



UNIVERSIDAD DE SONORA

DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD
DEPARTAMENTO DE INVESTIGACIONES
CIENTÍFICAS Y TECNOLÓGICAS

POSGRADO EN BIOCENCIAS

CONTENIDO DE COMPUESTOS FITOQUÍMICOS Y SU RELACIÓN CON LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE EXTRACTOS DE PIMIENTOS (*Capsicum annum* L.) CULTIVADOS EN EL NOROESTE DE MÉXICO

T E S I S

para obtener el grado de

MAESTRO EN BIOCENCIAS

presenta:

DULCE MARÍA ANDREA MOLINA QUIJADA

Hermosillo, Sonora.

Diciembre de 2009.

Universidad de Sonora

Repositorio Institucional UNISON



**"El saber de mis hijos
hará mi grandeza"**



Excepto si se señala otra cosa, la licencia del ítem se describe como openAccess

Contenido de Compuestos Fitoquímicos y su Relación con la Capacidad
Antioxidante de Extractos de Pimientos (*Capsicum annuum* L.) Cultivados en
el Noroeste de México

T E S I S

para obtener el grado de

MAESTRO EN BIOCENCIAS

presenta:

DULCE MARÍA ANDREA MOLINA QUIJADA

Hermosillo, Sonora

Diciembre de 2009.

APROBACIÓN

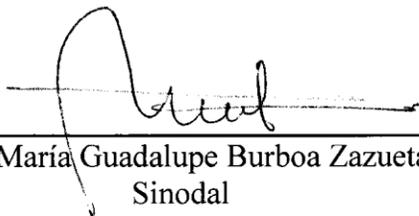
Los miembros del Comité designado para revisar la tesis intitulada Contenido de Compuestos Fitoquímicos y su Relación con la Capacidad Antioxidante de Extractos de Pimientos (*Capsicum annuum* L.) Cultivados en el Noroeste de México presentada por I.Q. Dulce María Andrea Molina Quijada, la han encontrado satisfactoria y recomiendan que sea aceptada como requisito parcial para obtener el grado de Maestro en Biociencias.



Dra. Nohemí Gámez Meza
Asesor



Dr. Luis Angel Medina Juárez
Sinodal



Dra. María Guadalupe Burboa Zazueta
Sinodal



Dr. Gustavo A. González Aguilar
Sinodal

DEDICATORIA

Para mis Padres y Familia, porque me dieron todo lo que soy.

LOS AMO...

*Gracias a DIOS y a las uvas,
que me han dado la posibilidad de cumplir más metas de las que se me
habían propuesto...*

AGRADECIMIENTOS

A DIOS

Gracias por darme la fuerza para cumplir esta tarea que tal vez no muy decidida elegí, pero que al final es un gran logro verla finalizada; y aun más por bendecirme con unos Padres y una Familia maravillosa.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, a la Universidad de Sonora, y al Posgrado en Biociencias, por darme su apoyo y la formación que me dedicaron.

Al Departamento de Investigaciones Científicas y Tecnológicas de la Universidad de Sonora y al Laboratorio de Vegetales del CIAD A.C., por la colaboración para el desarrollo de esta investigación.

A mi Directora de Tesis, Dra. Nohemí Gámez Meza por ser un ejemplo a seguir; por su dedicación y apoyo para lograr la culminación de este trabajo, y por creer en mí al proponerme objetivos que con esfuerzo y trabajo se han cumplido al menos mis expectativas.

A mis Sinodales, Dra. María Guadalupe Burboa Zazueta, Dr. Gustavo Adolfo González Aguilar y al Dr. Luis Ángel Medina Juárez; por sus enseñanzas, apoyo incondicional para conmigo.

A mis Amigas, Dra. Lizeth Del Toro y L.A.E. Cecilia Piri Alcaraz; por brindarme su amistad y por ser una gran ayuda para impulsar este trabajo.

A mi Madre por ser mi mejor equipo de trabajo

&

A mi Padre por darme las herramientas para finalizar.

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE	vi
ÍNDICE DE FIGURAS	ix
ÍNDICE DE TABLAS	xi
RESUMEN	xii
ABSTRACT	xiii
INTRODUCCIÓN	1
I. ANTECEDENTES BIBLIOGRÁFICOS	4
1.1. Generalidades de la Planta de Chile (<i>Capsicum annuum</i>)	4
1.1.1. Producción de chile en el mundo	5
1.1.2. Producción de chile en México y Sonora	6
1.1.3. Comercialización	7
1.2. Cultivares de Chiles (<i>Capsicum annuum</i> L.)	8
1.2.1. Chile Anaheim	8
1.2.2. Chile Bell	11
1.2.3. Chile Caribe	11
1.2.4. Chile Jalapeño	12
1.2.5. Chile Serrano	12
1.3. El Chile como Fuente de Compuestos Bioactivos	13
1.3.1. Compuestos fenólicos	13
1.3.2. Flavonoides	14
1.3.3. Capsaicinoides	16
1.3.3.1. Biosíntesis de los capsaicinoides	17
1.3.3.2. Usos de los capsaicinoides	22
1.3.4. Carotenoides	23
1.3.5. Tocoferoles	27

1.3.6.	Capacidad antioxidante de fitoquímicos del chile	28
II.	HIPÓTESIS	30
III.	OBJETIVOS	31
3.1.	Objetivo General	31
3.2.	Objetivos Particulares	31
IV.	MATERIALES Y MÉTODOS	32
4.1.	Materia Prima	32
4.2.	Preparación de las Muestras de Chile	32
4.3.	Extracción de Compuestos Fenólicos	32
4.4.	Cuantificación de Fenoles Totales	34
4.5.	Cuantificación de Flavonoides Totales	34
4.6.	Identificación de Compuestos Fenólicos por HPLC	36
4.7.	Evaluación de la Capacidad Antioxidante	38
4.7.1.	Capacidad antioxidante equivalente a Trolox (TEAC)	38
4.7.2.	Capacidad antioxidante por método DPPH [•]	39
4.8.	Determinación de la Inhibición de la Oxidación de Colesterol	42
4.9.	Extracción de Capsaicinoides	42
4.10.	Cuantificación de Capsaicinoides por HPLC	44
4.11.	Extracción de Carotenoides	44
4.12.	Cuantificación de Carotenoides por HPLC	46
4.13.	Extracción de Tocoferoles	46
4.14.	Cuantificación de Tocoferoles por HPLC	47
4.15.	Análisis estadístico	47
V.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	50
5.1.	Cuantificación de Fenoles Totales	50
5.2.	Cuantificación de Flavonoides Totales	52
5.3.	Identificación de Compuestos Fenólicos por HPLC	54
5.4.	Capacidad Antioxidante Equivalente a Trolox (TEAC)	58
5.5.	Capacidad Antioxidante por método DPPH [•]	60
5.6.	Determinación de la Inhibición de la Oxidación de Colesterol por HPLC	62

5.7.	Cuantificación de Capsaicinoides por HPLC	64
5.8.	Análisis de Carotenoides por HPLC	67
5.9.	Cuantificación de Tocoferoles por HPLC	70
VI.	CONCLUSIONES	73
VII.	RECOMENDACIONES	75
VIII.	REFERENCIAS	76

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA		PAGINA
1	(A) Planta de chile (<i>Capsicum annuum</i> L), (B) floración y (C) fruto.	9
2	Chiles (<i>Capsicum annuum</i> L.) de los cultivares de estudio: (A) Anaheim, (B) Bell, (C) Caribe, (D) Jalapeño y (E) Serrano.	10
3	Principales flavonoides presentes en el Chile (<i>C. annuum</i> L.).	15
4	Biosíntesis de la capsaicina.	20
5	Diagrama de extracción de los compuestos fenólicos del pericarpio de chile (<i>C. annuum</i> L.).	33
6	Diagrama de cuantificación de fenoles totales del pericarpio de chile (<i>C. annuum</i> L.).	35
7	Diagrama de cuantificación de flavonoides totales del pericarpio de chile (<i>C. annuum</i> L.).	37
8	Diagrama de cuantificación de la capacidad antioxidante del pericarpio de chile (<i>C. annuum</i> L.) por medio del catión radical ABTS ^{•+} .	40
9	Diagrama de cuantificación de la capacidad antioxidante del pericarpio de chile (<i>C. annuum</i> L.) por medio del radical libre DPPH [•] .	41
10	Diagrama de extracción de capsaicinoides del pericarpio liofilizado de chile (<i>C. annuum</i> L.).	43
11	Diagrama de extracción de carotenoides del pericarpio de chile (<i>C. annuum</i> L.).	45

12	Diagrama de extracción de tocoferoles del pericarpio de chile (<i>C. annuum</i> L.).	48
13	Contenido de fenoles totales de extractos de chile (<i>C. annuum</i> L.).	51
14	Contenido de flavonoides totales.	53
15	Cromatograma de los principales compuestos fenólicos identificados en el extracto del pericarpio del cultivar de chile (<i>C. annuum</i> L.) Caribe.	56
16	Capacidad antioxidante inmediata (1 min) medida en milimoles equivalentes trolox por gramo de peso fresco (mmoles ET/ g pf) para los extractos fenólicos del pericarpio de chile (<i>C. annuum</i> L.).	59
17	Capacidad antioxidante medida en porcentaje de inhibición del radical DPPH [•] (Radical Scavening Activity, RSA) para los extractos fenólicos del pericarpio de chile (<i>C. annuum</i> L.).	61
18	Inhibición de la oxidación de colesterol de los extractos de chile (<i>C. annuum</i> L.), tocoferol y BHA.	63
19	Cromatograma de los capsaicinoides en el extracto del pericarpio del cultivar de chile (<i>C. annuum</i> L.) Bell.	66
20	Cromatograma de los principales carotenoides y clorofilas identificados en el extracto del pericarpio del cultivar de chile (<i>C. annuum</i> L.) Anaheim.	69
21	Cromatograma de los principales tocoferoles identificados en el extracto del pericarpio del cultivar de chile (<i>C. annuum</i> L.) Anaheim.	72

INDICE DE TABLAS

TABLA		PAGINA
1	División de las zonas productoras en México.	7
2	Contenido de flavonoides en <i>Capsicum annuum</i> µg/g de pericarpio de chile fresco.	16
3	Principales capsaicinoides encontrados en <i>Capsicum</i> spp.	18
4	Contenido de capsaicinoides en <i>Capsicum annuum</i> ppm de pericarpio de chile seco.	18
5	Principales estructuras de carotenos y xantofilas presentes en el pericarpio de chile.	24
6	Rampa de elusión para la identificación de carotenoides.	46
7	Principales compuestos fenólicos identificados en extractos de chile (mg/100g peso fresco).	55
8	Contenido de capsaicinoides identificados en los extractos de chile (<i>C. annuum</i> L.) expresados en µg/g peso seco.	68
9	Contenido de carotenoides y clorofilas identificados en los extractos de chile (<i>C. annuum</i> L.) expresados en µg/g peso seco.	70
10	Contenido de tocoferoles presentes en los extractos de chile (<i>C. annuum</i> L.).	71

RESUMEN

Los compuestos fenólicos, tocoferoles y carotenoides son un grupo de metabolitos secundarios sintetizados por las plantas como resultado de la adaptación a condiciones de estrés. Estos compuestos han mostrado ser antioxidantes potenciales para proteger las células del ataque de los radicales libres asociados con la oxidación. Estudios recientes han considerado que el chile (*Capsicum annuum* L.) pueden ser una fuente importante de compuestos. Por lo tanto, en el presente estudio se propuso como objetivo, generar información sobre el contenido de tocoferoles, carotenoides, capsaicinoides, así como las propiedades antioxidantes de los extractos fenólicos del pericarpio de cinco cultivares de chile (Anaheim, Bell, Caribe, Jalapeño y Serrano), cultivados en el Noroeste del país. Se cuantificaron fenoles y flavonoides y se evaluó la capacidad antioxidante de los extractos fenólicos de los cinco cultivares de chile por el método de quelación de los radicales libres 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH[•]) Y 2,2-azino-bis (3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico) (ABTS^{•+}); además se evaluó la capacidad de dichos extractos para inhibir la oxidación de colesterol. También, se identificaron por HPLC los principales compuestos fenólicos, capsaicinoides, carotenoides y tocoferoles presentes en los cinco cultivares de chile. Los resultados mostraron un intervalo en el contenido de fenoles entre 159.23 ± 2.00 y 320.54 ± 26.67 mg/100 g, para Jalapeño y Caribe, respectivamente. Los niveles de flavonoides totales se encontraron entre 25.38 ± 3.44 y 60.36 ± 9.94 mg/100 g, encontrándose el nivel más alto en el extracto de Caribe. Los extractos fenólicos de Bell y Caribe fueron los que mostraron la estabilización más alta de los radicales libres ABTS^{•+} y DPPH[•]; siendo estos los que presentaron los niveles más altos en ácido cafeico, ácido clorogénico, catequina, epicatequina, resveratrol, luteolina y α -tocoferol. Por otro lado, se encontraron diferencias significativas en los niveles de capsaicina de los extractos de los cultivares de chile (Jalapeño>Caribe>Serrano>Anaheim>Bell); sin embargo, la concentración mayor de dihidrocapsaicina se encontró en Bell ($132.88 \pm 13.75 \mu\text{g/g}$). La dihidrocapsaicina, no fue detectada en los extractos de Anaheim y Caribe. El contenido de carotenoides y clorofilas (a y b) presentes en los extractos de los cultivares de chile fue mayor en el extracto de Serrano. El contenido menor de tocoferoles y carotenoides lo presentó el extracto de Jalapeño. Los extractos fenólicos, de los cinco cultivares de chile evaluados en el presente estudio, mostraron una inhibición de la oxidación de colesterol similar a la presentada por antioxidante natural (tocoferol). Por lo tanto, los resultados mostraron que los chiles estudiados tienen un potencial como fuente de antioxidantes naturales.

ABSTRACT

Phenolic compounds, tocopherols and carotenoids are a group of secondary metabolites synthesized by plants as a result of adaptation to stress conditions. These compounds have shown potential as antioxidants to protect cells from attack by free radicals associated with oxidation. Recent studies have found that the pepper (*Capsicum annuum* L.) may be an important source of compounds. Therefore, this study proposed a target, generating information on the content of tocopherols, carotenoids, capsaicinoids and the antioxidant properties of phenolic extracts from the pericarp of five cultivars of pepper (Anaheim, Bell, Caribe, Jalapeno and Serrano), grown in the Northwest. Phenols and flavonoids were quantified and evaluated the antioxidant capacity of phenolic extracts of five cultivars of chili by the method of chelation of free radical 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH[•]) and 2,2-azino - bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS^{•+}), also evaluated the ability of these extracts to inhibit the oxidation of cholesterol. Also, were identified by HPLC the main phenolic compounds, capsaicinoids, carotenoids and tocopherols present in the five cultivars of chili. The results showed a range in phenol content between 2.00 and $320.54 \pm 159.23 \pm 26.67$ mg/100 g, for Jalapeno and Caribbean, respectively. The levels of total flavonoids were between 25.38 ± 3.44 and 60.36 ± 9.94 mg/100 g, being the highest in the Caribbean extract. Phenolic extracts of Bell and the Caribbean were the highest stabilization showed free radical ABTS^{•+} and DPPH[•], and these were submitted by the highest levels of caffeic acid, chlorogenic acid, catechin, epicatechin, resveratrol, luteolin and α -tocopherol. Moreover, significant differences in the levels of capsaicin extracts of the cultivars of pepper (Jalapeno>Caribe>Serrano>Anaheim>Bell), but higher concentration was found in Bell dihydrocapsaicin (132.88 ± 13.75 μ g / g). The dihydrocapsaicin, was not detected in extracts of Anaheim and the Caribe. The content of carotenoids and chlorophylls (a and b) present in extracts of pepper cultivars was higher in the extract of Serrano. The lower content of tocopherols and carotenoids is presented Jalapeno extract. Phenolic extracts of the five pepper cultivars evaluated in this study showed an inhibition of cholesterol oxidation similar to that presented by natural antioxidant (tocopherol). Therefore, the results showed that the peppers are studied as a potential source of natural antioxidants.

INTRODUCCIÓN

Los alimentos vegetales tienen un contenido amplio de nutrientes y fitoquímicos con una variedad de estructuras químicas que pueden ofrecer efectos biológicos diferentes al organismo humano. Estudios epidemiológicos han encontrado una asociación inversa entre el consumo de frutas, vegetales y granos y el riesgo de enfermedades cardiovasculares y cáncer (Matsufuji *et al.*, 1998; Ferrari *et al.*, 2003; Ilow *et al.*, 2008).

Anteriormente, se creía que la protección contra diferentes enfermedades era atribuida solamente al contenido de vitamina C, E y carotenoides en los alimentos vegetales (Vinson *et al.*, 1998). Sin embargo, estudios clínicos han demostrado que el suministro de estos compuestos a sujetos con diferentes padecimientos no reducen lo suficiente la incidencia de enfermedades del corazón, daño cerebral y el riesgo de trombosis (Vinson *et al.*, 2001). A partir de entonces se encontró que los compuestos polifenólicos son sustancias que también poseen actividad antioxidante. Hoy se conoce que los fenoles son los fitoquímicos que contribuyen en mayor proporción a la capacidad antioxidante de frutas, hortalizas y granos (Heo *et al.*, 2007). Por lo tanto, la disponibilidad de información sobre la composición de los fitoquímicos en los alimentos es crucial.

Los fitoquímicos son sustancias biológicamente activas, que se encuentran en los alimentos de origen vegetal, confiriéndoles color, aroma y sabor. No son nutrientes esenciales para la vida como los nutrimentos, pero tienen efectos positivos en la salud. En los últimos años, se han considerado elementos importantes en la dieta humana, ya que se ha comprobado su acción

como: anticancerígenos, ya que actúan en la detoxificación de drogas, toxinas, carcinógenos y mutágenos (como bloqueadores y supresores), neutralizan radicales libres, inhiben enzimas que activan carcinógenos e inducen a enzimas detoxificadoras de los mismos; protectores contra enfermedades cardiovasculares, debido a que evitan la oxidación de lipoproteínas de baja densidad (LDL), reducen la síntesis y utilización de colesterol y afectan la presión sanguínea y coagulación; además de otros beneficios como agentes retardantes del envejecimiento y sus enfermedades asociadas (Lampe, 2003; Dávalos *et al.*, 2006).

Los ejemplos más conocidos como fitoquímicos antioxidantes son los compuestos polifenólicos como: ácidos fenólicos, flavonoides, tocoferoles, terpenoides, fitoestrógenos y fitoesteroles (Burns *et al.*, 2003; Cooper 2004; Sun y Tanumihardjo, 2007). La composición y los niveles de los fitoquímicos con actividad antioxidante en los alimentos individuales no reflejan necesariamente la capacidad antioxidante total (CAT), ya que ésta depende de la interacción sinérgica o inhibitoria de las diferentes moléculas presentes en el alimento. Por lo que es importante evaluar la CAT de cada alimento o vegetal.

En México, los frutos del género *Capsicum* en especial la especie *annuum*, representan una tradición cultural, ya que son uno de los vegetales más importantes utilizados como alimento y especia. Generalmente, en este país y Centroamérica a los pimientos se les conoce como chiles y en Sudamérica y en las islas del Caribe, se les denomina ajíes (Everhart *et al.*, 2002). En el presente trabajo el término pimiento o chile es utilizado para describir el fruto del *Capsicum annuum* L.

A los chiles (pimientos) se les consideran una fuente buena de vitaminas A, C, E y compuestos polifenólicos, conocidos todos ellos como compuestos con propiedades antioxidantes (Sukrasno y Yeoman, 1993; Palevitch *et al.*,

1995; Matsufuji *et al.*, 1998; Krinsky, 2001; Daood *et al* 2006). Además, los cultivares picantes son ricos en capsaicinoides, los cuales son alcaloides con propiedades farmacológicas específicas (Wachtel, 1999; Daood *et al.*, 2006).

En México existen reportes de los niveles de compuestos polifenólicos presentes en el chile *Capsicum*, sin embargo, la relación de éstos con la actividad antioxidante no se ha fundamentado adecuadamente. Así que, es necesario el fraccionamiento de éstos compuestos presentes en el fruto de chile para proceder a la identificación y cuantificación de las clases o grupos de fitoquímicos, así como evaluar su capacidad para inhibir la oxidación lipídica.

Por lo tanto, el objetivo del presente trabajo fue determinar el contenido de compuestos fenólicos, flavonoides, capsaicinoides, carotenoides y tocoferoles presentes en el pericarpio de cinco cultivares de chile del género *Capsicum annum* L, cultivados en el Noroeste de México (Anaheim, Bell, Caribe, Jalapeño y Serrano), así como evaluar la capacidad antioxidante de los compuestos fenólicos presentes en estos chiles.

I. ANTECEDENTES BIBLIOGRÁFICOS

1.1. Generalidades de la Planta de Chile

Según hallazgos de restos de plantas de Chile en la cueva de Coxcatlán, Puebla y en Ocampo, Tamaulipas, es probable que el Chile fuera el primer cultivo domesticado en Mesoamérica (7000-5000 a.C.), (www.conaproch.org).

Gonzalo Fernández de Oviedo, en 1526, realizó la primera descripción detallada del pimiento (Chile) dentro del Sumario de la historia de las Indias. Hunziker (1956), dividió al género en tres secciones, *Pseudoacnistus*, *Tubocapsicum* y *Capsicum*, donde en este último se incluyen 24 especies. Más tarde, Linneo (1753) con un punto de vista más conservador sólo reconoció dos especies *Capsicum annuum* y *C. frutescens* (*Species Plantarum*). Posteriormente, Mantissa (1767) añadió dos especies más *Capsicum baccatum* y *C. grossum* (Nuez *et al.*, 1996).

La taxonomía de la planta de Chile corresponde al filo *magnoliophyta*; clase, *magnoliopsida*; orden *solanales*; familia, *solanaceae*; y género *Capsicum*. La familia *solanaceae*, está formada por unos 90 géneros, los cuales se encuentran divididos en 2 subfamilias: Solanoideae y Cestroideae. La diferencia entre éstas se basa en los diferentes modelos de desarrollo del embrión, además de las diferencias morfológicas, químicas y citogenéticas. Para la primera familia el embrión está enrollado y es de diámetro uniforme. Para la familia Cestrideae, el embrión es recto o ligeramente curvado. *Capsicum* es una de las tribus más grandes de la subfamilia Solanoideae, con 1250 especies, su taxonomía es compleja debido a la variabilidad de las formas existentes en las especies cultivadas y a la diversidad de los criterios

utilizados en su clasificación. El género *Capsicum* en México representa una tradición cultural, ya que es común encontrarlo en la dieta básica diaria de los mexicanos (Nuez *et al.*, 1996).

