

UNIVERSIDAD NACIONAL DE AGRICULTURA

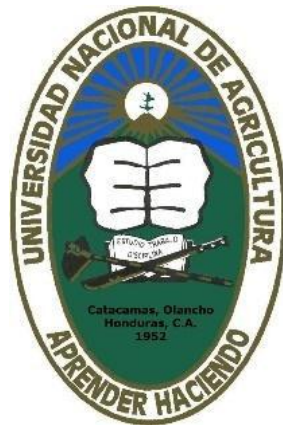
DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE CAPSAICINA DE ACCECIONES DE
(*Capsicum spp*) MEDIANTE CROMATOGRFÍA LIQUIDA DE ALTA RESOLUCIÓN
(HPLC) EN LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA, SEDE PALMIRA

POR:

EMERSON RICARDO ORTEGA COLINDRES

TESIS

PRESENTADO A LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE AGRICULTURA COMO
REQUISITO PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TITULO DE LICENCIADO EN
TECNOLOGÍA ALIMENTARIA



CATACAMAS, OLANCHO

HONDURAS, C. A.

DICIEMBRE, 2013

**DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE CAPSAICINA DE ACCESIONES DE
(*Capsicum spp*) MEDIANTE CROMATOGRAFÍA LIQUIDA DE ALTA
RESOLUCIÓN (HPLC) EN LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA,
SEDE PALMIRA**

POR:

EMERSON RICARDO ORTEGA COLINDRES.

ING. FANNY ALEYDA MARADIAGA CARRANZA

Asesor(a) Principal

TESIS

**PRESENTADO A LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE AGRICULTURA COMO
REQUISITO PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE LICENCIADO EN
TECNOLOGÍA ALIMENTARIA**

CATACAMAS

OLANCHO

DICIEMBRE, 2013

DEDICATORIA

A DIOS TODO PODEROSO, por su inmenso amor y por estar siempre con migo en cada momento de mi vida, gracias Dios por brindarme la salud y fuerza necesaria para llegar a culminar esta etapa de mi vida.

A MI FAMILIA por su amor y por brindarme su apoyo incondicional, motivándome a seguir adelante y no darme por vencido.

A MI MADRE del alma **Maritza Colindres Moncada** por ser mi fuerza, mis ganas de seguir delante, de luchar día con día, por guiarme por el buen camino inculcándome los valores necesarios para ser un hombre de bien, por ser la luz de mis ojos y por estar con migo en todo momento.

A MI PADRE Ricardo Antonio Ortega Espinal por ser el ángel que me cuida desde el cielo.

A MI MAMI TERE Y MI TIA REYNA por ser una madre más a lo largo de mi vida, por brindarme su amor como un hijo más en todo momento.

A MIS HERMANOS Jack Sahel Ortega Colindres, Leizer Sahar Ortega Colindres y Joseline Michele Colindres por estar con migo siempre en todo momento y por cada palabra de motivación cando más la necesite.

AGRADECIMIENTO

Le agradezco a **Dios** por haberme permitido alcanzar esta meta, y por ser parte fundamental de mi vida gracias por tu infinito amor.

A mi **Alma Mater** la **Universidad Nacional de Agricultura** por darme la formación para ser un buen profesional.

A mi madre **Maritza Colindres Moncada** por su amor y apoyo en todo momento de mi vida.

A mis tíos **Juan Amílcar Colindres Moncada** y **Fuggy Ernestina Castro** por sus consejos y por todo su apoyo incondicional.

A mis tíos **Reyna Colindres, Estela Colindres, Aurora Colindres, Rosicela Colindres, Cesar Colindres, Suyapa Ortega y Romel Ortega** por cada palabra de motivación y siempre apoyarme en todo.

A mis primos queridos **Jean Andrei Buezo Colindres** y especialmente **Ivonne Waleska Garcia Colindres** por su amor, tiempo, cariño y cada palabra de motivación.

A mis abuelos **Teresa Moncada, Miguel Ángel Colindres, Isaura Espinal y José Ortega** quien siempre me ha apoyado en cada aspecto de mi vida los quiero mucho.

A mi amigo y hermano **José Edgardo Mejía** por estar en las buenas y en las malas, por cada palabra de motivación y por incentivarme a seguir adelante en la lucha del saber, y sobre todo por ser el mejor amigo que tengo.

Muy afectuosamente a **Reyna Alejandra Isaula** por compartir conmigo cada alegría y tristeza y brindarme su cariño y apoyo incondicional.

A mis asesores en Honduras **Ph.D. José Santiago Maradiaga, M.Sc. Fanny Aleyda Maradiaga e Ing. Ramón Antonio Herrera**, por su tiempo y comprensión para el desarrollo de este trabajo, a mis asesores en Colombia **Ph.D. Mario Augusto García y Ph.D. Jaime Eduardo Muños** por brindarme la oportunidad de realizar esta investigación en sus laboratorios y brindarme se asesoría

A todos los **docentes** de la Carrera de Tecnología Alimentaria por haberme transmitido sus conocimientos, por sus consejos y todo el tiempo dedicado.

A mis **Amigos y compañeros de Tecnología Alimentaria clase 2013**, José Mejía, Alejandra Isaula, Ximena Calderón, Debora Mejía, Francisco Sánchez, Hugo Martínez, Luis Salgado, Fernando Rodríguez, Denis Lobo, Fernando Díaz, Dania Bustillo, Keysi Díaz. Por cada vivencias, momento de alegría, tristeza, y cada experiencia que compartimos a lo largo de la carrera

A mi primo **Elvis Fernando Ortega** por su amistad y gratos momentos compartidos

A mis amigos, Sady Gustavo Lavaire, Luis Aníbal Serrano, Derick Ariel Jiménez, Jairo Sady Flores, Fernando Isaula, Mario Rolando Almendarez y Selvin Cocas por cada momento de alegría, enojo, risas, y cada experiencia vivida día con día demostrando que los verdaderos amigos están presentes en los buenos y malos momentos.

CONTENIDO

	Pág.
DEDICATORIA	ii
AGRADECIMIENTO	iii
CONTENIDO	v
LISTA DE TABLAS	vii
LISTA DE FIGURAS	viii
LISTA DE ANEXOS	ix
RESUMEN	xi
I. INTRODUCCIÓN	1
II. OBJETIVOS	2
2.1. General.....	2
2.2. Específicos	2
III. REVISIÓN DE LITERATURA	3
3.1. Origen del <i>Capsicum</i>	3
3.2. Importancia del género <i>Capsicum</i>	3
3.3. Variedades del <i>Capsicum</i>	6
3.4. Nombres que recibe el <i>Capsicum</i>	7
3.5. Generalidades del <i>Capsicum</i>	7
3.7. Características del Fruto	8
3.8. Manejo de poscosecha	9
3.8.1. Calidad.....	9
3.8.2. Temperatura optima.....	9

3.8.3. Valor nutricional.....	10
3.8.4. Preenfriamiento	10
3.9. Capsaicina.....	11
3.9.1. Generalidades de la Capsaicina	12
3.9.2. Características físicas y químicas	14
3.9.3. Utilidad de la Capsaicina.....	15
3.10. Escala <i>Scoville</i>	16
3.11. Extracción Soxhlet.....	17
3.12. Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC)	19
3.12.1. Proceso Cromatográfico	19
3.12.2. Clasificación de cromatografía líquida.....	19
3.12.3. Instrumentación	21
IV. MATERIALES Y MÉTODOS	23
4.1. Ubicación y descripción del sitio de investigación:.....	23
4.2. Materiales.....	23
4.3. Equipo.....	24
4.3.1. Metodología.....	24
4.3.2. Metodología utilizada en laboratorio de Química.....	25
4.3.3. Metodología utilizada en el HPLC en el laboratorio de Biología Molecular	26
4.4. Diseño de la investigación	29
V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	30
5.1. Contenido de Capsaicina mediante cromatografía líquida de alta resolución	30
VI. CONCLUSIONES.....	40
VII. RECOMENDACIONES	41
VIII. BIBLIOGRAFÍA.....	42
ANEXOS	45

LISTA DE TABLAS

No	Pág.
1. Principales países productores de <i>Capsicum</i> a nivel mundial.....	4
2. Principales países importadores y su valor en dólares de <i>Capsicum</i> a nivel mundial.....	4
3. Principales exportadores y su valor en dólares de <i>Capsicum</i> a nivel mundial.....	5
4. Especies silvestres, semidomesticadas y domesticadas de <i>Capsicum</i>	6
5. Clasificación de capsaicinoides comúnmente presentes en <i>Capsicum annum</i>	11
6. Análisis de Varianza para CAPMGGAJÍ.....	32
7. Análisis de Varianza para Scoville.....	33
8. Pruebas de rango múltiple de Duncan para CAPMGGAJÍ	33
9. Pruebas de rango múltiple de Duncan para SCOVILLE.....	34
10. Pruebas de rango múltiple de Duncan para CAPMGGAJÍ, INYEC	35
11. Prueba de rango múltiple de Duncan para SCOVILLE, INYEC	36
12. Pruebas de rango múltiple de Duncan para SCOVILLE, PARFRUT	36
13. Prueba de rango múltiple de Duncan para SCOVILLE, PARFRUT	37
14. Pruebas de rango múltiple de Duncan para la interacción IDENT*PARTFRUT CAPMGGAJ.....	38
15. Pruebas de rango múltiple de Duncan para la interacción IDENT*PARTFRUT SCOVILLE.....	39

LISTA DE FIGURAS

No	Pág.
1. Nomenclatura y Formula Química de la Capsaicina	12
2. Mecanismo de acción de la Capsaicina	14
3. Escala Scoville Heat Units	17
4. Equipo de Extracción Soxhlet.	18
5. Componentes básicos del HPLC	22
6 Promedios de concentraciones de capsaicina dada por el HPLC. Ccm (mg/ml)	31

LISTA DE ANEXOS

No	Pág.
1. Frutos frescos de chile	46
2. Cortado de muestra en tiras, cuadros o rodajas.	46
3. Introducir muestra en balón de 250 ml añadiendo alcohol en una relación 1-10.....	47
4. Extracción de Capsaicina por medio de equipo Soxhlet	47
5. Concentración de muestra y recuperación de alcohol por medio de rotevaporador Buchi.	48
6. Muestra rotaevaporada a una concentración de 6 ml y empacada en tubo falcón.....	48
7. Partes de Cromatografía Liquida de alta resolución (HPLC).....	49
8. Icono de Bootp	49
9. Software Online de HPLC (encendido de la Bomba y detector UV).....	50
10. Filtración de la muestra	50
11. Fase móvil para HPLC	51
12. Filtrador de fase móvil por filtro millipore de membrana HV (Durapore) en PVDF ...	51
13. Desgacificador de baño ultrasonido.	52
14. Purgado de Microjeringa con la muestra a Analizar	52
15. Contenido de Capsaicina dado por el HPLC	53
16. Contenido de capsaicina de muestras finales.	56
17. Pruebas de rango múltiple de Duncan para CAPMGGAJÍ	57
18. Pruebas de rango múltiple de Duncan para SCOVILLE.....	57
19. Prueba del rango múltiple de Duncan para CAPMGGAJÍ, INYEC.....	58
20. Prueba del rango múltiple de Duncan para SCOVILLE, INYEC	58
21. Prueba del rango múltiple de Duncan para CAPMGGAJ PARFRUT	59

22. Prueba del rango múltiple de Duncan para SCOVILLE, PARFRUT	59
23. Pruebas de rango múltiple de Duncan para la interacción IDENT*PARTFRUT CAPMGGAJ	60
24. Pruebas de rango múltiple de Duncan para la interacción IDENT*PARTFRUT SCOVILLE	60

ORTEGA COLINDRES, E.R. 2013. Determinación del Contenido de Capsaicina de Accesiones de (*Capsicum spp*) Mediante Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC) en la Universidad Nacional de Colombia Sede Palmira. Tesis Licenciado en Tecnología Alimentaria, Universidad Nacional de Agricultura, Catacamas, Olancho, Honduras. 60 p

RESUMEN

La capsaicina es el principal pungente de distintas especies de *Capsicum spp* y su contenido varía notablemente dependiendo del genotipo, prácticas de cultivo, edad del fruto y de las condiciones climáticas. Recientemente la extracción por Cromatografía Líquida de Alta Resolución HPLC ha tenido mucho auge ya que mediante el uso de este equipo se puede determinar diferentes componentes como vitamina C y otros compuestos como la concentración de capsaicina contenida en el fruto del *Capsicum*. Por razones como las mencionadas anteriormente es necesario este tipo de investigación, la cual se realizó en las instalaciones del laboratorio de Biología Molecular y de Química General de la Universidad Nacional de Colombia, Sede Palmira el objetivo de este estudio fue determinar el contenido de capsaicina de accesiones de *Capsicum spp*. Por medio de cromatografía líquida de alta resolución, evaluando que variedad presenta el mejor contenido y delimitar en que parte del fruto se concentra el mayor porcentaje de capsaicina. Para lo cual se extrajo la capsaicina inicialmente por medio de equipo soxhlet posteriormente rotaevaporando la muestra para proceder a filtrar eliminando partículas grandes. Ya terminado el proceso de extracción se procedió a inyectar 25 µl de muestra en el HPLC realizando tres repeticiones para disminuir el error. Sabiendo el contenido de capsaicina presente en cada fruto evaluado se procedió a seleccionar 6 muestras representativas en sus niveles altos medios y bajos para calcular en que parte del fruto se concentra el mayor contenido de capsaicina y cuál es la variedad que refleja el mejor porcentaje de contenido. Mediante resultados obtenidos en el modelo estadístico se refleja que existe diferencia altamente significativa entre las diferentes identificaciones de los frutos, también en la parte del fruto ya que son partes totalmente diferentes y en la interacción de identificación con respecto a la parte del fruto refleja alta significancia y que no existe significancia alguna para las inyecciones realizadas determinando que variedad que contiene el mayor contenido de capsaicina fue la muestra 42012504 siendo el habanero el más significativo y que siendo la parte del pedúnculo (P) el más representativo para los dos factores de estudios CAPMGGAJÍ y SCOVILLE

Palabras Claves: *Capsicum spp*, Capsaicina, pungente, HPLC.

I. INTRODUCCIÓN

Los compuestos que dan el sabor picante al chile se denominan capsaicinoides, siendo la capsaicina el compuesto más potente. La capsaicina fue aislada por J. Thresh Por otra parte K. Micko, obtuvo la capsaicina con mayor pureza en forma cristalina y con propiedades de un fenol con color a vainilla. Años adelante, E.K Nelson asigno la fórmula de la capsaicina (C₁₈ H₂₇ NO₃)

El principal pungente de distintas especies de chile (*Capsicum spp*) es la capsaicina y su contenido varia notablemente dependiendo de genotipo, prácticas de cultivo, de la edad del fruto y de las condiciones climáticas. El contenido de capsaicina es mayor en la placenta del fruto, principalmente en el septo, donde células de la epidermis se transforman en glándulas ricas en esta sustancia.

