

CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS Y DE CONCENTRACIÓN DE CAPSAICINA EN CINCO ESPECIES NATIVAS DEL GÉNERO *Capsicum* CULTIVADAS EN ECUADOR

MORPHOLOGICAL CHARACTERISTICS AND CONCENTRATION OF CAPSAICIN IN FIVE NATIVE SPECIES OF *Capsicum* CULTIVATED IN ECUADOR

Patricio Yáñez^{1,2,3}, Diana Balseca¹, Lorena Rivadeneira¹ y Christian Larenas¹

¹Centro de Investigación y Valoración de la Biodiversidad. CIVABI-Universidad Politécnica Salesiana, Av. 12 de Octubre y Wilson, Quito. Telf.: +593-2236869.

²Instituto de Investigaciones Científicas y Tecnológicas. Universidad Iberoamericana del Ecuador. Av. 9 de Octubre 1178 y Santa María, Quito.

³Escuelas de Biología Aplicada y de Gestión Turística. Universidad Internacional del Ecuador. Av. Simón Bolívar s/n y Jorge Fernández, Quito.

Autor para correspondencia: clarenas@ups.edu.ec

Manuscrito recibido el 8 de mayo de 2015. Aceptado, tras revisión, el 12 de noviembre de 2015.

Resumen

Los recursos genéticos del género *Capsicum* (ajíes), familia: (Solanaceae), son importantes por ser fuente natural de Capsaicina. Los reportes sobre esta característica en los ajíes nativos de Ecuador son escasos. En el presente estudio se analizaron variables morfológicas de plantas, frutos y semillas de cinco especies de este género: *C. baccatum*, *C. chinense*, *C. pubescens*, *C. annuum* y *C. frutescens*, procedentes de las provincias de Loja, Santo Domingo de los Tsáchilas, Esmeraldas, Los Ríos y Morona Santiago. Igualmente se identificó y cuantificó la Capsaicina presente en la oleorresina de los frutos de estas especies. La identificación de Capsaicina fue efectuada mediante Cromatografía en Capa Fina (TLC) comparando las oleorresinas con el estándar de Capsaicina USP (98,9%), obteniendo un Rf de 0,184; la Capsaicina presentó una leve fluorescencia a una longitud de onda de 254 nm. La cuantificación del metabolito fue realizada mediante Cromatografía Líquida de Alta Eficiencia (HPLC). *Capsicum chinense* presentó el rendimiento más alto con un promedio de 11340 mg/kg; se concluyó que esta especie posee un alto potencial para la extracción de Capsaicina, la misma que puede ser utilizada a nivel comercial en la industria farmacológica y/o alimenticia.

Palabras clave: Ecuador, *Capsicum*, características morfológicas vegetales, Capsaicina, Cromatografía en Capa Fina, Cromatografía Líquida de Alta Eficiencia.

Abstract

Genetic resources in the genus *Capsicum* (chili), family (Solanaceae), are important for being a natural source of capsaicin. The information about this feature is scarce in native chili species in Ecuador. The aim of this study was to analyze main morphological characteristics in plants, fruits and seeds of five species of the genus *Capsicum*: *C. baccatum*, *C. chinense*, *C. pubescens*, *C. annuum* y *C. frutescens*, collected in the provinces of Loja, Santo Domingo de los Tsáchilas, Esmeraldas, Los Ríos and Morona Santiago. We also identified and quantified the capsaicin present in the oleoresin coming from fruits of these species. Identification of capsaicin was performed by Thin Layer Chromatography (TLC), comparing the oleoresins with the standard USP capsaicin (98.9%), getting an Rf value of 0.184; capsaicin denotes a low fluorescence at a wavelength of 254nm. Capsaicin was quantified using High Performance Liquid Chromatography (HPLC). *Capsicum chinense* presented the highest yield with an average of 11340 mg/kg, it was concluded that this species has a high potential for Capsaicin extraction, which can be used commercially in food and/or pharmaceutical industry.

Keywords: Ecuador, *Capsicum*, plant morphological characteristics, Capsaicin, Thin Layer Chromatography, High Performance Liquid Chromatography.

Forma sugerida de citar: Yáñez, P., D. Balseca, L. Rivadeneira y C. Larenas. 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. Vol. 22(2): 12-32. ISSNp: 1390-3799, ISSNe: 1390-8596.

1. Introducción

Todas las formas de ají, pimiento o chile pertenecen al género *Capsicum*, familia Solanaceae. Además de *Capsicum*, en la familia existen otros géneros con especies cultivadas importantes tales como: *Solanum*, *Lycopersicon*, *Cyphomandra*, *Physalis*, entre otros (Núñez *et al.*, 2003).

En Ecuador, se reporta la existencia de 9 a 10 especies de ajíes (*Capsicum annuum*, *C. baccatum*, *C. chinense*, *C. dimorphum*, *C. galapagoense*, *C. hookerianum*, *C. lycianthoides*, *C. pubescens*, *C. rhomboideum*, *C. frutescens*; siendo esta última considerada por algunos autores como perteneciente a *C. annuum*) y más de 60 variedades tradicionales en cultivo. Las especies nativas de Ecuador y que en la actualidad todavía están cultivándose son cinco: *C. annuum*, *C. baccatum*, *C. chinense*, *C. pubescens* y *C. frutescens*) que se utilizan tradicionalmente como agregados naturales en diferentes platos. La única especie endémica es *C. galapagoense*, que crece de manera silvestre en las Islas Galápagos (de Investigaciones Agropecuarias, 2008).

Se sabe que el añadir ají o chile a diferentes comidas le confiere una identidad única (Bruneton, 2001).

Estudios recientes señalan que el ají tiene origen ecuatoriano según lo estableció un equipo internacional de investigadores de la Universidad de Calgary, en Canadá, y de la Universidad de Missouri de Estados Unidos. Según este estudio, los rastros más antiguos de ají fueron hallados en Loma Alta y Real Alto, Península de Santa Elena, y datan de hace 6100 años, mientras que los encontrados en otras zonas del continente tienen entre 5.600 y 500 años de antigüedad (Perry *et al.*, 2007).

Además de su importancia como alimento, se ha reportado que la especie es utilizada como medicamento entre las comunidades indígenas de México, Centro y Sudamérica (Chávez *et al.*, 2004). Cabe señalar que la medicina tradicional le atribuye propiedades irritantes, laxantes, rubefacientes y expectorantes. Se utiliza para tratar ciertas enfermedades culturales como “mal de aire y mal de ojo” y enfermedades de la piel como: la erisipela, erupciones, heridas externas, llagas infectadas, vesicante (Wai- zel y Camacho, 2011).

La Capsaicina es el componente responsable de la sensación picante de los ajíes, la cual incluso llega

a ser utilizada como analgésico tópico. Igualmente, en estudios como el de Athanasiou *et al.* (2007) se ha demostrado que los vaniloídes, familia de moléculas a la que pertenece la Capsaicina, se unen a las proteínas en la mitocondria de la célula cancerosa y genera la apoptosis o muerte celular, sin dañar a las células sanas circundantes. La bioquímica de las mitocondrias en células cancerosas es muy diferente a la de las células normales, de ahí la gran selectividad de la Capsaicina en el tratamiento de los diferentes tipos de cáncer.

1.1 Importancia farmacológica del género *Capsicum*

La aplicación de Capsaicina sobre la piel o mucosas produce ardor e hiperalgesia, pero la aplicación repetida da lugar a pérdida de sensibilidad a la Capsaicina; la aplicación de dosis más elevadas causa un bloqueo de las fibras C que conducen a un déficit sensorial de larga duración. Esta propiedad ha sido utilizada terapéuticamente en el dolor neuropático como una opción cuando los otros fármacos son ineficaces. Así, la Capsaicina ha demostrado su eficacia después de la administración repetida en el dolor postmastectomía, el dolor del muñón, la distrofia simpática refleja, el dolor neuropático oral, la fibromialgia y sobre todo en la neuropatía diabética y la neuralgia postherpética. En consecuencia existe un elevado interés en encontrar nuevos medicamentos análogos a la Capsaicina (Muriel, 2007).

Se ha verificado también que el consumo moderado de frutos de *Capsicum* spp. ayuda a bajar el índice de colesterol lipoproteínico de baja densidad (LDL), cuya presencia va de la mano con derrames cerebrales, hipertensión y enfermedades cardíacas. Además, aunque parezca inverosímil hay indicios de que el consumo de ají no agrava las úlceras estomacales, sino que las previene; al parecer la Capsaicina estimula la producción de jugos digestivos que protegen las paredes estomacales de los ácidos y del alcohol que causan las úlceras. Esta circunstancia ha llevado a especular que la Capsaicina podría servir como agente protector del estómago (Yeager, 2002).

