

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SANTA
FACULTAD DE INGENIERÍA
ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE
INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL



**EXTRACCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE CAPSAICINOIDES A
PARTIR DE DESECHOS ORGÁNICOS EN LA INDUSTRIA DE
JALAPEÑO VERDE (*Capsicum annuum L.*)**

**TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE
INGENIERO AGROINDUSTRIAL**

AUTORES:

Bach. HERNANDEZ MALCA KAREN ANDREA
Bach. VELASQUEZ RUIZ ANGGIE PAULETH

ASESOR:

Dr. GILBERT RODRIGUEZ PAUCAR

NUEVO CHIMBOTE - PERU
2018



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SANTA



FACULTAD DE INGENIERÍA E.A.P. DE INGENIERÍA DE AGROINDUSTRIAL

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

Siendo las 12 p.m. del 08 de noviembre del dos mil dieciocho se instaló en el Auditorio de la Escuela Académica Profesional de Ingeniería Agroindustrial, el Jurado Evaluador, designado mediante resolución N°500 -2018.-UNS-CFI integrado por los docentes:

- **Dr. Elza Aguirre Vargas (Presidente)**
- **Dr. Gilbert Rodríguez Paucar (Secretario)**
- **Mg. Jorge Domínguez Castañeda (Integrante)**; para inicio a la Sustentación y Evaluación de Tesis, titulada:

“EXTRACCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE CAPSAICINOIDES A PARTIR DE DESECHOS ORGANICOS EN LA INDUSTRIA DE JALAPEÑO VERDE (*Capsicum annuum L.*)”, elaborada por el (os) bachilleres en Ingeniería Agroindustrial.

- **Hernández Malca Karen Andrea**
- **Velasquez Ruiz Anggie Pauleth**

Asimismo, tienen como Asesor al docente: **Dr. Gilbert Rodríguez Paucar, según R.D. N° 647-2016-UNS-DFI**

Finalizada la sustentación, el (os) Tesistas respondió (eron) las preguntas formuladas por los miembros del Jurado y el Público presente.

El Jurado después de deliberar sobre aspecto relacionados con el trabajo, contenido y sustentación del mismo, y con las sugerencias pertinentes y en concordancia con el Artículo 39° y 40° del Reglamento de Grados y títulos de la Universidad Nacional del Santa, declaran:

BACHILLER	PROMEDIO VIGESIMAL	PONDERACIÓN
KAREN ANDREA HERNANDEZ MALCA	19	EXCELENTE

Siendo las 01:30 pm del mismo día, se dio por terminado dicha sustentación, firmando en señal de conformidad el presente jurado.

Nuevo Chimbote, 08 de 11 del 2018

Dr. Gilbert Rodríguez Paucar
Secretario

Dra. Elza Aguirre Vargas
Presidenta

Mg. Jorge Domínguez Castañeda
Integrante



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SANTA



FACULTAD DE INGENIERÍA E.A.P. DE INGENIERÍA DE AGROINDUSTRIAL

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

Siendo las 12 p.m. del 08 de noviembre del dos mil dieciocho se instaló en el Auditorio de la Escuela Académica Profesional de Ingeniería Agroindustrial, el Jurado Evaluador, designado mediante resolución N°500 -2018.-UNS-CFI integrado por los docentes:

- **Dr. Elza Aguirre Vargas (Presidente)**
- **Dr. Gilbert Rodríguez Paucar (Secretario)**
- **Mg. Jorge Domínguez Castañeda (Integrante)**; para inicio a la Sustentación y Evaluación de Tesis, titulada:

“EXTRACCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE CAPSAICINOIDES A PARTIR DE DESECHOS ORGANICOS EN LA INDUSTRIA DE JALAPEÑO VERDE (*Capsicum annuum L.*)”, elaborada por el (os) bachilleres en Ingeniería Agroindustrial.

- **Hernández Malca Karen Andrea**
- **Velasquez Ruiz Anggie Pauleth**

Asimismo, tienen como Asesor al docente: **Dr. Gilbert Rodríguez Paucar, según R.D. N° 647-2016-UNS-DFI**

Finalizada la sustentación, el (os) Tesistas respondió (eron) las preguntas formuladas por los miembros del Jurado y el Público presente.

El Jurado después de deliberar sobre aspecto relacionados con el trabajo, contenido y sustentación del mismo, y con las sugerencias pertinentes y en concordancia con el Artículo 39° y 40° del Reglamento de Grados y títulos de la Universidad Nacional del Santa, declaran:

BACHILLER	PROMEDIO VIGESIMAL	PONDERACIÓN
ANGGIE PAULETH VELASQUEZ RUIZ	19	EXCELENTE

Siendo las 01:30 pm del mismo día, se dio por terminado dicha sustentación, firmando en señal de conformidad el presente jurado.

Nuevo Chimbote, 08 de 11 del 2018

Dr. Gilbert Rodríguez Paucar
Secretario

Dra. Elza Aguirre Vargas
Presidenta

Mg. Jorge Domínguez Castañeda
Integrante

**UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SANTA
FACULTAD DE INGENIERIA AGROINDUSTRIAL
ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE INGENIERIA
AGROINDUSTRIAL**



HOJA DE AVAL DE JURADO EVALUADOR

El presente trabajo de tesis titulado “**EXTRACCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE CAPSAICINOIDES A PARTIR DE DESECHOS ORGÁNICOS EN LA INDUSTRIA DE JALAPEÑO VERDE (*Capsicum annum L.*)**”, para obtener el título profesional de Ingenieros Agroindustriales, presentado por las bachilleres HERNANDEZ MALCA KAREN ANDREA con código de matrícula N° 201112045 y VELASQUEZ RUIZ ANGGIE PAULETH con código de matrícula N° 201112021, teniendo como asesor al docente Dr. GILBERT RODRIGUEZ PAUCAR, designado por Resolución Decanal N° 647-2016-UNS-DFI . Ha sido evaluado y aprobado el día 08 de Noviembre del 2018, por el siguiente jurado evaluador, designado mediante resolución N° 500 -2018 – UNS – CFI.

Dra. Elza Aguirre Vargas
Presidenta

Dr. Gilbert Rodríguez Paucar
Secretario

Mg. Jorge Domínguez Castañeda
Integrante

DEDICATORIA

A Dios, por su guía, motivación, su bendición y su gran misericordia para conmigo, por las fuerzas que me da para seguir cada día superando los obstáculos que se me presentan en la vida.

A mis padres, Henry Velásquez y Lily Ruiz; por su amor, comprensión, apoyo incondicional y sus esfuerzos en darme el mejor regalo que es mi carrera profesional.

A mis hermanos; Valery, Andrea y Patrick; es por ellos que quiero superarme cada día, y así poder brindarles una mejor calidad de vida.

A mi mejor amiga Karen Hernández, ya que con su apoyo, paciencia, comprensión y esfuerzo se culminó una meta alcanzada en mi vida profesional.

Anggie Velasquez Ruiz

A Dios, por darme la oportunidad de vivir y por estar conmigo en cada paso que doy, por fortalecer mi corazón e iluminar mi mente y por haber puesto en mi camino a aquellas personas que han sido mi soporte y compañía durante todo el periodo de estudio.

A mi Madre, por ser la persona que me ha acompañado durante todo mi proceso estudiantil y de vida y a mi padre que, a pesar de nuestra distancia física, sé que igual este pasó mío lo llena de orgullo.

A mi tío Ivan quien me brinda su apoyo incondicional, quien ha velado por mí y con sus consejos a sabido guiarme para poder continuar en cada paso que doy.

Y a mis abuelos Nicolás y Juana quienes han estado conmigo durante mi vida y mucho más durante mi tiempo de universitaria, quienes hacen que siga manteniendo en mí los buenos hábitos y valores para seguir siendo una persona de bien.

Karen Hernández Malca

AGRADECIMIENTO

“A Dios, por siempre protegerme, y darme fuerzas para superar los obstáculos y dificultades a lo largo de mi vida profesional.”

“Agradezco a la Universidad Nacional del Santa, por haberme dado la oportunidad de formarme como Ingeniero Agroindustrial.”

“A nuestros docentes, por compartir con nosotros los alumnos sus conocimientos, su experiencia y darnos su motivación para lograr nuestra formación académica.”

“Al Dr. Gilbert Rodríguez Paucar, por su visión crítica durante el desarrollo de este informe, por su rectitud y en su profesión como docente, por sus consejos los que ayudaron a formarme como persona e investigador y lograr este objetivo trazado.”

“A mi mejor amiga Anggie Velásquez por su amistad y todo su apoyo en estos años de estudio y con quien juntas culminaremos este gran paso”

Karen Hernández Malca

“A Dios por permitirme continuar y concluir una de mis metas trazadas”

“A mi familia, por los ánimos y fuerzas brindada en todo el transcurso de mi vida universitaria”

“A los docentes de la E.A.P. INGENIERIA AGROINDUSTRIAL, por haberme brindado parte de sus conocimientos al transcurso de mi estadía en esta prestigiosa casa de estudios.”

“Al Dr. Gilbert Rodríguez Paucar por su apoyo, paciencia y capacidad de docencia en la realización del informe de Tesis y el aporte de vida para mi carrera profesional”

“A la promoción 2011 de INGENIERIA AGROINDUSTRIAL, sus alegrías, ocurrencias y bromas, hicieron interesante este camino de la vida universitaria.”

Anggie Velasquez Ruiz

INDICE

I. INTRODUCCIÓN.....	15
II. MARCO TEORICO	17
2.1. JALAPEÑO VERDE	17
2.1.1. Origen	17
2.1.2. Descripción botánica.....	17
2.1.3. Clasificación taxonómica.....	18
2.1.4. Morfología	19
2.1.5. Composición química	19
2.1.6. Producción de <i>Capsicum</i> a nivel mundial.....	20
2.1.7. Producción de <i>Capsicum</i> en Perú	21
2.1.8. Comercialización de <i>Capsicum</i> nativos y no nativos en el Perú.....	23
2.1.9. Industria del jalapeño verde en Perú.....	23
2.2. CAPSAICINOIDES	27
2.2.1. Estructuras.....	27
2.2.2. Síntesis	29
2.2.3. Capsaicina	29
2.2.4. Extracción de capsaicinoides	32
2.2.5. Caracterización de capsaicinoides	39
2.3. DESTILACIÓN POR ROTAVAPOR	41

2.3.1.	Destilación a vacío:.....	41
2.4.	ANÁLISIS PROXIMAL.....	42
2.4.1.	Humedad.....	42
2.4.2.	Proteínas.....	43
2.4.3.	Grasas.....	44
2.4.4.	Cenizas.....	45
2.4.5.	Carbohidratos.....	46
2.5.1.	Pungencia.....	47
2.5.2.	Acidez.....	48
2.5.3.	Densidad.....	49
2.5.4.	pH.....	49
	III. MATERIALES Y MÉTODOS.....	50
3.1.	LUGAR DE EJECUCIÓN.....	50
3.2.	MATERIAL DE ESTUDIO.....	50
3.3.	MATERIALES Y REACTIVOS.....	50
3.3.1.	Equipos e Instrumentos.....	50
3.3.2.	Reactivos e Insumos.....	51
3.3.3.	Materiales de Laboratorio.....	52
3.3.4.	Otros.....	52
3.4.	METODOLOGÍA DE ESTUDIO.....	53

3.4.1.	Métodos de análisis.....	53
3.4.2.	Procedimiento	56
3.4.3.	Destilación del Extracto óptimo de capsaicinoides.....	62
3.4.4.	Diseño Experimental.....	63
3.4.5.	Análisis Estadístico.....	66
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN		67
4.1.	INDICE DE MADUREZ DE LA MATERIA PRIMA.....	67
4.2.	RENDIMIENTO DE MATERIA PRIMA.....	67
4.3.	ANALISIS PROXIMAL DE LA MATERIA PRIMA	70
4.4.	EXTRACCIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE CAPSAICINOIDES	73
4.4.1.	Extracción mediante el método asistido por ultrasonido	73
4.4.2.	Cuantificación por espectrofotometría de capsaicinoides.....	73
4.5.	ANÁLISIS DE RESULTADOS ESTADÍSTICOS	86
4.5.1.	Análisis de Varianza	86
4.5.2.	Efectos Principales.....	89
4.5.3.	Optimización de respuesta - Concentración de capsaicinoides (mg/g).....	91
4.6.	CARACTERÍSTICAS FÍSICOQUÍMICAS DEL EXTRACTO ÓPTIMO.....	95
V. CONCLUSIONES.....		98
VI. RECOMENDACIONES		99
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS		100

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Clasificación taxonómica del Chile.....	18
Tabla 2. Composición de Chile Jalapeño Fresco.....	20
Tabla 3. Producción de Ají y pimientos frescos de los 5 principales países a nivel mundial	21
Tabla 4. Clasificación de capsicinoides comúnmente presentes en <i>Capsicum annum</i>	28
Tabla 5. Descripción de las características de algunas de las técnicas de extracción que se utilizan con muestras sólidas.....	32
Tabla 6. Diferentes solventes para la extracción de capsaicina.....	39
Tabla 7. Escala Scoville y las principales especies /variedades de <i>Capsicum</i>	48
Tabla 8. Equivalencias de las concentraciones de ppm a g/ml.....	61
Tabla 9. Parámetros para el proceso de destilación del extracto óptimo de capsicinoides en rota vapor.....	62
Tabla 10. Proporciones para la mezcla de solventes: etanol y acetonitrilo.....	63
Tabla 11. Interacciones entre los tiempos, mezcla de solventes y relación muestra: solvente para el método de extracción asistida por ultrasonido	64
Tabla 12. Valores asignados en el Programa Statgraphics de cada variable independiente con sus respectivos niveles.....	66
Tabla 13. Rendimientos de los procesos básicos para la obtención de desechos orgánicos.	68
Tabla 14. Análisis proximal de los desechos orgánicos del jalapeño verde.....	70

Tabla 15. Datos promedio de la concentración de capsaicinoides (mg/g) de todos los extractos.	75
Tabla 16. Análisis de Varianza para concentración de capsaicinoides con un diseño factorial multinivel.	86
Tabla 17. Pruebas de múltiples rangos para la concentración de capsaicinoides por la variable Mezcla.....	88
Tabla 18. Pruebas de múltiples rangos para la concentración de capsaicinoides por la variable Muestra: Solvente.....	89
Tabla 19. Optimización de respuesta ajustado – Concentración de capsaicinoides.....	91
Tabla 20. Optimización de respuesta ajustada reducida – Concentración de capsaicinoides	92
Tabla 21. Concentración y pungencia de capsaicinoides del extracto óptimo	95
Tabla 22. Características fisicoquímicas del extracto óptimo	96

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Jalapeño verde fresco. Pixabay, 2016	17
Figura 2. Partes principales del chile fresco. Arqueología Mexicana, 2016.	19
Figura 3. Principales departamentos productores de ajés y pimientos a nivel nacional en el 2011. Saavedra, 2011	22
Figura 4. Diagrama de Flujo del procesamiento de chile jalapeño en escabeche.	24
Figura 5. Estructura química de la Capsaicina y Dihidrocapsaicina. Fitoterapia.net, 2016	29
Figura 6. Rangos de Sonido. Chaosrequiem, 2015	35
Figura 7. Espectro electromagnético completo. Laureiro, 2015	41
Figura 8. Jalapeños verdes del Fundo San Pedro.	50

Figura 9. Descripción del proceso para el acondicionamiento de la Materia Prima.	56
Figura 10. Descripción para la extracción asistida por ultrasonido de Capsaicinoides a partir de desechos orgánicos de jalapeño verde.	58
Figura 11. Diagrama para la determinación de la máxima longitud de onda del patrón de capsaicinoides.	60
Figura 12. Materia Prima (Jalapeño verde) del Fundo San Pedro pertenecientes a la empresa Gandules INC	67
Figura 13. Vista del equipo de extracción asistida por ultrasonido, con muestras de desechos jalapeño verde, sometidos a diferentes variables.	73
Figura 14. Grafica comparativa de tiempos y mezclas con respecto a la relación 01:10 y 01:20.77	
Figura 15. Grafica comparativa de la muestra: solvente y los tiempos de extracción con etanol 100% (MO)	79
Figura 16. Grafica comparativa de la muestra: solvente y los tiempos de extracción con acetonitrilo 100% (M6)	81
Figura 17. Grafica comparativa de tiempos y mezclas con respecto a la relación 01:20	83
Figura 18. Grafica de efectos principales para concentración de capsaicinoides.	90
Figura 19. Correlación de los datos reales en comparación con los datos ajustados según el modelo completo	93
Figura 20. Correlación de los datos reales en comparación con los datos ajustados según el modelo reducido	94

INDICE DE ANEXOS

Anexo 1. ACONDICIONAMIENTO DE LA MATERIA PRIMA A PARTIR DE LOS DESECHOS ORGÁNICOS DE JALAPEÑO VERDE	114
Anexo 2. DETERMINACIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS FISICOQUÍMICAS DE LOS DESECHOS ORGÁNICOS	115
Anexo 3. PROCEDIMIENTO DE LA EXTRACCIÓN ASISTIDA POR ULTRASONIDO.....	120
Anexo 4. LONGITUD DE ONDA.....	122
Anexo 5. PROCEDIMIENTO DE CUANTIFICACIÓN DE CAPSAICINOIDES POR ESPECTROFOTOMETRÍA UV- VISIBLE.....	124
Anexo 6. LECTURA DE LAS ABSORBANCIAS DE LOS EXTRACTOS POR ESPECTROFOTÓMETRO UV- VISIBLE.....	127
Anexo 7. DESTILADO DEL EXTRACTO OPTIMO	130
Anexo 8. PROPIEDADES ORGANOLEPTICAS DEL EXTRACTO ÓPTIMO.....	130
Anexo 9. CONCENTRACION Y PUNGENCIA DEL EXTRACTO ÓPTIMO	131

RESUMEN

El uso del ají jalapeño (*Capsicum annuum*) en la industria conservera, genera una gran cantidad de desechos orgánicos, eliminados por desconocimiento de su contenido de capsaicinoides.

El objetivo principal es la obtención y caracterización de capsaicinoides, para esto se utilizaron solventes (etanol y acetonitrilo) asistidos por ultrasonido, así mismo dos tipos de relación muestra: solvente (1:10 y 1:20 g/ml) a una temperatura estándar de 50°C sometidos a diferentes tiempos de extracción (20 – 40 min). Los extractos se cuantificaron por espectrofotometría UV-visible a 270 nm. Mediante un diseño factorial multinivel se logró determinar que existe mayor diferencia significativa en las mezclas de solventes, ya con los parámetros óptimos: relación 1:10 g/ml, con una mezcla de 80% de etanol y 20 % de acetonitrilo y a un tiempo de 30 min se realizó una extracción a la cual se le destiló por rota vapor a 60°C, 50 rpm y 300mBar, obteniendo un rendimiento de $11.53\% \pm 1.07$, con una concentración de capsaicinoides de $0.32 \text{ g/g} \pm 0.10$, esta oleorresina presenta una humedad de $8.16\% \pm 0.16$, densidad de $0.91\% \pm 0.04$, acidez de 0.19 ± 0.07 , pH de 7.35 ± 0.33 y una pungencia $5120000 \text{ SHU} \pm 1588358.91$.

En conclusión, si se logró extraer y caracterizar Capsaicinoides, aprovechando los desechos orgánicos del ají Jalapeño y poder darle diferentes usos a nivel investigativo.

Palabras clave: Capsicum, capsaicinoides, desechos orgánicos, espectrofotometría, oleorresina

ABSTRACT

The use of jalapeño pepper (*Capsicum annuum*) in the canning industry generates a large amount of organic waste, eliminated due to ignorance of its content of capsaicinoids.

The main objective is the obtaining and characterization of capsaicinoids, for this solvent (ethanol and acetonitrile) assisted by ultrasound was used, likewise two types of sample ratio: solvent (1:10 and 1:20 g / ml) at a standard temperature of 50 ° C subjected to different extraction times (20 - 40 min). The extracts were quantified by UV-visible spectrophotometry at 270 nm. By means of a multilevel factorial design, it was possible to determine that there is a significant difference in the solvent mixtures, already with the optimal parameters: ratio 1:10 g / ml, with a mixture of 80% ethanol and 20% acetonitrile and at a time of 30 min, an extraction was carried out, which was distilled by means of a broken steam at 60 ° C, 50 rpm and 300mBar, obtaining a yield of $11.53\% \pm 1.07$, with a concentration of capsaicinoids of $0.32 \text{ g / g} \pm 0.10$, this oleoresin presents a humidity of $8.16\% \pm 0.16$, density of $0.91\% \pm 0.04$, acidity of 0.19 ± 0.07 , pH of 7.35 ± 0.33 and a pungency of $5120000 \text{ SHU} \pm 1588358.91$.

In conclusion, if it was possible to extract and characterize Capsaicinoides, taking advantage of the organic waste of the Jalapeño pepper and be able to give it different uses at the research level.

Key words: *Capsicum*, capsaicinoids, organic waste, spectrophotometry, oleoresin

I. INTRODUCCIÓN

Actualmente, el Perú ocupa el tercer puesto a nivel mundial de exportaciones de Capsicum por detrás de China e India. En tanto, la demanda proviene principalmente de Estados Unidos, España, México, Alemania y Reino Unido mientras que existen mercados menores como Argentina, Puerto Rico y Canadá (Gestion, 2018).

La población cada vez está consumiendo en mayor proporción los ajíes, esto está ligado a la gastronomía peruana que en los últimos años ha cobrado gran interés a nivel mundial. (Andina, 2017)

La actual promoción de la gastronomía peruana representa una oportunidad para producir, comercializar y exportar ajíes y especias en respuesta a la gradual demanda de alimentos e ingredientes de alto valor, por la amplia diversidad de ajíes o chiles y rocotos (Capsicum), ingresando así a nuevos mercados internacionales por alimentos nuevos, exóticos y productos orgánicos derivados. (Amazon Andes, 2017)

Por lo cual se vio una alternativa importante para la obtención de Capsaicinoides, aprovechando los residuos de los ajíes específicamente de los Ajíes Jalapeños verdes, los cuales son descartados por la industria conservera.

Los jalapeños verdes (*Capsicum annuum. L*), son una fuente rica de valiosos fitoquímicos como la capsaicina, el cual es el principal componente pungente y es ampliamente utilizado como aditivos alimentarios, generando efectos analgésicos, anti cancerígenos, cardiovasculares, gastrointestinales, entre otros. (Rollyson et al., 2014), además poseen propiedades antimicrobianas, ya que uno de los controles que ha adquirido mayor importancia en los últimos años, es aquel que basa su acción en el uso de sustancias de

origen natural utilizados para fungicidas, herbicidas bactericidas e insecticidas. (Martinez Guzman, 2007).

Por lo tanto, para la obtención de los capsaicinoides se emplearon procedimientos ya conocidos para su extracción y caracterización. El empleo de ultrasonido es un ejemplo de nueva tecnología, se estima que, en términos generales, el ultrasonido tiene importancia y aplicación de manera destacada, en el mejoramiento de procesos alimenticios por incidir en sus cinéticas, rendimientos o en la calidad de los productos. (Ulloa et al., 2013).

Una vez extraídos los capsaicinoides, se procedió con la cuantificación mediante lecturas de absorbancia de UV – visible para luego realizar los análisis fisicoquímicos a la muestra extraída con mayor cantidad de capsaicinoides presente, evaluando así cual es el mejor solvente y la proporción muestra: solvente más adecuada para aprovechar la semilla residual del ají Jalapeño y así poder darle diferentes usos a nivel investigativo.

Es por esto que este trabajo tiene como objetivo principal extraer y caracterizar capsaicinoides a partir de los desechos orgánicos obtenidos en la industria de jalapeño verde. Y se tiene como objetivos específicos: Realizar el análisis proximal a la materia prima obtenida a partir de los desechos orgánicos de la industria de jalapeño verde, determinar la mezcla y la relación muestra (desechos orgánicos): solvente (etanol y acetonitrilo), más adecuada para la extracción de capsaicinoides, aplicar el método de extracción asistida por ultrasonido a todos los tratamientos y fijar los parámetros (tiempo y temperatura) para la extracción de capsaicinoides, cuantificar los capsaicinoides presentes en los extractos obtenidos mediante espectrofotometría ultravioleta – visible, determinar la mezcla, relación muestra: solvente y tiempo óptimo, según la evaluación del diseño estadístico factorial multinivel y determinar las características fisicoquímicas del extracto óptimo.

II. MARCO TEORICO

2.1. JALAPEÑO VERDE

2.1.1. Origen

El chile jalapeño es muy cultivado y consumido en América, principalmente en el sur de Veracruz, en la cuenta del río Papaloapan, en la zona de Delicias, específicamente en Chihuahua, Nayarit, Jalisco, Sinaloa, Sonora y Chiapas. La intensidad del sabor del chile jalapeño depende del terreno en el cual se haya sembrado, así como de la semilla. Sin embargo, suele tener entre 2 mil 500 y ocho mil puntos, en la escala Scoville. (Nuñez et al.,2003a)



Figura 1. Jalapeño verde fresco. Pixabay, 2016

2.1.2. Descripción botánica

El chile jalapeño el cual presenta un color verde y que al madurar cambia a color rojo es de tamaño mediano, carnosos y de punta redonda, pulpa jugosa y de picante medio. Mide de 5 a 7 cm de largo y 2.5 cm de ancho y su pungencia varía de picante a muy picante. Gran porcentaje de la cosecha de este ají se enlata y se exporta, se prepara

generalmente en vinagre, ya sea entero o en rajas. (Martínez de Flores Escobar et al., 2004)

2.1.3. Clasificación taxonómica

El género *Capsicum* al cual le pertenecen las diferentes formas de pimiento, chile o ají es uno de los 18 géneros que pertenece a la tribu más grande de la familia Solanoideae divididas en 1250 especies, dentro de las cuales podemos encontrar otras como *Solanum*, *Lycopersicon*, *Cyphomandra*, *Physalis*, etc.