El género *Capsicum* y la capsaicina están implicados en más investigaciones que cualquier genotipo por separado debido a que recientes estudios avalan la capacidad analgésica. Este alcaloide también tiene acción antiinflamatoria y que la Capsaicina podría destruir células cancerígenas antes de que estas causen problemas.

Siendo la Cromatografía líquida de alta Resolución uno de los métodos más utilizados para observar el contenido de capsaicina presente en el fruto del chile y así poder determinar la mejor variedad para ser utilizada ya sea a nivel industrial o medicinal

II. OBJETIVOS

2.1. General

- ✓ Determinar el contenido de capsaicina de accesiones de *Capsicum spp.* Por medio de Cromatografía líquida de alta resolución (HPLC)

2.2. Específicos

- ✓ Evaluar qué variedad de *Capsicum* obtiene el mayor contenido de Capsaicina mediante Cromatografía líquida de alta resolución (HPLC)
- ✓ Identificar y delimitar en qué parte del fruto se concentra la mayor cantidad de capsaicina.

III. REVISIÓN DE LITERATURA

3.1. Origen del *Capsicum*

El género *Capsicum* es originario de América del Sur y Central. Los hallazgos arqueológicos lo relacionan con las civilizaciones Maya y Azteca (México y Centro América) y precolombinas de América del Sur. Las evidencias se remontan hacia unos 7.000 – 4000 años en las cavernas de Tamaulipas y Tehuacán en México, en América Central y en Perú. El último reporte dado por BBC News, dice que se encontraron restos de semilla al suroeste del Ecuador en la península de Santa Elena donde usaban el ají para el consumo o intercambio, el reportaje afirma que el uso de este producto se realizó primero antes que en los antiplanos peruanos o en México (Pardey 2008).

Se considera como una de las primeras plantas cultivadas en Mesoamérica, en especial el *Capsicum Annuum* que se domesticó desde la época prehispánica. El chile fue la base de la alimentación de las culturas de Mesoamérica, originado entre Perú y Bolivia, y domesticado por primera vez en México. De América, el chile fue llevado a Europa, Asia y África por los conquistadores españoles y portugueses, y se convirtió en un cultivo de uso mundial. (Codex Alimentarius *et. al* 2008).

3.2. Importancia del género *Capsicum*

El chile es una hortaliza que se cultiva en los dos ciclos agrícolas y forma parte del grupo de los principales productos hortofrutícolas que se exportan (Pérez Moreno *et al.* 2005).

La comercialización de ajíes y pimentones ha registrado un crecimiento positivo a causa del aumento de la población, la demanda para la exportación y el significativo aumento en los usos industriales (Rodríguez 2000).

Según Silva F. 2011. La superficie cultivada de *Capsicum* en el mundo, es 1'879.078 hectáreas, con una producción de 28'483.822 toneladas. Los principales países productores China y Turquía ocupando el primer y segundo lugar de producción a nivel mundial como se puede observar en Tabla 1.

Tabla 1. Principales países productores de *Capsicum* a nivel mundial.

Posición Mundial En Producción	País	Producción (Ton)	Área Cosechada en (ha)
1	China	14.524.178	662.296
2	Turquía	1.837.003	90.000
3	España	1.011.700	20.400
4	Estados Unidos	926.68	32.610
5	Egipto	800.000	45.000
6	Argelia	318.949	21.417
7	Túnez	290.000	22.000
8	Etiopía	249.276	118.897
9	Rumania	245.661	19.917
10	Italia	230.600	12.100

FAO 2009. Citado por Silva F., 2011

Tabla 2 Principales países importadores y su valor en dólares de *Capsicum* a nivel mundial

País	Cantidad de importación (Ton)	Valor de la importación (Dólares)
Estados Unidos	616.525	812.878.000
Alemania	303.660	757.212.000
Reino Unido	150.139	396.970.000
Francia	135.080	254.348.000
Canadá	108.792	193.144.000

FAO 2009. Citado por Silva F.2011.

El mercado de chiles a nivel mundial es significativamente importante, siendo Estados Unidos, Alemania y Reino Unido los principales importadores como se puede observar en la tabla 2.

Tabla 3. Principales exportadores y su valor en dólares de *Capsicum* a nivel mundial

Posición mundial en exportación	País	Cantidad exportación (Ton)	Valor exportación (Dólares)
1	México	580.864	623.537.000
2	España	435.221	914.121.000
3	Países Bajos	407.667	1'163.790.000
4	Estados Unidos	106.902	183.481.000
5	Israel	80.911	170.985.000
6	China	74.506	21.165.000

FAO 2009. Citado por silva F. 2011.

El mercado del chiles ha incrementado, aumentando la exportación a nivel mundial siendo México, España, países bajos y Estados Unidos los países con un alto nivel de exportación a nivel mundial mostrados en tabla 3.

Conjuntamente con la yuca y el pescado, el chile es una de las especies más importante dentro de la dieta culinaria y medicinal de las culturas indígenas. El cultivo se realiza en chagras y huertos habitacionales, dentro de un sistema de agricultura tradicional caracterizado por tala y quema, que luego son abandonados para permitir una regeneración boscosa. Esta práctica milenaria y la facilidad con que se cruzan las diferentes formas de *Capsicum*, han contribuido de una manera indirecta a la conservación *in situ* y al incremento de la diversidad del germoplasma, lo cual se ve reflejada en los múltiples tipos de ajíes con los que hoy cuenta los agricultores indígenas en todas las regiones (Rodríguez 2000).

3.3. Variedades del *Capsicum*

Dependiendo de la variedad y el uso. De acuerdo a la clasificación taxonómica el chile, también puede ser subclasificado por la especie. En el mundo existen 200 especies silvestres de *Capsicum* conocidas y solo 5 domesticadas. El *C. annuum L.*, *C. baccatum L.*, *C. frutescens L.*, *C. chinense* y *C. pubescens*. Observadas en tabla 4. El primero tiene muchas variedades entre los cuales se encuentran el *C. annum var. annum.* están contenidos la mayor cantidad de todos los chiles que se cosechan. (Etizaldes 2008).

Tabla 4. Especies silvestres, semidomesticadas y domesticadas de *Capsicum*

Especies silvestres	Especies semidomesticadas	Especies domésticas
<i>C. buforum</i> A. T. Hunz	<i>C. annuum var labriusculum</i>	<i>C. annuum</i> L.
<i>C. campylopodium</i> Sendt	<i>C. baccatum var Baccatum</i>	<i>C. baccatum</i> L. var <i>pendulum (willd)</i>
<i>C. chacoense var tometosum</i>	<i>C. baccatum var praetermissum</i>	<i>C. chinense</i> jacq
<i>C. ciliatum</i>	<i>C. chinense (forma silvestre)</i>	<i>C. frutescens</i> L.
<i>C. coccineatum</i>	<i>C. frutescens (forma silvestre)</i>	<i>C. pubescens</i> Ruiz y pavón
<i>C. cornutum</i> (Hiern) A. T. Hunz	<i>C. cardenasii</i> Heiser & Smith	
<i>C. dimorphum</i> (Miers)	<i>C. eximium</i> A. T. Hunz	
<i>C. flexuosum</i> Send	<i>C. tovari</i>	
<i>C. dusenii</i> Bitter	<i>C. chacoense</i> A. T. Hunz	
<i>C. geminifolium</i> A. T. Hunz	<i>C. galapagoense</i> A. T. Hunz	
<i>C. hookerianum</i> (Miers)	<i>C. annuum var avicularen</i>	
<i>C. lanceolatum</i> (Morton & Standley)		
<i>C. minutiflorum</i>		
<i>C. mirabile</i> Mart.		
<i>C. parvifolium</i> Sendt		
<i>C. schottianum</i>		
<i>C. scolnikianum</i> A. T. Hunz		
<i>c. pendulum</i>		
<i>C. villosum</i> Send		

Pickersgill, 1983 citado por Pardey 2008.

3.4. Nombres que recibe el *Capsicum*

Los frutos de la especie del género *Capsicum* son conocidas popularmente como ají, chilli (o chile) entre sus varias denominaciones. El nombre *Capsicum* deriva de la palabra griega “kapso” o morder, que se relaciona a su sabor picante. (Peruano 2011).

3.5. Generalidades del *Capsicum*

El género *Capsicum* comprende los chiles y pimentones, que corresponden a aquellas especies picantes y no picantes respectivamente. Este género posee un gran número de especies originadas, domesticadas y distribuidas a lo largo de la zona tropical del continente Americano, principalmente en las regiones de Centro América, Zona Andina y la Amazonía. Cabe anotar que los frutos del ají (*Capsicum spp.*) están entre los vegetales más consumidos en el mundo debido a la característica única del género, que causa pungencia y la cual es debida a la presencia de compuestos alcaloides del grupo *capsaicinoides*, presentes en la placenta de los frutos maduros. La respuesta de dolor o picante, de estos compuestos, es debido a la activación de los receptores TRPV1 (VR1) en mamíferos, la cual es aliviada con la producción de endorfinas por parte del cerebro, enmascarando la sensación de dolor y causan al mismo tiempo una sensación de placer similar a la generada al consumir chocolate. (Caterina et al., 1997, 2000; Jordt y Julius, 2002. consultado por Silva 2011).

3.6. Contexto internacional del chile (*Capsicum spp.*)

La producción mundial de los chiles ha tenido un crecimiento espectacular en los últimos diez años, con un 43% de incremento en la superficie, y con un 96% de incremento en los volúmenes de producción (CONAPROCH 2006). Este aumento, principalmente los tipos

picasas, se debe a la creciente demanda de este producto en todas sus presentaciones (fresco, seco, y procesado). Se estima que el 25% de la población mundial consume diariamente algún tipo de chile (Rodríguez del Bosque *et al.* 2004).

En cuanto a los países del mundo que cultivan chiles, china es el que presenta una mayor participación en la producción a nivel mundial (CONAPROCH 2007).

Los países con rendimientos más altos son aquellos que emplean tecnologías de alta precisión para la aplicación de riesgos y fertilizantes, entre los que se encuentran Holanda y Reino Unido con 262 y 247 ton/ha respectivamente.

El siguiente grupo lo forman Kuwait, Austria, Israel, Bélgica, España, Japón y Francia, con rendimientos superiores a las 4^o ton/ha. El promedio mundial es de 19.60 ton/ha. Un grupo intermedio de países con rendimientos entre 20 y 49 ton/ha lo integran Estados Unidos, Italia, Francia, Japón, Grecia, y Turquía entre otros (CONAPROCH 2007).

3.7. Características del Fruto

El fruto de *Capsicum* es una baya con características muy variables. El peso fluctúa entre unos pocos gramos hasta medio kilo. Se encuentran formas acorazonadas, largas, cilíndricas, cónicas, rectangulares (Hernández M. *et. al* s.f.)

Inmaduros de color blanco, verde, café y hasta negro. En estado maduro predominan los frutos de color rojo, pero también los hay de color marfil, amarillo, anaranjado, café, lila, morado y negro (Fotografía 3). En la placenta se disponen numerosas semillas pequeñas, planas y de color crema a pardo. Las semillas del *C. pubescens* son de color negro, únicas en el género (Hernández M. *et. al* s.f.)

3.8. Manejo de poscosecha

Los frutos y verduras, en general, productos hortofrutícolas son cosechados cuando alcanzan el estado de desarrollo apropiado para el mercado y el consumidor final. La recolección genera estrés o lo que es lo mismo una tensión en el producto, que desencadena incrementos en la respiración, maduración acelerada y muerte del producto de manera rápida. La tecnología de poscosecha es aplicada para disminuir el incremento en el metabolismo de los productos cosechados. Para ello se emplean diferentes tratamientos que incluyen preferiblemente el uso de baja temperatura, preenfriamiento, atmósferas modificadas, retardantes de maduración, ceras y películas comestibles entre otras que contribuyen a hacer lentos los cambios asociados con la senescencia del producto hortícola (Hernández M. *et. al* s.f.)

3.8.1. Calidad

- ✓ Uniformidad de forma, tamaño y color típico del cultivar.
- ✓ Firmeza.
- ✓ Ausencia de defectos; tales como grietas, pudriciones y quemaduras de sol.

3.8.2. Temperatura optima

Los chiles se deben enfriar lo más rápido posible para reducir pérdidas de agua. Los chiles almacenados a temperaturas mayores a 7.5°C, pierden más agua y se arrugan. Para una vida útil más larga (3-5 semanas) lo mejor es almacenar los frutos a 7.5°C. También se pueden almacenar por dos semanas a 5°C, lo que reduce pérdidas de agua pero conlleva a la manifestación de daño por frío tras ese período. Entre los síntomas de daño por frío están el picado, pudrición, coloración anormal de la cavidad interna y ablandamiento sin pérdida de

agua. Los chiles maduros o que ya lograron su color son menos sensibles al daño por frío que los chiles verdes. (Cultivo de pimiento s.f.).

Humedad relativa óptima: >95%; la firmeza de los pimientos se relaciona directamente con pérdidas de agua. (Cultivo de pimiento s.f.).

Tasa de respiración:

- ✓ 18-20 ml CO₂/kg h a 20°C.
- ✓ 5-8 ml CO₂/kg h a 10°C.
- ✓ 3-4 ml CO₂/kg h a 5°C.

La tasa de respiración de los frutos rojos y verdes es parecida. (Cultivo de pimiento s.f.).

3.8.3. Valor nutricional

El fruto fresco de pimiento destaca por sus altos contenidos en vitaminas A y C y en calcio. Dependiendo de variedades puede tener diversos contenidos de capsaicinoides, alcaloides responsables del sabor picante y de pigmentos carotenoides. (Cultivo de pimiento s.f.).

3.8.4. Preenfriamiento

Un incremento en la temperatura de los productos hortícolas recién cosechados (calor de campo) se genera como resultado de las acciones de recolección, acopio y transporte hasta la central de distribución. Cuando sea posible, conviene eliminar mediante un proceso de pre-refrigeración el calor de campo, hasta obtener la temperatura de almacenamiento y la humedad relativa recomendadas para mantener la calidad de las frutas y hortalizas. En general, altas temperaturas deterioran la calidad de la mayoría de los productos durante estos primeros eslabones de la cadena. La pre-refrigeración alarga la duración del producto al reducir: el calor del campo; la tasa de respiración y el calor generado por el producto; la

velocidad de maduración; la deshidratación; la producción de etileno y la pudrición. (Hernández M. *et. al* s.f.).

La pre-refrigeración será exitosa siempre y cuando el tiempo entre la cosecha y la operación sea corto, y se tengan en cuenta: el contenedor para el transporte, la temperatura inicial del producto, la velocidad o cantidad de aire frío, agua o hielo suministrados. Se requiere, así mismo, que el agua o el aire sean limpios a fin de evitar la contaminación del producto tratado. La cadena de frío no debe interrumpirse en ninguna etapa. (Hernández M. *et. al* s.f.).