1.1.1. Producción de chile en el mundo.

A nivel mundial, se cultivan más de 1.4 millones de hectáreas de los diversos tipos de chile verde; obteniéndose más de 15 millones de toneladas de producto. Entre los países productores más importantes destacan China, Turquía, México, Nigeria, España y Estados Unidos, los cuales en conjunto producen el 30% del total (www.conaproch.org).

Una característica importante del mercado global de chile es que los principales países productores no son, a excepción de México y España, los más destacados exportadores, ya que éstos destinan casi la totalidad de su producción al mercado interno. En cambio, como países exportadores sobresalen algunos países industrializados, los cuales a su vez suelen ser importadores importantes de este producto, caracterizándose por darle valor agregado al producto al exportarlo mayormente como producto envasado. España, ocupa el primer lugar por su volumen exportado con más de 250 mil ton, seguido por México (229 mil ton), Holanda (220 mil ton) y EUA (62 mil ton). Mientras que España y Holanda dirigen sus exportaciones hacia la Unión Europea, México orienta sus exportaciones hacia Estados Unidos y Canadá. Por su parte Estados Unidos, dirige sus exportaciones a países latinoamericanos, Europa y Asia (www.conaproch.org).

Los principales países importadores son Alemania, Francia, Estados Unidos y Canadá, quienes representan el 70% del total de las exportaciones. En su mayor parte importan los tipos no picantes o dulces, utilizando parte para consumo y parte para procesarlo antes de exportarlo como producto envasado (Sistema Producto Chile Verde Baja California Sur, 2003).

1.1.2. Producción de chile en México y Sonora

Entre los cultivos hortícolas, el cultivo de chile es el más importante a nivel nacional. Actualmente, se produce chile verde en cada uno de los 32 estados que conforman la República Mexicana. Los principales estados productores son: Chihuahua, Sinaloa, Guanajuato, Zacatecas y Sonora; los cuales en conjunto cultivan el 50% de una superficie total nacional estimada de 120 mil hectáreas; obteniéndose el 60% de la producción nacional.

En el 2002, la media de producción nacional por hectárea fue de 12 ton, siendo el Estado de Chihuahua el de mayor rendimiento promedio con más de 21 ton/ha, seguido por Sonora con 14.4 ton/ha y Sinaloa con 12.4 ton/ha. (Sistema Producto Chile Verde Baja California Sur, 2003). Sin embargo, para el año 2008, el Estado de Sonora incrementó el rendimiento en un 25% (19.35 ton/ha), correspondiendo a una producción de 44,464 toneladas con un valor de 263,241,206.81 pesos (SIACON, 2009).

Geográficamente se puede dividir el país en seis zonas productoras de chile verde (Tabla 1), las cuales difieren entre sí en el tipo de chile que producen y el nivel de tecnología que aplican. En la zona del Golfo (Veracruz y Tamaulipas), se produce mayormente Jalapeños y Serranos; en la zona Sur (Yucatán y Tabasco), se producen Jalapeños, Costeños y Habaneros; en la zona del Bajío (Guanajuato, Jalisco y Michoacán) se producen anchos, Mulatos y Pasillas; en la zona de la mesa central (Puebla e Hidalgo) se especializan en Poblanos, Miahuatecos y Carrillos; en la zona Norte (Chihuahua, Zacatecas) se producen Jalapeños, Mirasol y Anchos; y en la zona Pacífico Norte (Sinaloa, Sonora y Baja California), se especializan en Bell, Anaheim, Jalapeños y Caribes, principalmente para exportación. En cuanto al nivel tecnológico, este es mayor en la zona Pacífico Norte, zona Norte y zona del Bajío. (Sistema Producto Chile Verde Baja California Sur, 2003). Los tipos de chiles de mayor importancia a nivel nacional, por el área dedicada a

su siembra, son Jalapeño, Ancho, Serrano, Bell y Mirasol, los cuales ocupan el 75% del total de área de siembra. Como consecuencia del alto consumo per cápita, el 80% del total producido se destina al mercado interno, el restante, se exporta principalmente en los tipos Bell, Anaheim y Jalapeño. Por otra parte, es importante señalar que el 40% del total nacional se destina a la producción de chiles secos, siendo el chile pasilla el principal producto de este tipo (Sistema Producto Chile Verde Baja California Sur, 2003).

Tabla 1. División de las Zonas Productoras en México.

Zona Productora	Estados	Morfotipo
Golfo	Veracruz y Tamaulipas	Jalapeño y Serrano
Sur	Yucatán y Tabasco	Costeño, Jalapeño y Habanero,
Bajío	Guanajuato, Jalisco y Michoacán	Ancho, Mulato y Pasilla
Mesa Central	Puebla e Hidalgo	Carricillo, Miahuateco y Poblano
Norte	Chihuahua y Zacatecas	Ancho, Jalapeño y Mirasol
Pacífico Norte	Baja California, Sinaloa y Sonora	Anaheim, Bell, Caribe y Jalapeño.

Sistema Producto Chile Verde Baja California Sur, 2003

1.1.3. Comercialización

La mayor parte del chile verde exportado por México se envía a EUA. Las exportaciones ocurren principalmente durante los meses de Noviembre a Mayo, cuando por razones de clima no hay producción en ese país. Además, se cuenta con otros destinos para el chile mexicano como son: Canadá, Alemania, España, Suecia, Japón, Hong Kong y Latinoamérica (Sistema Producto Chile Verde Baja California Sur, 2003).

1.2. Cultivares de Chile

Chile es el nombre común de la planta y su fruto pertenece a la familia de las Solanáceas. La planta de tallo leñoso, forma normalmente un arbusto. Las flores son blancas o verdosas en la mayoría de las variedades, las flores de *Capsicum annuum* son solitarias en cada nudo (ocasionalmente fasciculadas). Pedicelos a menudo pendientes en la antesis, corola blanca lechosa ocasionalmente purpura, sin manchas difusas en la base de los pétalos; éstos de corola usualmente recta (Figura 1).

Sus venas a menudo son prolongadas en dientes cortos y las semillas son de color paja, salvo en el *Capsicum pubescens*, en que tienen un color violáceo. El fruto, técnicamente una baya, varía en coloración y tamaño de acuerdo a la variedad; puede ser cúbico, cónico o esférico (Nuez *et al.*, 1996; www.conaproch.org).

1.2.1. Chile Anaheim.

El chile Anaheim produce frutos de pared gruesa, largos (12-15 cm), de color verde fuerte cuando está en el estado inmaduro y rojo en la madurez (Figura 2). Las plantas son vigorosas y con un alto potencial de rendimiento y de resistencia (<http://www.tecnicosagronomos.com/pages/seminis.html>). Este tipo de chile, también es conocido como “Long Green” o “New Mexican”. Estos cultivares, son originarios de Nuevo México y fueron trasladados a la ciudad de Anaheim, California. Las diferentes condiciones de la tierra han desarrollado numerosos tipos de este cultivar. Cuando se cosechan verdes (inmaduros), el fruto del chile se consume fresco, enlatado o congelado. Si se cosecha en la fase roja (maduro), se consume seco y molido, esta forma se utiliza en salsas (Bosland, 1996).

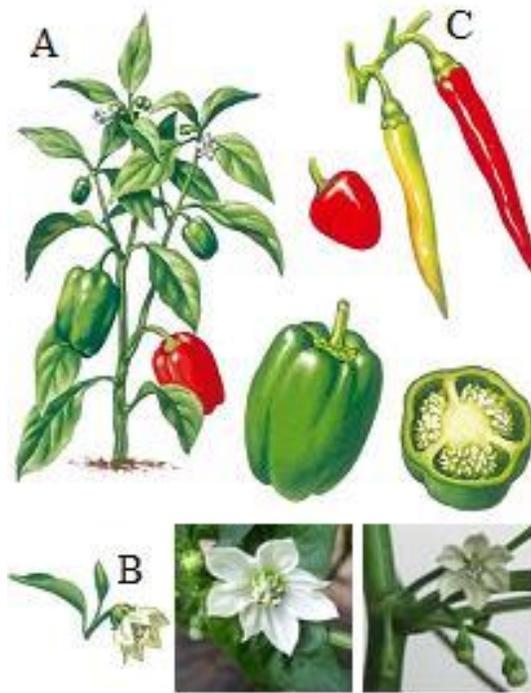


Figura 1. (A) Planta de *Capsicum annuum* L., (B) floración y (C) fruto.

(A) Anaheim



(B) Bell



(C) Caribe



(D) Jalapeño



(E) Serrano



Figura 2. Chiles (*Capsicum annuum* L.) de los cultivares en estudio: (A) Anaheim, (B) Bell, (C) Caribe, (D) Jalapeño y (E) Serrano.

1.2.2. Chile Bell.

El nombre se refiere aparentemente a su forma de campana y no se sabe cuándo se aplicó el nombre; también son llamados comúnmente pimientos o pimientos morrones. Los cultivares de chile campana (Bell) se caracterizan por ser dulces y consumidos como productos frescos y/o enlatados. Son de 6-10 cm de diámetro y 8-10 cm de largo. Se cosechan durante todo el año, preferentemente en los meses de verano. Conforme va avanzando la madurez del fruto, el color puede variar de verde a violeta, naranja, amarillo o rojo y su sabor dulce se va incrementado. Los chiles verdes presentan una vida de anaquel más larga que los amarillos y rojos. Por otro lado, los chiles rojos contienen once veces más β -caroteno que los chiles de color verde (<http://www.fruitsandveggiesmatter.gov/month/bellpepper.html>). El chile Bell, es uno de los cultivares más estudiados y caracterizados por sus compuestos antioxidantes (Kähkönen *et al.*, 1999; Kaur y Kapoor, 2002; Matsufuji *et al.*, 2007; Sun *et al.*, 2007).

1.2.3. Chile Caribe.

A este tipo de chile, en México se le ha llamado "Caribe", "Güerito" o "Güero", esto debido a la piel clara o rubia, aunque en otros lugares del mundo se le conoce como "chile Wax", por su apariencia cerosa (Bosland *et al.*, 1996). El chile Caribe conocido también como Río de Oro, es de color amarillo-verde cuando está en estado inmaduro y va cambiando a naranja, rojo-anaranjado o rojo durante va alcanzando la madurez (Figura 2). Los frutos son generalmente cónicos, o cónico-redondeados y varían de tamaño de 5-7 cm de largo y alrededor de 4 cm de ancho. Estos frutos pueden ser pungentes o no y ser utilizados en fresco, en ensaladas, salsas o en vinagre. La planta es vigorosa precoz y tiene una considerable producción de frutos (<http://www.tecnicosagronomos.com/pages/seminis.html>).

1.2.4. Chile Jalapeño.

Es el chile más popular en América del Norte, su nombre proviene de la ciudad de Xalapa. Según Laborde y Pozo (1984), se siembran alrededor de 15,000 hectáreas en esa región. De acuerdo con las características de la planta y fruto se conocen varios subtipos de jalapeño, dentro de los cuales se puede encontrar: Jalapeño Típico, Candelaria o Peludo, Espinalteco o Pinalteco y Morita (Pozo, 1981; Laborde y Pozo, 1984).

Todos ellos presentan algunos caracteres comunes, como ser frutos carnosos (alrededor de 5 mm) y picantes. Se colectan en estado inmaduro, con un color verde intenso y brillante. Se destina el 60% de la cosecha a la industria de encurtido, mientras que el consumo en fresco es alrededor del 20%. Los chiles en estado maduro son de color rojo intenso y son destinados a la elaboración de chiles chipotle, los cuales se obtienen después del secado y ahumado del fruto. Las plantas del subtipo Típico son frutos cónicos (Figura 2), de aproximadamente 6 cm de largo por cuatro de ancho, de sabor agradable, son los más demandados por la industria de encurtidos, ya que se prefiere que los frutos tengan entre un 30 y un 60 % de porosidad. La porosidad evita que la cutícula del fruto se desprenda durante el proceso de encurtido (Nuez *et al.*, 1996).

1.2.5. Chile Serrano.

El chile Serrano, se consume casi exclusivamente en fresco y es el segundo chile de importancia en México, dado a su amplio rango de adaptación. Es común encontrarlo en todas las regiones chileras del país, debido a ello se pueden encontrar diferentes morfologías en la planta, desde un crecimiento compacto a uno erecto con presencia de pilosidad. Los frutos, generalmente alargados, desde 2 a 10 cm de largo, son muy picantes con diversos tonos de verde en estado inmaduro (Figura 2). Los frutos suelen ser

clasificados en tres categorías de acuerdo a su tamaño y forma, pero éstas no tienen relación con las posibles variaciones morfológicas de las plantas, estas categorías son: Balín (de 2 - 4 cm de largo), Típico (4 - 8 cm de largo) y Largo (> 8 cm de largo). Los más aceptados por el mercado en fresco son los de la categoría Típico (90% de la producción), mientras que la industria de encurtidos procesa el resto (Nuez *et al.*, 1996).

1.3. El Chile como Fuente de Compuestos Bioactivos

Somos (1984), divide a los componentes principales que determinan el valor nutrimental del chile en dos grupos: El primero, fija el valor biológico, sabor específico, color y su uso como condimento. A este grupo pertenecen las vitaminas, los capsaicinoides, los carotenos y varios aceites volátiles. El segundo enmarca a los azúcares, la fibra, las proteínas, los minerales y cierto tipo de ácidos orgánicos (Nuez *et al.*, 1996).

1.3.1. Compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos son metabolitos secundarios producidos por los vegetales, que presentan en su estructura química la presencia de anillos aromáticos con grupos hidroxilos responsables de su actividad antioxidante (Cano *et al.*, 2002). Éstos son solubles en agua porque la mayoría de las veces se encuentran unidos a azúcares formando glicósidos y normalmente se localizan en las vacuolas. En general, son sintetizados por una de dos vías biosintéticas: la vía del ácido shikímico o la vía del ácido malónico (o por las dos, en el caso de los flavonoides). Entre los compuestos fenólicos naturales se encuentran los fenoles monocíclicos, los flavonoides, los fenilpropanoides, las quinonas fenólicas y las coumarinas. Las sustancias poliméricas de las plantas como los lignanos y taninos son polifenólicos y ocasionalmente se encuentran unidades fenólicas en las proteínas, alcaloides y terpenoides (Valencia y Robles-Sardin, 2005).

Recientemente, se ha demostrado que el estrés térmico en las plantas incrementa la producción de compuestos fenólicos como flavonoides y fenilpropanoides (Rivero *et al.*, 2001). En relación a esto, algunos estudios han reportado un incremento en la actividad de enzimas encargadas de regular el metabolismo de estos compuestos tales como la polifenoloxidasa (PFO), la peroxidasa (POX) y fenilalanina amino-liasa (PAL), en respuesta a diferentes tipos de estrés, bióticos y abióticos (Pandolhini *et al.*, 1992; Ruiz *et al.*, 1999).

1.3.2. Flavonoides.

Los flavonoides se encuentran extensamente en el reino vegetal y están presentes en casi todas las partes de la planta y pueden comúnmente poseer actividad antioxidante. La estructura básica de un flavonoide consiste en dos anillos aromáticos unidos por una cadena alifática de tres carbonos (C6-C3-C6), los cuales se condensan en forma de pirano, o menos comúnmente, en un anillo furano (Pratt, 1972).

Los diferentes niveles de oxidación del anillo pirano central distingue la actividad química de los flavonoides. Éstos están generalmente presentes como glucósidos, con una fracción de azúcar ligada a los grupos oxidrilo, designados como flavonoides o-glicosil o a través de los enlaces carbono-carbono (Howard y Wildman, 2007).

El pericarpio del chile es particularmente rico en flavonoides (Figura 3), los compuestos de mayor importancia en éste son una flavona (luteolina) y un flavonol (quercetina), además a esta clase de flavonoides se le confieren propiedades benéficas que ayudan a combatir enfermedades crónicas degenerativas tales como el cáncer de pulmón y las enfermedades coronarias (Howard y Wildman, 2007).

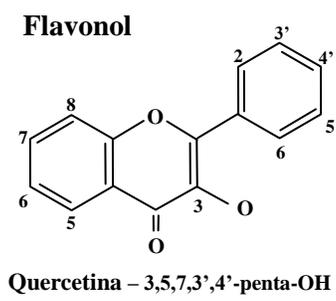
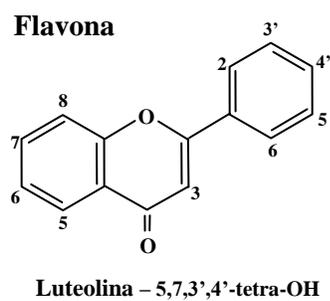


Figura 3. Principales flavonoides presentes en el chile
(*Capsicum annuum* L.).

La identificación y cuantificación de los ácidos fenólicos y flavonoides en el pericarpio del chile se ha logrado utilizando los avances de la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) y HPLC-acoplado a masas (HPLC-MS), a través de los cuales, se han logrado identificar ácidos hidroxicinámicos y flavonoides (Tabla 2) en *Capsicum annuum* L. (Garcés-Claver *et al.*, 2007; Appedinno, 2007; Thiele *et al.*, 2008).

Tabla 2. Contenido de flavonoides en *Capsicum annuum* µg/g de pericarpio de chile fresco.

Tipo	Cultivar	Madurez	Quercetina	Luteolina	Flavonoides
Anaheim	New Mexico 6	Verde	126	51	177
	Verde	Verde	210	52	262
Cayenne	Mesilla	Verde	25	17	42
Bell	Yellow Bell	Verde	22	11	33
	Tam b2	Verde	44	9	53
Yellow Wax	Hungarian	Amarillo	784	68	852
	Long Hot	Amarillo	447	104	551
	Inferno	Amarillo	68	17	85
	Sweet Banana	Amarillo	43	6	49
Jalapeño	Mitla	Verde	40	14	54
	Tam mild	Verde	18	10	28
	Sweet	Verde	45	6	51
Serrano	Hidalgo	Verde	160	41	201

Appedinno, 2008.

1.3.3. Capsaicinoides

El consumo de chile se debe principalmente a su sabor pungente (picante), causado por la presencia de capsaicinoides, los cuales son un grupo de amidas ácidas derivadas de la vainillilamina, que se sintetizan y acumulan en el tejido de la placenta. Las diferentes especies de *Capsicum* pueden variar

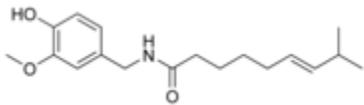
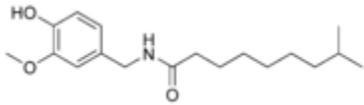
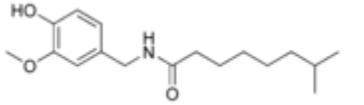
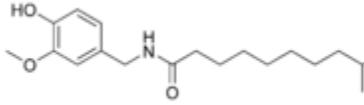
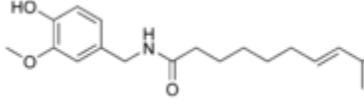
en grado de picor, lo que se relaciona con la capacidad de acumular capsaicinoides. El chile habanero (*C. chinense*) es considerado el de mayor picor. Sin embargo, algunas variedades de *C. annuum* pueden alcanzar niveles similares, en función de las condiciones que se cultiven (Cazares-Sánchez *et al.*, 2005).

Se conocen más de 20 capsaicinoides diferentes cuya estructura química consiste en un núcleo fenólico unido mediante un enlace amida a un ácido graso. Sin embargo, la capsaicina [(E)-N-(4-hidroxi-3-metoxibencil)-8-metil-6-noneamida] y la dihidrocapsaicina (su análogo 6,7-dihidro) representan más del 90 % del contenido total de los capsaicinoides en los chiles (Vázquez-Flota *et al.*, 2007). La capsaicina, es el compuesto más picante del grupo de los capsaicinoides. La capsaicina pura, es un compuesto cristalino, ceroso, hidrofóbico e incoloro. Es poco soluble en agua, pero muy soluble en grasas, aceites y alcohol. Entre otros capsaicinoides menores (Tabla 3 y 4) se encuentra a la nordihidrocapsaicina, a la homocapsaicina y a la homodihidrocapsaicina (Henninge, John M.Sc. en <http://www.g6csy.net/chile/database.html>; Appendino, 2008).

1.3.3.1. Síntesis de los capsaicinoides

La capsaicina fue aislada en 1816 en forma cristalina por Bucholz y 30 años después por de LT Thresh, que le dió el nombre de "capsaicina" (King *et al.*, 1905). En 1878, el médico húngaro Endre Hogenes la llamó capsicol, después de aislarla y demostrar que no sólo causaba la sensación de ardor al entrar en contacto con las mucosas, sino también aumentaba la secreción del jugo gástrico. La estructura de la capsaicina fue elucidada en parte por Nelson en 1919. La capsaicina fue sintetizada en 1930 por E. Spath y F. Darling. En 1961, los químicos japoneses S. Kosuge y Y. Inagaki, aislaron de chiles sustancias similares a las cuales llamaron capsaicinoides (Appendino, 2008).

Tabla 3. Principales capsaicinoides encontrados en *Capsicum spp.*

Nombre		Cantidad relativa	Estructura
Capsaicina		69%	
Dihidrocapsaicina	DHC	22%	
Nordihidrocapsaicina	NDHC	7%	
Homodihidrocapsaicina	HDHC	1%	
Homocapsaicina	HC	1%	

<http://www.g6csy.net/chile/database.html>

Tabla 4. Contenido de Capsaicinoides en *Capsicum annuum* ppm de pericarpio de chile seco.

Tipo	Cultivar	Nordihidrocapsaicina	Dihidrocapsaicina	Capsaicina	Total
Anaheim	ND	42	39	81	99
	Anaheim M	21	110	89	220
Jalapeño	M	360	1200	1900	3460
	T85	-	-	3820	3820
Serrano	Corto	440	1100	1100	2640
	Serrano	360	1100	1400	2860

Appedinno, 2008.