El nombre científico del género *Capsicum* según diferentes autores deriva del griego *Kapso* (picar) o *Kapsakes* (cápsula). (Nuñez et al., 2003b). La taxonomía del capsicum puede resultar un poco compleja debido a la gran variedad de especies y de criterios de clasificación. (Nuñez et al., 2003c)

Tabla 1.
Clasificación taxonómica del Chile

TAXONOMÍA DEL JALAPEÑO VERDE <i>(Capsicum annuum)</i>	
Reino	Vegetal
División	<i>Tracheophyta</i>
Subdivisión	<i>Pteropsida</i>
Clase	<i>Angiospermae</i>
Subclase	<i>Dicotyledonea</i>
Orden	<i>Solanaceales</i>
Género	<i>Capsicum</i>
Especie	<i>Annuum</i>

Fuente: (Janick, 2011)

2.1.4. Morfología

El pimiento *Capsicum* está conformada por 4 partes principales: el pericarpio, placenta, semillas y tallo. El pericarpio es la pared del fruto que conforma aproximadamente el 38% del *Capsicum*, la placenta representa el 2% del chile, las semillas un 56% y el tallo un 4%. La propiedad que separa a la familia *Capsicum* de otros grupos vegetales, es un grupo de alcaloides denominados capsaicinoides.

(Nuñez et al.,2003d)

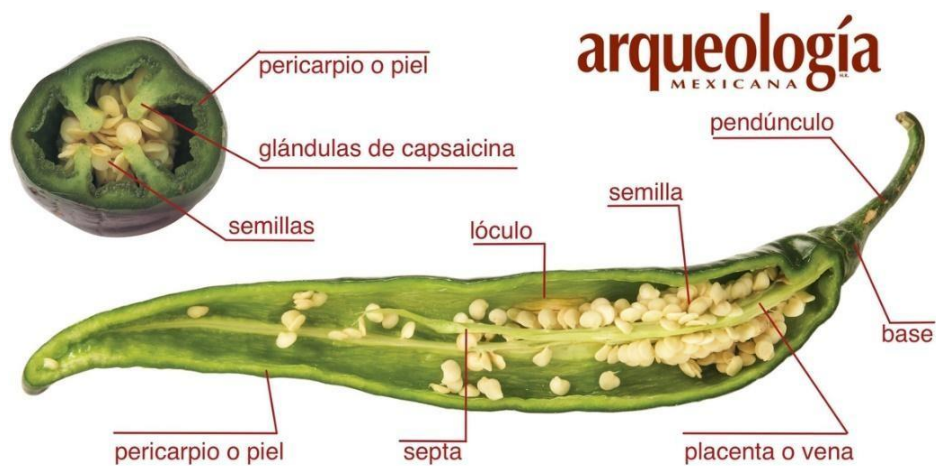


Figura 2. Partes principales del chile fresco. Arqueologia Mexicana, 2016.

2.1.5. Composición química.

El chile jalapeño tiene como principal componente al agua, seguido de los carbohidratos. Siendo una hortaliza con bajo aporte calórico, el chile es una buena fuente de fibra y al igual que el resto de hortalizas su contenido proteico es muy bajo y el aporte de grasa es mínimo. La vitamina C que presenta el chile jalapeño es elevada además de poseer provitamina A, haciendo al chile jalapeño una hortaliza con una buena fuente de antioxidantes. (Lopez Urquia, 2010)

Tabla 2.
Composición de Chile Jalapeño Fresco

COMPONENTES	UNIDADES	CANTIDAD
Agua	%	92.30
Energía	Kcal	23
Proteína	G	1.20
Grasa Total	G	0.10
Carbohidratos	G	5.30
Calcio	Mg	25
Hierro	Mg	2.00
Riboflavina	Mg	0.04
Vitamina C	Mg	72
Vitamina A	Mg	20
Ácidos grasos poli-insat.	G	0.05
Potasio	Mg	340
Magnesio	Mg	25
Vitamina B6	Mg	0.28
Ácido Fólico	Mcg	23
Fracción Comestible	%	0.87

Fuente: (Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá (INCAP), 2007)

2.1.6. Producción de *Capsicum* a nivel mundial

Arias, (2011) señala que “los datos a nivel mundial de ajíes y pimientos muestran que, en las últimas décadas, la demanda ha aumentado”.

El principal país productor de ajíes y pimientos frescos en el mundo es China, con una producción aproximada del 33 % a nivel mundial, es decir más de 17 millones de toneladas, seguida por México y Turquía. El Perú en el año 2016 tuvo una producción cerca de las 131 mil toneladas de ajíes y pimientos frescos. (FAOSTAT, 2016)

Con relación a los ajíes y pimientos secos o deshidratados, India ocupó el primer puesto con una producción de 1,2 millones de toneladas, obteniendo casi el 40% de la producción total mundial, seguido muy de lejos por China, Pakistán y Tailandia. Perú ocupó el quinto puesto en el ranking mundial con una producción de 135.791 toneladas. (FAO, 2014)

Tabla 3.
Producción de Ají y pimientos frescos de los 5 principales países a nivel mundial

PAÍS	PRODUCCIÓN (TON)
China	17458282
México	2737028
Turquía	2457822
Indonesia	1961598
España	1082690

Fuente: (Organización de las Naciones Unidas para la alimentación y la agricultura, FAO, 2016)

2.1.7. Producción de Capsicum en Perú

A nivel nacional hay una mayor producción de ají pprika (*Capsicum annuum*), la cual es la variedad de Capsicum con más demanda tanto a nivel nacional como mundial. (López, 2011)

La Fig. N03 se observa que la mayor producción de ajíes y pimientos se obtuvo en el departamento de Tacna con 38.576 toneladas (26% de la producción a nivel nacional), seguido de los departamentos de La Libertad (23%) y Lima (22%).

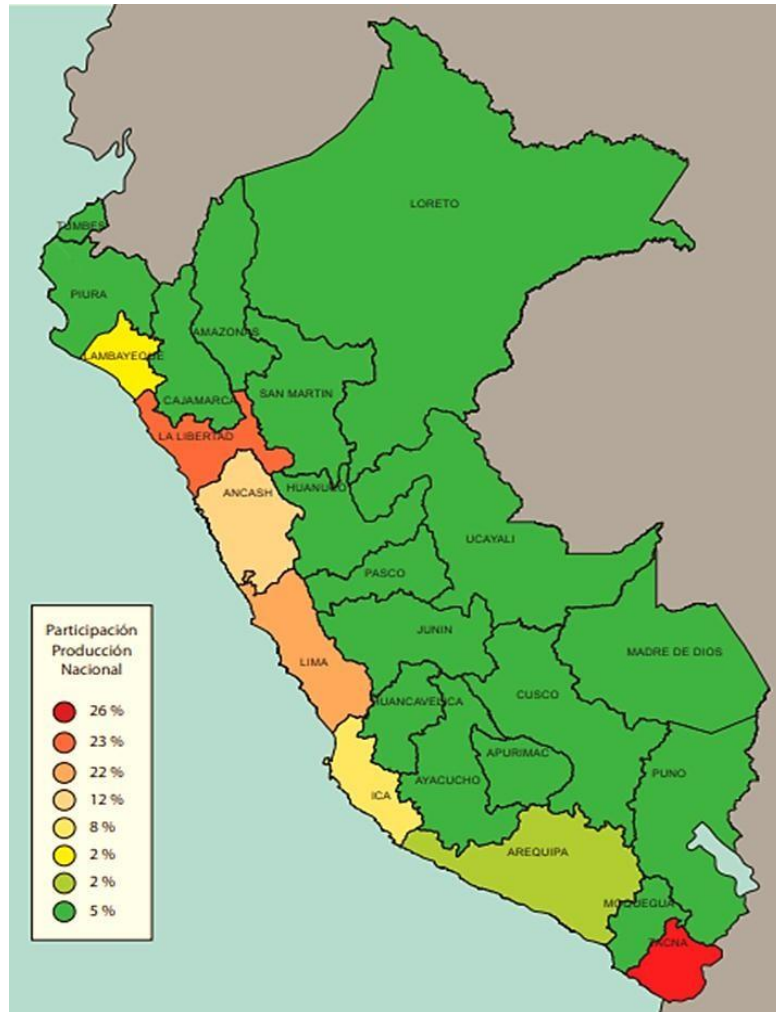


Figura 3. Principales departamentos productores de ajíes y pimientos a nivel nacional en el 2011. Saavedra, 2011

En el Perú los ajíes tuvieron su origen en la zona andina y selvática de lo que antes se denominó el Alto Perú, y hoy pertenece a Bolivia. Desde allí se dispersaron al resto del continente por intermedio de las aves, quienes al consumir las frutas dispersaban las semillas, propagándolas a través de sus excreciones. Existen vestigios que muestran la antigüedad de los ajíes en el Perú: el investigador Junius Bird halló restos de ají en huaca prieta, yacimiento arqueológico que data del año 2500 a.c. y se ubica en el departamento de la Libertad.

2.1.8. Comercialización de Capsicum nativos y no nativos en el Perú

En el Perú muchas empresas procesadoras y exportadoras han logrado comercializar una variedad de productos procesados a base de ajíes nativos, tales como salsa de ají panca, ají amarillo y de rocoto, a base de su experiencia en los mercados, teniendo como comprador principal los Estados Unidos y a partir de esto se están abriendo principalmente en Suiza, Suecia, y los Emiratos Árabes Unidos. En el mercado internacional, los ajíes y pimientos comerciales no nativos peruanos como el jalapeño y la paprika son los más comercializados y de los cuales se puede tener mayor información. (Agro Negocios Peru, 2018)

Las cantidades exportadas de la mayoría de ajíes y pimientos comerciales no nativos como el pimiento (10⁶614.861 Kg), el ají paprika (1⁶208.026 Kg) y el ají jalapeño (305.925 Kg) superan por mucho las cantidades exportadas de ajíes nativos en conserva. (Jager et al., 2013)

2.1.9. Industria del jalapeño verde en Perú

El chile jalapeño, principalmente, se procesa y consume fermentado o encurtido. Los productos encurtidos son aquellos a los que se les ha agregado ácido láctico o acético (vinagre), entre otros. El chile jalapeño se comercializa entero, sin semillas, en mitades cortadas a lo largo, en cuadros y en rodajas. (Cristhian, 2014)

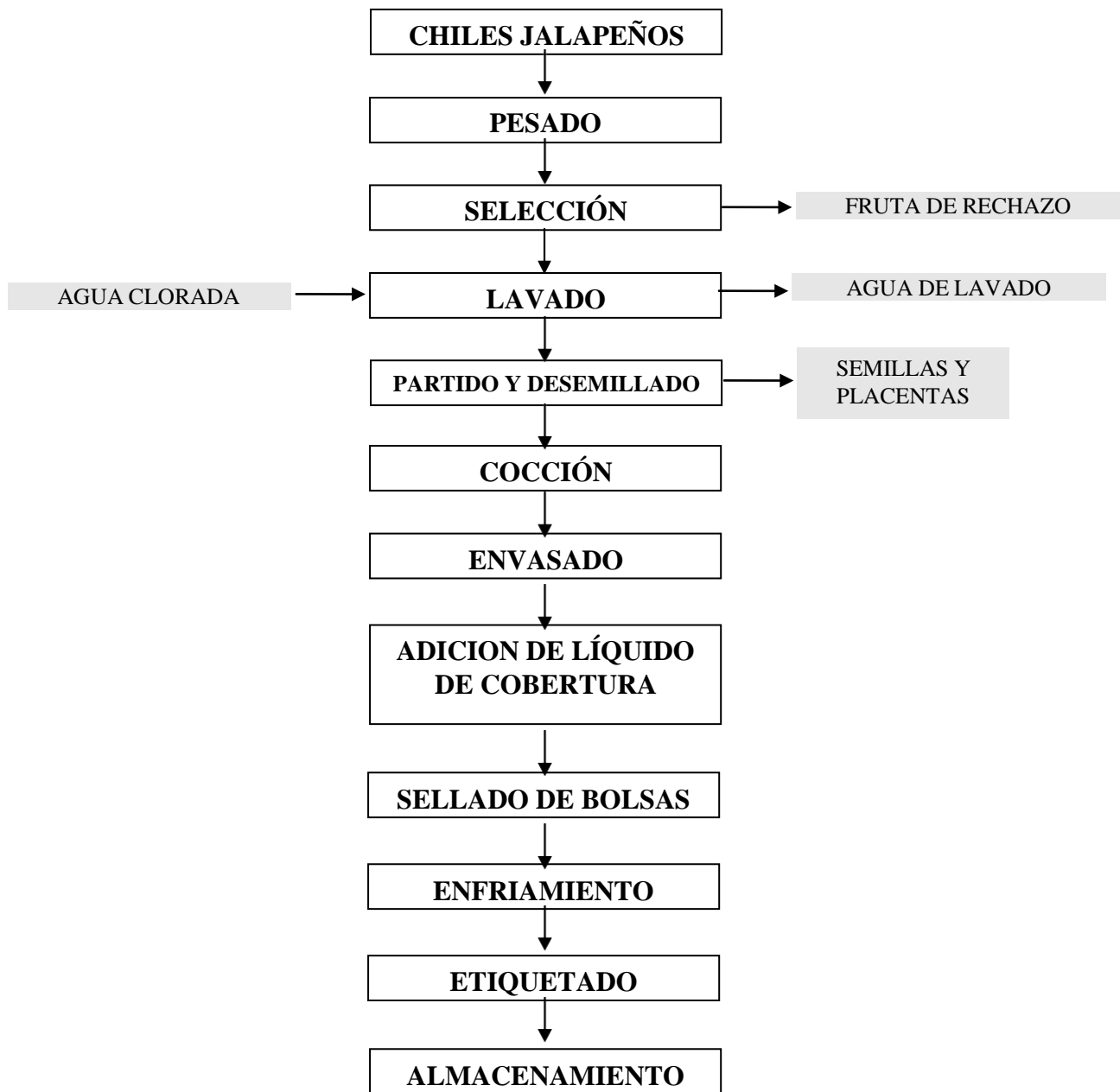


Figura 4. Diagrama de Flujo del procesamiento de chile jalapeño en escabeche.

A continuación, presentamos la descripción del proceso de elaboración del jalapeño en escabeche, (FAO, 2014)

- PESADO: Los chiles al igual que los demás ingredientes se pesan para formular la mezcla adecuada y determinar rendimientos.
- SELECCIÓN: Se eliminan los chiles con defectos (deteriorados, verdes o sobre maduros).
- LAVADO: Los chiles enteros se lavan y son partidos en mitades.
- PARTIDO Y DESEMILLADO: Con una cuchilla en forma de cuchara, se les quita las semillas y placenta.
- COCCIÓN: Los chiles y las otras verduras pasan por un proceso de escaldado en los siguientes tiempos: zanahorias 8 minutos, chiles 5 minutos y cebollas 2 minutos. Se les deja escurrir y pasan a la línea de llenado.

El líquido de gobierno está conformado por sal, hojas de laurel, aceite, vinagre y preservante; estos se colocan en la olla o marmita de cocción y se calientan hasta 95 °C. El pH final debe quedar entre 2.8 y 3.0.

- ENVASADO: En bolsas de polietileno de alta densidad se realiza el llenado, agregándoles un 60% de verduras (150g de chile, 30 g de zanahorias y cebollas) y un 40% de líquido de cobertura (120 g de vinagre).
- ADICIÓN DE LÍQUIDO DE GOBIERNO: En las bolsas ya envasadas se le añade el vinagre a una temperatura mínima de 85 °C.
- SELLADO DE BOLSAS: Las bolsas son selladas dejando un espacio de 2 cm desde el sello al borde.

- ENFRIAMIENTO: Pasan por una ducha a temperatura ambiente, para enfriarlas y limpiarlas.
- ETIQUETADO: Las bolsas son secadas, etiquetadas y codificadas con la fecha y lote de producción. Estos son embalados en cajas de cartón o canastas plásticas.
- ALMACENADO: El producto es almacenado a temperatura ambiente en un lugar seco y ventilado.

Así mismo se describe los pasos del flujo de proceso desarrollado de la elaboración de Chile jalapeño en salmuera.

- RECEPCIÓN DE MATERIA PRIMA: La materia prima se recibe en la Planta Agroindustrial.
- PESADO: La materia prima es pesada en una balanza de acero inoxidable.
- LAVADO Y DESINFECCIÓN: Se lavan los chiles con abundante agua por 10 minutos y se desinfectan con una solución de 50 ppm de cloro.
- SELECCIÓN: Se realiza la selección de los chiles jalapeños que no presentan daños ni defectos físicos o biológicos.
- LLENADO EN RECIPIENTES: El chile es colocado en los recipientes.
- ADICIÓN DE SALMUERA A LOS BARRILES: La salmuera se agrega, dependiendo del tratamiento, se le coloca una manga, para permitir la liberación de gases y el sello del recipiente.
- FERMENTACIÓN: los recipientes son guardados en un cuarto oscuro y a temperatura ambiente durante seis semanas, para permitir la fermentación ácido-láctica.

- LAVADO: Terminado el proceso de fermentación los chiles se lavan para remover el exceso de sal.
- LLENADO: Los chiles jalapeños en salmuera se colocan en bolsas plásticas y se le agrega una nueva salmuera.
- SELLADO: Se selló la bolsa.
- ALMACENADO: El almacenamiento de los chiles fue en un cuarto frío para evitar que siga ocurriendo la fermentación. (Lopez Urquia, 2010)

Algunas de las empresas exportadoras son Gandules, Danper Trujillo, S&M Foods S.A.C y Virú. Y los principales mercados de exportación son Alemania, Argentina, Puerto Rico, Bélgica, Reino Unido, Canadá y Chile. (Agro Negocios Peru, 2018)

2.2. CAPSAICINOIDES

Los capsaicinoides, el ingrediente activo de los chiles es producidos por glándulas en la placenta (Zewdie, 2000), este fue considerado en un inicio como una sola sustancia: Capsaicina, la cual es una mezcla de homólogos di y tri - insaturados, como lo demostraron los químicos japoneses S. Kosuge y Y. Inagaki en 1964.

Los capsaicinoides tienen un papel de protección química de las semillas, se han encontrado capsaicinoides en cantidades más pequeñas en pericarpio e incluso en los órganos vegetativos como las hojas y en el tallo. (Aminul et al., 2015)

2.2.1. Estructuras

Hay 12 compuestos capsaicinoides diferentes en el chile, pero el sabor picante viene de los dos capsaicinoides principales, la capsaicina y dihidrocapsaicina (Alpizar et al., 2002)

La capsaicina y dihidrocapsaicina son los compuestos más fuertes y los que producen mayor ardor. Nordihidrocapsaicina es el compuesto menos irritante y poco dulce; homodihidrocapsaicina es un compuesto muy irritante y produce cierto ardor, siendo prolongado en su duración. La homocapsaicina produce poco ardor en la garganta, con una sensación lenta de pungencia a través de ella. (Ubillius Perez, 2014)

Tabla 4.
Clasificación de capsicinoides comúnmente presentes en Capsicum annum

Nombre	Nombre Científico	Unidades Scoville	Porcentaje
Capsaicina	trans-8-metil-n-vanilil-6-nonamida	16,000,000	69%
Dihidrocapsaicina (DHC)	8-metil-n-vanilil-nonamida	16,000,000	22%
Nordihidrocapsaicina (NDHC)	7-metil-n-vanilil-octamida	9,100,000	7%
Homodihidrocapsaicina (HDHC)	9-metil-n-vanilil-decamida	8,600,000	1%
Homocapsaicina (HC)	trans-9-metil-n-vanilil-7-decenamida	8,600,000	1%

Fuente: (A. & J., 2001)

Los capsicinoides, los cuales actúan juntos para producir la pungencia de los chiles, son producidos y sintetizados en las vacuolas de las células epidemiales de la placenta. siendo la capsaicina el componente más activo. (Garcia et al., 2006)

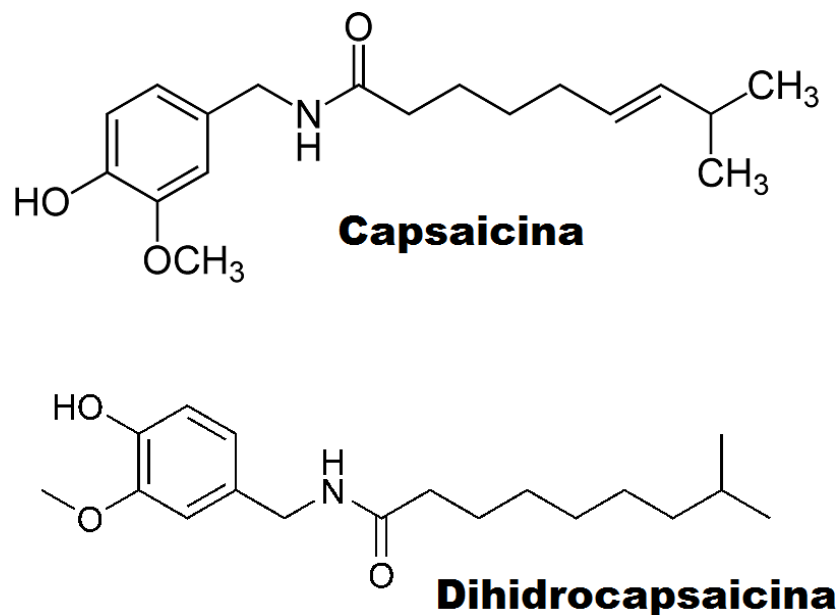


Figura 5. Estructura química de la Capsaicina y Dihidrocapsaicina. Fitoterapia.net, 2016

2.2.2. Síntesis

Los capsaicinoides son sintetizados en la placenta del fruto por condensación de vanillilamina con restos de ácidos grasos de longitud de 9 u 11 carbonos de largo con un número variable de enlaces dobles en diferentes posiciones. La vanillilamina se deriva del aminoácido fenilalanina presumiblemente a través de la vía de fenilpropanoides, se derivan del catabolismo de los aminoácidos, valina y leucina, y su posterior elongación. La síntesis de capsaicinoides se puede resumir en tres pasos: formación de la vainillilamina (porción fenólica de los capsaicinoides), formación de la cadena lateral ácido graso y formación de los capsaicinoides por la capsaicinoide sintasa (Keyhaninejad et al., 2014)

2.2.3. Capsaicina

La capsaicina es un alcaloide, el cual retiene su potencial a pesar del tiempo, aparentemente inafectable por el frío o el calor.

Es poco soluble en agua, pero muy soluble en alcohol, grasas y aceites. (Fernandez Barbero, 2007)

2.2.3.1. Características físico – químicas

El picante de los chiles se debe a la capsaicina ($C_{18}H_{27}NO_3$), un compuesto incoloro aceitoso e inodoro que se encuentra en el fruto de una planta que es un pariente cercano al tomate. La capsaicina se encuentra principalmente en la membrana que contienen las semillas. La capsaicina es tan potente que incluso una concentración de 10 ppm sería suficiente para producir ardor de larga duración. (American Chemical Society, 2013)

La capsaicina tiene un punto de fusión de $64.5^{\circ}C$ y un punto de ebullición de 210 a $220^{\circ}C$ y presenta su máxima absorción en UV a 227 a 230 nm. (Cervantes, 2005)

2.2.3.2. Aplicaciones y usos

– Efectos en la salud

- La Capsaicina purificada, es la responsable de la sensación de ardor, e incluso dolor, es tan activa que puede producir ampollas en la lengua, aun siendo diluida cien mil veces.
- La Capsaicina posee características descongestivas favoreciendo al cerebro para la fabricación de endorfinas, las cuales son moléculas que promueven la sensación de bienestar. (Mile & Andre, 2007)

– **Antioxidante**

- Los pimientos son una magnífica fuente de antioxidantes capaces de ser utilizados en la dieta. Presentan no sólo compuestos antioxidantes muy extendidos en el mundo vegetal como pueden ser flavonoides, ácidos fenólicos, carotenoides, vitamina A, ácido ascórbico, tocoferoles, sino también constituyentes antioxidantes específicos como los capsaicinoides. (Deiana et al., 2002)

– **Obesidad**

- La Capsaicina puede ayudar a combatir la obesidad mediante la reducción de la cantidad de calorías que se absorben en el intestino.
- La Capsaicina puede causar pérdida de peso e impedir la acumulación de grasa mediante la estimulación de la expresión de ciertas proteínas degradantes de grasa, y estableciendo una regulación a la baja de otras proteínas que trabajan en la síntesis de grasa. (Joo et al., 2010)

– **Actividad anti- microbiana**

- Los capsaicinoides también se conocen por presentar unas marcadas propiedades antimicrobianas y anti-fúngicas. (Cichewicz & Thorpe) comprobaron que los extractos obtenidos a partir de pimientos picantes inhibían el desarrollo de

determinados patógenos como *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Clostridium sporogenes*, *Clostridium tetani* y *Streptococcus pyogenes*. Molina-Torres y colaboradores encontraron que la Capsaicina inhibía además el crecimiento y desarrollo de *Escherichia coli*, *Pseudomonas solanacearum* además de *Bacillus subtilis*. También se ha demostrado que extractos de capsaicinoides presentan propiedades anti-bacterianas frente a *Salmonella typhimurium* y *Pseudomonas aeruginosa* , y frente a *Helicobacter pylory* entre otras.

2.2.4. Extracción de capsaicinoides

2.2.4.1. Tipos de extracción

En la bibliografía existente sobre los capsaicinoides se observa que se utilizan una gran variedad de métodos de extracción de capsaicinoides en pimientos. Los cuales son descritos en la Tabla N° 05

Tabla 5.

Descripción de las características de algunas de las técnicas de extracción que se utilizan con muestras sólidas.

TÉCNICA DE EXTRACCIÓN	DESCRIPCIÓN
MACERACIÓN	La muestra se mantiene en contacto con el disolvente extractante con el tiempo necesario a una temperatura determinada. Es necesaria una filtración de la muestra.
SOXHLET CONVENCIONAL	La muestra se lixivia con el disolvente caliente en un extractor Soxhlet durante un tiempo determinado. La evaporación del disolvente se hace por separado.
SOXHLET	La muestra es introducida en el disolvente hirviendo durante 30-60 minutos. El recipiente es sometido a la

TÉCNICA DE EXTRACCIÓN	DESCRIPCIÓN
AUTOMATIZADA	extracción Soxhlet con reflujo del disolvente. Es posible hacer una evaporación del disolvente.
ASISTIDA POR ULTRASONIDOS	A la muestra se le aplican ultrasonidos, pudiendo controlar la temperatura. Se hace necesario la filtración y en ocasiones la centrifugación del material.
FLUIDOS SUPERCRÍTICOS	La muestra se coloca en una cámara a alta presión y es extraída con el fluido supercrítico que puede circular a través de la muestra en circuito cerrado o abierto (p.ej. CO ₂ a presiones mayores de 72 atm. y a temperaturas mayores de 33 °C). Después de la despresurización, los analitos son recogidos en un pequeño volumen de disolvente orgánico o en una trampa sólida.
ASISTIDA POR MICROONDAS	La muestra se coloca en un recipiente abierto o cerrado y se le adiciona el disolvente de extracción. Seguidamente se le suministra energía en forma de microondas.
FLUIDOS PRESURIZADOS	La muestra se presuriza con el disolvente, habitualmente calentado por encima de su punto de ebullición. El extracto es liberado y transferido a un vial.

