



**Universidad Autónoma del Estado de México**  
**Facultad de Química**



**“Extracción de compuestos bioactivos a partir de residuos de chile poblano asado y chile poblano crudo mediante extracción asistida por microondas y ultrasonido”**

**TESIS**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:**  
**INGENIERO QUÍMICO**

**PRESENTA:**

**MIGUEL EDUARDO CARDOSO UGARTE**

**ASESOR DE TESIS:**

**DR. RAÚL ALBERTO MORALES LUCKIE**

**COASESOR DE TESIS:**

**DR. GABRIEL ABRAHAM CARDOSO UGARTE**

## AGRADECIMIENTOS

# ÍNDICE

RELACIÓN DE TABLAS.....	5
RELACIÓN DE FIGURAS .....	7
RESUMEN.....	9
CAPÍTULO 1: ANTECEDENTES .....	11
1.1 INTRODUCCIÓN .....	12
1.2 HIPÓTESIS.....	14
1.3 OBJETIVOS.....	15
1.3.1 OBJETIVO GENERAL .....	15
1.3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	15
1.4 PLAN DE INVESTIGACIÓN.....	15
1.4.1 Secado y molido de residuo de chile poblano crudo y chile poblano asado. .....	15
1.4.2 Medición de fenoles presentes en chile poblano crudo (CPC) y chile poblano asado (CPA) sin la aplicación de EAU y EAM. ....	16
1.4.3 Extracción y comparación de fenoles presentes en chile poblano crudo y chile poblano asado. ....	16
1.4.4 Medición de capacidad antioxidante mediante radical DPPH. ....	16
1.5 MARCO TEÓRICO .....	16
1.5.1 Chile Poblano.....	16
1.5.2 Radicales Libres y Especies Reactivas de Oxígeno.....	17
1.5.3 Antioxidantes .....	20
1.5.4 Alimentos Funcionales.....	31
1.5.5 Compuestos fenólicos.....	35
1.5.6 Extracción Asistida Por Microondas .....	36
1.5.7 Extracción Asistida por Ultrasonido .....	40
1.5.8 Determinación de capacidad antioxidante mediante radical DPPH .....	42
CAPÍTULO 2: MATERIALES Y MÉTODOS.....	44
2.1 Materia Prima.....	45
2.1.1 Residuos de Chile Poblano.....	45
2.2 Métodos .....	45
2.2.1 Colorimetría.....	46
2.2.2 Determinación de humedad. ....	46
2.2.3 Extracción de fenoles sin asistencia de microondas o ultrasonido. ....	47

2.2.4 Extracción de fenoles mediante EAM.....	47
2.2.5 Extracción de fenoles mediante EAU .....	51
2.2.6 Determinación de fenoles presentes en los extractos obtenidos .....	54
2.2.7 Extracción a condiciones óptimas .....	58
2.2.8 Evaluación de capacidad antioxidante mediante radical DPPH .....	59
<b>CAPÍTULO 3: RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....</b>	<b>62</b>
3.1 Colorimetría.....	63
3.2 Determinación de Humedad .....	64
3.3 Extracción de fenoles sin asistencia de microondas o ultrasonido.....	65
3.4 Extracción Asistida por Microondas.....	66
3.4.1 Determinación de volumen y tiempo a emplear. ....	66
3.4.2 Potencia del microondas.....	67
3.4.3 Proceso de Extracción .....	69
3.5 Extracción Asistida por Ultrasonido.....	69
3.6 Determinación de compuestos fenólicos presentes en extractos.....	69
3.7 Optimización del proceso de extracción de compuestos fenólicos totales.....	78
3.8 Evaluación de capacidad antioxidante por DPPH.....	85
<b>CAPÍTULO 4: CONCLUSIONES.....</b>	<b>88</b>
<b>REFERENCIAS .....</b>	<b>91</b>

## RELACIÓN DE TABLAS

Tabla 1. Tipos, fuentes y características de carotenoides.....	22
Tabla 2. Isómeros de Tocoferol y Tocotrienol. ....	26
Tabla 3.Subgrupos pertenecientes a flavonoides (Adaptado de Quiñones et al., 2012) .....	29
Tabla 4. Alimentos Funcionales.....	32
Tabla 5. Métodos de extracción (Adaptado de Alara et al., 2021).....	35
Tabla 6. Regiones del espectro electromagnético. ....	37
Tabla 7. Rango de valores asignados para EAM. ....	49
Tabla 8. Corridas y condiciones de tratamiento por microondas. ....	49
Tabla 9. Rango de Valores Asignados EAU .....	52
Tabla 10. Corridas y condiciones de tratamiento por ultrasonido .....	52
Tabla 11. Concentraciones de primera dilución de ácido gálico para curva de calibración.....	56
Tabla 12. Concentraciones de primera dilución de ácido gálico para curva de calibración.....	58
Tabla 13. Resultados estudio de colorimetría de chile poblano crudo y asado.....	63
Tabla 14. Resultados determinación de humedad de chile poblano crudo y chile poblano asado .....	65
Tabla 15. Temperaturas alcanzadas por la muestra en microondas.....	66
Tabla 16. Regresión con valores obtenidos.....	67
Tabla 17. Potencia de salida del microondas .....	68
Tabla 18. Cálculo de fenólicos a extractos de CPA y CPC sin asistencia. ....	71
Tabla 19. Cálculo de fenólicos a extractos de CPA y CPC por microondas.....	71
Tabla 20. Cálculo de fenólicos a extractos de CPA y CPC por ultrasonido.....	72
Tabla 21. Contenido promedio de fenólicos (mg EAG/g PS) por extracción y tipo de chile. ....	74
Tabla 22. Fenólicos totales extraídos de chiles verdes mediante diferentes técnicas .....	76
Tabla 23. Impacto de las variables e interacciones entre ellas sobre la extracción de fenólicos presentes en CPC y CPA por microondas.....	78
Tabla 24. Condiciones óptimas de extracción por microondas. ....	81
Tabla 25. Contenido de fenólicos previstos vs reales EAM.....	81

