante resaltar que esta oleorresina es un compuesto térmicamente sensible, por lo cual se debe tener la debida cautela al tratarlos para tener el menor daño posible.

La oleorresina de la especie Capsicum puede contener además de capsaicinoides, una mezcla compleja de aceites esenciales que pueden intervenir de manera negativa en ciertas mediciones, así como ceras, resinas, terpenos, carotenos y compuestos volátiles.

Las oleorresinas se utilizan en la preparación de carnes frías y embutidos; como componente de pinturas marinas; como repelente; en la industria tabacalera, para mejorar el sabor de ciertas mezclas de tabaco; en la industria farmacéutica, como estimulante; en la cosmética, para producir pigmentos colorantes para lápices labiales y polvos faciales y en la fabricación de aerosoles defensivos, entre otras.(1)

En la actualidad se utilizan diversas técnicas para la extracción de oleorresinas; la más reciente es la extracción con fluidos supercríticos, pero la más común es la extracción con solventes, tradicionalmente con hexano. Sin embargo, el calor y la luz favorecen la degradación de los carotenoides por isomerización o rompimiento de las moléculas que hace que se pierdan las propiedades nutricionales, farmacológicas y colorantes. (26)

Para la obtención de la oleorresina de diversas especies de *Capsicum*, el material fresco se somete a escaldado, troceado, secado, molienda y extracción con solvente. La oleorresina finalmente se analiza mediante HPLC en fase reversa y espectroscopia.

El principal parámetro que se usa para la evaluación comercial de las oleorresinas es la calidad del color, que normalmente se determina por el método ASTA (American Spice Trade Association), el cual mide el contenido de pigmento en unidades de color.(5)

3.5 CAPSAICINOIDES

Los capsaicinoides son un grupo de compuestos que pertenecen a los alcaloides y son metabolitos secundarios que se excretan al medio en un 90%.

La capsaicina tiene la siguiente fórmula condensada: $C_{18}H_{27}O_3N$, con un peso molecular de 305.199 g/g-mol. Forma cristales en forma de aguja, es inodora, con un punto de fusión de 64.5°C y un punto de ebullición de 210 –220°C. A una presión de 0.01 mm Hg, se sublima a 115 ° C y presenta su máxima absorción en

UV a 227 – 228 nm. Es soluble en éter etílico, alcohol etílico, acetona, alcohol metílico, tetracloruro de carbono, benceno y álcalis calientes. Es insoluble en agua fría (12).

La cantidad de capsaicina es genéticamente controlada, pero está sujeta a variables ambientales como temperatura, luz, suelo, humedad y nivel de fertilización.

La biosíntesis de capsaicinoides se lleva a cabo en la placenta del chile en una especie de vacuola llamada capsisoma. (27)

Anteriormente se demostró que las unidades aromáticas de C₆-C₁ se derivan biosintéticamente de la L- fenilalanina vía ácido cinámico

La ruta de biosíntesis está bien caracterizada. La vainillilamina de los capsaicinoides es derivada de la L-fenilalanina sintetizada vía ácido cinámico. Mientras que la cadena de ácidos grasos proviene de la L-valina para la formación de capsaicina y dehidrocapsaicina, la condensación de la vainillilamina y la cadena de ácidos grasos es catalizada por la enzima capsaicina-sintetasa.

La estructura química de todos los capsaicinoides es similar, son vainillilamidas de ácidos monocarboxílicos que varían solamente por lo largo de la cadena hidrocarbonada (C₈-C₁₁) y por la presencia o ausencia de un doble enlace en dicha cadena. (27)

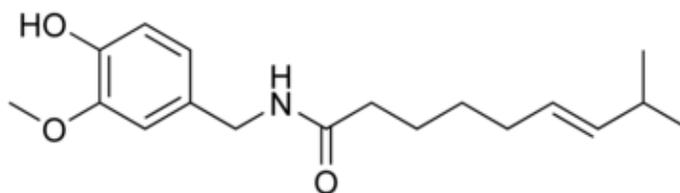


Figura 4. Estructura Capsaicina (8-metil-N-vanillil-6-nonenamida). (35)

Los capsaicinoides poseen propiedades que benefician a la salud, reducen la absorción de grasa por las células del epitelio y los niveles de colesterol en la sangre (hámsteres y ratas). (13)

3.6 IDENTIFICACIÓN Y DETERMINACIÓN DE CAPSAICINIODES

Existen en la actualidad diversas técnicas que han sido utilizadas para determinar o separar a los capsaicinoides. En los últimos años se ha requerido buscar métodos analíticos ideales para determinarlos individualmente.

Desde el punto de vista de calidad es importante el establecer un contenido específico de capsaicinoides con el fin de igualar y estandarizar sabores.

Se han utilizado métodos como los sensoriales introducidos por Scoville, espectrofotométricos, cromatografía de gases, cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas, cromatografía con fluidos supercríticos, cromatografía de líquidos con detectores UV y fluorescencia, espectrometría de líquidos acoplada a espectrometría de masas, cromatografía de líquidos acoplada a RMN, cromatografía capilar electrocinética micelar y análisis con enzimas realizando inmunoensayos.

El objetivo de las técnicas anteriores es la cuantificación y caracterización de los capsaicinoides a través de metodologías más eficientes, reducción del número de pasos y el tiempo de preparación de la muestra.

El método oficial de la AOAC para la determinación de capsaicinoides en *Capsicums* y sus extractos (oleorresinas), consiste en la extracción de la muestra, por extracción Soxhlet con etanol durante 5hrs, y es filtrado y analizado por cromatografía de líquidos con detector UV o Fluorescencia.(3)

3.7 MÉTODOS EXTRACTIVOS

Debido a que la concentración de los capsaicinoides en los chiles es muy variable es necesario se lleven a cabo métodos extractivos eficientes que concentren los analitos antes de cualquier análisis cromatográfico.

Actualmente se están utilizando técnicas de **microextracción en fase sólida** la cual es técnica novedosa y relativamente económica que se puede implementar tanto en el laboratorio como en el campo.

La cromatografía de gases permite cuantificar los compuestos separados y en algunos casos identificarlos, pero si el análisis lo requiere, la espectrometría de masas es más cualitativa.

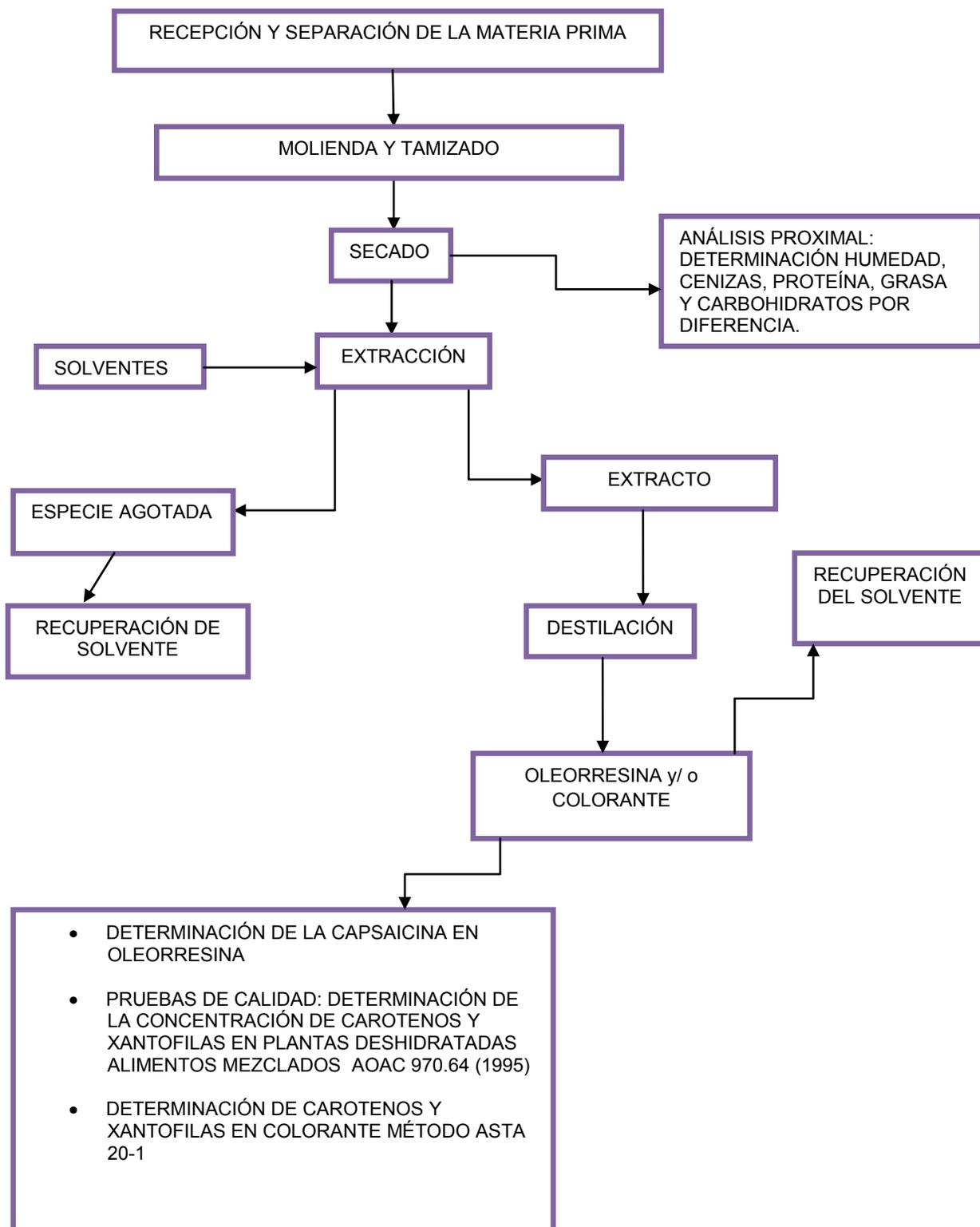
El método de **microextracción en fase sólida** tiene las ventajas de llevarse a cabo de manera rápida y sin necesidad de utilizar solventes. Además el umbral de detección puede estar en el orden de partes por trillón (ppt).

La **microextracción en fase sólida** posee un gran potencial en aplicaciones en el campo: el muestreo se puede llevar a cabo en lugares remotos sin necesidad de que el personal tenga un alto nivel de experiencia.

Cuando las muestras son almacenadas de manera adecuada, estas pueden ser analizadas días después del muestreo sin perder cantidades significativas de los compuestos en cuestión. (27)

4. METODOLOGÍA

4.1 PROCEDIMIENTO GENERAL



4.2 RECEPCIÓN Y LIMPIEZA DE MATERIA PRIMA

Fundamento: Las muestras de los alimentos se revisan para verificar su calidad, se separan, se muelen y homogenizan antes de su análisis.

Material:

- Chile chilhuastle estado seco, con un tamaño relativamente uniforme (de 6-7 cm de largo, 5-6 cm de ancho) La muestra utilizada de chile chilhuastle fue adquirida en la plaza de la Soledad (zona centro), 2 kg de chile en total. Las condiciones de almacenamiento del chile fue en bolsas de plástico cerradas a una temperatura de 18-21° C.
- Cuchillo
- Tabla para picar
- Cinta métrica o regla.
- Licuadora
- Bolsas de plástico con cierre hermético de plástico
- Tamices de (malla n. 10 y 20)

Procedimiento:

Inicialmente se lleva a cabo la verificación visual de la calidad del chile así como la medición de 15 chiles chilhuastle a lo largo y a lo ancho.

Posteriormente se hace una separación y la “limpieza” de los mismos la cual consiste en hacer un corte longitudinal del chile separando las semillas, venas, pedúnculo y pericarpio de los mismos.

Finalmente se lleva a cabo la molienda hasta obtener un tamaño de partícula para malla N. 10 o 20 según sea el caso esto para semillas y para el pericarpio por separado

Es conveniente señalar que el proceso de reducción de tamaño puede generar un aumento en la temperatura dando lugar a la pérdida de los compuestos volátiles, por ello se recomienda hacerlo lo más rápido posible y a baja velocidad.

El chile molido se tamizará en malla No. 10 cada una de las partes, semilla y pericarpio.

Ya teniendo el chile molido y separado se guardará reservándolo para el momento de su uso en las bolsas de plástico en un lugar oscuro y seco para conservarlo lo mejor posible.

