

UCUENCA

Universidad de Cuenca

Facultad de Ciencias Químicas

Carrera de Ingeniería Química

**Extracción asistida por ultrasonido de capsaicina a partir
de las especies *Capsicum chinense* y *Capsicum pubescens***

Trabajo de titulación previo a la
obtención del título de Ingeniero
Químico


Autores:

Ana Cristina Andrade Herrera

Juleisy Jamile Maldonado Macas

Director:

Luisa Mayra Vera Cabezas

ORCID:  0000-0002-0240-9147

Cuenca, Ecuador

2023-11-01

Resumen

El presente trabajo tuvo como objetivo extraer capsaicina de dos especies de ají, *Capsicum chinense* y *Capsicum pubescens*, empleando el método de extracción asistida por ultrasonido con etanol como solvente. Además, se buscó determinar los parámetros óptimos de extracción y comparar el rendimiento de la extracción asistida por ultrasonido con el método convencional Soxhlet. Para ello, se utilizó un diseño experimental 3², considerando como factores el tiempo de extracción y la fracción volumétrica de etanol, con niveles establecidos en 10, 20, 30 minutos y 75, 85, 95%, respectivamente; se realizó un análisis de varianza (ANOVA) de dos factores y se aplicó el estadístico de Bonferroni para determinar los parámetros óptimos. Los resultados indicaron que, para la especie *Capsicum chinense*, el tiempo óptimo de extracción fue de 20 minutos, mientras que para la especie *Capsicum pubescens* fue de 30 minutos. Además, se determinó que la fracción volumétrica de etanol óptima para ambas especies fue del 75%, logrando obtener concentraciones de 104.7 mg/L y 68.1 mg/L de capsaicina respectivamente, evidenciando así que la especie de ají con el contenido más alto de capsaicina fue *Capsicum chinense*. Por último, al comparar la extracción asistida por ultrasonido con el método convencional Soxhlet, se evidenció una clara ventaja del método asistido por ultrasonido, ya que reduce el tiempo de extracción, el consumo de energía y opera a temperaturas más bajas que el método Soxhlet.

Palabras clave: capsaicina, métodos de extracción, ultrasonido, método soxhlet



El contenido de esta obra corresponde al derecho de expresión de los autores y no compromete el pensamiento institucional de la Universidad de Cuenca ni desata su responsabilidad frente a terceros. Los autores asumen la responsabilidad por la propiedad intelectual y los derechos de autor.

Repositorio Institucional: <https://dspace.ucuenca.edu.ec/>

Abstract

The current work aimed to extract capsaicin from two chili species, *Capsicum chinense* and *Capsicum pubescens*, using the ultrasound-assisted extraction method with ethanol as the solvent. Additionally, the aim was to determine the optimal extraction parameters and compare the performance of ultrasound-assisted extraction with the conventional Soxhlet method. For this purpose, a 3² experimental design was used, considering the extraction time and the volumetric fraction of ethanol as factors, with levels set at 10, 20, and 30 minutes, and 75, 85, and 95%, respectively. A two-factor analysis of variance (ANOVA) was performed, and the Bonferroni statistic was applied to determine the optimal parameters. The results indicated that, for *Capsicum chinense*, the optimal extraction time was 20 minutes, while for *Capsicum pubescens*, it was 30 minutes. Furthermore, it was determined that the optimal volumetric fraction of ethanol for both species was 75%, resulting in capsaicin concentrations of 104.7 mg/L and 68.1 mg/L respectively, thus showing that *Capsicum chinense* had the highest capsaicin content. Finally, upon comparing the ultrasound-assisted extraction with the conventional Soxhlet method, a clear advantage of the ultrasound-assisted method was evidenced, as it reduced the extraction time, energy consumption, and operated at lower temperatures than the Soxhlet method.

Keywords: capsaicin, extraction methods, ultrasound, soxhlet method



The content of this work corresponds to the right of expression of the authors and does not compromise the institutional thinking of the University of Cuenca, nor does it release its responsibility before third parties. The authors assume responsibility for the intellectual property and copyrights.

Institutional Repository: <https://dspace.ucuenca.edu.ec/>

Índice de contenido

Resumen	2
Abstract.....	3
Índice de contenidos	4
Índice de figuras.....	6
Índice de tablas.....	7
Dedicatoria.....	8
Glosario de términos	11
Capítulo 1: Introducción	12
Identificación del problema y justificación	13
Objetivos	15
<i>Objetivo general</i>	15
<i>Objetivos específicos</i>	15
Capítulo 2: Marco teórico y estado del arte	16
Capsicum	16
Capsaicina	16
<i>Propiedades Fisicoquímicas de la Capsaicina</i>	18
<i>Aplicaciones de la Capsaicina</i>	18
Extracción de Capsaicina	19
<i>Técnicas de Extracción Convencionales</i>	19
<i>Técnicas de Extracción Convencionales</i>	22
Técnicas de Cuantificación.....	26
<i>Espectroscopía UV-Visible (UV-Vis)</i>	26
<i>Cromatografía Líquida HPLC</i>	26
Técnicas de Identificación	27
<i>Espectroscopía Infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR)</i>	27
Capítulo 3: Metodología	28
Materiales, Reactivos y Equipos.....	28
Selección de la Muestra	29
Pretratamiento de la Muestra	29

Extracción Asistida por Ultrasonido	29
Filtración de la Muestra	30
Determinación de Porcentaje de Extraíbles	31
Cuantificación de Capsaicina por Espectroscopía UV-Visible.....	31
Caracterización de Capsaicina mediante Espectroscopia Infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR).....	31
Diseño Experimental	32
Análisis Estadístico.....	32
Capítulo 4: Resultados y Discusión.....	33
Determinación de Porcentaje de Extraíbles	33
Espectroscopía UV-VIS	34
<i>Curva de Calibración</i>	34
Cuantificación de Capsaicina Extraída	35
Análisis Estadístico.....	38
<i>Análisis de Varianza (ANOVA)</i>	40
Espectroscopía FTIR.....	46
Comparación con un Método Convencional: Extracción Soxhlet	48
Conclusiones	50
Referencias.....	51
Anexos.....	61

Índice de figuras

Figura 1 Estructura química de la capsaicina	17
Figura 2 Anatomía del ají	17
Figura 3 Equipo de extracción Soxhlet	20
Figura 4 Representación esquemática del equipo ultrasónico: a) baño y b) sonda	23
Figura 5 Representación esquemática de la sonda de ultrasonido utilizada para la extracción de capsaicina	30
Figura 6 Curva de calibración de capsaicina	35
Figura 7 Prueba de normalidad para la especie <i>Capsicum chinense</i>	39
Figura 8 Prueba de normalidad para la especie <i>Capsicum pubescens</i>	39
Figura 9 Gráfica de efectos principales para la especie <i>Capsicum chinense</i>	43
Figura 10 Gráfica de efectos principales para la especie <i>Capsicum pubescens</i>	44
Figura 11 Gráfica de interacción para la especie <i>Capsicum chinense</i>	44
Figura 12 Gráfica de interacción para la especie <i>Capsicum pubescens</i>	45
Figura 13 Espectro infrarrojo del extracto de <i>Capsicum chinense</i>	47
Figura 14 Espectro infrarrojo del extracto de <i>Capsicum pubescens</i>	47

Índice de tablas

Tabla 1 Extracción de capsaicina asistida por ultrasonido	23
Tabla 2 Descripción de materiales, reactivos y equipos utilizados	28
Tabla 3 Factores y niveles elegidos para el diseño experimental	32
Tabla 4 Porcentaje de extraíbles de la especie <i>Capsicum chinense</i>	34
Tabla 5 Porcentaje de extraíbles de la especie <i>Capsicum pubescens</i>	34
Tabla 6 Cuantificación de capsaicina extraída a partir de <i>Capsicum chinense</i>	36
Tabla 7 Cuantificación de capsaicina extraída a partir de <i>Capsicum pubescens</i>	37
Tabla 8 Pruebas de normalidad	39
Tabla 9 Análisis de varianza para la especie <i>Capsicum chinense</i>	41
Tabla 10 Análisis de varianza para la especie <i>Capsicum pubescens</i>	41
Tabla 11 Comparación de medias para el factor tiempo, especie <i>Capsicum chinense</i>	42
Tabla 12 Comparación de medias para el factor %v/v etanol, especie <i>Capsicum chinense</i>	42
Tabla 13 Comparación de medias para el factor tiempo, especie <i>Capsicum pubescens</i>	43
Tabla 14 Comparación de medias para el factor %v/v etanol, especie <i>Capsicum pubescens</i>	48
Tabla 15 Extracción de capsaicina por método Soxhlet	48
Tabla 16 Datos utilizados para el cálculo de porcentaje de extraíbles de <i>Capsicum chinense</i>	61
Tabla 17 Datos utilizados para el cálculo de porcentaje de extraíbles de <i>Capsicum pubescens</i>	62

Dedicatoria

Quiero dedicar este trabajo de titulación a mi padres, Juan Manuel y Priscilla, por ser mi apoyo incondicional a lo largo de toda mi vida y por haberme inculcado la confianza necesaria para creer en mí misma y perseguir mis sueños. A mi padre, quiero expresar mi profundo agradecimiento por haberme inculcado con su inquebrantable compromiso los valores de dedicación, disciplina y responsabilidad. A mi madre, gracias a quien aprendí que no existen límites para lo que puedo lograr y que puedo ser quien desee ser, mientras me guiaba a lo largo de estos increíbles 22 años, no sé si se dio cuenta de que la persona que más deseaba ser era ella.

A mi hermano y futuro colega, Juan Sebastian. A mis abuelos, Esthela, Bertha, Pepe, y a mis tías Lucía, Cecilia, Yolanda y Gabriela, quienes me han enseñado el verdadero valor del esfuerzo y la perseverancia. A Candy, mi leal amiga desde los 12 años.

A mi novio, Sebastián, en palabras del propio Carl Sagan: dada la inmensidad del tiempo y la inmensidad del universo, es un placer para mí compartir un planeta y una época contigo. Gracias por tu apoyo constante y complicidad en cada aventura.

A mis amigas/os, Doménica, Ana María, Karen, Carlos y Pablo, quienes me han alentado y me han sacado una sonrisa en los momentos más felices y en los más tristes. A mi profesor, Pablo Tenesaca, por enseñarme a desafiar los límites y a perseguir mis sueños con determinación, que sus enseñanzas sigan inspirando a futuras generaciones y que su legado perdure en aquellos a quienes ha influenciado. A mi psicóloga, Lorena, quien me ayudó a sobrellevar toda mi etapa universitaria. A One Direction y 5SOS, su impacto ha trascendido la música y ha dejado una marca duradera en mi vida, recordándome la importancia de la autenticidad y la conexión humana en todo lo que hago.

A mi querida amiga y compañera de tesis, Juleisy, por acompañarme a lo largo de este arduo camino y por enseñarme la importancia de la humildad en la búsqueda del éxito.

A mi misma, a Ana Cristina de 6 años que se preguntaba por qué el cielo era azul, a Ana Cristina de 11 años que quería saber cómo volaban las naves espaciales, a Ana Cristina de 16 años que quería saber cómo funcionaban las partículas subatómicas y a Ana Cristina de 22 años, por haber dado su mayor esfuerzo en el trabajo de titulación que leerán a continuación. Por último, a todos los científicos, ingenieros y maestros que vinieron antes de mí, pues si he podido ver más lejos ha sido porque he subido a hombros de gigantes.

-Ana Cristina

Dedicatoria

Quiero dedicar este trabajo de titulación a Dios, fuente de toda sabiduría y guía en vida.

A mis amados padres, ejemplo de lucha y perseverancia. Su sacrificio y aliento han sido la piedra angular en mi camino académico, su presencia constante ha sido un faro en los días oscuros, guiándome hacia la luz. Les dedico este logro y espero que llene sus corazones de orgullo y satisfacción, pues sin su apoyo, nada de esto habría sido posible. Los amo más allá de las palabras y siempre llevaré sus enseñanzas en cada paso de mi vida.

A mis queridos hermanos, Mishell y Thiago, quienes han sido mis cómplices, amigos y compañeros de vida. Desde que éramos niños han sido mi más grande inspiración y apoyo, su amor es mi mayor fortaleza. Espero que este logro los llene de orgullo y sea un recordatorio de que, juntos, podemos alcanzar cualquier meta.

A mi abuela Arjovina, fuente inagotable de amor, sabiduría y paciencia. Gracias por creer en mí incluso cuando dudaba de mis propias capacidades, su sabiduría ha sido una fuente de inspiración en cada página de este trabajo. En cada éxito que obtenga en mi vida, sé que su espíritu estará conmigo, celebrando y guiándome. A mis abuelos, Martha y Luis, por su apoyo y cariño incondicional.

A mis primos, Ma. Fernanda, Julissa, Thaiss y José Fernando, su presencia es un regalo invaluable en mi camino, gracias por celebrar mis triunfos como si fueran suyos y por nunca dejar de creer en mí. Que nuestra amistad y complicidad sigan creciendo con el tiempo, y que nunca dejemos de soñar.

A mi amiga e incondicional compañera de tesis, Ana Cristina, gracias por compartir tu sabiduría conmigo. Tu compromiso y pasión por la ciencia me anima cada día a seguir tus pasos.

A mis entrañables amigos Juan y Ma. Paula, seres incondicionales y buenos. Su amistad es un pilar fundamental en mi vida, gracias por sostenerme en los momentos difíciles y por hacerme sentir amada en cada instante. Su compañía ha hecho que este viaje académico sea una experiencia memorable.

Y mi misma. Una niña que siempre soñó con un futuro mejor.

-Con cariño, Juleisy

Agradecimientos

Queremos expresar nuestros más sinceros agradecimientos a todas las personas que han contribuido de manera significativa a la realización de esta tesis. Su apoyo y colaboración han sido fundamentales para el éxito de nuestro trabajo.

En primer lugar, deseamos agradecer al Centro de Estudios Ambientales por brindarnos la oportunidad de llevar a cabo nuestro trabajo de titulación en sus instalaciones, la apertura y disponibilidad que nos han ofrecido han sido clave para el desarrollo de nuestro trabajo. Extendemos un especial agradecimiento a la Dra. María Eulalia Vanegas, directora del Centro de Estudios Ambientales, por su valiosa orientación y apoyo durante todo el proceso. Agradecemos de manera especial a la Ing. Diana Brazales por su colaboración y ayuda en el desarrollo de la tesis, su compromiso y disposición para brindarnos asistencia en diferentes aspectos de nuestra investigación han sido invaluable.

Queremos reconocer y agradecer a PhD. Mayra Vera, nuestra tutora de tesis. Sus comentarios, sugerencias y retroalimentación constante han sido fundamentales para la mejora continua de nuestro trabajo. Asimismo, su compromiso y conocimientos han sido de gran valor para nuestra formación académica.

De igual forma, queremos expresar nuestro agradecimiento al Dr. Christian Cruzat y a la Dra. Verónica Pinos, por su asesoramiento y orientación en aspectos metodológicos y científicos; su experiencia y conocimientos han sido de gran importancia para la realización de este trabajo. Por último, pero no menos importante, agradecemos a María Elena Cazar por su generosidad al permitirnos utilizar el equipo FTIR en su laboratorio, su contribución nos ha permitido llevar a cabo nuestros análisis y obtener resultados precisos.