Fuente: (Fernandez Babero , 2007)

2.2.4.2. Extracción Asistida por Ultrasonidos (EAU)

Este tipo de extracción involucra la aplicación de ondas ultrasónicas (con una frecuencia mayor a 20 KHz), estas ondas generan el proceso de cavitación debido a la expansión y compresión de sus ciclos, los cuales destruyen la pared celular facilitando la difusión del solvente y la solubilidad de los compuestos encontrados al interior de la célula. (Rastagno et al., 2003)

La aplicación de los ultrasonidos en un medio líquido provoca el fenómeno de la cavitación. Este proceso se divide en dos etapas:

1. Primera fase: la depresión, en donde se crea en el interior del líquido una infinidad de burbujas.
2. Segunda fase: la compresión, la enorme presión ejercida sobre estos puntos hacen que estos se compriman hasta hacerlos colapsar en sí mismos (implosión) o simplemente acumular energía para volver a pasar a la primera fase. La extracción se ve facilitada y acelerada gracias a esta energía la cual imprime una velocidad o flujo dentro del fluido produciendo un movimiento de masa. (Dueñez, 2017)

2.2.4.2.1. Tipos de ultrasonido

- Ultrasonido de señal (100 kHz a 1MHz):

Son señales de ultrasonido de baja intensidad y se utiliza para monitorear un proceso o producto.

Ejemplos: Medida del grosor de la carcasa en animales, medición del grosor de la cascara de huevos, detección de agujeros en quesos y papas, propiedades de textura en frutas, etc. (Mulet et al., 2003a)

- Ultrasonido de potencia (18-100 kHz):

Se utilizan para modificar un proceso o un producto, con una frecuencia más baja y mayor potencia produciendo cambios físicos y químicos en el medio a través de la generación y subsiguiente colapso dentro del líquido.

Se requiere de un medio líquido, un generador de energía y un transductor, el cual convierte en energía eléctrica, magnética o cinética en energía acústica. (Mulet et al., 2003b)

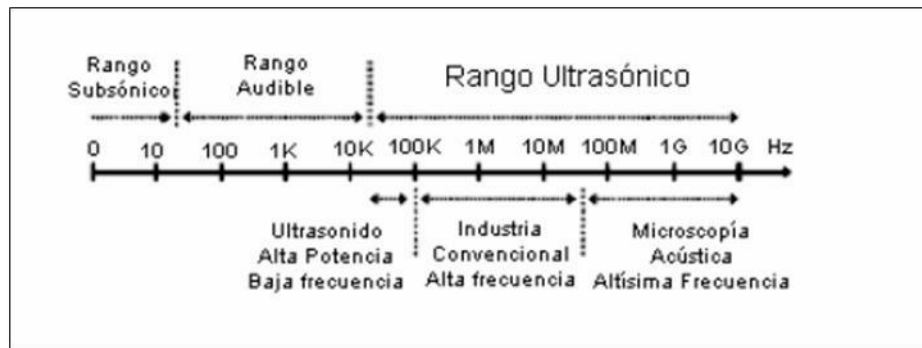


Figura 6. Rangos de Sonido. Chaosrequiem, 2015

2.2.4.2.2. *Parámetros que favorecen en la extracción asistida por ultrasonido*

Por lo general, la utilización de ultrasonidos ayuda a las técnicas de análisis químicos de diferentes formas:

- Favorecen la extracción sólido-líquido.
- Reducen la extracción secuencial.
- Aceleran la extracción sólida – líquido de especies orgánicas.
- Aceleran la medición electroanalítica ya que se favorece la eficiencia del transporte de masa.
- Aceleran reacciones enzimáticas.
- Aceleran las técnicas de extracción líquido-líquido.
- Favorecen el desempeño de extracción y microextracción en fase sólida.
- Incrementan la precisión en técnicas de dispersión en muestras sólidas.

2.2.4.2.3. *Parámetros que afectan en la extracción asistida por ultrasonido*

Los fenómenos físicos que afectan la extracción de sustancias se ven afectados por la sonificación, ya sea que las sustancias de interés se encuentren en células internas o externas del tejido. Es fundamental optimizar los parámetros operacionales en función del tipo de analito y matriz.

Los factores que influyen en el proceso de extracción son los siguientes:

- Volumen de muestra: Algunos autores nos dicen que aumentando el volumen de muestra y manteniendo el volumen del solvente, disminuye la eficiencia de la extracción.
- Tamaño de partícula de la muestra: Al disminuir el tamaño de las partículas de la muestra aumenta el área de exposición al solvente y a la cavitación producida.
- Solvente de extracción: Debe ser elegido tomando en cuenta la polaridad y solubilidad del compuesto que debe ser extraído. La efectividad de la extracción va a depender de la capacidad que tenga el disolvente de extracción para absorber y transmitir la energía de los ultrasonidos.
- pH de la solución extractante: En algunos casos es necesario ajustar el pH, para asegurarse de lograr una eficiente desorción de la matriz de muestra.

- Volumen del solvente de extracción: Para lograr una extracción óptima del compuesto, el volumen de muestra debe ser directamente proporcional al analito.
- Frecuencia de sonicado: La frecuencia interviene en la formación de burbujas de cavitación ya que, a frecuencias más altas, la producción de burbujas de cavitación es más difícil.
- Tiempo de extracción: La eficiencia de la extracción con el tiempo de sonicación, se obtiene hasta que se alcanza un equilibrio, a un tiempo mayor se produce una reducción en las recuperaciones obtenidas, probablemente por la degradación del compuesto o por la descomposición del solvente orgánico causada por las ondas del ultrasonido.
- Temperatura de extracción: En general, el uso de altas temperaturas produce mejores recuperaciones que cuando se trabaja en extracciones frías. En este tipo de extracción el incremento de la temperatura implica mayor eficiencia debido al incremento del número de burbujas de cavitación y del área de la superficie de contacto, sin embargo, este efecto tiende a desaparecer cuando se está trabajando a temperaturas próximas a las de ebullición. (Capelo, 2009)

Al usar los sonidos de alta frecuencia, las partículas sólidas y líquidas vibran acelerándose ante la acción ultrasónica, como el fin de que el soluto pase

rápidamente de la fase sólida al solvente, buscando desprender el analito de la materia prima. (GAO & LIU, 2006)

Comparando la extracción convencional con la extracción asistida por ultrasonido, esta presenta ventajas ya que la cantidad de solvente usada es menor, la temperatura de operación es baja y el tiempo de extracción corto. (Wang & Weller, 2006)

La extracción asistida por ultrasonido es una alternativa de bajo costo y es más eficiente en comparación con las técnicas de extracción convencional y, en algunos casos, incluso con la extracción usando fluidos supercríticos y la extracción asistida por microondas.

2.2.4.3. *Disolventes de extracción*

Los parámetros de extracción más estudiados son el disolvente de extracción, el volumen de disolvente, la temperatura de extracción, el tiempo de extracción y las características de la matriz, incluido el contenido en agua. La selección del disolvente apropiado es la clave para una extracción óptima. (Dueñez, 2017)

Los capsaicinoides son prácticamente insolubles en agua, pero bastante solubles en solventes orgánicos de relativamente baja volatilidad, como los alcoholes y alcanos de alto peso molecular, ésteres y muchos otros compuestos. Como regla general, puede decirse que un buen solvente de extracción de capsaicinoides será aquel que posea los mismos grupos funcionales que éstos, y que además tenga una polaridad similar, es decir, el mismo balance entre grupos polares y no polares en su estructura. (Martínez Guzmán, 2007)

Perochena Escalente (2015); nos muestra una compilación de autores que describen extracción de capsaicinoides con diferentes solventes.

Tabla 6.
Diferentes solventes para la extracción de capsaicina

SOLVENTE	REFERENCIA	AÑO
Metanol	R. Kamka	2002
	P. Kirschbaum – Ti	2002
Etanol	G.F. Barbero	2006
	R.I. Santamaria	2000
Acetonitrilo	B. Estrada	2000
	M.Contreras – Padilla	2005
	R. Kamka	2002
Acetona	R. Kamka	2002
Acetato de etilo	K.Iwai	2001
Mezcla acetona – éter etílico	I.Perucka	2002

Fuente: (Perochena Escalente, 2015)

2.2.5. Caracterización de capsaicinoides

2.2.5.1. Cuantificación por Espectrofotometría Uv-Visible

Actualmente, el análisis de capsaicina o compuestos capsaicinoides está enfocada al uso de espectrofotometría, cromatografía de gases y cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) (Betts, 2011)

La espectroscopia describe la interacción entre la radiación, principalmente la electromagnética, y la materia. Toda radiación electromagnética viene caracterizada

por una longitud de onda (λ), una frecuencia (ν) o una energía E ; la relación existente entre ellas está dada por la ecuación de Plack:

$$E = h\nu = hc/\lambda$$

Dentro de los métodos espectrométricos o espectrofotométricos de análisis para identificar y cuantificar elementos presentes en distintos medios, se encuentra la espectrofotometría ultravioleta – visible (UV – Vis), este utiliza la radiación del espectro electromagnético, cuya longitud de onda está comprendida entre los 100 y 800nm y su efecto sobre la materia es producir transiciones electrónicas, entre los orbitales atómicos y/o moleculares de la sustancia. En algunos casos, los efectos y la detección pueden llegar al IR cercano (800 – 900 nm). En la espectroscopia UV – Vis, una especie química absorbe UV –Vis y la energía adquirida por el sistema causa la transición de un electrón de un estado basal o fundamental (EF) a uno excitado (EE). La energía de la transición está relacionada con la longitud de onda de la radiación a través de la ecuación de Planck. (Castro de Esparza et al., 2009)

Un gráfico o representación de la respuesta del sistema en función de la longitud de onda o frecuencia se denomina espectro. En general, en los espectros UV – Vis, se observa una señal debida a cada transición electrónica del EF al EE. Los átomos dan líneas agudas, mientras que las moléculas poliatómicas dan señales en forma de bandas puesto que la absorción de luz involucra también energía suficiente para causar cambios en energía vibracional y rotacional de cada uno de sus estados electrónicos en el EE, tal como ocurre cuando se irradia al EF con luz infrarroja. En este caso se originan líneas de absorción de diferentes intensidades que no se resuelven, con la aparición de un continuo o banda. Para una sustancia determinada,

la longitud de onda a la cual se produce el máximo de absorbancia en el espectro se conoce como λ máx.

La señal espectral permite, por lado, identificar algunos grupos funcionales presentes en las moléculas y, por el otro, estimar la concentración de una sustancia. (Castro et al., 2009)

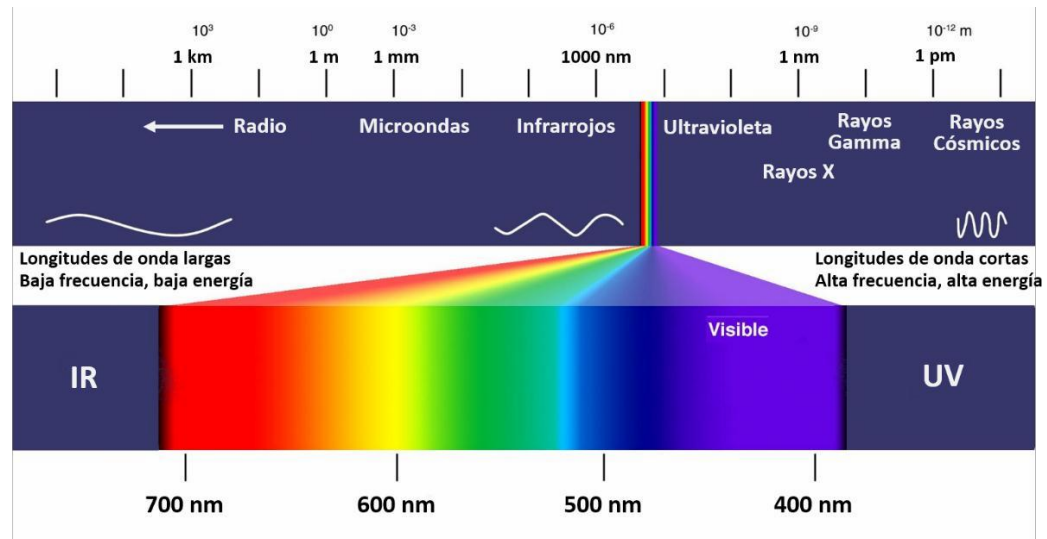


Figura 7. Espectro electromagnético completo. Laureiro, 2015

2.3. DESTILACIÓN POR ROTAVAPOR

Esta técnica permite la separación de mezclas, es decir cuanto mayor sea la diferencia entre los puntos de ebullición de las sustancias de la mezcla, más eficaz será la separación de sus componentes; por lo tanto, los componentes se obtendrán con un mayor grado de pureza.

2.3.1. Destilación a vacío:

En una destilación a vacío la presión en el interior del equipo se hace menor a la atmosférica con el objetivo de que los componentes de la mezcla a separar destilen a una temperatura inferior a su punto de ebullición normal.

La destilación a vacío se utiliza para destilar a una temperatura razonablemente baja productos muy poco volátiles o sustancias que se descomponen cuando se calientan a temperaturas cercanas a su punto de ebullición normal. Un tipo de destilación a vacío muy utilizado en un laboratorio químico es la evaporación rotatoria.

Este tipo de destilación es realizado en equipos compactos comerciales denominados rotavapores y se usan para eliminar con rapidez el disolvente de una disolución en la que se encuentra presente un soluto poco volátil. Se realiza regularmente a temperaturas próximas a la temperatura ambiente, con lo que se minimiza el riesgo de descomposición del producto de interés que queda en el matraz de destilación. (Universidad de Zaragoza , 2017)

2.4. ANALISIS PROXIMAL

2.4.1. Humedad

Todos los alimentos contienen agua en mayor o menor proporción. En los alimentos naturales el contenido en agua varía entre un 60 y un 95%. Existe dos formas generales en los tejidos vegetales y animales: “agua libre” que es la forma predominante y se libera con gran facilidad por evaporación o secado y “agua ligada” la cual se encuentra en los alimentos como agua de cristalización (en los hidratos) o ligada a las proteínas y a las moléculas de sacáridos. (Hart, 2000)

Existen varias razones por las cuales determinar la humedad, las principales son las siguientes: (Badui, 2006)

- Conocer la composición del alimento y su relación con el peso seco.
- Conocer las posibilidades de deterioro junto con la A_w .
- Es útil en el caso de muestras que deben someterse a molienda.

- En algunos alimentos existe un límite legal.
- Es un modo sencillo de controlar etapas de elaboración.

2.4.2. Proteínas

Las proteínas son biomoléculas formadas básicamente por carbono, hidrógeno, oxígeno y nitrógeno. Conservan su actividad biológica solamente en un intervalo relativamente limitado de pH y de temperatura. Las unidades monoméricas son los aminoácidos y el tipo de unión que se establece entre ellos se conoce como enlace peptídico.

Todas las proteínas están compuestas por C, H, O y N, y casi todas poseen además S. El contenido de N representa el 16 % de la masa total de la molécula es decir que en 6,25 g proteína hay 1 g de N. Este factor de 6,25 se utiliza para estimar la cantidad de proteína existente en una muestra a partir de la medición del N de la misma.

La proteína es la unión de dos aminoácidos formando un enlace peptídico. Son polímeros de alto peso molecular Están formadas por unidades estructurales básicas llamadas aminoácidos (aa) los cuales son moléculas que se caracterizan por contener un grupo funcional amino y un ácido carboxílico.

El método Kjeldahl se utiliza en química analítica para la determinación del contenido de nitrógeno en muestras orgánicas lo cual es de gran interés en ámbitos de tanta transcendencia hoy en día como son el alimentario y el medioambiental. (Adrian et al., 2000)

El método consta de tres etapas: DIGESTIÓN – DESTILACIÓN – TITULACIÓN.

1. Etapa de digestión: un tratamiento con ácido sulfúrico concentrado, en presencia de un catalizador y ebullición convierte el nitrógeno orgánico en ión amonio, según la ecuación 1.
2. Etapa de destilación se alcaliniza la muestra digerida y el nitrógeno se desprende en forma de amoníaco. El amoníaco destilado se recoge sobre un exceso desconocido de ácido bórico.
3. Etapa de valoración: La cuantificación del nitrógeno amoniacal se realiza por medio de una volumetría ácido-base del ión borato formato, empleando ácido clorhídrico o sulfúrico y como indicador una disolución alcohólica de una mezcla de rojo de metilo y azul de metileno. Los equivalentes de ácido consumidos corresponden a los equivalentes de amoníaco destilados. (JP Selecta, 2012)

2.4.3. Grasas

Es una extracción con un disolvente orgánico (éter de petróleo, etil éter, cloroformo, metanol, etc.). En este tipo de análisis el disolvente se calienta, se volatiliza y condensa goteando sobre la muestra la cual queda sumergida en el disolvente. Posteriormente éste es succionado al matraz de calentamiento para empezar de nuevo el proceso. El contenido de grasa se cuantifica por diferencia de peso. El método es aplicable en muestras de alimentos en general y en alimentos que no han sido sometidos a tratamiento térmico. (Carnes, cereales y derivados, sopas, granos de semillas, etc). (Nielsen, 2017)

En el método de Soxhlet, el componente de interés son las grasas, y su solubilidad es la propiedad en la que se basa. Sabemos que las grasas se disuelven en disolventes no

polares, como el cloroformo, el hexano y el éter de petróleo. Cuando un alimento está en contacto con este tipo de disolventes, las grasas muestran tal afinidad que al disolverse se separan del resto de los componentes, a este principio se le conoce como extracción sólido-líquido. (Leary, 2005)

El equipo soxhlet se utiliza para cuantificar el total de lípidos de la muestra y realiza extracciones continuas automáticamente, con un solvente que se va evaporando, condensando y volviendo a utilizar hasta que el contenido a analizar esté lo más puro posible. Esta técnica requiere mucho tiempo, pero su principal inconveniente es que las extracciones de lípidos son incompletas para muchos alimentos, en especial para los productos cocidos al horno o los que contienen gran cantidad de grasas estructurales. (Nuñez, 2008).

2.4.4. Cenizas

La determinación de cenizas es referida como el análisis de residuos inorgánicos que quedan después de calcinar u oxidar por completo la materia orgánica de un alimento.

Las cenizas representan el contenido en minerales del alimento, en general, las cenizas representan menos del 5% de la materia seca de los alimentos. (Crisosto, 2004)

Es esencial el conocimiento básico de las características de varios métodos para analizar cenizas, así como el equipo para llevarlo a cabo para garantizar resultados confiables. Existen tres tipos de análisis de cenizas: cenizas en seco para la mayoría de las muestras de alimentos; cenizas húmedas (por oxidación) para muestras con alto contenido de grasa (carnes y productos cárnicos) como método de preparación de la muestra para análisis elemental y análisis simple de cenizas de plasma en seco a baja

temperatura para la preparación de muestras cuando se llevan a cabo análisis de volátiles elementales. (Castro de Esparza et al.,2009)

Las cenizas normalmente, no son las mismas sustancias inorgánicas presentes en el alimento original, debido a las pérdidas por volatilización o a las interacciones químicas entre los constituyentes. (Pearson, 2003)

2.4.5. Carbohidratos

Los carbohidratos (hidratos de carbono o glúcidos) son compuestos orgánicos formados por carbono, oxígeno e hidrógeno. El número de carbonos es variable, pero sólo las hexosas (con seis carbonos) y las pentosas (cinco carbonos) y sus polímeros (unión de varios) son nutricionalmente importantes. La mayoría de los carbohidratos que se consumen provienen de los vegetales. Los granos de cereal son la principal fuente de almidón. Si bien el glucógeno es almacenado en músculo e hígado, sólo pequeñas cantidades son aportadas por ellos. Entre los productos animales fuente de carbohidratos destaca la leche y sus derivados, fuente única de lactosa. (Vasquez, s.f.)

Los carbohidratos se llaman simples o complejos dependiendo de su estructura química. Los carbohidratos simples incluyen el azúcar que se encuentra naturalmente en productos como frutas, vegetales, leche y derivados de la leche. También incluyen azúcares añadidos durante el procesamiento y refinación de alimentos. Los carbohidratos complejos incluyen panes y cereales integrales, vegetales ricos en fécula (almidón) y legumbres. Muchos de los carbohidratos complejos son una buena fuente de fibra. La fibra se encuentra en frutas, vegetales, legumbres, frutos secos y cereales, siendo la fuente más concentrada los granos de cereal entero (en especial el trigo). Las

frutas y vegetales contienen menos carbohidratos por su alto contenido en agua.
(Medicina, 2018)

2.5. CARACTERISTICAS FISICOQUIMICAS

2.5.1. Pungencia

La pungencia o picor es la sensación de ardor agudo, captada por el sentido del gusto al contacto con algunas sustancias, Esta propiedad se debe a los siguientes compuestos:

- Capsaicina.
- Dihidrocapsaicina.
- Nordihidrocapsaicina.
- Homodihidrocapsaicina.
- Homocapsaicina.

En 1912, el farmacólogo Wilbur L. Scoville, desarrolló la prueba Organoléptica Scoville. Esta prueba es de disolución e involucra a un valiente panel de cinco personas probando muestras cada vez más diluidas de soluciones hechas de pesos exactos de chiles disueltos en alcohol y diluidos con agua azucarada. Varias diluciones fueron probadas hasta que la capsaicina (picor) ya no podía detectarse más. Una parte de capsaicina por 1.000.000 gotas de agua (aproximadamente 1 gramo por 26498 litros) tiene un índice de 1.5 Unidades Scoville. (Lau, 2016)

El número de unidades Scoville (SHU, del inglés Scoville Heat Units) indica la cantidad presente de capsaicina. Muchas salsas picantes usan la escala Scoville para publicitarse en los centros comerciales. (Bolaños Herra, 2014).

Tabla 7.
Escala Scoville y las principales especies /variedades de Capsicum.

UNIDAD SCOVILLE	VARIEDAD/CHILE
850 000 – 1 001 304	Bhut Jolokia (India, Sri Lanka)
350 000 – 570 000	Red Savina Habanero (California, Usa)
100 000 – 350 000	Chile Habanero
100 000 – 325 000	Scotch Habanero
100 000 – 200 000	Chile Jamaicano
50 000 – 100 000	Chilpete, Piquín, Chile Thai
30 000 – 50 000	Pimienta Cayanna, Chile Tabasco
10 000 – 30 000	Chile Serrano, Chile de árbol
2 500 – 8 000	Chile Jalapeño
2 500 – 5 000	Salsa Tabasco
1 000 – 1 500	Chile Poblano
08	Chile Dulce (Pimiento dulce, Chile Verde)

Fuente: (Peralta , 2007)

2.5.2. Acidez

La proporción entre azúcar y ácido provee a muchas frutas su sabor característico, además de ser un indicador de la madurez comercial y organoléptica. Al inicio del proceso de maduración esta proporción es baja debido al bajo contenido de azúcar y contenido alto de ácido del fruto (Crisosto, 2004)

Su utilidad radica en que sirve como indicativo de pureza y en ocasiones se puede concluir a partir de este resultado el nivel de degradación o tratamiento de la muestra. (Matissec et al., 2011)

2.5.3. Densidad

La densidad de una sustancia está definida como el cociente entre la masa y el volumen de la sustancia que se trate. Esta propiedad depende de la temperatura, por lo que al medir la densidad de una sustancia se debe considerar la temperatura a la cual se realiza la medición. Por otra parte, si se desea determinar con mayor precisión la densidad de una sustancia líquida es común utilizar un picnómetro, el cual es un instrumento sencillo cuya característica principal es la de mantener un volumen fijo al colocar diferentes líquidos en su interior. (Patiño & Valdes, 2010)

2.5.4. pH

Es la medida de la concentración que existe en una solución de acidez o de alcalinidad lo cual se manifiesta por la concentración de iones de hidronio (H_3O^+) o potenciales de hidrógenos presentes en determinadas sustancias. (Chile Martinez, 2016)

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. LUGAR DE EJECUCIÓN

La parte experimental se realizó en el Instituto de Investigación de Ingeniería Agroindustrial de la Universidad Nacional del Santa y en el Laboratorio de Diseño y Desarrollo de productos Agroindustriales.

3.2. MATERIAL DE ESTUDIO

Se utilizó jalapeños Verdes del Fundo San Pedro perteneciente a la empresa Gandules SAC.



Figura 8. Jalapeños verdes del Fundo San Pedro.

3.3. MATERIALES Y REACTIVOS

3.3.1. Equipos e Instrumentos

- Estufa.POL – EKO APRATURA, Modelo: SLW115
- Extractor Ultrasonido BRANSON, Modelo: CPX5800H-E
- Balanza Analítica PRECISA, Modelo: 321 LX

- Molino Universal IKA_WERKE, Modelo: M20 S000
- Balanza digital PRECISA, Modelo LX4200C
- Agitador orbital o agitador de rotación circular IKA, Modelo: MS3D
- Espectrofotómetro UV- Visible JASCO, Modelo V - 670
- Medidor de Multiparametros THERMO SCIENTIFIC, Modelo: VO3969
- Campana Desecadora
- Rota Vapor IKA, Modelo: RV 10
- Mufla BARNSTEAD THERMOLYNE, Modelo: FB 1410M
- Kjeldahl FOSS, Modelo: Kjeltec 8100
- Destilador Kjeldahl FOSS, Modelo: SR 210

3.3.2. Reactivos e Insumos

- Etanol Absoluto, Marca: Induquimica S.R.Ltda
- Acetonitrilo, Marca: Induquimica S.R.Ltda
- Agua destilada
- Metanol, Marca: Induquimica S.R.Ltda
- Capsaicinoides a 96 %, Marca: Omnicem
- Hidroxido de Sodio 0.1 N
- Fenolftaleina
- Ácido Sulfúrico
- Hidroxido de Sodio 40%
- Ácido clorhídrico 0.1 N
- Ácido bórico + rojo de metilo
- Éter de petróleo

3.3.3. Materiales de Laboratorio

- Tubos de Ensayo
- Fiolas de 5 y 100 ml
- Pipetas de 1, 5 y 10 ml
- Probetas de 50, 100 y 500 ml
- Bureta
- Crisoles
- Cocinilla
- Pinzas
- Matraz de 250 y 1000 ml
- Gradilla
- Micropipeta 100 ul y 1000 ul
- Puntillas
- Viales de cuarzo
- Espatula

3.3.4. Otros

- Cuchillo
- Recipientes de plástico
- Papel Aluminio
- Bolsas de polietileno
- Malla de aluminio
- Guantes
- Lentes

- Viales (10ml, 20 ml y 50 ml)
- Tapa boca
- Tijeras
- Cinta

3.4. METODOLOGÍA DE ESTUDIO

3.4.1. Métodos de análisis

A los desechos orgánicos se le realizaron los siguientes análisis fisicoquímicos:

3.4.1.1. Humedad

Mediante el método gravimétrico en estufa hasta obtener peso constante. Esto se realizó a 60 °C por 24 hr. (*CODEX ALIMENTARIUS AOAC 925.09*)

3.4.1.2. Cenizas

Mediante el método de incineración directa a una temperatura de 550 a 660 °C. AOAC 7009 (1995).