3.9. Capsaicina

El ingrediente activo de los chiles, considerado en un inicio como una sola sustancia: Capsaicina, es actualmente llamada capsaicinoides. Los capsaicinoides son producidos por glándulas en la placenta del chile, que es la parte superior justo debajo de tallo. (Chile s.f.).

Los componentes pungentes del *Capsicum annum* incluyen por lo menos cinco compuestos conocidos como capsaicinoides a los que incluso se les ha valorado su pungencia. (Chile s.f.). Como se puede observar en la tabla 5.

Tabla 5. Clasificación de capsaicinoides comúnmente presentes en *Capsicum annum*

Nombre	Nombres científico	Unidad Scoville	Porcentaje
capsaicina (C)	trans-8-metil-n-vanillil-6-nonamida	16,000,000	69%
Dihidrocapsaicina (DHC)	8-metil-n-vanillil-6-nonamida	16,000,000	22%
Nordihidrocapsaicina (NDHC)	7-metil-n-vanillil-octamida	9,100,000	7%
Homodihidrocapsaicina (HDHC)	9-metil-n-vanillil-decamida	8,600,000	1%
Homocapsaicina (HC)	trans-9metil-n-vanillil-7-decanamida	860000%	1%

La capsaicina y dihidrocapsaicina son los compuestos más fuertes y producen ardor por toda la boca. Nordihidrocapsaicina es el compuesto menos irritante y poco dulce, homodihidrocapsaicina es un compuesto muy irritante y produce cierto ardor, el más prolongado en su duración. La homocapsaicina produce poco ardor en la garganta, con una sensación lenta de pungencia a través de ella. Evidentemente todos los capsaicinoides actúan juntos para producir la pungencia de los chiles, pero la capsaicina es el más fuerte de todos los compuestos. (Chile s.f.).

3.9.1. Generalidades de la Capsaicina

En la figura 1 se puede apreciar la estructura de uno de los componentes responsables de la pungencia del chile. Los compuestos que dan el sabor picante al chile se denominan capsaicinoides, siendo la capsaicina el compuesto más potente. La capsaicina fue aislada por J. Thresh (Peruano, 2011). Por otra parte K. Micko, obtuvo la capsaicina con mayor pureza en forma cristalina y con propiedades de un fenol con color a vainilla. Años adelante, E.K Nelson asignó la fórmula de la capsaicina ($C_{18}H_{27}NO_3$) (Etizaldes 2008).

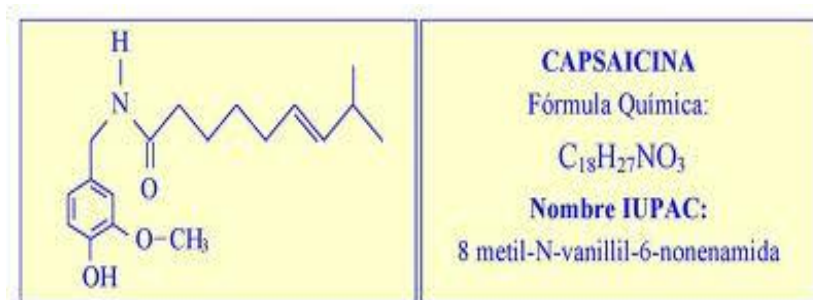


Figura 1. Nomenclatura y Fórmula Química de la Capsaicina

Se caracteriza por ser un polvo blanco insoluble en agua pero muy soluble en alcohol y aceites el ardor al comer chile se puede calmar más eficientemente con leche y helados que con agua. (Peruano 2011).

La capsaicina tiene una forma de cristales blancos con puntos de fusión de 337.65 K y es volátil arriba de esta temperatura, el vapor de la capsaicina es irritante y altamente tóxico. Además es un compuesto lipofílico, insoluble en agua a temperatura ambiente y soluble en alcoholes, acetona, benceno y cloroformo. Debido a la presencia de un anillo bencénico, los capsaicinoides pueden absorber la luz en la región ultravioleta (UV) a una onda de 280nm. (Etizaldes 2008).

El contenido de capsaicina es mayor en la placenta del fruto, principalmente en el septo, donde células de la epidermis se transforman en glándulas ricas en esta sustancia. Los septos se desarrollan en la sutura de los carpelos, ordinariamente entre 2 y 4. La formación de capsaicina se inicia a los pocos días de cuajado el fruto, alcanzando el mayor contenido al momento de maduración. El contenido de capsaicina depende de la variedad y de la interacción genotipo por ambiente. Variedades dulces se consideran cuando el contenido de capsaicinoides está por debajo de 10 ppm, que es el límite para que las papilas gustativas humanas puedan detectar el sabor picante. La formación de capsaicina es mayor a temperatura elevadas (30° C) que a temperaturas suaves (21-24°C) (Pardey 2008).

En la figura 2 se puede notar la acción que manifiesta la capsaicina al ser consumida. El ardor que se siente al comer chile y la sensación de la quemadura activa fibras nerviosas empleando el mismo receptor. Esto fue descubierto por D. Julius. Este receptor se activa al unirse a la capsaicina, permitiendo un flujo enorme de Na⁺ y Ca⁺. Este flujo despolariza las fibras nerviosas del dolor y envía la señal al cerebro generando la conocida sensación de ardor (Peruano 2011).

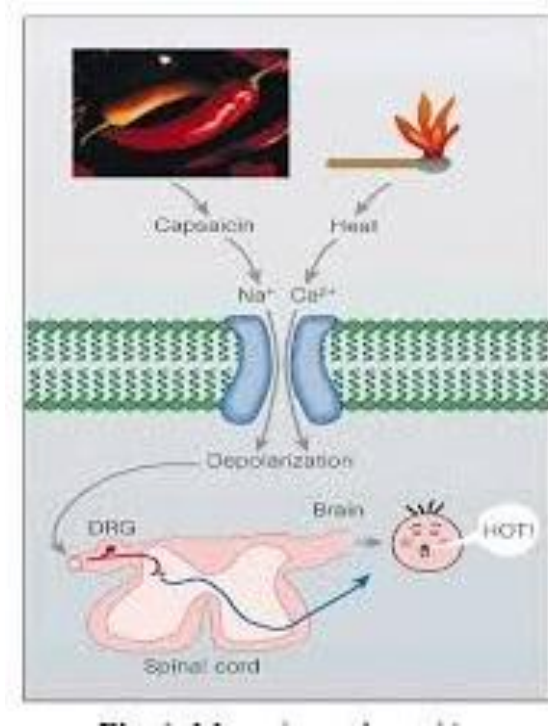


Figura 2. Mecanismo de acción de la Capsaicina

La capsaicina es un producto irritante; la administración inicial causa dolor. El tratamiento prolongado causa insensibilidad al estímulo doloroso e induce degeneración selectiva de ciertos sensores de neuronas primarias. El pre tratamiento de la capsaicina también induce desensibilización vía aérea de larga duración de mucosa a varios irritantes químicos y mecánicos (Black 2009).

3.9.2. Características físicas y químicas

La capsaicina o capsicina es el componente responsable del comportamiento picante, en mayor o menor grado, de los frutos de la familia *Capsicum*, localizándose, fundamentalmente, en sus semillas y membranas. Es un compuesto orgánico de nitrógeno de naturaleza lipídica, frecuentemente clasificado, de forma errónea, como un alcaloide. (Black B 2009).

Prácticamente insoluble en agua fría; completamente soluble en alcoholes, éter, benceno, cloroformo

La capsaicina purificada, diluida cien mil veces, sigue siendo tan activa que a un es capaz de producir ampollas en la lengua. Es la responsable de la sensación de ardor, e incluso dolor, en la mucosa oral. Estimula las secreciones gástricas y, si se usa en demasía, ocasiona inflamación. También posee cualidades descongestivas y, a concentraciones adecuadas, favorece en el cerebro la producción de endorfinas, que son moléculas que promueven la sensación de bienestar. (Black 2009).

3.9.3. Utilidad de la Capsaicina

Debido a sus acciones específicas la capsaicina es utilizada en los laboratorios de investigación neuronal ya que, dependiendo de su dosis puede provocar efectos analgésicos, antiinflamatorios o, por el contrario, favorecer la muerte neuronal. Asimismo, ha permitido definir las funciones eferentes de las neuronas sensoriales peptidérgicas. También el estudio de las acciones selectivas neuronales de la capsaicina está ayudando al progreso del conocimiento de ciertas funciones neuronales. Aunque ello parezca extraño, la capsaicina, por sí misma, es una molécula sin sabor ni olor. Sus acciones se ejecutan a través de su reconocimiento por parte de una proteína receptora, que no es específica para ella, sino que también efectúa otras funciones de reconocimiento (Black 2009).

Por la sensación de ardor que produce, la capsaicina es comúnmente usada en productos alimenticios para hacerlos más picantes. El grado de picor de un alimento se mide por la Escala Scoville. Usualmente la fuente de capsaicina que se utiliza es el chile, aunque también es frecuente el uso de salsas picantes. Esto es preferible a usar capsaicina pura, por cuestiones de seguridad (Black 2009).

La capsaicina se usa también como medicamento, o como gas lacrimógeno. En grandes cantidades puede ser muy tóxica. Los síntomas de envenenamiento son dificultad para respirar, piel azul y convulsiones. Sin embargo, es extremadamente raro el envenenamiento accidental por consumo de chile. (Black 2009).

Un estudio reciente de la Universidad de Nottingham, y que fue publicado en "Biochemical and Biophysical Research Communications" sugiere que esta sustancia es efectiva como tratamiento anticanceroso, se menciona que los vaniloides, familia de moléculas a la que pertenece la capsaicina, se adhieren a las proteínas en la mitocondria de la célula cancerosa y genera su muerte celular o apoptosis, lo más importante es que se logra sin generar daño a las células sanas circundantes, todo esto debido a que la bioquímica de la mitocondria en la células cancerosas es muy diferente de la de las células normales. (Black 2009).

3.10. Escala *Scoville*

La escala Scoville es una medida de picor en los chiles (también conocidos como ajíes, morrones o pimientos). Como se puede observar en figura 3 estas frutas del género *Capsicum* contienen Capsaicina, un componente químico el cual estimula el receptor térmico en la piel, especialmente las membranas mucosas. 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 publicarse en los centros comerciales. (Black 2009).

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

Figura 3. Escala Scoville Heat Units

Esta escala fue nombrada por Wilbur Scoville, quien desarrolló el examen organoléptico Scoville en 1912. Éste consiste en una solución con extracto de chile, que es diluida un número de veces en azúcar y agua hasta que el picante ya no puede ser detectado por un comité de examinadores; el número de veces que es diluido el extracto da el grado en la escala. Entonces un chile dulce, que no contiene Capsaicina, tiene cero en la escala de Scoville. Sin embargo entre los chiles más picantes como el habanero, encontramos un grado de 300.000 o más. Esto indica que el extracto fue diluido 300.000 veces antes que la Capsaicina fuese indetectable. La gran debilidad de este método recae en su imprecisión, pues la prueba está sujeta a la subjetividad humana. (Black 2009).

3.11. Extracción Soxhlet

El equipo Soxhlet observado en figura 4 tiene como función recircular los vapores condensados con ayuda de un sifón a la fuente de disolvente que se encuentra en evaporación continua, arrastrando consigo los principios activos de la materia prima

contenido en los cartuchos desechables. La capacidad aproximada en un equipo de laboratorio es de 500 ml de volumen primario con una recirculación de 100 ml cada cinco minutos aproximadamente en estado estable. La velocidad de reflujo depende directamente de la eficiencia y el tamaño del condensador. La sustancia sólida se introduce en un cartucho poroso (generalmente hecho con papel de filtro, que permite al solvente entrar y salir reteniendo al sólido) que se coloca en un recipiente (B). Se adosa un balón (C) a dicho recipiente donde se coloca el volumen de solvente que se utilizará en la extracción. Por el extremo superior del recipiente (B), se coloca un condensador (D). El solvente se calienta, los vapores ascienden por el tubo (E), condensan en el refrigerante (D) y caen dentro del recipiente (B) impregnando al sólido que se encuentra en el cartucho (A). EL recipiente (B) se va llenando lentamente de líquido hasta que llega al tope del tubo (F) y se descarga dentro del balón (C) repitiendo automáticamente hasta que la extracción se completa. El solvente de extracción se evapora, recuperando así a la sustancia deseada. (Caldas 2012).

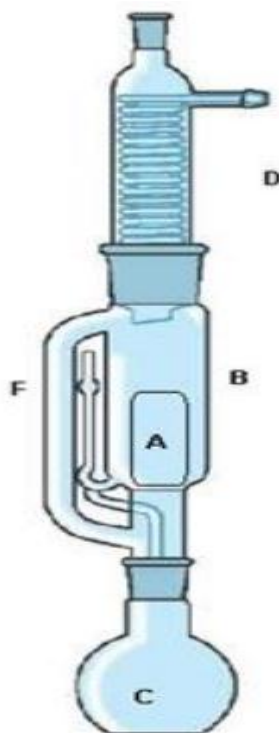


Figura 4. Equipo de Extracción Soxhlet.

Según Caldas A., 2012. Debe seleccionarse un solvente conveniente de tal forma que ofrezca el mejor balance de varias características deseables:

- ✓ Alto límite de saturación y selectividad respecto al soluto por extraer
- ✓ Capacidad para producir el material extraído con una calidad no alterada por el disolvente
- ✓ Estabilidad química en las condiciones del proceso
- ✓ Baja viscosidad, baja presión de vapor
- ✓ Baja toxicidad e inflamabilidad

3.12. Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC)

3.12.1. Proceso Cromatográfico

La cromatografía líquida de alta eficiencia se encuadra dentro de la cromatografía de elución. En esta, un líquido (fase móvil) circula en íntimo contacto con un sólido u otro líquido inmiscible (fase estacionaria); al introducir una mezcla de sustancias (analito) en la corriente de fase móvil, cada analito avanzará a lo largo del sistema con una velocidad diferente que dependerá de su afinidad por cada una de las fases. Esto supone que después de terminado el recorrido de la muestra por la columna, cada una de las sustancias introducidas en el sistema eluirá con un tiempo diferente, es decir, están separadas. (Cromatografía Líquida de Alta s.f.).

3.12.2. Clasificación de cromatografía líquida

Los diferentes tipos de cromatografía líquida se pueden clasificar de diferentes maneras pero la forma más habitual de clasificación es la realizada en base a la naturaleza de la fase

estacionaria, ya que es ésta la que impone fundamentalmente el mecanismo de separación; de este modo, se pueden enumerar cuatro tipos de técnicas. (Cromatografía Líquida de Alta s.f.).