A todas las personas mencionadas y a aquellos que, de alguna manera, han brindado su apoyo durante este proceso, les estamos sinceramente agradecidos. Su contribución ha sido fundamental para el logro de nuestros objetivos y el cumplimiento de esta etapa académica.

Con gratitud,

-Ana Cristina y Juleisy.

Glosario de términos

HPLC-DAD: Cromatografía líquida de alta eficiencia

HPLC: Cromatografía líquida de alta resolución

UHPLC: Cromatografía líquida de rendimiento ultraalto

GC: Cromatografía de gases

Espectroscopía UV-Vis: Espectroscopía ultravioleta-visible

FTIR: Espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier

Capítulo 1: Introducción

Los compuestos biológicamente activos, más conocidos como compuestos bioactivos, están siendo explorados y estudiados a causa de sus beneficios para la salud y su amplio potencial de aplicación en múltiples sectores industriales por las distintas funciones biológicas que poseen (Zou et al., 2023; García-Mahecha et al., 2023). Los compuestos bioactivos se definen como: “metabolitos secundarios de las plantas que producen efectos farmacológicos o toxicológicos en humanos y animales” (Bansod et al., 2023).

Los compuestos bioactivos en las plantas se dividen en tres categorías principales: (a) terpenos y terpenoides (aproximadamente 25 000 tipos), (b) alcaloides (aproximadamente 12 000 tipos) y (c) compuestos fenólicos (aproximadamente 8000 tipos) (Bansod et al., 2023). Dentro del grupo de alcaloides se halla la capsaicina, la cual es una molécula pungente que se encuentra en los frutos de las plantas pertenecientes al género *Capsicum*, cuya familia botánica es Solanaceae, estos frutos son comúnmente conocidos como ají, chile o pimiento picante (Thornton et al., 2023).

La capsaicina es el principal compuesto dentro de la categoría capsaicinoides, responsables del sabor característico del ají, esta tiene un amplio potencial de aplicación en los sectores agroalimentario, cosmético y farmacéutico debido a sus propiedades antioxidantes, antiinflamatorias, analgésicas, antifúngicas, entre otras (Gammoudi et al., 2021; Adaszek et al., 2019), inclusive, diversas investigaciones revelan que la capsaicina exhibe una potente actividad oncogénica al inhibir el desarrollo, la angiogénesis y la metástasis de varios tipos de cáncer en seres humanos (Merritt et al., 2022). Debido a los motivos expuestos anteriormente, la investigación de los métodos de extracción de este compuesto bioactivo son de gran interés e importancia.

Una mejor comprensión de los procesos de extracción puede ayudar a optimizar los protocolos de extracción y concentración para elevar el rendimiento y la efectividad de los mismos, esto es esencial para aplicaciones que requieren capsaicina con un alto grado de pureza (Wang et al., 2022).

Identificación del problema y justificación

Progresivamente se ha explorado una serie de métodos convencionales para la extracción de compuestos bioactivos, como la maceración, extracción Soxhlet, destilación, entre otros (Sridhar et al., 2021). En su mayoría, se han empleado métodos de extracción convencionales mediante solventes orgánicos, pues la solubilidad de la capsaicina en compuestos orgánicos permite la extracción de los frutos del ají, se sabe que si bien la capsaicina es insoluble en agua, es soluble en grasas y solventes orgánicos como el etanol, acetona, hexano, entre otros (Wang et al., 2022; Ilie et al., 2019; Adaszek et al., 2019).

Los métodos convencionales presentan ventajas como la facilidad de operación y bajo costo, no obstante, usualmente implican largos tiempos de operación y emplean altos volúmenes de solvente, lo cual limita el rendimiento y la eficiencia de la extracción, además, varios de los solventes utilizados pueden ser tóxicos y dañinos para el medio ambiente (Wang et al., 2022). De estas técnicas se destaca la extracción Soxhlet debido a su alto rendimiento, sin embargo, usa temperaturas elevadas (80°C- 90°C) que no favorecen el proceso, pues, estudios revelan que a temperaturas mayores a 70°C se pierde capsaicinoides por volatilización (Chinn et al., 2011; Martins et al., 2017; Castro-Muñoz et al., 2022).

El método de extracción elegido debe ser rápido, económico, versátil y eficiente, debe tener un rendimiento considerable y no debe presentar toxicidad (Martins et al., 2017). Los métodos de extracción convencionales presentan desventajas, mencionadas anteriormente, que se pretenden evitar mediante el estudio de métodos no convencionales como la extracción asistida por ultrasonido, extracción con agua caliente a presión y extracción por microondas (Ichim & Blaga, 2021). En este trabajo se plantea la extracción de capsaicina asistida por ultrasonido, pues este método innovador reduce el uso de solventes, el tiempo de extracción, tiene una alta reproducibilidad, consume una menor cantidad de energía fósil y se realiza a temperaturas relativamente bajas (Cortés-Ferré et al., 2022; Ichim & Blaga, 2021).

Estudios indican que al usar extracción asistida por ultrasonido se obtiene aproximadamente un 10 % más de recuperación de capsaicinoides en comparación con maceración pero un 5% menos de recuperación que la extracción Soxhlet (Castro-Muñoz et al., 2022), sin embargo, en cuanto a términos energéticos, la extracción asistida por ultrasonido genera menor consumo de energía en comparación con el método Soxhlet, además que disminuye el uso de solvente y el tiempo de extracción (Chuichulcherm et al., 2013), en el estudio de Martins et al. (2017) se

comparó la extracción asistida por ultrasonido y la extracción Soxhlet de capsaicina, y aunque se obtuvo una menor cantidad de capsaicina mediante el método de extracción asistido por ultrasonido, se redujo el tiempo de extracción en un 86% y se utilizó un 99% menos de disolvente en comparación con el método Soxhlet.

La eficiencia del proceso de extracción de compuestos bioactivos con solventes depende de varios factores, entre los principales se destaca el tipo y concentración del solvente, relación muestra:solvente, tiempo y temperatura. Se ha registrado que mientras más elevada sea la temperatura, se logrará una mayor solubilidad y por ende una mayor liberación de los compuestos, sin embargo, temperaturas muy elevadas podrían provocar la evaporación del solvente y generar impurezas no deseadas y degradación del producto (Nguyen et al., 2021).

Según Martins et al. (2017), el método más utilizado para la extracción de capsaicina se basa en la extracción con hexano, que es muy tóxico y produce disolvente residual; en este trabajo se propone el uso de la extracción asistida por ultrasonido con etanol como solvente debido a su menor costo y su naturaleza no tóxica. Se ha registrado que cuando se usa solvente puro se obtiene una mayor extracción (Nguyen et al., 2021; Martínez et al., 2019), sin embargo, desde el punto de vista económico, se plantea la necesidad de usar concentraciones inferiores al solvente puro. Para establecer la eficiencia del método empleado, se realizó una comparación con respecto a los resultados obtenidos por el método Soxhlet.

Por su parte, la capsaicina puede representar del 0,1% al 1% de la masa de los ajíes y se encuentra habitualmente en la placenta, en el pericarpio y en las semillas (Zhang et al., 2020; Pandhair & Sharma, 2008). Por esta razón, para la extracción de capsaicina se tomó como muestra la placenta y semillas, que son partes del fruto donde existe mayor concentración de este compuesto bioactivo. Aunque la cantidad de capsaicina en los ajíes depende de varios factores, en general, se ha visto que la especie con mayor contenido de capsaicina es el *Capsicum chinense* (ají habanero) (Larenas et al., 2015). Por esta razón, en este trabajo se utilizó la variedad más común de esta especie, el ají habanero. Por otro lado, la capsaicina se extrajo también del ají rocoto (*Capsicum pubescens*), pues es una especie nativa de la región andina del Ecuador (Sánchez, 2015).

Objetivos

Objetivo general

Extraer capsaicina de dos variedades de ají, *Capsicum chinense* y *Capsicum pubescens*, mediante técnica asistida por ultrasonido con etanol como solvente y establecer los mejores parámetros operacionales, comparando su rendimiento con una técnica convencional.

Objetivos específicos

- Establecer los parámetros operacionales para obtener la máxima cantidad de capsaicina a partir de extracción asistida por ultrasonido.
- Comparar el contenido de capsaicina obtenido de la especie *Capsicum chinense* y *Capsicum pubescens*.
- Comparar el rendimiento de la extracción asistida por ultrasonido con otra técnica convencional para evaluar su eficiencia.

Capítulo 2: Marco teórico y estado del arte

Capsicum

El ají (también conocido como chile o pimiento picante) es el fruto de las plantas del género *Capsicum spp*, este abarca más de 200 variedades descritas que se diferencian por su tamaño, color, forma y composición química (Vázquez-Espinosa et al., 2023). El ají ha sido consumido por los seres humanos durante más de 6000 años por su sabor picante, color y aroma; en la actualidad es cultivado alrededor de todo el mundo (Chuichulcherm et al., 2013; Fattori et al., 2016). Los cultivares de ají en América del Sur se originan principalmente a partir de las cinco especies domesticadas, las cuales son: *C. annuum L.*, *C. frutescens Mill.*, *C. baccatum L.*, *C. chinense* y *C. pubescens* (Tobolka et al., 2021). Las aplicaciones del ají han incrementado en los últimos años debido al aprovechamiento de sus contenidos en capsaicinoides, carotenos y ésteres (González et al., 2022).

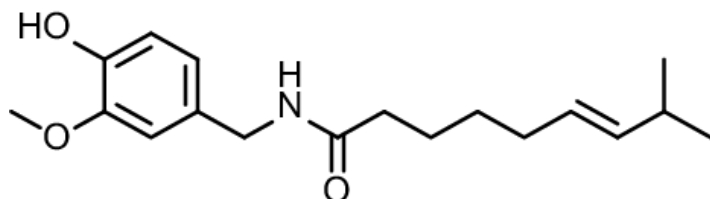
Los compuestos responsables del sabor picante del género *Capsicum* son los capsaicinoides, que son vanililamidas de ácidos grasos ramificados de 9 a 11 átomos de carbono, la característica estructural de los capsaicinoides que determina sus propiedades picantes está asociada con la presencia de un enlace amida que conecta un anillo vanillil y una cadena acilo (Vázquez-Espinosa et al., 2023; Barbero et al., 2008). Se sabe, de hecho, que existe una correlación directa entre el contenido total de capsaicinoides y la acritud de los frutos de este género (Werner, 2021). El componente mayoritario dentro de los capsaicinoides es la capsaicina (69%), aunque estos también comprenden otros compuestos activos como la dihidrocapsaicina (22%), nordihidrocapsaicina (7%), homocapsaicina (1%) y homodihidracapsaicina (1%) (Waqas et al., 2022).

Capsaicina

La capsaicina es un componente activo y metabolito secundario del ají, derivado del ácido homovalínico, su fórmula molecular es $C_{18}H_{27}NO_3$ y su denominación IUPAC es trans-8-metil-N-vanillil-6-nonenamida (Shah et al., 2020; Marchan-Solier et al., 2021). La capsaicina es un protoalcaloide natural incoloro, inodoro e inicialmente insípido, sin embargo, adquiere un efecto picante e irritante al ser consumida (Ilie et al., 2019; Castro-Muñoz et al., 2022). La capsaicina tiene un anillo de benceno y una larga cola de carbono hidrófoba con un grupo amida polar, tal como se observa en la figura 1 (Muchena, 2009).

Figura 1

Estructura química de la capsaicina

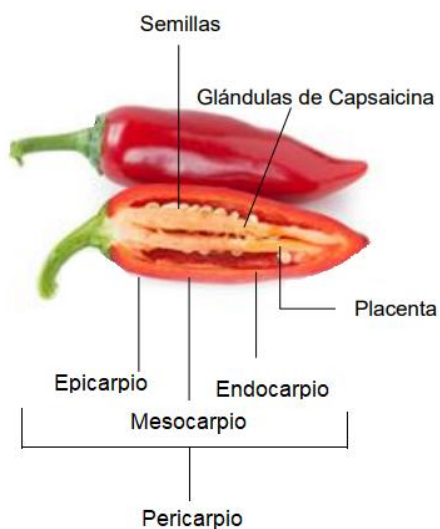


Nota. Tomado de *Recent advances in natural products analysis* (p. 256), por Shah et al., 2020.

La capsaicina se sintetiza naturalmente y se acumula en el tejido epidérmico de la placenta del ají, donde eventualmente se excreta en las semillas y en la superficie interna del pericarpio (ver figura 2), esta biosíntesis tiene lugar durante la maduración de la fruta, esto quiere decir que, en general, mientras más maduro esté el ají, tendrá mayor cantidad de capsaicina (Palma-Orozco et al., 2021; Tobolka et al., 2021; Ye et al., 2022).

Figura 2

Anatomía del ají



Nota. Adaptado de *Propuesta de mejora para reducir el producto no conforme en la etapa de hidratación del chile chipotle adobado, en la empresa de alimentos enlatados* (p. 28), por M. C. Valerianes Pensado, 2022.

Si bien la madurez del ají es un factor que afecta el contenido de capsaicina, se debe tener en cuenta que la cantidad de capsaicina depende principalmente de su especie (Rahman et al.,

2010). Por otro lado, la cantidad de capsaicina también puede verse influenciada por las condiciones en las que se cultiva la planta, como el fertilizante utilizado, la temperatura o la intensidad de la luz a la que se expone (Stan et al., 2021; Orellana-Escobedo et al., 2013).

Propiedades Fisicoquímicas de la Capsaicina

Es un compuesto químico cristalino, lipofílico, insoluble en agua, pero soluble en grasas y solventes orgánicos como el etanol, acetona, entre otros. Su punto de fusión oscila entre los 62-65 °C y posee un peso molecular de 305,40 g mol⁻¹ (Ilie et al., 2019; Castro-Muñoz et al., 2022).

Aplicaciones de la Capsaicina

La capsaicina se caracteriza por sus propiedades antibacterianas, antiinflamatorias, y por su actividad antioxidante, anticancerígena, anticoagulante e hipotensora (Adaszek et al., 2019). Estudios muestran su uso efectivo en el tratamiento de trastornos inflamatorios como la artritis reumatoide, dermatitis, anorexia, hemorroides, entre otros. Asimismo, se ha reportado su uso como analgésico, antihipertensivo, antiarrítmico, gastroprotector, etc (Sanati et al., 2018).

Científicos muestran que la capsaicina dietética puede usarse en la prevención de enfermedades como el Alzheimer. Su actividad antibacteriana reduce la infección por bacterias como *Salmonella typhimurium*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Saccharomyces cerevisiae* y *Helicobacter pylori* o cepas de *Streptococcus pyogenes* (Adaszek et al., 2019).

En los últimos años, se ha estudiado a la capsaicina ya que exhibe potenciales efectos terapéuticos anticancerígenos (Han et al., 2022), en este ámbito se plantea la administración de fármacos de liberación sostenida basados en capsaicina que tienen el potencial de funcionar como quimioterapias novedosas, sondas de diagnóstico por imágenes únicas y agentes de quimiosensibilización innovadores en cánceres humanos (Merritt et al., 2022).

Por su parte, también muestra su uso como insecticida y como pesticida (Sanati et al., 2018), en el estudio de Karanja (2022), se evaluó los efectos de la capsaicina en la supresión de patógenos vegetales en tomates y se encontró una correlación positiva entre la concentración de capsaicina y la eficacia de la misma como biopesticida. Asimismo, se ha reportado que la capsaicina permite inhibir el crecimiento de hongos por sus propiedades antifúngicas (Sittisart et al., 2017).