Los ajíes al parecer también sirven para hacer menos espesa la sangre. Los mismos investigadores del Instituto Max Planck en Alemania descubrieron que aumentan el tiempo necesario para que se coagule la sangre, impidiendo de esta manera la forma-

ción de coágulos que desemboquen en ataques cardíacos y derrames cerebrales (Yeager, 2002).

Investigaciones dirigidas por Joo *et al.* (2010) sugieren que la Capsaicina puede causar pérdida de peso e impedir la acumulación de grasa mediante la estimulación de la expresión de ciertas proteínas degradantes de grasa, y estableciendo una regulación a la baja de otras proteínas que trabajan en la síntesis de grasa.

1.2 Composición fitoquímica de los frutos del género *Capsicum*

Los ajíes son ricos en ácido ascórbico, contienen igualmente heterósidos diterpénicos (capsianósidos) y un heterósido del furostanal (capsicósido). Su coloración se debe a la presencia de carotenoides con terminación ciclopenténica cuyo contenido aumenta a lo largo de la maduración: la capsantina es una 3,3'' -dihidroxi- β , κ -caroten-6,6'-ona- se en-

cuentra acompañado de capsorubina, capsantinona, criptocapsina, violaxantina, α -caroteno. El sabor picante de los pimientos fuertes y picantes se debe al contenido muy variable en amidas: los capsainoides. El compuesto mayoritario de esta serie es la Capsaicina, vainillamida del ácido 8-metil-non-6-enoico. El contenido en capsainoides, muy bajo en los pimientos morrones, puede sobrepasar el 1 % en las especies muy picantes (Bruneton, 2001).

1.3 La Capsaicina ((6E)-N-(4-Hidroxi-3-metoxibencil)-8-metil-6-nonanamida)

Es una sustancia de naturaleza alcaloide, concretamente un protoalcaloide (Figura 1), cuya fórmula empírica es $C_{18}H_{27}NO_3$. En la actualidad se sabe que la Capsaicina no es un compuesto simple, si no que se trata de una mezcla de varias amidas, que son comúnmente conocidas como capsainoides, siendo la Capsaicina la más importante entre ellas (Núñez *et al.*, 2003).

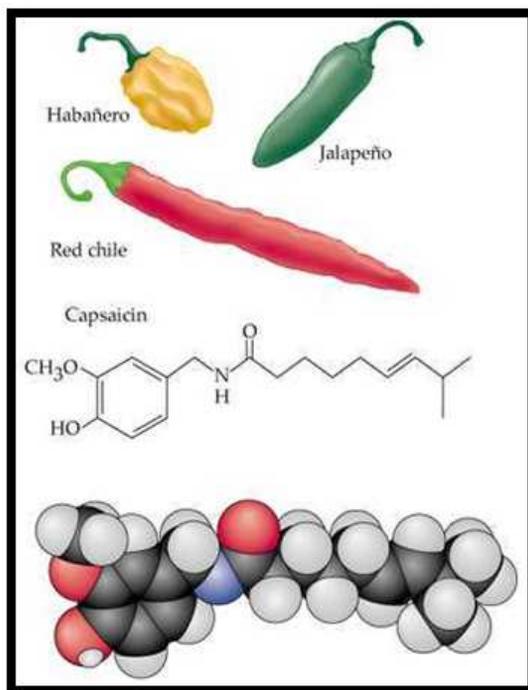


Figura 1. Molécula de la Capsaicina (8-metil-N-vainil-6-nonenamida). Fuente: (López, 2012).

Es el capsaicinoide mayoritario presente en las variedades picantes del género *Capsicum*, son aminas simples con nitrógeno extra cíclico, de carácter básico y son productos del metabolismo de los aminoácidos; es un alcaloide oxigenado, en cuyo caso de manera pura se encuentra como un sólido cristalizabile, incoloro y blanco (Navarro y Costa, 2000).

El contenido de Capsaicina es mayor en la placenta y en el septo del fruto, en donde representa un 2,5% de la materia seca, mientras que en el contenido general del fruto es del 0,6%, el de las semillas del 0,7% y del pericarpio del 0,03%. La formación de la Capsaicina se incrementa a temperaturas mayores de 30°C que a temperaturas menores (Núñez *et al.*, 2003). El contenido en Capsaicina de los frutos varía notablemente, en una magnitud del 1,5%

y está influido por las condiciones ambientales y la edad del fruto (Trease, 1998).

2. Materiales y métodos

2.1 Localización geográfica de los especímenes estudiados

Los frutos de los especímenes analizados fueron recolectados entre julio y septiembre de 2012. La muestra recolectada de cada una de las especies fue de aproximadamente 1 kilo de frutos maduros, utilizando un muestreo aleatorio estratificado, en plantaciones de diversas regiones del país (Tabla 1).

Tabla 1. Sitios de recolección de los frutos maduros de ajíes para la extracción de Capsaicina.

Fecha de Recolección	Nombre Común	Nombre Científico	Localidad	Ubicación Geográfica	Altitud (msnm)
12 ago 2012	Ají Cereza	<i>Capsicum baccatum</i>	km 19 vía a Quevedo, Recinto Mirador del Baba, Prov. Los Ríos.	01°02'00"S, 79°27'00"W.	370
25 ago 2012	Ají Habanero	<i>Capsicum chinense</i>	km 16 vía a Chone, San Jacinto del Búa, Prov. Santo Domingo de los Tsáchilas.	00°25'39"S, 79°17'42"W.	320
24 sep 2012	Ají Rocoto	<i>Capsicum pubescens</i>	km 6 vía a Cariamanga, cantón Gonzanamá, Prov. Loja.	03°59'35"S, 79°12'15"W.	2200
17 ago 2012	Ají Ratón	<i>Capsicum annuum</i>	km 3 vía a Esmeraldas, cantón San Lorenzo, Prov. Esmeraldas	01°17'18"N, 78°50'13"W.	20
25 sep 2012	Ají Gallinazo, Tabasco	<i>Capsicum frutescens</i>	Gualaquiza, prov. Morona Santiago.	02°02'10"S, 78°13'30"W.	514

2.2 Tamizaje fitoquímico

El tamizaje fitoquímico se realizó tomando en cuenta el procedimiento propuesto por Miranda (2002), mediante la extracción sucesiva de la droga vegetal para la aplicación del análisis y el establecimiento de los principales grupos de constituyentes químicos presentes en los frutos de las cinco especies de *Capsicum*.

2.3 Extracción de la oleorresina

Se colocó la materia prima seca, previamente sometida al proceso de control de calidad, en el equipo

de destilación básico y mediante maceración dinámica a reflujo con etanol durante 5 horas, tomando en cuenta el punto de ebullición del solvente utilizado, a 78°C, y con agitación constante. A continuación se realizó la filtración del extracto obtenido, con papel filtro. Se concentró en un factor de 10 a los extractos obtenidos en el proceso anterior con un equipo de Rotavapor para obtener la oleorresina correspondiente (Figura 2). Para cada especie vegetal se realizaron tres repeticiones para la obtención de la oleorresina, completando un total de 15 unidades experimentales (5 especies x 3 repeticiones). Esta oleorresina fue parcialmente seca, hasta obtener una consistencia cremosa.