- ✓ Cromatografía de adsorción (líquido-sólido),
La fase estacionaria es un adsorbente y la separación se basa en repetidas etapas de adsorción-desorción

- ✓ Cromatografía de reparto/adsorción (fase ligadas químicamente).
La separación en este caso, se basa del soluto entre fase móvil y fase estacionaria.

- ✓ Cromatografía de intercambio iónico.
Este tipo de cromatografía se da cuando la fase estacionaria presente en su superficie grupos ionizados capaces de retener selectivamente a iones de signo contrario que circulan en la fase móvil.

- ✓ Cromatografía de exclusión molecular.
La fase estacionaria, en este caso es un material poroso de tamaño de poro controlado, que permite la entrada de ciertas moléculas de manera selectiva, dejando fuera otras de mayor tamaño.

El mecanismo de retención en los dos primeros casos es similar, variando únicamente el tipo de interacciones que se producen y cuál de ellas es predominante; por esta razón, en la práctica se realiza otra división de los dos primeros tipos de cromatografía atendiendo a la polaridad de la fase estacionaria: (Cromatografía Líquida de Alta s.f.).

- ✓ Cromatografía de fase normal:
La fase estacionaria presenta puntos activos de alta polaridad y las interacciones que se producen con el soluto son específicas del grupo activo. La fase estacionaria

puede ser un sólido adsorbente (sílice o alúmina), o bien, un soporte al que se le unen químicamente moléculas orgánicas que presentan grupos funcionales de alta polaridad (ciano, amino, etc.).

✓ Cromatografía de fase reversa (inversa):

La fase tiene una naturaleza apolar (cadenas hidrocarbonadas, grupos fenilo) y las interacciones que se producen son inespecíficas (efecto solvóforo).

3.12.3. Instrumentación

Si bien es cierto que para realizar una cromatografía líquida tan solo es necesario disponer de las dos fases implicadas en el proceso y de la columna, la moderna cromatografía de líquidos de alta eficiencia, debido al pequeño diámetro de las partículas de fase estacionaria que se utilizan, requiere de la utilización de unos dispositivos que constituyen el Cromatógrafo. (Cromatografía Líquida de Alta s.f.).

Como se puede observar en la figura 5. Los componentes básicos de un cromatógrafo de líquidos son:

- ✓ Dispositivo de suministro de eluyentes (bomba y dispositivo de mezclado de eluyentes).
- ✓ Dispositivo de inyección.
- ✓ Conducciones y conexiones.
- ✓ Detector y registrador.
- ✓ Columna

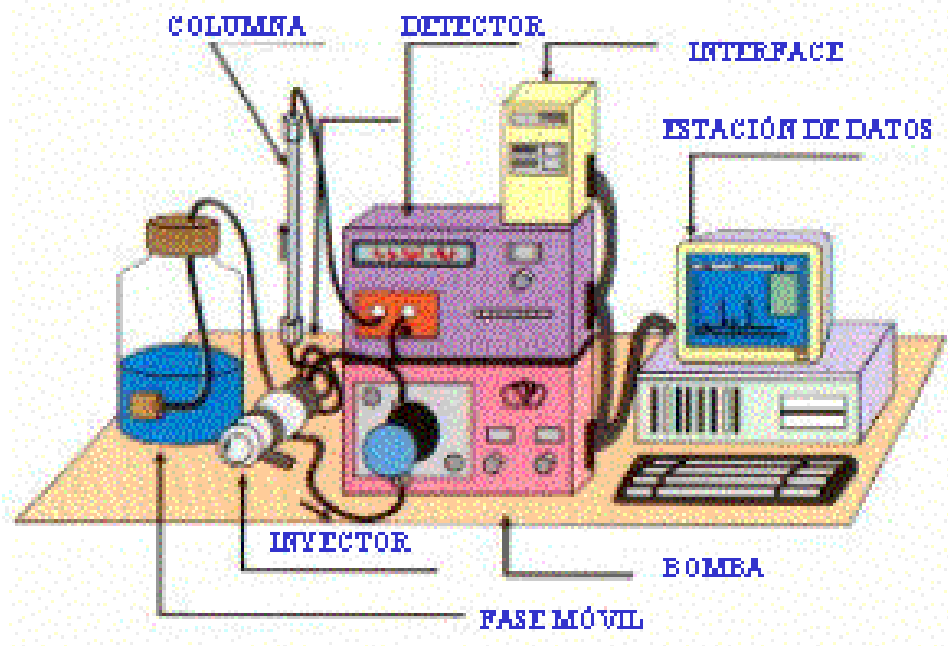


Figura 5. Componentes básicos del HPLC

4.3. Equipo

- ✓ Cromatografo (HPLC) Agilent Serie 1100
- ✓ Tabla de Color (RHS colour chart)
- ✓ Refractómetro Digital
- ✓ Potenciómetro pH
- ✓ Balanza Digital
- ✓ Pie de Rey
- ✓ Extractor Soxhlet
- ✓ Rota-evaporador
- ✓ Agitador
- ✓ Estufa para
- ✓ Columna

4.3.1. Metodología

El trabajo consistió en medir mediante Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC) el contenido de capsaicina que se encuentra presente en el fruto del chile realizando análisis de 80 muestras separando mediante Soxhlet la capsaicina del fruto procediendo a rotaevaporando las muestra con el fin de concentrarla a una cantidad deseada posteriormente filtradas para efectuar tres repeticiones (Inyección) por muestra en el HPLC para tener un porcentaje exacto del contenido de cada fruto, evaluando diferentes variedades del genero *Capsicum Spp.* Como ser *Capsicum frutescens*, *Capsicum annuum* y *Capsicum chinense*. Después de obtener los resultados se procedió a tomar las 6 muestras más representativas en sus niveles altos, medios y bajos para determinar en qué parte del fruto se concentra el mayor contenido, se evaluó características físico-químicas como ser formas, color, diámetros etc.

4.3.2. Metodología utilizada en laboratorio de Química

PASOS A SEGUIR	METODOLOGÍA	ANEXO
Selección del fruto	Elegir los frutos mediante las siguientes características: color, forma, calidad del fruto.	Anexo 1
Cortar frutos	Se corta el fruto incluida la placenta en tiras, cuadros o rodajas	Anexo 2
Pesar muestra	Ya cortado el fruto se procede a pesar la muestra (5 gramos)	
Incorporar muestra en balón de 250 ml	Se agrega la muestra al balón previamente forrado con papel aluminio y se adiciona 10 veces la cantidad de peso del fruto en etanol (grado analítico) ejemplo: si la muestra pesa 5 gramos se le adicionarán 50 ml de etanol	Anexo 3
Colocar la muestra en el extractor Soxhlet	Se colocan las muestras en el extractor Soxhlet y se deja que haga reflujo de 3 ó 4	Anexo 4
Rotaevaporación	Pasado el tiempo requerido en el extractor Soxhlet se procede a rotaevaporar la muestra en un Rotaevaporador Buchi modelo R114 y/o Heidolph modelo 4011 se hace con el fin de recuperar el etanol excedente y llevar la muestra a un volumen definido de 6 ml. Condiciones del rotaevaporador T=55-64°C, Presión=180mmHg	Anexo 5
Empacar muestra	Teniendo la muestra en la concentración requerida se procede a empacarla en tubos falcón previamente forrados con papel aluminio y se almacena en nevera a unos 4°C.	Anexo 6

Muestrear	Teniendo la muestra ya lista procedemos a inyectar y analizar en el HPLC	
------------------	--------------------------------------------------------------------------	--

4.3.3. Metodología utilizada en el HPLC en el laboratorio de Biología Molecular

Concluida la extracción en el laboratorio de química general las muestras son llevadas al laboratorio de biología molecular para ser analizadas en el HPLC, la prueba se realiza de la siguiente forma:

A. Se prende el HPLC (Cromatografía líquido de alta resolución, Agilent series 1100) de la siguiente forma: como se puede observar en anexo 7

1. Detector VWD, modelo G1314A, condiciones de trabajo: Longitud de onda de detección: 280nm.
2. Bomba modelo G1310A, condiciones de trabajo: Flujo y/o caudal de 1,5 ml/min, Presión de trabajo: 139 bar
3. Desgacificador modelo G1322A.

Temperatura del Ambiente del Laboratorio de 24°C y cuenta con una Fase estacionaria: Columna ODS2-SL5-35111-C18 (15cmx4.6mm id., 0,5 µm diámetro de partícula)

B. Se enciende el computador y se siguen los siguientes pasos:

1. Se verifica si el HPLC está conectado al sistema del computador, lo anterior se realiza dando clic izquierdo al icono Bootp, el anterior muestra una pantalla con una lectura como la siguiente:

Lo que significa que hay conexión entre el HPLC y el computador, si no aparece es necesario apagar el HPLC (en sentido contrario al que se había encendido) y luego volver a verificar en Bootp. Prestar atención en el anexo 8

- a. Si existe la conexión entonces se da clic izquierdo en HPLC online (este icono se encuentra en el escritorio del computador), el cual muestra en la pantalla los elementos del HPLC y en este momento se enciende la bomba con un flujo de 1.5 ml. mientras se estabiliza el sistema y el VWD signal, después 15 minutos. Como se puede apreciar en anexo 9
2. Se toma 1 ml de muestra en una jeringa de 3ml la cual debe tener un Filtros Millex-HV con membrana de PVDF, 0,45 μm de poro, 13 mm de diámetro, lo anterior con el fin de garantizar que la muestra no entre con impurezas que puedan dañar el equipo, por último se introduce a un vial color ámbar de 1.5 ml debidamente marcado con el nombre de la muestra, observar anexo 10

Antes de determinar la Capsaicina en el HPLC se debe realizar la fase móvil la cual es una mezcla de Agua MilliQ (59%), Acetonitrilo Grado HPLC (40%), Ácido Acético Glacial (1% este reactivo de ser filtrado por medio de Filtros Millex-HV con membrana de PVDF, 0,45 μm de poro, 13 mm de diámetro, para quitar las impurezas que tiene; ya que no es grado (HPLC). Ejemplificado en anexo 11

La fase móvil es desgacificada por vacío, por el equipo de filtración el cual se coloca un filtro millipore de membrana HV (Durapore) en PVDF, tamaño de poro de 0,45 μm , 47 mm de diámetro, observar anexo 12

Posteriormente se coloca por baño ultrasonido entre 30-60 minutos (en el módulo de desgasificación), con el fin eliminar totalmente las burbujas proporcionados por la mezcla de los solventes. Como se puede apreciar en el anexo13

Ejemplo:

Para 1000 ml. De fase móvil se compone de los siguientes reactivos:

- Agua MilliQ (59%) 590 ml.
- Acetonitrilo HPLC (40%) 400 ml.
- Ácido Acético Glacial (1%) 10 ml.

Se lava el look o el Bulbo (Inyector manual modelo G1328A, con bucle de inyección de 25 µl), inyectando con la microjeringa (de 25 µl, SGE) 3 veces Agua MilliQ; se debe tener en cuenta de que no deben quedar burbujas en la microjeringa (las cuales afectan el buen funcionamiento del equipo). Con este lavado aseguramos de que no queden residuos de anteriores muestras, la cual pueden interferir en el resultado final de nuestras muestras

Se realiza un purgado de la microjeringa realizando tres repeticiones con la muestra que va a ser analizada para así eliminar el margen de error que puede ocasionar la jeringa contaminada con otras sustancias, Observar anexo 14.

Se inyecta la muestra de capsaicina en el HPLC después de que el sistema muestre en color verde waiting injection o ready y se hace de la siguiente forma: se abre el LOOK o BULVO, se inyecta 25 µl, después de esto se saca la microjeringa del bulbo y se cierra, Como se puede apreciar en el anexo 15.

4.4. Diseño de la investigación

4.4.1. Evaluación experimental

El diseño experimental empleado fue de bloques completos al azar (BCA) con un arreglo factorial de 6x2, en la cual se evaluarón ochenta muestras inicialmente tomando las más representativas en sus niveles altos, medios y bajos donde las unidades experimentales estuvieron constituidas por 6 accesiones, duplicadas y divididas en F1, F2, P1, P2 haciendo un total de 22 muestras para el contenido de Capsaicina se realizarón tres repeticiones en inyección haciendo un total de 66 repeticiones.

4.4.2. Análisis de Varianza

Se realizó un análisis de varianza para cada una de las variables, de acuerdo al modelo estadístico de bloques completos al azar, donde el modelo matemático fue:

$$Y_{ijkl} = \mu + \alpha_j + \beta_k + \gamma_l + \delta_{jk} + \epsilon_{ijl}$$

Dónde:

μ = c/u de las variables de respuesta

α_j = inyección

β_k = Identificación

γ_l = Parte Fruto

δ_{jk} = Identificación x Parte Fruto

V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1. Contenido de Capsaicina mediante cromatografía líquida de alta resolución

Una vez concluidos los experimentos y sabiendo el contenido de capsaicina contenida en cada fruto mediante muestra de 25µl inyectados en el HPLC se procedió a promediar los resultados de las tres inyecciones de cada una de las variedades con la finalidad de ver la concentración de capsaicina dada por HPLC en mg/ml posteriormente conocida el porcentaje anterior se calculó los miligramos de Capsaicina por gramo de ají mediante la siguiente fórmula.

$$\frac{\text{mg capsaicina}}{\text{gr Ají}} = \frac{C_{cm} * v_f}{m}$$

Dónde:

mg capsaicina = cantidad de capsaicina presente en cada mg

gr Ají = cantidad de fruto

C_{cm} = Concentración de capsaicina de la muestra

v_f = volumen final después de rotaevaporada

m = masa de Ají de la muestra

Para proceder a calcular la cantidad que existe en una parte por millón siendo ppm=1mg/L con la finalidad de poder calcular el nivel de Scoville contenido en la muestra siendo 1ppm=1SHU

Según resultados obtenidos Figura 6 en el contenido de Capsaicina dada por el equipo HPLC, se puede observar el comportamiento que obtuvo el muestreo total, teniendo especímenes que reflejan un contenido de capsaicina desde el 0.0000 hasta un 1.8457 de capsaicina. Como se puede observar en anexo 15 Habiendo un 43.75% del muestreo se

encuentran en la escala de un 0.0000-0.2000, un 32.5% se refleja en una escala de 0.2000-0.4000, el 13.75% se muestran en la escala de un 0.4000-0.6000 y un 6.25% están en 0.6000-0.8000 y un pequeño porcentaje del 2.5% indica un 0.8000-1.0000 y solo el 1.25% del total, presenta un comportamiento de 1.8000-2.0000 estableciendo que el 76.25% de todo el análisis presentan un bajo contenido de capsaicina mientras que el 20% se encuentran en un nivel medio en concentración y solo el 3.75% presentaron un alto contenido, influyendo en los datos las variedades analizadas la parte del fruto donde se va a tomar la muestra y otros factores