4.3 ANÁLISIS PROXIMAL

4.3.1 DETERMINACIÓN DE CENIZAS (22)

Fundamento: Esta técnica se basa en la determinación del contenido total de cenizas a partir de la combustión de la materia orgánica y considerando la diferencia de masas antes y después de la calcinación.

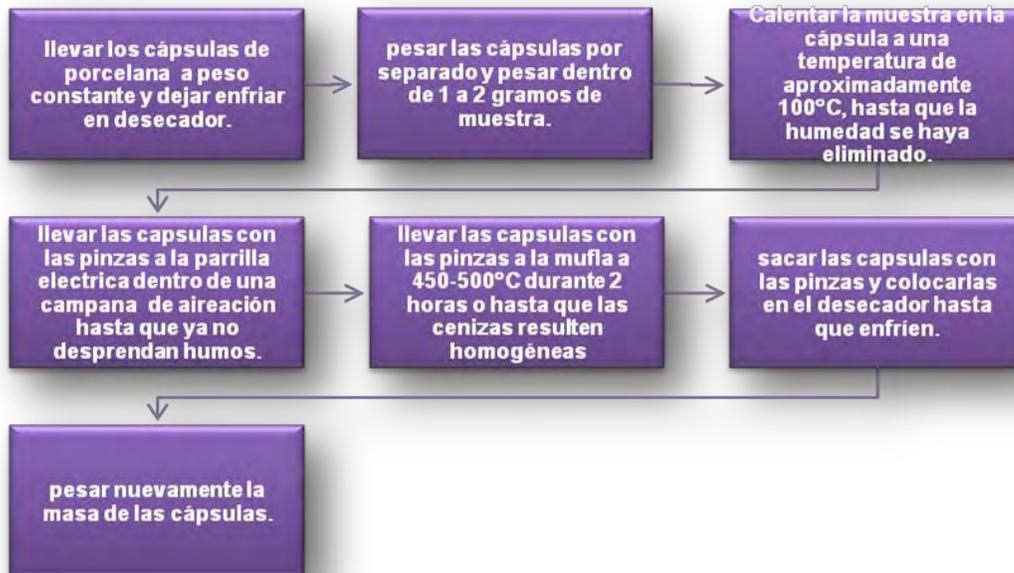
Reactivos y Materiales:

- 3 Cápsulas de porcelana de 50 a 100 mL.
- Desecador
- Pinzas para cápsula
- Parrilla eléctrica para incinerar con control de calor
- Espátula

Equipo:

- Estufa de laboratorio (100 – 110° C) con termostato y termómetro
- Mufla
- Balanza analítica con ± 0.1 mg de sensibilidad

Procedimiento:



Notas:

- Pesar las cápsulas hasta que estén a temperatura ambiente.
- Verificar que las cápsulas se encuentren perfectamente limpias.

Cálculos:

Los valores finales se obtendrán a partir de la siguiente ecuación:

$$\% \text{ Cenizas} = \frac{(\text{Contenido de cenizas}) \times 100}{\text{masa de la muestra}}$$

4.3.2 DETERMINACIÓN DE HUMEDAD (24)

Fundamento: Este método se basa en medir el volumen de agua liberada por la muestra durante su destilación continua junto con un disolvente inmiscible, utilizando para este método la trampa de Bidwell-Sterling.

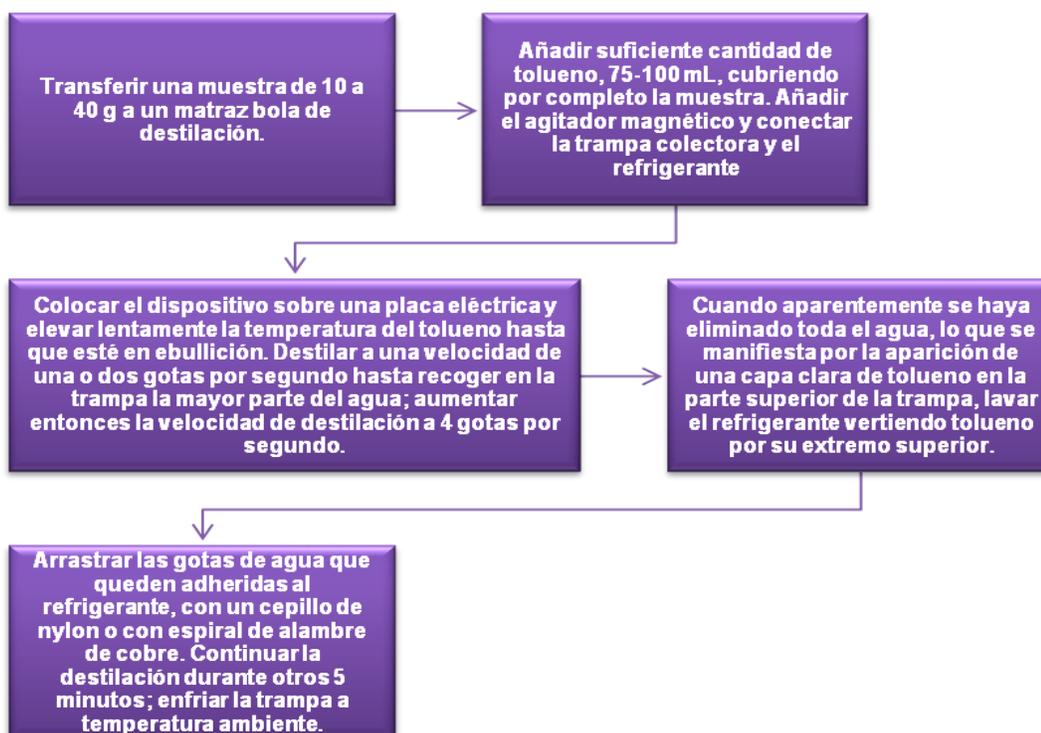
Reactivos:

- Tolueno
- Ácido sulfúrico
- Dicromato de potasio
- Alcohol Metílico
- Agua destilada

Materiales:

- Cepillo de nylon o una espiral de alambre de cobre
- Material común de laboratorio
- Matraz erlenmeyer o matraz bola de cuello corto de 250 a 500 mL de capacidad, con uniones 24/40.
- Trampa de Bidwell-Sterling, con boca 24/40, u otra trampa equivalente.
- Refrigerante de West, de 400 mm de longitud con unión macho 24/40.
- Placa eléctrica con agitador magnético u otra de agitación recubierta con teflón.
- Balanza analítica con ± 0.0001 g de sensibilidad.
- Licuadora convencional

Procedimiento:



Notas:

- Es preciso limpiar todo el aparato, cada vez que se utilice, con ácido sulfúrico-dicromato, enjuagar bien con agua y alcohol, y secar.
- Calibrar la trampa colectora por sucesivas destilaciones con tolueno y cantidades de agua medidas con precisión. Las lecturas deben aproximarse en centésimas de mL.

Expresión de resultados:

El contenido de agua en la muestra se determina leyendo el volumen de agua liberada con una precisión de 0.01 mL y calculando en por ciento.

Cálculos:

Los valores finales se obtendrán a partir de la siguiente ecuación:

$$\% \text{ Humedad} = \frac{(\text{Contenido de agua}) \times 100}{\text{masa de la muestra}}$$

4.3.3 DETERMINACIÓN DE LÍPIDOS (22)

Fundamento: El método Soxhlet se basa en un sistema de extracción cíclica de los componentes solubles en éter que se encuentran en el alimento.

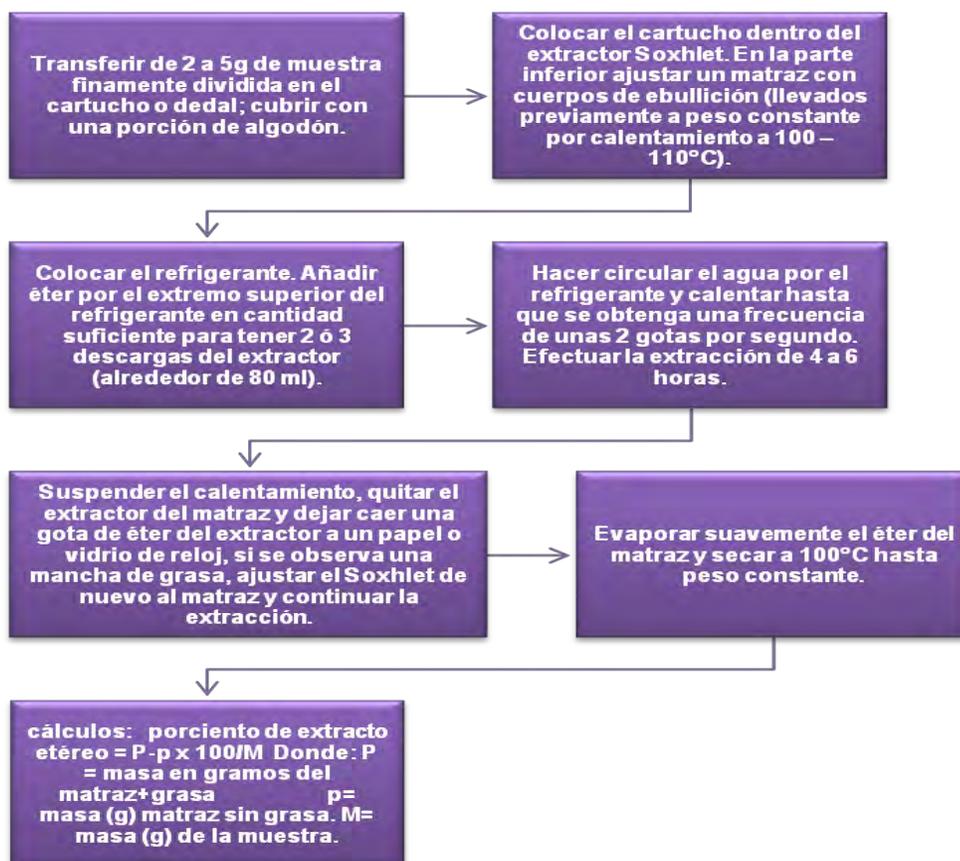
Reactivos y materiales:

- Éter etílico anhidro.
- Material común de laboratorio.

Equipo:

- Extractor Soxhlet.
- Cartucho de extracción (celulosa) de tamaño adecuado para el extractor.
- Parrilla eléctrica de placa con termostato.
- Estufa (100 – 110°C) con termostato y termómetro.
- Balanza analítica con sensibilidad de 0.1 mg.
- Campana de extracción.

Procedimiento:



Notas:

- Precaución: El éter es extremadamente inflamable. Se pueden formar peróxidos inestables cuando se almacenan mucho tiempo o se expone a la luz del sol.
- Por ello es recomendable el empleo de extractores efectivos de vapores y evitar la electricidad estática.
- Se puede emplear papel filtro en lugar del cartucho de extracción.

Cálculos:

Los valores finales se obtendrán a partir de la siguiente ecuación:

$$\% \text{ Lípidos} = \frac{(\text{Peso de la grasa}) \times 100}{\text{Peso de la muestra}}$$

4.3.4 DETERMINACIÓN DE PROTEÍNAS (21)

Fundamento: Las proteínas y otros compuestos orgánicos son oxidados por el ácido sulfúrico, el nitrógeno orgánico de las proteínas se fija como sulfato de amonio; esta sal se hace reaccionar con una base fuerte (NaOH) para desprender amoníaco que se destila y se recibe en un ácido débil (bórico), en el cual se puede titular el amoníaco con un ácido fuerte HCl. En este método, se usa el sulfato de cobre y de sodio como catalizadores, los cuales aumentan la temperatura de la mezcla y aceleran la digestión.