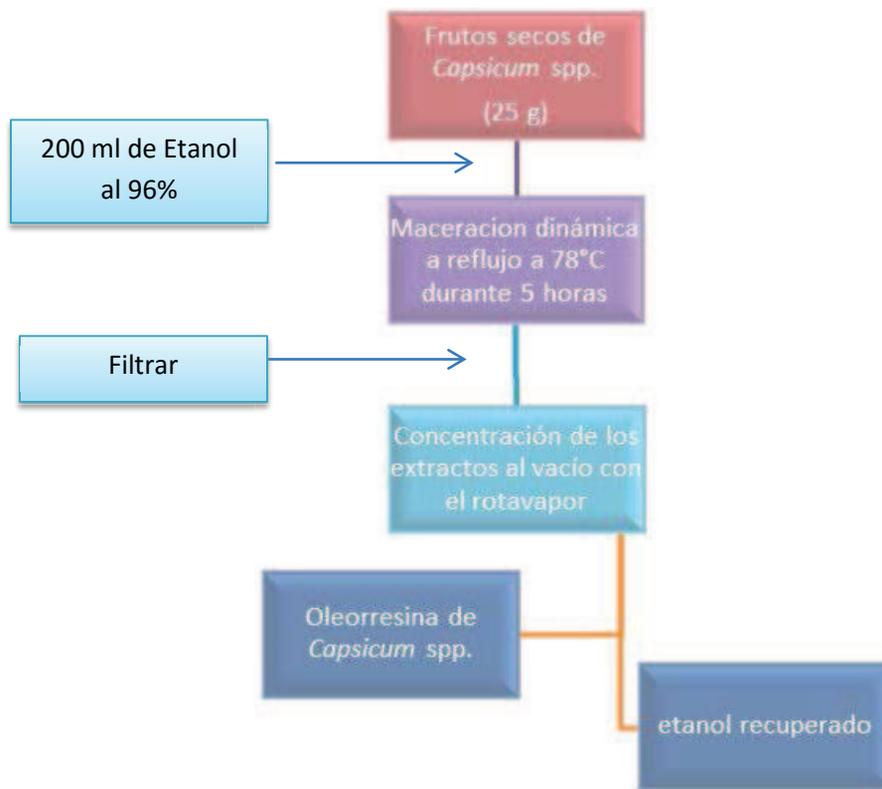


Figura 2. Procedimiento de extracción de la oleorresina de los frutos de *Capsicum* spp.

2.4 Identificación de la Capsaicina de las oleorresinas por TLC

Se trabajó con 50 mg de oleorresina, los cuales fueron disueltos en 1 ml de metanol según lo recomendado por Sein *et al.* (1998). Dicha solución de oleorresina se realizó para cada especie de *Capsicum* analizada. El estándar de Capsaicina USP (98,9% de pureza) se preparó a una concentración de 2,5 mg/ml de metanol. Se colocó sobre las placas de sílica gel 30 μ l de la solución preparada y 10 μ l de cada una de las muestras. La placa se colocó verticalmente dentro de una cámara previamente saturada con el vapor del eluyente, de tal forma que la parte inferior de la placa que contenía la muestra entró en contacto con la fase móvil éter etílico y hexano (3:1). Se secó la placa cromatográfica a temperatura baja para evitar la degradación de los principios activos. Se esperó a que evapore el eluyente de la placa y se analizó utilizando luz UV a 254 nm.

2.5 Cuantificación de Capsaicina mediante HPLC

El análisis HPLC cuantitativo de las 15 muestras de oleorresina de *Capsicum* spp., se realizó en un cromatógrafo de alto rendimiento marca WATERS con una bomba binaria 1525, un detector 2998 PDA Fotodiodo UV/vis de longitud de onda programable y una columna C18 *Spherisorb* ODS2, 80A°, fase reversa 5 μ m, 4.6 mm * 150 mm, 1pkg [PSS831913], Silanol. USP L1 para la fase estacionaria. El sistema HPLC se encontraba equipado con el software *Empower*.

Se pesaron 12,64 mg de estándar de Capsaicina USP \geq 98,9% HPLC en un balón de 25 ml y se llevó a aforo con Metanol grado HPLC. La solución resultante tuvo una concentración de 500 ppm. A partir de la solución Stock se realizaron las diluciones pertinentes para obtener soluciones más diluidas. Para

obtener la curva de calibración se inyectó 20 μ l de cada uno de los estándares y se efectuó una regresión lineal comparando la concentración de Capsaicina y el área de pico obtenido en el cromatograma, teniendo así las referencias necesarias para las mediciones de las muestras posteriores.

Siguiendo la metodología establecida para la cuantificación de Capsaicina de la AOAC (Association of Official Agricultural Chemists), en 1998, se pesaron 200 mg de oleoresina en un matraz aforado de 10 ml evitando que la oleoresina forme una capa a los costados del balón. Se añadió 1 ml de acetona y se agitó hasta que la porción de muestra estuviera completamente dispersa. Se añadió 1 ml de etanol puro, agitando durante cada adición, finalmente se aforó con etanol hasta los 10 ml y se mezcló bien.

Se calentó la muestra a baño maría a una temperatura menor a 60°C, para evitar la degradación de la Capsaicina. Las muestras fueron colocadas en ultrasonido durante 15 minutos. Se tomó una alícuota de 5 ml y se filtró con aerodisk de 0,45 μ m de 1-4 ml de solución en un vial de vidrio. Las soluciones se envasaron y etiquetaron en viales de 2 ml, se colocaron en el automuestreador del equipo HPLC Waters que fue previamente programado con el protocolo para cuantificación de Capsaicina (Tabla 2). Una vez conocida el área del pico que se requiere cuantificar, es posible obtener la concentración, interpolando los datos con la curva de calibración del estándar, ya que relaciona la respuesta del detector con la cantidad de compuesto inyectado, con los parámetros propuestos por Harris (2007) y Skoog *et al.* (2007).

Tabla 2. Sitios de recolección de los frutos maduros de ajíes para la extracción de Capsaicina.

FASE ESTACIONARIA	Columna Spherisorb de acero Inoxidable C18 fase reversa, ODS2 de 4,6 mm * 150 mm
FASE MÓVIL	Metanol 60 %, Acetonitrilo 20 %, Agua 20 %, grado HPLC, elución isocrática
FLUJO	0,8 ml/min durante 5 minutos
LONGITUD DE ONDA	280 nm
TEMPERATURA DE LA COLUMNA	29°C
VOLUMEN DE INYECCIÓN	20 μ l

2.6 Método Scoville

También conocido como el método *Estándar Internacional ISO 3513-1977* para la aplicación en extractos o productos de ají para evaluar su grado de pungencia (Núñez *et al.*, 2003).

Según este método, se debe convertir a Unidades Scoville para determinar el grado de pungencia de las muestras analizadas, para ello se considera que una parte por millón (1 ppm) de Capsaicina equivale a 15 Unidades Scoville (US) (Batchelor y Jones, 2000).

2.6.1 Determinación de unidades de pungencia Scoville (SHU)

Para determinar el Valor de Pungencia en Unidades Scoville (SHU), en cada muestra es necesario multiplicar la concentración de Capsaicina presente (g/g) por el SHU del compuesto puro, al añadir este valor se obtiene un valor total de SHU (Núñez *et al.*, 2003).

En este sentido una ecuación referencial es:

$$1 \text{ ppm Capsaicina} = 15 \text{ unidades Scoville} = 1 \text{ unidad ASTA}$$

El rango de unidades Scoville (SHU) aceptado internacionalmente para chiles frescos de buen grado es de 2500 a 5000 SHU (Peralta, 2007) (Tabla 3), utilizando la equivalencia para convertir unidades Scoville en μ g CAPS/g chile (1 μ g CAPS/g chile fresco=15 SHU) se tiene que 2500 SHU equivalen a 0,1667 mg CAPS/g de chile, mientras que 5000 SHU son equivalentes a 0,3333 mg CAPS/g de chile.

2.7 Determinación diferencial del contenido de Capsaicina entre las cinco especies de *Capsicum*

Una vez obtenidos los valores de concentración de Capsaicina se procedió a aplicar un Análisis de Varianza, así como la prueba a posteriori de Tukey, para determinar si existe una diferencia significativa

entre el contenido de Capsaicina de las cinco especies.

De manera previa, se confirmó la normalidad en los datos a través de la prueba de Shapiro Wilks. En ambos casos el valor de alfa fue de 0,05.

2.8 Análisis Multivariado de las cinco especies de *Capsicum* utilizando características morfológicas y de contenido de Capsaicina

En las zonas de recolección de frutos de *Capsicum* (plantaciones artesanales), se estableció un muestreo aleatorio estratificado, tomando 20 plantas por especie.

En cada individuo vegetal se evaluaron *in situ* varios caracteres morfológicos en planta, flor y fruto, los cuales fueron diferenciados en descriptores cualitativos y cuantitativos (Tablas 4 y 5). Estas observaciones se efectuaron de acuerdo al manual de descriptores morfológicos para *Capsicum* propuesto por IPGRI-AVRDC-CATIE (1995).

En la matriz construida para el Análisis Multivariado, además de los datos de las Tablas 4 y 5, también se incluyeron los datos de control de calidad de la oleorresina y la concentración de Capsaicina en las cinco especies (Tablas 7 y 9).