<b>Tabla 26. Impacto de las variables e interacciones entre ellas sobre la extracción de fenólicos presentes en CPC y CPA por ultrasonido. ....</b>	<b>82</b>
<b>Tabla 27. Condiciones óptimas de extracción por ultrasonido .....</b>	<b>84</b>
<b>Tabla 28. Contenido de fenólicos previstos vs reales EAU .....</b>	<b>85</b>
<b>Tabla 29. Micromol de equivalente de Trolox por gramo de muestra de CPA y CPC</b>	<b>85</b>

## RELACIÓN DE FIGURAS

Figura 1. Estructura química del 8-metil-N-vanillil-6-nonenamida (Capsaicina) .....	17
Figura 2. Mecanismo de reacción de peroxidación lipídica.....	19
Figura 3. Estructura de Isopreno .....	21
Figura 4. Estructura de Xantófilas y Carotenos.....	21
Figura 5. Estructura del $\alpha$ y $\beta$ Caroteno .....	23
Figura 6. Estructura de Licopeno .....	23
Figura 7. Estructura de Luteína y Zeaxantina .....	24
Figura 8. Estructura de $\beta$ -Criptoxantina.....	24
Figura 9. Estructura de Astaxantina.....	24
Figura 10. Estructura cromano .....	25
Figura 11. Estructura general de Tocoferoles y Tocotrienoles .....	26
Figura 12. Estructura de la Vitamina C.....	27
Figura 13. Ácido Lipoico .....	28
Figura 14. Estructura general de Flavonoides.....	30
Figura 15. Estructura química subgrupos de flavonoides.....	30
Figura 16. Isómeros del estilbeno .....	31
Figura 17. Enterolactona, lignano formado por bacterias intestinales .....	31
Figura 18. Espectro electromagnético .....	37
Figura 19. Fenómeno de la cavitación.....	41
Figura 20. Baño ultrasónico.....	41
Figura 21. 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH).....	42
Figura 22. Diagrama de procedimiento experimental .....	45
Figura 23. Microondas utilizado para extracción.....	49
Figura 24. Muestras sometidas a choque térmico posterior a exposición a microondas .....	51
Figura 25. Baño ultrasónico y EPP empleados para extracción .....	51
Figura 26. Muestras antes de ser sometidas a ultrasonido .....	53
Figura 27. Muestras de chile durante extracción con ultrasonido .....	54
Figura 28. Extractos sometidos a Folin-Ciocalteu.....	55
Figura 29. Espectrofotómetro utilizado en medición de absorbancia .....	55
Figura 30. Muestras con alta concentración de fenólicos .....	57
Figura 31. Muestras posteriormente a dilución con agua.....	57
Figura 32. Solución radical DPPH en metanol .....	59

<b>Figura 33. Filtración de extractos a analizar .....</b>	<b>60</b>
<b>Figura 34. Diagrama de Cromaticidad .....</b>	<b>63</b>
<b>Figura 35. Color presente en muestras de CPC y CPA .....</b>	<b>64</b>
<b>Figura 36. Potencias de salida microondas .....</b>	<b>68</b>
<b>Figura 37. Curva de calibración de ácido gálico .....</b>	<b>70</b>
<b>Figura 38. Gráfico comparativo técnicas de extracción y tipos de chile .....</b>	<b>¡Error!</b>
Marcador no definido.	
<b>Figura 39. Impacto de la interacción Tiempo-Potencia en extracción EAM para CPC .....</b>	<b>79</b>
<b>Figura 40. Impacto de la interacción Tiempo-Potencia en extracción EAM para CPA .....</b>	<b>80</b>
<b>Figura 41. Impacto de la interacción Concentración-Tiempo en extracción EAU para CPC .....</b>	<b>83</b>
<b>Figura 42. Impacto de la interacción Concentración-Temperatura en extracción EAU para CPA .....</b>	<b>83</b>

## RESUMEN

El chile poblano, especie perteneciente a la variedad de chile *Capsicum annum* var. *Annum 'Poblano'*, es un chile ampliamente utilizado dentro de la gastronomía mexicana siendo sus aplicaciones más comunes la preparación de diversos guisados, así como salsas; no tan común es la elaboración de un licor a base de este chile, el cual es expuesto a un proceso de maceración alcohólica con la intención de extraer su distintivo sabor y bajo nivel de picor, sin embargo, una vez que es terminada la manufactura de esta bebida, los remanentes de este fruto son desechados sin ningún tratamiento, siendo la presencia del alcohol en la materia prima, la principal causa de esta acción.

Es ampliamente conocida la presencia de compuestos bioactivos presentes en vegetales, siendo los responsables de la coloración e incluso protección del ser vivo. Este tipo de compuestos no únicamente presentan beneficios para la planta, si no para quien la consume gracias a su capacidad antioxidante, antiinflamatoria, entre otras. La capacidad antioxidante permite neutralizar las especies reactivas de oxígeno (EROs); en caso de existir un desbalance entre antioxidantes y EROs en el cuerpo humano, estas especies pueden llegar a desencadenar diversas enfermedades crónicas.

Para la obtención de estos compuestos provenientes de las plantas, se utiliza comúnmente la extracción Soxhlet, sin embargo, es un proceso con alto consumo de solventes orgánicos, de energía y de tiempo, además que presenta bajas eficiencias; para combatir esto se han buscado métodos “verdes”, es decir, aquellos que su utilización signifique una reducción u omisión de posibles impactos negativos al medio ambiente; entre estas nuevas metodologías se encuentra la extracción asistida por microondas (EAM) y la extracción asistida por ultrasonido (EAU).

Se buscaron las condiciones óptimas de temperatura (EAU), tiempo, potencia (EAM) y concentración para la extracción de compuestos bioactivos de residuos de chile poblano crudo (CPC) y chile poblano asado (CPA), empleando las extracciones asistidas por microondas y ultrasonido; de igual manera se midió la capacidad antioxidante de dichos extractos, haciendo uso del radical DPPH.

Los mejores resultados fueron los obtenidos mediante el empleo de ultrasonido en CPA ( $1.76 \pm 0.14$  mg EAG/ g PS) seguido por la extracción asistida por microondas usando igualmente CPA ( $1.48 \pm 0.05$  mg EAG/g PS). En el caso de la muestra de CPC, empleo de ambas técnicas no mostró diferencias ( $p < 0.05$ ). Al realizar el análisis de la capacidad antioxidante los extractos de chile asado presentaron mejores resultados que los extractos de chile crudo independientemente del tratamiento aplicado (ultrasonido o microondas). Se realizaron un total de cuatro extracciones, encontrando que las condiciones de EAU: 60 °C, 5 min y 2% de materia vegetal garantizan la mejor tasa de extracción. Los resultados demuestran que los residuos de chile pueden ser utilizados como fuente de compuestos fenólicos y explotar su poder antioxidante.