Extracción de Capsaicina

La extracción de la capsaicina se realiza por varias técnicas, donde se aprovecha la solubilidad de este alcaloide en compuestos orgánicos. Se distinguen dos tipos de técnicas de extracción, convencionales e innovadoras, entre las primeras se destaca la extracción Soxhlet, maceración, hidrodestilación, mientras que las últimas abarcan: extracción basada en nanosorbentes, extracción asistida por ultrasonido o por microondas, extracción por fluidos supercríticos y subcríticos (Bajer et al., 2015; Castro-Muñoz et al., 2022).

Zhang et al. (2018) señalan que la extracción de compuestos bioactivos se lleva a cabo a través de cuatro etapas:

1. El solvente penetra en la matriz sólida
2. El soluto se disuelve en el solvente
3. El soluto se difunde fuera de la matriz sólida
4. Finalmente, se recogen los solutos extraídos

Cualquier factor que incremente la difusividad y la solubilidad facilitará el proceso (Zhang et al., 2018). Para estimar una eficiente y óptima extracción de capsaicina es fundamental evaluar la solubilidad de esta en los solventes a usar, dicha solubilidad depende de la temperatura y de la polaridad del solvente (Castro-Muñoz et al., 2022). También, existen otros parámetros a tomar en cuenta para la extracción de capsaicinoides como, el método de secado, parte del fruto, el tipo y concentración de solvente y el tiempo de extracción (Gammoudi et al., 2021). Chin et al. (2011) ha reportado que la temperatura de secado del fruto debe ser inferior a 70°C para minimizar la pérdida de capsaicinoides por volatilización (Chin et al., 2011).

Asimismo, estudios muestran que a menores tamaños de partícula, se obtiene un mejor resultado en la extracción, esto debido a la mayor penetración de solvente y difusión del soluto (Zhang et al., 2018). Sin embargo, los investigadores también recomiendan que el tamaño de partícula de la muestra seca no sea inferior a 1 mm, pues, por debajo de este límite se dificulta la filtración de extractos (Rudometova & Kim, 2019; Lu et al., 2017).

Técnicas de Extracción Convencionales

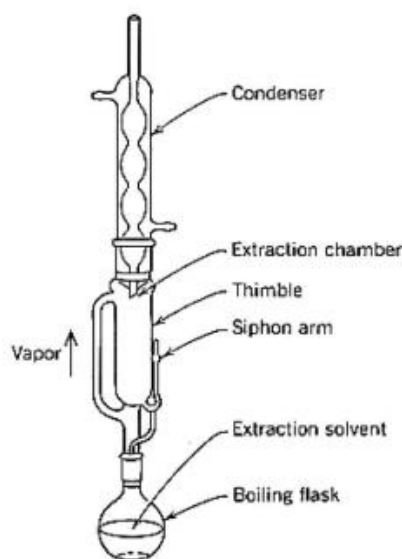
Se basan en la eficiencia del solvente, tratamiento térmico y tiempo de extracción. Si bien las técnicas tradicionales proporcionan altos rendimientos de extracción, requieren grandes

cantidades de solventes y largos tiempos de operación, lo que justamente eleva el costo total de extracción (Castro-Muñoz et al., 2022; Yasin et al., 2023).

Extracción Soxhlet. Es una de las técnicas más usadas en la extracción de analitos de muestras sólidas. Fue inventado por Franz von Soxhlet en 1879, de ahí que lleve su nombre. El equipo está compuesto por un matraz, un condensador, un dedal, una cámara de extracción y un sifón (Ver figura 3) (Sitholé et al., 2010).

Figura 3

Equipo de extracción Soxhlet.



Nota. Tomado de *Analysis and fate of lipophilic extractives in sulphite pulps* (p. 34), por Sitholé et al., 2010.

La técnica se basa en colocar un solvente en el matraz y calentarlo, hasta que se evapore, el vapor caliente asciende al condensador y se enfría, el mismo que gotea sobre la cámara de extracción que contiene la muestra sólida (analito), cuando la cámara se llena con el solvente tibio, se vacía por acción del sifón y el contenido se vierte nuevamente al matraz, es decir, en el matraz se tendrá analito y solvente. Este proceso se repite varias veces hasta que sea necesario. Luego, de la extracción el solvente se puede separar del analito usando un evaporador rotatorio (Sitholé et al., 2010).

Estudios indican que la extracción de capsaicina por Soxhlet puede alcanzar un rendimiento del 92%, empleando una temperatura aproximada de 78 °C y etanol como solvente. También, se ha reportado el mismo rendimiento usando diclorometano como solvente (Sarma & del Valle, 2020). Sin embargo, las desventajas de este método es que demanda alta cantidad de solvente, períodos largos de tiempo, utiliza altas temperaturas y gran cantidad de muestra (Sridhar et al., 2021; Castro-Muñoz et al., 2022). Además, que generalmente usa solventes que son tóxicos para el medio ambiente como el éter de petróleo y el hexano (Castro-Muñoz et al., 2022; Sridhar et al., 2021).

Maceración. Es una técnica sencilla, en la que el solvente entra en contacto directo con la muestra molida a temperatura muy cercana a la del ambiente (Santos et al., 2016). Se ha reportado que se encuentra entre las técnicas de extracción mayormente usadas (Tobolka et al., 2021). Permite la extracción completa de los compuestos de interés y previene la modificación de los constituyentes químicos del extracto (Abdurahman & Olalere, 2016). Sin embargo, requiere grandes volúmenes de solvente y altos períodos de operación.

Estudios muestran que no es recomendable usar solventes totalmente puros, sino mezclas de estos solventes. Santos y sus colaboradores (2016) reportaron que la mezcla de 60% acetonitrilo y 40% agua permite una extracción de 0,146 mg de capsaicina/g ají (Santos et al., 2016).

Aunque existen varios factores influyentes en la extracción por maceración, en general, se recomienda evitar altas temperaturas para minimizar la pérdida de capsaicinoides por volatilización (Chinn et al., 2011), considerar la relación sólido:solvente (Civan & Kumcuoglu, 2019), el tiempo y la velocidad de agitación también son parámetros importantes en la extracción por maceración (Sridhar et al., 2021).

Hidrodestilación. Es un método convencional usado para la extracción de los constituyentes del ají usando agua como solvente. El proceso consiste en calentar el agua y agregar la muestra, a medida que el agua se calienta se genera vapor, el mismo que pasa a través de la muestra y arrastra los compuestos de interés. Dicho vapor se condensa y se forma una fase agua-extracto, que luego se puede separar para obtener extractos de capsaicinoides puros. Una de las principales ventajas de este método es el uso de compuestos inorgánicos como el agua, sin embargo, se dificulta el control del calentamiento, generando variabilidad en la extracción (Abdurahman & Olalere, 2016).

Técnicas de Extracción Convencionales

Los métodos modernos pretenden mejorar las condiciones de extracción tradicionales, mostrando altas tasas de recuperación, empleando menos tiempo y eliminando los compuestos no deseados (Castro-Muñoz et al., 2022).

Extracción Asistida por Ultrasonido. La extracción asistida por ultrasonido se presenta como una opción sostenible y asequible para la extracción de compuestos bioactivos, se destaca por sus requerimientos moderados de inversión, requisitos instrumentales mínimos y una gran facilidad de uso, además de ofrecer un manejo seguro, económico y reproducible (Medina-Torres et al., 2017; Castro-López et al., 2022).

Esta técnica se basa en la aplicación de ondas ultrasónicas a una matriz sumergida en un medio líquido, para producir la ruptura de las paredes celulares y liberar los compuestos de interés de la misma (Castro-López et al., 2022; Carreira-Casais et al., 2021). Cuando una onda ultrasónica pasa a través de un solvente orgánico ocurre el fenómeno conocido como cavitación, el cual produce la energía necesaria para aumentar la penetración del solvente en la matriz de la muestra, es por esto que el resultado obtenido de esta extracción estará dictado por la capacidad que tenga el solvente utilizado para absorber y transmitir la energía de los ultrasonidos (Ichim & Blaga, 2021).

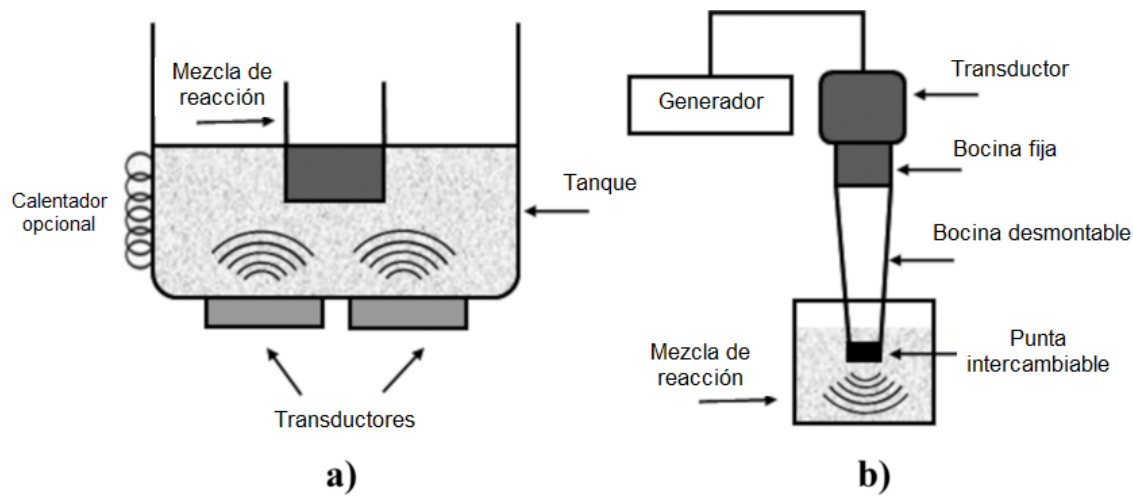
El uso de la extracción asistida por ultrasonido presenta varias ventajas, en primer lugar, permite realizar extracciones completas en cuestión de minutos con una alta reproducibilidad, lo que conlleva a una reducción del uso de solventes (Chemat et al., 2017; Ichim & Blaga, 2021), esto puede atribuirse a la cavitación y a las ondas de choque creadas alrededor de la muestra, pues las ondas de choque aceleran el escape de compuestos químicos de la superficie de la matriz (Wang et al., 2022). Además, los efectos sonoquímicos se ven favorecidos por bajas temperaturas, lo que permite realizar extracciones de compuestos bioactivos con bajos requerimientos energéticos. Por sus bajas temperaturas y bajos tiempos de extracción este proceso consume solo una fracción de la energía fósil típicamente requerida en métodos de extracción convencionales como la extracción Soxhlet, la maceración o la hidrodestilación (Chemat et al., 2017).

Los dispositivos para realizar extracción asistida por ultrasonido incluyen los baños ultrasónicos y las sondas ultrasónicas, ver figura 4. En general, los baños ultrasónicos son utilizados para

extracciones a pequeña escala, mientras que las sondas ultrasónicas se utilizan para extracción industrial a gran escala, esto ya que el sistema de sonda es más potente debido a que la intensidad ultrasónica se emite a través de una superficie más pequeña (solo la punta de la sonda), en comparación con el baño ultrasónico, en donde la intensidad entregada es muy atenuada por el agua contenida en el baño (Castro-López et al., 2022; Chemat et al., 2017).

Figura 4

Representación esquemática del equipo ultrasónico: a) baño y b) sonda



Nota. Adaptado de *Advanced technologies applied to enhance properties and structure of films and coatings: A review* (p.6), por Hermes de Vargas et al., 2022.

La extracción asistida por ultrasonido es una alternativa simple, ecológica y eficiente a las técnicas de extracción convencionales (Castro-López et al., 2022), es por esto que en los últimos años se han reportado múltiples estudios en donde se aplica el ultrasonido para la extracción de capsaicina. La Tabla 1 ofrece un resumen del estado del arte de la extracción asistida por ultrasonido de capsaicina.

Tabla 1

Extracción de capsaicina asistida por ultrasonido

Tipo de ají	Pretratamiento	Condiciones óptimas	Rendimiento	Técnica de cuantificación	Referencia
-------------	----------------	---------------------	-------------	---------------------------	------------

<i>Capsicum annuum L.</i>	Se quitaron las semillas del ají y se hirvieron durante 30 min para que se ablandaran (100–105 °C). Después se filtró a través de un tamiz de 3 mm y la parte superior se separó como pulpa. La pulpa se secó en la estufa a 70 °C hasta que su humedad esté por debajo del 10%. A continuación, la pulpa se molió y el polvo se almacenó a -18 °C hasta su análisis.	20 g de muestra molida en 50 mL de aceite de oliva, 60 % de amplitud a 60 °C durante 5 min.	781,42 µg/g de muestra seca	HPLC-DAD	Civan & Kumcuoglu. (2019)
<i>Capsicum frutescens</i>	Se separaron los tallos, se secaron los ajíes a 40–60 °C durante 45 h y luego se trituraron con una batidora eléctrica hasta obtener una muestra homogénea. Finalmente, la muestra seca se conservó en el desecador.	2 g de muestra seca, con 200 ml de etanol al 99,5% como único disolvente en un limpiador ultrasónico de 40 kHz utilizando diferentes tiempos de extracción 20 min.	4.014 mg/g muestra seca	HPLC	Chuichulche rm et al. (2013)
<i>Capsicum chinense</i>	Los frutos maduros se secaron en una estufa a 40°C por 48h. Los frutos secos se molieron y el polvo se almacenó a -4°C.	Se realizó por baño ultrasónico (40KHz), con uso de etanol como solvente a una concentración	19mg/g extracto	HPLC	Martins et al. (2017)

		del 95%, por 30 min y con una relación muestra:solvente 2mg/ml.			
<i>Capsicum annuum L.</i>	Los frutos de ají enteros se picaron finamente para lograr homogeneidad. Se secaron por dos técnicas: Secado térmico (55°C por 48h), Secado por congelación (-75°C por 48h).	Se realizó por baño ultrasónico durante 2 horas, usando metanol como solvente, a 50°C y una relación muestra solvente 1:8.	627 ug/g muestra seca	UHPLC	Marinçaş et al. (2018)
<i>Capsicum pubescens</i>	Se separaron las semillas y se cortó la pulpa en pedazos pequeños, los cuales se congelaron inmediatamente a una temperatura de -18°C durante 48 horas. Luego, las muestras se sometieron a un proceso de liofilización a una temperatura de -50.6°C y presión de 0,100 mbar durante 48 horas	Se realizó por baño ultrasónico con etanol al 96% como solvente a 25°C, durante 20 minutos	16,6606 ppm	GC	Medina Angulo & Robayo Martínez (2023)

Nota. HPLC-DAD: Cromatografía líquida de alta eficiencia; HPLC: Cromatografía líquida de alta resolución; UHPLC: Cromatografía líquida de rendimiento ultraalto; GC: Cromatografía de gases.

Extracción con agua caliente a presión. Extracción con agua caliente a presión. La extracción con agua caliente a presión usa como solvente agua líquida a temperatura superior al punto de ebullición e inferior al punto crítico (Plaza & Turner, 2015). El agua a temperaturas altas, disminuye la tensión superficial y la viscosidad, mientras que la solubilidad y la difusividad de los capsaicinoides aumentan, lo que permite la extracción de la capsaicina (Bajer et al., 2015). Es

así que el agua en condiciones normales de presión y temperatura no se recomienda como solvente para la extracción, dada la diferencia de solubilidad.