El Análisis Multivariado incluyó un Análisis Clúster (de tipo Aglomerativo, utilizando como método la Unión Promedio y como medidas de similitud Distancias Euclidianas) y un Análisis de Ordenamiento (Análisis de Componentes Principales basado en una matriz de correlación).

3. Resultados y discusión

3.1 Descriptores morfológicos de las plantas y frutos de *Capsicum* spp.

En las Tablas 4 y 5 se presenta la información morfológica cualitativa y cuantitativa obtenida a partir del análisis de plantas y frutos de las 5 especies del género *Capsicum*.

Obsérvese como los colores predominantes en las semillas son el crema y el amarillo. Los colores de frutos maduros tienden a encontrarse entre el naranja-rojo y el rojo brillante, dependiendo de la especie. Las formas más comunes de los frutos son elongada y redonda. Los aromas van desde el suave al fuerte acre. En cuanto a la firmeza del fruto, predominan la suave y la intermedia. Finalmente, el follaje de la planta tiende a encontrarse entre denso a semidenso (Tabla 4).

Tabla 3. Escala Scoville y las principales especies/variedades de *Capsicum* spp. Fuente: (Peralta, 2007).

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

Tabla 4. Descriptores morfológicos cualitativos evaluados en las plantas y frutos de *Capsicum* spp.

	<i>C. baccatum</i>	<i>C. chinense</i>	<i>C. pubescens</i>	<i>C. annuum</i>	<i>C. frutescens</i>
Color semillas ⁽¹⁾	1	2	3	1	2
Color fruto maduro ⁽²⁾	8	5	7	6	8
Forma fruto ⁽³⁾	2	5	2	1	1
Aroma fruto ⁽⁴⁾	2	4	3	3	4
Factibilidad de separación del fruto ⁽⁵⁾	1	1	3	2	2
Firmeza del fruto ⁽⁶⁾	2	2	3	1	1
Densidad del follaje ⁽⁷⁾	1	2	2	2	1

NOTAS:

(1) 1= crema, 2= amarilla, 3= morada

(2) 1=amarillo-limón, 2=amarillo, 3=amarillo-naranja, 4=naranja-pálido, 5=naranja-rojo, 6=rojo claro, 7=rojo oscuro, 8=rojo brillante, 9=morado, 10=marrón

(3) 1=elongado, 2=redondo, 3=triangular, 4=acampanado, 5=acorazonado, 6=cónico

(4) 1=sin aroma, 2=aroma suave, 3=aroma fuerte, 4=aroma fuerte acre

(5) 1=fácil, 2=medio, 3=difícil

(6) 1=suave, 2=intermedio, 3=duro

(7) 1=densa, 2=semidensa, 3=rala

La altura promedio de la planta fluctuó entre 0,85 m (*Capsicum annuum*) hasta 2,05 m (*C. chinense*); la longitud promedio del fruto maduro entre 1,24 cm (*C. baccatum*) hasta 4,65 cm (*C. chinense*); el diámetro

promedio del fruto maduro entre 0,61 (*C. annuum*) hasta 3,40 (*C. pubescens*); mientras que su peso promedio entre 1,20 g (*C. baccatum*) y 8,30 g (*C. pubescens*) (Tabla 5).

Tabla 5. Descriptores morfológicos cuantitativos medidos en plantas y frutos de *Capsicum* spp. (*).

	<i>C. baccatum</i>	<i>C. chinense</i>	<i>C. pubescens</i>	<i>C. annuum</i>	<i>C. frutescens</i>
Altura promedio de la planta (m)	1,37	2,05	1,49	0,85	1,24
Longitud promedio del fruto maduro (cm)	1,24	4,65	4,07	2,17	2,71
Diámetro promedio del fruto maduro (cm)	1,79	3,10	3,40	0,61	0,76
Peso promedio del fruto maduro (g)	1,20	7,80	8,30	2,60	3,70

NOTA:

(*) n = 20, en cada descriptor.

3.2 Control de calidad de los frutos analizados para contenido de Capsaicina

Se realizó un estudio farmacognóstico de los frutos secos de las cinco especies representativas del género *Capsicum* (*C. baccatum*, *C. chinense*, *C. pubescens*, *C. annuum*, *C. frutescens*), determinando las caracte-

rísticas macromorfológicas y los parámetros físico químicos de control de calidad de la droga, considerando la Norma NTE INEN 2532 (de Normalización, 2010).

Las características macroscópicas más llamativas de los frutos de las cinco especies se resumen en la Tabla 6.

Tabla 6. Características macroscópicas de los frutos de las especies analizadas de *Capsicum*.

Imagen	Especie	Color del fruto maduro	Forma de la base del fruto	Forma del ápice del fruto	Forma del fruto en corte transversal	Forma del fruto en corte longitudinal	Aroma	Textura	Uniformidad del fruto	Color de la semilla
	Ají Cerezo <i>Capsicum baccatum</i> DBLR1	NARANJA-ROJO	Redondo obtuso	Acuminada	Redonda	Elíptica	Suave	Lisa	Uniforme	Anaranjada
	Ají Habanero <i>Capsicum chinense</i> DBLR2	ROJO CLARO	Truncada	Aguda	Lobada	Lanceolada	Dulce	Semi-rugosa	Uniforme	Blanquecina
	Ají Rocoto <i>Capsicum pubescens</i> DBLR3	ROJO OSCURO VINO	Prolongada	Redonda	Lobada	Elíptica	Sin aroma	Lisa	No uniforme	Negra
	Ají Ratón <i>Capsicum annuum</i> DBLR4	NARANJA-ROJO	Truncada	Aguda	Redonda	Elíptica alargada	Fuerte	Lisa	No uniforme	Blanquecina verdosa
	Gallinazo, tabasco <i>Capsicum frutescens</i> DBLR5	NARANJA CLARO	Prolongada	Aguda	Lobada suave	Ovado	Suave	Lisa	Uniforme	Amarilla

Se determinó el contenido de elementos extraños en los frutos, procedentes de la planta originaria (partes no usadas), así como también, sustancias externas de procedencia vegetal (de otras especies vegetales), animal (plumas, pelos, heces) o mineral (tierra, arena piedras). La cantidad de materias extrañas contenidas en las muestras analizadas se encontró en un rango de entre el 1,40-2,05%, valores aceptables, ya que según la Farmacopea Europea el nivel de materias extrañas no debe ser mayor al 2%. En su mayoría estos elementos estuvieron conformados por polvo y piedrecillas finas que fueron separados de manera previa a los ensayos químicos cuantitativos de control de calidad.

Los valores de control de calidad nunca sobrepasaron los límites máximos recomendados por la normativa referencial pertinente (Tabla 7).

3.3 Tamizaje fitoquímico

Se determinó en el extracto etéreo una importante cantidad de alcaloides; en el ensayo para aceites y grasas se registraron cantidades altas en *C. chinense* y *C. pubescens*, moderadas en *C. annuum* y *C. frutescens* y bajas en *C. baccatum*; mostrando una reacción negativa para triterpenos y esteroides (Tabla 8).

En el análisis del extracto etanólico se encontró la presencia significativa de resinas, grasas y aceites; compuestos fenólicos/taninos y aminas en cantidades moderadas. También, una cantidad moderada de saponinas en todos los extractos menos en *C. pubescens* que no mostró ninguna reacción al ensayo.

No se encontraron lactonas y cumarinas, glicósidos cardiotónicos, ni flavonoides. En el extracto acuoso se obtuvo la presencia de azúcares reductores, principios amargos y astringentes y no se encontraron ni mucílagos ni antocianidinas (Tabla 8).

3.4 Identificación de Capsaicina en las oleorresinas por TLC

La Capsaicina presenta una leve fluorescencia al exponerla a una longitud de onda UV de 254 nm, lo cual permitió su identificación. Al comparar el estándar USP con las muestras analizadas se observan las bandas ubicadas a la misma altura como se puede observar en la Figura 3.

Se obtuvo un Rf de 0,184 (1,52/8,28) tanto para el estándar de Capsaicina como para las muestras de *Capsicum* a 254 nm, lo cual evidenció la presencia de este principio activo en las muestras analizadas. La mancha más pronunciada pertenece a *Capsicum chinense* lo que indica que esta especie posee una mayor cantidad de Capsaicina frente a las otras muestras, lo que también se evidenció posteriormente con el análisis HPLC.

3.5 Cuantificación de Capsaicina

Los niveles de rendimiento de oleorresina en los extractos fluctuaron entre 5,6 a 16,5%, con una concentración de Capsaicina de entre 600,3 a 11339,9 mg/kg, dependiendo de la especie (Tabla 9).