3.4.1.3. Proteínas

Mediante el método de incineración directa a una temperatura de 550 a 660 °C. AOAC 7009 (1995).

3.4.1.4. Grasas

Se determinaron por el método de extracción con solvente en equipo Soxhlet, según *Codex Alimentarius CAC/RM 55-1976 - Method 1*.

3.4.1.5. Carbohidratos

Se determinaron por el método del cálculo (*CODEX CAC/VOL IX-Ed.1*), el cual indica que el cálculo total de carbohidratos es la diferencia entre el 100%, menos el

porcentaje de humedad, menos el porcentaje de proteínas, menos porcentaje de cenizas, menos el porcentaje de grasas totales.

3.4.1.6. *Cuantificación de capsaicinoides*

El método utilizado en este trabajo se le realizaron diversas modificaciones, pero se tomó como referencia el método establecido por Lopez Martinez, (2000) donde trabajó con una solución patrón de capsaicina preparada de la siguiente forma: se pesaron 250 mg de capsaicina y se diluyeron en exactamente 25 mL de metanol. La solución se leyó en el espectrofotómetro UV, empleando blanco de disolvente, en un rango de 250 a 290 nm, con el fin de obtener el valor de máxima absorbancia. Una vez obtenida la longitud de onda de máxima absorbancia, se prepararon diluciones de capsaicina a las siguientes concentraciones: 0.1, 0.2, 0.3 y 0.4 mg/mL las cuales fueron leídas en el espectrofotómetro a la longitud de onda de máxima absorbancia, con el fin de obtener una curva de calibración. De los extractos se tomaron 5 mL de esta solución y se determinó su absorbancia en el espectrofotómetro UV, a la longitud de onda determinada previamente, tomando como blanco metanol. El valor de absorbancia obtenido se interpoló en la curva de calibración para calcular la cantidad de capsaicinoides presentes en cada una de las oleorresinas obtenidas.

Al extracto obtenido (oleorresina) se realizaron las siguientes características fisicoquímicas:

3.4.1.7. *Pungencia*

Para determinar el Valor de Pungencia en Unidades Scoville (SHU), en cada muestra es necesario multiplicar la concentración de Capsaicina presente (g/g) en

la muestra por el SHU del compuesto puro, al añadir este valor se obtiene un valor total de SHU. (Nuñez et al., 2003). En este sentido una ecuación referencial es:

$$\text{UPS} = [\text{Capsaicina (g/g)} \times (16.1 \cdot 10^6)]$$

3.4.1.8. Densidad

La determinación de la densidad se realizó usando un picnómetro.

Un picnómetro de vidrio es un pequeño frasco de vidrio de volumen exacto y conocido (V_p). *Método* (A.O.A.C 962.37, 95)

3.4.1.9. pH

El valor de pH es medido con un potenciómetro, de acuerdo a lo propuesto por la AOAC (1995). Para la determinación del pH se utilizó una relación 1:10 (harina: agua).

3.4.1.10. Acidez

La determinación del porcentaje de acidez se realizó mediante la técnica propuesta por la AOAC (1995).

3.4.2. Procedimiento

3.4.2.1. Acondicionamiento de materia Prima (desechos orgánicos) y preparación de muestra

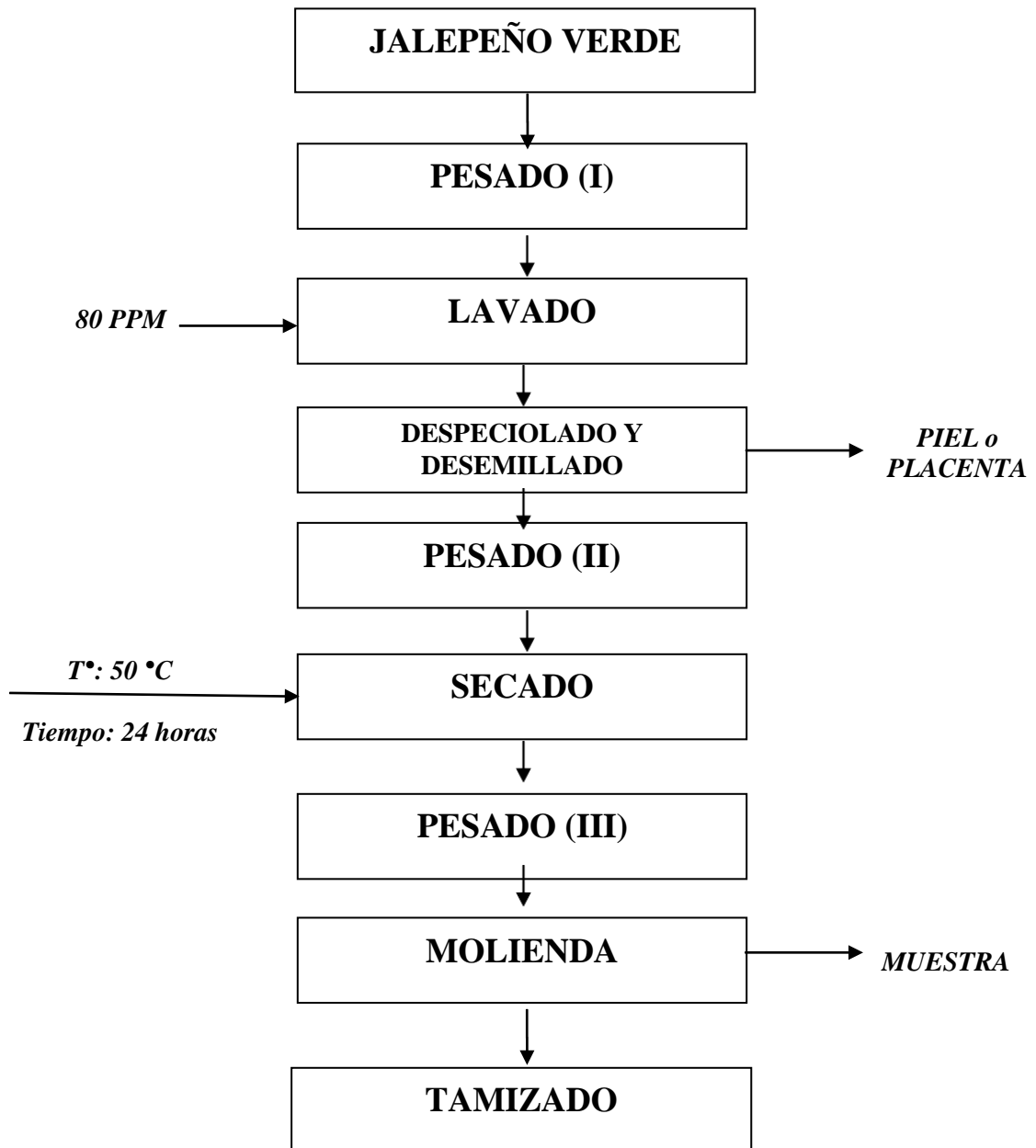


Figura 9. Descripción del proceso para el acondicionamiento de la Materia Prima.

A continuación, se detallan los pasos para el acondicionamiento de la Materia Prima.

- A. PESADO I. Para un mejor control del rendimiento se procedió a pesar la cantidad de jalapeños a muestrear.
- B. LAVADO. Se lavó a una concentración de 80 ppm (miligramos por litro) de cloro libre con la finalidad de eliminar cualquier tipo suciedad adherida a los jalapeños.
- C. DESPECIOLADO. El descorazonado y desemillado se realizó en forma manual mediante el empleo de cuchillos, haciendo un corte transversal en el jalapeño cuidando de no dañar el fruto.
- D. PESADO II. Se procedió a pesar las semillas y placenta extraídas de los jalapeños.
- E. SECADO. Se acondiciono las semillas y placenta en la estufa a una temperatura de 50 °C por 24 horas.

Posteriormente se llevaron las muestras a un desecador (conteniendo silicagel en la base) hasta que alcancen la temperatura ambiente para poder ser pesadas.
- F. PESADO (III). Se pesó con la finalidad de saber el rendimiento del proceso y en % los residuos generados en la simulación del proceso.
- G. MOLIENDA. Usando un molidor general se molieron las semillas y placentas secas.
- H. TAMIZADO. Se procedió a tamizar teniendo tres tamaños de partículas (0,425; 0,850; 1 mm) optando por un tamaño menor a 0.85 mm. Luego se empaquetaron en bolsas de polietileno y se procedió a pesar.

3.4.2.2. Extracción asistida por ultrasonido

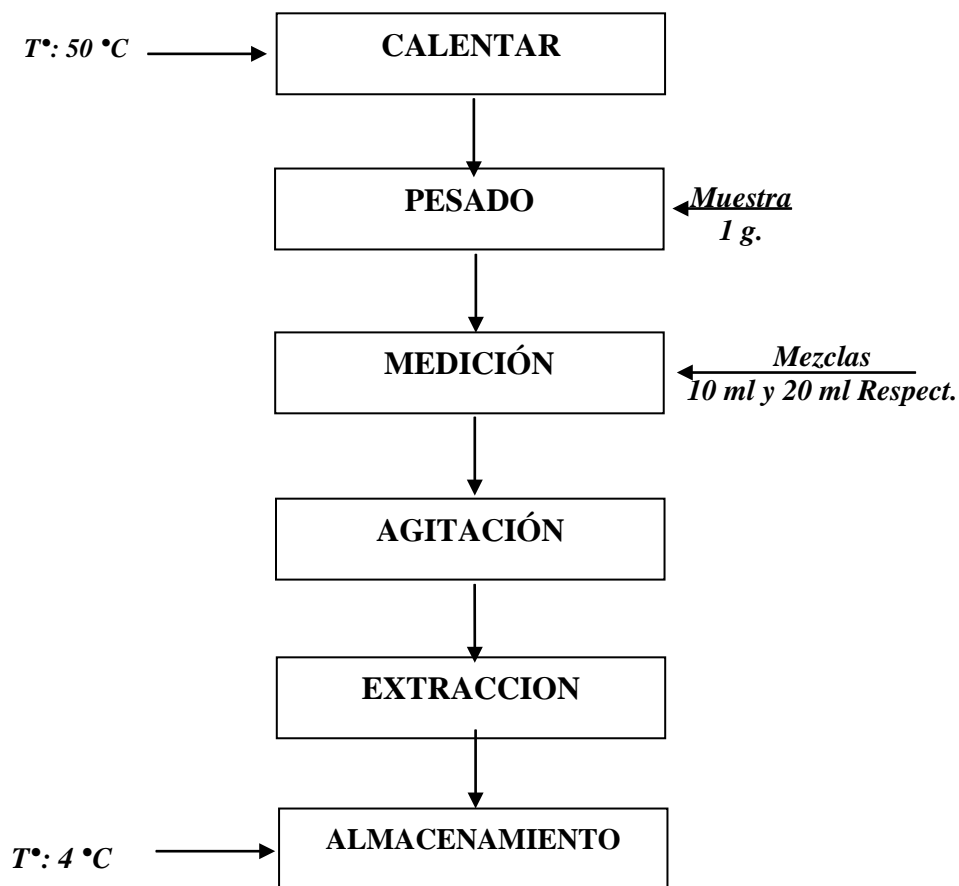


Figura 10. Descripción para la extracción asistida por ultrasonido de Capsaicinoides a partir de desechos orgánicos de jalapeño verde.

A continuación, se detallan los pasos para la extracción asistida por ultrasonido.

- A. CALENTAR. Al extractor se le agregó agua destilada, llevándolo a una temperatura de 50 °C.
- B. PESADO. En cada tubo previamente rotulado se pesó 1 g de muestra en la balanza analítica, para un mejor manejo se usó un sostén de tubos.

C. MEDICIÓN. Se realizó cinco mezclas en diferentes proporciones:

- M1 = Etanol 80 % y 20 % Acetonitrilo
- M2 = Etanol 60 % y 40 % Acetonitrilo
- M3 = Etanol 50 % y 50 % Acetonitrilo
- M4 = Etanol 40 % y 60 % Acetonitrilo
- M5 = Etanol 20 % y 80 % Acetonitrilo

Adicionalmente se analizaron los solventes puros por separado:

- M0 = Etanol 100%
- M6 = Acetonitrilo 100%

De acuerdo a la relación muestra: solvente, de cada mezcla se tomó 10 ml y 20 ml a cada tubo respectivamente.

D. AGITACION. Para los tubos que contenían 10 ml se agito por 20 seg. a 1000 rpm y para los de 20 ml se agito por 40 seg. a 600 rpm.

E. EXTRACCION. Se colocó los tubos en la rejilla de alambre, la cual se encuentra fija dentro del equipo extractor.

Los tubos fueron colocándose por grupos de acuerdo a los diferentes tiempos: 20, 25, 30, 35 y 40 min respectivamente.

F. ALMACENAMIENTO. Teniendo en cuenta que la capsaicina se encuentra en el solvente. Al culminar la extracción, se dejó reposar los tubos por 2 min para luego verter en los viales, previamente esterilizados y rotulados.

Se refrigeró a una temperatura 4°C hasta su análisis.

3.4.2.3. Determinación de la máxima longitud de onda y curva de calibrado del patrón de capsaicinoides.

Para la determinación de la máxima longitud de onda y la curva de calibrado se usó el espectrofotómetro UV – Visible.

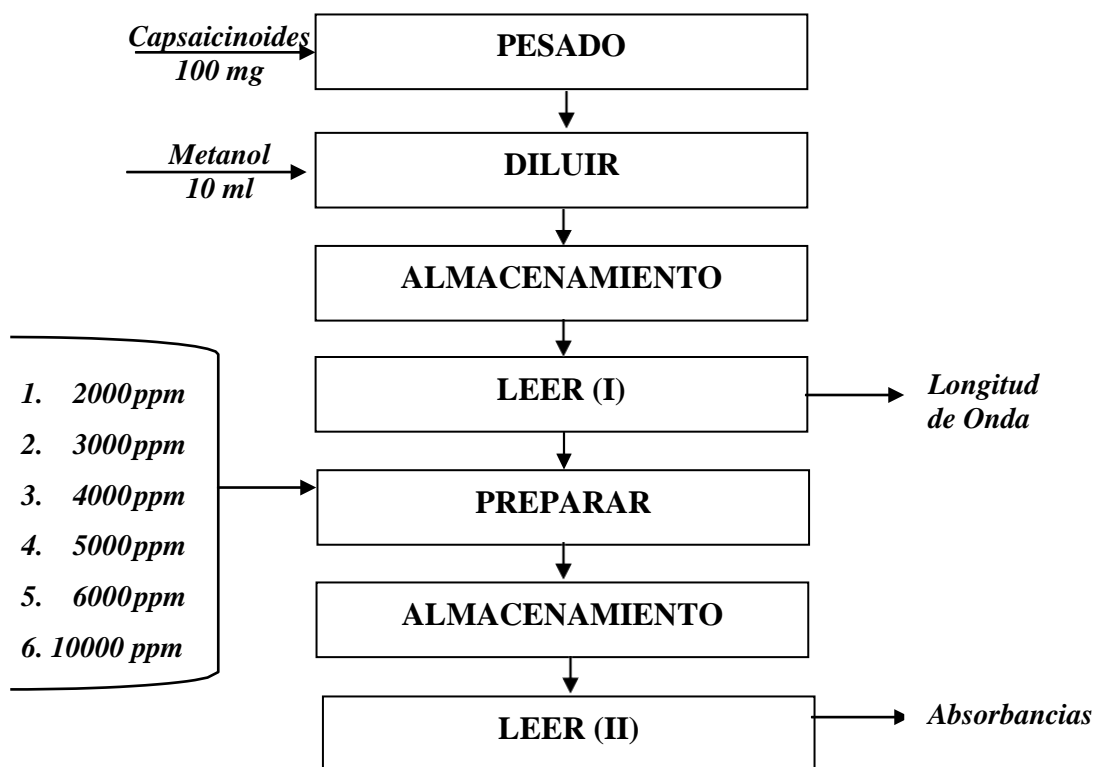


Figura 11. Diagrama para la determinación de la máxima longitud de onda del patrón de capsaicinoides.

A continuación, se detalla el proceso para la determinación de la máxima longitud de onda del patrón de capsaicinoides.

- A. PESADO. En un vial se pesó 100 mg del patrón de capsaicinoides.
- B. DILUIR. Se diluyó con 10 ml de metanol y se mezcló en el agitador orbital. A esta muestra se le denominó “Solución Madre”.
- C. ALMACENAMIENTO. Se almacenó a una temperatura de 4°C.
- D. LEER (I). Pasando las 24 horas se tomó 10 muestras de la solución madre y se leyó en el espectrofotómetro UV – vis, empleando el metanol como un blanco disolvente, en un rango de 230 nm a 300 nm, con el fin de obtener el valor de máxima absorbancia.
- E. PREPARAR. Se prepararon seis diluciones de capsaicinoides a diferentes concentraciones (ppm) usando como solución diluyente el metanol.

Tabla 8.
Equivalencias de las concentraciones de ppm a g/ml

CONCENTRACIONES	
2000 ppm	0.030 g/ 15 ml.
3000 ppm	0.045 g/ 15 ml.
4000 ppm	0.060 g/ 15 ml.
5000 ppm	0.075 g/ 15 ml.
6000 ppm	0.090 g/ 15 ml.
10000 ppm	0.150 g/ 15 ml.

- F. ALMACENAMIENTO. Las diluciones se almacenaron a 4 °C por 24 hr.

G. LEER (II). Pasando las 24 horas la solución se leyó en el espectrofotómetro UV – vis, empleando el metanol como un blanco disolvente, a una longitud de onda de 270 nm.

3.4.2.4. Determinación de la concentración de los extractos de capsaicinoides

Usando el espectrofotómetro Uv- Visible, se programó a una longitud de onda de 270 nm., se realizó un barrido previo a las muestras para calcular el factor de dilución más óptimo acorde a la curva de calibrado.

Las muestras se diluyeron usando el factor de dilución óptimo (1/25 y 1/50), empleando el metanol como blanco disolvente.

En total se leyeron 70 muestras con tres repeticiones cada una y se consideró tener un vial para cada mezcla de solventes.

3.4.3. Destilación del Extracto óptimo de capsaicinoides

Teniendo en cuenta el procedimiento de extracción de capsaicinoides asistida por ultrasonido, Fig. 09, adicionamos a eso el uso del Rota Vapor con el fin de separar los solventes de los capsaicinoides considerando los siguientes parámetros:

Tabla 9.
Parámetros para el proceso de destilación del extracto óptimo de capsaicinoides en rota vapor.

PARAMETROS	
Temperatura	60 °C
Presión	300 mBar
Revoluciones	50 rpm
Flujo del agua	114.3 l/h

3.4.4. Diseño Experimental

Los Diseños Factoriales Multinivel son usados para estudiar efectos con “q” factores cuantitativos. El usuario empieza especificando un rango de cobertura para cada factor el cual es variado y el número de diferentes niveles en los cuales se realiza el estudio. (STATGRAPHICS, 2006)

De acuerdo con este enfoque de investigación, la variable de tratamiento es aplicada, consecutivamente, a distintos niveles. Así, el investigador es capaz de identificar la posible relación funcional entre la variable de tratamiento y la de respuesta. (Bono Cabre et al., 2007)

El primer factor experimental considerado para este estudio son las proporciones (%) para los solventes y la mezcla de solventes.

Tabla 10.
Proporciones para la mezcla de solventes: etanol y acetonitrilo.

SOLVENTES	MEZCLAS (%)						
	M0	M1	M2	M3	M4	M5	M6
ETANOL	100	80	60	50	40	20	0
ACETONITRILO	0	20	40	50	60	80	100

El segundo factor experimental considerado para este estudio es la relación muestra: solvente. Las proporciones son de 1 g de muestra con 10 ml de solvente (01:10) y 1 g de muestra con 20 ml de solvente (01:20).

El tercer factor experimental es el tiempo sus niveles son tres: 20', 25", 30'. 35' y 40' min.

Tabla 11.

Interacciones entre los tiempos, mezcla de solventes y relación muestra: solvente para el método de extracción asistida por ultrasonido

TIEMPOS (min)	MEZCLAS (ml)	MUESTRA: SOLVENTE (g/ml)
20	M0	1:10
		1:20
	M1	1:10
		1:20
	M2	1:10
		1:20
	M3	1:10
		1:20
	M4	1:10
		1:20
	M5	1:10
		1:20
M6	1:10	
	1:20	
25	M0	1:10
		1:20
	M1	1:10
		1:20
	M2	1:10
		1:20
	M3	1:10
		1:20
	M4	1:10
		1:20
	M5	1:10
		1:20
M6	1:10	
	1:20	
30	M0	1:10
		1:20
	M1	1:10
		1:20
	M2	1:10
		1:20

TIEMPOS (min)	MEZCLAS (ml)	MUESTRA: SOLVENTE (g/ml)
	M3	1:10 1:20
	M4	1:10 1:20
	M5	1:10 1:20
	M6	1:10 1:20
	M0	1:10 1:20
	M1	1:10 1:20
	M2	1:10 1:20
35	M3	1:10 1:20
	M4	1:10 1:20
	M5	1:10 1:20
	M6	1:10 1:20
	M0	1:10 1:20
	M1	1:10 1:20
	M2	1:10 1:20
40	M3	1:10 1:20
	M4	1:10 1:20
	M5	1:10 1:20
	M6	1:10 1:20

3.4.5. Análisis Estadístico

El programa estadístico Statgraphics Centurión 16.0 fue utilizado para determinar los efectos de las variables independientes en la variable dependiente, calculando el análisis de varianza (ANOVA), grafica de efectos y optimización respuesta.

Tabla 12.
Valores asignados en el Programa Statgraphics de cada variable independiente con sus respectivos niveles

VARIABLES INDEPENDIENTES	NIVELES	UNIDADES	VALORES EN STATGRAPHICS
Mezcla	M0	ml	-1
	M1	ml	-0.66
	M2	ml	-0.33
	M3	ml	0
	M4	ml	0.66
	M5	ml	0.33
	M6	ml	1
Relación	1:10	g/ml	-1
Mezcla: Solvente	1:20	g/ml	1
Tiempo	20	min	-1
	25	min	-0.5
	30	min	0
	35	min	0.5
	40	min	1

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. INDICE DE MADUREZ DE LA MATERIA PRIMA

Los jalapeños verdes de la Empresa Gandules INC., según la investigación de Mendoza (2013), se encuentran en un estadio de madurez “0” indicando así una mayor cantidad de clorofila ya que se debe tener en cuenta que a medida que inicia el proceso de maduración se sintetizan otros pigmentos como los carotenoides.



Figura 12. Materia Prima (Jalapeño verde) del Fundo San Pedro pertenecientes a la empresa Gandules INC

4.2. RENDIMIENTO DE MATERIA PRIMA

Se procedió a seleccionar 5 kg de Ají Jalapeño entero fresco por muestreo aleatorio simple, teniendo como principal proceso para la obtención de desechos orgánicos el despeciado y desemillado.

Tabla 13.

Rendimientos de los procesos básicos para la obtención de desechos orgánicos.

RENDIMIENTO	CANTIDAD
DESECHOS ORGÁNICOS	14.17 % \pm 2.35
MOLIENDA	23.40% \pm 1.58
TAMAÑO DE PARTICULA	0.5 mm

En la Tabla N° 13 tenemos los rendimientos del proceso de despeciado y desmillado que es de 14.17 % \pm 2.35. Según Ubillus Perez (2014) obtuvo un rendimiento con respecto a las semillas de ají jalapeño verde de un 3%, la diferencia se debe a la parte del ají que se está tomando para este estudio, que son la placenta y semillas. Cervantes (2005) afirma que la placenta representa el 4% del jalapeño verde mientras que la semilla es el 56 %, sumando estos porcentajes tendríamos el 60% de ají provocando un aumento de desechos orgánicos es decir un rendimiento más alto.

Chinn et al., (2011) en su investigación trabajan con tres tipos de secado (fresco, liofilizado y secado al horno) y con tres tipos de solventes (etanol, acetonitrilo y acetona), en donde comparando con respecto a una mayor extracción de capsaicoides obtuvieron que la extracción de muestras frescas con etanol y acetonitrilo son 23-29% mayores que usando esos solventes en semillas liofilizadas y secadas al horno ($p < 0.05$). Además, se recuperó significativamente más capsaicina (39%) de las semillas secadas al horno que las semillas liofilizadas usando acetona ($p < 0.05$), aunque se extrajeron cantidades estadísticamente similares de preparaciones frescas y secadas al horno. Sin embargo, en promedio, más capsaicina se recuperó de preparaciones secadas al horno y que de preparaciones frescas.

En este estudio se realizó un secado al horno el cual se realizó en una estufa a 50°C por 24h. Previo a la molienda obteniéndose un rendimiento de 23.40% \pm 1.58 con respecto a los desechos orgánicos (semillas y placenta). Cabe resaltar que a partir de un buen secado se obtiene un mejor rendimiento ya que la muestra debe tener la menor cantidad posible de agua y así se pueda realizar una mejor molienda.

Las partículas se clasificaron en un rango de 0,3 a 1 mm de tamaño con la finalidad de mejorar el rendimiento. Nagy y Simandi (2008) para evaluar este efecto sobre el rendimiento de extracción ellos concluyen que a un diámetro aproximado de 1.5 mm la eficiencia de extracción es de 40% pero a un diámetro menor aproximado de 200 μm ., la eficiencia de extracción es de 90% demostrando que a un menor diámetro el rendimiento se incrementa.

Mirofci (2014) y Martínez (2007) reportan que la extracción depende mucho de las características del equipo de extracción y de la matriz vegetal, ya que un tamaño de partícula $< 0,425$ mm tiene las características de harina y puede obstruir algunos conductos del extractor y podría disminuir el rendimiento de extracción o se formarían aglomeraciones de partículas y que no permitirían una buena difusividad del solvente y soluto.