La porción fenólica en los capsaicinoides es la vainillilamina, que se sintetiza a partir de la fenilalanina por medio de la ruta de los fenilpropanoides. La vainillina es un intermediario tardío que es aminado por la acción de una transaminasa, para dar lugar a la vainillilamina, la cual, por acción de una aciltransferasa llamada capsaicinoide sintasa (CS), se condensa con el derivado acil para dar lugar a los capsaicinoides. La vainillina se forma mediante conversiones sucesivas de la fenilalanina en los ácidos trans-cinámico, cumárico, cafeico y ferúlico, por la acción de las enzimas fenilalanina aminoliasa (PAL), cinamato 4-hidroxilasa (Ca4H), cumarato 3-hidroxilasa (Ca3H) y ácido caféico metiltransferasa (COMT) (Vázquez-Flota *et al.*, 2007).

El ácido graso se forma a partir de los aminoácidos de la cadena lateral ramificada, ya sea valina o leucina (Figura 4). Las diferencias estructurales en estas moléculas residen precisamente en la naturaleza de la cadena lateral, que pueden ser de 9 a 11 carbonos de largo, con un número variable de enlaces dobles colocados en diferentes posiciones. El primer el paso involucra la desaminación de estos aminoácidos por una amino transferasa específica (ATE), para producir b-cetiovalerato que posteriormente se transforma en isobutiril-CoA, con la participación de la isovalerato deshidrogenasa (IvDH). El ADNc correspondiente a una ATE ya ha sido aislado a partir de chile habanero (Blum *et al.*, 2003; García-Galindo *et al.*, 1995).

El isobutiril-CoA formado se convierte en el 8-metil-6-nonenil-CoA mediante la participación del complejo multienzimático de la ácido graso sintasa (AGS), que consiste de tres componentes: una β -ceto acil sintasa (CAS), una proteína acarreadora de grupos acilo (ACL) y una tioesterasa (FAT). Las reacciones catalizadas por este complejo involucran la condensación del isobutil-CoA, con grupos malonilo, catalizada por el componente CAS (Vázquez-Flota *et al.*, 2007).

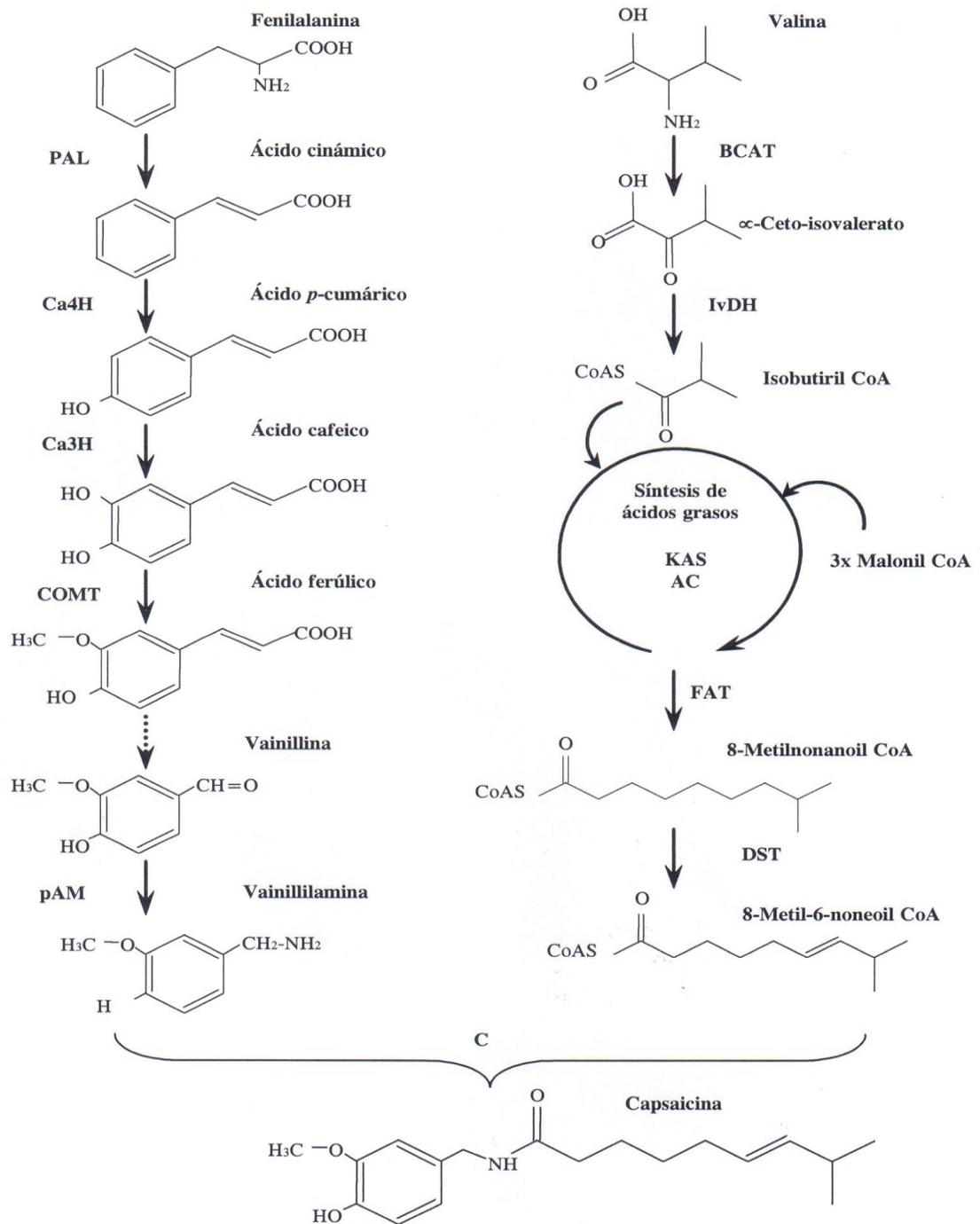


Figura 4. Biosíntesis de la capsaicina.

El componente ACL es el encargado de transportar los grupos malonilo al isobutiril-CoA y se pierde una molécula de CO₂ en cada ciclo de elongación. Después de tres ciclos sucesivos de elongación, el ácido graso final es liberado por acción de la tiestearasa. Los tres componentes de este complejo (CAS, ACL y FAT) han sido aislados de la genoteca referida (Curry *et al.*, 1999; Aluru *et al.*, 2003; Blum *et al.*, 2003).

Tanto la ACL como la FAT resultaron genes unicopia en *C. chinense* y en *C. annuum*. Aunque solamente la identidad del ADNc para la CAS ha sido confirmada, todos los componentes del complejo AGS desplegaron un patrón de extorsión transcripcional similar al de las enzimas involucradas en la formación de la vainillilamina, lo que sugiere su participación en la síntesis de los capsaicinoides. La reacción final descrita en la Figura 4 para la síntesis de los capsaicinoides es la condensación de la vainillilamina con cadena lateral acilo catalizada por una acilaminotransferasa denominada capsaicinoide sintasa (CS). La actividad de esta enzima está relacionada directamente con el grado de picor de diferentes chiles, aunque puede llegar a detectarse en extractos proteicos obtenidos de chiles no picantes (Sutoh *et al.*, 2006; Vázquez-Flota *et al.*, 2007).

Se han descrito algunos métodos en patentes para la separación de la capsaicina a partir de la oleorresina de *Capsicum*, la cual puede ser preparada con chiles pungentes usando una variedad de solventes orgánicos. Sin embargo, el etanol es la única manera de obtener material de calidad farmacéutica (Barbero *et al.*, 2006; Appendino, 2008).

La purificación de la capsaicina a partir de la oleorresina ha sido difícil por la presencia de análogos con polaridad similar, el comportamiento cromatográfico, solubilidad y debido a las propiedades poco favorecedoras de los capsaicinoides. Una desventaja adicional es la alta afinidad de los capsaicinoides por el carbón, material usado para extraer los pigmentos

(carotenoides, clorofilas) presentes en cantidades significativas en la oleorresina (Appendino, 2008).

1.3.3.2. Usos de extractos capsaicinoides

Independientemente de su función en la naturaleza, los capsaicinoides tienen diversas aplicaciones en la industria alimentaria y farmacéutica. Los capsaicinoides con aceite de oliva se consideran un condimento importante en la dieta mediterránea. Por otro lado, estudios clínicos han mostrado la eficacia de la capsaicina como un potente analgésico natural (calmante para reducir el dolor de la artritis). El uso regular de 3 a 4 veces al día del medicamento sobre la piel, permite un acumulo de la capsaicina, coadyuvando a liberar las sustancias tóxicas que se generan por algún malestar o enfermedad y ayuda a disminuir el dolor (http://www.zostrix.com/pages/zostrix_info.asp).

La capsaicina con fines farmacéuticos (98% de pureza) puede alcanzar valores cercanos a los 3,000 dólares (García-Galindo *et al.*, 1995).

También, ha sido demostrado que el compuesto llamado Olvanil, el cual se obtiene mediante la transaminación de la capsaicina a N-oleoylvanilamina (olvanil, 69a), es más potente que la capsaicina como agente anti-inflamatorio (Watanabe *et al.*, 2005; Appendino, 2008).

Una aplicación interesante de los capsaicinoides es su uso en armas de autodefensa. Los aerosoles de defensa se han hecho populares tanto para uso policial y de protección personal. La mayoría de éstos contiene oleorresinas de *Capsicum* o una combinación de capsaicinoides. Cuando se aplica, la capsaicina produce una reacción inflamatoria espontánea en las membranas mucosas y blefaroespasmos (condición en la que el paciente no puede cerrar los ojos de forma voluntaria) al contacto con los ojos, causado por la irritación de los nervios de la córnea (Manirakiza *et al.*, 2003).

1.3.4. Carotenoides

Los carotenoides son un grupo de fitoquímicos que de manera natural se encuentran como pigmentos y son sintetizados invariablemente en los cloroplastos de las plantas superiores. Aunque en este tejido fotosintético su color está oculto por el de la clorofila, son los pigmentos más importantes entre las diversas clases encontradas en la naturaleza. Son responsables de la coloración amarillo, naranja y rojo de las flores, frutos y vegetales (Delgado-Vargas y Paredes-López, 2003). También se encuentran en las algas, bacterias, hongos y levaduras. Se estima que la naturaleza produce aproximadamente 100 millones de toneladas de carotenoides al año (Rodríguez, 1999; Che Man y Tan, 2003).

La estructura básica de los carotenoides es un tetraterpeno de 40 carbonos, simétrico y lineal formado a partir de ocho unidades isoprenoides de 5 carbonos unidas de manera tal que el orden se invierte al centro (Tabla 5). Los carotenoides hidrocarbonados son los llamados carotenos, de donde se derivan los que tienen funciones oxigenadas, las cuales son llamadas xantofilas (Ong y Choo, 1997; Rodríguez, 1999; Che Man y Tan, 2003). Éstos pueden ser acíclicos como el licopeno, contener uno o dos anillos al final de la molécula como el β -caroteno y la luteína.

A los carotenoides no se les puede dar una función específica. Pero se sabe que funcionan como receptores de la luz por fototropismo. Como pigmentos de las flores, intervienen en la atracción de los insectos pero se les ha dado mayor importancia a su posible función en la fotosíntesis, junto con las clorofilas donde posiblemente la luz absorbida por estos compuestos pueda ser transferida a las clorofilas y usada en la fotosíntesis (Valencia y Robles-Sardin, 2005).

Tabla 5. Principales estructuras de carotenos y xantofilas presentes en el pericarpio de Chile.

Estructura	Nombre
	β-caroteno
	Luteína
	Zeaxantina
	Capsantina
	Capsorubina

http://www.genome.jp/kegg-bin/highlight_pathway?scale=1.0&map=map00906&keyword=carotene

Se han aislado y caracterizado más de 600 carotenoides que se encuentran naturalmente. Sin embargo, de todos ellos, pocos carotenoides se han encontrado en el humano, entre éstos se han identificado al α - y β -caroteno, licopeno, luteína, zeaxantina y β -criptoxantina.

El α - y β -caroteno constituyen alrededor del 90% del contenido de carotenoides totales, el resto son δ -carotenos, γ -carotenos, fitoflueno, fitoeno, licopeno, neurosporeno y α - y β -zeacarotenos (Ong y Choo, 1997). El carotenoide de mayor importancia en las plantas es el β -caroteno y la luteína en las hojas, es la xantofila la más importante. De las especies de carotenos asociadas a los chiles (del género *Capsicum*) se encuentran a la Capsantina ($C_{40}H_{58}O_3$) y a la Capsorubina ($C_{40}H_{60}O_4$) (Howard, 2001).

El color verde del chile es debido a la clorofila y carotenoides típicos de los cloroplastos (Marín *et al.*, 2004). El color amarillo-anaranjado es formado por el α - y β -caroteno, zeaxantina, luteína y β -criptoxantina (Howard, 2001). El color rojo es debido a la presencia de pigmentos de carotenoides de capsantina, capsorubina y capsantina 5,6-epóxido. Por lo tanto, los diferentes colores de los chiles pueden deberse a los diferentes niveles de estos compuestos. Dado que estos compuestos tienen funciones antioxidantes, los diferentes estados de madurez del chile pueden tener diferente actividad antioxidante (Sun *et al.*, 2007). El fruto de chile maduro (rojo, anaranjado, amarillo) presenta mayores contenidos de carotenoides que los frutos inmaduros (verde) (Matsufuji *et al.*, 2007).

Se tienen evidencias que los carotenoides poseen actividad como provitamina A, considerándose al β -caroteno como el más importante. La provitamina A es transformada a vitamina A en el tracto gastrointestinal, según la necesidad del cuerpo humano. Esta vitamina posee una función importante en la regulación de la visión, crecimiento y reproducción humana.

Es esencial para la diferenciación celular normal de la mayoría de los epitelios, incluyendo a los de la piel, bronquios, tráquea, estómago, intestino, útero, riñones y otros órganos (Ong y Choo, 1997; Rodríguez, 1999; Che Man y Tan, 2003).

Por otro lado, se ha demostrado que los carotenoides poseen otros efectos biológicos independientes de su actividad como provitamina A, en especial su propiedad de actuar como antioxidantes. Las actividades de protección antioxidante incluyen la desactivación de los radicales libres y la captura de especies de oxígeno reactivas como el oxígeno en singulete (Ong y Choo, 1997; Rodríguez, 1999; Khor y Raajeswari, 2001).

También, se les ha relacionado con el mejoramiento del sistema inmune y la disminución del riesgo de desarrollar diversas enfermedades degenerativas incluyendo a varios tipos de cáncer (Michaud *et al.*, 2000, Cooper, 2004, Bertram y Vine, 2005), enfermedades cardiovasculares (Kritchevsky, 1999, Osganian *et al.*, 2003) y la degeneración muscular relacionada con la edad (Rodríguez, 1999; Bruno y Medeiros, 2000; Olmedilla *et al.*, 2001; Cooper, 2004).

Entre los carotenoides conocidos, el β -caroteno ha sido el más extensamente estudiado y se ha demostrado que es uno de los compuestos con mayor actividad en la prevención e incluso supresión de estas enfermedades; también, estudios han postulado que el α -caroteno podría ser más efectivo en la reducción de algunos tipos de cáncer (pulmonar) que el β -caroteno (Van Het Hof *et al.*, 1999). Por lo tanto, la importancia de los carotenoides en los alimentos va más allá de su función como pigmentos naturales (Van Het Hof *et al.*, 1999).

1.3.5. Tocoferoles

El fruto *Capsicum*, especialmente en su forma deshidratada, es una excelente fuente de tocoferoles (vitamina E). Se considera a la vitamina E como una mezcla de tocoferoles y tocotrienoles, los cuales son reconocidos por su efectiva inhibición a la oxidación lipídica en alimentos y sistemas biológicos. Los tocoferoles son derivados de los poliisoprenoides, los cuales se encuentran saturados en la cadena lateral C16 (fitol). Se encuentran en cuatro formas: α -tocoferol, β -tocoferol, γ -tocoferol y δ -tocoferol. La actividad antioxidativa de los tocoferoles depende de su estructura química, la cual define la habilidad para donar el hidrógeno del grupo fenólico hacia los radicales libres, de este modo se neutraliza el radical y se forma un radical tocoperoxi. El isómero α -tocoferol es el que posee una actividad antioxidante mayor, seguido en orden decreciente por el γ -tocoferol y el δ -tocoferol (Kamal y Appelqvist, 1996; Howard y Wildman, 2007).

El contenido de α y γ -tocoferol en el pericarpio del chile está ligado a la madurez. El contenido del γ -tocoferol en las semillas generalmente se incrementa cuando se encuentra en la máxima maduración (rojo); mientras que el contenido de α -tocoferol en el pericarpio se incrementa en su etapa verde hacia la maduración máxima (rojo). Este contenido varía de acuerdo con el contenido de lípidos, etapa de maduración y morfotipo (Howard y Wildman, 2007).

Los tocoferoles han sido inhibidores efectivos contra radicales peroxil y superperoxi en sistemas lipídicos. Por esta razón, estudios epidemiológicos sugieren que la vitamina E reduce el riesgo de padecer enfermedades crónicas degenerativas como algunos tipos de cáncer, enfermedades coronarias y retardar enfermedades neurológicas. Los efectos benéficos de la vitamina E están relacionados a numerosos mecanismos de protección, incluyendo la

protección al daño oxidativo en las células, la protección a la oxidación del colesterol unido a lipoproteínas de baja densidad (LDL), reforzamiento del sistema inmune, la reducción oxidativa reduciendo el daño en tejidos especializados como los ojos, tejido nervioso, vasos sanguíneos y cartílagos, la reducción de la síntesis de colesterol por la inhibición de la enzima HMG-CoA reductasa y mejoramiento de la condición antioxidativa de la digestión.

Se han encontrado niveles de γ -tocoferol de 35.2 a 47.5 mg/100 g de semillas de chile Anaheim rojo (en su etapa de madurez máxima), mientras que el α -tocoferol se ha localizado en el pericarpio de chile paprika, proveyendo de 107 a 198 % de la RDI para adultos (hombres y mujeres), y en algunos cultivares de Anaheim con un aporte del 13 a 207 % de la RDI.

1.3.6. Capacidad antioxidante de los fitoquímicos de chile

Existen algunos métodos (“*in vitro*” e “*in vivo*”) para evaluar la actividad antioxidante total. Una de las estrategias más aplicadas en la evaluación “*in vitro*” de la capacidad antioxidante de un compuesto, mezcla o alimento, consiste en determinar la actividad del antioxidante frente a radicales cromógenos, los cuales exponen una pérdida de color proporcional con la concentración. No obstante, las determinaciones de la capacidad antioxidante realizadas “*in vitro*” proporcionan un conocimiento aproximado de lo que ocurre en situaciones complejas “*in vivo*” (Kuskoski *et al.*, 2005 Goristein *et al.*, 2009).

La capacidad antioxidante de una mezcla no viene dada solo por la suma de las capacidades antioxidantes de cada uno de sus componentes, también depende del microambiente en que se encuentra el compuesto. Además, los compuestos interactúan entre sí, pudiendo inducirse efectos sinérgicos o inhibitorios (Kuskoski *et al.*, 2005 Goristein *et al.*, 2009). Por otra parte, es

necesario considerar que los ensayos *in vivo* pueden presentar algunos inconvenientes, como la adaptabilidad en respuesta al aumento del estrés oxidativo (Pellegrini *et al.*, 2003; Sun *et al.*, 2007).

Algunos compuestos cromógenos (ABTS^{•+}, DPPH[•]) son utilizados para determinar la capacidad de los compuestos fenólicos que contienen los frutos para estabilizar a los radicales libres, actuando en contra de los efectos perjudiciales de la oxidación, (Kuskoski *et al.*, 2005 Goristein *et al.*, 2009).

Estudios realizados en fracciones de flavonoides con ácidos fenólicos y capsaicinoides de chile rojo ha mostrado actividades antioxidantes mayores que las de chile verde (Sun *et al.*, 2007; Matsufuji *et al.*, 2007). Materska y Perucka (2005) identificaron los principales compuestos presentes en las fracciones de chile rojo (sinapoil y el feruloil glucósidos) y chile verde (quercetina-3-O-L-ramnosida). También, encontraron que la fracción de capsaicinoides presentó una actividad antioxidante (oxidación del β -caroteno en un sistema de ácido linoleico y por la prueba del DPPH[•]) similar a la de la fracción de flavonoides y ácidos fenólicos de chile rojo. Se encontró además, que la capsaicina y dihidrocapsaicina fueron los principales componentes en la fracción de capsaicinoides, reportando una correlación alta entre el contenido de estos compuestos y la actividad antioxidante (Bartrina *et al.*, 2006).

En base a lo expuesto anteriormente, en este trabajo se pretendió generar información básica sobre los niveles de los compuestos fenólicos, capsaicinoides, carotenos y tocoferoles, presentes en el chile cultivado en la región Norte y Noreste del país; así mismo establecer la relación entre los compuestos fenólicos y sus propiedades antioxidantes. Por lo tanto, se expone la siguiente hipótesis y objetivos.

2. HIPOTESIS

Los compuestos fitoquímicos presentes en los extractos de los cultivares de pimientos (*Capsicum annuum* L.) Anaheim, Bell, Caribe, Jalapeño y Serrano cosechados en el Noroeste de México poseen capacidad antioxidante, por lo que estos vegetales pueden ser considerados una fuente potencial de compuestos antioxidantes.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo General

- Evaluar la capacidad antioxidante de compuestos fitoquímicos presentes en extractos de pimientos (*Capsicum annuum* L.), Anaheim, Bell, Caribe, Jalapeño y Serrano, cultivados en el Noroeste de México.

3.1.1. Objetivos Particulares

- Extraer los compuestos fenólicos presentes en cinco cultivares de chile (*Capsicum annuum* L.), Anaheim, Bell, Caribe, Jalapeño y Serrano.
- Evaluar la capacidad antioxidante de los extractos metanólicos de los cinco cultivares de chile, mediante ensayos in vitro: método de atrapamiento de los radicales libres ABTS^{•+}, DPPH[•] y la inhibición de la oxidación de colesterol.
- Identificar y cuantificar los principales compuestos fenólicos de los cinco cultivares de chile (*Capsicum annuum* L.) Anaheim, Bell, Caribe, Jalapeño y Serrano por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC).
- Identificar y cuantificar los capsaicinoides de los extractos oleosos de los cinco cultivares de chile, por medio de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC).
- Identificar y cuantificar los carotenoides de los extractos oleosos de los cinco cultivares de chile, por medio de cromatografía líquida (HPLC).
- Identificar y cuantificar los tocoferoles de los extractos oleosos de los cinco cultivares de chile, por medio de cromatografía líquida (HPLC).