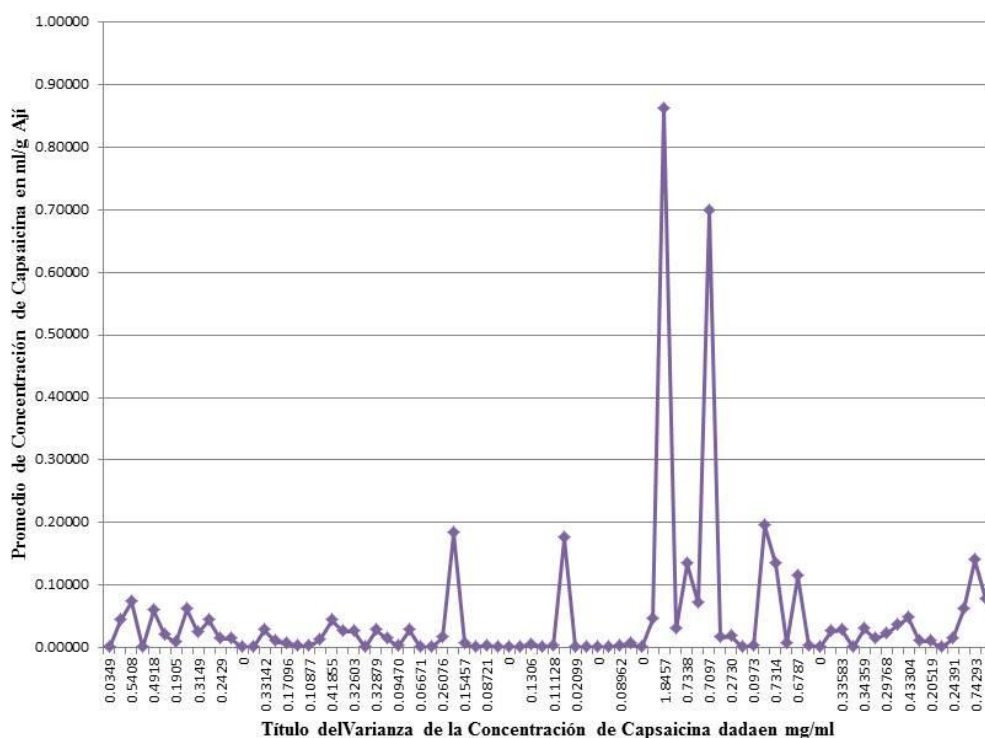


Figura. 6 Promedios de concentraciones de capsaicina dada por el HPLC. Ccm (mg/ml)

El análisis de varianza para Capsaicina mg/g Aji (CAPMGGAJÍ) como se puede observar en tabla 6 demostró diferencia altamente significativa ($Pr < 0.0001$). para identificación (Variedades, IDENT) presentando diferencia para cada una de las variedades evaluadas,

siendo cada variedad diferente a las demás, también para la parte del fruto, la unión del fruto con el pedúnculo, y ápice (P, A,) presentando un mayor porcentaje en la parte de la unión del fruto con el pedúnculo (P) de cada muestra analizada y también existiendo diferencia altamente significativa en la interacción entre la identificación y la parte del fruto, (IDENT*PARTFRUT). Variando el contenido de Capsaicina para cada variedad y según la parte evaluada. No existiendo diferencia significativa para las inyecciones (INyec) debido a que para las tres repeticiones la cantidad de muestra inyectada era igual y sus porcentajes no variaban mucho disminuyendo el error por muestra.

Tabla 6. Análisis de Varianza para CAPMGGAJÍ

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	13	13.89408015	1.06877540	136.53	<.0001
Error	52	0.40707084	0.00782829		
Total corregido	65	14.30115099			

R-cuadrado	Coef Var	Raíz MSE	CAPMGGAJ Media
0.971536	19.56281	0.088478	0.452274

Fuente	DF	Tipo I SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
INyec	2	0.00638298	0.00319149	0.41	0.6673
IDENT	5	12.36283074	2.47256615	315.85	<.0001
PARFRUT	1	0.17275998	0.17275998	22.07	<.0001
IDENT*PARFRUT	5	1.35210645	0.27042129	34.54	<.0001

Según tabla 7, el análisis de varianza para Scoville mostro diferencia altamente significativa ($Pr < 0.0001$) para las identificaciones (Variedad, IDENT), parte del fruto (PARTFRUT) y la interacción identificación por parte del fruto (IDENT*PARTFRUT), teniendo en cuenta que la concentración de capsaicina es diferente para cada variedad evaluada, la parte presenta una diferencia en contenido de capsaicina difiriendo una de la otra y en la interacción identificación por parte del fruto, existiendo diferencia altamente significativa, variando la concentración de Capsaicina para cada variedad y según la parte evaluada. No existiendo diferencia significativa para las inyecciones (INyec) esto se debe

a que la cantidad de muestra utilizada fue la misma en cada repetición por muestra y el porcentaje obtenidos eran igual o parecidos disminuyendo el error por inyección.

Tabla 7. Análisis de Varianza para Scoville

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	13	744181544.7	57244734.2	491.50	<.0001
Error	52	6056460.6	116470.4		
Total corregido	65	750238005.2			

R-cuadrado	Coef Var	Raíz MSE	SCOVILLE Media
0.991927	15.64758	341.2776	2181.024

Fuente	DF	Tipo I SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
INVEC	2	127838.5	63919.3	0.55	0.5809
IDENT	5	579893313.4	115978662.7	995.78	<.0001
PARFRUT	1	19639657.8	19639657.8	168.62	<.0001
IDENT*PARFRUT	5	144520735.0	28904147.0	248.17	<.0001

Como se puede observar en tabla 8 existe diferencia altamente significativa para el uso de los tratamientos y la concentración de capsaicina, reflejando diferencia altamente significativa para (A-42012504, B-42012037, C-42012040, D-42012522) entre cada una de ellas , según resultados obtenidos cada una de las variedades presentan distintos porcentajes de concentración de capsaicina para lo cual la variedad A-42012504 presento el mejor contenido de capsaicina en relación con las demás evaluadas sin embargo las variedades E-42012046 y E-42012524 no representan ninguna significancia entre ellas siendo iguales en su contenido de capsaicina y presentando el menor contenido en relación con las demás variedades evaluadas prestar atención en anexo 17

Tabla 8. Pruebas de rango múltiple de Duncan para CAPMGGAJÍ

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	52
Error de cuadrado medio	0.007828
Media armónica de tamaño de celdas	10.28571

Número de medias	2	3	4	5	6
Rango crítico	.07829	.08235	.08502	.08695	.08844

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.				
Duncan Agrupamiento	Media	N	IDENT	
A	1.30922	6	42012504	
B	0.86943	12	42012037	
C	0.67947	12	42012040	
D	0.28400	12	42012522	
E	0.00000	12	42012046	
E	0.00000	12	42012524	

Existe diferencia altamente significativa para el uso de los tratamientos y la concentración de Scoville para (A-42012504, B-42012037, C-42012040, D-42012522) reflejado en tabla 9 debido a que las concentraciones de Scoville difieren una de la otra, reflejando diferencia entre cada una de ellas , según resultados obtenidos cada una de las variedades presentan distintos porcentajes de concentración de Scoville para lo cual la variedad A-42012504 presento el mejor contenido de Scoville en relación con las demás evaluadas sin embargo las variedades E-42012046 y E-42012524 no representan ninguna significancia entre ellas siendo iguales en su contenido de Scoville y presentando el menor contenido en relación con las demás variedades evaluadas observar anexo 18

Tabla 9. Pruebas de rango múltiple de Duncan para SCOVILLE

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	52
Error de cuadrado medio	116470.4
Media armónica de tamaño de celdas	10.28571

Número de medias	2	3	4	5	6
Rango crítico	302.0	317.6	327.9	335.4	341.1

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.				
Duncan Agrupamiento	Media	N	IDENT	

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.			
Duncan Agrupamiento	Media	N	IDENT
A	10530.1	6	42012504
B	3721.2	12	42012037
C	2083.7	12	42012040
D	925.7	12	42012522
E	0.0	12	42012046
E	0.0	12	42012524

Según resultados obtenidos en tabla 10 no existe diferencia significativa entre inyección, se observó que hubo similitud en concentración en el contenido de Capsaicina presente en cada muestra obtenida mediante Cromatografía Líquida de Alta Resolución HPLC. Mostrando un comportamiento igual o similar estadísticamente en cada repetición realizada para cada muestra observar anexo 19.

Tabla 10. Pruebas de rango múltiple de Duncan para CAPMGGAJÍ, INYEC

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	52
Error de cuadrado medio	0.007828

Número de medias	2	3
Rango crítico	.05353	.05631

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.			
Duncan Agrupamiento	Media	N	INYEC
A	0.46579	22	1
A	0.44836	22	3
A	0.44267	22	2

Según resultados obtenidos en tabla 11 no existe diferencia significativa entre inyección, se observa que hubo similitud en el contenido Scoville presente en cada muestra de Capsaicina presentes en una partes por millón siendo igual a 15 SHU (Scoville) obtenida mediante Cromatografía Líquida de Alta Resolución HPLC. Mostrando igualdad o

similitud en cada repetición realizada para cada muestra cómo se puede observar en el anexo 20

Tabla 11. Prueba de rango múltiple de Duncan para SCOVILLE, INYEC

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	52
Error de cuadrado medio	116470.4

Número de medias	2	3
Rango crítico	206.5	217.2

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.			
Duncan Agrupamiento	Media	N	INYEC
A	2239.9	22	1
A	2169.0	22	3
A	2134.2	22	2

Mediante tabla 12 se observa diferencia altamente significativa para cada parte del fruto (P, A) presentando variación en cada parte evaluada, teniendo una mayor significancia en la unión del fruto con el pedúnculo (P) a diferencia del ápice (A) que presenta un contenido bajo. Siendo (P) la parte en la que se concentra el mayor contenido de Capsaicina en todas las variedades evaluadas, esto se debe a que la capsaicina se concentra en gran parte en las semillas y la placenta observar anexo 21

Tabla 12. Pruebas de rango múltiple de Duncan para SCOVILLE, PARFRUT

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	52
Error de cuadrado medio	0.007828

Número de medias	2
Rango crítico	.04371

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.			
-----------------------------------------------------------------	--	--	--

Duncan Agrupamiento	Media	N	PARFRUT
A	0.50344	33	P
B	0.40111	33	A

Mediante tabla 13 se observa que para Scoville existe diferencia altamente significativa para cada parte del fruto (P, A) presentando variación en cada parte evaluada, teniendo una mayor significancia en la unión del fruto con el pedúnculo (P) a diferencia del ápice (A) que presenta un contenido bajo. Siendo (P) la parte en la que se concentra el mayor contenido Scoville en todas las variedades evaluadas, esto se debe a que el grado Scoville se obtiene de la concentración de Capsaicina y esta se concentra en su en una gran parte en las semillas y la placenta observar anexo 22

Tabla 13. Prueba de rango múltiple de Duncan para SCOVILLE, PARFRUT

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	52
Error de cuadrado medio	116470.4

Número de medias	2
Rango crítico	168.6

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.			
Duncan Agrupamiento	Media	N	PARFRUT
A	2726.52	33	P
B	1635.52	33	A

Según tabla 14 que la concentración de capsaicina en la unión del fruto con el pedúnculo siendo la parte (P) la que presenta un mayor contenido de capsaicina para las variedades 42012504, 42012037, 42012040, 42012522 siendo difentes significativamente una de la otra en cada variedad analizada sin embargo la parte del ápice (A) demuestra un menor contenido de capsaicina variando significativamente para las muestras explicadas anteriormente y únicamente la variedad 42012504 (Habanero) como se puede observar en anexo 16 la que presenta el mejor contenido de Capsaicina refleja en la parte de la unión

del fruto con el pedúnculo (P) donde se concentró el mayor contenido y solo las variedades 42012046 y 42012524l presentaron el menor contenido de capsaicina y representan concentraciones iguales para cada parte analizada no presentan significancia estadística una de la otra observar anexo 23

Tabla 14. Pruebas de rango múltiple de Duncan para la interacción IDENT*PARTFRUT
CAPMGGAJ

Nivel de IDENT	Nivel de PARFRUT	N	CAPMGGAJ	
			Media	Dev tip
42012037	A	6	0.82807474	0.09255623
42012037	P	6	0.91078233	0.08527638
42012040	A	6	0.66904908	0.21397966
42012040	P	6	0.68989714	0.04667690
42012046	A	6	0.00000000	0.00000000
42012046	P	6	0.00000000	0.00000000
42012504	A	3	0.80953156	0.05708452
42012504	P	3	1.80890805	0.01129105
42012522	A	6	0.30422716	0.01725603
42012522	P	6	0.26376798	0.13127755
42012524	A	6	0.00000000	0.00000000
42012524	P	6	0.00000000	0.00000000

Según tabla 15 que la concentración de Scoville en la unión del fruto con el pedúnculo siendo la parte (P) la que presenta un mayor contenido de Scoville para las variedades 42012504, 42012037, 42012040, 42012522 siendo difentes significativamente una de la otra en cada variedad analizada sin embargo la parte del ápice (A) demuestra un menor contenido de Scoville variando significativamente para las muestras explicadas anteriormente y únicamente la variedad 42012504 (Habanero) como se puede observar en anexo 16 la que presenta el mejor contenido de Scoville refleja en la parte de la unión del fruto con el pedúnculo (P) donde se concentró el mayor contenido y solo las variedades 42012046 y 42012524l presentaron el menor contenido de Scoville y representan concentraciones iguales para cada parte analizada no presentan significancia estadística una de la otra observar anexo 24

Tabla 15. Pruebas de rango múltiple de Duncan para la interacción IDENT*PARTFRUT
SCOVILLE

Nivel de IDENT	Nivel de PARTFRUT	N	SCOVILLE	
			Media	Dev tip
42012037	A	6	3547.2675	603.652560
42012037	P	6	3895.0900	137.028230
42012040	A	6	1790.1240	689.558073
42012040	P	6	2377.2275	207.196170
42012046	A	6	0.0000	0.000000
42012046	P	6	0.0000	0.000000
42012504	A	3	5322.6700	375.330692
42012504	P	3	15737.5000	98.232174
42012522	A	6	996.6548	149.137154
42012522	P	6	854.8170	502.807236
42012524	A	6	0.0000	0.000000
42012524	P	6	0.0000	0.000000

VI. CONCLUSIONES

Mediante datos obtenidos, se identificó que el contenido de capsaicina de las muestras evaluadas puede variar, según la variedad de chile que se haya examinado, obteniendo datos de 0.00 hasta 1.85 de capsaicina

Mediante el estudio realizado que la variedad 42012504 (Habanero) presentó el mayor contenido de capsaicina en comparación a las demás variedades evaluadas

Se identificó que la parte del fruto que contiene la mayor concentración de Capsaicina es la parte de la unión del fruto con el pedúnculo representada con una P en el estudio realizado

No existe una homogeneidad en la repartición de la capsaicina contenida en el fruto

VII. RECOMENDACIONES

Para las industrias que elaboran productos procesados o derivados del chile, tomar en cuenta que el mayor contenido de Capsaicina se presenta en el pedúnculo.