Extracción asistida por Microondas. Dicha extracción usa un microondas para calentar la muestra y el solvente, así se acelera el proceso y por tanto la cinética de extracción (Paduano et al., 2014). La energía de microondas genera calor a través de interacciones de componentes polares mediante la conversión de energía electromagnética en térmica. Los parámetros más influyentes en el proceso de extracción son el factor de disipación y la constante dieléctrica (Pimentel-Moral et al., 2018).

Técnicas de Cuantificación

Espectroscopía UV-Visible (UV-Vis)

La espectroscopía UV-Vis se fundamenta en la absorción de la radiación ultravioleta-visible. Su longitud de onda está comprendida entre los 160-780 nm. La absorción de dicha radiación genera la promoción de un electrón a un estado excitado, los electrones que se excitan son electrones de enlace de las moléculas, por lo que los picos de absorción sirven para correlacionarlos con los distintos tipos de enlace presentes en el compuesto. La técnica tiene varias aplicaciones, como la determinación de grupos funcionales en compuestos orgánicos, determinación cuantitativa, medidas de color, entre otros (Universidad de Alicante, 2023).

Se considera una de las más importantes y usadas en el análisis de varios compuestos (Akash & Rehman, 2020). Es útil para la cuantificación de compuestos bioactivos como la capsaicina, se considera un método robusto, conveniente y rentable (Waqas et al., 2022).

Cromatografía líquida HPLC

La cromatografía líquida es un método de análisis y separación de componentes químicos de una mezcla. En este método intervienen dos fases y la muestra de interés, las fases son móvil y estacionaria. La primera es líquida y se encarga de llevar la muestra a través de la fase estacionaria, que puede ser sólida o líquida. La retención y separación de los compuestos está determinado por las distintas fuerzas químicas y físicas que actúan entre las fases y la muestra de interés, los componentes que tengan mayor afinidad con la fase estacionaria se desplazarán menos que los que tengan una menor afinidad (Suárez-Ospina & Morales-Hernández, 2018).

Martins y sus colaboradores (2017), reportaron el uso de la técnica para la identificación y cuantificación de capsaicina.

Técnicas de Identificación

Espectroscopía Infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR)

FTIR es un método instrumental ampliamente usado para la identificación y caracterización de compuestos presentes en una mezcla desconocida de extractos naturales (Sasidharan et al., 2011). La técnica se fundamenta en la identificación de grupos funcionales de las moléculas, dichos grupos vibran cuando son irradiados con longitudes de onda de luz específicas. Los espectros FTIR se representan por las vibraciones y su intensidad (% de transmitancia) frente a la frecuencia de luz (cm^{-1}) al que se expone la muestra, estos espectros son una serie de picos, los mismos que representan los grupos funcionales del compuesto analizado (Daéid, 2005; Khan et al., 2018).

La preparación de las muestras para FTIR se realiza de varias formas. Cuando se trata de muestras líquidas, se coloca una gota de muestra entre dos placas de cloruro de sodio, mientras que para muestras sólidas se tiene dos opciones: se pueden moler con bromuro de potasio (KBr) y comprimirse en una partícula delgada que se pueda analizar, o la muestra se puede disolver en un solvente y colocar la solución en una sola placa de cloruro de sodio (Sasidharan et al., 2011).

Capítulo 3: Metodología

En este trabajo se realizó la extracción asistida por ultrasonido de capsaicina de las especies *Capsicum chinense* (ají habanero) y *Capsicum pubescens* (ají rocoto), utilizando etanol a diferentes concentraciones como solvente. La cuantificación del extracto obtenido se llevó a cabo mediante espectrometría UV-Vis. Posteriormente, se compararon los resultados obtenidos por este método con los obtenidos por el método Soxhlet.

Materiales, Reactivos y Equipos

Los materiales y equipos empleados en la extracción asistida por ultrasonido son anunciados a continuación en la Tabla 2.

Tabla 2

Descripción de materiales, reactivos y equipos utilizados

Materiales	Reactivos	Equipos
Vasos de precipitación	Etanol (96%)	Balanza analítica (AND-Model HM-200)
Tubos de ensayo	Capsaicina ($\geq 95\%$ - Sigma Aldrich)	Estufa (Mettler - Model UN55)
Papel filtro de membrana de celulosa de 0,45 μm de poro (CHM)	Ají rocoto	Espectrómetro UV-Vis (Thermo Scientific - Genesis 10S)
Probetas de 100ml	Ají habanero	Espectrómetro infrarrojo (Thermo Scientific- Nicolet iS5)
Papel aluminio	Agua destilada	Procesador ultrasónico (Sonics & Materials Inc - GEX500)
Embudo de vidrio		Sonda ultrasónica (Modelo CV334)
Kitasato		

Selección de la Muestra

El ají habanero se adquirió en Coral Hipermercados “El Batán”, mientras que el ají rocoto se adquirió en el mercado “Feria Libre”, ambos ubicados en la ciudad de Cuenca, Ecuador. En un principio los frutos se seleccionaron de acuerdo al color y uniformidad, descartando los frutos deteriorados y/o manchados.

Pretratamiento de la Muestra

Inicialmente las muestras se lavaron con agua destilada para eliminar cualquier tipo de impureza y se secaron a temperatura ambiente por 24 horas. Luego, se procedió a cortar la placenta y las semillas de los frutos, estos se secaron hasta obtener un peso constante en la estufa (Memmert Modelo UN55) a una temperatura de 40-°C.

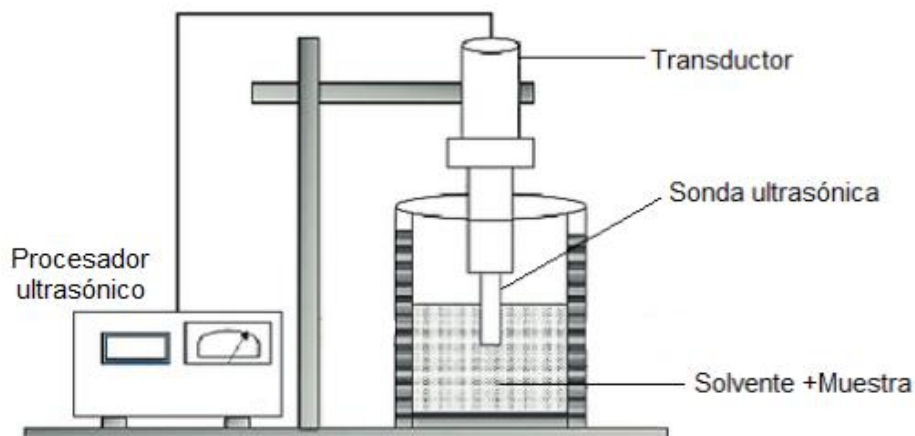
Con el fin de obtener un tamaño de partícula entre 1-2mm, la muestra seca se trituró en una licuadora convencional y posteriormente se pasó por un tamiz malla #10 ASTM y se retuvo en un tamiz de malla #18 ASTM. Para realizar los experimentos se tomó la misma cantidad de placenta y semillas, obteniendo así una mezcla homogénea.

Extracción Asistida por Ultrasonido

Se empleó la técnica de extracción asistida por ultrasonido, utilizando una sonda ultrasónica con una punta de 1/2” (Modelo CV334), acoplada a un procesador ultrasónico (Sonics & Materials Inc -GEX500) de 500 watts de potencia, 20 kHz de frecuencia y una tensión de 120 voltios. La sonda, la cual está conectada a un transductor, fue sumergida en el medio de extracción, que consiste en una mezcla de solvente y muestra, tal y como se muestra en la figura 5. De esta manera, se logró una entrega directa de ultrasonido, minimizando la pérdida de energía ultrasónica.

Figura 5

Representación esquemática de la sonda de ultrasonido utilizada para la extracción de capsaicina



Nota. Adaptado de *Phenolic Compounds Recovery from Grape Fruit and By-Products: An Overview of Extraction Methods* (p. 108), por Castro-López et al., 2022.

Para la extracción se tuvo como variables la fracción volumétrica del solvente y los tiempos de extracción, se utilizó etanol como solvente con una fracción volumétrica de 75, 85 y 95 (%v/v) y tiempos de extracción de 10, 20 y 30 min. La operación se llevó a cabo a una temperatura de 45°C y se usó una relación sólido:líquido de 2mg/ml, agregando 0,4 g de muestra seca en 200 ml de solvente.

Filtración de la Muestra

Después de finalizar el tiempo de extracción, se procedió a enfriar la muestra durante aproximadamente 10 minutos. Una vez que la muestra se enfrió, se llevó a cabo una filtración al vacío utilizando papel filtro de membrana de celulosa de 0,45 μm de poro (CHM), el cual fue colocado en un embudo de vidrio, situado sobre la parte superior de un kitasato. El kitasato utilizado se conectó a una bomba de vacío (BOECO R-300), operada a una frecuencia de 60 Hz y una tensión de 110 voltios.

El sistema de vacío generó una diferencia de presión que facilitó el paso del extracto a través del papel filtro. Durante este proceso, la muestra libre de extracto quedó atrapada en el papel filtro,

mientras que el extracto que contiene la capsaicina pasó a través de él y fue recolectado en un tubo de ensayo para su posterior análisis mediante espectroscopía UV-VIS.

Determinación de Porcentaje de Extraíbles

La muestra libre de extracto se dejó secar durante 24 horas a temperatura ambiente, después de transcurrido este tiempo se pesó y se registró este valor como “peso de muestra libre de extracto”. A partir de esto, se calculó el % de extraíbles de cada prueba mediante la siguiente ecuación:

$$\text{Porcentaje de extraíbles (\%)} = \frac{\text{Peso inicial de la muestra} - \text{Peso de la muestra libre de extracto}}{\text{Peso inicial de la muestra}}$$

(1)

Cuantificación de Capsaicina por Espectroscopía UV-Visible

Se empleó un espectrómetro UV-Vis (Thermo Scientific - Genesis10S) para cuantificar la capsaicina extraída a partir de las especies *Capsicum chinense* y *Capsicum pubescens*. Para esto se construyó una curva de calibración partiendo de los datos experimentales obtenidos por Viñanzaca Martos (2019), en donde se utilizó capsaicina de grado analítico $\geq 95\%$ de marca Sigma Aldrich. Inicialmente, se preparó una solución madre de 400 mg/L de capsaicina disuelta en etanol de pureza $\geq 99\%$. A partir de dicha solución, se prepararon patrones de 5, 10, 20, 40, 60, 80, 100, 120, 200, 300 y 400 mg/L, con los que se realizó la curva de calibración en la región Ultravioleta-Visible del espectro tomando en cuenta la linealidad y el coeficiente de correlación. Una vez construida la curva, se tomó una alícuota de 20 ml del extracto y se determinó la concentración de capsaicina (mg/L) a una longitud de onda de 281 nm.

Caracterización de Capsaicina mediante Espectroscopia Infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR)

Se realizó la identificación de los grupos funcionales de la capsaicina en los extractos obtenidos bajo condiciones óptimas de extracción para cada especie de ají. Para la identificación de los mismos se utilizó un espectrofotómetro infrarrojo (Thermo Scientific-Nicolet iS5), este dispositivo está formado por una celda de ZnSe en la cual se introduce la muestra, y se hace pasar luz infrarroja a través de la celda. En este equipo, la luz infrarroja abarca un rango de longitudes de onda que va desde 4000 cm^{-1} hasta 400 cm^{-1} .

Diseño Experimental

El estudio se realizó mediante un diseño experimental 3^2 , empleando dos factores y tres niveles. Los factores a considerar fueron la fracción volumétrica del solvente (% v/v etanol) y el tiempo de extracción, con sus respectivos niveles bajo, medio y alto, tal y como se observa en la tabla 3. La variable de respuesta fue la concentración de capsaicina presente en los extractos.

Tabla 3

Factores y niveles elegidos para el diseño experimental

Factores	Bajo	Medio	Alto
Tiempo (min)	10	20	30
Fracción volumétrica de solvente %v/v	75	85	95

Las corridas experimentales se realizaron por duplicado, por tanto, se realizaron 18 pruebas para cada tipo de ají, dando un total de 36 corridas.

Análisis Estadístico

Para realizar el análisis estadístico, es esencial verificar la normalidad de los datos antes de aplicar los diferentes tests. En el presente estudio, se empleó dos programas para este propósito: RStudio y Minitab® versión 19. Inicialmente, se usó Rstudio para determinar si los resultados obtenidos siguen una distribución normal, para esto se utilizó la prueba de Shapiro-Wilks, dado que el tamaño de muestra es menor a 50. Luego, de haber comprobado la normalidad de los datos se utilizó Minitab para determinar la significancia estadística de los factores estudiados, tiempo (min) y fracción volumétrica de solvente (% v/v etanol) mediante un análisis de varianza (ANOVA) con un nivel de confianza del 95%. Las variables significativas fueron las que dan como resultado un $p < 0.05$, para dichas variables también se aplicó la prueba de Bonferroni. Finalmente, se incluyeron la gráfica de los efectos principales y la gráfica de interacción para corroborar la significancia de las variables estudiadas.

Capítulo 4: Resultados y Discusión

Determinación de Porcentaje de Extraíbles

El porcentaje de extraíbles representa la cantidad de compuestos solubles que se pueden obtener mediante un proceso de extracción y es un parámetro relevante para evaluar la eficiencia del proceso de extracción, sin embargo, es crucial tener en cuenta que los porcentajes óptimos de extraíbles no necesariamente coinciden con los óptimos de extracción de capsaicina, ya que estos porcentajes no solo están relacionados con la cantidad de capsaicina extraída, sino también con otros compuestos solubles en el solvente utilizado en el proceso de extracción (Tundis et al., 2011).

En este caso, el etanol puede extraer otros compuestos liposolubles presentes en los ajíes, como carotenoides y flavonoides (Hernández-Pérez et al., 2020). Además, hay que considerar que, aunque en menor medida, también se encuentra presente agua, lo que significa que también es posible que se hayan extraído compuestos hidrosolubles como el ácido ascórbico y las antocianinas (Guzman et al., 2011). Por lo tanto, el porcentaje más alto de compuestos solubles extraídos no garantiza automáticamente la máxima extracción de capsaicina. Para determinar el punto óptimo de extracción de capsaicina, es necesario realizar su cuantificación específica. En este trabajo, se empleó la espectroscopía UV-VIS para llevar a cabo dicha cuantificación.

La Tabla 4 muestra el porcentaje promedio de extraíbles obtenidos de la especie *Capsicum chinense* (ají habanero) mediante el uso de ultrasonido con diferentes tiempos y fracciones volumétricas de solvente. Los resultados indican que se logra el mayor porcentaje de extraíbles utilizando una fracción volumétrica de etanol al 75% durante un tiempo de extracción de 30 minutos. Sin embargo, al analizar los tiempos de operación empleados en cada prueba, se observa que incrementar el tiempo de extracción de 20 a 30 minutos solo resulta en un aumento del 0,1% en el porcentaje de extraíbles, lo cual indica que no es necesario extender la extracción hasta 30 minutos.