4. MATERIALES Y METODOS

4.1. Materia Prima

Los cinco cultivares de chile seleccionados por su importancia comercial según el Centro de Agronegocios del Noroeste (2003) fueron: Anaheim, Bell, Caribe, Jalapeño y Serrano; cosechados en el mes de Noviembre del 2008. Dichos cultivares fueron cosechados en la región de Zamora, en el municipio de Hermosillo, Sonora (29° 05' latitud, 110° 57' longitud y a una altura de 282 metros sobre el nivel mar); y fueron proporcionados por comercializadora Distfrut S.A. de C.V.

4.2. Preparación de la Muestra

Las muestras de chiles fueron lavadas con agua destilada, se cortaron por la mitad para retirar las semillas y se realizaron cortes del pericarpio en rajadas de 5 cm de largo y 0.5 cm de ancho. Parte de las muestras fueron liofilizadas (Modelo 5, Labconco Corporation, Kansas City, MO) a una temperatura de - 50 °C (Vinson *et al.*, 1998). Las muestras frescas y liofilizadas se almacenaron a - 20 °C.

4.3. Extracción de los Compuestos Fenólicos

Los compuestos fenólicos fueron extraídos del pericarpio fresco de cada uno de los cultivares de los chiles en estudio (Figura 5). Diez gramos de muestra fresca fueron homogenizados con 20 mL de metanol-agua (70:30 v/v) utilizando un Ultra-Turrax T 25 basic S1 (IKA Works Inc, Wilmington, NC, USA).

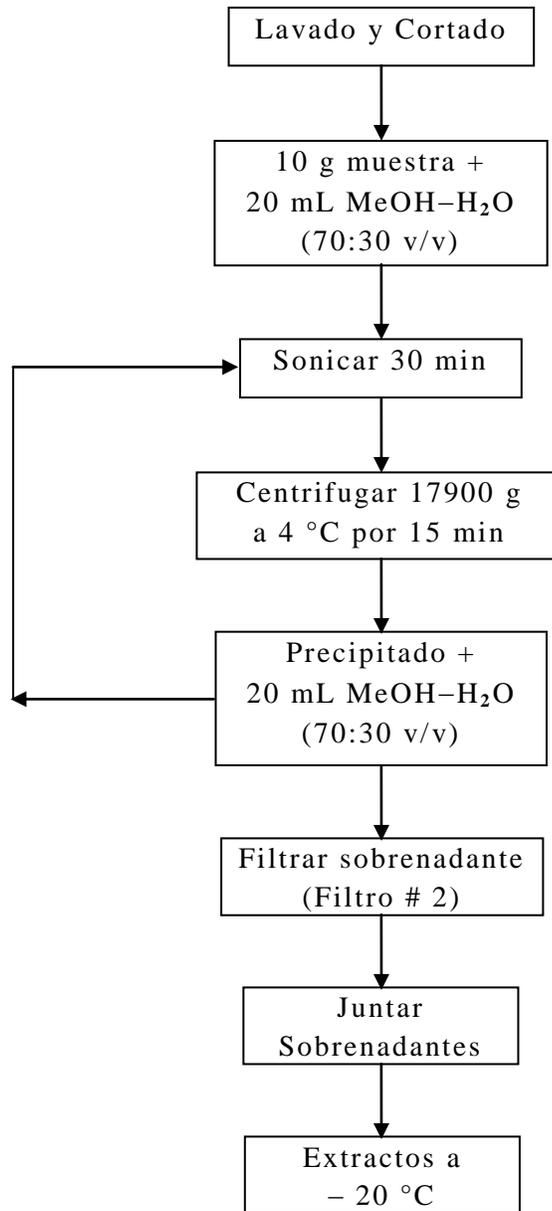


Figura 5. Diagrama de extracción de los compuestos fenólicos del pericarpio de chile (*C. annuum* L.).

Posteriormente, el homogenizado fue sometido a movimientos ultrasónicos (Sonicador marca Branson 1510) por 30 min y centrifugado a 17,900 g (IEC L31 Thermo electrón) a 4 °C por 15 min. La extracción metanólica se repitió dos veces para asegurar la máxima extracción de los compuestos. Los sobrenadantes fueron mezclados y filtrados en papel Whatman No. 2. Los extractos metanólicos fueron congelados a – 20 °C hasta su análisis (Chitindingu *et al.*, 2006; Abushita *et al.*, 2000).

4.4. Cuantificación de Fenoles Totales

Las determinaciones se realizaron espectrofotométricamente utilizando el método de Folin-Ciocalteu (Sun *et al.*, 2007). Este método está basado en la oxidación de los grupos fenólicos por los ácidos fosfomolibdico y fosfotúngstico, formándose un complejo verde azulado que se mide a 330 nm.

Para la determinación del contenido de fenoles totales, se mezclaron 50 µL de cada extracto metanólico con 3 mL de agua desionizada y 250 µL el reactivo de Folin–Ciocalteu 1 N (Merck). El extracto se oxida por 5 min, después la reacción se neutraliza con 750 µL de Na₂CO₃ al 20% y 950 µL de agua desionizada. Después de 30 minutos, se leyó la absorbancia a 330 nm, en un espectrofotómetro UV-VIS (Varian, modelo Cary 100). Se usó ácido clorogénico como estándar (Sigma–Aldrich Co., St Louis, MO, USA). El contenido de fenoles totales fue expresado en mg de ácido clorogénico/100g de peso fresco de la muestra y fue el resultado de tres repeticiones y con un intervalo de concentración de 0 a 1 mg/mL (Figura 6).

4.5. Cuantificación de Flavonoides Totales

Para la determinación de flavonoides totales se siguió la técnica descrita por Helmja *et al.* (2007) a un mililitro de extracto metanólico con 4 mL agua

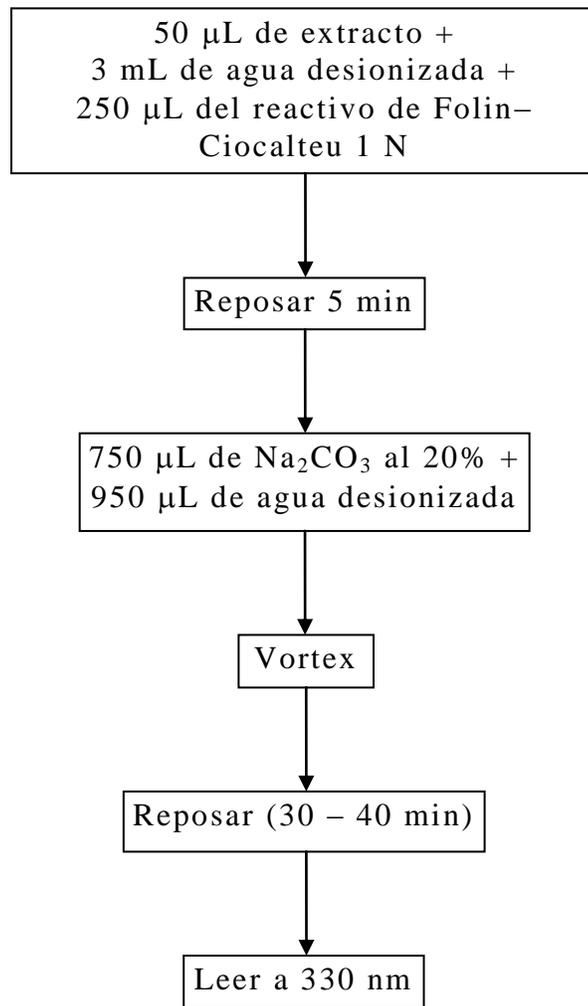


Figura 6. Diagrama de cuantificación de fenoles totales del pericarpio de chile (*C. annuum* L.).

destilada se le añadieron 0.3 mL de NaNO_2 (5 g/100 mL) y 0.3 mL de una solución de AlCl_3 (10 g/100 mL). Después de agitar vigorosamente (Figura 7), se dejó reposar por 1 min, se añadieron 2 mL de NaOH 1 M y se aforó a 10 mL con agua destilada. La mezcla se leyó a 415 nm en un espectrofotómetro UV-VIS (Varian, modelo Cary 100). Los resultados fueron expresados como miligramos equivalentes de quercetina (Sigma–Aldrich Co., St Louis, MO, USA) por cada 100 gramos peso fresco (mg EQ/100 g pf). Todos los análisis se realizaron por triplicado. El contenido de flavonoides se calculó en base a la siguiente ecuación lineal:

$$Y = 1.442X - 0.024 \quad r = 0.995$$

Donde: Y es la absorbancia medida y X es el contenido de flavonoides en mg quercetina/g, con una concentración de estándar de 0 a 0.6 mg/mL.

4.6. Identificación de los Compuestos Fenólicos por HPLC

El procedimiento para la identificación de los compuestos fenólicos se realizó de acuerdo al método descrito por Ramamurthy *et al.* (1992). Se introdujeron 20 μL de extracto metanólico (0,05 g de muestra fresca/mL de metanol al 70%) a una columna SupelcosilTM LC18 (30 x 0.4 cm x 5 μm tamaño de partícula, Supelco, Bellefonte, PA, USA), en un equipo de cromatografía HPLC (Varian, modelo ProStar 230), equipado con un detector de luz ultravioleta (Varian, modelo 9050). Los solventes utilizados fueron: agua mas 2% de ácido acético (solvente A) y, ácido acético:acetonitrilo:agua (2:30:68, v/v) como solvente B. La elusión del análisis se programó siguiendo el gradiente del solvente de 10 a 100% de B en A a un flujo de 1.5 mL/min durante 30 minutos. La identificación de los diferentes compuestos fenólicos se llevó a cabo comparándolos con los tiempos de retención de los estándares correspondientes.

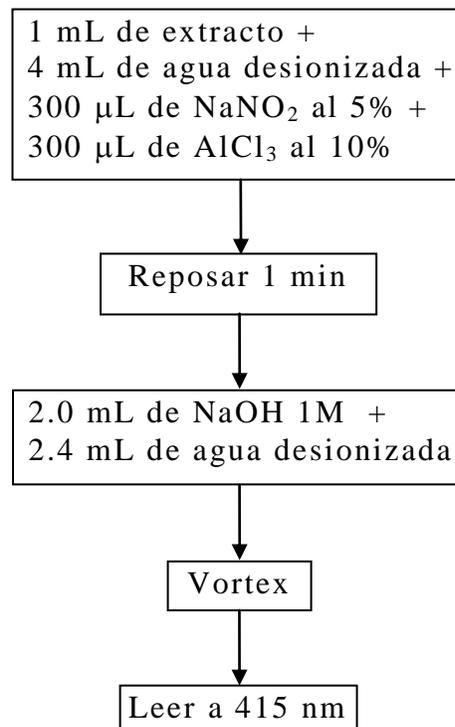


Figura 7. Diagrama de la cuantificación de flavonoides totales del pericarpio de chile (*C. annuum* L.).

Para la cuantificación se elaboraron curvas de calibración (concentración de 0-0.2 mg/mL) para cada uno de los compuestos fenólicos identificados. El ácido gálico, ácido cafeico, catequina y epicatequina fueron cuantificados a 280 nm (longitud de onda a la cual presentan su absorbancia máxima), el resveratrol y el ácido clorogénico a 320 nm y el quercetin-3-rutinosido conocido como rutina (flavonol), luteolina (flavona) a 360 nm (García-Alonso *et al.*, 2003). Los compuestos fenólicos de los extractos metanólicos fueron analizados por triplicado.

4.7. Evaluación de la Capacidad Antioxidante

Los métodos más utilizados son los que utilizan al catión radical 2,2-azino-bis (3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico) (ABTS^{•+}) y al radical 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH[•]), según lo descrito por Kuskosi *et al.* (2005). Ambos presentan una excelente estabilidad en ciertas condiciones (escasa luminosidad y temperatura ambiente) aunque también muestran diferencias (precisión y estabilidad ante las especies reactivas de oxígeno).

El DPPH[•] es un radical libre que puede obtenerse directamente sin una preparación previa, mientras que el ABTS^{•+} tiene que ser generado tras una reacción que puede ser química (dióxido de manganeso, persulfato potasio). Con el ABTS^{•+} se puede medir la actividad de compuestos de naturaleza hidrofílica y lipofílica, mientras que el DPPH[•] solo puede disolverse en medio orgánico (Kuskosi *et al.*, 2005; Gorinstein *et al.*, 2009).

4.7.1. Capacidad antioxidante equivalente a trolox (TEAC)

Este método evalúa la capacidad antioxidante equivalente de trolox (TEAC, trolox equivalent antioxidant capacity); se basa en la reducción de la coloración verde/azul producida por la reacción del radical 2,2-azino-bis (3-

etilbenzotiazolina-6-sulfónico) (ABTS^{•+}) con el antioxidante presente en la muestra. Para generar el radical catión ABTS^{•+} se pesaron 19.2 mg de ABTS^{•+} y se disolvieron en 5 mL de agua destilada. Posteriormente se agregaron 88 mL de una solución de persulfato de potasio (0.0378 mg/mL). La solución se homogenizó y se incubó en oscuridad a temperatura ambiente (25 ± 1 °C) durante 16 h. Una vez formado el radical ABTS^{•+}, éste se diluyó con etanol hasta obtener un valor de absorbancia alrededor de 0,70 ± 0,1 a 754 nm (espectrofotómetro UV-VIS Varian, modelo Cary 100). Los extractos metanólicos filtrados (0.1 mL de extracto) se colocaron cada uno en una celda y se mezclaron con 3.9 mL del radical recién generado. Se leyó la absorbancia al inicio (Abs_i) y a cada minuto hasta los 7 minutos de reacción (Abs_f) (Figura 8). El diferencial de absorbancia (abs_i - abs_f) se transformó a porcentaje de inhibición y se calculó la actividad antioxidante en milimoles equivalentes Trolox (mmoles ET)/gramo peso fresco (g pf), mediante una curva de calibración (concentración de 0-0.25 mg/mL) de Trolox (análogo soluble de la vitamina E) (Kuskoski *et al.*, 2005).

4.7.2. Capacidad antioxidante por método DPPH[•]

El radical 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH[•]) se reduce en presencia de antioxidantes manifestándose un cambio de color (de morado a amarillo) en la solución. Para el ensayo fotométrico (Figura 9) se mezclaron 3.9 mL del radical DPPH[•] (0.025 mg/mL metanol) con 0.1 mL de cada uno de las diluciones de los extractos metanólicos (concentración 0.25 g/mL). La reacción se llevó a cabo por 30 min y posteriormente se leyó a 515 nm en un espectrofotómetro UV-VIS (Varian, modelo Cary 100). La absorbancia de las muestras se midió en función del tiempo hasta que las diferencias fueron menores a 0.003. Los cambios en la absorbancia al inicio y final de la reacción fueron transformados a porcentaje de inhibición (Materska y Perucka, 2005).

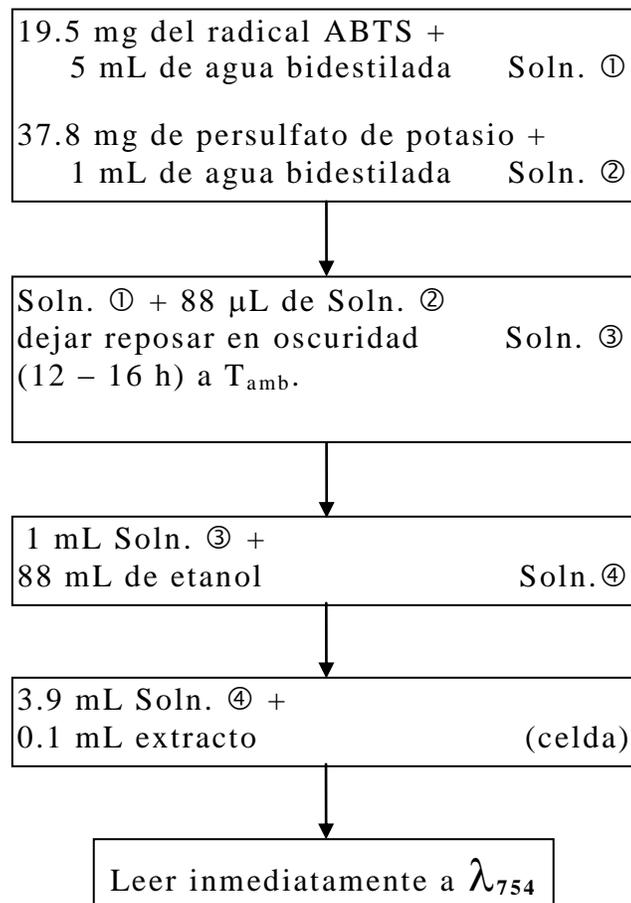


Figura 8. Diagrama del método de cuantificación de la capacidad antioxidante del pericarpio de chile (*C. annuum* L.) por medio de la inhibición del catión radical ABTS^{•+}.

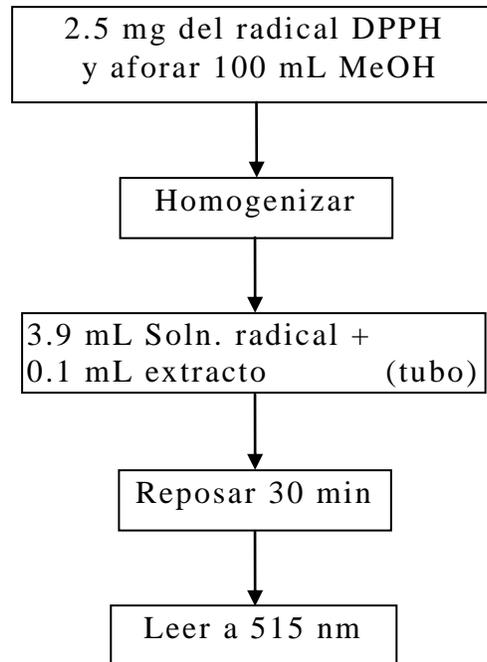


Figura 9. Diagrama del método de cuantificación de la capacidad antioxidante del pericarpio de chile (*C. annuum* L.) por medio de la estabilización del radical libre DPPH[•].

4.8. Determinación de la Inhibición de la Oxidación de Colesterol

Para la determinación de la inhibición de la oxidación de colesterol fueron colocados 50 μ L de extracto metanólico de cada cultivar de chile (*C. annuum* L.) y 1 mL de una solución de colesterol (0.1 mg/mL hexano) en un tubo de prueba de 13 \times 100 mm para homogenizarse por 30 s. La mezcla fue calentada en un baño de arena a 175°C por 20 min. Posteriormente, el colesterol fue resuspendido en 1 mL de acetona y homogenizado por 30 s. La solución fue transferida a un vial de 2 mL para determinar la concentración de colesterol remanente (Sun *et al.*, 2007). Se utilizó un equipo cromatográfico (HPLC) Varian ProStar 230 con un detector UV-VIS 9050 y una columna C18 (30cm \times 4.6mm 5- μ m tamaño de partícula, Supelco, Bellefonte, PA, USA). La fase móvil fue acetona-metanol (10:90 v/v) a un flujo de 0.8 mL/min. La longitud de onda para la cuantificación de colesterol fue 205 nm. El porcentaje remanente de colesterol en cada tubo fue obtenido por la comparación de la concentración remanente y la concentración original. El control fue considerado al tubo de prueba con la solución de colesterol sin extracto (Sun *et al.*, 2007).

4.9. Extracción de los Capsaicinoides

Para la extracción de los capsaicinoides se mezcló 1 g de muestra liofilizada y pulverizada (licuadora Oster Pro) de cada uno de los cultivares de chile con 10 mL de acetonitrilo al 100%. La mezcla se calentó a 80°C por 4 h. Posteriormente, la mezcla fue centrifugada (17,900 g) a 4°C por 15 min. El sobrenadante fue filtrado utilizando membranas para jeringas de 17 mm y tamaño de partícula de 0.2 μ m (Estrada *et al.*, 2000). Los extractos fueron almacenados a -20°C hasta su análisis por HPLC (Figura 10).

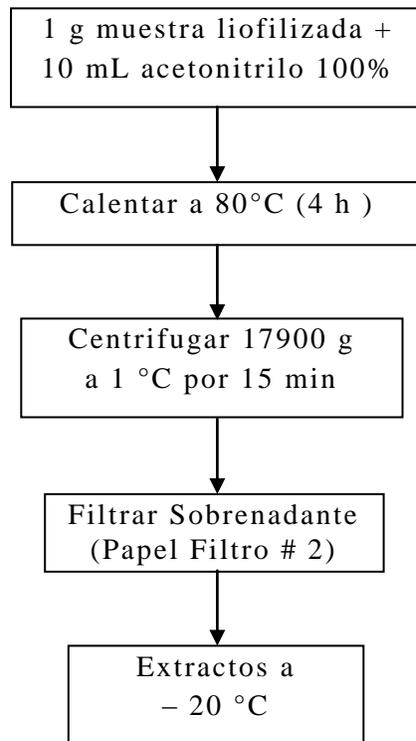


Figura 10. Diagrama de extracción de capsaicinoides del pericarpio liofilizado de chile (*C. annuum* L.).

4.10. Cuantificación de Capsaicinoides por HPLC

Para la cuantificación de capsaicinoides se utilizó un cromatógrafo HPLC equipado con una bomba isocrática (Varian, ProStar 210), un detector UV-VIS (Varian, modelo 9050) y una columna Supelcosil C18 (30cm × 4.6mm 5- μ m tamaño de partícula, Supelco, Bellefonte, PA, USA). La fase móvil fue metanol-agua (70:30 v/v) a un flujo de 1.0 mL/min, inyectando de 20 μ L. La longitud de onda para la identificación y cuantificación de capsaicinoides fue de 280 nm (Tanaka *et al.*, 2009). El contenido de capsaicinoides (Figura 11) en las muestras fueron identificados y cuantificados por la comparación de los tiempos de retención y las áreas de los estándares de capsaicina (0-0.2 mg/mL) y dihidrocapsaicina (0-0.196 mg/mL) (Sigma-Aldrich Co., St Louis, MO, USA).