Tabla 7. Valores en ensayos físico-químicos cuantitativos de control de calidad comparados con la normativa pertinente.

Especie	Cenizas totales (%)	NTE INEN 1117 (Máx. %)	Cenizas solubles en agua (%)	NMX-F-260-1978 (Máx. %)	Cenizas insolubles en HCl (%)	NTE CONVENIN 1539-80 (Máx. %)	Humedad (%)	NTE INEN 1114 (Máx. %)
<i>C. baccatum</i>	4,99	8,5	1,83	2,0	0,94	2,0	7,55	10,0
<i>C. chinense</i>	3,62	8,5	1,20	2,0	0,38	2,0	7,90	10,0
<i>C. pubescens</i>	3,53	8,5	1,39	2,0	0,55	2,0	13,99	10,0
<i>C. annuum</i>	4,66	8,5	0,68	2,0	0,55	2,0	7,40	10,0
<i>C. frutescens</i>	4,14	8,5	1,33	2,0	0,58	2,0	6,55	10,0

Tabla 8. Resultados del Tamizaje fitoquímico de las especies de *Capsicum*.

METABOLITO	ENSAYO	EXTRACTO	<i>C. baccatum</i>	<i>C. chinense</i>	<i>C. pubescens</i>	<i>C. annuum</i>	<i>C. frutescens</i>
Aceites y grasas	Sudan	Etéreo	+	+++	+++	++	++
Alcaloides	Dragendorff Wagner	Etéreo	+++	+++	+++	+++	+++
		Alcohólico	+++	+++	+++	+++	+++
		Acuoso	-	-	-	-	-
Triterpenos esteroides	Lieberman-Burchard	Etéreo	-	-	-	-	-
Lactonas y coumarinas	Baljet	Etanólico	-	-	-	-	-
Resinas	Resinas	Etanólico	+	+++	+++	++	++
Compuestos fenólicos y taninos	Cloruro férrico	Etanólico	+	+	+	+	+
Azúcares reductores	Fehling	Acuoso	+	+	+	+	+
Saponinas	Espuma	Etanólico	+	+	-	+	+
Glicosidos cardiotónicos	Kedde	Etanólico	-	-	-	-	-
Flavonoides	Shinoda	Etanólico	-	-	-	-	-
Aminoácidos libres o aminas en general	Ninhidrina	Etanólico	+	+	+	+	+
Antocianidinas	Antocianidinas	Acuoso	-	-	-	-	-
Mucílagos	Mucílagos	Acuoso	-	-	-	-	-
Principios astringentes y amargos		Acuoso	+	+	+	+	+

(+) Respuesta positiva de poca cantidad para este metabolito en el extracto.

(++) Respuesta positiva de mediana cantidad para este metabolito en el extracto.

(+++) Respuesta positiva de mayor cantidad para este metabolito en el extracto.

(-) Respuesta negativa para este metabolito en el extracto

Fuente: González *et al.* (2013)

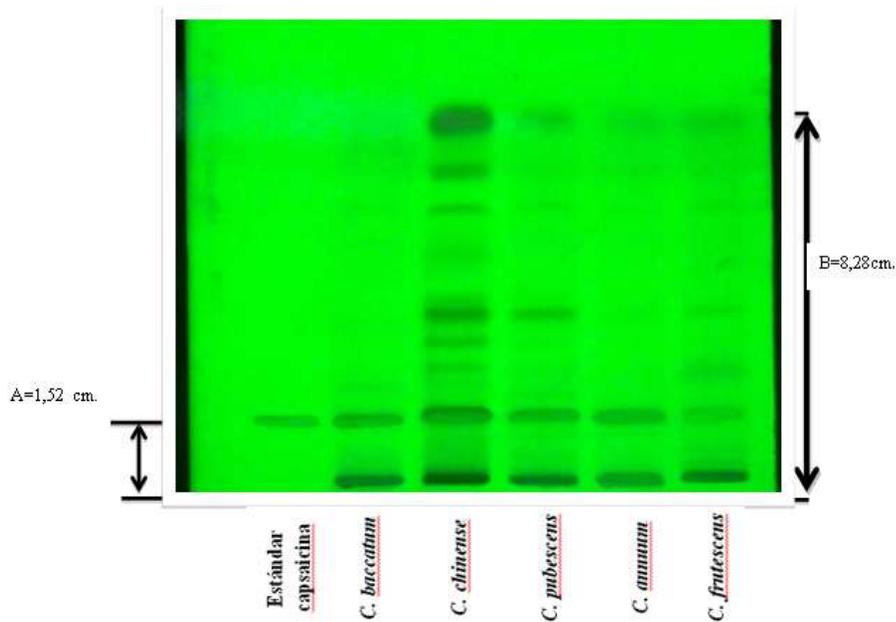


Figura 3. Determinación del Rf. para Capsaicina en placa cromatográfica observada a 254 nm. Notas: A=recorrido del estándar de Capsaicina. B=recorrido total de las muestras. Fase móvil: éter etílico-hexano (3:1). Fase estacionaria: cromatoplaca HPTLC Nano-Sil C18-100.

Tabla 9. Parámetros relacionados con la cuantificación de Capsaicina en cinco especies de *Capsicum*.

	<i>C. baccatum</i>	<i>C. chinense</i>	<i>C. pubescens</i>	<i>C. annuum</i>	<i>C. frutescens</i>
Rendimiento promedio de la oleorresina (%)	5,60	16,50	14,90	11,30	12,10
Densidad de la oleorresina (mg/ml)	0,75	0,79	0,84	0,94	0,71
pH de la oleorresina	9,05	8,28	9,41	7,80	8,59
Concentración Capsaicina (mg/kg)	1164,69	11339,94	600,27	2992,01	2046,66

Las oleorresinas obtenidas poseen cierta variación en sus características organolépticas como en el color, pasando desde el vino oscuro de *C. chinense* y *C. baccatum* y el anaranjado para *C. frutescens*, *C. annuum* y *C. baccatum*.

3.5.1 Cuantificación de Capsaicina mediante HPLC

Sensibilidad del método. Se efectuó el proceso de calibración para el estándar de Capsaicina con diluciones de 5, 10, 20, 40, 100 y 500 ppm en metanol grado HPLC, para cada uno de los cuales se obtuvo su respectiva área del pico y tiempo de retención (Tabla 10).

A partir de los valores de concentración y área del pico se obtuvo la correspondiente relación de linealidad ($y = 13410x + 7919,8$), con un coeficiente de determinación de $r^2 = 1$, corroborando una muy buena sensibilidad del método para cuantificación de Capsaicina.

Cuantificación de Capsaicina. Los cromatogramas permitieron identificar los picos de absorción con tiempos de retención promedio de 2,675 minutos para la Capsaicina (Figura 4) al usar como fase móvil una solución de metanol 60%: agua 20%: acetonitrilo 20%.

Hubo una serie de picos adicionales no identificados (Figura 4), los cuales probablemente corresponderían a otros capsaicinoides presentes en la oleoresina, los cuales se podrían identificar utilizando estándares externos.

En la Figura 5, en cambio, se pueden observar los cromatogramas correspondientes a las muestras provenientes de frutos de las 5 especies de *Capsicum* analizadas.

Tabla 10. Área de los picos de las diluciones del estándar de Capsaicina.

CONCENTRACIÓN (ppm)	ÁREA DEL PICO	TIEMPO DE RETENCIÓN (minutos)
5	81646	2,675
10	144551	2,677
20	280733	2,675
40	544336	2,675
100	1332003	2,674
500	6716001	2,675

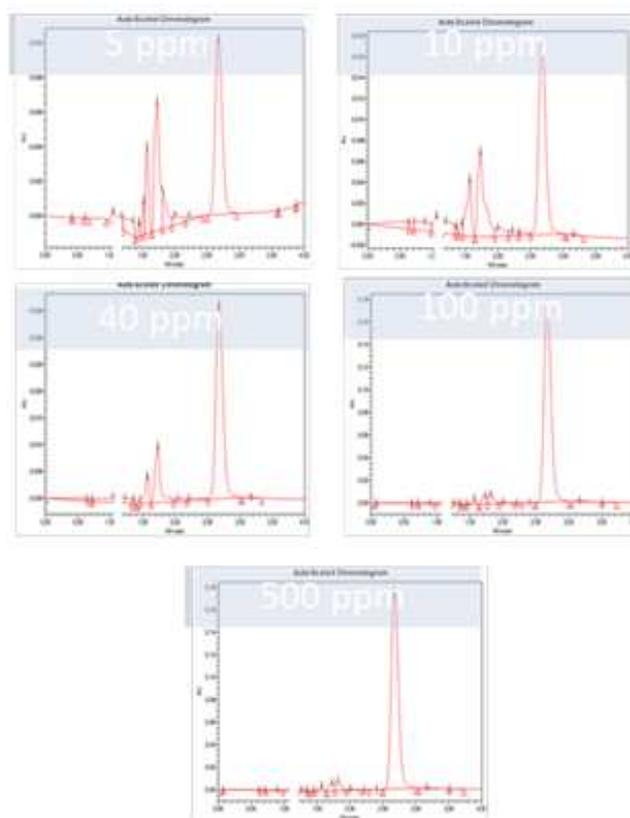


Figura 4. Cromatogramas de los estándares de Capsaicina.