Tabla 4

Porcentaje de extraíbles de la especie Capsicum chinense

Tiempo (min)	Etanol (75%)	Etanol (85%)	Etanol (95%)
10	29,2	22,0	8,4
20	32,3	26,0	10,8
30	32,4	27,5	15,7

Por otro lado, la tabla 5 muestra el porcentaje promedio de extraíbles obtenidos de la especie *Capsicum pubescens* (ají rocoto). Al igual que en *Capsicum chinense*, se observa un mayor porcentaje de extraíbles utilizando etanol al 75% durante 30 minutos, aunque en este caso, a diferencia de *Capsicum chinense*, si se observa un aumento en el porcentaje de extraíbles cuando se aumenta el tiempo de extracción de 20 a 30 minutos.

Tabla 5

Porcentaje de extraíbles de la especie Capsicum pubescens

Tiempo (min)	Etanol (75%)	Etanol (85%)	Etanol (95%)
10	31,7	25,0	8,9
20	34,6	29,7	12,9
30	36,1	31,1	13,9

Espectroscopía UV-VIS

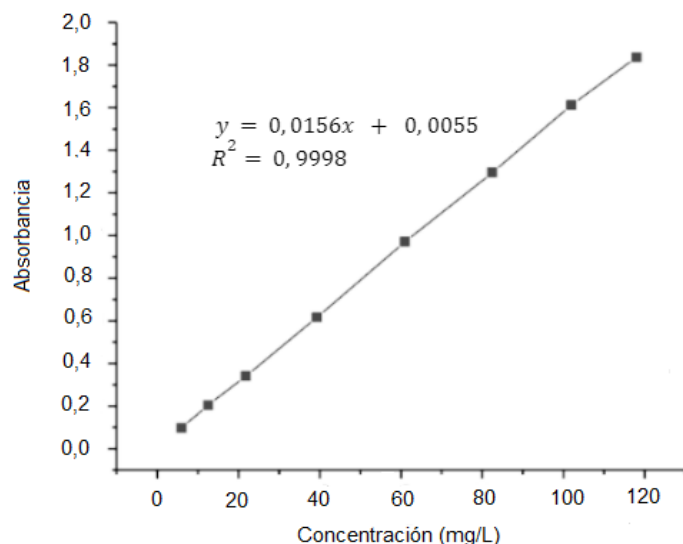
Curva de Calibración

La curva de calibración para la capsaicina se realizó con patrones de 5, 10, 20, 40, 60, 80, 100, 120, 200, 300 y 400 mg/L, de esta manera se observó que la capsaicina absorbe la luz en la región ultravioleta del espectro, a una longitud de onda de 281 nm, tal como ha sido reportado

por Simonovska et al. (2015). En la figura 6 se aprecia la linealidad de la curva de calibración de la capsaicina, la cual se encontró en el rango de 5 a 120 mg/L. Este rango representa su intervalo de trabajo.

Figura 6

Curva de calibración de capsaicina



Cuantificación de Capsaicina Extraída

En la tabla 6 se presenta la cantidad de capsaicina extraída a partir de la placenta y las semillas de la especie *Capsicum chinense* (ají habanero). La mayor cantidad extraída de capsaicina se registró con una fracción volumétrica de etanol de 75% con un tiempo de extracción de 30 minutos. Sin embargo, al aumentar el tiempo de extracción de 20 a 30 minutos no se observa un aumento notable en la cantidad de capsaicina extraída, ya que solo se registra un incremento de 1,7 mg/L. No obstante, para evaluar la significancia estadística de este aumento, se aplicó posteriormente el método de Bonferroni en el análisis estadístico.

Así, en el estudio realizado por Medina-Angulo & Robayo-Martinez (2023), se obtuvo una concentración de capsaicina de 16,6606 ppm en 20 minutos utilizando etanol al 95% v/v a partir de la especie *Capsicum chinense*. Al comparar dicho resultado con el presentado en este trabajo (ver Tabla 6), se obtuvo una concentración de 55,3 ppm de capsaicina usando el mismo tiempo y con la misma concentración de etanol, la discrepancia en los resultados puede atribuirse al método de extracción empleado, pues, en el estudio de Medina-Angulo & Robayo-Martinez

(2023) usaron baño ultrasónico, mientras que en el presente estudio se empleó una sonda ultrasónica. Aunque ambos métodos se basan en el uso de ultrasonido, se sabe que la sonda ultrasónica permite una entrega directa de la energía ultrasónica, minimizando la pérdida de energía, reduciendo el tiempo de operación y mejorando la eficiencia de la extracción (Chemat et al., 2017).

Tabla 6

Cuantificación de capsaicina extraída a partir de Capsicum chinense

Fracción volumétrica de etanol	Tiempo de extracción (min)	Concentración de capsaicina (mg/L)
75%	10	89,5
	20	104,7
	30	106,4
85%	10	75,9
	20	84,7
	30	88,9
95%	10	51,0
	20	55,3
	30	63,4

La tabla 7 presenta la cantidad de capsaicina extraída a partir de la placenta y las semillas de la especie *Capsicum pubescens* (ají rocoto). Al igual que en *Capsicum chinense*, la mayor cantidad extraída de capsaicina se registró con una fracción volumétrica de etanol de 75% con un tiempo de extracción de 30 minutos. En este caso, si se observa un incremento en la cantidad de capsaicina extraída cuando se aumenta el tiempo de 20 a 30 minutos, aunque de igual manera se debe realizar el análisis de Bonferroni para evaluar si este incremento es o no significativo estadísticamente.

Tabla 7

Cuantificación de capsaicina extraída a partir de Capsicum pubescens

Fracción volumétrica de etanol	Tiempo de extracción (min)	Concentración de capsaicina (mg/L)
75%	10	53,3
	20	63,0
	30	68,1
85%	10	45,6
	20	53,6
	30	58,1
95%	10	20,0
	20	31,3
	30	32,9

Comparando los resultados presentados en la tabla 6 y 7, se observa que la concentración de capsaicina es considerablemente mayor en la especie *Capsicum chinense*, esto es coherente con la información proporcionada en la literatura científica, ya que se ha documentado que, en general, la especie *Capsicum chinense* presenta niveles más altos de capsaicina en comparación con otras especies de ají debido a variaciones genéticas (Larenas et al., 2015; Aguilar-Meléndez et al., 2022).

Se puede observar tanto en la tabla 6 como en la tabla 7 que una menor fracción volumétrica de etanol se correlaciona con una concentración más alta de capsaicina. Si bien podría anticiparse que la extracción de capsaicina sea más eficiente utilizando etanol al 96% debido a su capacidad para solubilizarse en compuestos orgánicos, es importante tener en cuenta que la capsaicina también presenta un grupo funcional polar en su estructura, lo cual resulta en una solubilidad limitada en agua. Como consecuencia, el contenido de agua en el solvente utilizado puede desempeñar un papel importante en el proceso de extracción de capsaicina (Muchena, 2009; Costanzo et al., 2014).

Barbero y sus colaboradores (2008), mencionan que aunque el agua no es un solvente adecuado para la extracción de capsaicina, en ocasiones la incorporación de pequeñas cantidades al solvente de extracción puede mejorar la eficiencia de extracción de los analitos de interés. Además, el agua puede provocar el hinchamiento del material vegetal y mejorar la liberación de capsaicina, lo que finalmente conduce a una mayor eficiencia en la extracción de este compuesto (Boonkird et al., 2008).

Análisis Estadístico

Para el análisis de los resultados, se empleó estadística inferencial, y como paso inicial, se realizó un análisis de normalidad para determinar qué tipo de pruebas estadísticas serán necesarias para el análisis de datos. El análisis de normalidad se realizó mediante el test de Shapiro–Wilks en Rstudio, planteándose una hipótesis nula y alternativa.

H₀ : Los datos proceden de una distribución normal.

H_A : Los datos no proceden de una distribución normal.

Así, la tabla 8 muestra el resultado del análisis de normalidad para el modelo de dos factores con interacción, siendo estos el tiempo y la fracción volumétrica de etanol. La prueba de normalidad

se realizó para los resultados experimentales de las dos especies de ají, *Capsicum chinense* y *Capsicum pubescens*, en los dos casos se evidencia que el valor de p es mayor a 0.05, por tanto, se acepta la hipótesis nula y se concluye que los datos proceden de una distribución normal.

Tabla 8

Pruebas de normalidad

Especie	Valor de p
<i>Capsicum chinense</i>	0.3414
<i>Capsicum pubescens</i>	0.0829

Adicionalmente, en las figuras 7 y 8 se presentan las gráficas de la prueba de normalidad para las especies *Capsicum chinense* y *Capsicum pubescens*, respectivamente. Estas gráficas constituyen una herramienta útil para realizar una evaluación visual de la distribución de los datos. En ambos casos, se observa que los puntos se aproximan a una línea recta, lo que sugiere que los datos siguen una distribución normal. La coherencia visual fortalece la conclusión derivada del valor de p, brindando un mayor respaldo a la hipótesis de que los datos siguen una distribución normal.

Figura 7

Prueba de normalidad para la especie Capsicum chinense

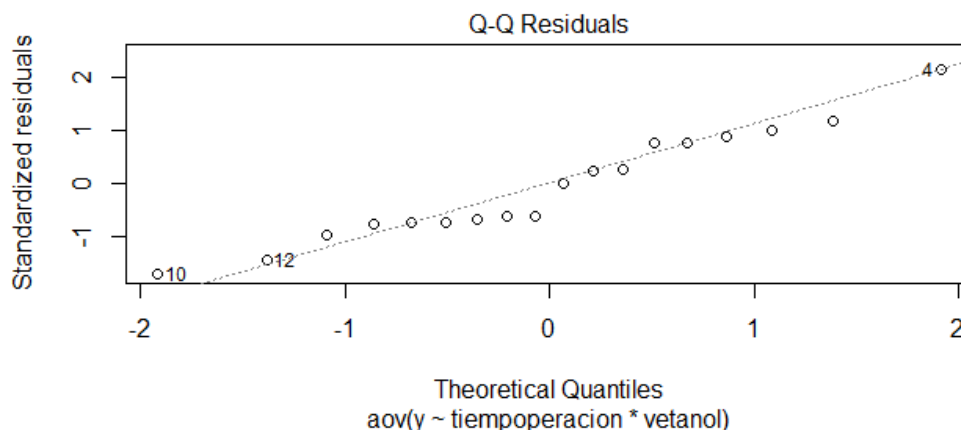
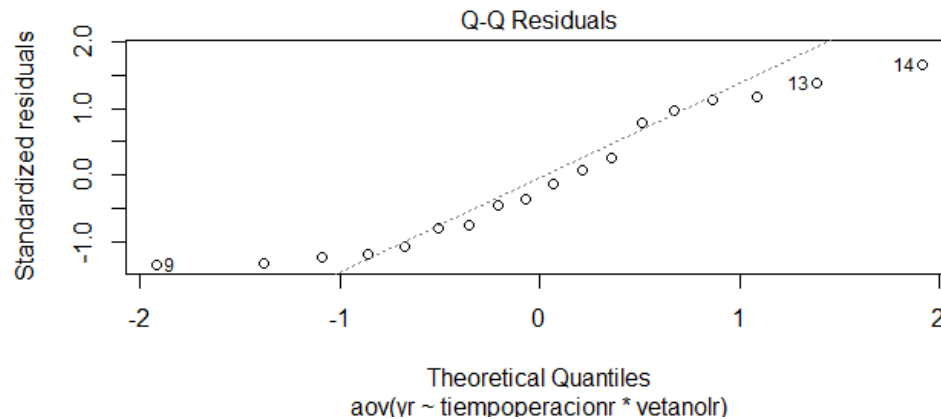


Figura 8

Prueba de normalidad para la especie *Capsicum pubescens*



Análisis de Varianza (ANOVA)

Una vez que se ha verificado que los datos siguen una distribución normal a través de la prueba de normalidad, se aplicó la prueba paramétrica ANOVA en Minitab® versión 19. Esta prueba, también conocida como análisis de varianza, se utilizó planteando dos hipótesis: una nula y otra alternativa.

H₀ : No hay diferencias entre las medias de los diferentes grupos.

H_A : Al menos un par de medias son significativamente distintas la una de la otra.

En las tablas 9 y 10 se presenta el análisis de varianza para las dos especies de ají estudiadas, *Capsicum chinense* y *Capsicum pubescens*, respectivamente, en donde se observa que los factores, tiempo y %v/v etanol muestran un valor de $p < 0.05$, indicando que la hipótesis nula es falsa, y que al menos un par de medias son significativamente distintas la una de la otra. Con respecto a la interacción entre el tiempo y %v/v etanol se observa un valor de $p > 0.05$, por tanto, se acepta la hipótesis nula de que no hay diferencias significativas entre las medias de los diferentes grupos.

Tabla 9

Análisis de varianza para la especie Capsicum chinense

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Tiempo (min)	2	624,18	312,09	32,69	0,00
% v/v etanol	2	5797,89	2898,95	303,69	0,00
Tiempo (min)*%v/v etanol	4	63,09	15,77	1,65	0,24
Error	9	85,91	9,55		
Total	17	6571,07			

Tabla 10

Análisis de varianza para la especie Capsicum pubescens

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Tiempo (min)	2	573,88	286,94	190,73	0,00
% v/v etanol	2	3581,79	1790,90	1190,40	0,00
Tiempo (min)*%v/v etanol	4	10,32	2,58	1,71	0,23
Error	9	13,54	1,50		
Total	17	4179,53			

Para determinar qué par de medias son significativamente distintas, se aplicó el método de Bonferroni con un nivel de confianza del 95%. Al analizar las medias de tiempo para *Capsicum chinense* en la tabla 11, se observa una diferencia estadísticamente significativa entre los períodos de 10 minutos y 20 minutos. Sin embargo, no se encontraron diferencias significativas entre los tiempos de 20 y 30 minutos. Estos resultados indican que prolongar la extracción hasta los 30 minutos no es necesario, estableciendo así un tiempo óptimo de extracción de 20 minutos para la especie *Capsicum chinense*.

Tabla 11

Comparación de medias para el factor tiempo, especie Capsicum chinense

Tiempo (min)	N	Media	Agrupación
30	6	86,2532	A
20	6	81,3495	A
10	6	72,1025	B

Por otra parte, al comparar las medias para el % v/v de etanol en la tabla 12, se observa que existe diferencia estadísticamente significativa entre los 3 niveles. En este caso, se elige la media con mayor valor numérico, pues corresponde a la mayor cantidad de capsaicina extraída, por lo tanto se establece que el porcentaje óptimo de extracción de 75% v/v de etanol.

Tabla 12

Comparación de medias para el factor %v/v etanol, especie Capsicum chinense

%v/v etanol	N	Media	Agrupación
75	6	100,182	A
85	6	82,969	B
95	6	56,555	C

Con respecto a la especie *Capsicum pubescens*, la tabla 13 muestra la comparación de medias para los tres niveles del factor tiempo, en donde se observa que para cada nivel existen diferencias estadísticamente significativas, pues, mientras mayor sea el tiempo de extracción se obtiene una mayor concentración para la variable de respuesta. Por tanto, el tiempo óptimo de

extracción para dicha especie es de 30 min.

Tabla 13

Comparación de medias para el factor tiempo, especie Capsicum pubescens

Tiempo (min)	N	Media	Agrupación
30	6	53,0333	A
20	6	49,3000	B
10	6	39,6333	C

En la tabla 14 se presenta la comparación de medias para la fracción volumétrica de etanol (%v/v etanol) en donde se observa que para cada nivel existen diferencias estadísticamente significativas, pues, mientras menor sea el %v/v etanol se obtiene mayor concentración de capsaicina, por tanto, para la especie *Capsicum pubescens* la fracción volumétrica de etanol óptima también es 75%.