4.11. Extracción de Carotenoides

Para la extracción (fracción oleosa) de carotenoides se tomó 1 g de muestra liofilizada de cada morfotipo de chile en estudio, se le adicionaron 10 mL de tetracloruro de carbono-metanol (80:20 v/v) y se mezcló en un Ultra-Turrax T 25 basic S1 (IKA Works Inc, Wilmington, NC, USA). Posteriormente, el homogenizado fue sometido a movimientos ultrasónicos por 30 min y centrifugado (17,900 g) a 1 °C por 15 min. La extracción se repitió dos veces para asegurar la máxima extracción de los compuestos.

La fase oleosa fue separada en un embudo de separación y refluja con N₂ hasta sequedad. Los extractos sólidos fueron congelados a - 20 °C (Figura 11). En el momento del análisis cromatográfico fueron resuspendidos en 1 mL de acetona (Chitindingu *et al.*, 2006; Abushita *et al.*, 2000).

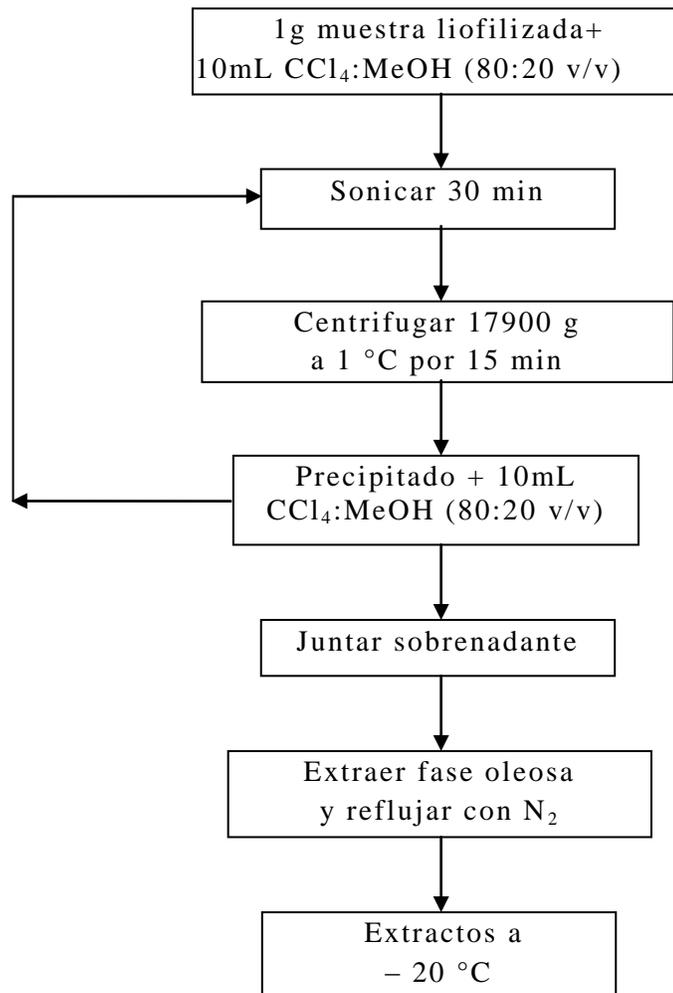


Figura 11. Diagrama de extracción de carotenoides del pericarpio liofilizado de chile (*C. annuum* L.).

4.12. Cuantificación de los Carotenoides por HPLC

La identificación y cuantificación de los carotenoides se realizó a 450 nm, utilizando un cromatógrafo HPLC equipado con una bomba ternaria (Varian, modelo ProStar 230), un detector UV-VIS (Varian, modelo 9050) y una columna Supelcosil C18 (30 cm×4.6 mm 5- μ m tamaño de partícula, Supelco, Bellefonte, PA, USA). La fase móvil (Tabla 6) utilizada fue acetona-agua con una rampa de elución a un flujo de 1.5 mL/min (Mínguez-Mosquera y Hornero-Méndez, 1993).

Tabla 6. Rampa de elución para la identificación de carotenoides.

Tiempo(min)	% Acetona	% Agua
5	75	25
5	95	5
7	95	5
5	100	0
5	75	25

Mínguez-Mosquera y Hornero-Méndez, 1993

El contenido de carotenoides fue identificado y cuantificado en las muestras por la comparación de los tiempos de retención y las áreas de los estándares de β -caroteno, luteína, clorofila-a y clorofila-b (Sigma–Aldrich Co., St Louis, MO, USA).

4.13. Extracción de Tocoferoles

Los tocoferoles se extrajeron a partir de 10 g de muestra fresca de chile con 20 mL tetracloruro de carbono-metanol (60:40, v/v), los cuales fueron homogenizados en un Ultra-Turrax T 25 basic S1 (IKA Works Inc, Wilmington, NC, USA). Posteriormente, el homogenizado fue sometido a movimientos ultrasónicos por 30 min y centrifugado (17,900 g) a 1 °C por 15

min. Los sobrenadantes fueron colocados en un embudo de separación para obtener la fase oleosa con los tocoferoles. La fracción oleosa fue refluada con N₂ hasta sequedad. Los extractos sólidos fueron congelados a - 20 °C (Figura 12). En el momento del análisis por HPLC los extractos fueron resuspendidos en 1 mL de hexano (Chitindingu y col., 2006; Abushita *et al.*, 2005).

4.14. Cuantificación de los Tocoferoles por HPLC

Para la determinación de los tocoferoles se utilizó el método oficial Ce 8-89 (AOCS, 2009). Se usó un equipo de cromatografía HPLC equipado con una bomba isocrática (Varian, modelo ProStar 210), un detector UV-Vis (Varian, modelo 9050), una precolumna Si-60 conectada en serie a una columna Supelcosil Si-60 (25 cm × 4.6 mm 5- μ m tamaño de partícula, Supelco, Bellefonte, PA, USA). La fase móvil utilizada fue hexano-isopropanol (99.5:0.5 v/v) a un flujo de 1.0 ml/min. El volumen de inyección fue de 20 μ L. La identificación y cuantificación de los tocoferoles fueron a una longitud de onda de 292 nm, con un tiempo de elución de 30 min.

El contenido de tocoferoles en las muestras fueron identificados y cuantificados por la comparación de los tiempos de retención y las áreas de los estándares de α - tocofeol, γ - tocoferol y δ - tocoferol (Sigma-Aldrich Co., St Louis, MO, USA). La pureza de los estándares fue definida utilizando los coeficientes de extinción (E 1%).

4.15. Análisis Estadístico

Los datos fueron analizados por un análisis de varianza y comparación de medias por la prueba de Tukey (P<0,05). Se correlacionó los niveles de fenoles totales y flavonoides totales con la capacidad antioxidante medida por

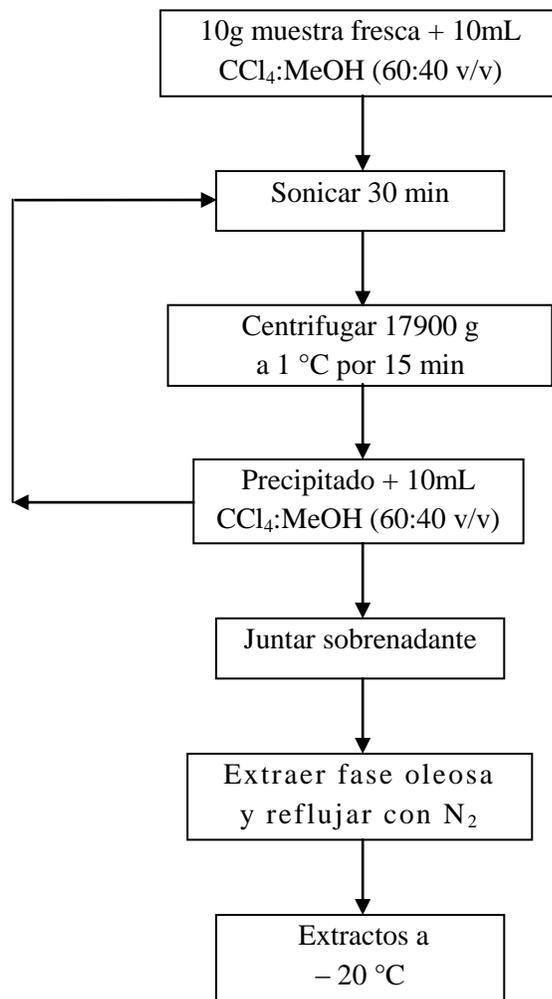


Figura 12. Diagrama de extracción de tocoferoles del pericarpio liofilizado de chile (*C. annuum* L.).

ABTS^{•+} y DPPH[•]. Para el análisis estadístico el programa el programa estadístico Sigmastat 3.5 (Point Richmond, CA, USA).

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1. Cuantificación de Fenoles Totales

El extracto metanólico obtenido del pericarpio del cultivar de chile Caribe fue de una tonalidad ámbar claro y un color verde claro para los cultivares de chile Anaheim, Bell, Jalapeño y Serrano.

En el presente estudio, se encontró que al comparar los niveles de fenoles totales presentes en los cinco cultivares (Anaheim, Bell, Caribe, Jalapeño y Serrano) presentaron diferencias significativas ($p < 0.05$) entre ellos, siendo el de mayor contenido el cultivar Caribe con 320.54 ± 26.66 mg/100 g muestra en peso fresco (pf) y el de menor contenido Jalapeño con 159.23 ± 2.00 mg/100 g (pf) (Figura 13).

Howard *et al.* (2000), encontraron un intervalo de contenidos de fenoles totales en 4 cultivares de *C. annuum* (Long Yellow, Bell, Cayenne y Cascabella), similar (de 257 a 367 mg/100 g pf) al encontrado en el presente estudio. Sin embargo, Vinson *et al.* (2001), Young *et al.* (2006) y Sun *et al.* (2007), reportaron niveles de fenoles totales en chile Bell menores a los encontrado en el presente estudio (47.6, 87.6 y 69.7 mg/100 g pf, respectivamente).

Helmja *et al.* (2007), realizaron un estudio en cuatro frutos de la familia de las Solanaceae (*S. lycopersicum*, *S. melongena*, *C. annuum* y *S. tuberosum*), encontrando en *C. annuum* un contenido de fenoles totales mayor (480 mg/100 g pf) al encontrado en el presente estudio (234.41 mg/100 g pf).

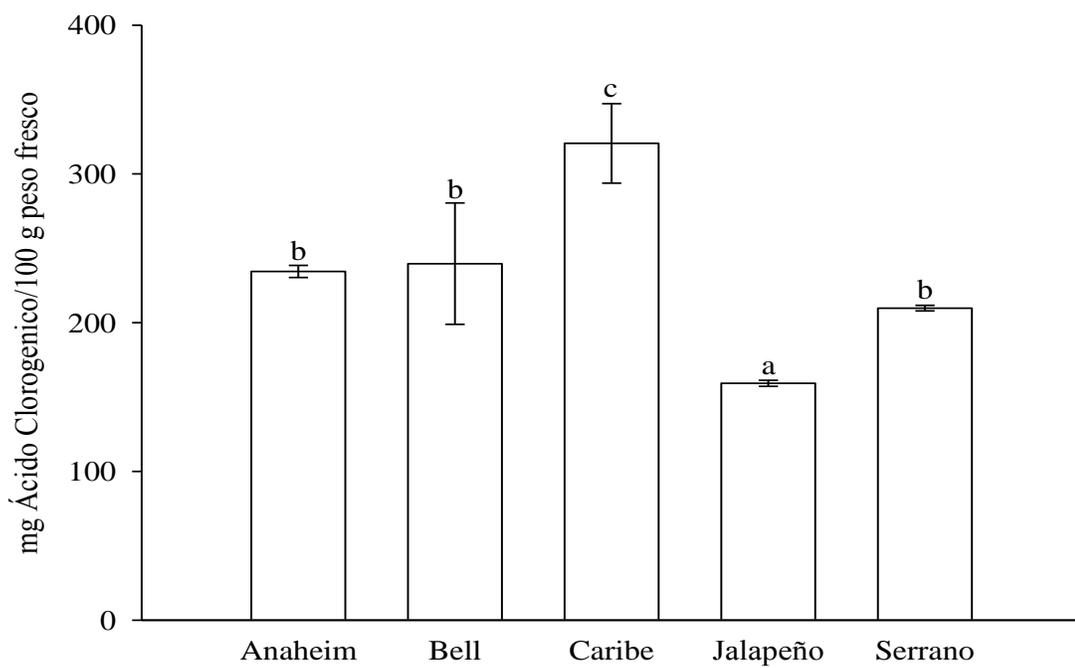


Figura 13. Contenido de fenoles totales de extractos de chile (*C. annuum* L.). Letras diferentes en las barras (a-c) indican diferencia significativa ($P < 0,05$)

Kevers *et al.* (2007) reportaron niveles superiores de fenoles totales en pimientos rojos, amarillos y verdes, (296, 284 y 215 mg/100 g, respectivamente) a los encontrados en espinacas, brócoli, pepinos y zanahorias. Se sabe que el contenido de fitoquímicos, como los compuestos fenólicos presentes en los vegetales, está influenciado por el tipo de cultivar, las condiciones agronómicas, estado de madurez, así como el manejo y tratamientos postcosecha al que fue expuesto el fruto (Howard *et al.*, 2000). Es posible que estas variaciones en el contenido de fenoles se deban a estos factores, así como a las propiedades intrínsecas de los cultivares estudiados.

5.2. Cuantificación de Flavonoides Totales

El contenido de flavonoides totales significativamente mayor ($p < 0.05$) se presentó en el cultivar Caribe (60.36 ± 9.95 mg/100 g pf), seguido por Bell 38.63 ± 0.37 y no encontrándose diferencia significativa entre Anaheim, Serrano y Jalapeño (25.38 ± 3.44 , 32.73 ± 5.32 y 28.77 ± 3.86 mg Quercetina/100 g pf, respectivamente) (Figura 14).

Howard *et al.* (2000), estudió variedades parecidas a las del presente trabajo, encontrando un contenido de flavonoides en los frutos de chile *C. annuum* (Cayenne, Bell, Cascabella y Long Yellow), de 17.17 a 85.49 mg/100 (pf), siendo el chile Cayene el que presentó el contenido significativamente menor ($p < 0.05$) y Long Yellow el de contenido mayor. En este trabajo, los autores reportan un contenido de 31.71 mg/100 mg (pf) para chile Bell, siendo un valor cercano al encontrado en el presente estudio (38.63 mg/100 mg pf).

Por otro lado, Marinova *et al.* (2005), encontraron un intervalo de flavonoides en especies *C. annuum* entre 13.7 (para chile rojo) y 27.4 (para chile verde) mg / 100 g (pf). Contrariamente, Materska y Perucka (2005) encontraron mayor cantidad de flavonoides en chile rojo que en verde.

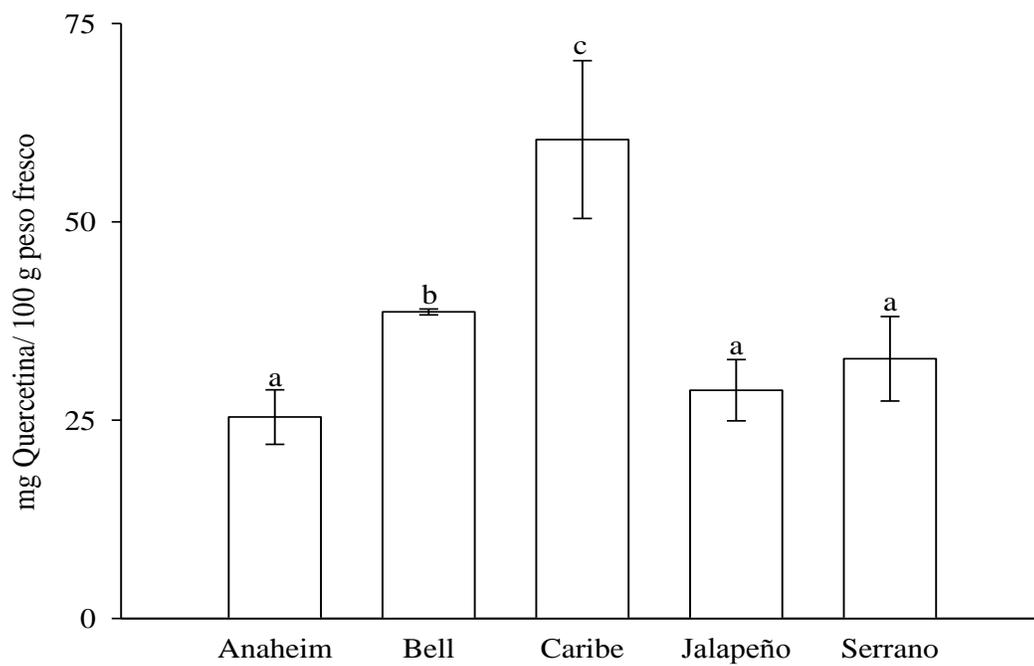


Figura 14. Contenido de flavonoides totales. Letras diferentes en las barras (a-c) indican diferencia significativa ($P < 0,05$)

Sun *et al.* (2007) encontraron en Chile Bell de distintas coloraciones un rango que va desde no detectable hasta 80 mg /100 mg (pf).

5.3. Identificación de los Compuestos Fenólicos por HPLC

Con respecto a la identificación de la fracción de fenólica por HPLC en los cinco cultivares de Chile *C. annuum* (Caribe, Bell, Anaheim, Serrano y Jalapeño) se encontraron ácidos fenólicos (gálico, cafeico y clorogénico) y algunos flavonoides (catequina, epicatequina, rutina, luteolina) y el resveratrol (Tabla 7).

En lo que respecta a la fracción de ácidos fenólicos (gálico, cafeico, clorogénico) de los extractos de los cultivares (Anaheim, Bell, Caribe, Jalapeño y Serrano) de Chile *C. annuum* L., se encontró que el mayor componente encontrado fue el ácido gálico, presentándose un nivel mayor significativamente ($p < 0.05$) en el cultivar de Serrano (11.12 ± 1.63 mg/100 g pf) y Jalapeño (9.91 ± 1.20 mg/100 g pf), encontrándose en el primer extracto diferencias significativas con los extractos de los cultivares Caribe, Bell y Anaheim (8.63 ± 0.96 , 8.18 ± 0.28 y 6.93 ± 0.12 mg/100 g pf), respectivamente (Figura 15).

Además en la fracción de los flavonoides del presente estudio, se encontró que el mayor componente encontrado fue luteolina, presentándose un nivel mayor significativamente ($p < 0.05$) en el cultivar de Bell (4.75 ± 0.17 mg/100 g pf) y Caribe (3.79 ± 1.84 mg/100 g pf), encontrándose en dichos extractos diferencias significativas con los extractos de los cultivares de Serrano, Anaheim y Jalapeño (0.57 ± 0.08 , 0.35 ± 0.00 y 0.01 ± 0.01 mg/100 g pf), respectivamente.

Tabla 7. Principales compuestos fenólicos identificados en extractos de chile (mg/100 g peso fresco)

Cultivares	Ácido Gálico	Ácido Cafeico	Catequina	Ácido Clorogénico	Epicatequina	Rutina	Resveratrol	Luteolina
Anaheim	6.93±0.12 ^a	nd ^d	0.10±0.00 ^a	nd ^d	0.35±0.00 ^a	0.38±0.00 ^a	0.22±0.04 ^a	0.35±0.00 ^a
Bell	8.18 ±0.28 ^b	1.10±0.50 ^a	1.85±0.59 ^b	0.49±0.02 ^a	3.70±0.51 ^b	0.19±0.03 ^b	1.22±0.04 ^b	4.75±0.17 ^b
Caribe	8.63±0.96 ^b	0.49±0.21 ^a	3.47±0.19 ^c	1.03±0.15 ^b	4.42±0.49 ^b	0.79±0.08 ^c	1.45±0.60 ^b	3.79±1.84 ^b
Jalapeño	9.91±1.20 ^{b,c}	nd ^d	0.11±0.00 ^a	nd ^d	0.10±0.00 ^c	0.02±0.00 ^d	nd ^d	0.01±0.01 ^c
Serrano	11.12±1.63 ^c	0.02±0.00 ^b	1.03±0.08 ^d	0.07±0.00 ^c	1.17±0.00 ^d	1.98±0.23 ^e	0.08±0.00 ^c	0.57±0.08 ^d

* Los valores representan la media del triplicado ± desviación estándar. Los valores en las columnas con superíndice distinto (a-e) son significativamente diferentes ($p < 0.05$)
 nd: no detectado

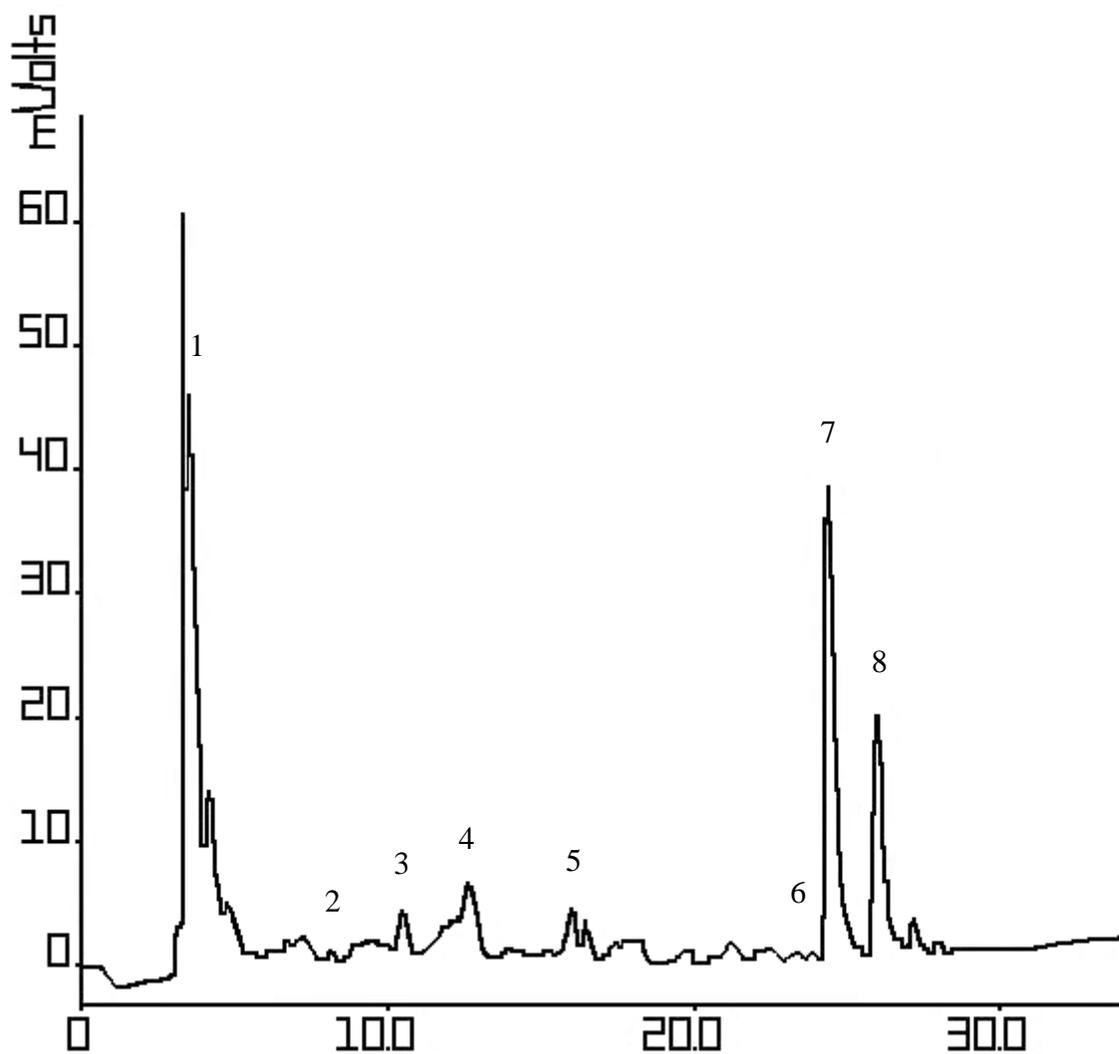


Figura 15. Cromatograma de los principales compuestos fenólicos identificados en el extracto del pericarpio del cultivar de chile (*C. annuum* L.) Caribe. (1) Ácido gálico, (2) ácido cafeico, (3) ácido clorogénico, (4) catequina, (5) epicatequina, (6) rutina, (7) luteolina y (8) resveratrol.