# **CAPÍTULO 1: ANTECEDENTES**

## 1.1 INTRODUCCIÓN

Durante la elaboración del licor de chile poblano, la materia prima es cultivada por nueve meses, transcurrido este periodo el chile es cosechado para después pasar por diversos procesos dependiendo de qué variedad de licor se esté elaborando; entre esos procesos está el asado y triturado del chile poblano, así como el secado para el chile ancho; posteriormente, se somete a un proceso de maceración alcohólica, la cual se lleva a cabo por 6 meses en tinas con alcohol de caña; finalmente, se mezcla y embotella el producto; la fracción líquida es separada, y los residuos de chile generados durante la fabricación son desechados, esto debido a la presencia del alcohol al que fueron expuestos.

Acorde a la SEMARNAT (2020), hasta mayo del año 2020, se estimó una generación de 120,128 toneladas por día de residuos sólidos urbanos a nivel nacional, de los cuáles un 46.42% corresponden a residuos orgánicos; en cuanto a nivel industrial se refiere, en el año 2012 la industria de las bebidas alcohólicas generó aproximadamente 4,111 toneladas de desechos orgánicos por año.

Se define como residuo orgánico a aquellos materiales provenientes de especies vegetales o animales que pueden ser descompuestos mediante la acción de microorganismos. Sin embargo, independientemente de su naturaleza orgánica, estos residuos no están exentos de generar un impacto negativo en el medio ambiente e incluso perjuicios a la salud, esto debido a la emisión de gases de efecto invernadero, gas metano ( $CH_4$ ) y dióxido de carbono ( $CO_2$ ) (CCA, 2017).

Los compuestos bioactivos, son compuestos presentes en pequeñas porciones en los alimentos, que tienen la característica de ser beneficiosos para la salud sin llegar a ser esenciales para la vida. Dichos compuestos se pueden encontrar en los alimentos de origen vegetal como animal, siendo los primeros los que mayor concentración presentan.

Entre estos compuestos destacan los compuestos fenólicos, los cuales son moléculas que se encuentran principalmente en tejidos vegetales y son los responsables de la pigmentación, la astringencia y funcionan como protección para las plantas ante radiación UV, parásitos e insectos. De igual forma, han demostrado

una gran capacidad antioxidante, antimicrobiana, antiinflamatoria y anti proliferativas (Albuquerque et al., 2021)

Acorde a Shahidi et al. (2020) la capacidad antioxidante hace posible el retraso o prevención de la oxidación mediante la neutralización de diversas especies reactivas de oxígeno (EROs). Un exceso en la producción de EROs puede llevar al desarrollo de enfermedades crónicas, tales como cáncer, enfermedades respiratorias, digestivas y neurodegenerativas.

Es mediante estos compuestos, que se combate el estrés oxidativo, previniendo estos padecimientos (Liu et al., 2018).

La extracción de compuestos fenólicos presentes en el chile poblano significa una reutilización de los residuos generados en la elaboración del licor que tiene como base esta materia prima, otorgando una “segunda vida” y aprovechando así la actividad biológica presente en los residuos del chile para la obtención de beneficios a la salud, así como una posibilidad para mejorar la preservación de alimentos.

Existen diversas formas por las cuales se pueden extraer los compuestos fenólicos con el objetivo de aprovechar su capacidad antioxidante, de acuerdo con Mandal et al (2007), el método de extracción Soxhlet ha sido muy empleado por los últimos 126 años, pero presenta varios defectos como lo son: tiempos de extracción largo (8 – 24+ h), lo cual resulta en un alto consumo de energía calórica, limitaciones en la cantidad de muestras que pueden ser procesadas y el uso de grandes cantidades de solventes orgánicos que posteriormente requieren que se implementen pasos para la recuperación y evaporación de este con el fin de concentrar el extracto. Teniendo en consideración la alta volatilidad, flamabilidad y toxicidad de los solventes orgánicos empleados, esto se traduce en un riesgo para la salud y para el medio ambiente. Por estos motivos ha crecido la tendencia a buscar y hacer uso de las llamadas tecnologías “verdes”.

Según Jacotet-Navarro et al. (2016), el objetivo de las tecnologías verdes en los procesos de extracción, consisten en alcanzar extracciones más rápidas, mayor

transferencia de calor y de masa, reducir la cantidad de pasos llevados durante el proceso, entre otros.

Bromberger Soquetta et al. (2018), mencionan algunos tipos de tecnologías verdes para la extracción, como lo son: Extracción con fluidos supercríticos (EFS), extracción con líquido presurizado (ELP), extracción asistida por microondas (EAM), extracción asistida por ultrasonido (EAU), extracción asistida por campo eléctrico pulsado (CEP), descargas eléctricas de alto voltaje (DEAV) y alta presión hidrostática (APH).

Son los métodos de Extracción Asistida por Microondas (EAM) y la Extracción Asistida por Ultrasonido (EAU), alternativas para disminuir el impacto ambiental, el tiempo de extracción y aumentar la eficiencia del proceso.

Fundamentado en el fenómeno de la cavitación, el uso de ultrasonido ha demostrado resultados favorables en la extracción de compuestos bioactivos, haciendo uso de solventes “limpios”.

La Extracción Asistida por Microondas, fundamenta su funcionamiento en el calentamiento derivado del movimiento y colisiones de las moléculas de agua contenidas en la muestra llevada a exposición.

En este proyecto se presenta una alternativa para el aprovechamiento de los residuos orgánicos generados a partir de la elaboración del licor de chile, mediante la extracción de los compuestos fenólicos presentes en este, con la intención de explotar sus capacidades antioxidantes; pretendiendo explotar las amplias ventajas y oportunidades que traen consigo los métodos de extracción EAM y EAU, buscando las condiciones óptimas de en las cuales el proceso se desarrolle de mejor manera y se alcancen los mejores resultados.