Tabla 14

Comparación de medias para el factor %v/v etanol, especie Capsicum pubescens

% v/v etanol	N	Media	Agrupación
75	6	61,4667	A
85	6	52,4333	B
95	6	28,0667	C

Las figuras 9 y 10 muestran la gráfica de efectos principales para las dos especies de ají estudiadas *Capsicum chinense* y *Capsicum pubescens*, respectivamente, frente a la variable de respuesta que es la concentración de capsaicina (mg/L). Se observa que al aplicar diferentes tiempos de operación la concentración de capsaicina aumenta conforme aumenta el tiempo, sin embargo, en la figura 9 se evidencia que al aplicar un tiempo de extracción 20 min y 30 min no existe diferencia significativa en la variable de respuesta, pues, a los 20 min se alcanza aproximadamente 82 mg/L de capsaicina y a los 30 min sube a 86 mg/L, dando una diferencia aproximada de 4 mg/L, comprobándose que el tiempo óptimo de operación para la especie *Capsicum chinense* es 20 min.

Por su parte, también se observa la influencia de la fracción volumétrica de etanol (%v/v etanol) frente a la variable de respuesta, evidenciándose que mientras menor sea la concentración de etanol mayor será la concentración de capsaicina. Por tanto, para las dos especies de ají *Capsicum chinense* y *Capsicum pubescens*, la fracción volumétrica de etanol óptima es 75%.

Figura 9

Gráfica de efectos principales para la especie Capsicum chinense

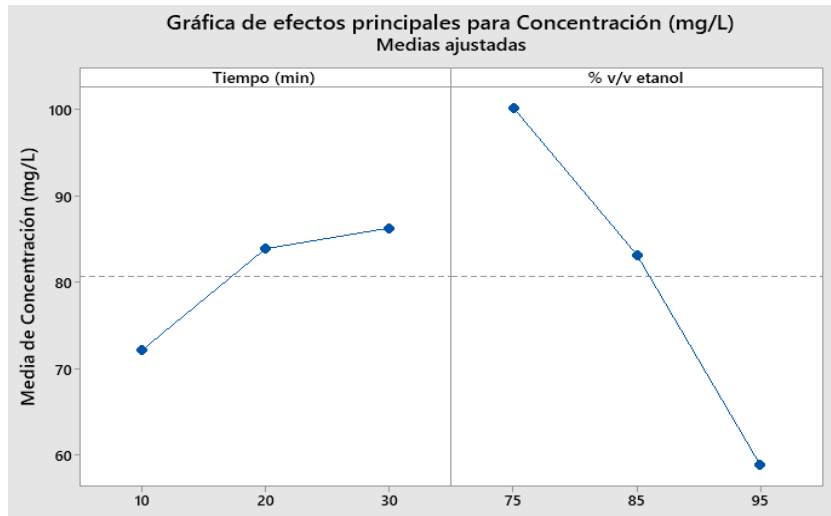
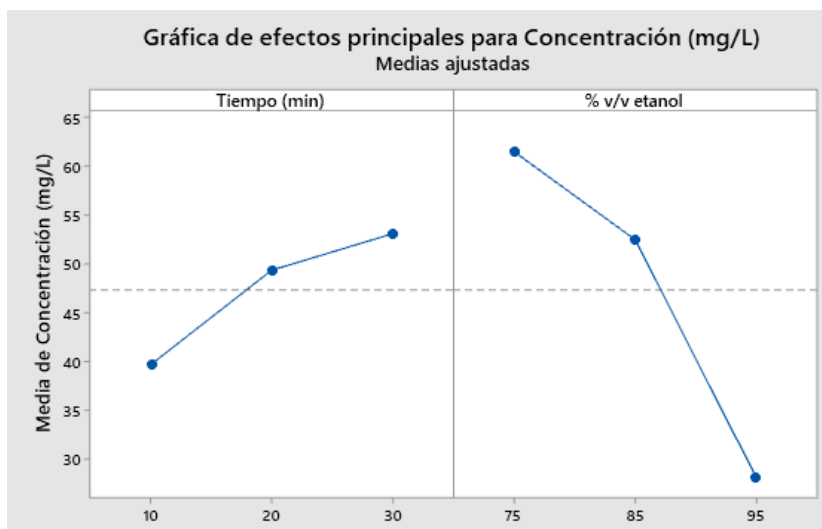


Figura 10

Gráfica de efectos principales para la especie Capsicum pubescens



Las figuras 11 y 12 muestran la gráfica de interacción de los factores, tiempo y %v/v de etanol frente a la variable de respuesta para las dos especies de ají, *Capsicum chinense* y *Capsicum pubescens*, respectivamente. Se observa que las líneas de cada gráfica son paralelas, es decir, no hay interacción, el tiempo y la fracción volumétrica de etanol no influyen en la variable de respuesta de manera conjunta.

Figura 11

Gráfica de interacción para la especie Capsicum chinense

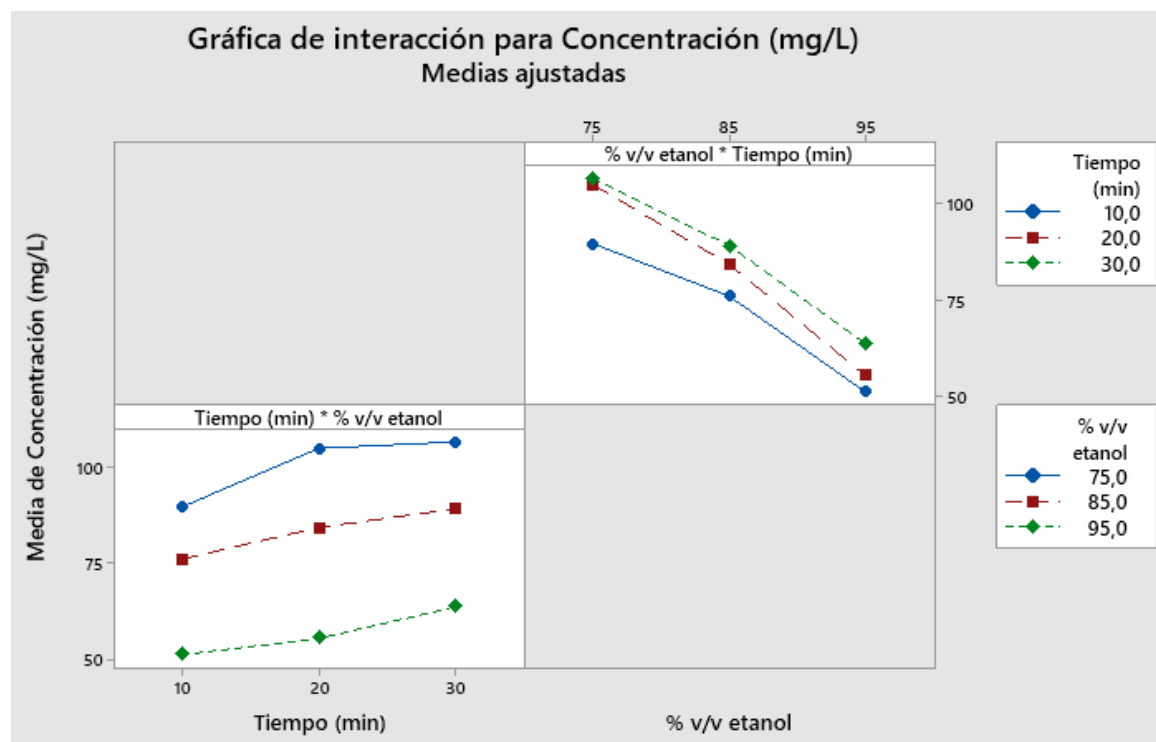
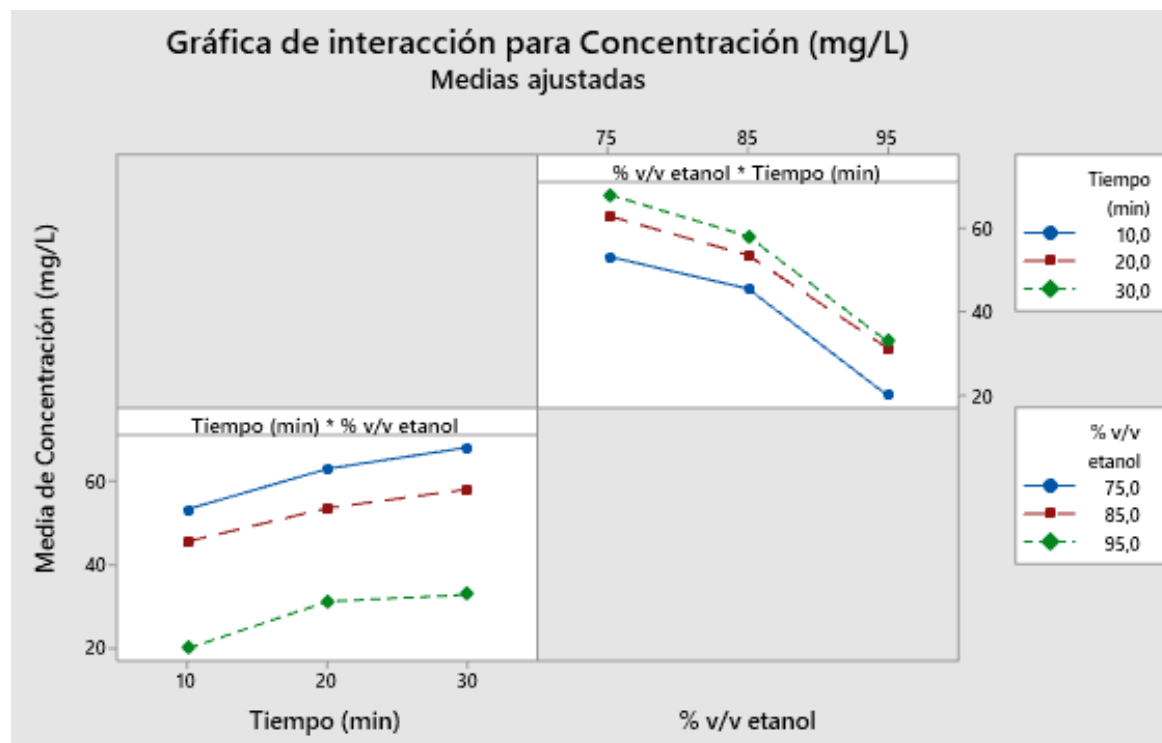


Figura 12

Gráfica de interacción para la especie *Capsicum pubescens*



De acuerdo al análisis presentado, se corrobora que las mejores condiciones de operación para *Capsicum chinense* y *Capsicum pubescens* se obtienen empleando un tiempo de 20 min y 30 min, respectivamente, y una fracción volumétrica de etanol de 75% para los dos casos.

Espectroscopía FTIR

Con el propósito de identificar grupos funcionales, se empleó la técnica de espectroscopía FTIR en los extractos obtenidos bajo condiciones óptimas de extracción para cada especie de ají, es decir, utilizando etanol al 75% durante 20 minutos para *Capsicum chinense* y 75% durante 30 minutos para *Capsicum pubescens*. En la figura 13 se puede observar el espectro FTIR del extracto de *Capsicum chinense*, mientras que en la figura 14 se muestra el espectro FTIR del extracto de *Capsicum pubescens*; a pesar de tratarse de especies diferentes, los espectros FTIR revelaron una similitud notable.

Tanto en la figura 13 como en la figura 14 se observa una banda ancha alrededor de los 3350 cm^{-1} , la cual probablemente se debe a la presencia de moléculas de agua residual o a vibraciones

de estiramiento de -OH/-NH presentes en la capsaicina (Amruthraj et al., 2015; Wang et al., 2008). Se observa, de igual forma, dos picos estrechos alrededor de 2950 cm^{-1} y 2800 cm^{-1} , los cuales corresponden al estiramiento de los enlaces C-H de los grupos metilo y metileno respectivamente, presentes en la estructura del compuesto (Domínguez-Martínez et al., 2014). Finalmente, se observa un pico estrecho evidente a 1050 cm^{-1} , el cual corresponde a las vibraciones de estiramiento de C-O-C presentes en la capsaicina (Wang et al., 2008). El análisis de los espectros FTIR revela similitudes en los picos característicos, confirmando la presencia de los grupos funcionales característicos de la capsaicina en ambos casos. Esto indica que ambos espectros corresponden a capsaicina.

Figura 13

Espectro infrarrojo del extracto de Capsicum chinense

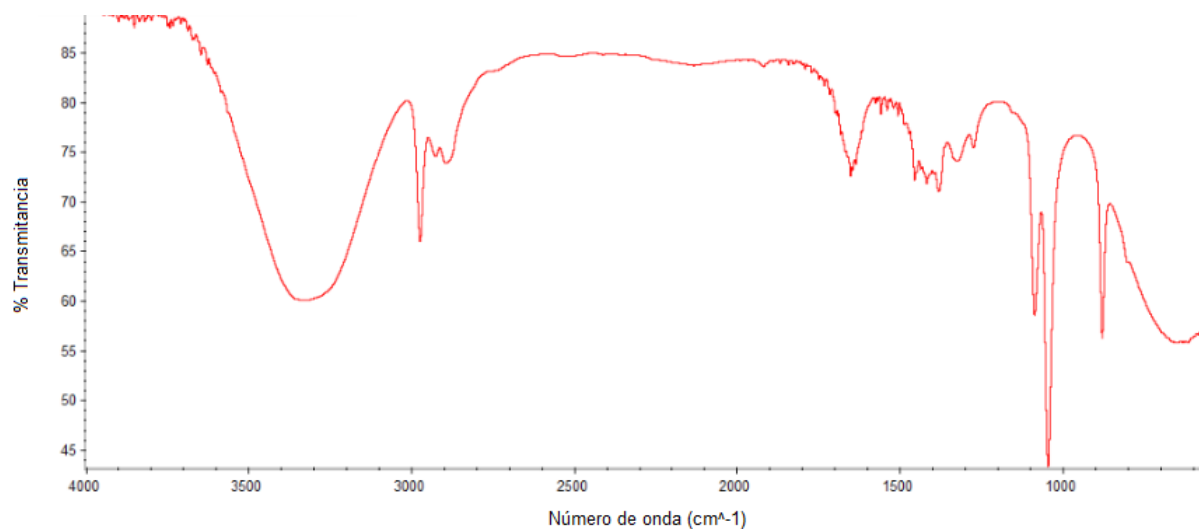
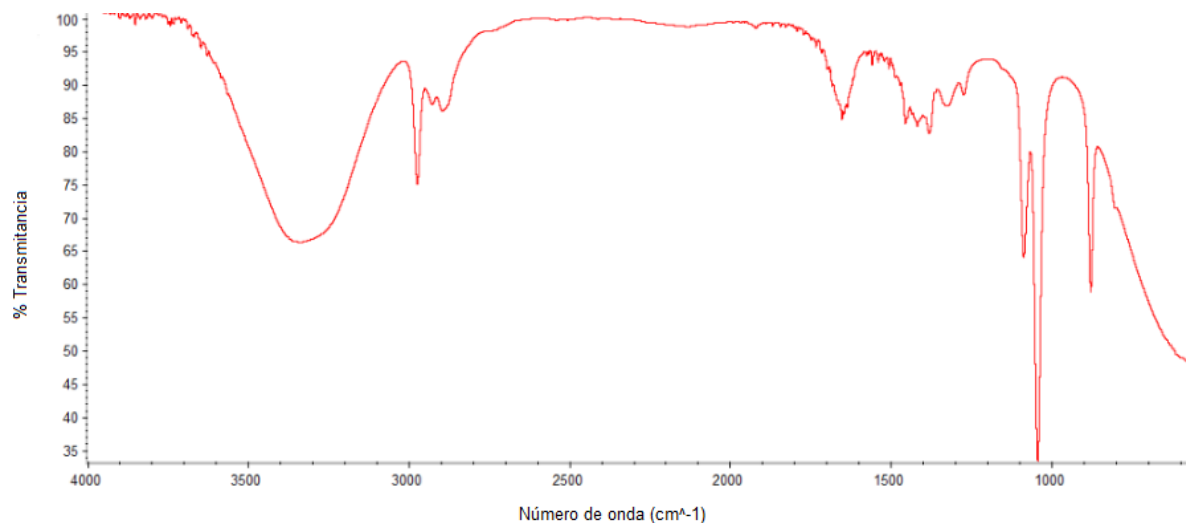


Figura 14

Espectro infrarrojo del extracto de Capsicum pubescens



Comparación con un Método Convencional: Extracción Soxhlet

Con el objetivo de evaluar la eficiencia del método de extracción asistida por ultrasonido, se planteó comparar dicho método con el método convencional de extracción Soxhlet. Para esto, se tomaron resultados de pruebas realizadas en el Centro de Estudios Ambientales (CEA) de la Universidad de Cuenca, las que se realizaron en condiciones similares a la extracción por ultrasonido, pues, se operó con una relación muestra:solvente de 2 mg/L y una fracción volumétrica de solvente de 75%, sin embargo, la temperatura de operación en la extracción Soxhlet aumentó a 70°C. El tiempo, el porcentaje de extraíbles y la concentración de capsaicina se muestran en la tabla 15.