Contrariamente, Kevers *et al.* (2007) encontraron a la quercetina (56 g/100 g pf) y al kaemferol (26 µg/100 g pf) como los flavonoides mayoritarios en pimientos verdes almacenados durante 34 días a 4°C. En estos pimientos no se identificaron los mismos flavonoides encontrados en el presente estudio, probablemente esto se deba a la diferencia del cultivar y a las condiciones a las que estuvieron expuestos los frutos.

Por otro lado, Materska y Perucka (2005), reportaron niveles de luteolina de 2.13, 4.99, 2.11 y 2.84 mg/100 g pf) presente en cuatro variedades de chile (*C. annuum*) Bronowicka Ostra, Cyklon, Tornado y Tajfun, respectivamente.

En cuanto al resveratrol, los extractos de los cultivares Bell y Caribe fueron los que presentaron los contenidos mayores ($p < 0.05$), mientras que el extracto de Jalapeño el contenido de resveratrol no fue detectado. Este compuesto es común encontrarlo en concentraciones mayores en otros frutos, comose ha visto en cultivares de uvas cosechados en el Noroeste de México (Molina *et al.*, 2010).

Estrada *et al.* (2000) evaluaron el contenido de compuestos fenólicos libres (ácidos: protocateico, clorogénico, coumarico y ferúlico) en el cultivar de chile Padron (*C. annuum* L.), durante la maduración del fruto, encontrando que conforme avanza la maduración estos compuestos se degradan.

Marín *et al.*, 2004, caracterizaron el cultivar de chile Bell (*C. annuum* L.) en sus diferentes etapas de maduración, extrajeron e identificaron las fracciones fenólicas, encontrando contenidos de ácido cafeico y luteolina en el fruto verde similares (1.37 y 4.22 mg/100g pf) a los reportados en el presente estudio (1.10 ± 0.50 y 4.75 ± 0.17 mg/100g pf, respectivamente). Por otro lado, Materska y Perucka (2005), reportaron niveles de luteolina de 2.13, 4.99, 2.11

y 2.84 mg/100 g pf) presente en cuatro variedades de chile (*C. annuum*) Bronowicka Ostra, Cyklon, Tornado y Tajfun, respectivamente.

5.4. Capacidad Antioxidante Equivalente a Trolox (TEAC)

En lo que respecta a la capacidad antioxidante a través de ABTS^{•+} a los 7 min, no se encontraron diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los extractos de los cinco cultivares de chile (Anaheim, Bell, Caribe, Jalapeño y Serrano). Por lo tanto, para obtener resultados con mayor precisión al hacer la comparación entre las actividades antioxidantes de los extractos de chile, se tomó en cuenta la capacidad antioxidante inmediata medida al minuto de reacción (Figura 16). A estas condiciones, se encontró que la capacidad antioxidante significativamente mayor ($p < 0.05$) fue exhibida por los extractos de Bell y Caribe (34.44 ± 0.43 y 33.60 ± 1.35 milimoles de equivalente Trolox /g pf) y la capacidad menor fue para el extracto de Jalapeño con 17.06 ± 1.11 milimoles de equivalente Trolox /g (pf). Para el cultivar Bell, Sun y Tanumihardjo (2007) reportaron una capacidad menor a la reportada en el presente trabajo (aproximadamente 8.40 milimoles de equivalente Trolox /g pf).

Navarro *et al.* (2006) realizaron un estudio sobre la actividad antioxidante bajo estrés salino en distintas etapas de maduración del fruto Bell; en el cual concluyó que a una salinidad moderada se presenta un incremento significativo en las propiedades antioxidantes (ABTS^{•+}) de los chiles conforme se incrementa la maduración del fruto. Pellegrini *et al.* (2003), estudiaron la actividad antioxidante de varios vegetales con varios métodos de evaluación (FRAP, TRAP, ABTS^{•+}), encontrando que el cultivar Bell (rojo) presentó la mayor capacidad antioxidante de los vegetales

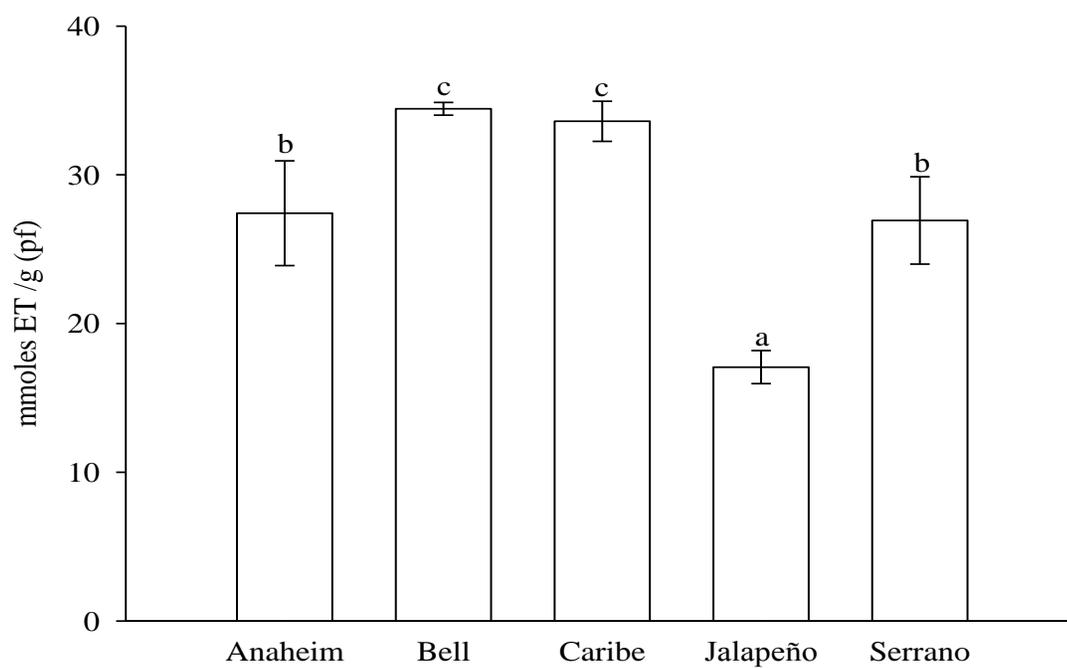


Figura 16. Capacidad Antioxidante inmediata (1 min) medida en milimoles equivalentes trolox por gramo de peso fresco (mmoles ET/ g pf) para los extractos Fenolicos del pericarpio de chile (*C. annuum* L.). Letras diferentes en las barras (a-c) indican diferencia significativa ($P < 0,05$).

estudiados con 8.40 y 7.62 milimoles equivalentes Trolox / g (pf), respectivamente.

5.5. Capacidad Antioxidante por Método DPPH[•]

En la Figura 17, se muestran los valores del porcentaje de inhibición del radical (% IR) 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH[•]). Se observa que Bell y Caribe presentaron alrededor del 60.41 y 83.44% de inhibición, respectivamente. Serrano, Anaheim y Jalapeño (44.66, 29.08 y 8.45, respectivamente) no alcanzaron el 50% de inhibición, razón por la cual no se reporta la concentración equivalente (EC₅₀). Los resultados obtenidos confirman que todos los extractos de chile presentaron una importante capacidad antioxidante, atribuida principalmente al contenido alto de compuestos fenólicos, los cuales correlacionaron sobre todo en la estabilización del radical libre DPPH (r = 0,914).

Los compuestos fenólicos encontrados pueden estar contribuyendo a la capacidad antioxidante alta de los cultivares Bell y Caribe. Fabris *et al.*, en el 2008, encontraron una capacidad antioxidante de resveratrol es similar al BHT y α -tocoferol. La presencia de niveles altos de fenoles en el fruto tiene un impacto importante en la calidad del fruto, ya que además de participar en la reducción de reacciones de oxidación, contribuye al valor nutrimental y a la capacidad antioxidante total. Por lo que es importante considerar la aplicación de métodos para inducir la síntesis o para conservar los niveles de estos compuestos.

Materska y Perucka (2005), encontraron en las fracciones aisladas de flavonoides en chile picante (*C. annuum* L.), una actividad de 15 al 77 % IR. Guil-Guerrero *et al.* (2006) compararon la capacidad antioxidante de los extractos de diferentes cultivares de chile Bell (*Capsicum annuum* L.) en sus

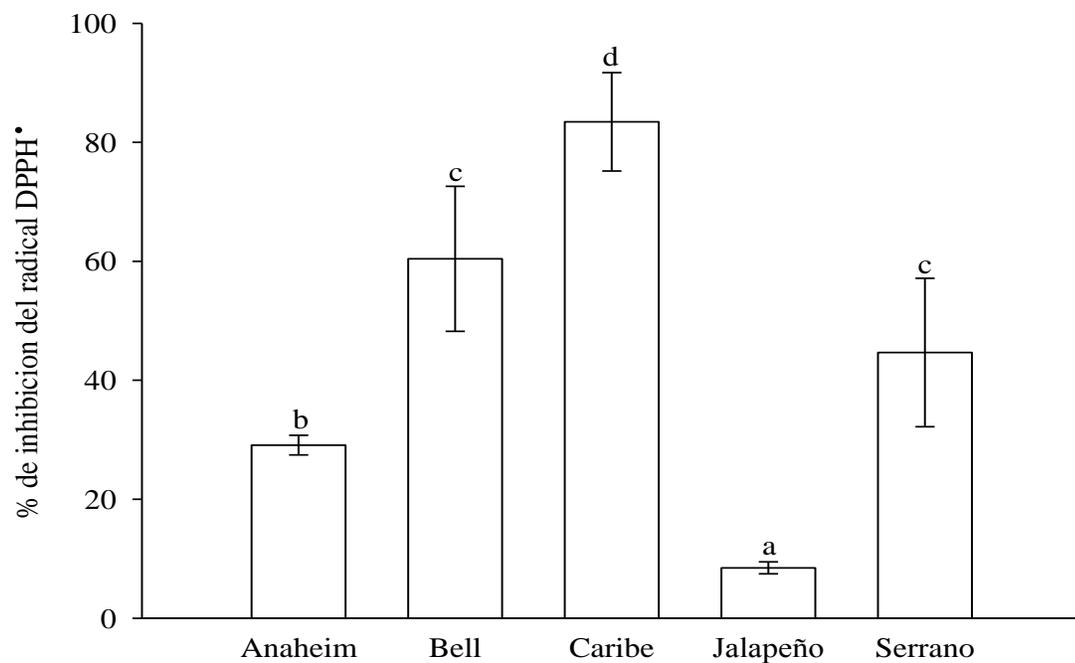


Figura 17. Capacidad antioxidante medida en porcentaje de inhibición del radical DPPH• (Radical Scavenging Activity, RSA) para los extractos fenólicos del pericarpio de chile (*C. annuum* L.). Letras diferentes en las barras (a-d) indican diferencia significativa ($P < 0,05$).

extractos de los cultivares de chiles y los antioxidantes comerciales presentaron valores similares de la inhibición del radical DPPH[•]. El valor más bajo se obtuvo en el chile verde (Green Italian) con alrededor del 50% de inhibición.

Lo anterior concuerda con Matsufuji *et al.*, (2007), quienes realizaron un estudio sobre las diferencias de la capacidad antioxidante entre las distintas coloraciones del pericarpio de chile Bell (*C. annuum* L.), encontrando que la mayor inhibición del radical se presenta en el pericarpio chile Bell rojo (alrededor del 90 %) y la menor capacidad detectada fue en la coloración verde (alrededor del 10%).

Helmja *et al.*, (2007), realizaron un estudio en algunos productos de la familia de la Solanaceas (berenjena, chile, papa y tomate), encontrando una capacidad antioxidante intermedia (50% de inhibición del radical DPPH[•]) en el chile pungente (*C. annuum*), valor similar al encontrado en el extracto metanólico de Serrano del presente estudio.

Recientemente Ünver *et al.* (2009), realizaron un estudio en nueve especias, encontrando que la mayor capacidad antioxidante medida a través de la inhibición del radical DPPH[•] fue para el *C. annuum* con una concentración de 0.103 mg/mL, la cual representa el 50% de inhibición del radical.

5.6. Determinación de la Inhibición de la Oxidación de Colesterol por HPLC

En la Figura 18, la determinación del porcentaje de la inhibición de la oxidación de colesterol, se encontró que no hubo diferencia significativa entre los extractos metanólicos de cada uno de los cultivares de chile (*C. annuum*) estudiados en el presente trabajo y el tocoferol (antioxidante comercial). El

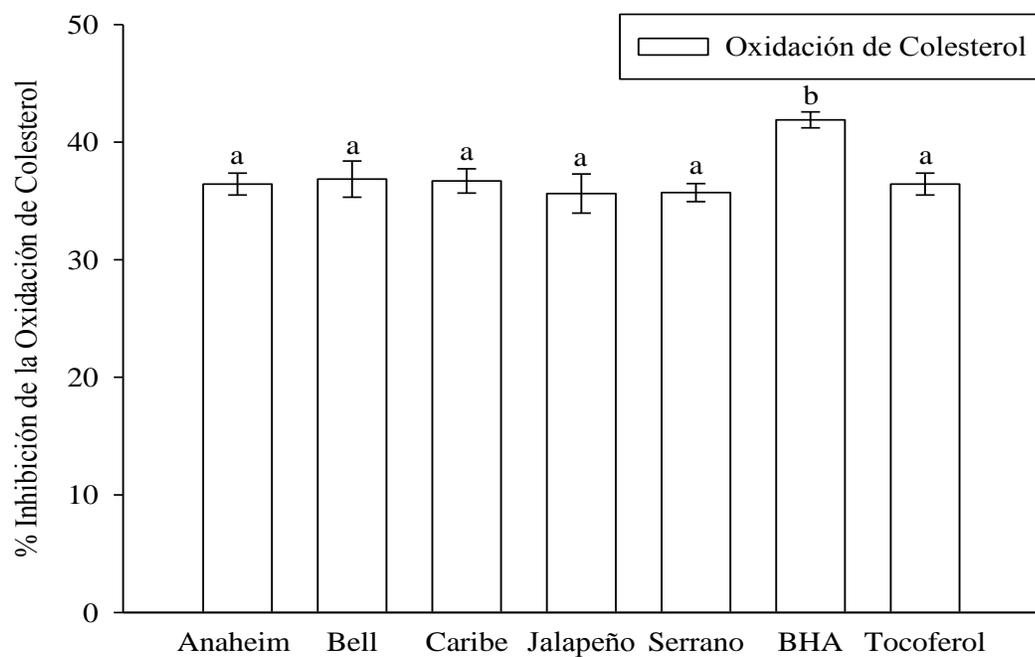


Figura 18. Inhibición de la oxidación de colesterol de los extractos de chile (*C. annuum* L.), tocoferol y BHA. Letras diferentes en las barras (a-b) indican diferencia significativa ($P < 0,05$)

antioxidante sintético comercial butil-hidro-anisol (BHA) presentó el más alto porcentaje de inhibición del colesterol (41.89 %).

Sun *et al.* (2007), evaluaron la capacidad de inhibir la oxidación del colesterol, en cultivares de Bell en distintas coloraciones, encontrando un porcentaje significativamente mayor ($p < 0.05$) de colesterol remanente en los tubos con extracto verde (71.3 ± 12.0). El porcentaje de colesterol remanente en el tubo con el extracto de chile amarillo fue de 66.1 ± 27.4 , extracto de chile anaranjado de 62.0 ± 12.1 y para el extracto de chile rojo fue de 84.4 ± 15.6 .

5.7. Cuantificación de Capsaicinoides por HPLC

Los volúmenes obtenidos en los extractos de cada uno de los cultivares de chile variaron de 1 a 1.8 mL de extractos, con tonalidades verdosas claras para los extractos excepto en el extracto de chile Caribe que su tonalidad fue un ámbar claro.

En la Tabla 8, se pueden observar los niveles de capsaicina en los extractos de cada uno de los cultivares de chile en estudio, encontrándose diferencias significativas ($p < 0.05$) entre cada uno de ellos Jalapeño > Caribe > Serrano > Anaheim > Bell. La concentración mayor de dihidrocapsaicina se encontró en Bell $132.88 \pm 13.75 \mu\text{g/g}$ peso seco (ps), encontrándose diferencia significativa ($p < 0.05$) con Jalapeño y Serrano (64.39 ± 2.84 y $43.88 \pm 2.79 \mu\text{g/g}$ ps). La dihidrocapsaicina, no fue detectada en los extractos de Anaheim y Caribe.

Estrada *et al.* (2000) reportan que los niveles de capsaicinoides van aumentando conforme avanza la maduración, encontrando niveles de concentración de capsaicinoides entre 150 a 700 μg de capsaicinoides totales/g (ps).

Tabla 8. Contenido de capsaicinoides identificados en los extractos de chile *C. annuum* L. ($\mu\text{g/g}$ peso seco)

Cultivares	Capsaicina	Dihidrocapsaicina
Anaheim	49.33 \pm 3.66 ^b	nd ^a
Bell	38.18 \pm 2.78 ^a	132.88 \pm 13.75 ^d
Caribe	82.32 \pm 2.54 ^d	nd ^a
Jalapeño	106.09 \pm 17.21 ^e	64.39 \pm 2.84 ^c
Serrano	61.14 \pm 4.37 ^c	43.88 \pm 2.79 ^b

Letras diferentes en las barras (a-e) indican diferencia significativa ($P < 0.05$)

Estrada *et al.* (2002), evaluaron los órganos vegetativos (hojas y tallo) de la planta de chile (*C. annuum* L.) del cultivar padrón, el cual creció bajo condiciones de invernadero, encontrando en las hojas de la planta dividida en tres partes: 13.53 μg de capsaicinoides /g hojas (ps) en la parte inferior, 15.73 $\mu\text{g/g}$ hojas (ps) en la parte intermedia y por ultimo en la parte superior 15.80 $\mu\text{g/g}$ hojas (ps). En el tallo de la planta (dividido en tres partes): 33.35 μg de capsaicinoides /g tallo (ps) en la parte inferior, 24.80 $\mu\text{g/g}$ tallo (ps) en la parte intermedia y finalmente 23.88 $\mu\text{g/g}$ tallo (ps) en la parte superior, todos estos resultados se obtuvieron dentro de la etapa de producción de frutos en la planta.

Antonious *et al.* (2006) estudiaron diferentes géneros de *Capsicum*, encontrando niveles de concentración de capsaicinoides menores (0.9 a 2.5 μg de capsaicina /g ps) a los encontrados en los cultivares estudiados en la presente investigación. Materska y Perucka (2005), encontraron en las fracciones aisladas de capsaicinoides una actividad antioxidante de 9 al 11 % de inhibición del radical (DPPH[•]).