Al respecto Fernández, J. (2007) indica que el procedimiento de triturado o molienda, permite obtener una muestra homogénea y con una elevada superficie de contacto para que el disolvente que se utilice pueda tener una mayor accesibilidad, por ello el tamaño de las partículas de la muestra no debe ser mayor de 1mm de diámetro.

Es por esto que el tamaño de partícula utilizado fue de 0.5 mm, ya que las partículas al ser más pequeñas pueden provocar un déficit con el equipo

de molienda y a su vez disminuir su rendimiento, es por esto que el tamaño utilizado al que llegamos nos permitió trabajar satisfactoriamente al momento de la extracción.

4.3. ANALISIS PROXIMAL DE LA MATERIA PRIMA

En la tabla N° 14 se detalla los resultados de los análisis fisicoquímicos realizados a los desechos orgánicos (semillas y placenta).

Tabla 14.
Análisis proximal de los desechos orgánicos del jalapeño verde

ANALISIS	UNIDAD	CANTIDAD
Humedad	%	76.64 ± 0.55
Cenizas	%	3.74 ± 0.38
Proteínas	%	5.18 ± 0.43
Grasas	%	6.00 ± 0.67
Carbohidratos + Fibras	%	8.44 ± 0.52

La humedad de los desechos orgánicos es de 76.64% ± 0.55, comparando este dato con Ubillius Perez (2014), en su investigación con semillas de jalapeño verde donde obtuvo un valor de 81.58% de humedad, se puede decir que la diferencia se debe a que según Badui (2006), el porcentaje de humedad de los chiles con respecto al tiempo de almacenamiento tiene una tendencia decreciente; pudiéndose atribuir esto, a que existe una mayor permeabilidad de las membranas conforme pasa el tiempo, haciéndolos más sensibles a la pérdida de agua. Esto indica que los jalapeños verdes de la empresa Gandules INC., tenían mayor tiempo de almacenamiento en el Área de Recepción. Comparándolos con otros tipos de ajíes, según Mejia Yañez (2013), en donde trabaja con tres variedades de ají el rocoto fresco (*Capsicum pubescens R&P*) el cual presenta el mayor porcentaje de

humedad con un 83,95% debido a su estructura voluminosa. El ají ratón fresco (*Capsicum chinense Jacq.*) el cual presenta el menor porcentaje de humedad con 69,85 % y el ají dulce fresco (*capsicum annum*) un 89.6%. Además, hay que tener en cuenta que la humedad depende mucho de la estructura del ají con la que se está trabajando, en este caso las venas del ají jalapeño son más porosas por lo tanto van a perder mayor cantidad de humedad durante el secado. Se concluye que nuestra materia prima mientras menor cantidad de humedad presenta, nos facilitará para el proceso de molienda y por lo tanto se obtendrá un mejor rendimiento.

En el caso de la cantidad de cenizas son las que representan el contenido total de minerales en los alimentos. Según la Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 2532:2010 referente a los requisitos de especias y condimentos establece 8.5% como valor máximo de cenizas totales para el ají. Se tiene en cuenta que el ají jalapeño tiene minerales como azufre, calcio, hierro, magnesio, potasio, sodio, magnesio, y yodo. En este estudio el porcentaje de cenizas fue de 3.74 % \pm 0.38, valor que se encuentra bajo el límite permitido, ya que hay compuestos carbonados y no carbonados que al reaccionar con el oxígeno y la temperatura son volatilizados.

Con respecto a las proteínas, el aporte proteico de los jalapeños es bajo, en esta investigación se obtuvo un dato de 5.18% \pm 0.43. Según (INCAP, 2012) con respecto al jalapeño verde entero fresco se obtuvo 1.20%, aquí se puede ver una gran diferencia, esto tiene relación con el tipo de cultivo, de siembra del ají y el estadio de madurez.

En el caso de las grasas se obtuvo 6% \pm 0.67, Ubillius Perez (2014), obtuvo 5.55% como dato de grasas, la diferencia no es grande, pero esto se debe al

solvente utilizado para la extracción (éter de petróleo, hexano o éter etílico), en esta investigación se utilizó éter de petróleo el cual en comparación del hexano, este es un solvente fiscalizado y es mayormente utilizado ya que es más barato que el éter de petróleo quien tiene un menor punto de ebullición (35°C- 38°C) , por lo cual se volatiliza más rápido y va a extraer mayor cantidad de grasa, así mismo se tiene en cuenta que en los vegetales el aporte de grasa es mínimo.

Seguido de los carbohidratos más fibra, se obtuvo $8.44\% \pm 0.52$. Ubillus Perez (2014), en su investigación con semillas de ají jalapeño obtuvo 4.94% de carbohidratos, en donde se puede ver una diferencia. Con respecto a los carbohidratos se obtienen en mayor proporción con respecto a las otras características ya que el ají jalapeño es una hortaliza con un alto contenido de carbohidratos y una buena fuente de fibra dietética.

4.4. EXTRACCIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE CAPSAICINOIDES

4.4.1. Extracción mediante el método asistido por ultrasonido

Se realizaron las extracciones de las 70 muestras usando el extractor de ultrasonido por duplicado, a una temperatura estándar de 50 °C.



Figura 13. Vista del equipo de extracción asistida por ultrasonido, con muestras de desechos jalapeño verde, sometidos a diferentes variables.

4.4.2. Cuantificación por espectrofotometría de capsaicinoides

4.4.2.1. Modificaciones del método de cuantificación de capsaicinoides

Se realizaron dos modificaciones, la primera es que el patrón utilizado por López (2000), fue capsaicina pura y para esta investigación se optó por usar este patrón ya que nuestra investigación se basa en la extracción y caracterización de capsaicinoides, el cual está compuesta por capsaicina en 65.47 %, dihidrocapsaicina en 30.99% y nordihidrocapsaicina al 3.50 %, haciendo un total de 96.25 %.

La segunda modificación son las diluciones de capsaicinoides utilizadas para la curva de calibrado, López (2000), nos dice que a partir de los 100 ppm de concentración de capsaicina se leen las absorbancias en el

espectrofotómetro, sin embargo, para este tipo de patrón se pudo leer las absorbancias a partir de los 2000 ppm de concentración de capsaicinoides.

4422 *Concentración de capsaicinoides en extractos*

La utilización de la absorbancia al realizar los espectros tiene la ventaja de ser directamente proporcional a la concentración de moléculas en la muestra (Leary, 2005) por lo cual la determinación e identificación de capsaicinoides se realizó mediante el método espectrofotométrico Uv- Visible donde el equipo nos muestra la absorbancia de los extractos.

Las lecturas de absorbancia fueron incluidas en la curva de calibrado de capsaicinoides por lo cual el equipo nos reportó la concentración de cada extracto.

En total se tuvo 70 extractos y se leyó por triplicado respectivamente, teniendo un total de 210 tratamientos.

Para el análisis de la concentración de capsaicinoides en todos los extractos se realizó el promedio de los datos analizados por triplicado, estos datos se muestran en la tabla N° 15.

Tabla 15.

Datos promedio de la concentración de capsaicinoides (mg/g) de todos los extractos.

MUESTRA: SOLVENTE (g/ml)	TIEMPO (min)	MEZCLA (ml)	CONC. DE CAPSAICINOIDES (mg/g)		
1:10	20	M0	1.29	±	0.12
		M1	2.43	±	0.18
		M2	1.91	±	0.2
		M3	1.23	±	0.1
		M4	1.47	±	0.11
		M5	1.13	±	0.02
	25	M6	0.49	±	0.01
		M0	1.65	±	0.06
		M1	2.87	±	0.18
		M2	2.3	±	0.18
		M3	1.38	±	0.12
		M4	1.57	±	0.2
	30	M5	1	±	0.07
		M6	0.54	±	0.09
		M0	1.82	±	0.19
		M1	4.39	±	0.18
		M2	2.73	±	0.21
		M3	1.62	±	0.04
	35	M4	1.71	±	0.08
		M5	1.03	±	0.07
		M6	0.67	±	0.08
		M0	1.61	±	0.16
		M1	3.5	±	0.1
		M2	1.82	±	0.13
40	M3	1.58	±	0.13	
	M4	1.25	±	0.1	
	M5	0.88	±	0.11	
	M6	0.53	±	0.03	
	M0	1.39	±	0.16	
	M1	2.11	±	0.13	
40	M2	1.52	±	0.2	
	M3	1.31	±	0.14	
	M4	0.92	±	0.03	
	M5	0.74	±	0.13	

MUESTRA: SOLVENTE (g/ml)	TIEMPO (min)	MEZCLA (ml)	CONC. DE CAPSAICINOIDES (mg/g)		
1:20	20	M6	0.5	±	0.06
		M0	0.71	±	0.18
		M1	1.71	±	0.04
		M2	1.65	±	0.12
		M3	1.13	±	0.16
		M4	1.28	±	0.15
		M5	0.98	±	0.02
	25	M6	0.45	±	0.05
		M0	0.98	±	0.14
		M1	2.26	±	0.31
		M2	1.93	±	0.06
		M3	1.18	±	0.09
		M4	1.33	±	0.07
		M5	0.91	±	0.1
	30	M6	0.59	±	0.01
		M0	1.02	±	0.08
		M1	2.51	±	0.4
		M2	2.11	±	0.26
		M3	1.4	±	0.34
		M4	1.12	±	0.38
		M5	0.78	±	0.1
	35	M6	0.56	±	0.02
		M0	1.22	±	0.11
		M1	1.54	±	0.21
M2		1.67	±	0.21	
M3		1.44	±	0.19	
M4		1.05	±	0.09	
M5		0.67	±	0.15	
40	M6	0.47	±	0.08	
	M0	0.98	±	0.22	
	M1	1.23	±	0.14	
	M2	1.21	±	0.09	
	M3	1.06	±	0.11	
	M4	0.82	±	0.05	
	M5	0.47	±	0.1	
M6	0.41	±	0.02		

*± Desviación estándar

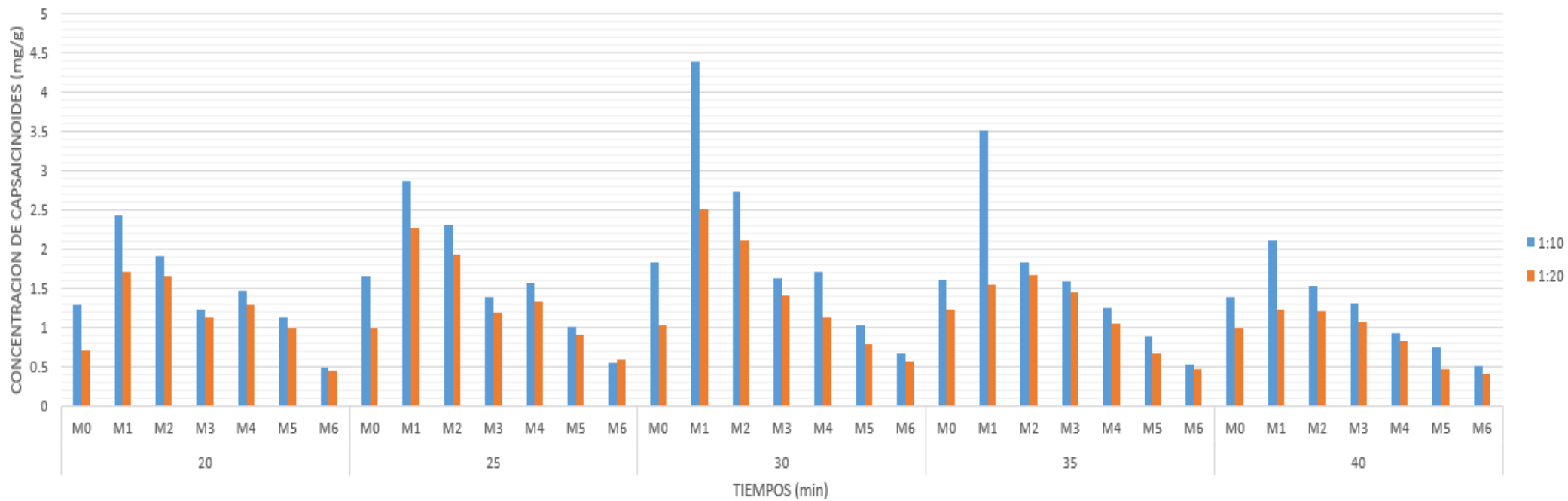


Figura 14. Grafica comparativa de tiempos y mezclas con respecto a la relación 01:10 y 01:20.

4.4.2.3. Efecto del tiempo con respecto a la concentración de capsaicinoides

Uno de los parámetros operacionales que influyen en la extracción asistida por ultrasonido es el tiempo, En la Fig. 14 se analizaron los tiempos de 20 a 40 min en los dos solventes puros (etanol y acetonitrilo) y la mezclas de estos, teniendo como resultado que la tendencia del tiempo con respecto a la concentración de capsacinoideas es de manera ascendente para los tiempos de 20 y 25 min hasta llegar a un tiempo de 30 min, para luego descender hasta el ultimo tiempo evaluado que es de 40 min. Diversas referencias bibliograficas nos mencionan la importancia de este factor para la extracción, así mismo encontramos que Barbero et al., (2008) dice que no existe diferencias significativas en tiempo de 5 hasta 25 min, pero considera que un tiempo adecuado para este tipo de extracción en muestras frescas de pimiento sea entre 10 y 20 min. Boonkir & Phisalaphong, (2008) en su investigación con *Capsicum frutescens* dice que la recuperación de capsaicinoides aumentó gradualmente con el tiempo de extracción, teniendo como máximo un tiempo de 3h y recupero el 84.3 % de capsaicinoides. Yu et al.,(2015) optimizaron las condiciones de extracción asistida por ultrasonido de las capsaicinas de Yugan pimienta utilizando ultrasonido el tiempo óptimo de extracción fue de 25 minutos. Vinotoru, (2001) afirma que el aumento de la eficiencia de extracción con el tiempo de sonicación, se obtiene hasta que se alcanza un equilibrio, tiempos mayores al óptimo producen una reducción en las recuperaciones obtenidas, probablemente por la degradación del compuesto o por la descomposición del solvente orgánico causada por las ondas del ultrasonido. Esto último explica lo

ocurrido en la esta investigación que al llegar a un tiempo mayor a 30 min ya no haya más que extraer y la tendencia de la concentración de capsaicinoides decaiga.

Se puede decir que el tiempo de extracción también depende del tipo de ají y puede estar influenciada a su vez por diversos factores como condiciones climáticas, áreas de producción y directamente el índice de maduración, (Marincas et al., 2017) alterando la composición con respecto a la concentración de capsaicina.

4.4.2.4 Efecto de los solventes con respecto a la concentración de capsaicinoides.

Como regla general, puede decirse que un buen solvente de extracción de capsaicinoides será aquel que posea los mismos grupos funcionales que éstos, y que además tenga una polaridad similar, es decir, el mismo balance entre grupos polares y no polares en su estructura. (Martínez Guzmán, 2007)

La mayoría de estudios bibliográficos utilizan como solvente orgánico de extracción el etanol.

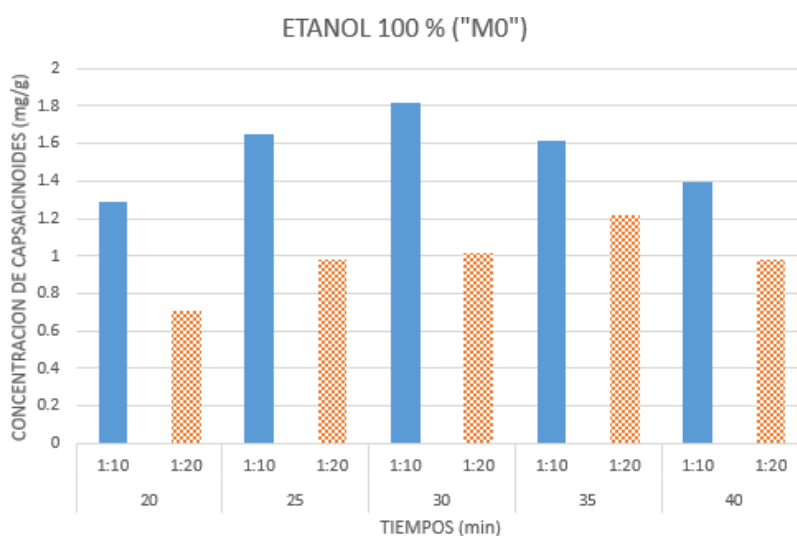


Figura 15. Grafica comparativa de la muestra: solvente y los tiempos de extracción con etanol 100% (MO)

En este estudio utilizamos 100% etanol absoluto (M0), En la Fig. N° 15 observamos que la mayor concentración de capsaicinoides a un tiempo de 30 min es de $1.82 \text{ mg/g} \pm 0.19$ y el menor es $0.98 \text{ mg/g} \pm 0.22$ en un tiempo de 20 min.

Barbero et al., (2005) en su investigación compara la extracción de capsaicina con dos tipos de solventes (metanol y etanol) teniendo como resultado que el etanol extrae en menor cantidad la capsaicinoides. De la Cruz (2011) en su investigación sobre el chile blanco (*Capsicum annuum* A.) dice que la tendencia creciente en el porcentaje de rendimiento al disminuir la cantidad de alcohol etílico en la solución, se debió a que la capacidad extractiva de compuestos polares e hidrofílicos aumenta para constantes dieléctricas altas, siendo la solución al 45% de concentración de alcohol etílico la que cumplió con esta condición en comparación a las concentraciones del 70% y 95%.

Boonkir & Phisalaphong, (2008) nos dice que el etanol ha sido generalmente considerado como un disolvente menos eficiente en comparación con la acetona debido a su mayor viscosidad y menor difusividad. Sin embargo, bajo ultrasonidos, La acetona es menos efectiva que el alcohol. En este estudio, el rendimiento de los EAU aumentó relativamente cuando se utilizó etanol del 75 al 95% (v / v) como disolvente en comparación con la acetona. Dado que la presión de vapor de la acetona era mucho más alta que el etanol y el agua, se obtuvieron más burbujas, pero se logró un colapso ineficiente, especialmente a las temperaturas empleadas.

Por lo tanto, existen teorías donde se plantea que el mecanismo de acción del etanol no es debido únicamente a su grado de hidrofobidad si no a la porción hidrofílica de este, teniendo afinidad con la estructura molecular de los capsaicinoides, de esta manera cumple uno de los requisitos que debe tener un solvente, la solubilidad del solvente en la muestra tiene relación con el valor de la polaridad o no polaridad ya que lo similar disuelve a lo similar.

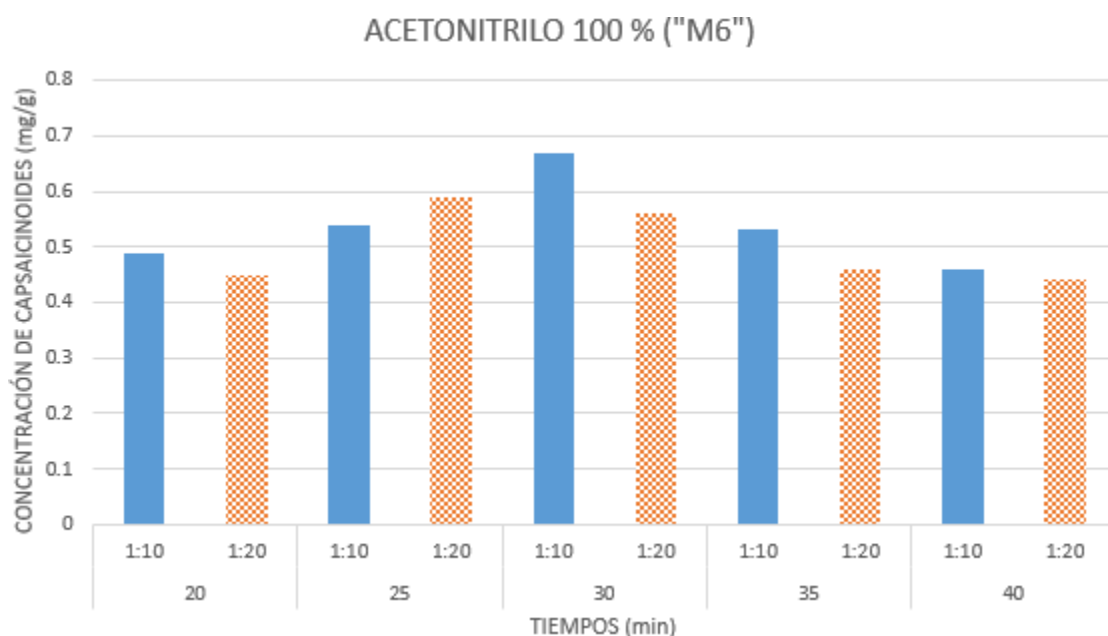


Figura 16. Grafica comparativa de la muestra: solvente y los tiempos de extracción con acetonitrilo 100% (M6)

En este estudio utilizamos 100% acetonitrilo (M6), En la Fig., N° 16 nos dice que la mayor concentración de capsaicinoides a un tiempo de 30 min de 0.67 ± 0.08 y una concentración menor de 0.41 ± 0.02 mg/g en un tiempo de 40 min.

Mari S et al., (2011). En su investigación sobre solventes de extracción en donde utilizan etanol, acetona y acetonitrilo en el análisis de semillas,

conchas, por congelación y secado al horno y tiempo en la recuperación de capsaicinoides (capsaicina y dihidrocapsaicina), se obtuvieron mayores rendimientos de capsacinoides a partir de pimientos secados en horno utilizando acetona como disolvente sin embargo para las semillas frescas la recuperación de capsaicina utilizando acetonitrilo y etanol fue 27% mayor que la recuperación utilizando acetona.

Barbero et al., (2008) nos dice que el acetonitrilo es un disolvente bastante eficaz para extraer los capsaicinoides presentes en las muestras de chiles, pero es menos eficaz que el etanol y el metanol,

El acetonitrilo tiene una mayor eficiencia de extracción de dihidrocapsaicina en comparación con el etanol y acetona durante la extracción de pimientos frescos.

El acetonitrilo tiene un índice de polaridad 5.8 y el etanol 4.3. Los capsaicinoides en su estructura química presenta una cadena hidrocarbonada y un grupo hidroxilo, la cadena hidrocarbonada tiene mayor peso molecular e interacciones hidrofobas que son en general bastante débiles pero muy numerosas y para eluir estas moléculas es casi siempre necesario disminuir la polaridad del disolvente, es por esto que el acetonitrilo al ser más polar que el etanol, no cumple con una mejor eficiencia de extracción.

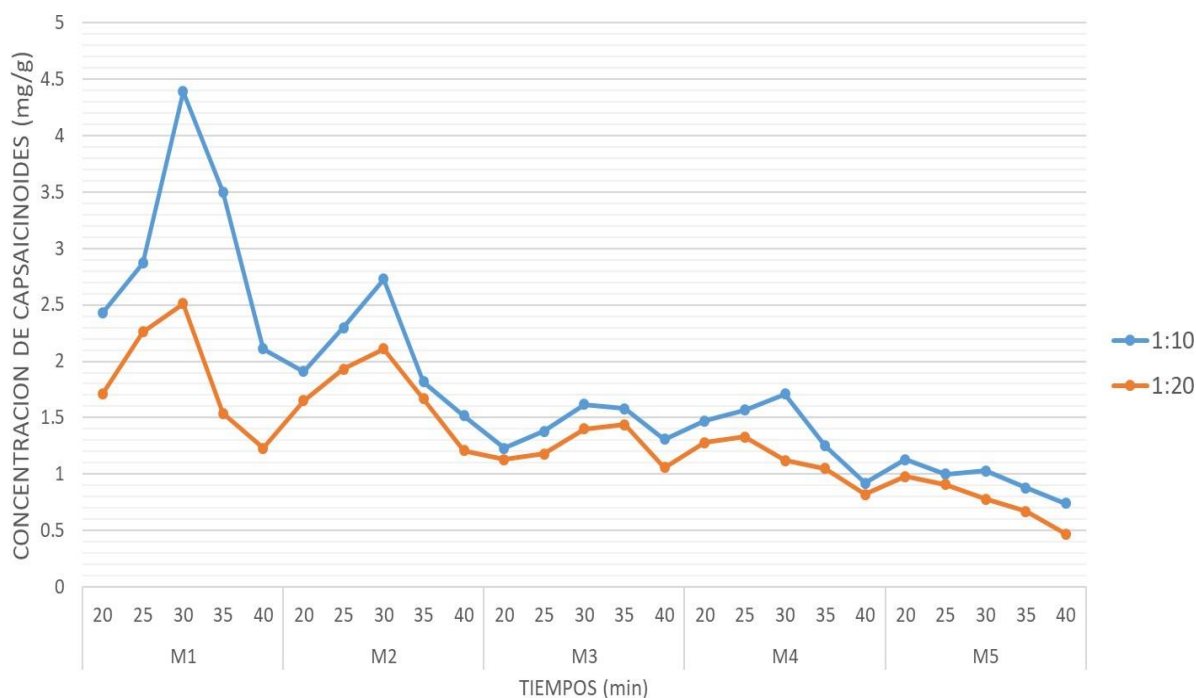


Figura 17. Grafica comparativa de tiempos y mezclas con respecto a la relación 01:20

Esta investigación ha sido ejecutada con el fin de innovar y dejar como precedente para nuevos estudios futuros, es por esto se decidió realizar mezclas de los solventes: etanol y acetonitrilo a diferentes proporciones, como una nueva opción de solvente de extracción.

La mezcla con mayor cuantificación de capsaicinoides es la “M1” la cual está compuesta por 80 % de etanol y 20 % de acetonitrilo esto se debe a que el etanol al ser un solvente orgánico, por su parte hidrocarbonada le permite hacer disoluciones con algunos compuestos apolares mientras que su terminación hidroxilo le permite ser polar y el acetonitrilo es un solvente orgánico polar el cual permite extraer en mayor cantidad moléculas hidrofílicas es decir al unir sus cadenas moleculares con las del etanol en mayor proporción se forma una mezcla miscible lo cual nos permite una mayor extracción de capsaicinoides.

Siendo la mayor concentración de capsaicinoides de $4.39 \text{ mg/g} \pm 0.18$.