## **1.2 HIPÓTESIS**

La utilización de Extracción Asistida por Ultrasonido y de Extracción Asistida por Microondas favorece la extracción de compuestos fenólicos presentes en los residuos de chile poblano e incrementa su capacidad antioxidante.

## **1.3 OBJETIVOS**

### **1.3.1 OBJETIVO GENERAL**

Determinar las condiciones óptimas para la extracción de compuestos fenólicos presentes en residuos de chile poblano, mediante extracción asistida por microondas y extracción asistida por ultrasonido, para evaluar su capacidad antioxidante.

### **1.3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Determinar las condiciones óptimas de extracción de compuestos fenólicos presentes en residuos de chile poblano, mediante uso de microondas, modificando las variables de potencia, tiempo y concentración.
- Determinar las condiciones óptimas de extracción de compuestos fenólicos presentes en residuos de chile poblano, mediante uso de ultrasonido, modificando las variables de temperatura, tiempo y concentración.
- Medir la capacidad antioxidante de los extractos obtenidos que arrojan resultados de mayor presencia de compuestos fenólicos mediante DPPH (2,2-Difenil-1-Picrilhidrazilo).

## **1.4 PLAN DE INVESTIGACIÓN**

Teniendo definidos los objetivos específicos de este proyecto, se modeló el plan de investigación presentado a continuación.

### **1.4.1 Secado y molido de residuo de chile poblano crudo y chile poblano asado.**

Someter a secado los residuos generados en el proceso de manufactura de licor de chile con el objetivo de eliminar la presencia de alcohol en la muestra, así como el excedente de agua.

Posteriormente, la muestra seca se pulveriza con el objetivo de aumentar el área superficial de ésta.

#### **1.4.2 Medición de fenoles presentes en chile poblano crudo (CPC) y chile poblano asado (CPA) sin la aplicación de EAU y EAM.**

Determinar la presencia de fenoles presentes en las muestras de CPC y CPA, sin haber sido expuesto a los métodos de extracción asistida, con el fin de comparar el impacto de las microondas y el ultrasonido en el proceso de obtención de compuestos fenólicos.

#### **1.4.3 Extracción y comparación de fenoles presentes en chile poblano crudo y chile poblano asado.**

Aplicar la EAM y EAU a muestras de CPC y CPA para medir y comparar la eficiencia de las técnicas en el proceso de obtención de compuestos fenólicos, así como el contraste con la muestra que no fue sometida a ninguno de estos dos procesos, con el fin de determinar cuál de estas variables presenta mejores resultados (CPC/EAM, CPC/EAU, CPA/EAM, CPA/EAU, CPC, CPA).

#### **1.4.4 Medición de capacidad antioxidante mediante radical DPPH.**

Exponer los extractos con mejores resultados al radical DPPH, posteriormente y haciendo uso del espectrofotómetro, registrar los valores arrojados por cada muestra y calcular la capacidad antioxidante de éstas.

### **1.5 MARCO TEÓRICO**

#### **1.5.1 Chile Poblano**

Pertenece a la variedad de chile *Capsicum annuum var. annuum 'Poblano'*, es un chile de gran tamaño, llegando a medir en promedio 12 cm de largo y 6 cm en su parte más ancha; usualmente es empleado cuando está verde o dejándose madurar, tomando un color rojo intenso y posteriormente secándose para convertirse en chile ancho.

Usado ampliamente en la cocina mexicana, el chile poblano puede ser consumido por sí sólo o como acompañamiento; puede ser preparado en forma de rajas, ser incluido en la elaboración de salsas y licores, o rellenarse, como lo es en el tradicional chile en nogada, platillo emblemático del estado de Puebla, región donde inicio formalmente su cultivo y por el cuál recibe el mismo nombre que el gentilicio perteneciente a este lugar.

El chile poblano, en comparación con otros chiles es un fruto de gran tamaño y de bajo contenido de capsaicina (*8-metil-N-vanillil-6-nonenamida*), compuesto químico causante de irritación en los mamíferos, produciendo en boca sensación de ardor. Dentro de la escala de Scoville, en la cual se ha medido el nivel de picor de los chiles, el poblano recibe un valor de unidad de Scoville de entre 1000-1500; siendo el valor más alto la capsaicina pura con 16,000,000 de unidades de Scoville; de esta manera, se puede observar que el picor presente en el chile poblano es realmente bajo. Es rico en vitamina C, así como en fibra, ayudando a controlar los niveles de colesterol presentes en la sangre y presenta propiedades antioxidantes debido a la presencia de capsaicina.

La capsaicina (Figura 1) ha sido objeto de estudio por su demostrada capacidad antioxidante, es decir, su capacidad de donar electrones logrando estabilizar a los radicales libres, moléculas sumamente inestables que pueden generar daño celular y como consecuencia provocar alteraciones a la salud.

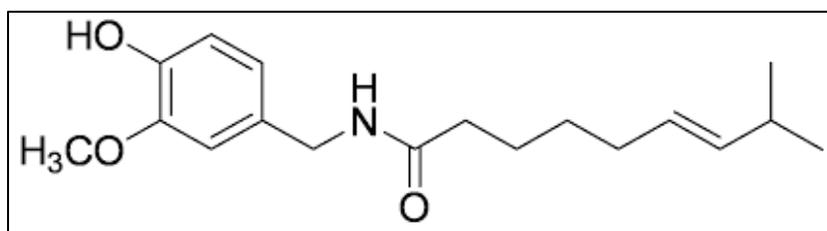


Figura 1. Estructura química del 8-metil-N-vanillil-6-nonenamida (Capsaicina); Fuente: Propia

### 1.5.2 Radicales Libres y Especies Reactivas de Oxígeno

Los radicales libres son especies que poseen electrones desapareados, por lo mismo presentan una alta reactividad. En los organismos vivos, los radicales libres son originados a partir de las especies reactivas de oxígeno y las especies reactivas de nitrógeno.

Dichas especies llevan a cabo funciones biológicas esenciales para el desarrollo celular normal, sin embargo, un aumento sobre el nivel normal de estos oxidantes

puede desencadenar diversas patologías, como enfermedades neurodegenerativas, cáncer, diabetes tipo II, entre otras (Carvajal Carvajal, 2019).