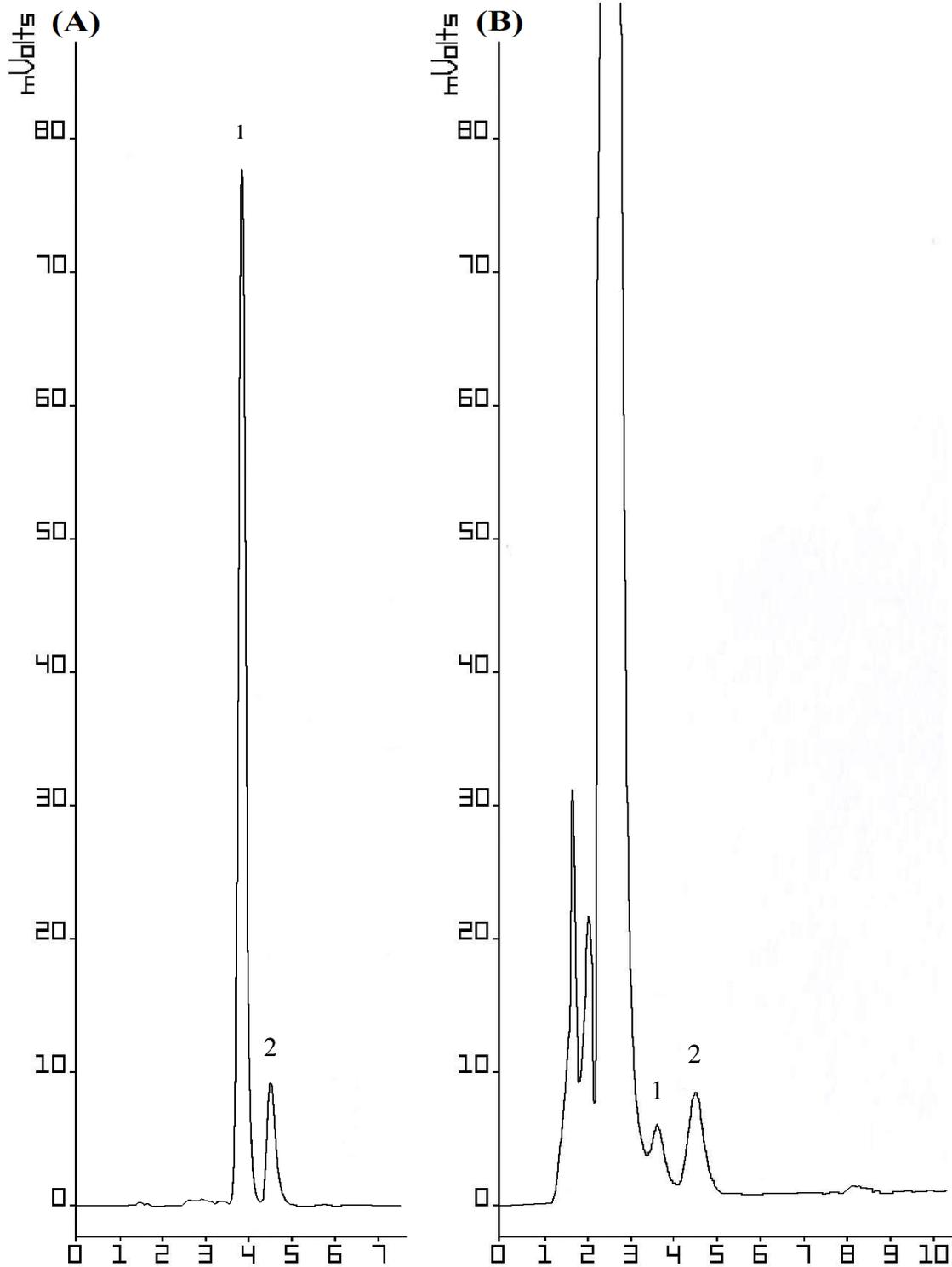


Figura 19. Cromatograma de los capsaicinoides en el extracto del pericarpio del cultivar de chile (*C. annuum* L.) Bell. (A) Estándares, (B) extracto, (1) capsaicina y (2) dihidrocapsaicina.

5.8. Análisis de Carotenoides por HPLC

El contenido de carotenoides presentes en los extractos de los cultivares de chile se muestra en la Tabla 9, donde se observa que el extracto de menor contenido de carotenoides y clorofilas se presentó en el cultivar de chile Caribe, con 0.95 ± 0.07 , 0.55 ± 0.14 , 0.53 ± 0.02 y 0.50 ± 0.06 $\mu\text{g}/100$ g (ps) de luteína, β -caroteno, clorofila-a y clorofila-b, respectivamente.

Se encontraron diferencias significativas ($p < 0.05$) en el contenido de β -Caroteno entre cada extracto de chile, correspondiendo el mayor nivel al cultivar de Serrano y al menor al extracto del cultivar Caribe (Serrano > Jalapeño > Bell > Anaheim > Caribe). En lo que respecta a Luteína, los niveles significativamente mayores ($p < 0.05$) se presentaron en los extractos de Jalapeño y Serrano, con 11.11 ± 0.80 y 10.63 ± 0.66 $\mu\text{g}/\text{g}$ (ps) respectivamente; encontrándose diferencias significativas ($p < 0.05$) con los extractos de Bell y Anaheim (9.04 ± 0.82 y 7.79 ± 0.76 , respectivamente), como se observa en el cromatograma (Figura 20).

En la caracterización que realizaron Marín *et al.* (2004) al cultivar de chile Bell (*C. annuum* L.) en sus diferentes coloraciones, encontraron que el contenido de carotenoides en chiles de coloración verde fue mayor, con una concentración de luteína de 13.6 $\mu\text{g}/\text{g}$ (pf) y de β -caroteno 20.9 $\mu\text{g}/\text{g}$ (pf).

Los niveles de clorofila-a, en los extractos de chile presentaron diferencias significativas ($p < 0.05$) entre cada uno de ellos (Jalapeño > Serrano > Anaheim > Bell > Caribe). Por otro lado, los mayores niveles de clorofila-b, se presentaron en los extractos de chile de los cultivares de Jalapeño, Serrano

Tabla 9. Contenido de Carotenoides y Clorofilas identificados en los extractos de pericarpio liofilizado de chile (*C. annuum* L.) en $\mu\text{g/g}$ peso seco (ps).

Cultivares	Luteína	β -Caroteno	Clorofila-b	Clorofila-a
Anaheim	7.79 \pm 0.76 ^b	5.42 \pm 0.42 ^c	55.64 \pm 1.50 ^b	20.88 \pm 2.14 ^c
Bell	9.04 \pm 0.82 ^b	6.88 \pm 0.22 ^b	80.37 \pm 3.02 ^c	2.39 \pm 0.45 ^b
Caribe	0.95 \pm 0.07 ^a	0.53 \pm 0.02 ^a	0.50 \pm 0.06 ^a	0.55 \pm 0.14 ^a
Jalapeño	11.11 \pm 0.80 ^c	8.19 \pm 0.64 ^d	91.33 \pm 1.36 ^d	39.59 \pm 4.46 ^e
Serrano	10.63 \pm 0.66 ^c	9.79 \pm 0.36 ^e	86.21 \pm 5.98 ^{c,d}	29.63 \pm 1.74 ^d

Letras diferentes en las barras (a-e) indican diferencia significativa ($P < 0.05$)

y Bell, siendo este ultimo el que presentó diferencias significativas ($p < 0.05$) con el de mayor contenido Jalapeño.

Mínguez-Mosquera y Hornero-Méndez (1993) evaluaron la composición de carotenoides de dos cultivares de chiles (*C. annuum* L) verdes; Bola y Agridulce, los cuales son utilizados industrialmente para la obtención de oleorresinas y paprika, encontrando valores de luteína entre 14.09 y 7.95 $\mu\text{g/g}$ (pf), respectivamente. Además, los niveles de β -caroteno se encontraron entre 7.98 y 6.23 $\mu\text{g/g}$ (pf), en Bola y Agridulce, respectivamente. Por otro lado, en la identificación y cuantificación de carotenoides en cultivares similares a los del presente estudio, realizada por Howard *et al.* (2000), no encontraron α -caroteno, ni capsantina en los extractos de chile Bell, pero si reportaron niveles menores de luteína (1.86 $\mu\text{g/g}$) y similares (7.65 $\mu\text{g/g}$) de β -caroteno a los encontrados en el presente estudio. Además, Marín *et al.* (2004), encontraron en el cultivar de chile (*C. annuum* L.) Bell, niveles de: luteína y de β -caroteno de (1.36 y 2.09 mg/100 g pf, respectivamente), menores a los encontrados en el presente estudio.

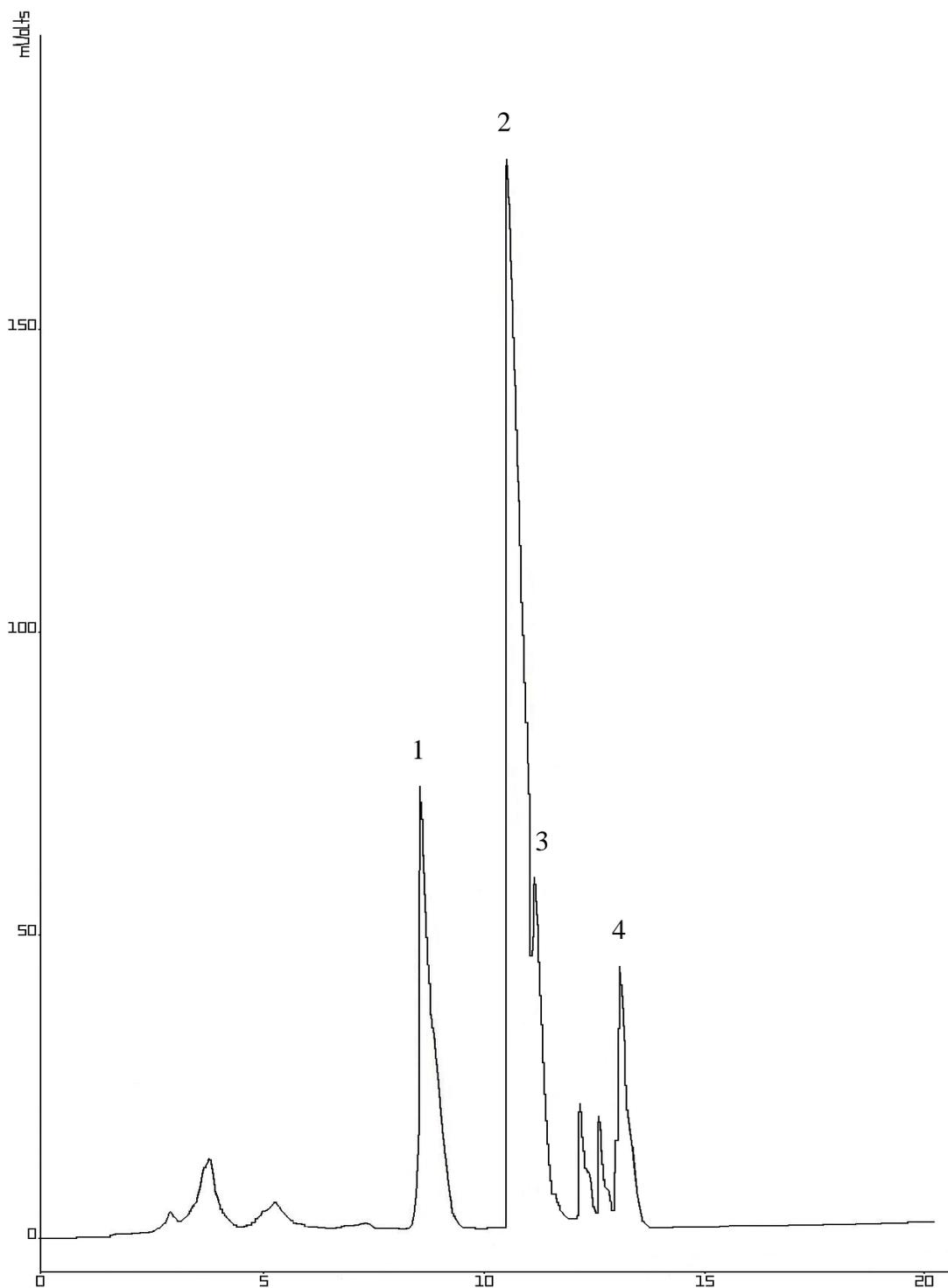


Figura 20. Cromatograma de los principales carotenoides y clorofilas identificados en el extracto del pericarpio del cultivar de chile (*C. annuum* L.) Anaheim. (1) luteína, (2) Clorofila b, (3) Clorofila a y (4) β -caroteno.

Burns *et al.* 2003, identificaron y cuantificaron carotenoides, tocoferoles y clorofilas en frutas y vegetales que se consumen con frecuencia, encontrando en chile verde un contenido de carotenoides (luteína y β -caroteno) totales de 116.9 $\mu\text{g/g}$ (ps), de los cuales 64.1 $\mu\text{g/g}$ (ps) corresponden a luteína, 19.0 $\mu\text{g/g}$ ps a β -caroteno. Además, se encontró en esta muestra, una concentración de 0.1 μg de α -tocoferol/g ps. En cuanto a clorofilas respecta se encontraron niveles de 412.5 μg de clorofila-a/g (ps) y 385.3 μg de clorofila-b/g (ps), niveles mayores a los reportados en el presente estudio.

Guil-Guerrero *et al.* (2006), identificaron un total de 22 componentes (picos) en los frutos de diferentes chiles. Estos autores reportaron valores de luteína similares (5.1 y 18.9 $\mu\text{g/g}$ ps) a los encontrados en el presente estudio para los cultivares Anaheim (Green Italian) y Serrano (Green Pricking), respectivamente.

5.9. Cuantificación de los Tocoferoles por HPLC

El contenido de α -tocoferol presente en todos los extractos oleosos de los cultivares de chile (*C. annuum* L.) en estudio fue de dos a catorce veces mayor que el γ -tocoferol. Howard y Wildman (2007) reportaron que el pericarpio de chile es rico en α -tocoferol.

El contenido de α -tocoferol (Tabla 10 y Figura 21) mayor correspondió al extracto del cultivar Caribe con una concentración de $779.29 \pm 72.48 \mu\text{g}/100 \text{ g}$ (pf). El contenido menor lo presentó el extracto del cultivar Jalapeño con $282.78 \pm 15.19 \mu\text{g}/100 \text{ g}$ (pf). No se encontraron diferencias significativas en el contenido de α -tocoferol entre los cultivares de Anaheim y Serrano (491.53 ± 43.21 y $467.24 \pm 25.50 \mu\text{g}/100 \text{ g}$ pf, respectivamente), pero si entre éstos y el cultivar Bell ($676.48 \pm 14.26 \mu\text{g}/100 \text{ g}$ pf).

Tabla 10. Contenido de tocoferoles presentes en los extractos de chile (*C. annuum* L.) en $\mu\text{g/g}$ peso fresco (pf).

Cultivares	α -tocoferol	γ -tocoferol
Anaheim	491.53 \pm 43.21 ^b	206.60 \pm 14.83 ^d
Bell	676.48 \pm 14.26 ^c	159.04 \pm 10.89 ^c
Caribe	779.29 \pm 72.48 ^d	183.39 \pm 11.79 ^{c,d}
Jalapeño	282.78 \pm 15.19 ^a	32.96 \pm 1.80 ^a
Serrano	467.24 \pm 25.50 ^b	70.26 \pm 6.41 ^b

Letras diferentes en las barras (a-d) indican diferencia significativa ($P < 0,05$).

En lo que respecta al γ -tocoferol (Tabla 10 y Figura 21), el contenido significativamente mayor se presentó en los extractos de los cultivares Anaheim y Caribe con niveles de 206.60 \pm 14.83 y 183.39 \pm 11.79 $\mu\text{g}/100\text{ g}$ (pf), mientras que los niveles menores se presentaron en los extractos de Bell, Serrano y Jalapeño (159.04 \pm 10.89, 70.25 \pm 6.41 y 32.96 \pm 1.80 $\mu\text{g}/100\text{ g}$ (pf), respectivamente.

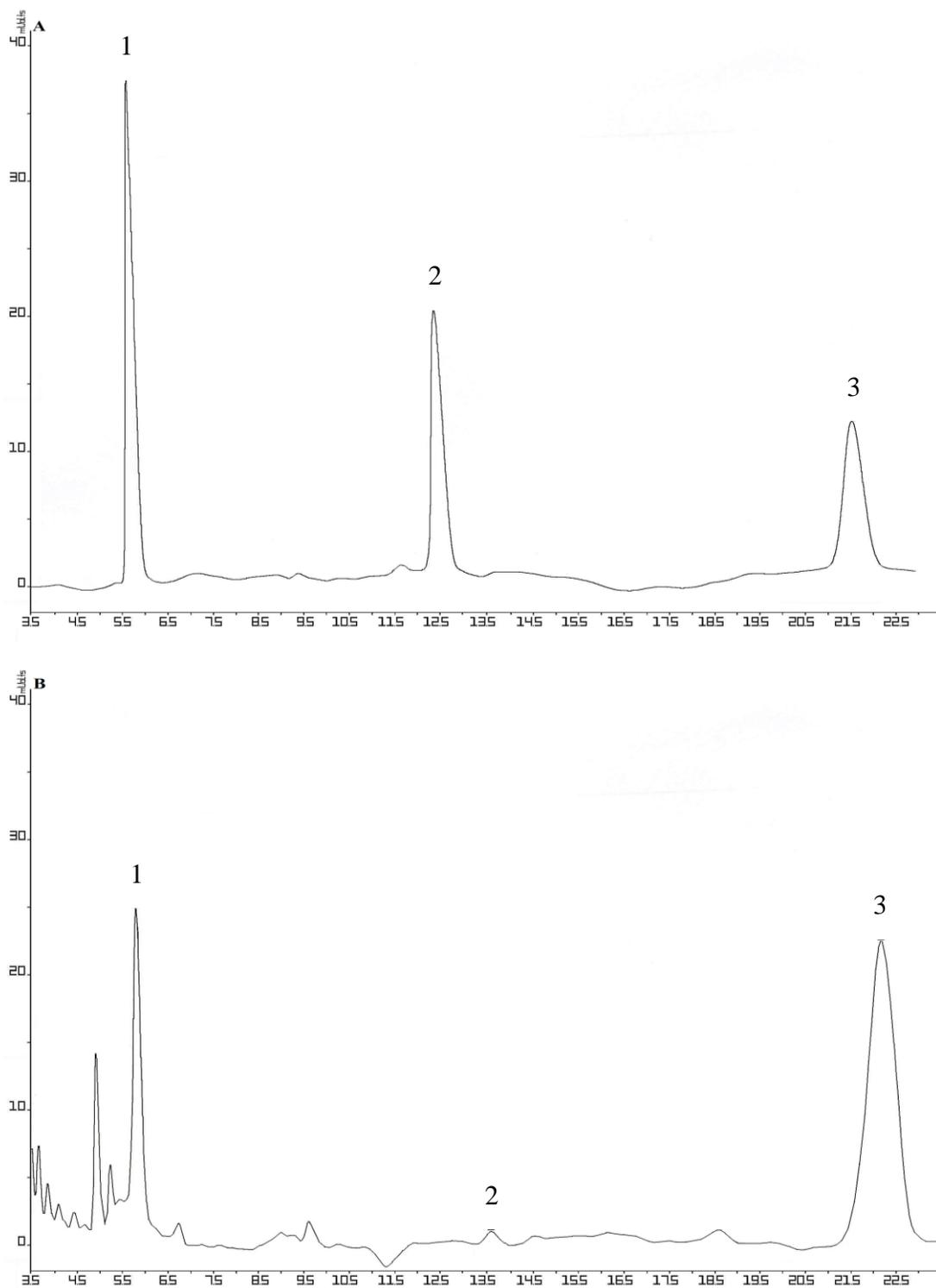


Figura 21. Cromatograma de los principales tocoferoles identificados en el extracto del pericarpio del cultivar de chile (*C. annuum* L.) Anaheim. (A) Estándares, (B) extracto, (1) α -tocoferol, (2) γ -tocoferol y (3) δ -tocoferol.

VI. CONCLUSIONES

El extracto metanólico proveniente del pericarpio del cultivar de chile Caribe presentó el contenido de fenoles totales más alto (320.54 mg/100 g pf); mientras que el contenido menor correspondió al cultivar Jalapeño (159.23 mg/100 g pf).

En la fracción de fenólica de los cultivares de chile *C. annuum* (Caribe, Bell, Anaheim, Serrano y Jalapeño) se encontró al ácido gálico como el componente principal.

El contenido mayor ($p < 0.05$) de flavonoides totales se presentó en el cultivar Caribe (60.36 mg/100 g pf), seguido por Bell (8.63 mg/100 g pf). No se encontró diferencias significativas entre Anaheim, Serrano y Jalapeño. En la fracción de flavonoides se encontraron en mayor concentración a la epicatequina y a la luteolina, especialmente en los cultivares de chile Bell y Caribe.

En lo que respecta a la capacidad antioxidante a través del radical ABTS^{•+} y DPPH[•] se encontró que la capacidad antioxidante mayor fue exhibida por los extractos de Bell y Caribe y la menor fue para el extracto de Jalapeño.

Se encontró que no hubo diferencia significativa en la inhibición de la oxidación de colesterol, entre los extractos metanólicos de cada uno de los cultivares de chile (*C. annuum* L.) y el tocoferol (antioxidante comercial). El antioxidante sintético comercial butil-hidro-anisol (BHA) presentó el más alto porcentaje de inhibición de la oxidación del colesterol.

Se encontraron diferencias significativas en los niveles de capsaicina presente en los extractos de cada uno de los cultivares de chile (Jalapeño>Caribe>Serrano>Anaheim>Bell). La concentración mayor de dihidrocapsaicina se encontró en Bell. La dihidrocapsaicina, no fue detectada en los extractos de Anaheim y Caribe.

Se encontraron diferencias significativas en el contenido de β -caroteno entre cada extracto de chile, correspondiendo el nivel mayor al cultivar de chile Serrano y al menor al extracto del cultivar Caribe (Serrano>Jalapeño>Bell>Anaheim>Caribe). En lo que respecta a la luteína, los niveles significativamente mayores se presentaron en los extractos de Jalapeño y Serrano.

Los niveles mayores de clorofila-a y -b se encontraron en los extractos de chile Jalapeño y Serrano.

El contenido de α -tocoferol presente en todos los extractos de los cultivares de chile en estudio fue de dos a catorce veces mayor que el γ -tocoferol. El contenido mayor de α -tocoferol lo presentaron los extractos de los cultivares de Caribe y Anaheim; mientras que los contenidos significativamente menores se encontraron en los extractos de Jalapeño, Serrano y Bell.

A pesar de que todos los extractos fenólicos de los chiles estudiados presentaron actividad antioxidante, se concluye que los cultivares de chile Caribe y Bell fueron los que presentaron la mayor capacidad antioxidante, esto podría deberse a que éstos cultivares tuvieron los niveles más altos de compuestos fenólicos totales, flavonoides totales, catequina, epicatequina, luteolina y resveratrol.

VII. RECOMENDACIONES

Se recomienda evaluar la capacidad antioxidante de las fracciones de carotenoides, tocoferoles y capsaicinoides por separado.

No obstante los ensayos de la capacidad antioxidante *in vitro* proporcionan un conocimiento aproximado de lo que ocurre en sistemas *in vivo*, es necesario, en estudios futuros considerar los estudios de la capacidad antioxidante total de extractos de vegetales tales como los chiles *in vivo*.

Promover el consumo de chile regional, dando a conocer los compuestos antioxidantes que contiene, así como los beneficios de su consumo como alimento funcional.