Morales Bermudez (2011), Nos dice que el solvente debe ser elegido tomando en cuenta la polaridad y solubilidad del compuesto que debe ser extraído, Boonkir & Phisalaphong, (2008) los capsaicinoides son compuestos completos que tienen presencia de un grupo almina lipofílico y son ligeramente polares (Trujillo, 2011) en su estructura química se tiene en cuenta que su cadena carbonada es insaturada, la región de la cabeza con el grupo funcional carboxilo determina la afinidad por solventes polares y la cadena carbonada contrarresta este efecto disminuyendo la solubilidad en agua o solventes muy polares (Bagnato, 2013). A su vez según Gavilan Guillen (2016), la nordihidrocapsaicina es ligeramente más polar que la capsaicina y dihidrocapsaicina.

En el caso de la “M3” 50% etanol y 50% acetonitrilo, la “M2” conformada por 60% etanol y 40% acetonitrilo y “M4” conformada por 40% etanol y 60% acetonitrilo no extraen en mayor cantidad ya que los milimoles no se han equilibrado y por lo tanto no hay una reacción química al ser solo volúmenes.

Además, hay que tener en cuenta que para mejorar la solubilidad de los compuestos formados por aminoácidos muy apolares se le añade al solvente 10 a 20% de acetonitrilo, comprobando así nuestra relación muestra: solvente óptima.

4425. Efecto de la relación muestra: solvente con respecto a la concentración de capsaicinoides

Con el fin de incrementar la eficiencia de la extracción asistida por ultrasonido de capsaicinoides se estudió la relación entre la cantidad de muestra: solvente o masa: volumen.

Al observar la Fig. N° 14 se tiene que la relación 01:10 es en donde se obtiene la mayor concentración de capsaicinoides y es la que más se adecua para este tipo de extracción. Este criterio se asocia con la cantidad de muestra, en el caso de la extracción se sabe que al reducir el tamaño de las partículas del material vegetal se aumenta el área de exposición al solvente y a la cavitación producida la cual rompe las paredes celulares y facilita la liberación de los componentes del citoplasma, teniendo en cuenta esto se utilizó un tamaño de partícula < 1 mm. Además, el ultrasonido ayuda en la rehidratación del tejido si se está utilizando materia seca ya que abre los poros, lo cual incrementa el transporte de masa de los constituyentes solubles. (Vinotoru, 2001).

Boonkir & Phisalaphong (2008) en su investigación con capsicum frutens nos dice que la cantidad de disolvente no se consideró rentable debido al alto costo operativo de disolventes y consumo energético. Por consiguiente, la relación del peso seco de chile en polvo al 95% (v / v) el etanol fue seleccionado a 1: 5.

Barbero et al., (2005) observó que la cantidad de muestra no es un parámetro relevante. Así pues, se decidió emplear 1 gramo al ser una cantidad de muestra que produce picos cromatográficos de área suficiente para permitir integraciones fiables, pero evaluó el efecto del volumen del

disolvente de extracción de 15 a 50 ml, siendo no significativo porque a partir de 15 ml ya obtienen concentraciones de capsaicinoides en similar cantidad que a una cantidad de 25 ml.

Bajo este antecedente se utilizó 1 gr de muestra, pero al ser el volumen no significativo se usó 10 ml o 20 ml por el tema de los costos de los reactivos y nuestra investigación afirma que solo con 10 ml de solvente se extrae la mayor cantidad de capsaicinoides.

4.5. ANÁLISIS DE RESULTADOS ESTADÍSTICOS

4.5.1. Análisis de Varianza

El análisis de varianza prueba la significancia estadística para cada efecto comparando su cuadrado medio contra un estimado del error experimental. A continuación, se muestra el análisis de varianza para la Concentración de capsaicinoides y para cada uno de los efectos e interacciones entre estos.

Tabla 16.

Análisis de Varianza para concentración de capsaicinoides con un diseño factorial multinivel.

FUENTE	SUMA DE CUADRADOS	GL	CUADRADO MEDIO	RAZÓN-F	VALOR-P
A:MEZCLAS	13.1286	1	13.1286	42.56	0.0000
B:TIEMPO	0.416926	1	0.416926	1.35	0.2495
C:muestra:solvente	2.82405	1	2.82405	9.15	0.0036
AB	0.0369687	1	0.0369687	0.12	0.7304
AC	1.20258	1	1.20258	3.90	0.0528
BC	0.0165029	1	0.0165029	0.05	0.8179
ABC	0.0000944653	1	0.0000944653	0.00	0.9861
Error total	19.1269	62	0.308498		
Total (corr.)	36.7525	69			

R-cuadrada = 78.3303 %

R-cuadrada (ajustada por g.l.) = 72.3109 %

En este caso, 2 efectos que son la variable A: Mezclas, C: Muestra: Solvente tienen un valor-P menor que 0.05, indicando que son significativamente diferentes con un nivel de confianza del 95.0%.

- La variable mezcla "A" al tener una diferencia significativa nos indica que se rechaza la hipótesis nula y afirma la variabilidad de los datos entre las mezclas ($M0 \neq M1 \neq M2 \neq M3 \neq M4 \neq M5 \neq M6$)
- La variable muestra: solvente "C" al tener una diferencia estadísticamente significativa nos indica que se rechaza la hipótesis nula y se afirma la versatilidad de los datos entre la relación 1:10 y 1:20.

El estadístico R-Cuadrada indica que el modelo, así ajustado, explica 78.3303 % de la variabilidad en Concentración de Capsaicinoides. El estadístico R-cuadrada ajustada, que es más adecuado para comparar modelos con diferente número de variables independientes, es 72.3109%.

Por lo tanto, a las variables significativas Mezcla y muestra: solvente se le aplicó la prueba de Tukey, método empleado actualmente para discriminar cuáles medias son significativamente diferentes de otras.

Tabla 17.
Pruebas de múltiples rangos para la concentración de capsaicinoides por la variable Mezcla

MEZCLAS	CASOS	MEDIA LS	SIGMA LS	GRUPOS HOMOGÉNEOS
M6	10	0.521	0.105144	X
M4	10	0.859	0.105144	X X
M5	10	1.252	0.105144	X
M0	10	1.267	0.105144	X
M3	10	1.333	0.105144	X
M2	10	1.885	0.105144	X
M1	10	2.455	0.105144	X

En la tabla N° 17 observamos que entre las Mezclas “M0 (100 % etanol) y el “M3” (50% etanol y 50% acetonitrilo) presentan una homogeneidad en los datos y no existen diferencias estadísticamente significativas.

Entre las mezclas “M6” (100 % acetonitrilo) y el “M4” (40 % etanol y 60 % acetonitrilo) no existe diferencias estadísticamente significativas, así mismo el “M4” en comparación con el “M5” (20 % etanol y 80 % acetonitrilo) afirman semejanza entre sus datos, esto se debe al bajo poder de extracción del acetonitrilo a mayores volúmenes en comparación con el etanol.

Tabla 18.

Pruebas de múltiples rangos para la concentración de capsaicinoides por la variable Muestra: Solvente

<i>MUESTRA:SOLE</i>	<i>CASOS</i>	<i>MEDIA LS</i>	<i>SIGMA LS</i>	<i>GRUPOS</i>
<i>VENTE</i>				<i>HOMOGÉNEOS</i>
1:10	35	1.16657	0.0562017	X
1:20	35	1.56829	0.0562017	X

En la tabla N° 18 se observa que entre la relación muestra: Solvente “1:10” y “1:20” no existe la homogeneidad en sus datos con respecto a la concentración de capsaicinoides.

4.5.2. Efectos Principales.

Los estimados de la concentración de capsaicinoides como una función de cada factor experimental pueden observarse en el gráfico de efectos principales, a medida que la pendiente sea mayor, el efecto influye mucho mayor sobre la variable de respuesta.

En este caso vemos que la variable muestra: solvente y mezclas tienen mayor pendiente.

La variable mezcla influye fuertemente en la concentración de capsaicinoides alcanzando su punto máximo con la mezcla compuesta por 80 % etanol y 20 % acetonitrilo ($M1 = - 0.66$) para luego empezar a descender a medida que se llega al último tratamiento conformado por 100 % Acetonitrilo ($M6 = 1$) que es su valor mínimo.

La relación muestra: solvente influye en la concentración de capsaicinoides, tiene como valor mínimo a una relación 1:20(1) y como máxima 1:10(-1) es decir, con un cambio con respecto a los ml de solvente hay una menor

eficiencia en la concentración de capsaicinoides y esto se reafirma con las referencias bibliográficas donde es necesario que entre el peso de muestra y los mililitros de solvente halla una relación directamente proporcional.

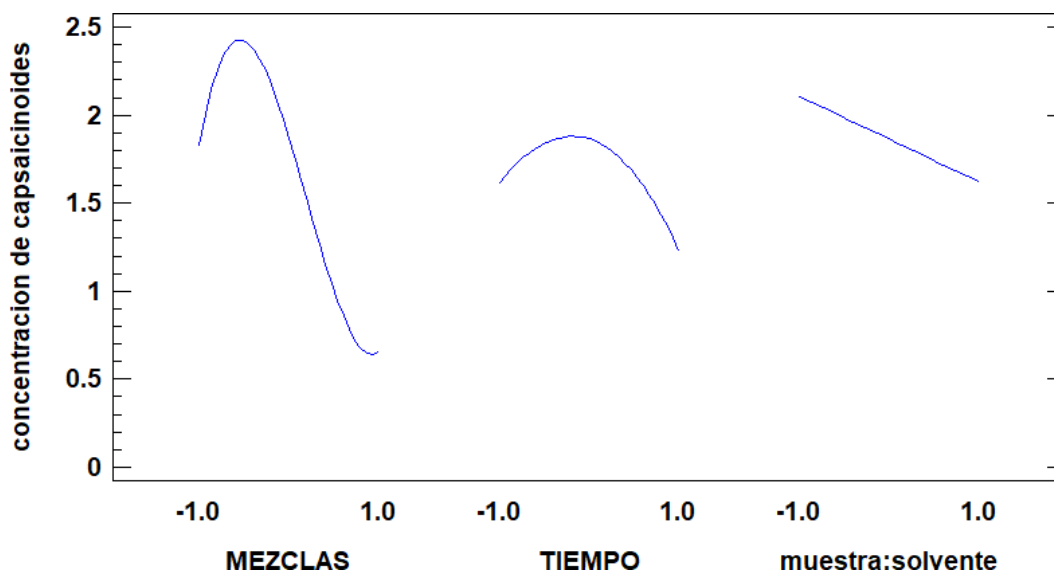


Figura 18. Grafica de efectos principales para concentración de capsaicinoides.

La tabla N° 16 confirma lo analizado en el apartado anterior mediante el análisis de ANOVA, mostrando que la variable mezcla fue el efecto que más influyo sobre la variable de respuesta concentración de capsaicinoides en la extracción asistida por ultrasonido de desechos orgánicos de ají jalapeño verde

4.5.3. Optimización de respuesta - Concentración de capsaicinoides

(mg/g)

La meta es maximizar la concentración de capsaicinoides. En la tabla N°19 se puede observar la combinación de los factores que se maximizan para obtener un valor óptimo de 2.74095 mg/g usando el modelo completo.

Tabla 19.

Optimización de respuesta ajustado – Concentración de capsaicinoides

FACTOR	BAJO	ALTO	ÓPTIMO
MEZCLAS	-1.0	1.0	-0.656467
TIEMPO	-1.0	1.0	-0.002038
MUESTRA:SOLVENTE	-1.0	1.0	-1.0

La optimización de respuesta nos proporciona los factores óptimos con su mejor valor, utilizaremos la Tabla N° 12 para la interpretación de estos datos.

- La variable MEZCLAS: - 0.656467, este valor se asemeja al nivel M1 (-0.66) que es igual a la mezcla compuesta por 80 % etanol y 20 % acetonitrilo.
- La variable MUESTRA: SOLVENTE: -1.0, este valor es igual a la relación 1g con 10 ml de solvente.
- La variable Tiempo: - 0.000536, este valor es igual a un tiempo de 29.96 min.

Luego de obtener los valores óptimos para un modelo completo se prefirió optimizar el modelo ajustado reducido para un contenido máximo de 2.79483 mg/g de concentración de capsaicinoides, en la tabla N° 20 nos da la combinación de estos factores.

Tabla 20.

Optimización de respuesta ajustada reducida – Concentración de capsaicinoides

FACTOR	BAJO	ALTO	ÓPTIMO
MEZCLAS	-1.0	1.0	-0.59085
TIEMPO	-1.0	1.0	-0.00004
MUESTRA:SOLVENTE	-1.0	1.0	-1.0

La optimización de respuesta nos proporciona los factores óptimos con su mejor valor, utilizaremos la Tabla N° 12 para la interpretación de estos datos.

- La variable MEZCLAS: - 0.59085, este valor se asemeja al nivel M1 (-0.66) que es igual a la mezcla compuesta por 80 % etanol y 20 % acetonitrilo.
- La variable MUESTRA: SOLVENTE: -1.0, este valor es igual a la relación 1g con 10 ml de solvente.
- La variable Tiempo: - 0.00004, este valor es igual a un tiempo de 30 min.

A continuación, se muestra la ecuación del modelo ajustado y el modelo ajustado reducido respectivamente.

$$\begin{aligned}
 \text{CONCENTRACION DE CAPSAICINOIDES} &= 1.86417 - \\
 &1.70303 * \text{MEZCLAS} - 0.162452 * \text{TIEMPO} - 0.243585 * \text{MUESTRA: SOLVENTE} - \\
 &0.62175 * \text{MEZCLAS}^2 - 0.04875 * \text{MEZCLAS} * \text{TIEMPO} + \\
 &0.196607 * \text{MEZCLAS} * \text{MUESTRA: SOLVENTE} - 0.440816 * \text{TIEMPO}^2 - \\
 &0.0217143 * \text{TIEMPO} * \text{MUESTRA: SOLVENTE} + 1.11225 * \text{MEZCLAS}^3 + \\
 &0.376684 * \text{MEZCLAS} * \text{TIEMPO}^2 + \\
 &0.265587 * \text{MEZCLAS} * \text{TIEMPO} * \text{MUESTRA: SOLVENTE} - \\
 &0.0319048 * \text{TIEMPO}^3
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{CONCENTRACION DE CAPSAICINOIDES} &= 1.86417 - \\ &1.70303 * \text{MEZCLAS} - 0.200857 * \text{MUESTRA: SOLVENTE} - \\ &0.62175 * \text{MEZCLAS}^2 + 0.196607 * \text{MEZCLAS} * \text{MUESTRA: SOLVENTE} - \\ &0.440816 * \text{TIEMPO}^2 + 1.11225 * \text{MEZCLAS}^3 + \\ &0.376684 * \text{MEZCLAS} * \text{TIEMPO}^2 \end{aligned}$$

Es importante que una vez obtenidas las ecuación del modelo de maximización presentado, realizarle la validación de los datos, es decir establecer la correlación que existe entre los datos experimentales versus los datos reales. En el anexo se detalla los datos del modelo ajustado y del modelo ajustado reducido, es decir sin tener cuenta las interacciones no significativas.

En la Fig. N° 19 se puede visualizar la correlación realizada para los datos reales versus los datos ajustados según el modelo completo.

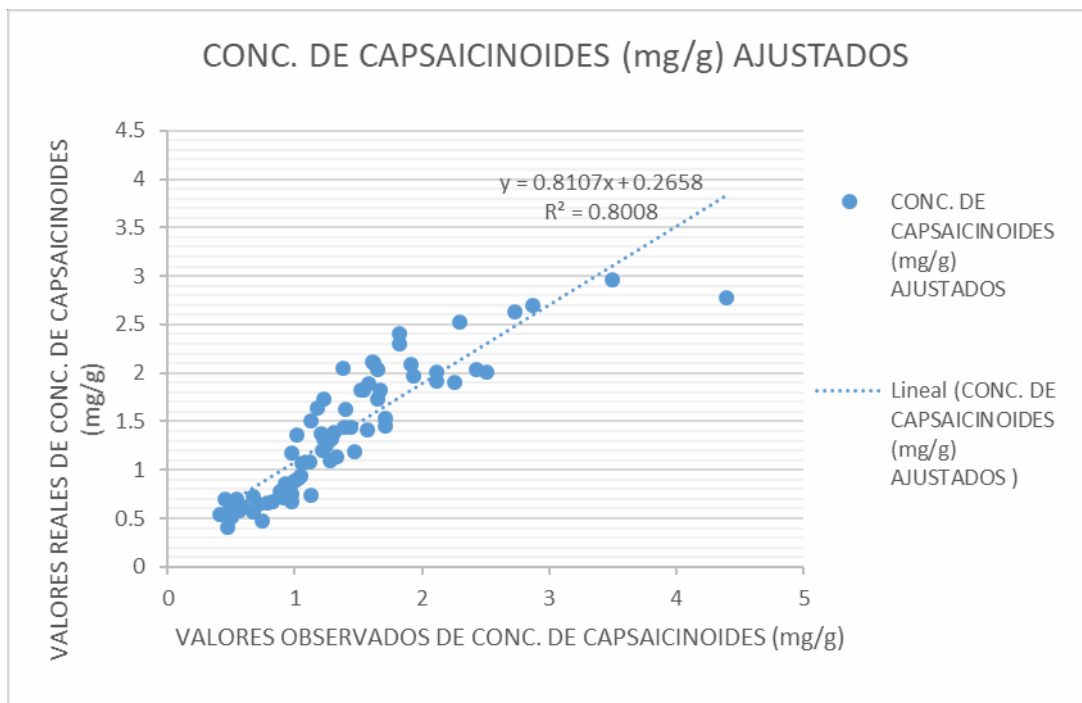


Figura 19. Correlación de los datos reales en comparación con los datos ajustados según el modelo completo

La correlación entre los valores de concentración de capsaicinoides realizados experimentalmente versus los valores de concentración de capsaicinoides ajustados presentaron un R^2 de 0.8008, significa que el modelo de maximización ajustado predice un 80 % de los datos realizados experimentalmente, es decir el modelo tiene una buena capacidad de predicción y por lo tanto se acepta, dado que es igual a 80 %.

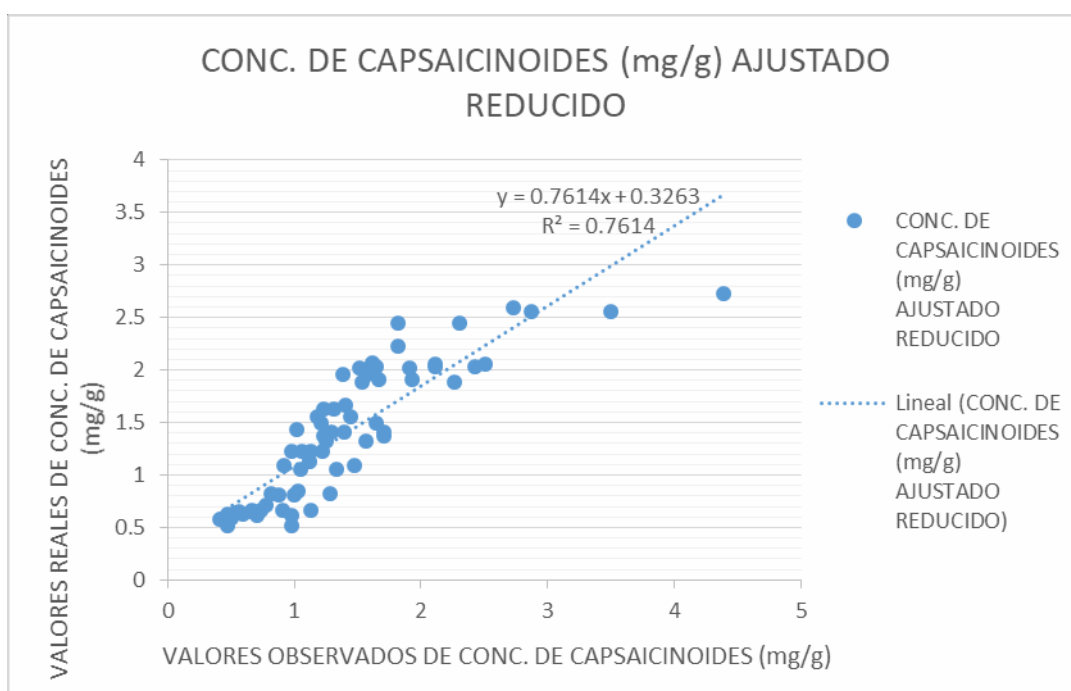


Figura 20. Correlación de los datos reales en comparación con los datos ajustados según el modelo reducido

La correlación entre los valores experimentales de concentración de capsaicinoides versus los valores observados de concentración de capsaicinoides con el modelo ajustado reducido presentaron un R^2 de 0.7614. Significa que el modelo de maximización predice en un 76% los datos realizados experimentalmente, es decir este modelo no tiene una buena capacidad en comparación con el modelo completo ajustado. Esto nos permite concluir que el modelo que mejor se ajusta a la predicción de datos de la concentración de

capsaicinoides es el modelo completo ajustado, siendo así que la variable tiempo tiene una influencia en la extracción asistida con ultrasonidos de capsaicinoides en los desechos del jalapeño verde a pesar de que no sea una variable estadísticamente significativa.

4.6. CARACTERÍSTICAS FÍSICOQUÍMICAS DEL EXTRACTO

ÓPTIMO

Tabla 21.

Concentración y pungencia de capsaicinoides del extracto óptimo

CARACTERÍSTICAS	UNIDAD	CANTIDAD
Rendimiento de Oleorresina	%	11.53 ± 1.07
Concentración de capsaicinoides	g/g	0.32 ± 0.10
Pungencia de la oleorresina	SHU	5120000 ± 1588358.91

Teniendo en consideración los parámetros óptimos para una extracción máxima de capsaicinoides se realizó una evaluación a 60 gr de desechos orgánicos secos, con el fin de que a la oleorresina obtenida se analicen las características fisicoquímicas señaladas en esta investigación.

Se obtuvo 6.91 g de capsaicinoides (oleorresina) y un rendimiento de 11.53% ± 1.07, con respecto a la oleorresina para este tipo de ají no se encuentra muchas referencias bibliográficas, pero si se pueden tomar datos a partir de otros tipos de ají. Balseca & Rivadeneira (2013a) en su investigación con respecto al género *Capsicum annuum* en donde extraen por maceración con etanol obtienen un rendimiento de 11.3% de capsaicinoides mediante un rotavapor y Haro & Montenegro (2015)

tienen un rendimiento entre 10.21% y 11.60% con respecto al ají rocoto (*Capsicum pubescens*).

La oleorresina siguió con todos los parámetros establecidos en el método de cuantificación de capsaicinoides (método espectrofotométrico) y la concentración de capsaicinoides en la oleorresina es de $0.32 \text{ g/g} \pm 0.46$ y su grado de pungencia es de $5,120.000 \text{ SHU} \pm 1588358.91$, es decir el grado de pungencia de la especie *Capsicum annuums* puede establecerse como altamente picante. Ubillius Perez, (2014), nos dice que para la oleorresina obtenida a partir de semillas de aji jalapeño obtuvo una pungencia de 2,048650.3 SHU, ambos datos tienen un alto valor de pungencia, a su vez en esta investigación se obtuvo mayor cantidad de unidades scoville para la oleorresina, esto se debe a que se usó las semillas y la placenta, existiendo una mayor acumulación de capsaicinoides en las glándulas de la placenta.

Tabla 22.
Características fisicoquímicas del extracto óptimo

CARACTERÍSTICAS	UNIDAD	CANTIDAD
Humedad	%	8.16 ± 0.16
Densidad	g/ml	0.91 ± 0.04
Acidez	%	0.19 ± 0.07
pH		7.35 ± 0.33

Balseca & Rivadeneira, (2013b) en su investigación para el género *Capsicum Annuums* obtuvo un 7.40% de humedad. Teniendo en cuenta que la Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN (2532:2010, s.f.) establece que las humedades de las especies puras tienen un valor máximo del 10%, y que el resultado obtenido en esta investigación con

respecto a la humedad de la oleorresina fue de $8.16\% \pm 0.16$ es decir la humedad que hemos obtenido se encuentra dentro del límite establecido. En el caso de la densidad obtuvimos un valor de $0.91 \text{ gr/ml} \pm 0.22$, Balseca & Rivadeneira, (2013c), nos dice que para la especie *Capsicum annuum* obtuvieron 0.94 g/ml , mientras que en la ficha técnica de ACOFARMA, (2014) tienen como rango una densidad de $0.93 - 0.97 \text{ g/ml}$, la cual la diferencia no es muy significativa y puede deberse a las condiciones de extracción de cada investigación. La oleorresina experimentalmente se demostró que es viscosa por lo tanto es más densa. Con respecto a la determinación de acidez no se encuentran muchos datos bibliográficos con respecto al mismo género, pero si se puede realizar la comparación con otras investigaciones. Tejada et al., (2017) tuvieron un dato de índice de acidez para el género de *Capsicum frutescens* L. de $0.5\% \pm 0.98$, Alarco & Patiño, (2008), en su investigación con ají paprika obtuvo $6,22 \text{ mg KOH/g}$ oleorresina realizado con una extracción con maceración. En este trabajo se obtuvo un dato de $0.19\% \pm 0.07$, es decir el extracto de capsaicinoides tiene una acidez baja, esto también puede depender del tipo de extracción realizado, además de los solventes que intervienen en el proceso.

Balseca & Rivadeneira, (2013d) para la especie de *Capsicum annuum* obtuvo un pH de 7.80 y en esta investigación se tiene un valor de 7.35 ± 0.33 encontrándose en un medio neutro y comparando con el dato de pH se puede decir que hay correlación entre estos.

V. CONCLUSIONES

- El análisis proximal de los desechos orgánicos presentan $76.64 \% \pm 0.55$ de humedad, cenizas un $3.74 \% \pm 0.38$, $5.18 \% \pm 0.43$ de proteínas, $6 \% \pm 0.67$ de grasa y $8.44 \% \pm 0.52$ de carbohidratos más fibra.
- Se determinó los parámetros óptimos para una buena extracción asistida por ultrasonido, relación muestra: solvente es 1:10 g/ml la mezcla de solventes contiene 80 % de etanol y 20 % de acetonitrilo, a un tiempo de 30 min.
- Realizando el método espectrofotométrico Uv- Visible a una longitud de onda de 270 nm obtuvimos $4.39 \pm \text{mg/g}$ de concentración de capsaicinoides.
- Se determinó que las variables mezclas y relación muestra: solvente presentaron mayor diferencia significativa en comparación de la variable tiempo según la evaluación del diseño estadístico factorial multinivel en el programa Statgraphics Centurión.
- La concentración de capsaicinoides del extracto óptimo (oleorresina) es de $0.323 \text{ g/g} \pm 0.10$ y con una pungencia de $5120000 \text{ SHU} \pm 1588358.91$
- Las características fisicoquímicas del extracto optimo presenta $8.16 \% \pm 0.16$ de humedad, su densidad es de $0.91 \text{ g/ml} \pm 0.04$, tiene el $0.19 \% \pm 0.07$ de acidez y 7.35 ± 0.33 de pH.