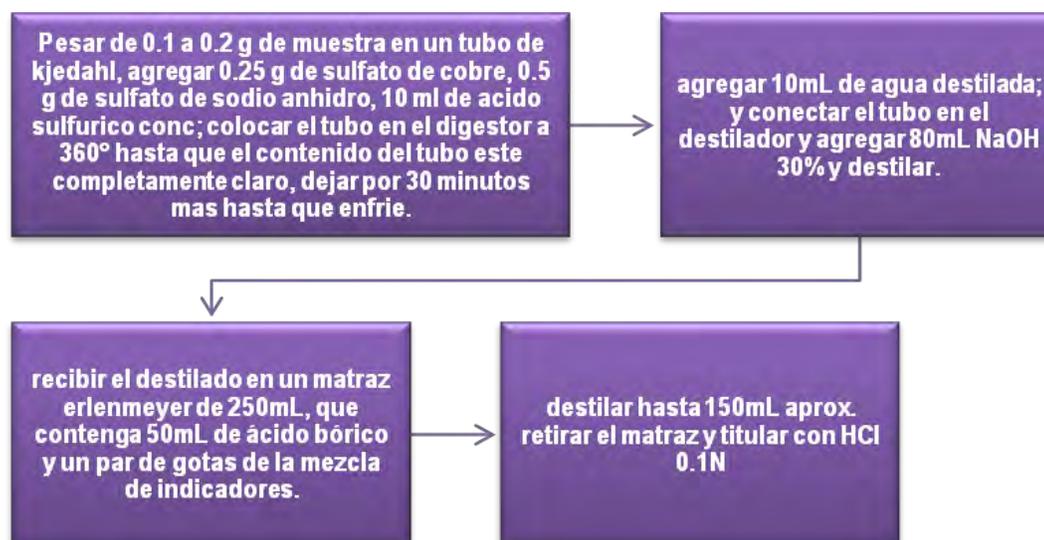
Material:

- Tubo de Kjeldhal de 800 mL
- matraz erlenmeyer de 500 mL
- bureta de 50 mL
- pipetas volumétricas de 10 mL
- probeta 50 mL
- cuerpos de ebullición
- balanza analítica con sensibilidad de 0.1 mg
- digestor y destilador de Kjeldhal

Reactivos:

- ácido sulfúrico
- sulfato de cobre
- sulfato de sodio anhidro
- ácido bórico al 4% en agua
- solución concentrada de hidróxido de sodio 30%
- ácido clorhídrico 0.1 N
- rojo de metilo al 0.2% en una mezcla de 60 mL de alcohol etílico y 40 mL de agua
- azul de metileno al 0.2 % en agua
- mezclar dos partes de rojo de metilo y una parte de azul de metileno.

Procedimiento:



Expresión de resultados y cálculos:

$$\%N = \frac{14 \times N \times V \times 100}{m \times 1000}$$

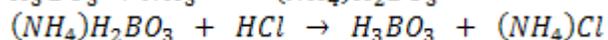
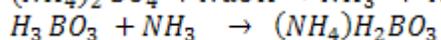
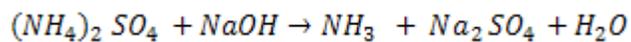
$$\%Proteína = \frac{14 \times N \times V \times 100 \times factor}{m \times 1000}$$

V= Volumen de HCl gastado en la titulación

N= normalidad de HCl

m= masa de la muestra

Durante el procedimiento que se sigue para esta cuantificación se toma en cuenta que la serie de reacciones que se llevan a cabo son:



4.3.5 DETERMINACIÓN DE CARBOHIDRATOS (POR DIFERENCIA) (23)

Mediante el cálculo de los macrocomponentes anteriores: cenizas, humedad, lípidos y proteínas; se calculará por diferencia, por medio de un balance de materia, el contenido de carbohidratos contenidos en el chile chilhuacle.

4.4 PRUEBAS DE CALIDAD

4.4.1 EXTRACCIÓN DE OLEORRESINA (De acuerdo a método Soxhlet)

Fundamento: Las oleorresinas serán extraídas mediante disolventes orgánicos. Al ser las oleorresinas compuestos aromáticos serán arrastradas por los disolventes.

Reactivos:

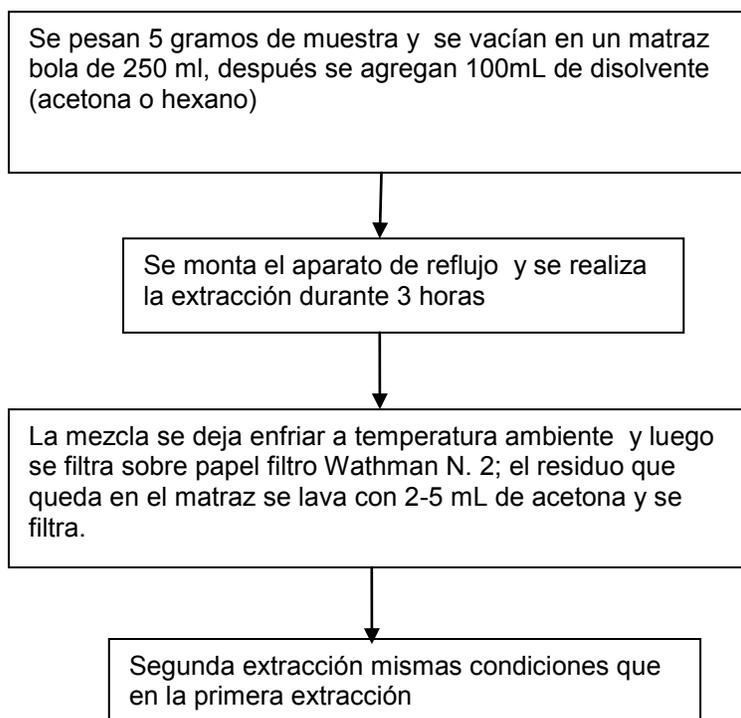
- Agua destilada
- Acetona Grado Reactivo Marca Baker
- Hexano Grado Reactivo Marca Baker

Material y equipo:

- Matraz de bola de 250 mL
- Parrilla eléctrica
- Refrigerante
- Reostato
- Probeta 100mL
- Soporte
- Matraz erlenmeyer de 125 mL.
- Vaso de pp de 5, 100,250 mL.
- Embudo de tallo corto
- Termómetro

- Pinzas de tres dedos
- Tapón de corcho
- Mangueras
- Papel filtro
- 1 espátula
- 1 Pipeta de 50mL.
- Probeta 100mL
- Perlas de ebullición

Procedimiento:



Recuperación del disolvente:

- Materiales:
- Rotavapor Marca Yamato Scientific Co. LTD.

Procedimiento:

Se realiza una destilación, cuidando que la temperatura no sea mayor a los 50 °C a baño María bajo campana. Hasta que no se detecte olor del disolvente.

Cálculos:

$$\%oleorresina = \frac{(masa\ oleorresina) \times 100}{masa\ de\ la\ muestra}$$

4.4.2 DETERMINACION DE CAPSAICINA EN LA OLEORRESINA

(de acuerdo a la NMX-F-389-1982)

Fundamento: Este método se basa en la determinación del contenido de capsaicina en los *Capsicums*; en primer lugar mediante una serie de diluciones para la elaboración de una curva tipo, y en segundo lugar una extracción mediante columna.

Reactivos:

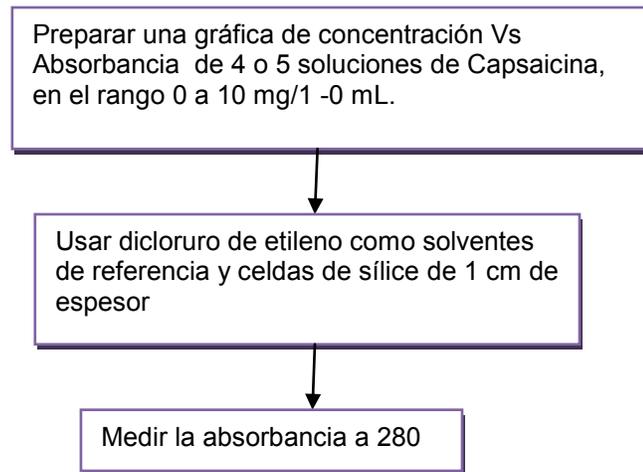
- Capsaicina purificada
- Dicloruro de etileno R.A.

Equipo:

- Espectrofotómetro de UV – Visible
- Tubos de ensaye de 15 mL

- Celdas de 1 cm.
- Matraz aforado de 100mL.
- Probeta graduada de 100mL.
- Pipeta graduada de 1, 5 y 10 mL.

Calibración:



Cálculos:

Para calcular el contenido de capsaicina de las muestras, utilizando la ecuación de la curva patrón de capsaicina, y el factor de dilución, se calcula la concentración en ppm ($\mu\text{g/mL}$).

Utilizando las siguientes ecuaciones:

$$\text{Concentración de capsaicina} = \frac{\text{Absorbancia} + \text{ordenada al origen}}{\text{pendiente}}$$

La conversión de μg de capsaicina a los grados de picor, Unidades Scoville, se realiza mediante la siguiente ecuación.

1 Unidades Scoville = 15 μ g de capsaicina

$$\text{Unidades Scoville} = \frac{\mu\text{g de capsaicina en la muestra}}{15 \mu\text{g de capsaicina}}$$

4.4.3 DETERMINACIÓN DE CAPSAICINA POR HPLC (8)

Fundamento: 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 cromatográfica.

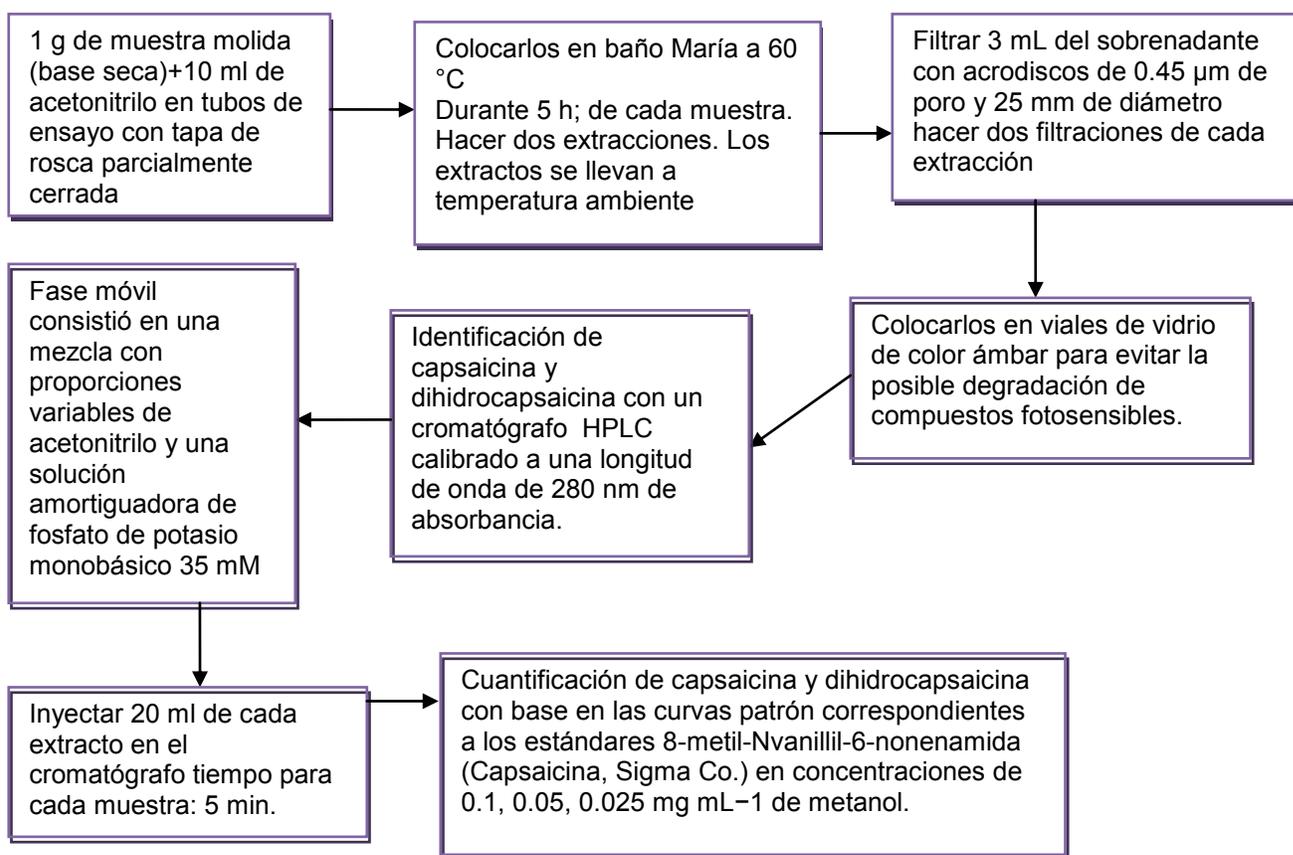
Los disolventes más utilizados son el agua, el metanol y el acetonitrilo. El agua puede contener tampones, sales, o compuestos como el ácido trifluoroacético, que ayudan a la separación de los compuestos. (23)

Material reactivos, equipo

- 1 g de fruto molido (en base seca)
- Acetonitrilo
- Cromatógrafo de líquidos de alta resolución (HPLC) con detector de arreglo de diodos (Hewlett Packard; Serie 1100)
- Columna con partículas de 25 μ m de diámetro (Waters Spherisorb ODS, Sigma Co.), 150 mm de longitud y 4.6 mm de diámetro.
- Estándares 8-metil-Nvanillil-6-nonenamida (Capsaicina, Sigma Co.)
- Tubos de ensayo con tapa de rosca baño María a 60 °C
- Acrodiscos de 0.45 μ m de poro y 25 mm de diámetro (Millipore Corp.)