Entre las principales especies reactivas de oxígeno (EROs) y sustancias prooxidantes se encuentran el radical hidroxilo ( $OH^\circ$ ), peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ), anión superóxido ( $O_2^\circ$ ), oxígeno singulete ( $^1O_2$ ), óxido nítrico ( $NO$ ), peróxido ( $O_2^{2-}$ ), semiquinona y el ozono ( $O_3$ ).

Los radicales libres de oxígeno tienen la siguiente clasificación: Radicales libres inorgánicos o primarios, originados por la transferencia de electrones sobre el átomo de oxígeno siendo distintos estados de oxidación de este; radicales libres orgánicos o secundarios, originados por la transferencia de electrón entre un radical primario a una molécula orgánica o por reacción de dos radicales primarios; intermediarios estables, siendo un grupo de especies que a pesar de no ser radicales libres son generadoras de estos (Venereo Gutiérrez, 2002).

El daño celular causado por los EROs ocurre sobre las macromoléculas, como lípidos, proteínas y el ADN. Es en los lípidos donde se produce el mayor daño, en un proceso llamado peroxidación lipídica, la cual afecta a las estructuras ricas en ácidos grasos poliinsaturados, alterando la permeabilidad de la membrana de la célula produciendo edema y muerte celular. Dichos ácidos grasos insaturados son un componente esencial en las membranas celulares y en su funcionamiento, sin embargo, son vulnerables a la oxidación iniciada por los EROs (Venereo Gutiérrez, 2002).

En la Figura 2 se presenta el mecanismo de reacción de la peroxidación lipídica, explicado a continuación (Céspedes Miranda & Castillo Herrera, 2008):

1. El proceso de iniciación ocurre cuando el radical libre ataca a un carbono perteneciente a la cadena de un ácido graso, provocando así la formación de una especie radical. La presencia de un doble enlace provoca un debilitamiento del enlace C-H adyacente a este; de igual manera, aporta estabilidad al radical libre por resonancia.

2. Por reacción en cadena se generan más especies radicales, la primera especie radical formada reacciona con el oxígeno formando un radical peroxilo que a su vez reacciona con ácidos grasos poliinsaturados adyacentes generando un hidroperóxido y un radical alquílico; a esta serie de reacciones se les conoce como propagación.
3. La fase de terminación sucede cuando los hidroperóxidos formados se descomponen en etano, pentano, aldehídos y cetonas. Los aldehídos formados pueden hacer reacción con proteínas y ácidos nucleicos, determinando efectos adversos para la salud.

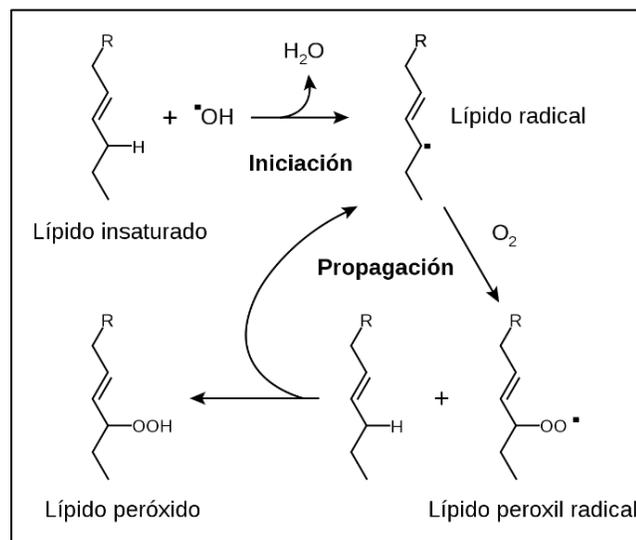


Figura 2. Mecanismo de reacción de peroxidación lipídica; Fuente: Wikipedia

Acorde a Venereo-Gutiérrez (2002), el estrés oxidativo es la exposición de materia viva a diversas fuentes que producen una ruptura en el equilibrio que debe existir entre sustancias prooxidantes y mecanismos antioxidantes, estos últimos siendo los encargados de eliminar dichas especies químicas.

La fuente de dichas sustancias prooxidantes puede ser endógena o exógena; las generadas de manera endógena son producto de diversos procesos celulares llevados a cabo dentro del cuerpo humano; por su parte las fuentes exógenas son factores que al estar expuestos a ellos se favorece la producción de estas especies,

entre estos se encuentra: exposición a radiación, al ozono, tabaco, productos químicos industriales, entre otros (Corrales & Muñoz Ariza, 2012).

### **1.5.3 Antioxidantes**

Durante años, el uso de extractos naturales ha sido empleado dentro de la medicina tradicional, gracias a sus propiedades antiinflamatorias, antiespasmódicas, antioxidantes, entre otras. Los compuestos antioxidantes son aquellos que ayudan a proteger las células de los efectos dañinos de las ya mencionadas EROs. Las moléculas antioxidantes tienen la propiedad de prevenir el daño oxidativo ya que son capaces de donar electrones a los radicales libres, logrando estabilizarlos y de esta manera neutralizar los efectos dañinos que provocan (Granados Conde et al., 2019).

Los antioxidantes pueden tener dos tipos de origen, el natural y el sintético. Los antioxidantes sintéticos son utilizados comúnmente en la industria alimenticia como método de conservación, algunos ejemplos son: butilhidroxianisol (BHA), butilhidroxitolueno (BHT), galato de propilo (GP) y la terbutilhidroquinona (TBHQ); en los últimos años, esta clase de antioxidantes han sido cuestionados debido a su alta volatilidad, su fácil descomposición en presencia de altas temperaturas y posibles efectos adversos a la salud de quienes los consumen. Es por ello por lo que se ha aumentado la búsqueda de alternativas naturales que ejerzan la misma función que estos compuestos sin presentar estas desventajas; aunado a esto, ha aumentado la tendencia por parte de los consumidores a buscar productos naturales en reemplazo a los elaborados sintéticamente (Valenzuela V. & Pérez M., 2016).

Los antioxidantes naturales se han clasificado de dos formas, el sistema enzimático (endógenos) y no enzimático (exógeno); el primero está basado en enzimas que se encuentran presentes en el organismo como son: Superóxido dismutasa (SOD), glutatión peroxidasa (GPX) y catalasa (CAT); el sistema no enzimático se encuentra compuesto principalmente por las vitaminas, minerales y otras sustancias, las cuales son obtenidas mediante la alimentación (Sanchez, 2013).