VI. RECOMENDACIONES

- Para el manejo del patrón de capsaicina se deben utilizar los equipos de protección necesarios como guantes, lentes y tapabocas, ya que se tiene que evitar cualquier contacto con los ojos o mucosa, porque puede causar enrojecimiento y sensación de quemazón. Sí se llega a tener contacto en zonas de piel irritada, lavarse con agua tibia y jabón.
- En el caso de realizar el análisis fisicoquímico de cenizas, tener en cuenta que los crisoles deben ser carbonizados dentro de la campana de extracción, ya que al hacerlo fuera todos los gases desprendidos van hacia el medio ambiente provocando sofocación y ahogamiento en las personas.
- Esta investigación quedara como referente para próximos trabajos enfocados en los diferentes usos que se le puede dar a la capsaicinoides, ya que no hay mucha información para este tipo de ají, ni con respecto a la extracción a partir de residuos de ají.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 2532:2010, N. T. (s.f.). *Espicias y condimentos*. Obtenido de <https://archive.org/details/ec.nte.2532.2010>
- A., K., & J., P. (2001). Sensory properties of naturally occurring capsaicinoids.
- A.O.A.C 962.37, 9. (95). *AOAC. 1995. Official methods of analysis of AOAC International, Fruits and fruits products*. USA.
- ACOFARMA. (2014). Obtenido de <http://www.acofarma.com/es/formulacion-magistral/descargas/3>
- Adrian, J., Potus, J., Poiffait, A., & Dauvillier, P. (2000). *Análisis nutricional de los alimentos*. Acribia.
- Agro Negocios Peru. (2018). *Agro Negocios Peru*. Obtenido de <https://agronegociosperu.org/2018/06/18/peru-exporto-capsicum-por-us-77-5-millones-de-enero-a-abril-de-este-ano/>
- Aguilar San Juan, D. (2010). *Química Analítica Moderna*. España: Reverte. Obtenido de <http://www.lahistoriaconmapas.com/historia/definicion-de-acetonitrilo-definition-of/>
- Aguilera, J. M., & Stanley, D. W. (2012). *Microstructural Principles of Food Processing and Engineering*. Maryland: 2da Edition. Aspen Publication, Inc.
- Alarco, C., & Patiño, R. (2008). *Evaluación de calidad y rendimiento en la extracción y caracterización de oleorresina de ají paprika (Capsicum annum L.) papriking y sonora*. Huancayo.
- Alpizar, L. E., Trujillo A., J., & Herrera R., F. (2002). *Determinación de capsaicinoides en chile habanero (Capsicum chinense Jaq.), colectados en Yucatán*. México.

- *Amazon Andes*. (2017). Obtenido de <https://peruvianchili.com/es/>
- American Chemical Society. (2013). *American Chemical Society*. Obtenido de www.acs.org/chemmatters
- Aminul, M., Sundar, S., Sinhaa, P. S., & Neog, B. y. (2015). Variability in capsaicinoid content in different landraces of *Capsicum* cultivated in north eastern India. *Scientia Horticulturae*, págs. 66-71.
- Andina. (2017). Obtenido de <https://andina.pe/agencia/noticia-adex-produccion-ajies-el-sur-del-pais-crecera-un-15-2018-687678.aspx>
- Antoniali, S. A., P. A., M. L., A. M., M., R. Tsuyoshi, F., & J., S. (2007). Physico-chemical characterization of „zarco SA“ yellow bell pepper for different ripeness stages. *Science Agricultural*, 19 - 22.
- AOAC. (1996). Official Method 995.03 Capsaicinoids in *Capsicum* and their extractives. Liquid Chromatographic Method .
- Arias, D. (2011). *Análisis de la cadena de valor de los ajíes Escabeche (Capsicum baccatum L. var. pendulum y picante (Capsicum sp.) en: Los Ejidos del Norte Piura, Perú*. Perú: Universidad Nacional Agraria La Molina.
- Arjona, M., & Díaz, R. y. (2006). Parámetros Físicoquímicos en Oleorresina de Pimentón en diferentes Sistemas de Secado. *ISSN 1515-0453*, 80-91.
- *Arqueología Mexicana*. (2016). Obtenido de <https://arqueologiamexicana.mx/mexico-antiguo/las-causas-del-picor-y-el-sabor-del-chile>
- Badui Dergal, S. (2006). *Química de los alimentos*. México: Pearson.
- Badui, D. (2006). *Química de alimentos*. Mexico: Pearson Educacion Mexico.
- Bagnato, C. (2013). *Técnicas biofísicas para el estudio de lípidos y membranas*. España: Centro Atomico Bariloche.

- Balseca, D., & Rivadeneira, L. (2013). *Extracción y cuantificación de capsaicina a partir de cinco especies nativas del género Capsicum existentes en el Ecuador mediante cromatografía líquida de alta definición*. Quito.
- Barbero, F., Lovillo, G. P., & Barroso, G. (2005). *Extracción de capsaicinoides en pimientos mediante fluidos pleurizados*. Cádiz.
- Barbero, G., Palma, L., & Barroso, C. (2008). *Ultrasound - assisted extraction of capsaicinoids from peppers*. España: Departamento de Química Analítica, Facultad de Ciencias, Universidad de Cádiz.
- Barrientos, & Bazán. (2015). *"Acción del extracto acetato etílico del fruto liofilizado de Capsicum pubescens procedente de la localidad de Coina, distrito de Usquil- departamento de la Libertad, sobre el radical libre 2,2-DIFENIL-1-PICRILHIDRAZIL"*. Trujillo.
- Betts, T. (2011). Cuantificación de pungencia de Salsas pimientos usando HPLC. *Journal of Chemical Education*, 240-244.
- Bolaños Herrra, A. (2014). *Introducción a la olericultura*. San Jose, Costa Rica : Universidad distrital a distancia .
- Bono Cabre, R., & Arnau Gras, J. (2007). *Diseños de Investigación*. Obtenido de <http://www.ub.edu/deia/index.php>
- Boonkir, S., & Phisalaphong, C. y. (2008). Ultrasound-assisted extraction of capsaicinoids from *Capsicum frutescens* on a lab- and pilot-plant scale. *Ultrasonics Sonochemistry*, 1075–1079.
- Burbano, S., Burbano Garcia, E., & Gracia Muñoz, C. (2003). *Física General*. Madrid: Tebar S.L.
- Capelo Martínez, J. (2009). *Ultrasound in Chemistry*. 55 -79.

- Castro de Esparza, M., Litter , M., Wong, M., & Mori, V. (2009). *Metodologias Analíticas para la determinación y especiación de arsénico en aguas y suelos* . Argentina: Cytel.
- Cervantes, A. (2005). *UDLAP BIBLIOTECAS*. Obtenido de http://catarina.udlap.mx/u_dl_a/tales/documentos/meiq/celis_c_a/
- Chaosrequiem. (2015). *Ultrasonidos que los adultos no pueden escuchar*. Obtenido de <http://chaosrequiem.com/main/ultrasonidos-que-los-adultos-no-pueden-escuchar/>
- Chile Martinez, D. (2016). *Nutrición Cronobiológica y Bioenergética*. Mexico: Tapa Blanda .
- Chinn, M., Sharma Shivappa, R., & Cotter, J. (2011). Solvent extraction and quantification of capsaicinoids from *Capsicum chinense* . *Food and Bioproducts Processing*, 342-344.
- Cichewicz, R. H., & Thorpe, P. A. (s.f.). “The Antimicrobial properties of chile peppers (*Capsicum* species) and their uses in Mayan medicine”. *Journal of ethnopharmacology*, 52: 61-70.
- Cochran, L. H. (2010). Changes in pH of the pimiento during maturation. *Proceedings American Society Horticultural Science*, 409 - 411.
- Crisosto, C. (2004). Optimum procedures for ripening stone fruit. Management of ripening fruit.
- Cristhian. (2014). *PyGestion Exportaciones en Peru*. Obtenido de <https://pygexportaciones.blogspot.com/2014/06/trabajo-de-exportacion-de-jalapenos-en.html>
- De la Cruz Leonardo, A. L. (2011). *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 . Guatemala.*
- Deiana, R., Casu, V., Paccagnini, S., G., A., Ballero, M., & Dessi, M. (2002)“Antioxidant activity of capsinoids”. *Journal of agricultural and food.* 7396-7401
 - Dueñez Zurita, A. L. (2017). *Optimización de las condiciones de extracción de compuestos fenólicos a partir de cáscara de uva variedad quebranta (ica, Perú) empleando técnicas convencionales y extracción asistida por ultrasonido.* Lima.
 - Ehecatl Ruiz, C. (2009). *Disolventes y metodos de reaccion no convencionales .* España.
 - Equisalud. (2013). *Equisalud.* Obtenido de <http://www.equisalud.com/productos/alcohol-absoluto-1667.aspx>
 - FAOSTAT. (2012). *Organizacion de las Naciones Unidas para la alimentacion y la agricultura.* Obtenido de <http://faostat.fao.org/DesktopDefault>.
 - FAOSTAT. (2016). *Organizacion de las Naciones Unidas para la alimentacion y la agricultura.* Obtenido de <http://www.fao.org/faostat/es/#data/QC>
 - Fernandez Barbero, G. (2007). *Extraccion, analisis, estabilidad y sintesis de capsaicinoides.* Obtenido de <http://minerva.uca.es/publicaciones/asp/docs/tesis/gfernandezbarbero.pdf>
 - Fitoterapia.net. (2016). *Pimientos picantes: acciones farmacológicas y propiedades terapéuticas.* Obtenido de <https://www.fitoterapia.net/noticias/pimientos-ge769nero-icapsicumi-acciones-farmacolo769gicas-10211.html>
 - Gandules. (2018). Obtenido de <http://www.gandules.com.pe/es/about-us/>

- GAO, M., & LIU, C. (2006). Comparision techniques for the extraction of flavonoides from cultures cells of *Saussurea medusa* Maxim. *World Journal Of Microbiology & Biotechnology* , 1461-1463.
- Garcia Martinez , I., Miranda Gonzales, N., Gonzalez Gonzalez, L., & Nieto Pineda, F. (2006). *Estudios preliminares de la fermentacion de chile jalapeño (Capsicum annum L.)* .
- Garcia Velasquez, M. d., Ruelas Chacon, X., & Hernandez Gonzales, M. (2003). Determinación de capsaicina en salsas tradicionales de Saltillo, Coahuila.
- Gavilan Guillen, N. (2016). *Efecto de presión y temperatura en extracción por CO2-supercrítico y etanol en capsaicinoides de venas de ají panca (Capsicum chinense)*. Universidad Nacional del Centro del Peru .
- Gestion. (2018). Obtenido de <https://www.google.com/url?q=https://gestion.pe/economia/exportaciones-capsicum-crecerian-3-cerrarian-ano-us-246-millones-235188&sa=D&source=hangouts&ust=1533424212863000&usg=AFQjCNFG9K8lckoaBOT3psDTleg9aJkJbQ>
- Haro, W., & Montenegro, M. F. (2015). *Estudio de la composición fitoquímica de la oleorresina de ají rocoto (Capsicum pubescens) procedente del valle de Tumbaco*. Quito.
- Hart, F. L. (2000). *Análisis moderno de los alimentos*. España.
- Hernández, J. E., & León, J. (2009). *Neglected crops 1492 from a different perspective and Agriculture Organization of the United Nations*. Roma.
- ICSC. (2011). Fichas Internacionales de Seguridad Química. Espala.
- INCAP. (2007). Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá.
- INCAP. (2012). Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá.

- Instituto de Nutricion de Centro America y Panama (INCAP). (2007). Tabla de composicion de alimentos de Centroamerica. En M. T. Menchu, H. Mendez, & N. Alfaro, *Tabla de Composicion de Alimentos en Centroamerica*.Guatemala: Serviprensa S.A.
- Jager, M., Jiménez, A., & Amaya, K. (2013). *Las cadenas de valor de los ajíes nativos de Perú*. Perú.
- Janick, J. (2011). *Horticultura Científica e Industrial*. España: Acriba Zaragoza.
- Joo, J., Kim, D., Choi, J., & Yun, J. (2010). “Análisis proteómico del potencial anti obesidad de la capsaicina en el tejido adiposo blanco de ratas alimentadas con una dieta alta en grasas. *Proteome*.
- JP Selecta. (2012). *JP. Selecta S.A.* Obtenido de <http://www.grupo-selecta.com/notasdeaplicaciones/sin-categoria/metodo-kjeldahl/>
- Keyhaninejad, N., Curry, J., & Romero, J. y. (2014). Fruit specific variability in capsaicinoid accumulation andtranscription of structural and regulatory genes in Capsicum fruit. *Plant Science. Plant Science*, 215-216.
- Lau, Y. (2016). *El Holandes Picante*. Obtenido de <http://elholandespicante.com/plantas/chiles-y-ajies/>
- Laureiro, J. I. (2015). *Moleculas a reaccion*. Obtenido de <https://isqch.wordpress.com/2015/07/04/la-quimica-y-las-otras-luces-y-ii/>
- Leary, S. &. (2005). *Analisis Instrumental* . Argentina: Mcgraw Hill.
- Limón, S. M., Martínez, S. S., Ávila, M., Piñero, J. H., & González, M. N. (2012). Efecto antifúngico de capsaicina y extractos de chile piquín (*Capsicum annum* l. var *aviculare*) sobre el crecimiento in vitro de *Aspergillus flavus*. Veracruz: Instituto Nacional de Investigaciones Sobre Recursos Bióticos.

- Lopez Hernandez, F., Lobato Garcia, C., Gomez Rivera, A., Romero Ceronio, N., & Escobar Ramos, A. (2011). Extraccion y cuantificacion espectrofotometrica de capsaicina a partir de chile habanero. *Univrsidad Juarez Autonoma de Tabasco*.
- Lopez Martinez, L. (2000). *Nuevo Metodo espectofotometrico de determinacion de capsaicinos en salsas y chiles*. Novena Jornada de Analisis CONACYT.
- López Narváez, J. A. (2017). *Optimización del proceso de extracción de oleorresinas de Capsicum frutescens L. aplicando la tecnologia de fluidos supercriticos y extraccion asistida por ultrasonido* . Colombia.
- López Riquelme, G. (s.f.). “Chilli. La especia del Nuevo Mundo”. 66 - 75.
- Lopez Urquia, H. (2010). *Desarrollo y evaluación de un chile jalapeño en salmuera y su diseño de planta*. Obtenido de <https://bdigital.zamorano.edu/bitstream/11036/482/1/AGI-2010-T023.pdf>
- López, W. (2011). *Análisis de la cadena de valor del rocoto en la comunidad de Tumpa, Ancash*. Perú: Universidad Nacional Agraria La Molina.
- Lurie, S., & J. D., K. (2003). Heat treatment of ripening apples: Differential effects on physiology and biochemistry. 181 - 186.
- Marincas, O., Feher, I., Magdas, D., & Puscas, R. (2017). Optimized and validated method for simultaneous extraction, identification and quantification of flavonoids and capsaicin, along with isotopic composition, in hot peppers from different regions. *Food Chemistry*, sp.
- Martinez de Flores Escobar , G., Gonzales Garza Ducoing , M., & Covadonga Torre , M. (2004). Iniciacion en las Tecnicas Culinarias. En G. Martinez de Flores Escobar, M. Gonzales Garza Ducoing, & M. Covadonga Torre, *Iniciacion en las Tecnicas Culinarias* (págs. 41-42). Mexico: Limusa S.A. .

- Martínez Guzmán, A. (2007). *Obtención de Oleorresina Capsicum a partir de chiles jalapeños frescos enteros*. México: Universidad de las Américas Puebla. Escuela de Ingeniería y Ciencias. Departamento de Ingeniería Química y Alimentos.
- Matissec, R., Schnepel, F. M., & Steiner, G. (2011). *Análisis de los alimentos: Grasas y sustancias acompañantes*. Alemania: Springer-Verlag. GMBH & Co, KG.
- Medicina, B. N. (2018). *Carbohidratos en la dieta*. Obtenido de <https://medlineplus.gov/spanish/carbohydrates.html>
- Medina Torres, N. (2017). *Efecto del ultrasonido en la extracción y nanoencapsulación de polifenoles de limón persa*. Yucatán.
- Medlicott. (2005). Analysis of sugars and organic acids in ripening fruits by high performance liquid chromatography. *Journal Science Food Agriculture*, 561 - 566.
- Mejía Yañez, F. (2013). Aislamiento y Caracterización físicoquímica de la capsaicina en tres variedades de ají . Quito, Ecuador.
- Mejía Yañez, F. (2013). *Aislamiento y caracterización físicoquímica de la capsaicina de tres variedades de ají*. Quito.
- Méndez Martínez, A. (2005). *UDLAP bibliotecas*. Obtenido de http://catarina.udlap.mx/u_dl_a/tales/documentos/mqi/mendez_m_ad/
- Mendoza Sánchez, L. (2013). *Propiedades físicoquímicas y antioxidantes del chile jalapeño (Capsicum annuum var. Annuum) fresco y seco*. Veracruz.
- Mendoza Sánchez, L. (2013). *Propiedades físicoquímicas y antioxidantes del chile jalapeño (Capsicum annuum var. Annuum) fresco y seco*. Veracruz.

- Mile, L., & Andre, L. (2007). “Determination de capsaicin content of ground paprika”. *Alimentary*, 113-121.
- Minitab. (2017). *SopORTE de Minitab* . Obtenido de http://dm.udc.es/asignaturas/estadistica2/sec5_3.html
- Mohammed, M., L.A., W., & P. Gomes, I. (2006). Postharvest sensory and physiochemical attributes of processing and non-processing tomato cultivar. 167 - 182.
- Morales Bermudez, M. (2011). *Determinacion de hidrocarburos en muestras de agua por extraccion liquido - liquido asistida por ultrasonido*. Alicante.
- Mulet, A., Carcel, J., Bon, J., & San Juan, N. (2003). New food drying technologies-Used of ultrasound. En *Food Science and Technology International* (págs. 215-221).
- Nielsen, S. (2017). *Food Analysis Laboratory Manual*. New York: Springer nature.
- Nuñez, C. (2008). *Extracciones con equipo Soxhlet*. Obtenido de <http://www.cenunez.com.ar/archivos/39-ExtraccinconequipoSoxhlet.pdf>
- Nuñez, F., Girl, R., & Costa, J. (2003). *Cultivo de pimientos*,. Madrid: Mundi - Prensa .
- Organizacion de las Naciones Unidad para la Alimentacion y la Agricultura (FAO). (2014). Obtenido de FAO : <http://www.fao.org/in-action/inpho/publicaciones/detail/es/c/2474/>
- P.Fellow. (2000). *Tecnología del Procesado de los Alimentos, Principios y Prácticas*. España: Acribia S.A.
- Patiño Jaramillo , M., & Valdes Romaña, N. (2010). *Quimica Basica*. Colombia : Instituto Tecnologico Metropolitano.

- Pearson, D. (2003). *Técnicas de laboratorio para análisis de alimentos*. España: Acrbia S.A. Zaragoza.
- Peralta , G. (2007). *Determinacion del nivel de pungencia en Unidades Scoville para Capsicum anuum var. aviculare procedente de Regiones Productoras de Guatemala* . Guatemala : Universidad de San Carlos de Guatemala .
- Perochena Escalente, A. (2015). *Extraccion y cuantificacion de capsaicina de siete variedades de Capsicum pubescens "Rocoto" nativs de Arequipa*. Arequipa: Unuversidad Catolica de Sabta Maria.
- Pixabay. (2016). Obtenido de <https://pixabay.com/es/chiles-jalape%C3%B1os-chili-pimientos-1320629/>
- Rangel Garcia, M., Reyes Saucedo, E., Chapa, A., & Ramos, A. (2010). *Diseño de un bioinsecticida utilizando el agente activo capsaicina de difentes especies del genero capsicum (chile)*. Mexico: Club de Ciencias "Biotec".
- Rastagno, M., Palma, M., & Barroso, C. (2003). Ultrasound-assisted extraction of soyisoflavones. *Journal of Chromatography*.
- Reyes, M., Sánchez, I., Espinoza, C., & Bravo, F. (2009). *Tablas peruanas de composición de alimentos*. . Perú: Instituto Nacional de Salud.
- Rojo Abuin, J. M. (2007). *Regresion Lineal Multiple*. Madrid: Instituto de Economía y Geografía. Obtenido de http://humanidades.cchs.csic.es/cchs/web_UAE/tutoriales/PDF/Regresion_lineal_multiple_3.pdf
- Rollyson, W. D. (2014). *Bioavailability of capsaicin and its implications for drug delivery*.
- S.Chinn, M., & R.Sharma-Shivappa, R. (2011). Solvent extraction and quantification of capsaicinoids from Capsicum chinense.

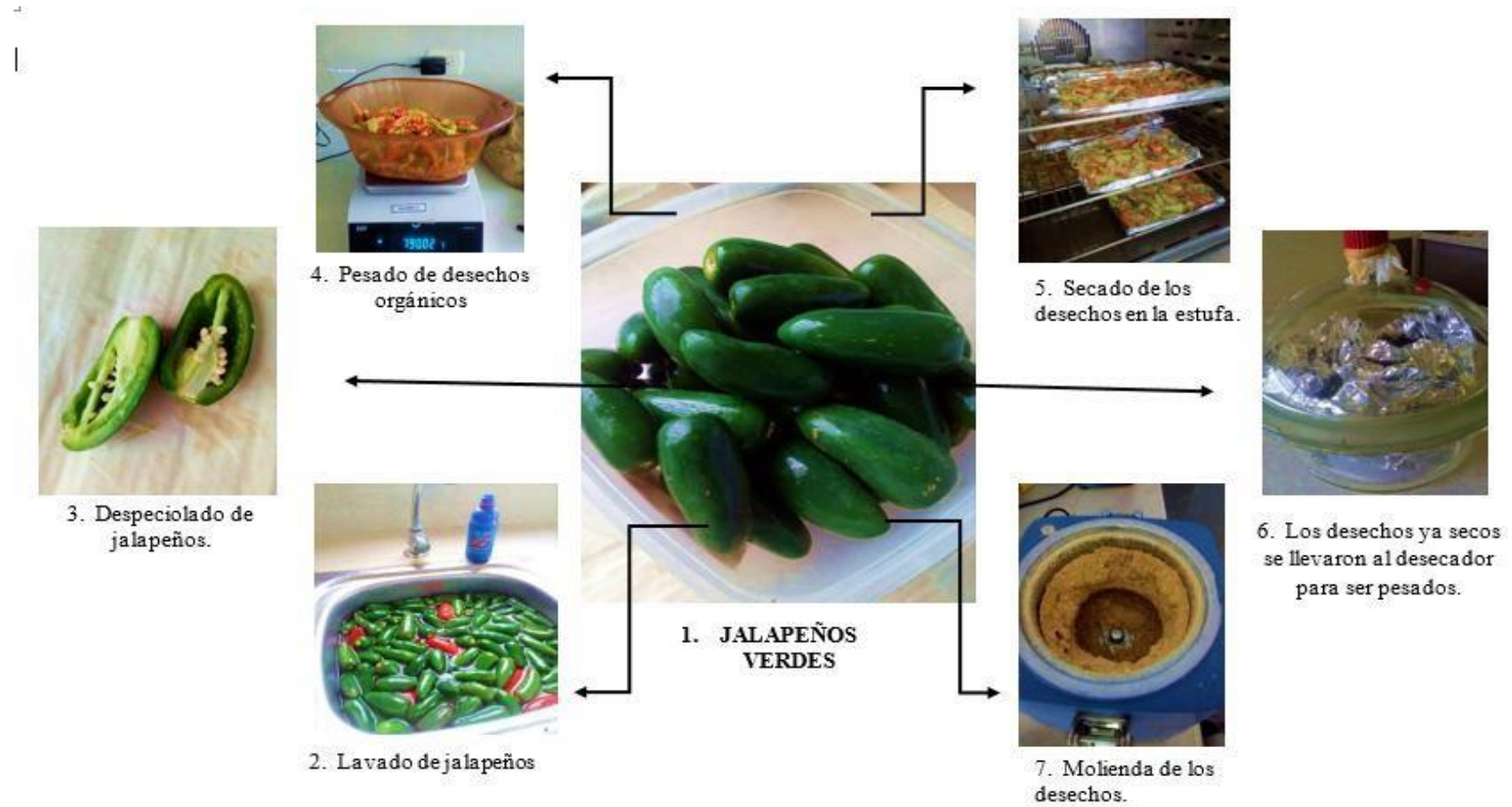
- Saavedra, H. (2011). *Análisis de la cadena de Valor del Ají en la región de Ucayali*. Perú: Universidad Nacional Agraria La Molina.
- Salud, M. d. (2009). *Tablas peruanas de composición de alimentos*. Perú.
- Santivañez, A. (2016).
- Sganzerla , M., Pereira Coutinho, J., Marchi Tavares, A., & Teixeira Godoy , H. (2014). Fast metod for capsaicinoids analysis from Capsicum chinese fruits.
- Sharapin, N. (2000). *Fundamentos de tecnologias de productos fitoterapéuticos*. Colombia: Quebecor-Impreandes.
- Sharlau. (2013). *Ficha de datos de Seguridad - Etanol Absoluto*. España .
- Sociedad Peruana de Gastronomía. (2009). *Ajíes Peruanos, Sazón para el Mundo*. Lima: El comercio.
- STATGRAPHICS. (2006). *Statgraphics.net*. Obtenido de <http://www.statgraphics.net/wp-content/uploads/2011/12/tutoriales/DDE%20-%20Disenos%20Factoriales%20Multinivel.pdf>
- Tejada Tovar, C., Villabona Ortiz, A., & Granados Conde, C. (2017). *Caracterizacion de la pulpa de ají tabasco (Capsicum frutescens L.) Cultivada en el departamento de sucre – colombia*.
- Trujillo, M. (2011). *Cuantificación de compuestos antioxidantes, capsaicina y capacidad antioxidante en chile serrano (Capsicum annum) bajo distinto manejo agronómico y sistema de cultivo.*”. Mexico: Universidad Autónoma de Querétaro. Facultad de Química.
- Ubillius Perez, J. M. (2014). Procedimiento de la semilla residual del ají jalapeño para la obtencion de capsaicina en la empresa Gandules ING. Chiclayo.Universidad Señor de Sipan.