- Viales de vidrio de color ámbar
- Solución amortiguadora de fosfato de potasio monobásico 35 Mm
- Metanol

Procedimiento:



*Llevar a cabo el procedimiento, ahora extrayendo con metanol

**NOTA: Para calcular el contenido de capsaicina de la muestra, se realizan los cálculos, tomando en cuenta la ecuación de la recta obtenida de la curva patrón, y los factores de dilución empleados.

Utilizando las siguientes ecuaciones.

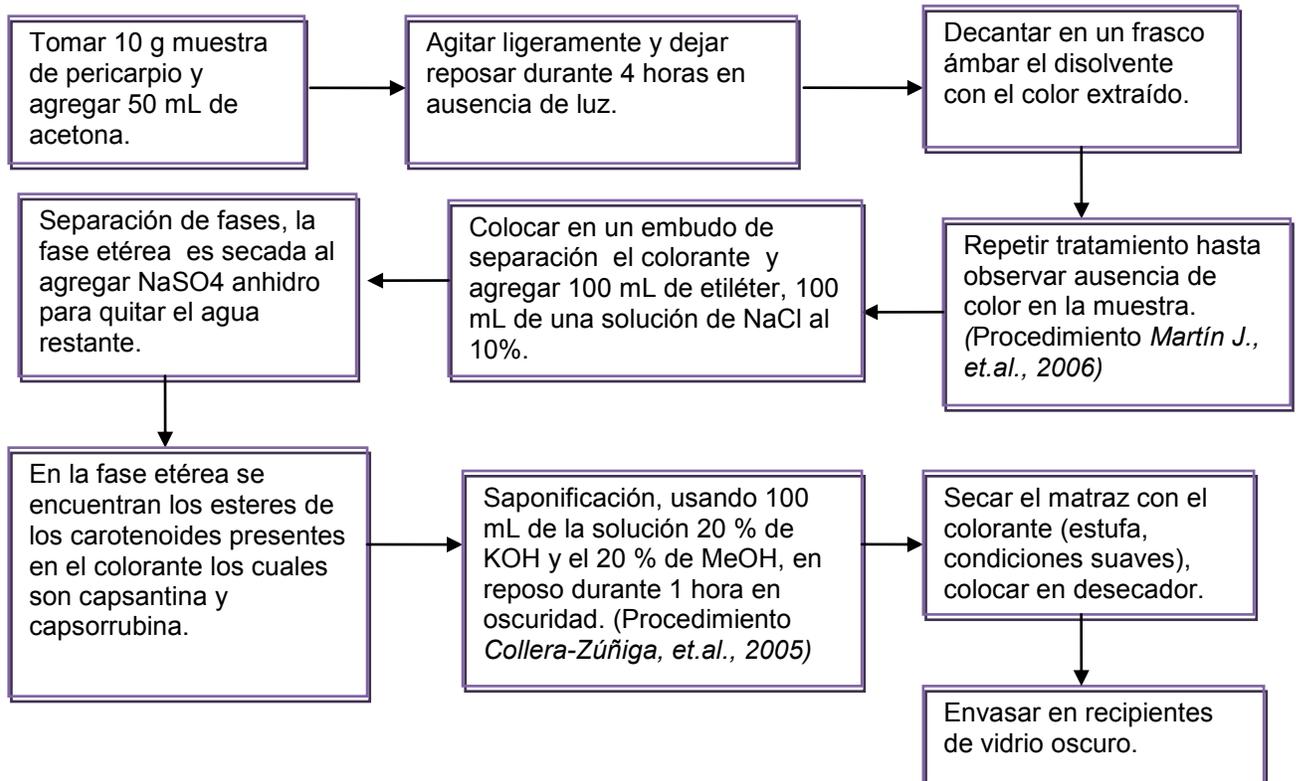
$$\text{Concentración de capsaicina} = \frac{(\text{área}) \text{ordenada al origen}}{\text{pendiente}}$$

Para calcular los μg de capsaicina que se encuentran por gramo de semilla, se utiliza la ecuación:

$$\frac{\mu\text{g de capsaicina}}{\text{g muestra}} = \frac{(\text{concentración de Capsaicina}) \times (\text{mL de MeOH})}{\text{g muestra}}$$

4.4.4 EXTRACCIÓN DE COLORANTES (9)

Procedimiento:



**4.4.5 DETERMINACIÓN DE COLOR EXTRACTABLE POR EL MÉTODO ASTA
20-1 PARA COLORANTE (CAPSANTINA Y CAPSORRUBINA)**

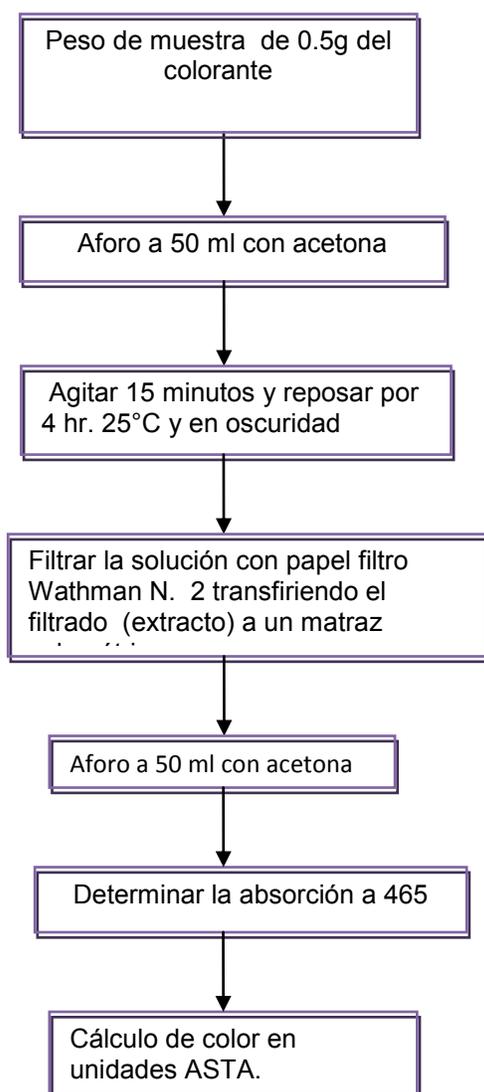
Reactivos:

- Acetona,
- Etanol

Equipo:

- Espectrofotómetro UV – Visible o Colorímetro
- Celdas de 1 cm.
- Filtro estándar de vidrio
- Matraz aforado de 100mL.
- Probeta graduada de 100mL.
- Pipeta graduada de 1, 5 y 10 mL

Procedimiento:



****NOTA:** Del colorante obtenido se toma una muestra de 0.5 g, la cual se suspendió en 50 ml del disolvente (acetona y etanol respectivamente) y en ambos casos se recurrió a una segunda dilución: en el caso de la muestra en acetona se tomó una alícuota de 0.5 ml para llevarla a un volumen final de 50; en el caso del etanol se tomó una alícuota de 1 ml para llevarla a un volumen de 50 ml. Se toman

las lecturas de las diluciones en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 460 nm.

Cálculos:

Para calcular las unidades ASTA se utiliza la siguiente fórmula.

$$\text{Unidades ASTA} = \frac{\text{Abs}_{460\text{nm}} \times 16.4}{\text{peso de la muestra en g}} \times \text{factor de dilución}$$

Para la calcular las unidades Internacionales de Color se utiliza la siguiente ecuación:

$$\text{Unidades Internacionales de Color} = \text{Unidades ASTA} \times 40$$

4.4.6 DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE CAROTENOS Y XANTOFILAS EN PLANTAS DESHIDRATADAS Y ALIMENTOS MEZCLADOS. MÉTODOS OFICIAL AOAC 970.64 (1995).

Fundamento: Esta técnica se basa en la extracción de los colorantes mediante una solución extractable y posteriormente una saponificación en frío.

El fraccionamiento de estos colorantes se llevará a cabo mediante una cromatografía en columna.

Reactivos:

- Acetona libre de alcohol
- Hexano comercial de alta pureza

- Solución extractable (10mL hexano+7mL de acetona+6mL de alcohol absoluto+7mL de tolueno) aforar con agua en matraz de 100mL
- Tolueno
- Tierra de diatomeas
- Oxido de magnesio
- Gel de sílica
- Hidróxido de potasio 40%
- Sulfato de sodio 10%
- Eluente 1: hexano-acetona (96mL +4mL)
- Eluente 2: hexano-acetona-metanol (80mL +10mL +10mL)

Equipo y material:

- Equipo común de laboratorio
- Columna cromatográfica de 30cm marca PYREX en vidrio.

Expresión de los resultados:

*Carotenos = (mg/lb) = (A_{436nm} *454* f) / (196*b*d)* donde:

- A₄₃₆ = Absorbancia medida a 436 nm
- 454= factor de corrección del instrumento.

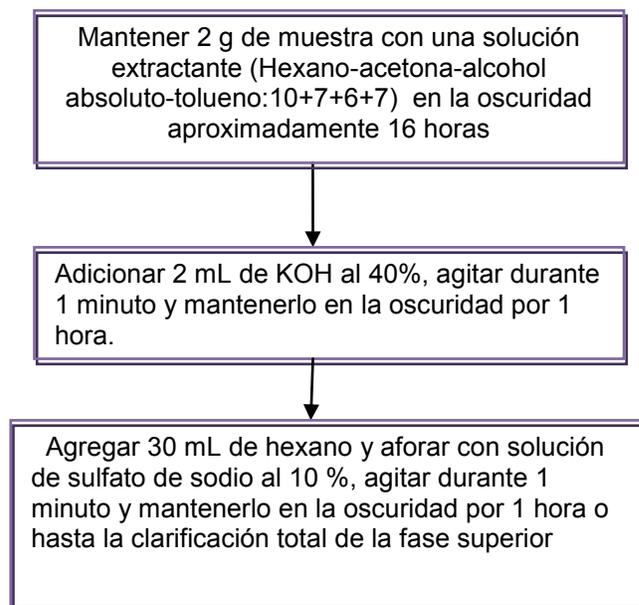
- F= factor de desviación del instrumento (0.460/ A₄₃₆)
- b= Longitud de la celda en cm
- d= factor de dilución

$Xantofilas = (mg/lb) = (A_{474} * 454 * f) / (236 * b * d)$ donde:

- A₄₇₄ = Absorbancia medida a 436 nm
- 454= factor de corrección del instrumento.
- F= factor de desviación del instrumento (0.561/ A₄₇₄)
- b= Longitud de la celda en cm

Procedimiento:

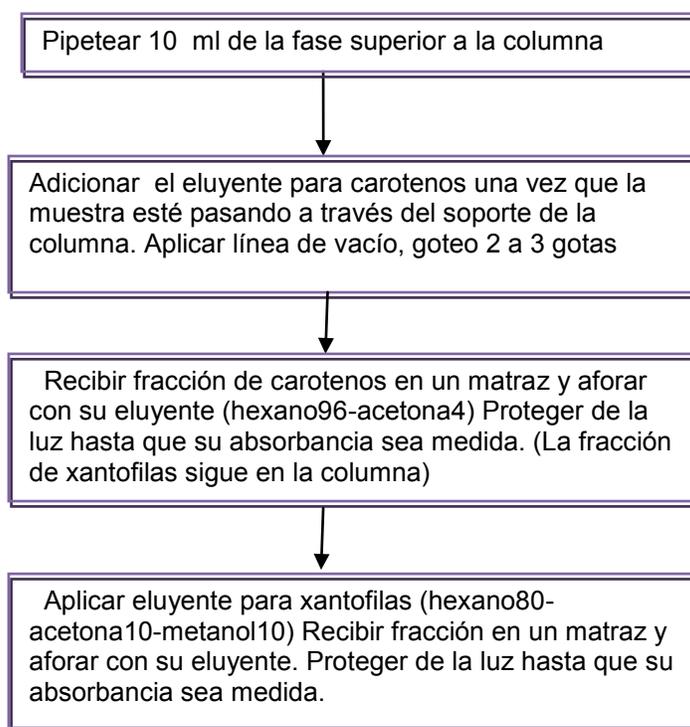
MÉTODO DE SAPONIFICACIÓN EN FRÍO:



Se trató una muestra de chile molido (2 g) de acuerdo al método **AOAC 970.64 (2006)** de la fracción orgánica de la solución, se tomó una alícuota de 10 ml que se pasó por columna cromatográfica, eluyendo primero la fracción que contiene a los carotenos y posteriormente la fracción que contiene a las xantofilas.