El buen cumplimiento y mejoramiento en las actividades en post cosecha pueden mejorar el contenido de capsaicina en el fruto.

VIII. BIBLIOGRAFÍA

Black Bullet. 2009. Determinación de Capsaicina

Caldas Ávila, A. P. 2012. Optimización con Escaldamiento y diseño de una Planta Piloto de Extracción Sólido Líquido, Tesis, Universidad de Cuenca, Facultad de Ciencias Químicas, Cuenca, Ecuador.

Chile. s.f. consultado el 7 de diciembre de 2013 disponible en

http://catarina.udlap.mx/u_dl_a/tales/documentos/meiq/celis_c_a/capitulo4.pdf

Consejo Nacional del Sistema Productivo Chile (CONAPROCH). 2006. Sistema Producción Chile, Tampico, Tamaulipas, México.

Cromatografía Líquida de Alta Eficacia. S.f. citado el 10 de junio de 2013

El cultivo del pimiento. s.f. consultado el 7 de diciembre de 2013, disponible en

<http://allmacigos.cl/bt/EL%20CULTIVO%20DEL%20PIMIENTO.pdf>

Etizaldes S, O. 2008. Solubilidad de la Capsaicina y Pigmentos Liposolubles (Carotenoides) del Chile Poblano en CO₂ Supercrítico, Tesis Instituto Politécnico Nacional Sección de Estudios de Postgrados e Investigación. México.

González, H. 2004. Cadenas de Sistemas agroalimentarios de Chile Seco, Durazno y Frijol en el Estado de Zacatecas: Una Aplicación de la Metodología ISNAR. Publicación Especial # 14 CIRNOC-INIFAP ITESEM. Campus Zacatecas, Guadalupe, Zacatecas; México.

Hernández P, J. M. 2005, Cromatografía Líquida de Alta Eficiencia Servicio de bioquímica, Hospital Universitari Germans Trias i Pujol. Badalona, España.

Organismo Internacional Regional de Sanidad Agropecuaria (OIRSA). 2003. Producción Ecológica de Chile Habanero En: Producción Ecológica con Énfasis en Cultivos Tropicales, Proyecto Regional de Fortalecimiento de la Vigilancia Fitosanitaria en Cultivos de Exportación no Tradicionales VIFINEX, Republica de china OIRSA, Peten, Guatemala C.A.

Hernández M.S., Barrera J., Malgarejo L.M., Fisiología de poscosecha, Universidad Nacional de Colombia, departamento de biología, Colombia

Pardey Rodríguez, C. 2008. Caracterización y Evaluación de *Capsicum* del Banco Germoplasma de la Universidad Nacional de Colombia Sede Palmira y Determinación del Modo de Herencia de la Resistencia a Potyvirus (pepDMV). Tesis. Palmira, Colombia. 132 p.

Pérez Moren L. A. S. Casillas Barrajas A.S y Ramírez Malangón R. 2005. El Cultivo de Chile y su Importancia Económica en el Norte del Estado de Guanajuato México, Instituto de Ciencias Agrícolas, Universidad de Guanajuato, México.

Peruano Carrión, G. 2011, Capsaicina un Tema Picante, Universidad Nacional Agraria la Molina

Rodríguez M, M. E. 2000. Caracterización molecular por AFLPs de germoplasma de *Capsicum spp* colectado en la Amazonía colombiana. Tesis. Universidad Nacional de Colombia Sede Medellín. Facultad de Ciencias Agropecuarias Departamento de Agronomía. 82 p.

Rodríguez del Bosque, L. A., Ramírez Meraz, M., Pozo Campodónico, O. 2004. Tecnología de Producción de Chile Piquín en el Noreste de México. Instituto Nacional de Investigación Forestales Agrícolas y Pecuarias (INFAP) Tamaulipas, México.

Rincón Valdez, F., Echeverría Chairez, F.G., Rumayor Rodríguez, A. F., Mena Covarrubias, J., Bravo Lozano, A. G., Acosta Díaz, E., Gallo Dávila, J. S. y Salinas

Silva Aguilar, F. 2011. Estimación de Parámetros Genéticos en el Contenido de Capsaicina y Rendimiento en una Cruza de Pimiento Serrano y Ají Cayenne (*Capsicum Annuum*) por Medio del Análisis de Medias Generacionales. Universidad Nacional De Colombia, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Coordinación General de Postgrados. Palmira, Colombia.

ANEXOS

Anexo 1. Frutos frescos de chile



Anexo 2. Cortado de muestra en tiras, cuadros o rodajas.



Anexo 3. Introducir muestra en balón de 250 ml añadiendo alcohol en una relación 1-10



Anexo 4. Extracción de Capsaicina por medio de equipo Soxhlet



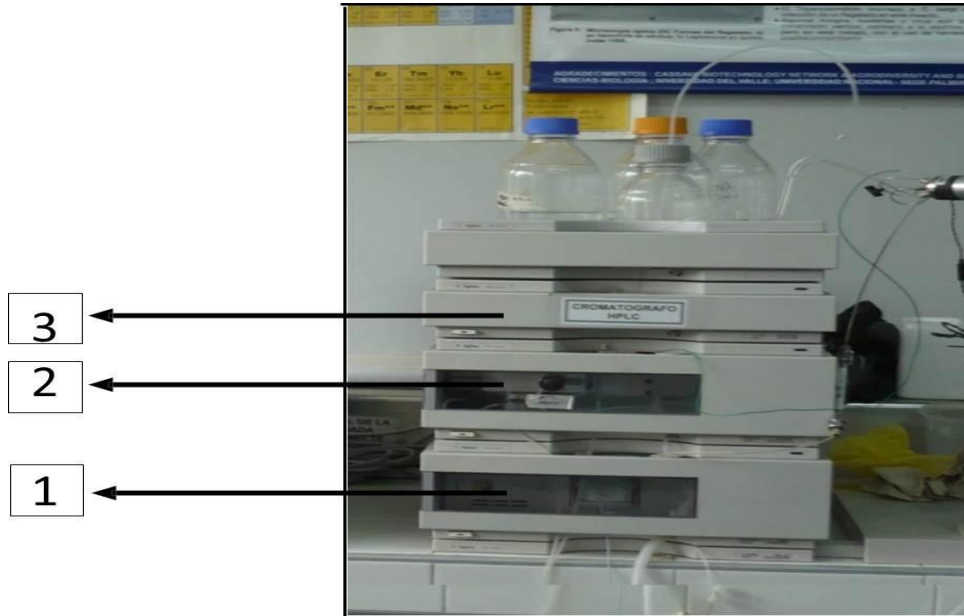
Anexo 5. Concentración de muestra y recuperación de alcohol por medio de rotevaporador Buchi.



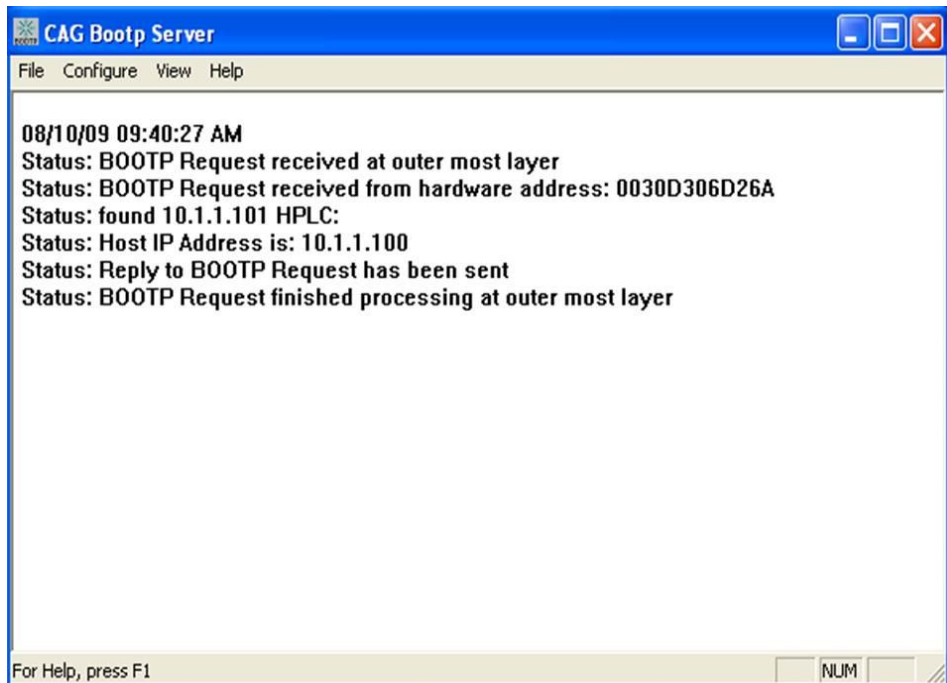
Anexo 6. Muestra rotaevaporada a una concentración de 6 ml y empacada en tubo falcón



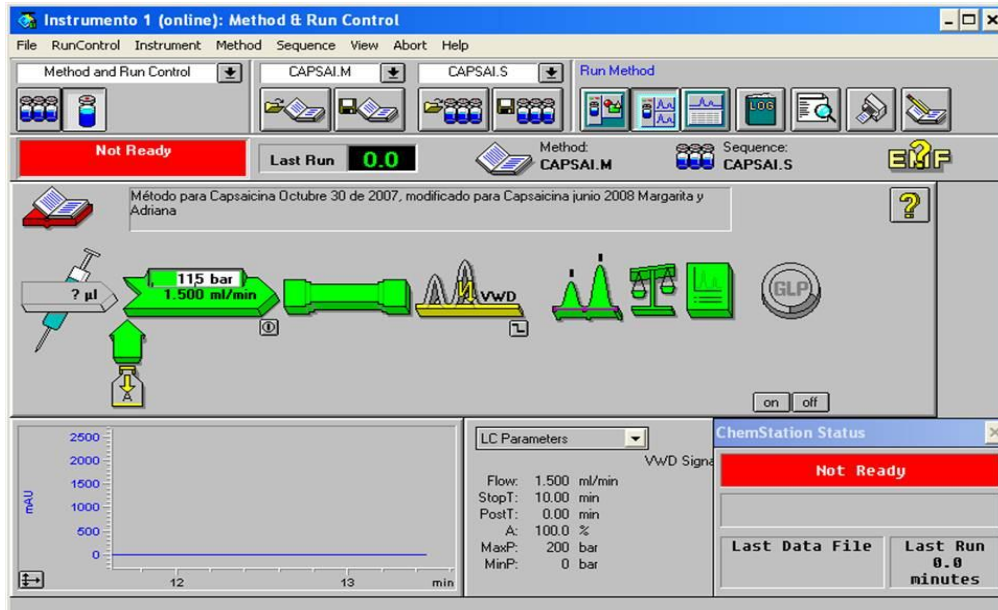
Anexo 7. Partes de Cromatografía Líquida de alta resolución (HPLC)



Anexo 8. Icono de Bootp



Anexo 9. Software Online de HPLC (encendido de la Bomba y detector UV)



Anexo 10. Filtración de la muestra



Anexo 11. Fase móvil para HPLC



Anexo 12. Filtrador de fase móvil por filtro millipore de membrana HV (Durapore) en PVDF



Anexo 13. Desgacificador de baño ultrasonido.



Anexo 14. Purgado de Microjeringa con la muestra a Analizar



Anexo 15. Contenido de Capsaicina dado por el HPLC

IDENTIFICACIÓN DE LA MUESTRA	NUMERO DE MUESTRA	MASA DE AJI DE LA MUESTRA m (g)	VOLUMEN FINAL DESPUES DE LA ROTAIEVAPORACIÓN ml (Vf)	CONCENTRACIÓN DE CAPSAICINA DADA POR EL HPLC Ccm (mg/ml)	PROMEDIO DE CONCENTRACIÓN DE CAPSAICINA DADA POR EL HPLC Ccm (mg/ml)	Conocida la concentración de capsaicina dada en el extracto (HPLC), se calcula los miligramos de capsaicina por gramos de aji:	CONCENTRACIÓN DE CAPSAICINA EN UNIDADES (ppm=1mg/L)	NIVEL DE SCOVILLE (1ppm= 1SSHU)
						$\frac{\text{mg Capsaicina}}{\text{gr Aji}} = \frac{\text{Ccm} \cdot \text{Vf}}{\text{m}}$		
42012030	1	5	6	0.0332894 0.0355756 0.0358957	0.034920233	0.04190428	34.92023333	523.8035
42012502	2	5	6	0.411075 0.428237 0.416377	0.418563	0.5022756	418.563	6278.445
42012039 (3.37 gramos)	3	3.37	6	0.53111 0.533851 0.55747	0.540810333	0.962867062	540.8103333	8112.155
42012025	4	5	6	0.0818441 0.0790183 0.0838397	0.081567367	0.09788084	81.56736667	1223.5105
42012560	5	5	6	0.485908 0.492383 0.497117	0.491802667	0.5901632	491.8026667	7377.04
42012517	6	5	6	0.273268 0.285611 0.284026	0.280968333	0.337162	280.9683333	4214.525
42012021	7	5	6	0.188526 0.197177 0.185864	0.190522333	0.2286268	190.5223333	2857.835
42012045	8	5	6	0.496564 0.49886 0.502399	0.499274333	0.5991292	499.2743333	7489.115
42012013	9	5	6	0.312798 0.314544 0.317341	0.314894333	0.3778732	314.8943333	4723.415
42012028	10	5	6	0.411648 0.441315 0.408011	0.420324667	0.5043896	420.3246667	6304.87
42012020	11	5	6	0.239419 0.233092 0.256312	0.242941	0.2915292	242.941	3644.115
42012009	12	5	6	0.247396 0.223057 0.242117	0.237523333	0.285028	237.5233333	3562.85
42012044	13	5	6	0 0 0	0	0	0	0
42012021	14	5	6	0.0646246 0.0591384 0.0552785	0.0596805	0.0716166	59.6805	895.2075
42012034	15	5	6	0.357151 0.32521 0.311911	0.331424	0.3977088	331.424	4971.36
42012019	16	5	6	0.193365 0.190026 0.221375	0.201588667	0.2419064	201.5886667	3023.83
42012023	17	5	6	0.163597 0.175093 0.174203	0.170964333	0.2051572	170.9643333	2564.465
42012031	18	5	6	0.11 0.121512 0.118163	0.116558333	0.13987	116.5583333	1748.375
42012009	19	5	6	0.113271 0.106836 0.106204	0.108770333	0.1305244	108.7703333	1631.555
42012010	20	5	6	0.213626 0.211807 0.236809	0.220747333	0.2648968	220.7473333	3311.21
42012018	21	5	6	0.427792 0.410381 0.417477	0.41855	0.50226	418.55	6278.25
42012022	22	5	6	0.341112 0.31643 0.312467	0.323336333	0.3880036	323.3363333	4850.045
42012038	23	5	6	0.354468 0.3308142 0.292799	0.326027067	0.39123248	326.0270667	4890.406
42012002	24	5	6	0 0 0	0	0	0	0