Tabla 15

Extracción de capsaicina por método Soxhlet

Especie de ají	Tiempo (min)	% Extraíbles	Concentración (mg/L)
<i>Capsicum chinense</i> (ají habanero)	3 h 40 min	32,1	116,9
<i>Capsicum pubescens</i> (ají rocoto)	3 h	32,6	96,0

Nota. Resultados tomados del Centro de Estudios Ambientales.

Se tomó como referencia las mejores condiciones de extracción para las dos especies de ají *Capsicum chinense* y *Capsicum pubescens* obtenidas por ultrasonido y se comparó con los resultados de la extracción Soxhlet. El porcentaje de extraíbles obtenido para *Capsicum chinense* y *Capsicum pubescens* por ultrasonido fue 32,3% y 36,1%, mientras que por la técnica de extracción Soxhlet se obtuvo 32,1% y 32,6%, respectivamente. Por su parte, la concentración de capsaicina alcanzada por el primer método de extracción fue 104,7 mg/L y 68, 1mg/L, mientras que por extracción Soxhlet se alcanzó una concentración de 116,9 mg/L y 96 mg/L, respectivamente.

De esta forma, se aprecia que el método de extracción Soxhlet permite obtener concentraciones más altas de capsaicina en ambas especies, *Capsicum chinense* y *Capsicum pubescens*, sin embargo, este enfoque implica tiempos de operación prolongados (3 horas 40 minutos para *Capsicum chinense* y 3 horas para *Capsicum pubescens*) en comparación con la extracción asistida por ultrasonido, que solo requiere 20 minutos y 30 minutos, respectivamente. Además, en términos energéticos, la extracción asistida por ultrasonido muestra ventajas significativas, ya que se lleva a cabo a una temperatura más baja (45°C) en comparación con la extracción Soxhlet realizada a 70°C.

Chuichulcherm y sus colaboradores, (2013), mencionan que el método asistido por ultrasonido genera un menor consumo de energía y reduce el tiempo de extracción. Por tanto, los resultados concuerdan con la bibliografía, ya que si bien Soxhlet permite una mayor concentración del compuesto de interés, este implica un gasto energético alto, pues requiere mayor tiempo y temperatura de operación que el método de extracción por ultrasonido. Asimismo, en un estudio realizado por Martins et al. (2017), se comparó la extracción asistida por ultrasonido y la extracción Soxhlet de capsaicina y aunque se obtuvo una menor cantidad de capsaicina mediante el método asistido por ultrasonido, se logró reducir el tiempo de extracción en un 86%.

Se evidencia la ventaja de extraer por ultrasonido dado que requiere menor temperatura en comparación con el método de extracción Soxhlet, pues, estudios muestran que temperaturas elevadas se pierden los capsaicinoides por volatilización (Chinn et al., 2011; Martins et al., 2017; Castro-Muñoz et al., 2022).

Conclusiones

Se extrajo capsaicina de dos variedades de ají, *Capsicum chinense* y *Capsicum pubescens*, mediante técnica asistida por ultrasonido con etanol como solvente. Aunque ambas especies registraron la mayor cantidad de capsaicina extraída con una fracción volumétrica de etanol del 75% y un tiempo de extracción de 30 minutos, es importante destacar que para la especie *Capsicum chinense* no se observa un aumento significativo en la cantidad de capsaicina extraída al extender el tiempo de extracción de 20 a 30 minutos. En consecuencia, se estableció que los mejores parámetros operacionales de extracción de capsaicina es 20 min para *Capsicum chinense* y 30 min *Capsicum pubescens*, y una fracción volumétrica de etanol del 75% para ambas especies.

Al comparar el contenido de capsaicina obtenido de las especies *Capsicum chinense* y *Capsicum pubescens*, se evidenció que la concentración de capsaicina es significativamente mayor en la especie *Capsicum chinense*, lo cual está en concordancia con la información documentada en la literatura científica, por tanto, y aunque la especie *Capsicum pubescens* es nativa, se recomienda extraer capsaicina de la especie *Capsicum chinense*.

Por último, se evidenció la eficiencia de la extracción asistida por ultrasonido frente al método convencional Soxhlet, pues, reduce el tiempo de extracción, disminuye el consumo de energía y además, usa temperaturas relativamente más bajas por tanto, se sugiere la aplicación del método de extracción asistida por ultrasonido para la obtención de capsaicina.

Referencias

- Abdurahman, N. H., & Olalere, O. A. (2016). A comparative review of conventional and microwave assisted extraction in capsaicin isolation from chili pepper. *Aust J Bas Appl Sci.* 2016a, 10(6), 263-75.
- Adaszek, Ł., Gadomska, D., Mazurek, Ł., Łyp, P., Madany, J., & Winiarczyk, S. (2019). Properties of capsaicin and its utility in veterinary and human medicine. *Research in Veterinary Science*, 123, 14-19. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2018.12.002>
- Aguilar-Meléndez, A., Katz, E., Vásquez-Dávila, M. A., & Barboza, G. E. (2022). *Capsicum annuum* L. var. *annuum* *Capsicum annuum* L. var. *glabriusculum* (Dunal) Heiser & Pickersgill *Capsicum chinense* Jacq. *Capsicum frutescens* L. *Capsicum lanceolatum* (Greenm.) CV Morton & Standley *Capsicum pubescens* Ruiz & Pav. *Capsicum rhomboideum* (Dunal) Kuntze Solanaceae. In *Ethnobotany of the Mountain Regions of Mexico* (pp. 1-17). Cham: Springer International Publishing.
- Akash, M.S.H., Rehman, K. (2020). Ultraviolet-Visible (UV-VIS) Spectroscopy. *Essentials of Pharmaceutical Analysis*. Springer, Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-15-1547-7_3
- Amruthraj, N. J., Preetam Raj, J. P., & Lebel, A. (2015). Capsaicin-capped silver nanoparticles: its kinetics, characterization and biocompatibility assay. *Applied Nanoscience*, 5, 403-409. <https://doi.org/10.1007/s13204-014-0330-5>
- Bajer, T., Bajerová, P., Kremr, D., Eisner, A., & Ventura, K. (2015). Central composite design of pressurised hot water extraction process for extracting capsaicinoids from chili peppers. *Journal of Food Composition and Analysis*, 40, 32-38. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2014.12.008>
- Bansod, S. P., Parikh, J. K., & Sarangi, P. K. (2023). Pineapple peel waste valorization for extraction of bio-active compounds and protein: Microwave assisted method and Box Behnken design optimization. *Environmental Research*, 115237. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2023.115237>

- Barbero, G. F., Liazid, A., Palma, M., & Barroso, C. G. (2008). Ultrasound-assisted extraction of capsaicinoids from peppers. *Talanta*, 75(5), 1332-1337. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2008.01.046>
- Boonkird, S., Phisalaphong, C., & Phisalaphong, M. (2008). Ultrasound-assisted extraction of capsaicinoids from *Capsicum frutescens* on a lab-and pilot-plant scale. *Ultrasonics Sonochemistry*, 15(6), 1075-1079. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2008.04.010>
- Bosland, P. W., Votava, E. J., & Votava, E. M. (2012). *Peppers: vegetable and spice capsicums* (Vol. 22). Cabi.
- Carreira-Casais, A., Otero, P., Garcia-Perez, P., Garcia-Oliveira, P., Pereira, A. G., Carpena, M., ... & Prieto, M. A. (2021). Benefits and drawbacks of ultrasound-assisted extraction for the recovery of bioactive compounds from marine algae. *International journal of environmental research and public health*, 18(17), 9153. <https://doi.org/10.3390/ijerph18179153>
- Castro-López, C., Rojas, R., Sánchez-Alejo, E. J., Niño-Medina, G., & Martínez-Ávila, G. C. (2016). Phenolic compounds recovery from grape fruit and by-products: An overview of extraction methods. *Grape and wine biotechnology*, 5, 104-123. <http://dx.doi.org/10.5772/64821>
- Castro-Muñoz, R., Gontarek-Castro, E., & Jafari, S. M. (2022). Up-to-date strategies and future trends towards the extraction and purification of Capsaicin: A comprehensive review. *Trends in Food Science & Technology*. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2022.03.014>
- Chemat, F., Rombaut, N., Sicaire, A. G., Meullemiestre, A., Fabiano-Tixier, A. S., & Abert-Vian, M. (2017). Ultrasound assisted extraction of food and natural products. Mechanisms, techniques, combinations, protocols and applications. A review. *Ultrasonics sonochemistry*, 34, 540-560. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ultsonch.2016.06.035>
- Chinn, M. S., Sharma-Shivappa, R. R., & Cotter, J. L. (2011). Solvent extraction and quantification of capsaicinoids from *Capsicum chinense*. *Food and bioproducts processing*, 89(4), 340-345. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2010.08.003>
- Chuichulcherm, S., Prommakort, S., Srinophakun, P., & Thanapimmetha, A. (2013). Optimization of capsaicin purification from *Capsicum frutescens* Linn. with column chromatography using Taguchi design. *Industrial Crops and Products*, 44, 473-479.

- Cortés-Ferré, H. E., La Vega, D., Romero, G., Antunes-Ricardo, M., & Gutierrez, J. (2022). Ultrasound Assisted Extraction of Capsaicinoids from By-Products of Chili Pepper Industry and Effects on Macrophage Cells Viability. *Marilena and Gutierrez, Janet, Ultrasound Assisted Extraction of Capsaicinoids from By-Products of Chili Pepper Industry and Effects on Macrophage Cells Viability*. <http://dx.doi.org/10.2139/ssrn.4150609>
- Costanzo, M. T., Yost, R. A., & Davenport, P. W. (2014). Standardized method for solubility and storage of capsaicin-based solutions for cough induction. *Cough*, 10, 1-8. <https://doi.org/10.1186/1745-9974-10-6>
- Daéid, N. N. (2005). FORENSIC SCIENCES | Systematic Drug Identification. En P. Worsfold, A. Townshend, & C. Poole (Eds.), *Encyclopedia of Analytical Science (Second Edition)* (pp. 471-480). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B0-12-369397-7/00197-7>
- Domínguez-Martínez, I., Meza-Márquez, O. G., Osorio-Revilla, G., Proal-Nájera, J., & Gallardo-Velázquez, T. (2014). Determination of capsaicin, ascorbic acid, total phenolic compounds and antioxidant activity of *Capsicum annum* L. var. serrano by mid infrared spectroscopy (Mid-FTIR) and chemometric analysis. *Journal of the Korean society for applied biological chemistry*, 57, 133-142. <https://doi.org/10.1007/s13765-013-4295-y>
- Fattori, V., Hohmann, M. S., Rossaneis, A. C., Pinho-Ribeiro, F. A., & Verri Jr, W. A. (2016). Capsaicin: current understanding of its mechanisms and therapy of pain and other pre-clinical and clinical uses. *Molecules*, 21(7), 844. <https://doi.org/10.3390/molecules21070844>
- Gammoudi, N., Mabrouk, M., Bouhemda, T., Nagaz, K., & Ferchichi, A. (2021). Modeling and optimization of capsaicin extraction from *Capsicum annum* L. using response surface methodology (RSM), artificial neural network (ANN), and Simulink simulation. *Industrial Crops and Products*, 171, 113869. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2021.113869>
- García-Mahecha, M., Soto-Valdez, H., Carvajal-Millan, E., Madera-Santana, T. J., Lomelí-Ramírez, M. G., & Colín-Chávez, C. (2023). Bioactive Compounds in Extracts from the Agro-Industrial Waste of Mango. *Molecules*, 28(1), 458. <https://doi.org/10.3390/molecules28010458>

- González, C. A. G., Loayza, S. B. R., & Maza, L. O. S. (2022). Caracterización floral del género *Capsicum* spp, en el Ecuador: Floral characterization of the genus *Capsicum* spp, in Ecuador. In *Conference Proceedings (Machala)* (Vol. 6, No. 1).
- Guzman, I., Bosland, P. W., & O'Connell, M. A. (2011). Heat, color, and flavor compounds in *Capsicum* fruit. *The biological activity of phytochemicals*, 109-126. https://doi.org/10.1007/978-1-4419-7299-6_8
- Han, T. H., Park, M. K., Nakamura, H., & Ban, H. S. (2022). Capsaicin inhibits HIF-1 α accumulation through suppression of mitochondrial respiration in lung cancer cells. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 146, 112500. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2021.112500>
- Hermes de Vargas, V., Ferreira Marczak, L. D, Hickmann Flôres, S., & Domeneghini Mercali, G. (2022). Advanced technologies applied to enhance properties and structure of films and coatings: A review. *Food and Bioprocess Technology*, 15(6), 1224-1247. <https://doi.org/10.1007/s11947-022-02768-6>
- Hernández-Pérez, T., Gómez-García, M. D. R., Valverde, M. E., & Paredes-López, O. (2020). *Capsicum annuum* (hot pepper): An ancient Latin-American crop with outstanding bioactive compounds and nutraceutical potential. A review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 19(6), 2972-2993. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12634>
- Ichim, T. & Blaga, A. C. (2021). Extraction methods of capsaicin.
- Ilie, M. A., Caruntu, C., Tampa, M., Georgescu, S. R., Matei, C., Negrei, C., ... & Boda, D. (2019). Capsaicin: Physicochemical properties, cutaneous reactions and potential applications in painful and inflammatory conditions. *Experimental and therapeutic medicine*, 18(2), 916-925. <https://doi.org/10.3892/etm.2019.7513>
- Karanja, C. W. (2022). *Evaluation of Effects of Capsaicin in Suppression of Plant Pathogens in Tomatoes* [Doctoral dissertation]. University of Nairobi.
- Khan, S. A., Khan, S. B., Khan, L. U., Farooq, A., Akhtar, K., & Asiri, A. M. (2018). Fourier transform infrared spectroscopy: fundamentals and application in functional groups and