Se tomaron lecturas en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 436 nm para los carotenos y de 474 para las xantofilas.

Procedimiento para la Cromatografía:



****NOTA 1:** Se tomaron 2g de muestra, los mililitros del extracto vertido por la columna fue de 10 ml, y el volumen al que se llevó la fracción de carotenos fue de 100 mL. Éste resultado se multiplicó por el factor de dilución que se utilizó para que la lectura en el espectrofotómetro fuera confiable, el factor de dilución empleado fue 10.

**NOTA 2: Se tomaron 2g de muestra, los mililitros del extracto vertido por la columna fue de 10 ml, y el volumen al que se llevó la fracción de xantófilas fue de 100 ml.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

RECEPCIÓN DE MATERIA PRIMA

Número de muestra	largo (cm)	ancho (cm)
1	5.5	5.2
2	8	6.1
3	6.5	5.3
4	7	5.5
5	5.2	4.8
6	5.6	5.3
7	7.1	5.3
8	6.8	5.4
9	6.6	5.2
10	7.4	5.3
11	7.3	5.6
12	5.8	5.4
13	6.3	5.4
14	7.3	5.6
15	6.4	5.3
Promedio	6.59	5.38
D.S.	0.80	0.27
C.V.	12.14	5.02

Tabla 4. Longitud y ancho del chile chilhuastle.

Los valores promedio que se obtuvieron fueron de 6.59cm de longitud y 5.38cm, el chile chilhuastle tiene unas medidas aproximadas de 5-6 cm de ancho y 6-7 cm de largo, de acuerdo a lo establecido por CONAPROCH (36), por lo cuál se considera que las características físicas son las adecuadas para proseguir con el proyecto.

Este chile presenta un pericarpio quebradizo, brillante y liso, no tiene un olor picante característico de otros chiles secos y las semillas son más claras de lo característico en otros chiles secos. Es importante resaltar que el lote con el que trabajo era visualmente homogéneo en cuanto a color, morfología, tamaño y aroma.

Posteriormente se dividió el chile en pedúnculo, pericarpio y semillas, se pesaron por separado y se obtuvo que el pericarpio representa el 68.05% y las semillas el 33.24% del chile completo.

Numero de muestra	Masa del chile sin pedúnculo (g)	Masa de pericarpio (g)	Masa de semillas (g)
1	8.97	5.41	3.55
2	8.79	6.96	1.82
3	8.56	5.60	2.95
4	7.92	5.67	2.25
5	8.41	5.43	2.98
6	8.93	5.46	3.46
7	7.92	5.72	2.19
8	8.67	5.64	3.03
9	8.58	5.68	2.89
10	8.21	5.82	2.39
11	8.67	6.12	3.56
12	7.96	5.67	2.87
13	8.23	6.01	2.98
14	8.76	5.78	2.37
15	8.45	5.36	2.87
Promedio	8.47	5.76	2.81
D.S.	0.35	0.39	0.51
C.V.	4.51	6.84	18.28

Tabla 5. Masa del chile chilhuastle, semillas y pericarpio.

5.1 ANÁLISIS PROXIMAL

5.1.1 DETERMINACIÓN DE HUMEDAD

Número de muestra	Masa de la muestra (g)	Contenido de agua (mL)
1	10.16	0.6
2	10.17	0.7
3	10.19	0.7

Tabla 6. Determinación de humedad mediante destilación azeotrópica

Número de muestra	% Humedad
1	5.90
2	6.87
3	6.86
Promedio	6.54
D.S.	0.56
C.V.	8.57

Tabla 7. Porcentaje de humedad del chile chilhuastle

El porcentaje que se obtuvo de humedad fue de 6.54% lo cual es un valor muy bajo en comparación con otras especies de chiles secos que alcanzan valores de hasta el 10%.

Es importante decir que el contenido de humedad señala en gran medida la calidad del chile, ya que entre mayor sea el porcentaje de agua, será más susceptible al ataque por microorganismos y la consecuente disminución de su vida de anaquel.

La **NMX-FF-107/1-SCFI-2006 PRODUCTOS ALIMENTICIOS – CHILES SECOS ENTEROS (GUAJILLO, ANCHO, MULATO, DE ÁRBOL, PUYA Y PASILLA)** es la norma mexicana que actualmente rige las características de los chiles secos; sin embargo solo contempla a 6 de ellos, los más comercializados:

Tipo de chile	% de Humedad (m/m) máximo
Ancho	12.5
Mulato	12.5
Pasilla	13.5
Guajillo	13.5
Puya	10
De árbol	9

** En donde (m/m) es masa/masa (NMX-FF-107/1-SCFI-2006)

Se puede observar que los valores máximos están en un rango de 9-13.5%, por lo cual si la humedad que se obtuvo para chilhuastle es de 6.54% se considera aceptable.

DETERMINACIÓN DE HUMEDAD EN SEMILLAS

Posteriormente se hizo la determinación de humedad pero sólo en las semillas del chile mediante dos técnicas: destilación azeotrópica y secado en estufa, se decidió hacer estas determinaciones con la finalidad de saber como es que estaba distribuida el agua en cada parte del chile, que papel juega el agua en las semillas y en el pericarpio.

Número de muestra	Masa de la muestra (g)	Contenido de agua (mL)	% Humedad
1	10.13	0.6	5.92

Tabla 8. Determinación de humedad de las semillas mediante destilación azeotrópica.



Fotografía 2. Destilación azeotrópica en la determinación de humedad de chile chilhuastle

Número de muestra	Masa del pesafiltro (g)	Masa de la muestra (g)	Masa del pesafiltro con la muestra (g)	Masa del pesafiltro con la muestra seca (g)	Contenido de agua (g)
1	13.17	2.17	15.34	15.22	0.12
2	13.53	2.15	15.69	15.57	0.11
3	13.76	2.08	15.84	15.71	0.12

Tabla 9. Determinación de humedad de semillas mediante secado en estufa

Número de muestra	% Humedad
1	5.76
2	5.55
3	6.17
Promedio	5.83
D.S.	0.31
C.V.	5.46

Tabla 10. Porcentaje de humedad de las semillas mediante secado en estufa

Los resultados obtenidos señalan que la humedad resulta equiparable ya que es ligeramente superior en la destilación azeotrópica de 5.92% comparada con 5.83% por secado en estufa. Por lo tanto se puede decir que el contenido de agua en este chile se encuentra en las semillas en su mayoría.

5.1.2 DETERMINACIÓN DE CENIZAS

Número de muestra	Masa del Crisol (g)	Masa de la muestra (g)	Masa del crisol con cenizas (g)	Masa de las cenizas (g)
1	19.50	2.18	19.62	0.12
2	19.34	2.08	19.45	0.11
3	20.78	2.31	20.91	0.13

Tabla 11. Determinación de cenizas en chile chilhuastle

Número de muestra	% cenizas (g/100g)
1	5.57
2	5.57
3	5.73
Promedio	5.62
D.S	0.09
C.V	1.62

Tabla 12. Determinación de porcentaje de cenizas en chile chilhuastle

La determinación de ceniza se llevó a cabo en el chile completo y los datos obtenidos señalan que el porcentaje de cenizas es de 5.62% en base húmeda, si se considera en base seca el valor es de 6.02%, al comparar este valor con datos reportados para otros chiles secos (costeño, catarina, morita) 3.56-8.21% se puede decir que el valor se encuentra dentro del rango, este valor representa el contenido de minerales presentes en el chilhuastle.

5.1.3 DETERMINACIÓN DE LÍPIDOS

La determinación de lípidos se determinó en el chile completo y los valores obtenidos señalan que el porcentaje de lípidos en el chile chilhuastle es de 8.58% en base húmeda.

Número de muestra	Masa del Matraz (g)	Masa de perlas de ebullición (g)	Masa de la muestra (g)	Masa del matraz+ perlas +grasa (g)	Masa del matraz + grasa (g)	Masa de grasa (g)
1	104.71	0.10	3.43	105.10	104.99	0.28
2	106.70	0.10	3.44	107.11	107.00	0.30
3	98.89	0.10	3.42	99.29	99.18	0.29

Tabla 13. Determinación de lípidos en chile completo

Número de muestra	% Lípidos
1	8.20
2	8.87
3	8.66
Promedio	8.58
D.S	0.34
C.V	3.97

Tabla 14. Determinación de porcentaje de lípidos en chile completo

El porcentaje de lípidos en base seca es de 9.18% , si comparamos el contenido de lípidos con los reportados anteriormente para otros chiles secos (costeño, catarina, morita) también se encuentra dentro del rango 7.01-16.23%, por lo cual se puede deducir que este valor es aceptable, ya que el contenido de lípidos es imprescindible y de ello dependieron las determinaciones posteriores para el contenido de oleorresinas que como su nombre lo indica es una sustancia oleosa de constitución *lipídica* variable.

Estos macrocomponentes aportan a los alimentos características de textura, sabor y aroma que los hacen únicos a cada uno de ellos.

5.1.4 DETERMINACIÓN DE PROTEÍNAS

La determinación se llevó a cabo en el chile completo y en las semillas, los valores obtenidos en porcentaje de proteína para el chile completo fue de 21.22% utilizando el factor de 6.25.

Número de muestra	Masa de la muestra (g)	Normalidad HCl	Masa blanco de reactivos (g)	Volumen de HCl gastado (mL)	Volumen de HCl gastado (mL) blanco	Vol. de HCl gastado menos el blanco (mL)
1	0.13	0.11	0.15	3.5	0.4	3.1
2	0.13	0.11	0.15	3	-	2.6
3	0.14	0.11		3.3		2.9

Tabla 15. Determinación de proteínas en chile chilhuastle

Número de muestra	% Nitrógeno proteico	% Proteína *
1	3.68	23.04
2	3.16	19.78
3	3.33	20.86
Promedio	3.39	21.22
D.S	0.26	1.66
C.V	7.82	7.82

Tabla 16. Determinación del porcentaje de proteínas en chile chilhuastle completo
*Factor utilizado es de 6.25

Este valor obtenido de 21.22% y 22.71% en base seca, es mayor a lo esperado, ya que si se compara este dato con lo obtenido para el chile catarina que es de 10.97% es casi del doble, con respecto al chile costeño que es de 13.42% es muy superior y es equiparable con el valor obtenido para el chile morita que presenta un porcentaje de 21.34%, como se puede observar este chile es el que aparentemente presenta un contenido proteínico superior, es interesante la funcionalidad que puede adquirir este chile por la relación de sus macrocomponentes, con lo obtenido se sugieren estudios posteriores enfocados a

la funcionalidad proteica y en cuanto el estudio del porcentaje de aminoácidos esenciales que este Capsicum puede ofrecer a la dieta del mexicano.

ANÁLISIS PROXIMAL GLOBAL

La composición del chile chilhuacle en base seca aparece en la tabla 17, se puede observar que el contenido de lípidos resulta inferior al de proteínas, lo cual puede servir para posteriores investigaciones sobre la funcionalidad de estas proteínas., en cuanto a los lípidos que es la fracción que más interesa en este estudio debido a que se llevará a cabo una extracción de la oleorresina se encuentra en un 9.18%, como ya se había mencionado.

El contenido de carbohidratos se calculó por diferencia y se encuentran en un 62.07%, en general los carbohidratos se presentan como fibra, en polímeros naturales como la celulosa y la hemicelulosa que sirven como “soporte” de la estructura base del los vegetales. En otras situaciones (en su mayoría en cereales) estos carbohidratos poliméricos se encuentran como almidón que es la principal fuente energética que constituye al alimento.