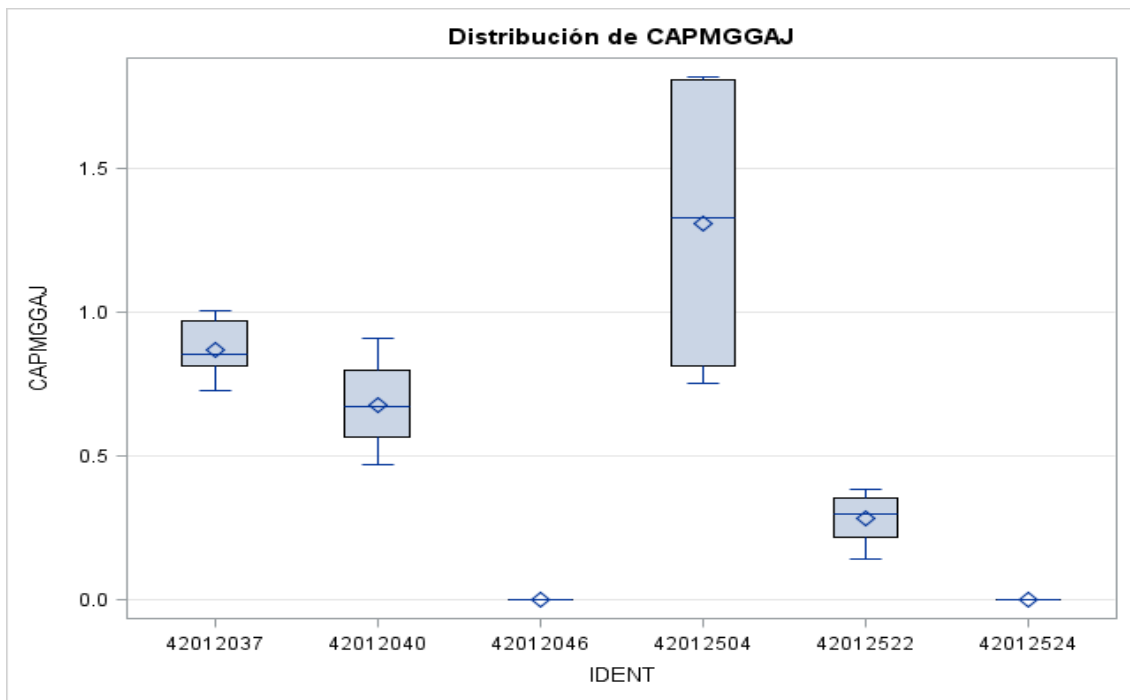
42012016	25	5	6	0.331593 0.307876 0.346893	0.328787333	0.3945448	328.7873333	4931.81
42012017	26	5	6	0.258061 0.239212 0.2246	0.240624333	0.2887492	240.6243333	3609.365
42012003	27	5	6	0.0958055 0.0935352 0.0947519	0.094697533	0.11363704	94.69753333	1420.463
42012032	28	5	6	0.344948 0.319352 0.324296	0.329532	0.3954384	329.532	4942.98
42012010	29	5	6	0.0695234 0.0671282 0.0634864	0.066712667	0.0800552	66.71266667	1000.69
42012015	30	5	6	0.072008 0.0744215 0.0712057	0.072545067	0.08705408	72.54506667	1088.176
42012516	31	5	6	0.261926 0.261258 0.259094	0.260759333	0.3129112	260.7593333	3911.39
42012040	32	5	6	0.893987 0.83969 0.832239	0.855305333	1.0263664	855.3053333	12829.58
42012511	33	5	6	0.157527 0.150505 0.155673	0.154568333	0.185482	154.5683333	2318.525
42012044	34	5	6	0 0 0	0	0	0	0
42012003	35	5	6	0.089349 0.0853355 0.0869307	0.087205067	0.10464608	87.20506667	1308.076
42012554	36	5	6	0.049687 0.0457623 0.0419522	0.0458005	0.0549606	45.8005	687.0075
42012007	37	5	6	0 0 0	0	0	0	0
42012042	38	5	6	0 0 0	0	0	0	0
42012038	39	5	6	0.133115 0.129222 0.129589	0.130642	0.1567704	130.642	1959.63
42012047	40	5	6	0 0 0	0	0	0	0
42012015	41	5	6	0.120306 0.106758 0.106765	0.111276333	0.1335316	111.2763333	1669.145
42012036	42	5	6	0.873407 0.807418 0.825627	0.835484	1.0025808	835.484	12532.26
42012503	43	5	6	0.0214161 0.0212005 0.0203442	0.020986933	0.02518432	20.98693333	314.804
42012041	44	5	6	0 0 0	0	0	0	0
42012001	45	5	6	0 0 0	0	0	0	0
42012524	46	5	6	0.00796311 0.00707577 0.0071898	0.00740956	0.008891472	7.40956	111.1434
42012512	47	5	6	0.0895342 0.0899344 0.0893999	0.089622833	0.1075474	89.62283333	1344.3425
42012510	48	5	6	0.164239 0.154439 0.146921	0.155199667	0.1862396	155.1996667	2327.995
42012506	49	5	6	0 0 0	0	0	0	0
42012501	50	5	6	0.451598 0.41784 0.405961	0.425133	0.5101596	425.133	6376.995
42012504	51	5	6	1.77819 1.97151 1.78747	1.845723333	2.214868	1845.723333	27685.85
42012014	52	5	6	0.359022 0.337609 0.333169	0.343266667	0.41192	343.2666667	5149
42012005	53	5	6	0.713736 0.760254 0.72742	0.733803333	0.880564	733.8033333	11007.05

42012522	54	5	6	0.509671 0.551711 0.545695	0.535692333	0.6428308	535.6923333	8035.385
42012546	55	5	6	0.171583 0.179342 1.7783	0.709741667	0.85169	709.7416667	10646.125
42012024	56	5	6	0.259981 0.260902 0.231711	0.250864667	0.3010376	250.8646667	3762.97
42012045 (4,1g)	57	4.1	6	0.269541 0.270733 0.27861	0.272961333	0.39945561	272.9613333	4094.42
42012046	58	5	6	0.015653 0.0115199 0.0144946	0.013889167	0.016667	13.88916667	208.3375
42012022	59	5	6	0.0922573 0.101595 0.097945	0.097265767	0.11671892	97.26576667	1458.9865
42012027	60	5	6	0.0901138 0.0868938 0.936322	0.371109867	0.44533184	371.1098667	5566.648
42012033	61	5	6	0.749293 0.701356 0.743678	0.731442333	0.8777308	731.4423333	10971.635
42012029	62	5	6	0.165134 0.166285 0.163038	0.164819	0.1977828	164.819	2472.285
42012037	63	5	6	0.676885 0.673011 0.686234	0.67871	0.814452	678.71	10180.65
42012017	64	5	6	0.114106 0.117151 0.112295	0.114517333	0.1374208	114.5173333	1717.76
42012007	65	5	6	0 0 0	0	0	0	0
42012026	66	5	6	0.31098 0.32254 0.324448	0.319322667	0.3831872	319.3226667	4789.84
42012534	67	5	6	0.336303 0.330866 0.340319	0.335829333	0.4029952	335.8293333	5037.44
42012043	68	5	6	0 0 0	0	0	0	0
42012005	69	5	6	0.335902 0.344206 0.350655	0.343587667	0.4123052	343.5876667	5153.815
42012012	70	5	6	0.235819 0.242713 0.243272	0.240601333	0.2887216	240.6013333	3609.02
42012536	71	5	6	0.296686 0.29845 0.297902	0.297679333	0.3572152	297.6793333	4465.19
42012004	72	5	6	0.374075 0.374358 0.385099	0.377844	0.4534128	377.844	5667.66
42012547	73	5	6	0.402018 0.448258 0.448853	0.433043	0.5196516	433.043	6495.645
42012018	74	5	6	0.19847 0.202531 0.195216	0.198739	0.2384868	198.739	2981.085
42012025	75	5	6	0.217451 0.202627 0.195479	0.205185667	0.2462228	205.1856667	3077.785
42012035	76	5	6	0 0 0	0	0	0	0
42012545	77	5	6	0.257282 0.238618 0.235816	0.243905333	0.2926864	243.9053333	3658.58
42012551	78	5	6	0.506654 0.462479 0.506761	0.491964667	0.5903576	491.9646667	7379.47
42012535	79	5	6	0.795586 0.701999 0.731207	0.742930667	0.8915168	742.9306667	11143.96
42012023	80	5	6	0.575573 0.535148 0.546992	0.552571	0.6630852	552.571	8288.565

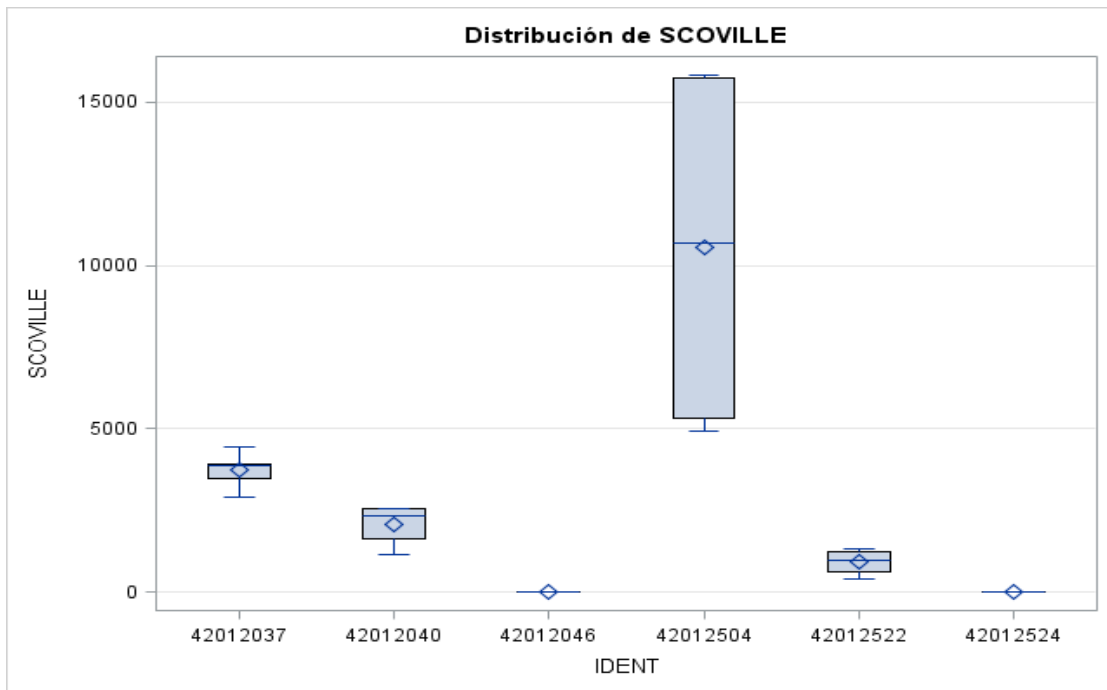
Anexo 16. Contenido de capsaicina de muestras finales.

ESPECIE	VARIEDAD	IDENTIFICACIÓN DE LA MUESTRA	MASA DE AJI DE LA MUESTRA m (g)	VOLUMEN FINAL DESPUES DE LA ROTA/EVAPORACIÓN ml (Vf)	UBICACIÓN. P: (Pedunculo) A: (Apice)	CONCENTRACIÓN DE CAPSAICINA DADA POR EL HPLC Ccm (mg/ml)	PROMEDIO DE CONCENTRACIÓN DE CAPSAICINA DADA POR EL HPLC Ccm (mg/ml)	Conocida la concentración de capsaicina dada en el extracto (HPLC), se calcula los miligramos de capsaicina por gramos de $\frac{mg\text{Capsaicina}}{g\text{AJI}} = \frac{Ccm \cdot V_f}{m}$	CONCENTRACIÓN DE CAPSAICINA EN UNIDADES (ppm=1mg/L)	NIVEL DE SCOVILLE (1ppm=15SHU)	
Capsicum frutescens	Tabasco	42012046 F1P1	3.62	6	P	0	0	0	0	0	
					P	0					
					P	0					
		42012046 F1P2	3.06	6	A	0	0	0	0	0	0
					A	0					
					A	0					
		42012046 F2P1	4.41	6	P	0	0	0	0	0	0
					P	0					
					A	0					
		42012046 F2P2	3.92	6	A	0	0	0	0	0	0
					A	0					
					A	0					
Capsicum Annuum	Cayenne	42012524 F1P1	30.33	6	P	0	0	0	0	0	
					P	0					
					P	0					
		42012524 F1P2	13.62	6	A	0	0	0	0	0	0
					A	0					
					A	0					
		42012524 F2P1	25.3	6	P	0	0	0	0	0	0
					P	0					
					A	0					
		42012524 F2P2	17	6	A	0	0	0	0	0	0
					A	0					
					A	0					
Capsicum frutescens	Tabasco	42012037 F1P1	1.55	6	P	0.248224	0.254569667	0.985430968	254.5696667	3818.545	
					P	0.259159					
					P	0.256326					
		42012037 F1P2	1.6	6	A	0.218093	0.202941667	0.76103125	202.9416667	3044.125	
					A	0.196217					
					A	0.194515					
		42012037 F2P1	1.9	6	P	0.260698	0.264775667	0.836133684	264.7756667	3971.635	
					P	0.25755					
					P	0.276079					
		42012037 F2P2	1.81	6	A	0.295628	0.270027333	0.895118232	270.0273333	4050.41	
					A	0.25422					
					A	0.260234					
Capsicum frutescens	Tabasco	42012522 F1P1	1.37	6	P	0.0882545	0.087581933	0.383570511	87.58193333	1313.729	
					P	0.0875846					
					P	0.0869067					
		42012522 F1P2	1.42	6	A	0.0779209	0.075386733	0.318535493	75.38673333	1130.801	
					A	0.0755845					
					A	0.0726548					
		42012522 F2P1	1.1	6	P	0.0259361	0.026393667	0.143965455	26.39366667	395.905	
					P	0.0272878					
					P	0.0259571					
		42012522 F2P2	1.19	6	A	0.0574277	0.057500567	0.289918824	57.50056667	862.5085	
					A	0.0580162					
					A	0.0570578					
Capsicum chinense	Habanero	42012504 F1P1	3.48	6	P	1.0551	1.049166667	1.808908046	1049.166667	15737.5	
					P	1.04214					
					P	1.05026					
		42012504 F1P2	2.63	6	A	0.379342	0.354844667	0.809531559	354.8446667	5322.67	
					A	0.329329					
					A	0.355863					
Capsicum frutescens	Tabasco	42012040 F1P1	1.54	6	P	0.170454	0.169429	0.660112987	169.429	2541.435	
					P	0.169524					
					P	0.168309					
		42012040 F1P2	0.98	6	A	0.0783263	0.077665867	0.475505306	77.66586667	1164.988	
					A	0.0767044					
					A	0.0779669					
		42012040 F2P1	1.23	6	P	0.159751	0.147534667	0.719681301	147.5346667	2213.02	
					P	0.143523					
					P	0.13933					
		42012040 F2P2	1.12	6	A	0.170076	0.161017333	0.862592857	161.0173333	2415.26	
					A	0.15327					
					A	0.159706					