VIII. REFERENCIAS

- Abushita, A. A., Daood, H. G. y Biacs, P. A. 2000. Change in carotenoids and antioxidant vitamins in tomato as a function of varietal and technological factors. *J. Agric. Food Chem.* 48: 2075–2081.
- Aluru, M.R., Mazourek ,M., Landry, L.G., Curry, J., Jahn, M. y O’Connell, M.A. 2003. Differential expression of fatty acid synthesis genes, *Acl*, *Fat* and *Kas*, in *Capsicum* fruit. *J. Exp. Bot.* 54:1655–1664.
- Antonious, G. F. y Jarret, R. L. 2006. Screening *Capsicum* accessions for capsaicinoids content. *J. Environ, Sci. Health B.* 41 (5): 717-729.
- AOCS. 2009. Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists’ Society, 4th ed., Method Ce 8-89. Amer. Oil Chemists’ Society, Champaign, IL.
- Appendino, G. 2008. Capsaicin and Capsaicinoids. p. 73-110. En: E. Fattorusso y O. Tagliatela-Scafati (eds.), *Modern Alkaloids: Structure, Isolation, Synthesis and biology.* Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. Weinheim, Alemania.
- Attuquayefio, V. K. y Buckle, K. A. 1987. Rapid sample preparation method for HPLC analysis of capsaicinoids in *Capsicum* fruits and oleoresins. *J. Agric. Food Chem.* 35: 777-779.
- Barbero, G.F., Palma, M. y Barroso, C.G. 2006. Pressurized Liquid Extraction of Capsaicinoids from Peppers *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 54 (9): 3231-3236.
- Bertram, J.S. y Vine A.L. 2005. Cancer prevention by retinoids and carotenoids: independent action on a common target. *Biochimica et Biophysica Acta.* 1740(2):170–178.

- Blum, E., Mazourek, M., O'Connell, M., Curry, J., Thorup, T., Liu, K., Jahn, M. y Paran, I. 2003. Molecular mapping of capsaicinoid biosynthesis genes and quantitative trait loci analysis for capsaicinoid content in *Capsicum*. *Theoretical and Applied Genetics*. 108: 79–86.
- Bosland, P.W. 1996. *Capsicums: Innovative uses of an ancient crop*. En: J. Janick, (ed.) *Progress in new crops*, 479-487. Ed. ASHS Press, Arlington, VA, Estados Unidos de América. <http://www.hort.purdue.edu/newcrop/proceedings1996/V3-479.html>
- Bruno, R.S. y Medeiros, D.M. 2000. Lutein, Zeaxanthin, and age-related macular degeneration. *Journal of Nutraceuticals, Functional and Medical Foods*. 3(1): 79-85.
- Burns, J., Fraser, P. D. y Bramley, P. M. 2003. Identification and quantification of carotenoids, tocopherols and chlorophylls in commonly consumed fruits and vegetables. *Phytochemistry*. 62:939–947.
- Cano, A., Alcaraz, O., Acosta, M. y Arnao, M. B. 2002. On-line antioxidant activity determination: comparison of hydrophilic and lipophilic antioxidant activity using the ABTS^{•+} assay. *Redox Report*. 7: 103-109.
- Cázares-Sánchez, E., Ramírez-Vallejo, P., Castillo-González, F., Soto-Hernández, R. M., Rodríguez-González, M. T. y Chávez-Servia, J. L. 2005. Capsaicinoids and preference of use in different morphotypes of chili peppers (*Capsicum annuum* L.) of eastcentral Yucatán. *Agrociencia* 39: 627-638.
- Che Man, Y.B. y Tan C.P. 2003. Carotenoids. En: Gunstone, F.D. (ed) *Lipids for functional foods and nutraceuticals*, Oily Press, Bridgwater, pp 25–52.
- Chitindingu, K., Ndhlala, A.R., Chapano, C., Benhyura, M.A. y Muchuweti, M. 2006. Phenolic compound content, profiles and antioxidant activities of *Amaranthus hybridus* (pigweed), *Brachiaria brizantha* (upright brachiaria) and *Panicum maximum* (guinea grass). *Journal of Food Biochemistry*. 31: 206–216.

- Consejo Nacional de Productores de Chile. www.conaproch.org
- Cooper, D.A. 2004. Carotenoids in health and disease: recent scientific evaluations, research recommendations and the consumer. *J. Nutr.* 134: 221S–224S.
- Curry, J., Aluru, M., Mendoza, M., Nevarez, J., Melendrez, M., O’Connell, M.A. 1999. Transcripts for possible capsaicinoid biosynthetic genes are differentially accumulated in pungent and non-pungent *Capsicum* spp. *Plant Sci.* 148:47–57.
- Daood, H.G., Kapitany, J., Biacs, P. y Albrecht, K. 2006. Drying temperature, endogenous antioxidants and capsaicinoids affect carotenoid stability in paprika (red pepper spice). *J. Sci. Food Agr.* 86:2450–2457.
- Dávalos, A., Fernandez-Hernando, C., Cerrato, F., Martinez-Botas, J., Gomez-Coronado, D., Gomez-Cordoves, C. y Lasuncion, M. A. 2006. Red Grape Juice Polyphenols Alter Cholesterol Homeostasis and Increase LDL-Receptor Activity in Human Cells In Vitro. *J. Nutr.* 136:1766–1773.
- De, A.K. (Ed). 2003. *Capsicum*. The Genus *Capsicum*. (Indian Science Congress Association, Calcutta). Taylor & Francis, London. 275 p.
- Delgado-Vargas, F. y Paredes-López, O. 2003. Natural colorants for food and nutraceutical uses. CRC Press. Boca Ratón, FL, EE UU. 327 pp.
- Díaz, J., Bernal, A., Merino, F. y Ros-Barcelo, A. 1998. Phenolic metabolism in *Capsicum annuum* L. *Recent Res. Dev. Phytochem.* 2: 155-169.
- Estrada, B., Bernal, M. A., Diaz, J., Pomar, F. y Merino, F. 2002. Capsaicinoids in vegetative organs of *Capsicum annuum* L. in relation to fruiting. *J. Agric. Food Chem.* 50: 1188-1191.
- Estrada, B., Bernal, M.A., Federico, J.D., Pomar, F. y Merino, F. 2000. Fruit development in *Capsicum annuum*: changes in capsaicin, lignin, free phenolics, and peroxidase patterns. *J Agric Food Chem* 48:6234–6239.
- Everhart, E., Haynes, C. y Jauron R. 2002. Guía de Horticultura de Iowa State University. El huerto doméstico. Iowa State University. Extension. 1–4.

- Fabris, S., Momo, F., Ravagnan G. y Stevanato, R. 2008. Antioxidant properties of resveratrol and piceid on lipid peroxidation in micelles and monolamellar. *Biophysical Chemistry*. 135: 76–83.
- Ferrari, C. K. B. y Torres, E. A. F. 2003. Biochemical pharmacology of functional foods and prevention of chronic diseases of aging. *Biomed. Pharmacother.* 57: 251-260.
- Garcés-Claver, A., Gil-Ortega, R., Álvarez-Fernández, A. y Arnedo-Andrés, M.S. 2007. Inheritance of Capsaicin and Dihydrocapsaicin, Determined by HPLC-ESI/MS, in an Intraspecific Cross of *Capsicum annuum* L. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 55 (17): 6951-6957.
- García-Alonso, F.J., Periago, M.J., Vidal-Guevara, M.L., Cantos, E., Ros, G., Ferreres, F. y Abellán, P. 2003. Assessment of the antioxidant properties during storage of a dessert made from grape, cherry, and berries. *J. Food Sci.* 68(4): 1525–1530.
- García-Galindo, H., Ortega-Martínez, J., García-Rosales, M., Martínez, C. y Berestáin, C. 1995. La capsaicina, el principio pungente del chile, su naturaleza, absorción, metabolismo y efectos farmacológicos. *Ciencia*. 46: 84 - 102.
- Gorinstein, S., Yong-Seo, P., Buk-Gu, H., Namiesnik, J., Leontowicz, H., Leontowicz, M., Kyung-Sik, H., Ja-Yong, C. y Seong-Gook, K. 2009. A comparative study of phenolic compounds and antioxidant and antiproliferative activities in frequently consumed raw vegetables. *European Food Research and Technology*. 228:903–911.
- Guil-Guerrero, J. L., Martínez-Guirado, C., Reboloso-Fuentes, M.M. y Carrique-Pérez, A. 2006. Nutrient composition and antioxidant activity of 10 pepper (*Capsicum annuum*) varieties. *Eur. Food Res. Technol.* 224: 1–9.
- Helmja, K., Vaher, M., Gorbatošova, J. y Kaljurand M. 2007. Characterization of bioactive compounds contained in vegetables of the Solanaceae family by capillary electrophoresis. *Proc. Estonian Acad. Sci. Chem.* 56(4): 172–186.

- Henninge, John en <http://www.g6csy.net/chile/database.html>
- Heo, H.J., Kim, Y.J., Chung, D. y Kim, D-O. 2007. Antioxidant capacities of individual and combined phenolics in a model system. *Food Chemistry*. 104: 87–92.
- Howard, L. R., Talcott, S. T., Brenes, C. H. y Villalon, B. 2000. Changes in phytochemical and antioxidant activity of selected pepper cultivars (*Capsicum* species) as influenced by maturity. *J. Agric. Food Chem.* 48: 1713-1720.
- Howard, L.R. y Wildman, R.E.C. 2007. Isoflavones: source and metabolism. En: Wildman, R.E.C. editor. *Handbook of nutraceuticals and functional foods*. Boca Raton, Fla.: CRC Press. p 165–191.
- <http://www.fruitsandveggiesmatter.gov/month/bellpepper.html>
- <http://www.g6csy.net/chile/database.html>
- <http://www.tecnicosagronomos.com/pages/seminis.html>
- http://www.zostrix.com/pages/zostrix_info.asp
- Ilow, R., Regulska-Ilow, B., Walkiewicz, G., Biernat, J. y Kowalisko, A. 2008. Evaluation of Bioflavonoid Intake in the Diets of 50-Year-Old Inhabitants of Wrocław*. *Adv. Clin. Exp. Med.* 17(3): 327–336.
- Iorizzi, M., Lanzotti, V., De Marino, S., Zollo, F., Blanco-Molina, M., Macho, A. y Muñoz, E. 2001. New glycosides from *Capsicum annum* L. var. *acuminatum*. Isolation, structure determination and biological activity. *J. Agric. Food Chem.* 49: 2022-2029.
- Kähkönen, M. P., Hopia, A. I., Vuorela, H. J., Rauha, J.P, Pihlaja, K. Kujala, T.S. y Heinonen, M. 1999. Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds *J. Agric. Food Chem.* 47: 3954-3962.
- Kamal-Eldin, A. y Appelqvist, L. A. 1996. The chemistry and antioxidant properties of tocopherols and tocotrienols. *Lipids* 31: 671–701.
- Katsube, N., Keiko, I., Tsushida, T., Yamaki, K. y Kobori, M. 2003. Induction of apoptosis in cancer cells by bilberry (*Vaccinium myrtillus*) and the anthocyanins. *J. Agric. Food Chem.* 51: 68-75.

- Kaur, C. y Kapoor, H.C. 2002. Anti-oxidant activity and total phenolic content of some Asian vegetables. *Int. J. Food Sci. Technol.* 37:153-161.
- KEGG Pathway Database. Keyword: Carotene. http://www.genome.jp/kegg-bin/highlight_pathway?scale=1.0&map=map00906&keyword=carotene
- Kevers, C. Falkowski, M., Tabart, J., Defraigne, J.-O., Dommès, J. y Pincemail J. 2007. Evolution of antioxidant capacity during storage of selected fruits and vegetables. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 55: 8596–8603.
- Khor, H.T. y Raajeswari, R. 2001. Red palm oil, vitamin A, and the antioxidant enzymes. En: *Micronutrients and Health: Molecular Biological Mechanisms.* Nesaretnam K y Packer L, (Eds). AOCS Press. Champaign, IL.
- Krinsky, N. I. 2001. Carotenoids as antioxidants. *Nutrition*, 17:815-817.
- Kritchvsky, S. B. 1999. β -Carotene, carotenoids and the prevention of coronary heart disease. *J. Nutr.* 129: 5–8.
- Kuskoski, M.E., Asuero, A.G., Troncoso, A. M., Mancini-Filho, J. y Fett, R. 2005. Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. *Ciênc. Tecnol. Aliment.* 25(4): 726-732.
- Laborde, C. J. A. y Pozo. O. 1984. Presente y Pasado del Chile e México. Secretaria de Agricultura y Recursos Hidráulicos (SARH). Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA).México. 80 p.
- Lampe, J.W. 2003. Isoflavonoid and Lignan Phytoestrogens as Dietary Biomarkers. *J. Nutr.* 133: 956S-964S.
- Lee, Y., Howard, L. R. y Villalon, B. 1995. Flavonoids and antioxidant activity of fresh pepper (*Capsicum annuum*) cultivars. *J. Food Sci.* 60: 473-476.
- Manirakiza, P., Covaci, A. y Schepens, P. 2003. Pungency principles in *Capsicum*—analytical determinations and toxicology. En De, A. K. (ed) *Capsicum. The Genus Capsicum.* Taylor and Francis. London. pp: 71-86.

- Marín, A., Ferreres, F., Tomás-Barberán, F. A. y Gil, M. I. 2004. Characterization and quantitation of antioxidant constituents of sweet pepper (*Capsicum annuum* L.). J. Agric. Food Chem. 52: 3861-3869.
- Marinova, D., Ribarova, F. y Atanassova, M. 2005. Total phenolics and total flavonoids in Bulgarian fruits and vegetables. J. Univ. Chem. Technol. Metall., 40, 255-260.
- Materska, M., Perucka, I. 2005. Antioxidant Activity of the main phenolic compounds isolated from hot pepper fruit (*Capsicum annuum* L.). J. Agric. Food Chem., 53: 1750-1756.
- Matsufuji, H., Ishikawa, K., Nunomura, O., Chino, M. y Takeda M. 2007. Anti-oxidant content of different coloured sweet peppers, white, green, yellow, orange and red (*Capsicum annuum* L.). International Journal of Food Science and Technology. 42:1482–1488.
- Matsufuji, H., Nakamura, H., Chino, M. y Takeda, M. 1998. Antioxidant activity of capsanthin and the fatty acid esters in paprika (*Capsicum annuum*). J. Agric. Food Chem. 46: 3468-3472.
- Michaud, D.S., Spiegelman, D., Clinton, S.K., Rimm, E.B., Willett, W.C. y Giovannucci, E. 2000. Prospective study of dietary supplements, macronutrients, micronutrients, and risk of bladder cancer in US men. Am. J. Epidemiol. 152:1145–1153.
- Mínguez-Mosquera, M. I. y Hornero-Méndez, D. 1993. Separation and quantification of the carotenoid pigments in red pepper (*Capsicum annuum*, L.), paprika and oleoresin by reversed phase HPLC. J. Agric. Food Chem. 41: 1616-1620.
- Molina-Quijada, D.M.A., Medina-Juárez, L.A., González-Aguilar, G.A., Robles-Sánchez, R.M. y Gámez-Meza N. Compuestos fenólicos y actividad antioxidante de cáscara de uva (*Vitis vinifera* L.) de mesa cultivada en el noroeste de México. CyTA - Journal of Food. En prensa.
- Navarro, J. M., Flores, P., Garrido, C. y Martínez, V. 2006. Changes in the contents of antioxidant compounds in pepper fruits at different ripening stages, as affected by salinity. Food Chem. 96: 66–73.

- Nijveldt, R.J., Van Nood, E., Van Hoorn, D.E., Boelens, P.G., Van Norren, K. y Van Leeuwen, P.A. 2001. Flavanoids: a review of probable mechanisms of action potencial applications. *Am. J. Clin. Nutr.* 74(4): 418–425.
- Nuez-Viñals, F., Gil-Ortega, R. y Costa-García, J. 1996. El cultivo de pimientos, chiles y ajés. Ed. Mundi Prensa. Madrid, España. 607 pp.
- Olmedilla, B., Granado, F., Blanco, I., Vaquero, M. y Cajigal, C. 2001. Lutein in patients with cataracts and age-related macular degeneration: a long term supplementation study. *J. Sci. Food Agric.* 81: 904–909.
- Ong, A.S.H. y Choo, Y.M. 1997. Carotenoids and tocopherols from palm oil. En *Natural Antioxidants*. F.Shahidi (Ed) Cap.8, p 133- 149, AOCS Press Champaign Illinois USA.
- Osganian, S.K., Stampfer, M.J., Rimm, E., Spiegelman, D., Manson, J.E. y Willett W.C. 2003. Dietary carotenoids and risk of coronary artery disease in women. *Am J Clin Nutr.* 77:1390–1399.
- Osuna-García, J. A., Wall, M. M., Waddell, C. A. 1998. Endogenous levels of tocopherols and ascorbic acid during fruit ripening of new Mexican-type chile (*C. annuum* L.) cultivars. *J. Agric. Food Chem.* 46: 5093-5096.
- Palevitch, D. y Craker, L. E. 1995. Nutritional and medicinal importance of red pepper (*Capsicum spp.*). *J. Herbs Spices Med. Plants* 3:55-83.
- Pandolhni, T., Gabbrielli, R. y Comparini, C. 1992. Nickel toxicity and peroxidase activity in seedlings of *Triticum aestivum* L. *Plant, Cell and Environment.* 15: 719-725.
- Pellegrini, P., Serafini, M., Colombi, B., Del Rio, D., Salvatore, S., Bianchi, M. y Brighenti, F. 2003. Total antioxidant capacity of plant foods, beverages and oils consumed in Italy assessed by three different in vitro assays. *J. Nutr.* 133: 2812-2819.
- Pozo, C., O., S. Montes y E. Redondo. 1991. Chile (*Capsicum spp.*). En: *Avances en el Estudio de los Recursos Fitogenéticos de México* Ortega, R., G. Palomino, F. Castillo, V. A. González, M. Livera (eds). Sociedad Mexicana de Fitogenética A. C. México. pp: 217-238.

- Pratt, D.E. 1972. Water-Soluble antioxidant activity in soybeans. *J. Food Sci.* 37: 322–323.
- Ramamurthy, M. S., Maiti, B., Thomas, P., Nair, M. P. 1992. High-Performance Liquid Chromatography Determination of Phenolic Acids in Potato Tubers (*solanum tuberosum*) during Wound Healing. *J. Agric. Food Chem.* 40: 569-572.
- Rivero, R.M., Ruiz, J.M., García, P.C., López-Lefebre, L.R., Sánchez, E. y Romero, L. 2001. Resistance to cold and heat stress: accumulation of phenolic compounds in tomato and watermelon plants. *Plant Science.* 160: 315–321.
- Rodriguez-Amaya, D.B. 1999. Latin American food sources of carotenoids. *Arch. Latinoam. Nutr.* 49:74S–84S.
- Ruiz, J.M., García, P.C., Rivero, R.M. y Romero, L. 1999. Response of phenolic metabolism to the application to the carbendazim plus boron in tobacco leaves. *Physiol. Plant.* 106: 151–157.
- Sistema de Información Agroalimentaria de Consulta (SIACON) para Windows. 2009.
http://www.campomexicano.gob.mx/portal_siap/PublicaDinamica/SisInformacion/Siacon_2007/siacon19802008wv.html
- Sistema Producto Chile Verde Baja California Sur. 2003.
<http://www.snitt.org.mx/pdfs/demanda/chile-verde.pdf>
- Somos A. 1984. The paprika. Akademiai Kiado, Budapest.
- Sukrasno, N. y Yeoman, M.M. 1993. Phenylpropanoid metabolism during growth and development of *Capsicum frutescens* fruits, *Phytochemistry.* 32: 839– 844.
- Sun, T. y Tanumihardjo, S.A. 2007. An Integrated Approach to Evaluate Food Antioxidant Capacity. *Journal of Food Science.* 72:R159–R165.
- Sun, T., Xu, Z., Wu, C.-T., James, M., Prinyawiwatkui, W. y No, H.K. 2007. Antioxidant activities of different colored sweet peppers (*Capsicum annuum* L.). *Journal of Food Science.* 72 (2): S98-S102.

- Sutoh, K., Kobata, K., Yazawa, S., Watanabe, T. 2006. Capsinoid is biosynthesized from phenylalanine and valine in a non-pungent pepper *Capsicum annuum* L. cv. CH-19 Sweet. *Biosci., Biotechnol., Biochem.* 70: 1513–1516.
- Tanaka, Y., Hosokawa, M., Otsu, K., Watanabe, T. y Yazawa, S. 2009. Assessment of capsiconinoid composition, nonpungent capsaicinoid analogues, in *Capsicum* cultivars. *J Agric Food Chem.* 57(12):5407-5412.
- Tewksbury, J.J., Mancheng, C., Haak, D. y Levey, D.J. 2006 Where did the chili get its spice? Biogeography of capsaicinoid production in ancestral wild chili species. *J Chem Ecol.* 32:547–564.
- Thiele, R., Mueller-Seitz, E. y Petz, M. 2008. Chili Pepper Fruits: Presumed Precursors of Fatty Acids Characteristic for Capsaicinoids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 56 (11): 4219-4224.
- Ünver, A., Arslan, D., Özcan, M.M. y Akbulut, M. 2009. Phenolic Content and Antioxidant Activity of Some Spices. *World Applied Sciences Journal.* 6 (3): 373-377.
- Valencia, M.E. y Robles-Sardin, A.E. 2005. El valor nutrimental y protector de las frutas y verduras en la dieta humana. En González-Aguilar G.A., Gardea, A.A. y Cuamea-Navarro, F. (Eds.) *Nuevas Tecnologías de Conservación de Productos Vegetales Frescos Cortados.* Logiprint Digital. Guadalajara, México. pp. 1-14.
- van het Hof, K.H., Brouwer, I.A., West, C.E., Haddeman, E., Steegers-Theunissen, R.P.M., van Dusseldorp, M., Weststrate, J.A., Eskes, T.K. y Hautvast, J.G. 1999. Bioavailability of lutein from vegetables is 5 times higher than that of β -carotene. *Am. J. Clin. Nutr.* 70:261–268.
- Vázquez-Flota, F., Mirand, H.M.L., Monforte, G.M, Gutierrez-Carbajal, G., Velázquez, G. C. y Nieto, P.Y. 2007. La biosíntesis de los capsaicinoides, el principio picante del chile. *Rev. Fitotec. Mex.* 30(4): 353-360.

- Vinson, J.A., Hao, Y., Su, X. y Zubik, L. 1998. Phenol antioxidant quantity and quality in foods: vegetables. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 46: 3630–3634.
- Vinson, J.A., Proch, J. y Bose, P. 2001. Determination of quantity and quality of polyphenols antioxidants in foods and beverages. *Methods Enzymol*. 335: 103–114.
- Wachtel, R. E. 1999. Capsaicin. *Regist. Anest. Pain Med*. 24:361-363.