Es de gran interés presentar ya el análisis proximal completo de este Capsicum, ya que tiene la desventaja de ser poco conocido incluso en regiones del Istmo, al presentar el análisis proximal se puede proponer en base a sus macrocomponentes distintas funcionalidades, ya que como se estableció al principio, solo es aprovechado en el mole negro.

Podemos ver que tiene la ventaja de presentar baja humedad y por lo tanto una mayor vida de anaquel debido a una menor disposición a la descomposición, un

contenido aceptable de lípidos lo cual nos hace pensar en su funcionalidad posterior para la extracción de la oleorresina, en cuanto al contenido de proteínas resulta interesante visualizarlo como el complemento idóneo en una dieta balanceada, ya que además de ser una rica fuente de calcio complementa la porción proteica, cabe señalar que el porcentaje de proteínas es superior al esperado, ya que el porcentaje máximo señalado según el Instituto de Nutrición Salvador Zubirán es de 6.7% para Capsicum en general.

Determinación	Método	Porcentaje en Base húmeda	Porcentaje en Base seca
Humedad	Destilación Azeotrópica	6.54	
Cenizas	Mufla 500-600 °C	5.62	6.02
Grasa Cruda	Soxhlet	8.58	9.18
Proteína Cruda	Kjeldhal	21.22	22.71
Carbohidratos	Diferencia	58.01	62.07

Tabla 17. Composición proximal del chile chilhuastle

5.2 EXTRACCIÓN DE OLEORRESINA

La oleorresina se extrajo en semilla y en pericarpio esto con la finalidad de comparar estos porcentajes y establecer en que fracción se obtendría un mayor rendimiento.

Número de muestra	Masa del Matraz+ perlas de ebullición (g)	Masa de la muestra (g)	Masa del matraz + perlas+ oleorresina(g)	Masa de la oleorresina (g)
1	110.66	1.07	110.80	0.14
2	108.76	1.08	108.91	0.15
3	104.51	1.08	104.65	0.13

Tabla 18. Extracción de oleorresina en semilla de chile chilhuastle

Número de muestra	% Oleorresina
1	13.46
2	14.36
3	12.60
Promedio	13.48
D.S	0.88
C.V	6.53

Tabla 19. Porcentaje de oleorresina en semilla de chile chilhuastle

Número de muestra	Masa del matraz + perlas de ebullición (g)	Masa de la muestra (g)	Masa del matraz + perlas + oleorresina(g)	Masa de la oleorresina (g)
1	105.45	5.02	105.83	0.37
2	93.09	5.02	93.45	0.36
3	105.41	5.06	105.79	0.38

Tabla 20. Porcentaje de oleorresina en pericarpio de chile chilhuastle 1

Número de muestra	% Oleorresinas
1	7.46
2	7.26
3	7.50
Promedio	7.41
D.S	0.12
C.V	1.72

Tabla 21. Porcentaje de oleorresina en pericarpio en chile chilhuastle

Los resultados obtenidos señalan que es mayor la porción obtenida de oleorresina en semillas con un porcentaje de 13.48% y de 7.41% en pericarpio.

En general en las semillas se encuentra una cantidad superior de compuestos grasos que son los responsables de la energía de reserva del fruto, estos compuestos son ácidos grasos de cadena larga, es decir enoicos y octanoicos los cuales son extraídos con el disolvente al seno del extracto.

Mientras que en el pericarpio en su mayoría se encuentran los carotenoides, responsables del color que presenta el fruto. Se puede decir que el rendimiento es favorable para las semillas.



Fotografía 3. Extracción de oleorresina en pericarpio del chile chilhuastle

5.3 CUANTIFICACIÓN DE CAPSAICINA EN LA OLEORRESINA POR EL MÉTODO ESPECTROFOTOMÉTRICO

A continuación se presenta la curva patrón para capsaicina:

Concentración	25 ppm	50 ppm	100 ppm	125 ppm
Ábsorbancia a 280nm	0.04	0.28	0.56	0.77
	0.05	0.28	0.54	0.77
	0.05	0.27	0.54	0.77
promedio	0.04	0.28	0.55	0.77

Tabla 22. Valores de la curva patrón de capsaicina a 280nm.

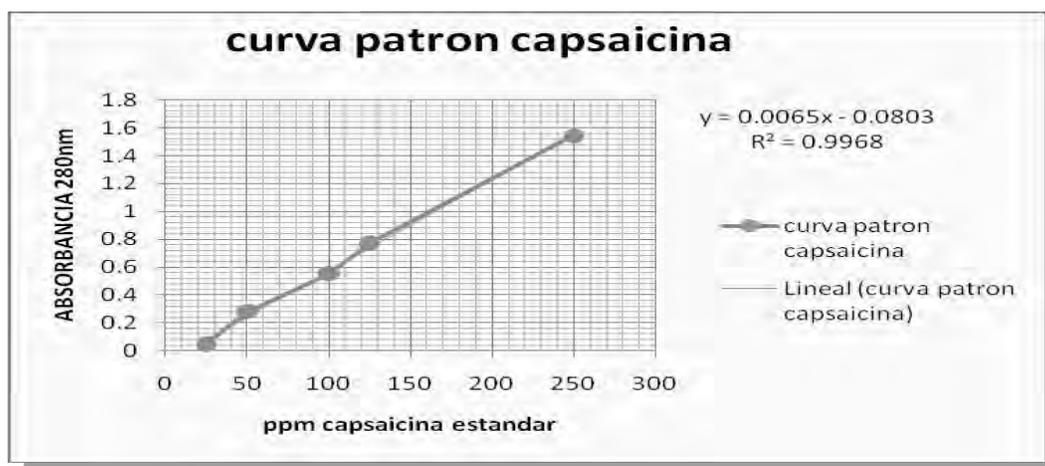


Figura 4. Curva patrón de capsaicina (espectrofotométrico).

SEMILLA

Número de Muestra	Absorbancia a 280	Concentración de capsaicina en ppm (µg/mL)
1	0.162	128.01
2	0.177	135.26
3	0.138	116.42
promedio	0.159	126.56

Tabla 23. Absorbancia de capsaicina a 280 nm de la oleorresina de la semilla se Chile chilhuastle y su concentración.

Número de Muestra	Concentración de capsaicina en ppm ($\mu\text{g/mL}$)	μg de capsaicina/g de oleorresina	Unidades Scoville
1	128.01	3200.45	213.36
2	135.26	3381.60	225.44
3	116.42	2910.59	194.03
promedio	126.56	3164.21	210.94

Tabla 24. Microgramos de capsaicina en la oleorresina de semilla de Chile chilhuastle y su correspondencia en Unidades Scoville

PERICARPIO

Número de Muestra	Absorbancia a 280	Concentración de capsaicina en ppm ($\mu\text{g/mL}$)
1	0.33	1275.36
2	0.29	1159.42
3	0.25	1040.57
Promedio	0.29	1158.45

Tabla 25. Absorbancia de capsaicina a 280 nm de la oleorresina del Pericarpio de Chile chilhuastle y su concentración.

Número de Muestra	Concentración de capsaicina en ppm ($\mu\text{g/mL}$)	μg de capsaicina/g de oleorresina	Unidades Scoville
1	1275.36	31884.05	2125.60
2	1159.42	28985.50	1932.36
3	1040.57	26014.49	1734.29
Promedio	1158.45	28961.35	1930.75
D.S		2934.85	195.65
CV		10.13	10.13

Tabla 26. Microgramos de capsaicina en la oleorresina del pericarpio de Chile chilhuastle y su correspondencia en Unidades Scoville

5.4 CUANTIFICACIÓN DE CAPSAICINA POR HPLC

CURVA PATRÓN

Se realizó una curva patrón para determinar la concentración de capsaicina contenida en el chile chilhuastle.

La fase móvil utilizada durante la cromatografía fue en una proporción 60:40 de acetonitrilo y agua destilada con un pH de 3 y con un tiempo de retención de 4.06.

Se obtuvo un coeficiente de correlación aceptable de 0.9993, posteriormente para realizar los cálculos correspondientes se calcularon mediante la ecuación de la recta.

A continuación la ecuación:

$$\text{Concentración de capsaicina} = (\text{área}) - [2 \times 1000000] / 466155$$

Concentración	50 ppm	125 ppm	250 ppm	500 ppm
Área	26777010	57919880	131926552	233402832
	20352088	58042944	112768480	-----
	-----	62951964	121656368	-----
promedio	23564549	59638262.67	122117133.3	233402832

Tabla 27. Valores obtenidos en el HPLC para curva patrón de capsaicina

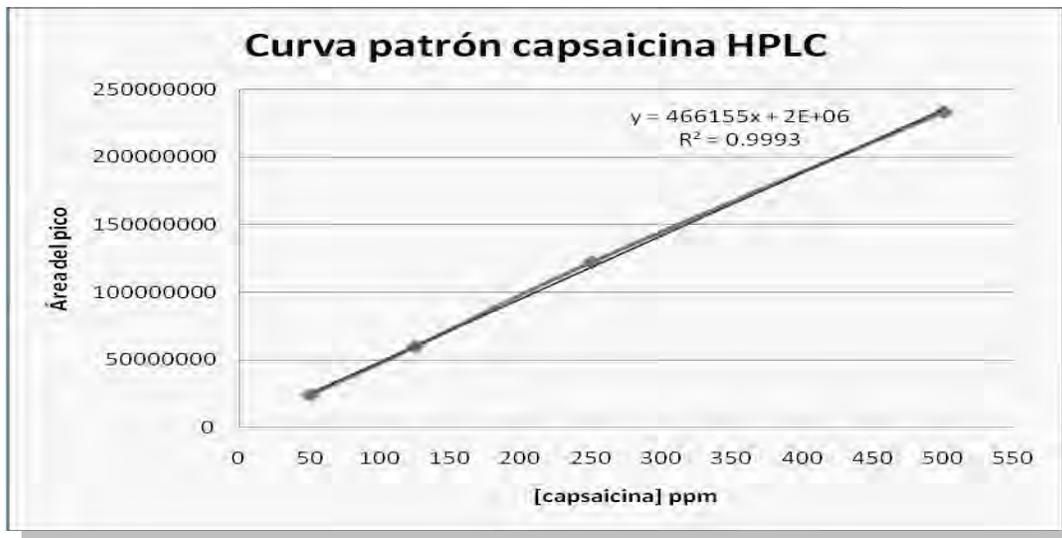


Figura 5. Curva patrón de capsaicina

```

File = MUEST008.D01                               (MUEST008.D01)
Run   = 01                                          Type = Sample
Path  = C:\CROMA\NOVO                               Inst = Model 1022
Collection : 19:43:44 Mar 25 2009   Method : DEFAULT | 18:10:21 Mar 25 2009 |
Integration: 19:43:44 Mar 25 2009   Method : DEFAULT | 18:10:21 Mar 25 2009 |
Report   : 19:52:25 Mar 25 2009   Method : DEFAULT | 18:10:23 Mar 25 2009 |
  
```

(PERCENT : AREA)

PK #	RT	Area	Height	W ²	Area Percent	Height Percent
1	3.427	2750353	39.4878	%	1.0714	4.3418
2	4.193	96758608	333.0056	%	17.9673	45.1198
3	4.643	153358352	316.0745	%	60.9613	46.5385

3 Peaks > Area Reject 254847313 Total Area
 3 Peaks > Height Reject 675.408 Total Height

(MUEST008.D01) 10



Figura 6. Cromatograma de extracción de capsaicina con acetonitrilo como disolvente.