De acuerdo con Prakash & Gupta (2009), el consumo de frutas, verduras y cereales integrales, reducen el riesgo de enfermedades crónicas generadas por el estrés

oxidativo, gracias a que estos alimentos son fuente de una gran variedad de antioxidantes de procedencia natural siendo los carotenoides, tocoferoles, ácido ascórbico, ácido lipóico y polifenoles, compuestos con gran capacidad antioxidante.

**1.5.3.1 Carotenoides:** Los carotenoides son pigmentos liposolubles naturales sintetizados por plantas, algas y bacterias. Presentan sensibilidad al oxígeno, a metales, ácidos, peróxidos, calor, luz y lipoxigenasas. Los carotenoides son tetraterpenos constituidos por múltiples unidades de isopreno (Figura 3) con un anillo ciclohexano en cada extremo. Se pueden encontrar 2 tipos de carotenoides (Figura 4): carotenos, que no contienen oxígeno en sus anillos terminales y las xantófilas que sí lo tienen (Carranco Jáuregui et al., 2011)

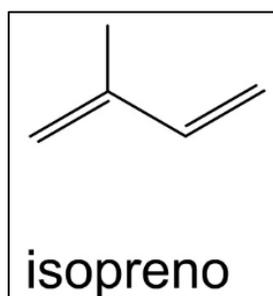


Figura 3. Estructura de Isopreno; Fuente: Propia

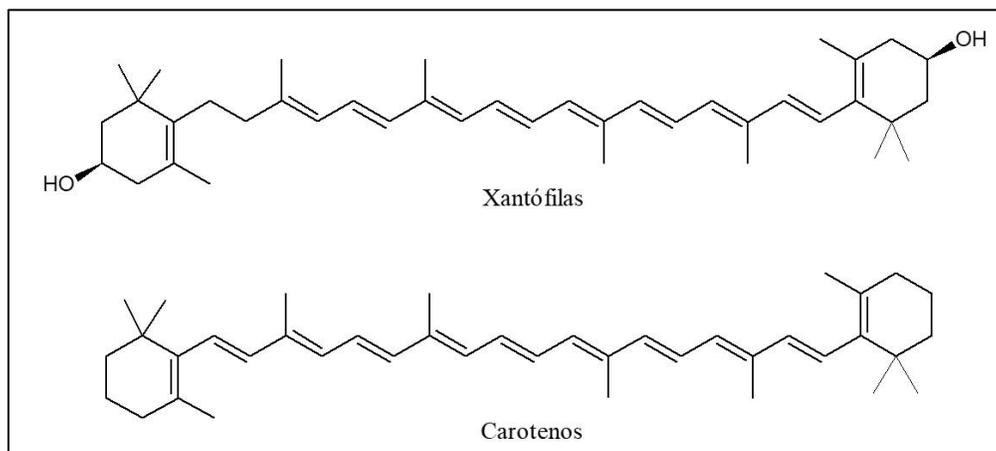


Figura 4. Estructura de Xantófilas y Carotenos; Fuente: Propia

Una característica distintiva de los carotenoides es la presencia de la molécula llamada "cromóforo" la cual otorga la capacidad a los carotenoides de absorber la

luz en la región visible y como consecuencia se presenta una gran capacidad de coloración tanto en frutos como en vegetales.

Como se hacía mención anteriormente, el consumo de frutas y verduras reduce el riesgo de padecer enfermedades, de manera más específica, estudios han determinado que el consumo de alimentos ricos en carotenoides (Tabla 1) está asociado a una disminución del riesgo de padecimiento de cáncer de pulmón, mama, próstata, así como de enfermedades que afectan al tracto gastrointestinal (Prakash & Gupta, 2009).

Johnson (2002), menciona una serie de estudios realizados a los carotenoides, así como su interacción con la salud humana; el autor habla del estudio de prevención del cáncer realizado en Linxian (China), donde fue encontrado que al suplementar la alimentación con  $\beta$  caroteno, vitamina E y selenio, se condujo a una disminución en la mortalidad total (9%), en específico por cáncer (13%) y de manera más particular, por cáncer de estómago (21%).

**Tabla 1. Tipos, fuentes y características de carotenoides**

<b>Carotenoide</b>	<b>Alimento</b>	<b>Características</b>	<b>Estructura</b>
$\alpha$ y $\beta$ Caroteno	Zanahoria	Isómeros estructurales con actividad provitamínica (Vitamina A).	Figura 5
Licopeno	Tomates	Isómero del $\beta$ caroteno careciente de actividad provitamínica.	Figura 6
Luteína/zeaxantina	Mango, naranja, guayaba, etc.	Pigmentos de color amarillo, concentrados en la macula, parte central de la retina.	Figura 7

Carotenoide	Alimento	Características	Estructura
$\beta$ -Criptoxantina	Mandarina, papaya, sandía, etc.	Actividad provitamínica A.	Figura 8
Astaxantina	Salmón, microalgas y levaduras.	Pigmento soluble en líquido de color rojo intenso.	Figura 9