- nanomaterials characterization. *Handbook of materials characterization*, 317-344. https://doi.org/317-344.10.1007/978-3-319-92955-2_9
- Larenas, C., Rivadeneira, L., Yáñez, P., & Balseca, D. (2015). Características morfológicas y de concentración de capsaicina en cinco especies nativas del género *Capsicum* cultivadas en Ecuador. *LA GRANJA. Revista de Ciencias de la Vida*, 22(2), 12-32.
- Lu, M., Ho, C. T., & Huang, Q. (2017). Extraction, bioavailability, and bioefficacy of capsaicinoids. *Journal of food and drug analysis*, 25(1), 27-36. <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2016.10.023>
- Marchan-Solier, C. E., Rico-Taguada, A. F., de la Cruz-Ocaña, J., & Manrique-Nugent, M. A. L. (2021). El Rocoto Relleno de Arequipa, Perú y su Valor Nutricional en la Dieta Alimentaria en el 2021. *Scientific Research Journal CIDI*, 1(1), 84-99. <https://doi.org/10.53942/srjci.v1i1.48>
- Marincaş, O., Feher, I., Magdas, D. A., & Puşcaş, R. (2018). 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*, 267, 255-262. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.10.031>
- Martínez, J., Rosas, J., Pérez, J., Saavedra, Z., Carranza, V., & Alonso, P. (2019). Green approach to the extraction of major capsaicinoids from habanero pepper using near-infrared, microwave, ultrasound and Soxhlet methods, a comparative study. *Natural product research*, 33(3), 447-452. <https://doi.org/10.1080/14786419.2018.1455038>
- Martins, F. S., Borges, L. L., Ribeiro, C. S., Reifschneider, F. J., & Conceição, E. C. (2017). Novel approaches to extraction methods in recovery of capsaicin from habanero pepper (CNPH 15.192). *Pharmacognosy Magazine*, 13(Suppl 2), S375. <https://doi.org/10.4103/0973-1296.210127>
- Medina Angulo, M. J., & Robayo Martínez, E. V. (2023). *Validación de la metodología analítica para la separación y cuantificación de Capsaicina y Dihidrocapsaicina presente en Capsicum pubescens provenientes de la sabana de Bogotá mediante cromatografía de gases (GC)* [Tesis de pregrado]. Universidad El Bosque.
- Medina-Torres, N., Ayora-Talavera, T., Espinosa-Andrews, H., Sánchez-Contreras, A., & Pacheco, N. (2017). Ultrasound assisted extraction for the recovery of phenolic

- compounds from vegetable sources. *Agronomy*, 7(3), 47. <https://doi.org/10.3390/agronomy7030047>
- Merritt, J. C., Richbart, S. D., Moles, E. G., Cox, A. J., Brown, K. C., Miles, S. L., ... & Dasgupta, P. (2022). Anti-cancer activity of sustained release capsaicin formulations. *Pharmacology & Therapeutics*, 108177. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2022.108177>
- Muchena, J. K. (2009). *Studies of capsaicinoids contents of locally grown and commercial chilies using reversed-phase High Performance Liquid Chromatography* (Doctoral dissertation, East Tennessee State University).
- Nguyen, D. T. D., Vo, M. T., Truong, C. T., Nguyen, D. H., Nguyen Thi, T. A., Huynh Truc, T. N., ... & Vo Do, M. H. (2021). Optimal Extraction Process and In Vivo Anti-Inflammatory Evaluation of High Purity Oily Capsicum Oleoresin for Pharmaceutical Applications. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2021. <https://doi.org/10.1155/2021/8229607>
- Orellana-Escobedo, L., Garcia-Amezquita, L. E., Olivas, G. I., Ornelas-Paz, J. J., & Sepulveda, D. R. (2013). Capsaicinoids content and proximate composition of Mexican chili peppers (*Capsicum* spp.) cultivated in the State of Chihuahua: Contenido de capsaicinoides y composición proximal de chiles mexicanos (*Capsicum* spp.) cultivados en el estado de Chihuahua. *CyTA-Journal of Food*, 11(2), 179-184.
- Paduano, A., Caporaso, N., Santini, A., & Sacchi, R. (2014). Microwave and ultrasound-assisted extraction of capsaicinoids from chili peppers (*Capsicum annuum* L.) in flavored olive oil. *Journal of Food Research*, 3(4), 51. <http://dx.doi.org/10.5539/jfr.v3n4p51>
- Palma-Orozco, G., Orozco-Álvarez, C., Chávez-Villeda, A. A., Mixtega-Martínez, A., & Castro-Muñoz, R. (2021). Capsaicin content in red habanero chilli (*Capsicum chinense* Jacq.) and its preservation after drying process. *Future Foods*, 4, 100070.
- Pandhair, V., & Sharma, S. (2008). Accumulation of capsaicin in seed, pericarp and placenta of *Capsicum annuum* L fruit. *Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology*, 17, 23-27. <https://doi.org/10.1007/BF03263255>
- Pimentel-Moral, S., Borrás-Linares, I., Lozano-Sánchez, J., Arráez-Román, D., Martínez-Férez, A., & Segura-Carretero, A. (2018). Microwave-assisted extraction for Hibiscus sabdariffa

- bioactive compounds. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 156, 313-322. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2018.04.050>
- Plaza, M., & Turner, C. (2015). Pressurized hot water extraction of bioactives. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 71, 39-54. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2015.02.022>
- Rahman, M. J., Inden, H., & Hossain, M. M. (2010, August). Capsaicin content in sweet pepper (*Capsicum annuum* L.) under temperature stress. In *XXVIII International Horticultural Congress on Science and Horticulture for People (IHC2010): International Symposium on 936* (pp. 195-201).
- Rudometova, N. V., & Kim, I. S. (2019). Capsaicin extraction from hot pepper of capsicum genus. *Scientific Journal of NRUITMO*.
- Sanati, S., Razavi, B. M., & Hosseinzadeh, H. (2018). A review of the effects of *Capsicum annuum* L. and its constituent, capsaicin, in metabolic syndrome. *Iranian journal of basic medical sciences*, 21(5), 439. [10.22038/IJBMS.2018.25200.6238](https://doi.org/10.22038/IJBMS.2018.25200.6238)
- Sánchez, M. P. (2015). *Estudio investigativo del ají, análisis de sus propiedades y nuevas recetas para la cocina* [Tesis de pregrado]. Universidad de Cuenca.
- Santos, P. L., Santos, L. N. S., Ventura, S. P. M., de Souza, R. L., Coutinho, J. A. P., Soares, C. M. F., & Lima, A. S. (2016). Recovery of capsaicin from *Capsicum frutescens* by applying aqueous two-phase systems based on acetonitrile and cholinium-based ionic liquids. *Chemical Engineering Research and Design*, 112, 103-112. <https://doi.org/10.1016/j.cherd.2016.02.031>
- Sarma, M., & del Valle, M. (2020). Detección mejorada de capsaicina con electrodo de grafito epoxi modificado con nanopartículas de TiO₂. *Electroanálisis*, 32 (2), 230-237. <https://doi.org/10.1002/elan.201900400>
- Sasidharan, S., Chen, Y., Saravanan, D., Sundram, K. M., & Latha, L. Y. (2011). Extraction, isolation and characterization of bioactive compounds from plants' extracts. *African journal of traditional, complementary and alternative medicines*, 8(1).
- Shah, I., Shah, M. A., Nawaz, M. A., Pervez, S., Noreen, N., Vargas-de la Cruz, C., ... & Niaz, K. (2020). Analysis of other phenolics (capsaicin, gingerol, and alkylresorcinols). In *Recent*

- advances in natural products analysis* (pp. 255-271). Elsevier.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816455-6.00006-8>
- Simonovska, J., Popovska, O., Trajkoska-Bojadziska, E., Kavrakovski, Z., & Rafajlovska, V. (2015). Development and validation of an UV spectrophotometric method for the determination of capsaicin in the red hot chilli pepper.
- Sitholé, B., Shirin, S., & Ambayec, B. (2010). Analysis and fate of lipophilic extractives in sulphite pulps. *Journal of wood chemistry and technology*, 30(1), 31-47.
[10.1080/02773810903370404](https://doi.org/10.1080/02773810903370404)
- Sittisart, P., Yossan, S., & Prasertsan, P. (2017). Antifungal property of chili, shallot and garlic extracts against pathogenic fungi, *Phomopsis* spp., isolated from infected leaves of para rubber (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg.). *Agriculture and Natural Resources*, 51(6), 485-491. <https://doi.org/10.1016/j.anres.2018.03.005>
- Sridhar, A., Ponnuchamy, M., Kumar, P. S., Kapoor, A., Vo, D. V. N., & Prabhakar, S. (2021). Techniques and modeling of polyphenol extraction from food: A review. *Environmental Chemistry Letters*, 19, 3409-3443. <https://doi.org/10.1007/s10311-021-01217-8>
- Stan, T., Munteanu, N., Teliban, G. C., Cojocar, A., & Stoleru, V. (2021). Fertilization management improves the yield and capsaicinoid content of chili peppers. *Agriculture*, 11(2), 181. <https://doi.org/10.3390/agriculture11020181>
- Suarez-Ospina, D., & Morales-Hernández, Y. (2018). Principios básicos de la cromatografía líquida de alto rendimiento para la separación y análisis de mezclas.
- Thornton, T., Mills, D., & Bliss, E. (2023). Capsaicin: A Potential Treatment to Improve Cerebrovascular Function and Cognition in Obesity and Ageing. *Nutrients*, 15(6), 1537. <https://doi.org/10.3390/nu15061537>
- Tobolka, A., Škorpilová, T., Dvořáková, Z., Cusimamani, E. F., & Rajchl, A. (2021). Determination of capsaicin in hot peppers (*Capsicum* spp.) by direct analysis in real time (DART) method. *Journal of Food Composition and Analysis*, 103, 104074.
<https://doi.org/10.1016/j.jfca.2021.104074>
- Tundis, R., Loizzo, M. R., Menichini, F., Bonesi, M., Conforti, F., Statti, G., ... & Menichini, F. (2011). Comparative study on the chemical composition, antioxidant properties and

- hypoglycaemic activities of two *Capsicum annum* L. cultivars (*Acuminatum* small and *Cerasiferum*). *Plant foods for human nutrition*, 66, 261-269. <https://doi.org/10.1007/s11130-011-0248-y>
- Universidad de Alicante. (2023). *Espectroscopía Ultravioleta Visible*. <https://ssti.ua.es/es/instrumentacion-cientifica/unidad-de-rayos-x-de-monocristal-y-espectroscopias-vibracional-y-optica/espectroscopia-ultravioleta-visible.html>
- Valerianes Pensado, M.C. (2022). Propuesta de mejora para reducir el producto no conforme en la etapa de hidratación del chile chipotle adobado, en la empresa de alimentos enlatados. <http://148.226.24.32:8080/bitstream/handle/1944/52683/ValerianesPensadoMaria.pdf?sequence=3>
- Vázquez-Espinosa, M., González-de-Peredo, A. V., Espada-Bellido, E., Ferreiro-González, M., Barbero, G. F., & Palma, M. (2023). The effect of ripening on the capsaicinoids composition of Jeromin pepper (*Capsicum annum* L.) at two different stages of plant maturity. *Food Chemistry*, 399, 133979.
- Viñanzaca Martos, E. J. (2019). *Síntesis solvotermal de nanopartículas de cobre, su encapsulación en la matriz quitosano/capsaicina y estudio de liberación*. [Tesis de pregrado]. Universidad de Cuenca.
- Wang, J. C., Chen, S. H., & Xu, Z. C. (2008). Synthesis and properties research on the nanocapsulated capsaicin by simple coacervation method. *Journal of Dispersion Science and Technology*, 29(5), 687-695. <http://dx.doi.org/10.1080/01932690701756651>
- Wang, F., Xue, Y., Fu, L., Wang, Y., He, M., Zhao, L., & Liao, X. (2022). Extraction, purification, bioactivity and pharmacological effects of capsaicin: a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 62(19), 5322-5348. <https://doi.org/10.1080/10408398.2021.1884840>
- Waqas, M., Ahmed, D. y Qamar, MT (2022). Extracción de capsaicina mediada por surfactantes de la fruta de *Capsicum annum* L. en varios solventes. *Heliyon*, 8 (8), e10273. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e10273>

- Werner, J. (2021). Capsaicinoids—Properties and Mechanisms of Pro-health Action. *Analytical Methods in the Determination of Bioactive Compounds and Elements in Food*, 193-225. https://doi.org/10.1007/978-3-030-61879-7_8
- Yasin, M., Li, L., Donovan-Mak, M., Chen, Z. H., & Panchal, S. K. (2023). Capsicum Waste as a Sustainable Source of Capsaicinoids for Metabolic Diseases. *Foods*, 12(4), 907. <https://doi.org/10.3390/foods12040907>
- Ye, Z., Shang, Z., Li, M., Zhang, X., Ren, H., Hu, X., & Yi, J. (2022). Effect of ripening and variety on the physiochemical quality and flavor of fermented Chinese chili pepper (Paojiao). *Food Chemistry*, 368, 130797. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.130797>
- Zhang, Q. W., Lin, L. G., & Ye, W. C. (2018). Techniques for extraction and isolation of natural products: A comprehensive review. *Chinese medicine*, 13, 1-26. <https://doi.org/10.1186/s13020-018-0177-x>
- Zhang, S., Wang, D., Huang, J., Hu, Y., & Xu, Y. (2020). Application of capsaicin as a potential new therapeutic drug in human cancers. *Journal of clinical pharmacy and therapeutics*, 45(1), 16-28. <https://doi.org/10.1111/jcpt.13039>
- Zou, L., Wu, D., Ren, G., Hu, Y., Peng, L., Zhao, J., ... & Xiao, J. (2023). Bioactive compounds, health benefits, and industrial applications of Tartary buckwheat (*Fagopyrum tataricum*). *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 63(5), 657-673. <https://doi.org/10.1080/10408398.2021.1952161>

Anexos

Tabla 16

Datos utilizados para el cálculo de porcentaje de extraíbles de *Capsicum chinense*

Fracción volumétrica de etanol	Tiempo de extracción (min)	Peso inicial (g)	Peso de la muestra libre de extracto (g)	% Extraíbles
75%	10	0,4000	0,2833	29,2
	20	0,4001	0,2707	32,3
	30	0,4003	0,2707	32,4
85%	10	0,4002	0,3123	22,0
	20	0,4000	0,2955	26,1
	30	0,4000	0,2901	27,5
95%	10	0,4002	0,3666	8,4
	20	0,4001	0,3569	10,8
	30	0,4000	0,3373	15,7

Tabla 17

Datos utilizados para el cálculo de porcentaje de extraíbles de *Capsicum pubescens*

Fracción volumétrica de etanol	Tiempo de extracción (min)	Peso inicial (g)	Peso de la muestra libre de extracto (g)	% Extraíbles
75%	10	0,4000	0,2732	31,7
	20	0,4000	0,2615	34,6
	30	0,4000	0,2555	36,1
85%	10	0,4000	0,2999	25,0
	20	0,4000	0,2810	29,7
	30	0,4000	0,2757	31,1
95%	10	0,4000	0,3644	8,9
	20	0,4000	0,3486	12,9
	30	0,4000	0,3443	13,9