File : MGEST008.D01 HUASTLE S MEOR 1 SN
 Run : 01 Type : Sample
 Path : C:\CROM\NOVO Inst : Model 1022
 Collection : 12:54:52 Apr 03 2009 Method : DEFAULT [11:41:38 Apr 03 2009]
 Integration : 12:54:52 Apr 03 2009 Method : DEFAULT [11:41:38 Apr 03 2009]
 Report : 13:03:07 Apr 03 2009 Method : DEFAULT [11:41:38 Apr 03 2009]

PERCENT (AREA)

PK #	RT	Area	Height	BC	Area Percent	Height Percent
1	2.923	1376460	6.9076	T	1.2898	3.9151
2	4.023	105339976	162.5277		98.7102	96.0849

2 Peaks > Area Reject 106716432 Total Area
 2 Peaks > Height Reject 176.435 Total Height



Figura 7. Cromatograma de extracción de capsaicina con metanol como disolvente en semilla de chilhuastle

File : MGEST002.D01 HUASTLE F MEOR-1 SN
 Run : 01 Type : Sample
 Path : C:\CROM\NOVO Inst : Model 1022
 Collection : 13:54:54 Apr 02 2009 Method : DEFAULT [13:11:47 Apr 02 2009]
 Integration : 13:54:54 Apr 02 2009 Method : DEFAULT [13:11:47 Apr 02 2009]
 Report : 13:48:01 Apr 02 2009 Method : DEFAULT [13:11:47 Apr 02 2009]

PERCENT (AREA)

PK #	RT	Area	Height	BC	Area Percent	Height Percent
1	3.897	48708192	737.0972		100.0000	100.0000

1 Peaks > Area Reject 48708192 Total Area
 1 Peaks > Height Reject 737.097 Total Height

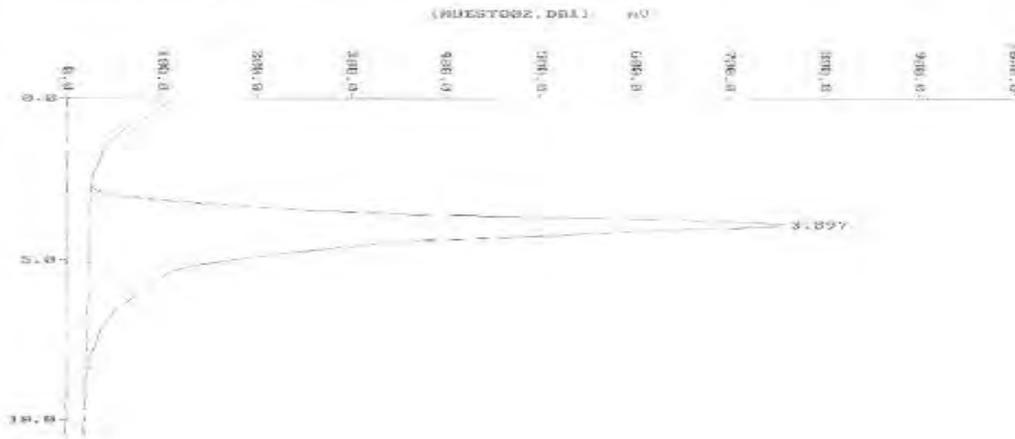


Figura 8. Cromatograma de extracción de capsaicina con metanol como disolvente en pericarpio de chilhuastle

Número de Muestra	Tiempo de Retención	Área obtenida	Concentración ppm ($\mu\text{g/mL}$)
1	4.02	105339976	221.68
2	4.02	103120800	216.92
3	4.03	94147344	197.67
promedio	4.02	100869373	212.09

Tabla 28. Área de capsaicina obtenida en los cromatogramas de **semilla** se Chile chilhuastle extraída con Metanol

Número de Muestra	Concentración ppm ($\mu\text{g/mL}$)	μg de capsaicina/g de oleoresina	Unidades Scoville
1	221.68	6318.04	421.20
2	216.92	6182.37	412.15
3	197.67	5633.74	375.58
promedio	212.09	6044.72	402.98
D.S	12.71	362.32	24.15
CV	5.99	5.99	5.99

Tabla 29. Microgramos de capsaicina en la **semilla** de Chile Chilhuastle y su correspondencia en Unidades Scoville (HPLC)

Número de Muestra	Tiempo de Retención	Área obtenida	Concentración ppm ($\mu\text{g/mL}$)
1	3.90	485353760	1036.89
2	3.92	491233696	1049.50
3	3.92	496535232	1060.88
Promedio	3.91	491040896	1049.09

Tabla 30. Área de capsaicina obtenida en los cromatogramas de **pericarpio** de Chile chilhuastle extraída con Metanol

Número de Muestra	Concentración ppm ($\mu\text{g/mL}$)	μg de capsaicina/g de oleoresina	Unidades Scoville
1	1036.8949	29551.5047	1970.1003
2	1049.5086	29910.9951	1994.0663
3	1060.8815	30235.1228	2015.6748
Promedio	1049.0950	29899.2075	1993.2805
D.S	11.9986	341.9614	22.7974
CV	1.1437	1.1437	1.1437

Tabla 31. Microgramos de capsaicina en el **pericarpio** de Chile Chilhuastle y su correspondencia en Unidades Scoville (HPLC)

Se consideraron los cromatogramas con mejor resolución, cabe mencionar que los que se obtuvieron con acetonitrilo como disolvente no se consideran “confiables”, ya que como se puede observar en la figura 6, los picos yacen juntos y la diferenciación de los capsaicinodes es casi nula. Los cromatogramas obtenidos con metanol como disolvente (figura 7 y 8) aunque no presentan una excelente diferenciación de picos, resultan mejores con respecto a el que se obtuvo con acetonitrilo.

El tiempo de retención para los cromatogramas con metanol (figura 7 y 8), es de aceptable, por lo cual se hace la suposición de que esta es la Capsaicina.

En base a lo anterior se calcula la concentración de Capsaicina en las dos fracciones de chile chilhuastle obteniendo una mayor concentración de Capsaicina en pericarpio que en semillas, por lo cual ya se esperaba que las unidades Scoville fueran superiores en el pericarpio ya que como sabemos la Capsaicina es el capsaicinoide que se encuentra mayoritariamente y es uno de los capsaicinoides responsables de la pungencia.

Después de comparar los datos que se obtuvieron de la concentración de Capsaicina por HPLC frente a los obtenidos de la oleorresina mediante espectrofotometría, se puede decir que el rendimiento es mayor en pericarpio por ambas metodologías, sin embargo se registra una mayor concentración de Capsaicina y por lo tanto de Unidades Scoville,

Esto se debe principalmente al que el método de extracción que se llevó a cabo no fue lo suficientemente selectivo y arrastró al extracto compuestos de baja polaridad también solubles en los disolventes orgánicos.

La espectrofotometría resulta ser aún más inespecífica ya que considera a otros ácidos grasos que absorben en ese mismo rango como el ácido linoleico 420nm, el linoleico 455nm, lo cual creó una interferencia que nos resulta grave al momento de cuantificar y proporciona un dato sobre calculado de la concentración de Capsaicina.

El método por HPLC es más sensible y confiable de acuerdo a las curvas patrón que se establecieron y al coeficiente de correlación que se obtuvo, sin embargo va a depender en su mayoría de tratamiento previo que se le dé a la muestra y de la extracción de los capsaicinoides.

Uno de los inconvenientes que se tuvieron en el momento de realizar los cromatogramas fue la variación de voltaje en el laboratorio que obligaban a repetir las inyecciones puesto que el equipo se apagaba.

Se recomendaría una extracción más específica para seleccionar únicamente a los capsaicinoides como la extracción en fase sólida ya propuesta en donde se obtienen picos de mejor calidad al inyectar el cromatógrafo.

5.5 DETERMINACIÓN DE COLORANTE EXTRACTABLE POR EL

MÉTODO ASTA 20-1

Número de Muestra	Absorbancia	Unidades ASTA	Unidades Internacionales de Color (UIC)
	0.08	646.35	25854.22
	0.09	668.14	26725.71
	0.09	660.88	26435.21
promedio	0.091	658.45	26338.38
D.S	0.001	11.09	443.74
CV	1.099	1.68	1.68

Tabla 32. Color extractable con acetona, Unidades ASTA y Unidades Internacionales de Color. (Utilizando como disolvente acetona y factor de dilución 1000)

Número de Muestra	Absorbancia	Unidades ASTA	Unidades Internacionales de Color (UIC)
1	0.065	486.935	19477.434
	0.068	509.409	20376.393
	0.066	494.427	19777.087
promedio	0.066	496.924	19876.971
D.S	0.001	11.443	457.727
CV	2.262	2.302	2.302

Tabla 33. Color extractable con etanol, Unidades ASTA y Unidades Internacionales de Color. (Factor de dilución 250)

5.6 DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE CAROTENOS Y XANTOFILAS.

Para la determinación de la concentración de carotenos de acuerdo al Método oficial AOAC 970 se utilizó el pericarpio del Chile Chilhuastle.

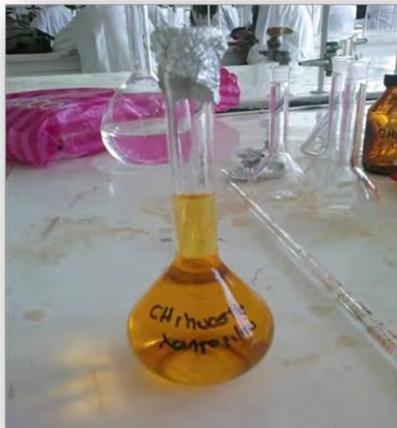
Número de Muestra	Absorbancia 436nm	Carotenos (mg/lb)
1	0.261	150.6982
2	0.262	151.2756
3	0.262	151.2756
promedio	0.2617	151.0831
D.S	0.0006	0.3334
CV	0.2293	0.2207

Tabla 34. Concentración de Carotenos en el Chile chilhuastle.

Número de Muestra	Absorbancia	Xantofilas (mg/lb)
1	0.09	4747.14
2	0.09	4747.14
3	0.10	4795.09
promedio	0.09	4763.13
D.S	0.00	27.68
CV	0.60	0.58

Tabla 35. Concentración de Xantofilas en el Chile chilhuastle (factor de dilución 10)

Se observa un contenido muy superior de xantofilas con respecto a los carotenos.



Fotografía 4. Xantofilas en chile chilhuastle



Fotografía 5. Cromatografía en columna para fraccionamiento de carotenoides

ANÁLISIS GLOBAL

FRACCIÓN DELCHILE	Semilla	Pericarpio
% Oleorresina	13.4815	7.4140
µg de capsaicina/g de oleorresina (espectrofotométrico)	3164.2196	28961.3527
µg de capsaicina/g de oleorresina (HPLC)	6044.7217	29899.2075
Unidades Scoville (espectrofotométrico)	210.9480	1930.7568
Unidades Scoville (HPLC)	402.9814	1993.2805

Tabla 36. Comparativo de resultados obtenidos con metodología UV y HPLC para las 2 fracciones utilizadas

Se puede observar que las semillas resultan más eficientes para la obtención de oleorresina con un porcentaje de casi el doble con respecto a lo obtenido con pericarpio, esto es debido a que como se comentó anteriormente éstas presentan un contenido oleoso superior.

Cabe señalar que la eficiencia de la extracción en ambos casos depende de las propiedades del disolvente y la matriz de la muestra.

Sin embargo el pericarpio presenta mayor contenido de Capsaicina que la semilla, estos resultados eran los esperados, ya que los Capsaicinoides se encuentran presentes principalmente en el pericarpio y en la placenta de la fruta. (33)

Por lo tanto el contenido de grados Scoville también son superiores en el pericarpio.

Con respecto a la metodología utilizada, el HPLC resulta más eficiente que el método espectrofotométrico, sin embargo se debe considerar un método de extracción con mayor selectividad como la microextracción en fase sólida.

<i>Fracción de carotenoides</i>	<i>Masa de fracción de carotenoides por Método AOAC</i>
<i>Carotenos (mg/lb)</i>	151.0831
<i>Xantofilas (mg/lb)</i>	4763.1320

Tabla 37. Comparativo de carotenoides

El contenido de xantofilas es mayor al de carotenos en el chile chilhuastle, las xantofilas proporcionan colores amarillentos y parduzcos, mientras que los carotenoides proporcionan una gama de tonalidades que van del anaranjado al rojo oscuro.

En general el chile chilhuastle presenta un color que va del café oscuro al negro; sin embargo los carotenoides extraídos presentaban tonalidades ambarinas, por lo cual era de suponerse que el contenido de xantofilas sería superior al de carotenoides.

<i>Disolvente</i>	<i>Extracción con acetona</i>	<i>Extracción con etanol</i>
<i>Unidades ASTA</i>	658.4595	496.9243
<i>UIC (Unidades Internacionales de Color)</i>	26338.38	19876.9718

Tabla 38. Comparativo de unidades ASTA frente a UIC con los 2 disolventes.

La extracción de carotenos mediante el método ASTA demuestra que la acetona es el disolvente más eficiente frente al etanol.

En cuanto al rendimiento se obtuvo que por cada 100g de pericarpio de chile chilhuastle 33.30mg carotenos y 1.05g de xantofilas.