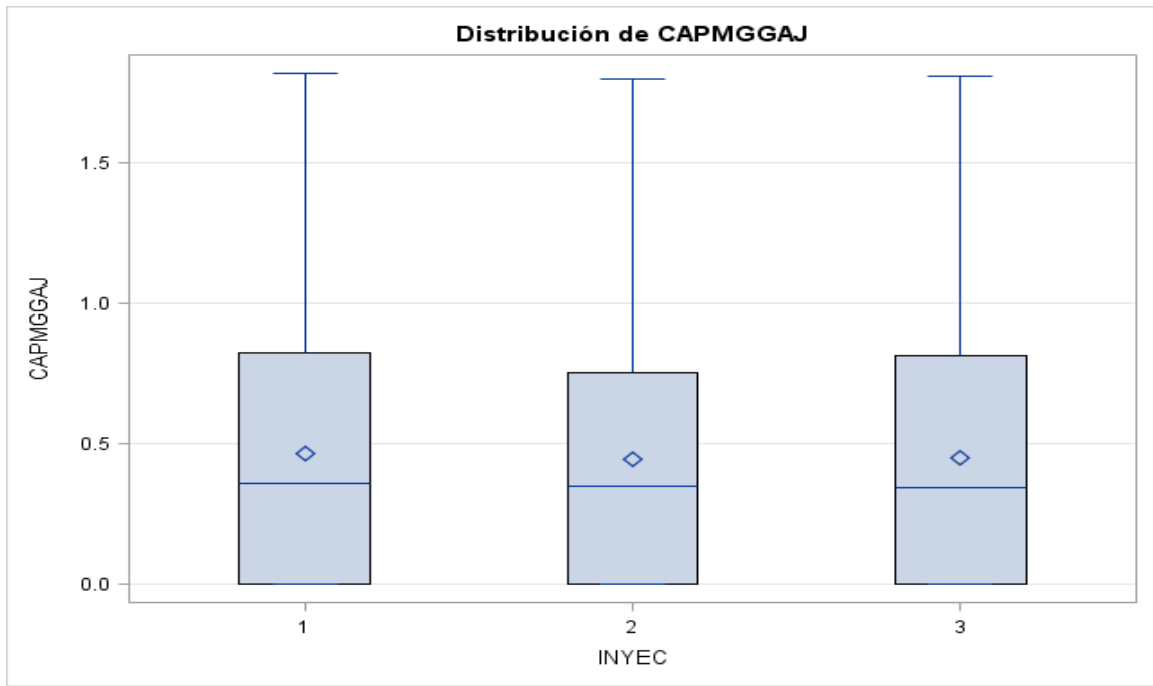
Anexo 17. Pruebas de rango múltiple de Duncan para CAPMGGAJÍ



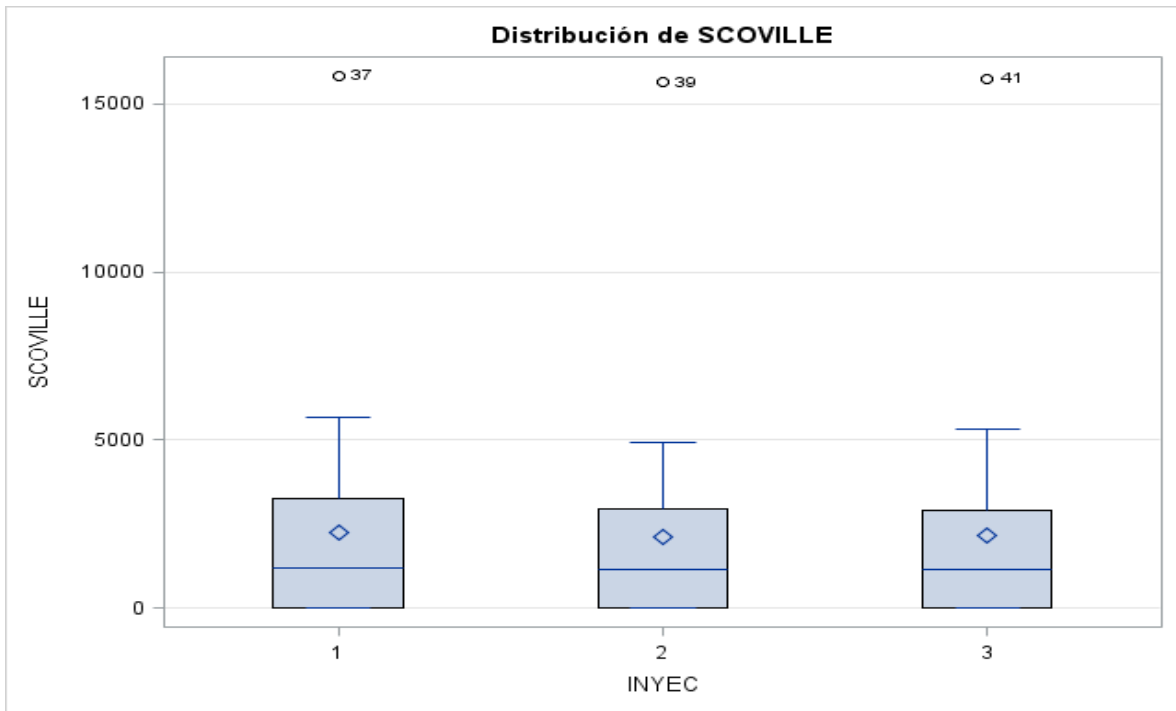
Anexo 18. Pruebas de rango múltiple de Duncan para SCOVILLE



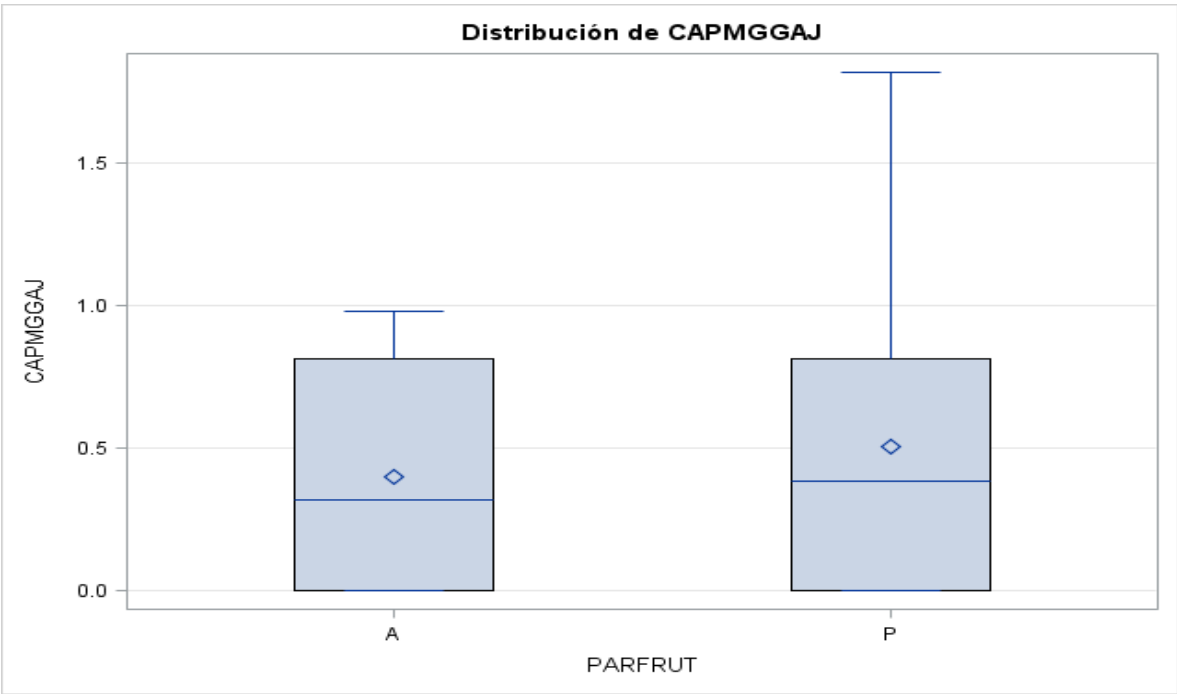
Anexo 19. Prueba del rango múltiple de Duncan para CAPMGGAJÍ, INYEC



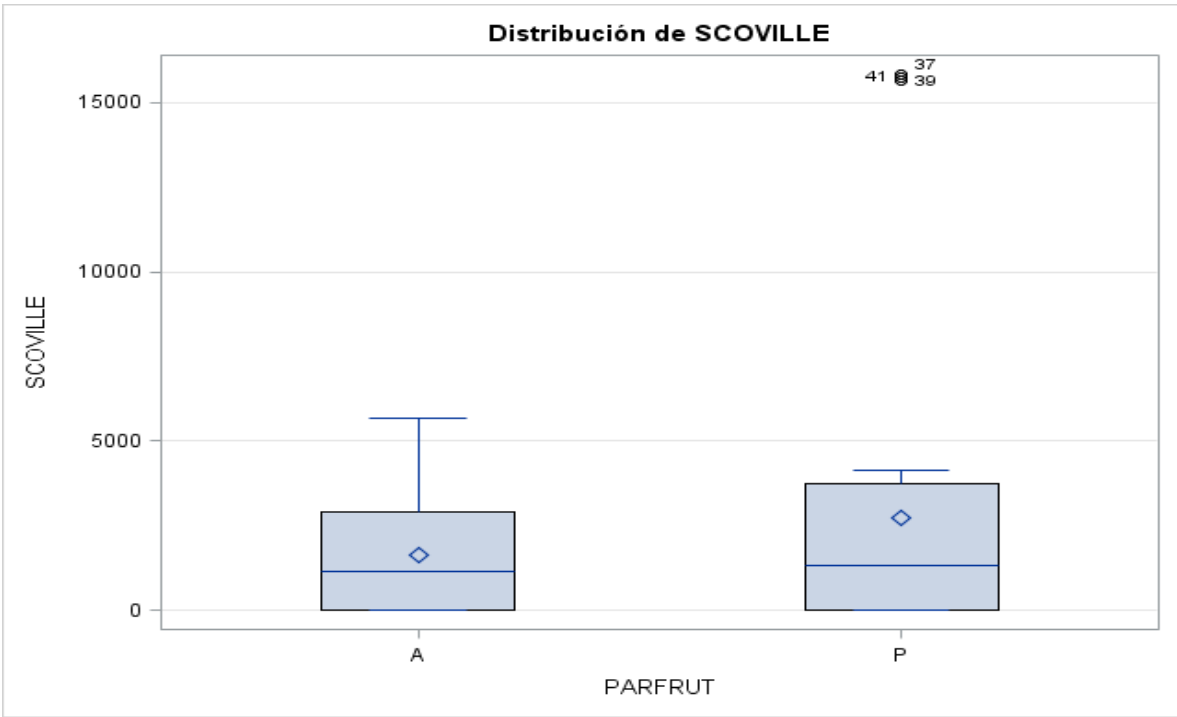
Anexo 20. Prueba del rango múltiple de Duncan para SCOVILLE, INYEC



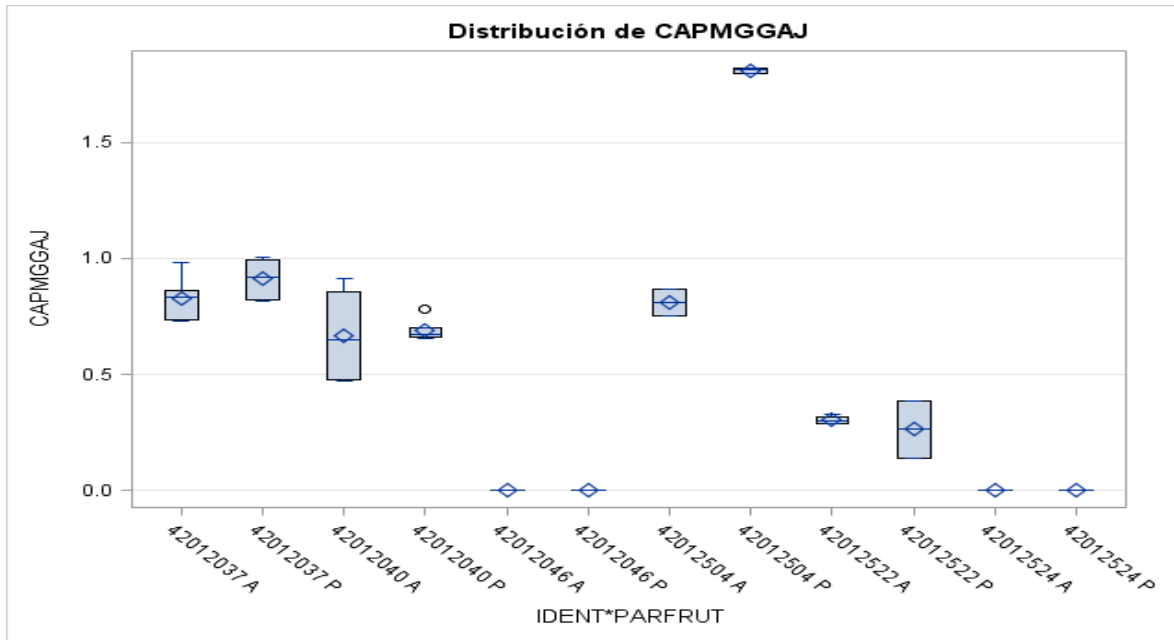
Anexo 21. Prueba del rango múltiple de Duncan para CAPMGGAJ PARFRUT



Anexo 22. Prueba del rango múltiple de Duncan para SCOVILLE, PARFRUT



Anexo 23. Pruebas de rango múltiple de Duncan para la interacción IDENT*PARTFRUT
CAPMGGAJ



Anexo 24. Pruebas de rango múltiple de Duncan para la interacción IDENT*PARTFRUT
SCOVILLE