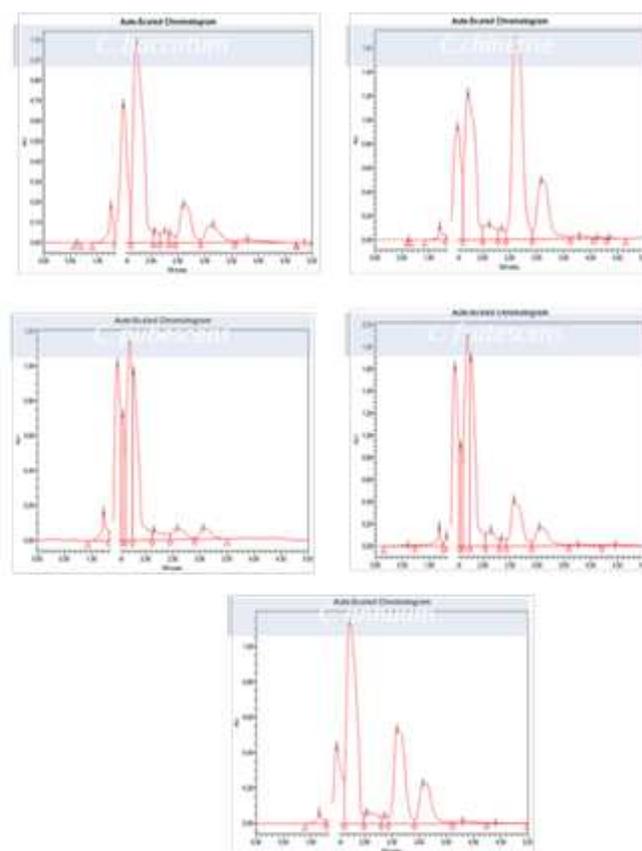


Figura 5. Cromatogramas de las muestras de las cinco especies de *Capsicum*.

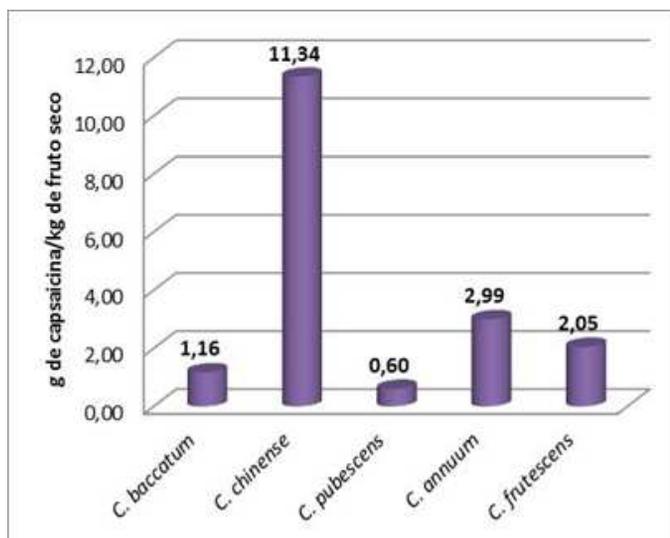


Figura 6. Concentración de Capsaicina (g/kg) en frutos secos de *Capsicum* spp.

La concentración de Capsaicina fue de 0,60-11,34 g/kg de fruto seco en las cinco especies de *Capsicum* (Figura 6), siendo *Capsicum chinense* la de mayor concentración 11,34 g/kg de fruto seco sobrepasando contenidos reportados de 7,27 g/kg y 8,47 g/kg de fruto seco en habaneros naranja Cisneros *et al.* (2007).

Considerando a su vez el porcentaje promedio de Capsaicina a partir del análisis de la oleorresina, éste fue en *Capsicum baccatum* 0,12 %; en *C. chinense* 1,13 %; en *C. pubescens* 0,06 %; en *C. annuum* 0,3 % y en *C. frutescens* 0,2 %.

3.6 Determinación del nivel de pungencia en Unidades Scoville (SHU)

El nivel del pungencia es un parámetro de calidad en los frutos de *Capsicum* spp. En la Tabla 11 se puede apreciar la correspondencia entre la concentración de Capsaicina (en ppm) y las unidades Scoville para cada especie analizada.

Las concentraciones de Capsaicina en las cinco especies estudiadas deben ser consideradas como una medida del grado de picor de cada especie, encontrándose *Capsicum baccatum* y *C. pubescens* en un grado de picor medio (5000-20000 SHU); *C. annuum*

y *C. frutescens* mostraron niveles de picor elevado; destacándose, por sobre todos, *C. chinense* superando las 170 000 SHU.

3.7 Determinación diferencial del contenido de Capsaicina

En la Tabla 12 se pueden observar los valores del contenido de Capsaicina de las nueve muestras analizadas en las cinco especies de *Capsicum*.

El estadístico *F* producto de la comparación de los valores de Capsaicina entre especies fue de 1053, con un *p* asociado $\ll 0,05$. Con lo cual se logró determinar que existe al menos una especie de *Capsicum* que presenta una concentración de Capsaicina diferente a la de las demás especies.

Buscando determinar cuál especie es la que posee tal concentración diferente, el Test a posteriori de Tukey permitió determinar que la concentración de Capsaicina de TODAS las especies comparadas es diferente entre sí, perteneciendo cada especie a un grupo estadístico significativamente diferente; corroborando además, el orden en torno al cual *Capsicum chinense* es la especie con mayor contenido de Capsaicina, seguida de *C. annuum*, *C. frutescens*, *C. baccatum* y *C. pubescens*, respectivamente.

Tabla 11. Concentración de Capsaicina en Unidades ppm y en Unidades Scoville (SHU) para los frutos de las cinco especies del estudio.

ESPECIE	CONCENTRACION (ppm)	SHU
<i>Capsicum baccatum</i>	1164,69	17470,40
<i>Capsicum chinense</i>	11339,94	170099,05
<i>Capsicum pubescens</i>	600,27	9004,09
<i>Capsicum annuum</i>	2992,01	44880,14
<i>Capsicum frutescens</i>	2046,66	30699,90

Tabla 12. Concentración de Capsaicina (mg/kg) en las cinco especies de *Capsicum*.

Muestra	<i>Capsicum baccatum</i>	<i>Capsicum chinense</i>	<i>Capsicum pubescens</i>	<i>Capsicum annuum</i>	<i>Capsicum frutescens</i>
1	963,77	12074,00	647,35	2930,57	2434,26
2	898,11	12180,82	635,11	2672,00	2633,75
3	827,13	12473,44	638,23	2741,70	2662,55
4	1451,96	11252,30	532,85	2887,29	1530,74
5	1454,66	10541,88	546,07	2931,83	1574,88
6	1409,02	11014,15	545,00	2942,74	1558,16
7	1211,56	10796,81	633,86	3259,18	1779,65
8	1121,02	10888,52	627,85	3289,16	2214,94
9	1145,01	10837,52	596,13	3273,61	2031,01
Sumatoria	10482,24	102059,43	5402,46	26928,08	18419,94
Media	1164,69	11339,94	600,27	2992,01	2046,66
Desviación Estándar	238,79	709,99	46,52	230,44	461,18

3.8 Análisis Multivariado

En el dendrograma resultante (Figura 7) queda reflejada la formación de dos conglomerados bien definidos: el primero conformado por *C. annuum*, *C. frutescens* y *C. baccatum*, debido a sus formas, tamaños, colores y contenidos medios de Capsaicina similares; el segundo grupo formado por *C. chinense* y *C. pubescens*, los cuales muestran características tanto químicas como morfológicas parecidas, principalmente en cuanto a forma y color del fruto, así como en cuanto al tamaño de la planta.