6. CONCLUSIONES

- ❖ El mejor disolvente para una extracción eficiente de oleorresinas, es la acetona, tanto en pericarpio como en semillas
- ❖ En el chile chilhuastle hay un mayor rendimiento de oleorresina en semillas que en pericarpio.
- ❖ Se obtiene mayor cantidad de Capsaicina en pericarpio y se puede decir que el método cromatográfico es más sensible y con menor interferencia dependiendo de la metodología de extracción.

- ❖ Las unidades Scoville son mayores en pericarpio que en semilla detectada por ambos métodos y esto se confirma debido al mayor contenido de Capsaicina responsable de la pungencia.
- ❖ La extracción de carotenos mediante el método ASTA demuestra que la acetona es el disolvente más eficiente frente al etanol.
- ❖ El contenido de xantofilas es mayor al de carotenos en el chile chilhuastle

7. BIBLIOGRAFÍA

- (1) Aguado, C.G., Establecimiento de un método de extracción de Capsaicinoides en el proceso de obtención de oleorresinas de chile seco (genero *Capsicum*). Instituto Tecnológico de Celaya. Celaya, Gto. 2001.
- (2) Andrews, J. Peppers The domesticated capsicums Written and illustrated by Jean Andrews; foreword by w. Hardy Eshbaugh, pág., 53-58, 1984.
- (3) AOAC International. 1998. Capsaicinoids in capsicums and their extractives. Liquid chromatographic method. Oficial Methods of Analysis of AOAC International. V. 2. 43: 13-15.
- (4) Association of Official Analytical Chemists.- Oficial Methods of Analysis, Twelfth Edition 1975. Parts 31.012 Ash, 31.015 Soluble and insoluble ash.
- (5) ASTA, Oficial Analytical Methods of the American Spice Trade Association, 2nd edic. ASTA: Englewood Cliffs, NJ, 1986.
- (6) Batchelor, J.D. and b. Jones, B.T. Determination of the Scoville Heat Value for Hot Sauces and Chilies: An HPLC Experiment In., J. Chemical Education, Vol 77(2): 266-267, 2000.
- (7) Casco, V. A. L., Estudio del contenido de pigmentos naturales en algunos chiles mexicanos y su posible aplicación en los alimentos. Tesis de Licenciatura, UNAM, México, D.F., 1990.
- (8) Cázares-Sánchez E., Ramírez-Vallejo P., CAPSAICINOIDES Y PREFERENCIA DE USO EN DIFERENTES MORFOTIPOS DE CHILE (*Capsicum annuum L.*) DEL CENTRO-ORIENTE DE YUCATÁN, Agrociencia (39) 627-638. 2005.
- (9) Collera –Zuñiga, et.al. Comparative study of carotenoid composition in three Mexican varieties of *Capsicum annuum L.* J. Food Chem., pág.109-114, 2005.
- (10) Cruces Carvajal R. Lo que México aportó al mundo. Editorial Lectorum, México D.F. Pág. 42-44, 2006
- (11) Evans, L. T. 1993. Crop Evolution, Adaptation and Yield. Cambridge, University Press. pp: 71.
- (12) F.L. Hart y H.J. Fisher. Análisis Modernos de los Alimentos, Editorial Acribia, Zaragoza, España, 1977. Método 1-4 pag. 4 capítulo 1.
- (13) FAO/WHO, Specifications for identity and purity of food colours (28th session of the Joint FAO/WHO expert committee on food additives); FAO Food and Nutrition Paper 31/1; FAO: Rome, 105-109, 1984
- (14) García G. S., Ortega M. J. 1995. La capsaicina, el principio pungente del chile; su naturaleza, absorción, metabolismo y efectos farmacológicos. Ciencia. 46, 82-102.
- (15) Gordon, H.T., Bouernfeind, J.C., Carotenoids as food colorants, Crit. Rev. Food Sci. Nutr. 18, 59, (1982).
- (16) Govindarajan, V.S., Capsicum, Production, Technology, Chemistry and Quality. Part 2 Processes, Products Standards World, Production and trade, CRC Vrit. Rev. Food Sci. Nutr. 23(3): 207, 1984.

- (17) Horwitz, William. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists, Thirteenth Edition, 1980, Washington, D.C. Part. 7.002, 7.004 and 7.005 chapter 7.
- (18) Hui, Y.H., Encyclopedia of Food Science and Technology, V. 4, John Wiley and Sons, Inc, N.Y., USA, pág., 2407-2418, 1998.
- (19) Laborde, C. J. A., y O. Pozo. 1984. Presente y Pasado del Chile en México. Secretaria de Agricultura y Recursos Hidráulicos (SARH). Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA), México. 80 p., Latournerie, M. L.,
- (20) Laborde, C.J.A., Pozo, Ho ., Presente y Pasado del Chile en México, INIA. México, Pág. 1-25, 53-55, 1984.
- (21) Long Solís, J. Capsicum y cultura: la historia del chilli. Fondo de Cultura Económica. México D.F. 1998.
- (22) Long, S.J., Capsicum y cultura: la historia del chilli, FCE, 2ª edic., México, D.F., Pág. 69-72, 80, 115, 122, 123, 146, 147, 1998.
- (23)
- (24) Méndez, T. V., González M. D., Gutiérrez M. F. A., Contenido de Carotenoides y Color extractable de nuevos cultivares en Chile Pimiento. Chapingo. Horticultura, 11(2): 215-218, 2005.
- (25) Murillo G., Olga Martha, Ficha técnica de la industrialización de chile picante Dirección de mercadeo y Agroindustria Área de Desarrollo de Producto.
- (26) NMX-F-068-S-1980. Determinación de Proteínas en Alimentos. Páginas: 1-3.
- (27) NMX-F-089-S-1978. Determinación de Extracto Etéreo (Método Soxhlet) en Alimentos. Páginas: 1,2.
- (28) NMX-F-090-S-1978. Determinación De Fibra Cruda En Alimentos. Páginas: 1-3.
- (29) NMX-F-227-1982. Alimentos - Especies y Condimentos - Determinación de Humedad por Destilación con Disolvente. Páginas: 3-5.
- (30) NMX-F-389-1982. "Alimentos - Especies y Condimentos - Determinación de Capsaicina en Capsicum spp"- . Páginas: 3-6.
- (31) Méndez, T. V., González M. D., Gutiérrez M. F. A., Contenido de Carotenoides y Color extractable de nuevos cultivares en Chile Pimiento. Chapingo. Horticultura, 11(2): 215-218, 2005.
- (32) OBTENCIÓN DE OLEORRESINA DE PIMENTÓN (*Capsicum annum L.*), John A. CARDONA. Y col., Grupo Procesos Físicoquímicos Aplicados. Departamento de Ingeniería Química. Universidad de Antioquia. A.A. 1226 Medellín.
- (33) Ramírez, Maya Erika María, Determinación de Capsaicina y dehidrocapsaicina en alimentos por microextracción en fase sólida-extracción directa-cromatografía de gases-espectrometría de masas (MEFS-ED-CG-EM), México, 2007, UNAM, Fac. de Química, Tesis de Maestría.
- (34) Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación "Sembrando soluciones". Publicación Año 1, número 19 México, D.F., julio, 2006

- (35) Técnicas para el análisis fisicoquímico de alimentos de la Dirección General de Investigación en Salud Pública y de la Dirección General de Control de Alimentos, Bebidas y medicamentos de la Secretaría de Salubridad y Asistencia.

Fuentes electrónicas consultadas:

- (36) <http://www.conaproch.org/cp.htm> (Consultado 12/02/2009 13:40)
- (37) <http://www.formulasquimicas.ors/ppc.htm>

8. ANEXO I

LISTA DE FOTOGRAFÍAS

- Fotografía 1. Imágenes muestra de chile chilhuacle
- Fotografía 2. Destilación azeotrópica en la determinación de humedad de chile chilhuastle
- Fotografía 3. Extracción de oleoresina en pericarpio del chile chilhuastle
- Fotografía 4. Xantofilas en chile chilhuastle
- Fotografía 5. Cromatografía en columna para fraccionamiento de carotenoides

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. Corte Longitudinal de un fruto típico de *Capsicum*
- Figura 2. Molécula que representa a la Capsorrubina
- Figura 3. Estructura Capsaicina (8-metil-N-vanillil-6-nonenamida)
- Figura 4. Curva patrón de capsaicina (*espectrofotométrico*)
- Figura 5. Curva patrón de capsaicina (HPLC)
- Figura 6. Cromatograma de extracción de capsaicina con acetonitrilo como disolvente.
- Figura 7. Cromatograma de extracción de capsaicina con metanol como disolvente en semilla de chilhuastle
- Figura 8. Cromatograma de extracción de capsaicina con metanol como disolvente en pericarpio de chilhuastle
-

LISTA DE TABLAS

- Tabla 1. Características taxonómicas de *Capsicum annum*
- Tabla 2. Análisis proximal de *Capsicum annum*, INCMNSZ(2000).
- Tabla 3. Distribución de carotenoides en diversos alimentos.
- Tabla 4. Longitud y ancho del chile chilhuastle.
- Tabla 5. Masa del chile chilhuastle, semillas y pericarpio.
- Tabla 6. Determinación de humedad mediante destilación azeotrópica
- Tabla 7. Porcentaje de humedad del chile chilhuastle
- Tabla 8. Determinación de humedad de las semillas mediante destilación azeotrópica
- Tabla 9. Determinación de humedad de semillas mediante secado en estufa
- Tabla 10. Porcentaje de humedad de las semillas mediante secado en estufa
- Tabla 11. Determinación de cenizas en chile chilhuastle
- Tabla 12. Determinación de porcentaje de cenizas en chile chilhuastle
- Tabla 13. Determinación de lípidos en chile completo
- Tabla 14. Determinación de porcentaje de lípidos en chile completo
- Tabla 15. Determinación de proteínas en chile chilhuastle
- Tabla 16. Determinación del porcentaje de proteínas en chile chilhuastle completo

- Tabla 17. Composición proximal del chile chilhuastle
- Tabla 18. Extracción de oleorresina en semilla de chile chilhuastle
- Tabla 19. Porcentaje de oleorresina en semilla de chile chilhuastle
- Tabla 20. Porcentaje de oleorresina en pericarpio de chile chilhuastle 1
- Tabla 21. Porcentaje de oleorresina en pericarpio en chile chilhuastle 2
- *Tabla 22. Valores de la curva patrón de capsaicina a 280nm*
- Tabla 23. Absorbancia de capsaicina a 280 nm de la oleorresina de la semilla se Chile chilhuastle y su concentración.
- Tabla 24. Microgramos de capsaicina en la oleorresina de semilla de Chile Chilhuastle y su correspondencia en Unidades Scoville
- Tabla 25. Absorbancia de capsaicina a 280 nm de la oleorresina del pericarpio de Chile chilhuastle y su concentración.
- Tabla 26. Microgramos de capsaicina en el pericarpio de Chile Chilhuastle y su correspondencia en Unidades Scoville
- Tabla 27. Valores obtenidos en el HPLC para curva patrón de capsaicina
- Tabla 28. Área de capsaicina obtenida en los cromatogramas de **semilla** se Chile chilhuastle extraída con Metanol
- Tabla 29. Microgramos de capsaicina en la **semilla** de Chile Chilhuastle y su correspondencia en Unidades Scoville (HPLC)
- Tabla 30. Área de capsaicina obtenida en los cromatogramas de **pericarpio** de Chile chilhuastle extraída con Metanol
- Tabla 31. Microgramos de capsaicina en el **pericarpio** de Chile Chilhuastle y su correspondencia en Unidades Scoville (HPLC)
- Tabla 32. Color extractable con acetona, Unidades ASTA y Unidades Internacionales de Color. (Utilizando como disolvente acetona y factor de dilución 1000)
- Tabla 33. Color extractable con etanol, Unidades ASTA y Unidades Internacionales de Color. (Factor de dilución 250)
- Tabla 34. Concentración de Carotenos en el Chile chilhuastle
- Tabla 35. Concentración de Xantofilas en el Chile chilhuastle (factor de dilución 10)
- Tabla 36. Comparativo de resultados obtenidos con metodología UV y HPLC para las 2 fracciones utilizadas
- Tabla 37. Comparativo de carotenoides
- Tabla 38. Comparativo de unidades ASTA frente a UIC con los 2 disolventes