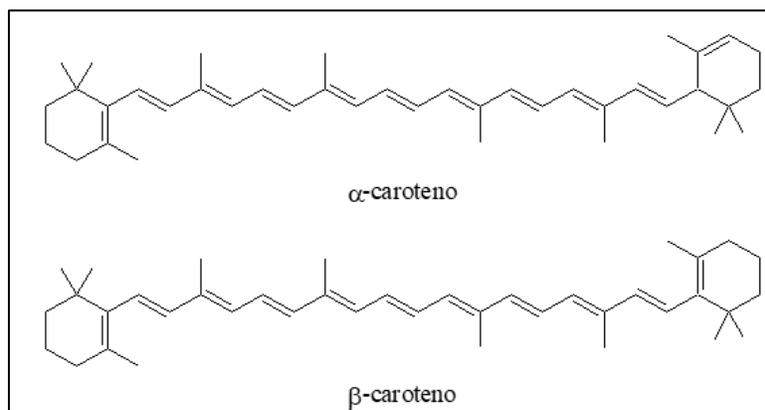


Figura 5. Estructura del  $\alpha$  y  $\beta$  Caroteno; Fuente: Propia

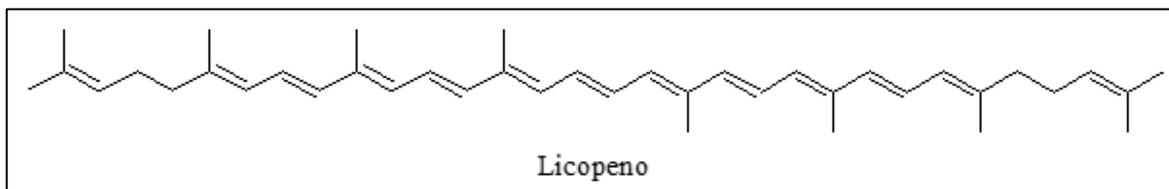


Figura 6. Estructura de Licopeno; Fuente: Propia

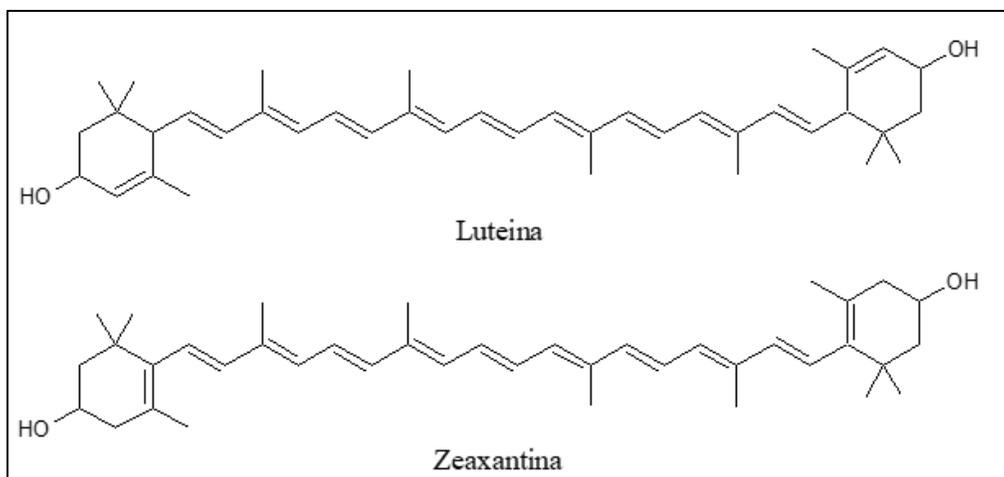


Figura 7. Estructura de Luteína y Zeaxantina; Fuente: Propia

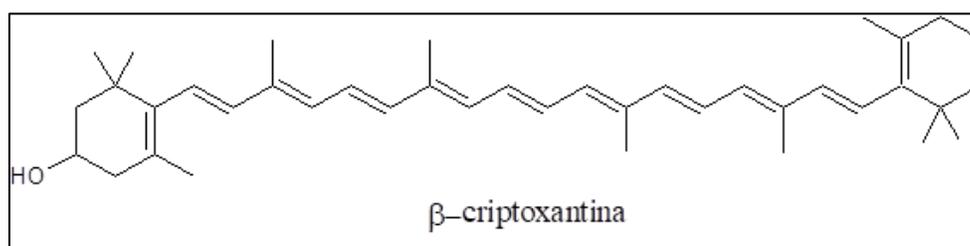


Figura 8. Estructura de β-Criptoxantina; Fuente: Propia

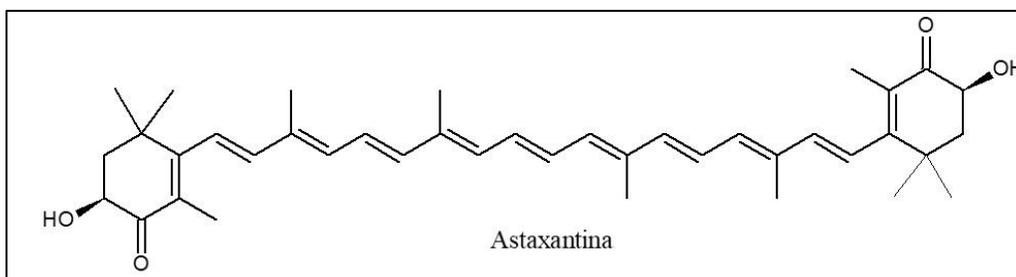


Figura 9. Estructura de Astaxantina; Fuente: Propia

**1.5.3.2 Tocoferoles y Tocotrienoles:** Los tocoferoles y tocotrienoles son derivados del cromano (Figura 10), con una cadena lateral de tipo isoprenoide, de forma colectiva conocidos también como vitamina E (Duran & Borja Padilla, 1993).

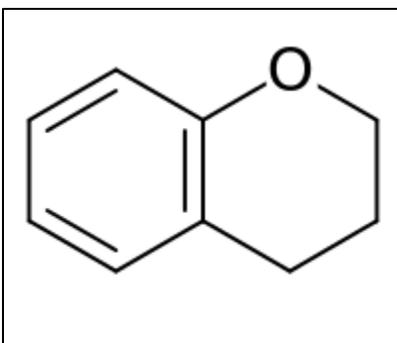


Figura 10. Estructura cromano; Fuente: Propia

Una de las funciones con mayor importancia que han sido atribuidas a esta vitamina, es su capacidad antioxidante. Siendo las propiedades redox del anillo cromano el responsable de este comportamiento. Un ejemplo de su funcionamiento *in vivo* es la protección del ataque de radicales peroxilos, que, al reaccionar con los tocoferoles, estos radicales generan hidroperóxidos lipídicos con un comportamiento relativamente estable (Febles Fernández et al., 2002).

Acorde a Zamora, (2007), la vitamina E es considerado como el antioxidante liposoluble más importante, ya que está localizado en el medio hidrofóbico de las membranas, siendo su principal función actuar como antioxidante natural ya que reacciona con los radicales libres generados en la fase lipídica, sirviendo como protección para las membranas.

Entre los alimentos que contienen vitamina E, se encuentran: Aceite de germen de trigo, girasol y cárcamo; frutos secos, semillas (almendras) y hortalizas verdes (brócoli, espinaca) (*Vitamina E - Datos En Español*, 2020).

Agrupados como Vitamina E, se encuentran cuatro isoformas del tocoferol y cuatro isoformas del tocotrienol.