En cuanto al plano de ordenamiento generado (Figura 8) a través del Análisis de Componentes Principales (ACP) muestra como *C. annuum*, *C. frutescens* y *C. baccatum* (sector izquierdo del plano) tienen contenidos de cenizas totales elevados, colores de frutos rojos a rojos brillantes, a la vez tienen valo-

res bajos de humedad en el fruto, concentración de Capsaicina, rendimiento de la oleoresina, frutos de poca longitud y peso, plantas más bien bajas y de poco follaje.

Lo contrario sucede con *C. chinense* y *C. pubescens* (sector derecho del plano), las cuales muestran mayor concentración de Capsaicina, con frutos más largos y pesados, con mayor firmeza y humedad, con pocas cenizas totales, con plantas más altas y de mayor follaje.

Finalmente, cabe destacar también que *C. chinense* es la especie que más concentración de Capsaicina presenta, muy por encima de las otras, lo cual la coloca en el plano de ordenamiento fuertemente correlacionada con esta variable (sector superior derecho del plano).

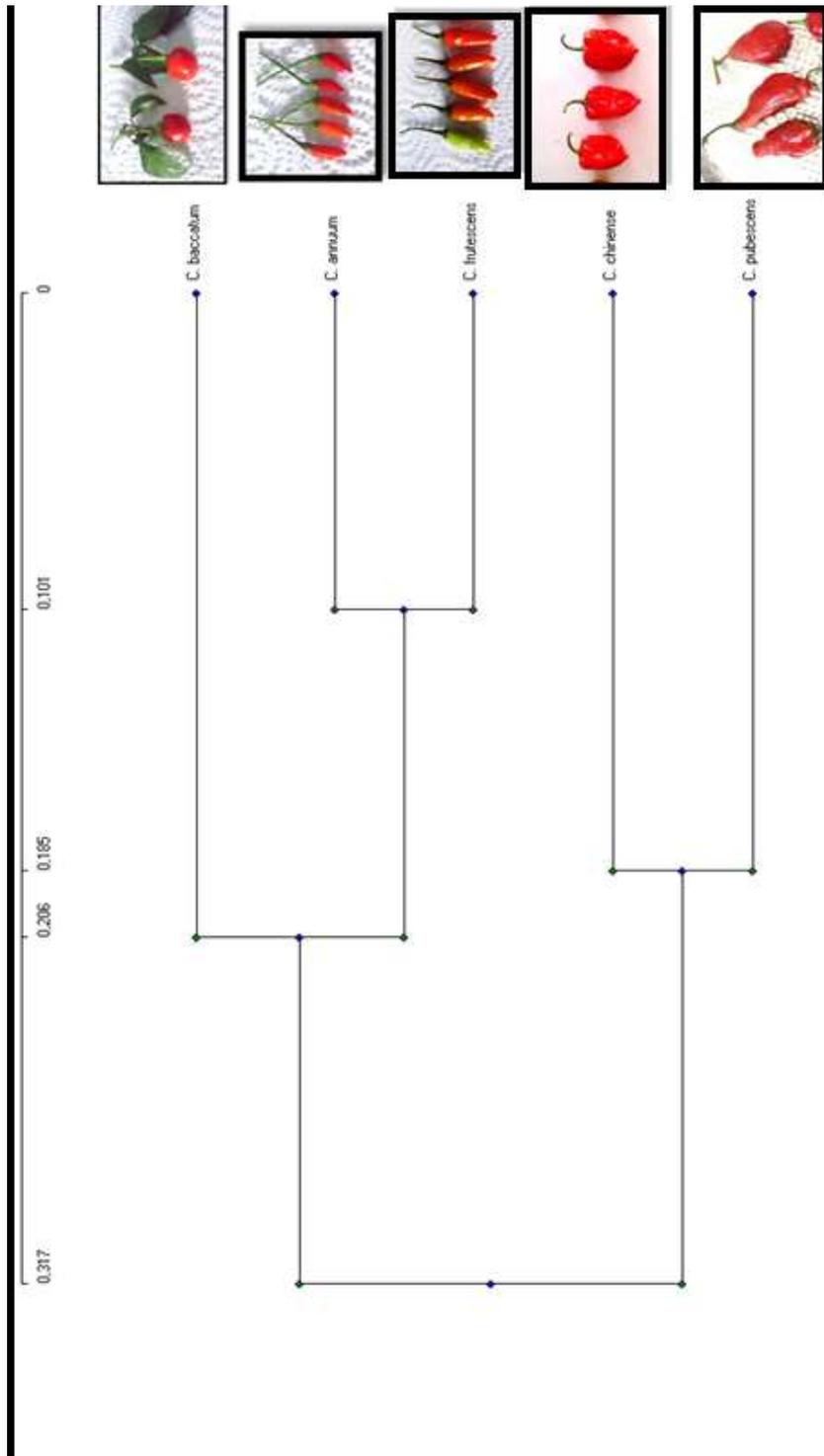


Figura 7. Dendrograma que muestra la similitud entre las cinco especies de *Capsicum* estudiadas; de tipo Aglomerativo, basado en el Método de la Unión Promedio y utilizando como medidas de disimilitud Distancias Euclidianas.

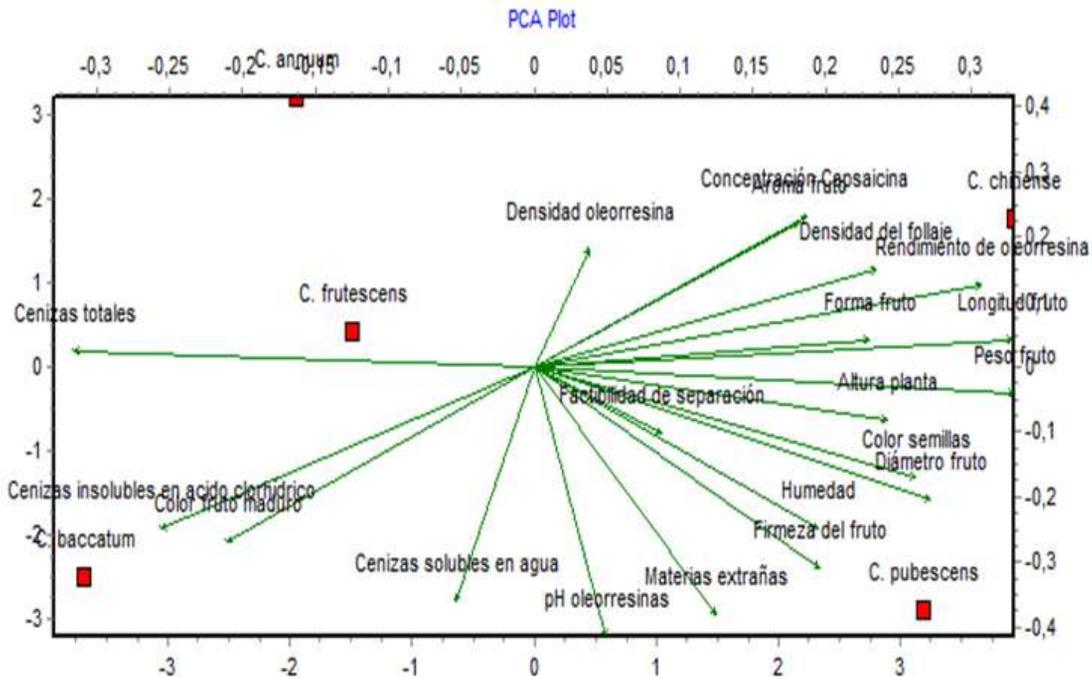


Figura 8. Plano de ordenamiento para cinco especies de *Capsicum* en relación a variables morfológicas y de la oleoresina de sus frutos; generado por un Análisis de Componentes Principales, basado en una Matriz de Correlación. La varianza observada por los ejes fue: en F1 (eje horizontal) 41 %, en F2 (eje vertical) 35 %.

4. Conclusiones

Los frutos de *Capsicum chinense* mostraron la mayor concentración de Capsaicina de entre las cinco especies estudiadas. El contenido promedio de Capsaicina en esta especie fue de 11,34 g/kg de fruto seco. En contraste, *C. pubescens* tuvo solo un contenido de 0,60 g/kg. Estos resultados son similares a lo propuesto por Núñez *et al.* (2003), quienes además señalan que el contenido de Capsaicina varía directamente con la temperatura ambiental de la zona de cultivo: los ejemplares de *C. chinense* del presente estudio provienen de sectores con temperaturas promedio de alrededor de 28°C, en tanto que los de *C. pubescens* se cultivan en zonas con promedios de temperatura menores (18-20°C).