- Ulloa , J., Ulloa, P., & Ramirez, J. (2013). Ultrasonido:Aplicaciones en el campo de los alimentos. *Nueva Epoca*, 1-12.
- Universidad Carlos III de Madrid. (2017). *Departamento de Estadística*.
Obtenido de Analisis de Experimentos Factoriales:
http://www.est.uc3m.es/esp/nueva_docencia/leganes/ing_telecomunicacion/metodos_mejora_calidad/MEMC/doc_generica/Practicas/Guion_statde.pdf
- Universidad de Zaragoza . (2017). *Open Course Were*. Obtenido de
https://ocw.unizar.es/ocw/ciencias-experimentales/tecnicas-basicas-de-laboratorio-quimico/teoria/Destilacion_teoría.pdf
- Vanaclocha, A., & Requena, J. (2000). *Procesos de Conservación de Alimentos*. A. España: Ediciones Mundi - Prensa.
- Vasquez, L. (s.f.). *Alimentos que contienen carbohidratos*. Obtenido de
<https://www.vix.com/es/imj/salud/2010/06/12/alimentos-que-contienen-carbohidratos>
- Vicentini, N. M., T. M., C. R., & M. Cereda, P. (2001). Influência de películas de fécula de mandioca na qualidade pós-colheita de frutos de pimentão (*Capsicum annum L.*). *Cienc Tecnol Aliment*, 127 - 130.
- Villalobos, N., Segura, L., Gortares, M., & Vega Rosas, G. (2015). *Concurso Universitario: "Feria de las Ciencias, la tecnología y la innovación"*. Obtenido de
https://feriadelasciencias.unam.mx/anteriores/feria22/feria245_01_pica_pica_y_se_me_quita.pdf
- Vinotoru, M. (2001). An overvew of the ultrasonically assisted extraction of bioactive principles from herbs. *Ultrasonics sonochemistry* , 303 -303 .

- Wang , L., & Weller, C. (2006). Recnt advances in extraction of nutraceuticals from plants . *Trends in Food Science and Technology*.
- Yu, L., Shen, X., Li, W., Tu, N., & Li, Z. (2015). Optimization of ultrasound-assited extraction condition of capsaicins Yugan pepper. *Instit. Food Scj. Technol*, 157-163.
- Zewdie, Y. (2000). Pungency of Chile Capsicum annum fruits as affect by Node Position HortScience . 3.
- Zhang, Z.-S., Wang, L.-J., Li, D., Jiao, S.-S., Chen, X., & Mao, Z.-H. (2008). *Ultrasound assisted extraction of oil from flaxseed*. China.

VIII. ANEXOS

Anexo 1. ACONDICIONAMIENTO DE LA MATERIA PRIMA A PARTIR DE LOS DESECHOS ORGÁNICOS DE JALAPEÑO VERDE





Producto obtenido de la molienda (Desechos orgánicos de jalapeño verde)

Anexo 2. DETERMINACIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS FISICOQUÍMICAS DE LOS DESECHOS ORGÁNICOS

A. Determinación de Humedad

- Pesar la muestra en una placa Petri limpia y seca, previamente tarada (2 – 3 gr de muestra)
- Colocar a la estufa por 2 horas a °C
- Enfriar en el desecador por 30 min y pesar

$$\%Humedad = \frac{(P1 - P2)}{m} \times 100$$

Donde:

P1 = Peso de la placa vacía (g)

P2 = Peso de la placa más la muestra seca (g)

M = peso de la muestra húmeda (g)

B. Determinación de acidez

- Pesar la muestra en un matraz limpio y seco
- Pesar 3 g de muestra
- Agregarle ml de agua destilada caliente
- Títular con NaOH al 0.1N usando como indicador fenolftaleína.
- Apuntar el gasto.
- Se realizó el análisis por triplicado.

$$\%Acidez = \frac{N \times V \times 100 \times meq}{m}$$

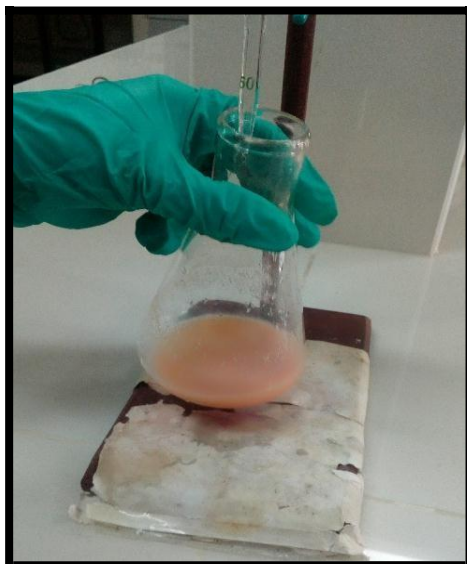
Donde:

N = normalidad del NaOH (0.1 N)

V = volumen gastado

Meq = miliequivalentes del ácido ascórbico (0.088)

M = masa de la muestra



C. Determinación de cenizas

$$\%Cenizas = \frac{P2 - P1}{m} \times 100$$

Donde:

P2 = Masa del crisol más cenizas (g)

P1 = Masa del crisol vacío (g)

M = Masa de la muestra (g)



D. Determinación de grasas

$$\%Grasa = \frac{P_2 - P_1}{m} \times 100$$

Donde:

P2 = Masa del balón con extracto etéreo (g)

P1 = Masa del balón (g)

M = Masa de la muestra (g)



E. Determinación de proteínas

$$\% \text{ Proteína} = \% \text{ Nitrogeno} \times f$$

$$\% \text{ Nitrógeno} = \frac{V \times N \times \text{meq Nitrogeno}}{W} \times 100$$

Donde:

V = ml gastados de HCl en la titulación

N = normalidad del HCl

W = peso de muestra

F = factor proteico (6,25 para vegetales)

Factor de conversión para obtener la tasa de proteína bruta a partir del nitrógeno total.

Alimentos	Factor (k)
Harina de trigo	5,70
Trigo, centeno, cebada	5,83
Arroz	5,95
Cacahuetes	5,46
Semillas oleaginosas	5,30
Leche y derivados	6,38
Carne y derivados	6,25
Huevo entero	6,68
Vegetales	6,25

Fuente: (Reyes, et. al, 2009)

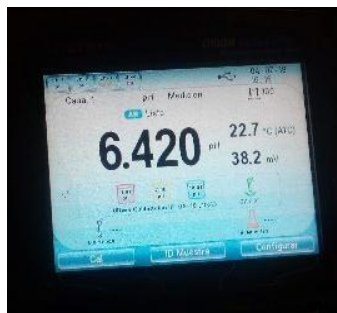


F. Determinación de carbohidratos

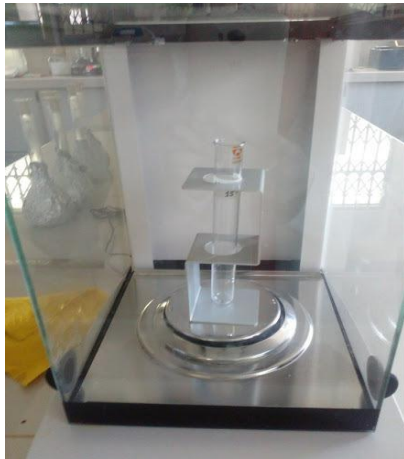
- Se obtiene por diferencia, restando la suma de los porcentajes de humedad, cenizas, grasas y proteínas del 100%.

G. Determinación de pH

- El valor de pH es medido con un potenciómetro (Hanna Instruments, modelo pH211)
- La muestra debe ser homogenizada con el agua.
- El potenciómetro debe ser calibrado previamente con las soluciones buffer requeridas, posteriormente se realiza la medición de pH de la muestra por triplicado.



Anexo 3. PROCEDIMIENTO DE LA EXTRACCIÓN ASISTIDA POR ULTRASONIDO.



Se acondicionó usando un sostenedor de tubos para un mejor pesado



Se pesó 1 gr de muestra en cada tubo



Se acondicionó la mezcla correspondiente de solventes a cada tubo



Se agitó cada tubo antes de realizar la extracción



Algunas muestras en el lavado por ultrasonido para la extracción.



Muestras después de la extracción



El extracto de capsaicinoides fueron guardadas en viales para luego ser refrigeradas a 4 °C

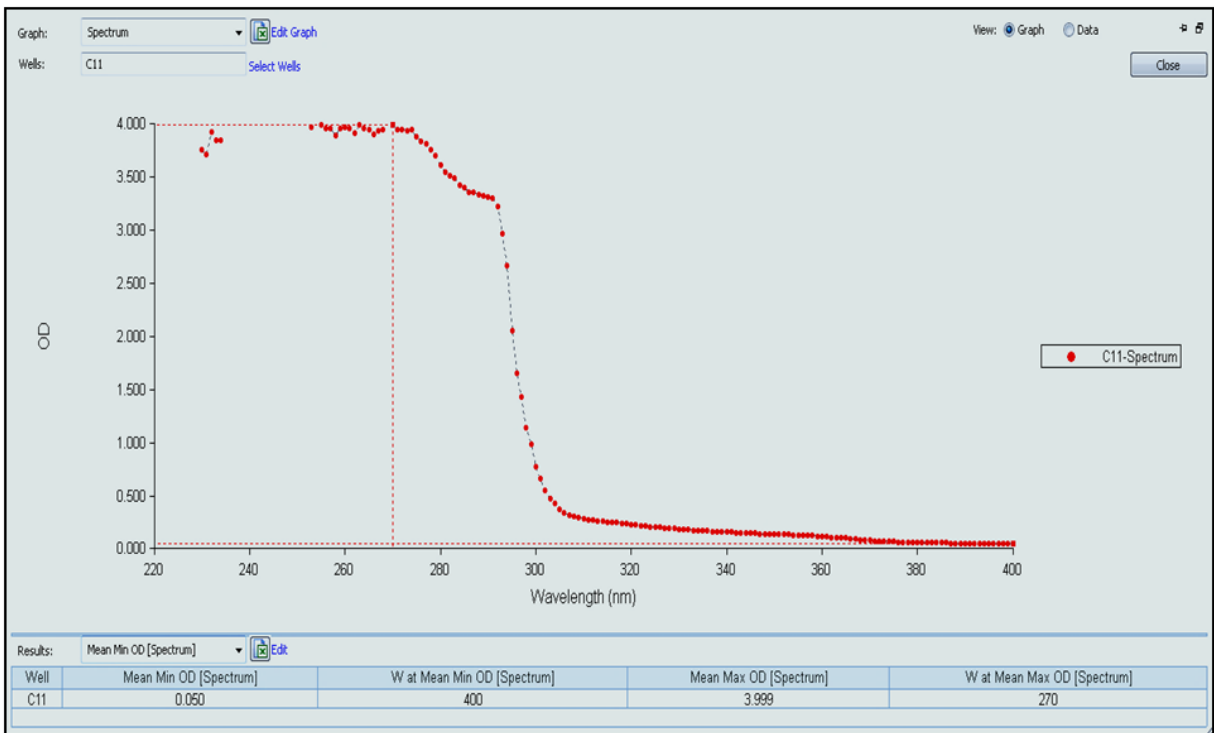
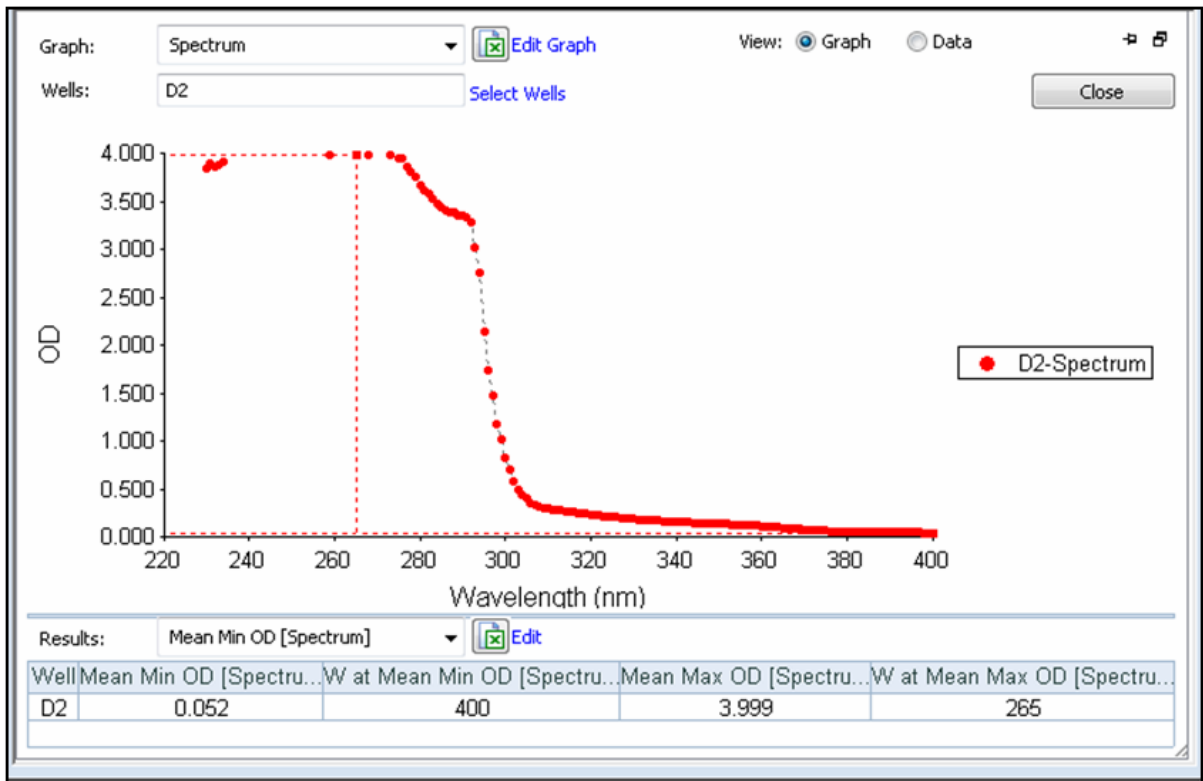
Anexo 4. LONGITUD DE ONDA

A. MÁXIMA LONGITUD DE ONDA PARA EL PATRÓN DE CAPSAICINOIDES.

El barrido espectral se realizó usando el equipo Espectrofotométrico y se tomó valores que iban de 230 nm a 300 nm.

De la solución madre se tomó 10 muestras a las cuales se les realizó tres barridos teniendo estos resultados:

N° MUESTRA	REP. 01	REP. 02	REP. 03	DESVIACION ESTANDAR
1	256	269	253	259±8.5
2	243	265	251	253±11.1
3	257	270	240	256±15.0
4	264	246	263	258±10.1
5	270	255	256	260±8.4
6	252	268	270	263±9.9
7	254	252	265	257±7.0
8	269	242	260	257±13.7
9	251	241	270	254±14.7
10	264	249	250	254±8.4

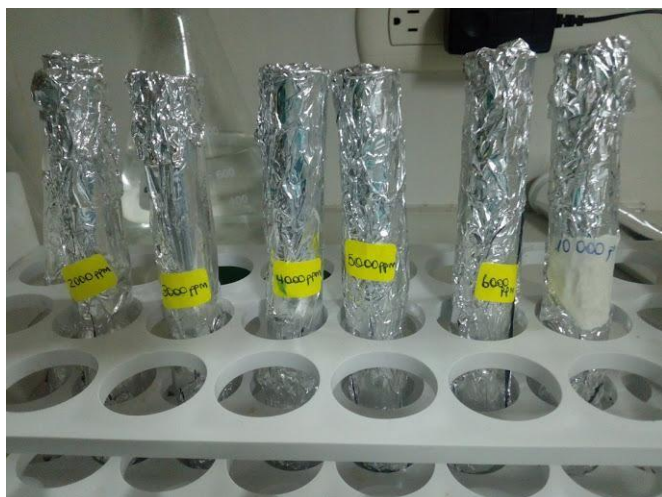


Anexo 5. PROCEDIMIENTO DE CUANTIFICACIÓN DE CAPSAICINOIDES POR ESPECTROFOTOMETRÍA UV- VISIBLE

A. Curva de calibrado



Patrón de capsaicinoides al 96 %

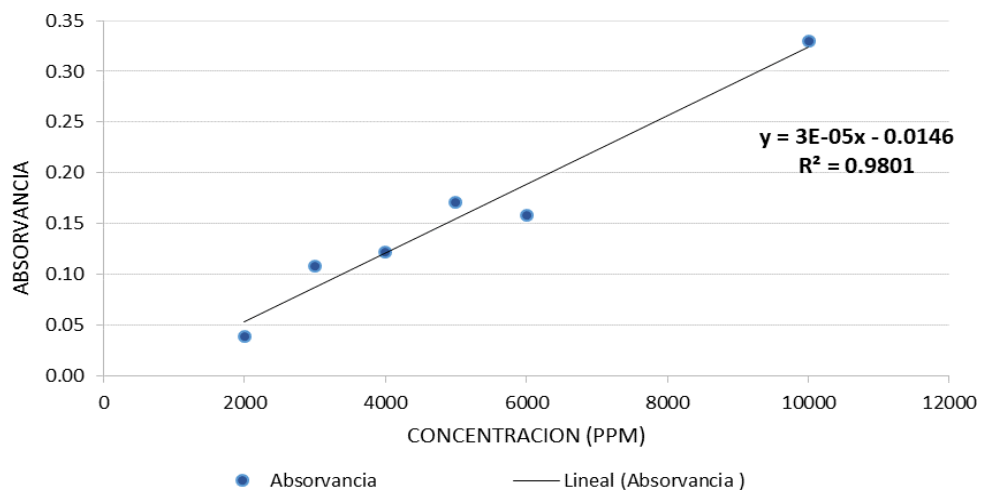


Diluciones de capsaicina (patrón) a diferentes concentraciones para la curva estándar.



Lectura de cada una de las muestras diluidas en el espectrofotómetro.

SOLUCIONES	CONCENTRACIÓN (PPM)	ABSORBANCIA
1	2000	0.04
2	3000	0.11
3	4000	0.12
4	5000	0.17
5	6000	0.16
6	10000	0.33



La curva de calibrado de capsaicinoides presenta la siguiente ecuación:

$$Y = 3.38544 \times 10^{-5}x - 0.0145595$$

Donde “Y” es la variable dependiente y está representado por la absorbancia y “X” es la variable independiente y está representado por la concentración.



宁波保税区远方生物化工有限公司

NINGBO FTZ YUANFANG BIOCHEMICALS CO.,LTD

宁波市江东区惊驾路668号银展国际1号楼14F-88 邮政编码 (P.C) :315040

ADD:14F-04,NO 668 jingjia road,jiangdong district,Ningbo,China P.C:315040

TEL:86-574-27862437,27862438

FAX:86-574-27862439

http://www.distant-chem.com

email:info@distant-chem.com

检验证书

CERTIFICATION OF ANALYSIS

PRODUCT NAME : CAPSAICIN USP
BACHT NUMBER : 20161804
MANUFACTURER DATE : 2016.04.18
RECERTIFICATION DATE : 2019.03.18

ITEMS	SPECIFICATION	RESULTS
APPEARANCE	Almost white to yellowish crystal	Complies
CAPSAICINOIDS	≥ 95%	96.25%
CAPSAICIN	≥ 60%	65.47%
DIHYDROCAPSAICIN	≥ 20%	30.99%
NORDIHYDROCAPSAICIN	≤ 15%	3.50%
MELTING POINT	57 - 66 °C	Complies
LOSS ON DRYING	≤ 1.0%	Complies
ARSENIC	≤ 2 PPM	Complies
HEAVY METAL	≤ 10 PPM	Complies
IGNITION RESIDUE	≤ 1.0%	Complies
PATHOGEN	Bacteria: < 300 CPU Fungus: < 100 CPU No salmonella or Escherichia Coli should be detected	Complies
CONCLUSION	CONFORMED	Complies

CONCLUSION: Complied with the above mentioned specs

SUPPLIER: NINGBO FREE TRADE ZONE YUANFANG BIOCHEMICALS CO., LIMITED

Anexo 6. LECTURA DE LAS ABSORBANCIAS DE LOS EXTRACTOS POR ESPECTROFOTÓMETRO UV- VISIBLE.

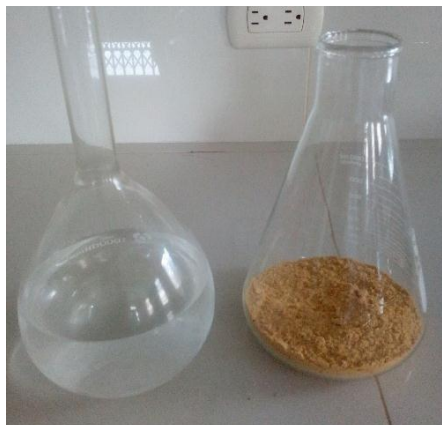
A. Concentración de capsaicinoides en mg/g

RELACION	TIEMPO	MEZCLA	REP 1	REP 2	REP 3	CONC.PROMEDIO (mg/g)
			mg/g	mg/g	mg/g	
1:10	20	M0	1.43	1.23	1.21	1.29
		M1	2.42	2.25	2.62	2.43
		M2	1.9	1.67	1.85	1.91
		M3	1.22	1.14	1.34	1.23
		M4	1.48	1.36	1.58	1.47
		M5	1.1	1.23	1.09	1.13
	25	M0	1.6	1.72	1.63	1.65
		M1	2.68	3.04	2.89	2.87
		M2	2.37	2.43	2.1	2.3
		M3	1.26	1.39	1.5	1.38
		M4	1.4	1.54	1.79	1.57
		M5	0.95	0.98	1.09	1
	30	M0	1.87	1.61	1.98	1.82
		M1	4.55	4.2	4.41	4.39
		M2	2.91	2.49	2.79	2.73
		M3	1.6	1.66	1.59	1.62
		M4	1.71	1.78	1.62	1.71
		M5	1.03	0.95	1.1	1.03
	35	M0	1.76	1.62	1.45	1.61
		M1	3.6	3.4	3.49	3.5
		M2	1.92	1.74	1.79	1.82
		M3	1.67	1.54	1.29	1.58

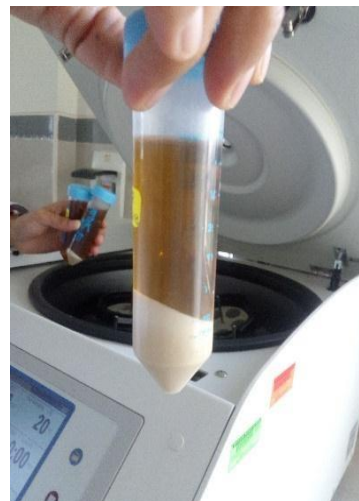
RELACION	TIEMPO	MEZCLA	REP 1	REP 2	REP 3	CONC.PROMEDIO (mg/g)	
			mg/g	mg/g	mg/g		
		M4	1.2	1.34	1.15	1.25	
		M5	0.78	0.79	0.97	0.88	
		M6	0.5	0.65	0.45	0.53	
	40	M0	1.23	1.55	1.38	1.39	
		M1	2.01	2.25	2.07	2.11	
		M2	1.71	1.52	1.32	1.52	
		M3	1.48	1.22	1.24	1.31	
		M4	0.91	0.89	0.95	0.92	
		M5	0.61	0.75	0.87	0.74	
		M6	0.49	0.45	0.53	0.5	
	1:20	20	M0	0.71	0.54	0.89	0.71
			M1	1.85	1.63	1.73	1.71
			M2	1.45	1.59	1.97	1.65
M3			1.29	1.23	1	1.13	
M4			1.32	1.4	1.12	1.28	
M5			1.03	0.87	1.01	0.98	
M6			0.5	0.46	0.4	0.45	
25		M0	1.12	0.85	0.97	0.98	
		M1	2.39	2.48	1.9	2.26	
		M2	2	1.91	1.88	1.93	
		M3	1.25	1.08	1.2	1.18	
		M4	1.41	1.27	1.33	1.33	
		M5	1.01	0.82	0.89	0.91	
		M6	0.6	0.59	0.58	0.59	
30		M0	1.09	0.93	1.05	1.02	
		M1	2.46	2.93	2.14	2.51	
		M2	2.04	2.4	1.9	2.11	
		M3	1.05	1.41	1.73	1.4	
	M4	1.37	1.14	1.09	1.12		
	M5	0.78	0.94	0.64	0.78		

RELACION	TIEMPO	MEZCLA	REP 1	REP 2	REP 3	CONC.PROMEDIO (mg/g)
			mg/g	mg/g	mg/g	
		M6	0.69	0.49	0.54	0.56
	35	M0	1.14	1.17	1.34	1.22
		M1	1.83	1.46	1.49	1.54
		M2	1.99	1.62	1.64	1.67
		M3	1.72	1.35	1.43	1.44
		M4	1.32	1.15	1.27	1.05
		M5	0.93	0.99	0.71	0.67
		M6	0.62	0.52	0.46	0.47
	40	M0	0.8	1.23	0.92	0.98
		M1	1.1	1.2	1.38	1.23
		M2	1.19	1.13	1.3	1.21
		M3	1.01	0.98	1.18	1.06
		M4	0.78	0.82	0.87	0.82
		M5	0.48	0.39	0.51	0.47
		M6	0.49	0.3	0.44	0.41

Anexo 7. DESTILADO DEL EXTRACTO OPTIMO



1. Se mezclaron los residuos ya molidos con la mezcla óptima de solventes (M1)



2. Luego de la extracción se llevó a centrifugación por 5 min.



3. Destilación de la oleorresina en el rota vapor.



4. Obtención de la oleorresina luego del destilado.



5. Destilado final de capsaicinoides

Anexo 8. PROPIEDADES ORGANOLEPTICAS DEL EXTRACTO ÓPTIMO

COLOR	Marrón
OLOR	Pungente
SABOR	Pungente

Anexo 9. CONCENTRACION Y PUNGENCIA DEL EXTRACTO ÓPTIMO

A. DETERMINACION DE CONCENTRACION DE CAPSAICINOIDES

REPETICION	ABS	CONC PPM	CONVERSION (FD)	CONC. g/g
1	0.2988	7484.83	1871208	0.4264
2	0.2465	7122.1	1780525	0.3136
3	0.2161	6814.66	1703665	0.2298

Concentración promedio de capsaicinoides es de 0.323 g/g



B. DETERMINACION DEL GRADO DE PUNGENCIA

$$\text{SHU} = [\text{Capsaicina (g/g)} \times (16.1 \times 10^6)]$$

C. DETERMINACION DE pH