En cuanto a la escala de pungencia de Scoville los resultados obtenidos señalan valores intermedios de unidades Scoville, similares a lo reportado en otros estudios para especies de ajíes afines a las analizadas; por ejemplo, *Capsicum chinense* presenta 170000 SHU en el presente estudio, mientras que

en otros reportes se señala que esta especie alcanza entre 100000-350000 SHU (Peralta, 2007).

Los resultados muestran que el método seguido para la extracción de la oleoresina ofrece una adecuada precisión; a pesar de ello, el contenido de Capsaicina, manifiesto en el área bajo la curva del cromatograma, tiene cierta variabilidad. Las causas de esta variación podrían deberse a que las muestras obtenidas para la extracción de la oleoresina provienen de plantas de edad no bien determinada, quizá muy variable, e igualmente provienen de frutos maduros, pero cuyo grado de maduración no pudo ser establecido/controlado; estos son factores determinantes en la biosíntesis de Capsaicina, como lo indican investigadores como Núñez *et al.* (2003).

Los resultados del análisis proximal para las cinco especies bajo estudio denotan en general concordancia con la información bibliográfica disponible, a excepción del contenido de humedad en *Capsicum pubescens* cuyo valor (14 %) sobrepasa el límite superior (8 %) establecido en la norma NTE INEN 2532 (2010) para condimentos y especies.

El conocimiento del contenido de Capsaicina de las especies bajo estudio indica que *Capsicum chinense*, conocido como ají habanero, es una especie con alto valor para la industria de los alimentos, especialmente en la elaboración de salsas y condimentos picantes. Además debido a su alto rendimiento es potencialmente interesante su utilización como materia prima para la extracción y purificación de Capsaicina utilizada con fines investigativos y/o aplicaciones farmacéuticas.

5. Recomendaciones

Resulta importante la realización de futuras investigaciones sobre las especies de *Capsicum* presentes en el país, principalmente sobre la concentración y rendimiento de oleoresina en los frutos maduros de diferentes poblaciones y cultivares, de diferentes condiciones ambientales y aplicando métodos comprobados de extracción y cuantificación.

Particularmente, un caso interesante de abordar sería el estudio de *Capsicum pubescens* buscando determinar la composición exacta de la oleoresina, dado que hay un alto rendimiento de la misma, pero con un bajo contenido de Capsaicina. El comportamiento de solubilidad de la oleoresina de esta especie así como el tamizaje fitoquímico y el análisis TLC hace presumir la existencia de otros componentes mayoritarios que podrían ser de interés farmacéutico o industrial.

Para estudios más rigurosos sobre la composición fitoquímica de los frutos de estas especies, es importante contar con un diseño experimental que tome en cuenta de manera controlada variables como la edad de las plantas, procedencia, tipo de suelo, temperatura ambiental del sitio y otros factores que pudieran estar afectando a la biosíntesis de metabolitos secundarios, en particular de los capsaicinoides.

En cuanto a las cinco especies analizadas, se podría complementar lo que conocemos de ellas efectuando otras investigaciones que evalúen el contenido de otros capsaicinoides, por ejemplo dihidro-capsaicina y homodihidro-capsaicina, reportados por González *et al.* (2013) que poseen igualmente un alto valor comercial por sus potenciales aplicaciones en el campo médico.

Igualmente, y tomando en cuenta la información

ya generada sobre el género *Capsicum* y la Capsaicina, se recomienda continuar con investigaciones que busquen impulsar, en nuestro país, el aprovechamiento del prometedor potencial terapéutico de la Capsaicina y otros compuestos similares.

Referencias

- Anónimo. 2014. **Escala scoville de pimientos picantes (537 variedades)**. URL <http://www.pimientospicantes.com/scoville/>.
- Athanasidou, A., P. Smith, S. Vakilpour, N. Kumaran, A. Turner y D. Bagiokou. 2007. **Vanilloid receptor agonists and antagonists are mitochondrial inhibitors: How vanilloids cause non-vanilloid receptor mediated cell death**. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 364: 50–55.
- Batchelor, J. y B. Jones. 2000. **Determination of the scoville heat value for hot sauces and chilies: An hplc experiment**. *Journal of Chemical Education*, 2(77): 266–267.
- Bruneton, J. 2001. **Farmacognosia: Fitoquímica, Plantas Medicinales**. Acribia S.A., Zaragoza, 2 edición.
- Chávez, J., J. Tuxill y D. Jarvis. 2004. **Manejo de la diversidad de los cultivos en los agrosistemas tradicionales**. Instituto Internacional de Recursos Fitogenéticos, Cali.
- Cisneros, O., L. Torres, L. Gutiérrez, F. Contreras, T. González y S. Peraza. 2007. **Capsaicinoids quantification in chili peppers cultivated in the state of yucatan, mexico**. *Food Chem*, 104: 1755–1760.
- de Investigaciones Agropecuarias, I. I. N. A. 2008. **Estado de los Recursos Fitogenéticos para la agricultura y la alimentación**. INIAP, Quito.
- de Normalización, I. S. E. 1984. **Norma Técnica NTE INEN 1117. Determinación de cenizas totales en el café soluble**. INEN, Quito.
- de Normalización, I. S. E. 2010. **Norma Técnica NTE INEN 2532. Requisitos para Especies y Condimentos**. INEN, Quito.

- González, A., E. Sierra, G. Luna, R. Pérez, J. Rodríguez y J. García. 2013. **Characterization of different capsicum varieties by evaluation of their capsaicinoids content by high performance liquid chromatography, determination of pungency and effect of high temperature.** *Molecules*, 18: 13471–13486.
- Harris, D. 2007. **Quantitative chemical analysis.** W. H. Freeman, New York, 7 edición.
- International, A. 1998. **Capsaicinoids in capsicums and their extractives. liquid chromatographic method.** *Official Methods of Analysis of AOAC International*, 2(43): 13–15.
- IPGRI-AVRDC-CATIE. 1995. **Descriptores para Capsicum (Capsicum spp.).** Instituto Internacional de Recursos Fitogenéticos, Roma, Italia; Centro Asiático para el Desarrollo y la Investigación relativos a los Vegetales, Taipei, Taiwán y Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza, Turrialba, Costa Rica.
- Joo, J., D. Kim, J. Choi y J. Yun. 2010. **Proteomic analysis for antiobesity potential of capsaicin on white adipose tissue in rats.** *PubMed*, 9(6): 2977–2987.
- López, E. 2012. **Biochemistry2013. esperanza sobre el fin del dolor.** URL (<http://biochemistry2013.wordpress.com>).
- Miranda, M. 2002. **Métodos de análisis de drogas y extractos.** Universidad de la Habana, Instituto de Farmacia y Alimentos, Habana.
- Muriel, C. 2007. **Dolor crónico.** Arán, España.
- Navarro, F. y J. Costa. 2000. **La oleoresina del pimentón.** Secretariado de Publicaciones, Murcia.
- Núñez, F., R. Gil y J. Costa. 2003. **Cultivo de pimientos, chiles y ajíes.** Mundi-Prensa, Madrid.
- Peralta, G. 2007. **Determinación del nivel de pungencia en Unidades Scoville para Capsicum annum var. aviculare procedente de Regiones Productoras de Guatemala.** Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala.
- Perry, L., R. Dickau, S. Zarrillo, I. Holst, D. Pearsall y M. Berman. 2007. **Starch fossils and the domestication and dispersal of chili peppers (capsicum spp. l.) in the americas.** *Science*, pp. 986–988.
- Sein, G., C. Gardinali, E. Mandrile y L. Cafferata. 1998. **Cuantificación de capsaicinoides en capsicum chacoense a.t. hunziker (solanaceae).** *Acta Farmacéutica Bonaerense*, 17: 5–10.
- Skoog, D., F. Holler y S. Crouch. 2007. **Principles of instrumental analysis.** Brooks Cole, Australia, 6 edición.
- Trease, G. 1998. **Farmacognosia.** McGraw-Hill, Madrid.
- Waizel, J. y R. Camacho. 2011. **El género capsicum spp.** *Aleph Zero*, 60: 67–79.
- Yeager, S. 2002. **La guía médica de remedios alimenticios.** Rodale, EEUU.