A continuación (Figura 11), se muestra la estructura de la molécula, mientras que en la Tabla 2 se explican las diferencias entre cada isómero.

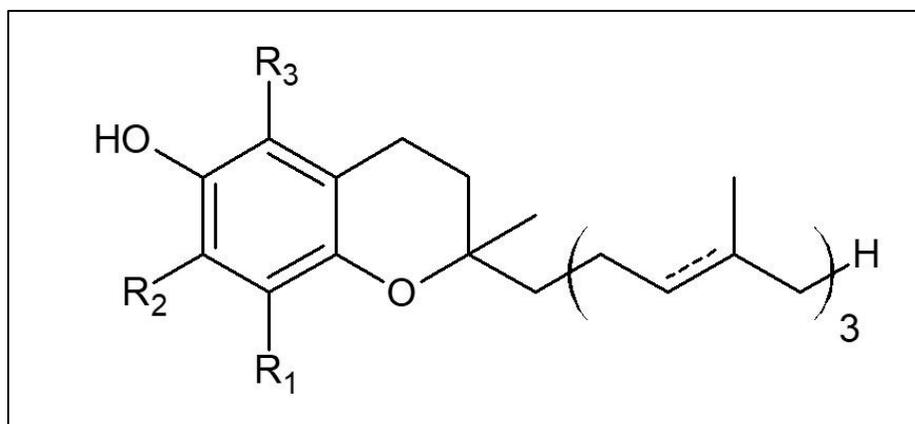


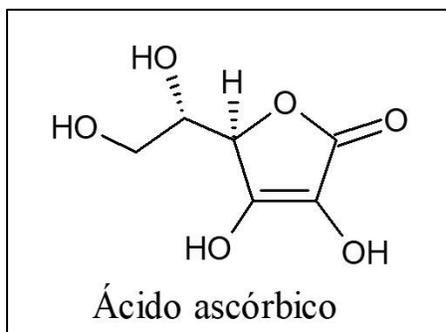
Figura 11. Estructura general de Tocoferoles y Tocotrienoles; Fuente: Menéndez, J. (2014)

**Tabla 2. Isómeros de Tocoferol y Tocotrienol.**

Isómero	Estructura
$\alpha$ -Tocoferol	$R_1 = R_2 = R_3 = CH_3$
$\beta$ -Tocoferol	$R_1 = R_3 = CH_3; R_2 = H$
$\gamma$ -Tocoferol	$R_1 = R_2 = CH_3; R_3 = H$
$\delta$ -Tocoferol	$R_1 = R_2 = R_3 = H$
$\alpha$ -Tocotrienol	$R_1 = R_2 = R_3 = CH_3$
$\beta$ -Tocotrienol	$R_1 = R_3 = CH_3; R_2 = H$
$\gamma$ -Tocotrienol	$R_1 = R_2 = CH_3; R_3 = H$
$\delta$ -Tocotrienol	$R_1 = R_2 = R_3 = H$

**1.5.3.3 Ácido Ascórbico:** También conocido como vitamina C (Figura 12), es un nutriente hidrosoluble presente en alimentos como cítricos, pimientos rojos y verdes, entre otros. En el cuerpo, la vitamina C presenta un comportamiento antioxidante sirviendo de protección a las células; de igual manera, el cuerpo humano requiere esta vitamina para la producción de colágeno, una proteína indispensable para la

cicatrización de heridas, así como ayuda a la absorción de hierro presente en alimentos, contribuyendo al funcionamiento del sistema inmune (*Vitamina C - Datos En Español*, 2019).



*Figura 12. Estructura de la Vitamina C; Fuente: Propia*

La Vitamina C tiene la capacidad de reducir diversas sustancias, tales como compuestos derivados de especies reactivas de oxígeno (superóxido y radical hidroxilo); especies reactivas de nitrógeno (óxido nítrico, dióxido de nitrógeno y peroxinitrito); compuestos como el radical alfa-tocoferoxil, el cual es producido cuando un radical libre tiene interacción con el  $\alpha$ -Tocoferol, el ácido ascórbico hace posible la reducción nuevamente a  $\alpha$ -Tocoferol, permitiendo su reutilización como antioxidante; elementos como el hierro férrico a hierro ferroso, favoreciendo su absorción intestinal; compuestos reactivos pero que no son radicales libres, como el ozono, ácido hipocloroso, entre otros (Castillo-Velarde, 2019).

**1.5.3.4 Ácido Lipoico:** El ácido lipoico (Figura 13), se encuentra en carnes rojas, levadura de cerveza, germen de trigo, espinaca, entre otros. Tiene la capacidad de disolverse en medio acuoso y medio graso, por lo que se le conoce como “antioxidante universal”. Tanto el ácido lipoico como su forma reducida, actúan como neutralizadores de radicales libres y tienen la peculiaridad de poder reciclar otros antioxidantes, por lo que es también llamado antioxidante de antioxidantes (Durand & Mach, 2013).

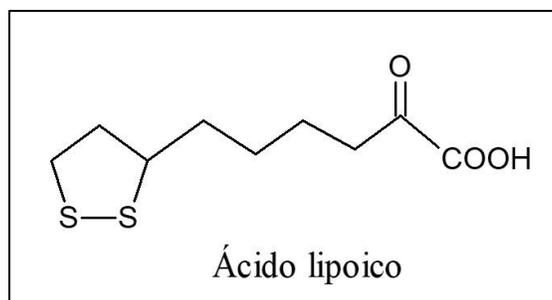


Figura 13. Ácido Lipoico; Fuente: Propia

**1.5.3.5 Polifenoles:** Los polifenoles o fenólicos son aquellos compuestos que contienen un anillo aromático con sustituyentes hidroxilo (*OH*). Dependiendo de su estructura química, pueden ser clasificados en: ácidos fenólicos, flavonoides, estilbenos y lignanos (Prakash & Gupta, 2009).

**1.5.3.5.1 Ácidos Fenólicos:** Clasificados en ácidos hidroxibenzoicos y ácidos hidroxicinámicos. Su capacidad antioxidantes se debe a su estructura química, la cual permite la formación de un radical fenoxilo el cual es estabilizado por resonancia (Urías Oroña et al., 2016).

**1.5.3.5.2 Flavonoides:** Esta sustancia con bajo peso molecular, producida por casi todas las plantas vasculares, aporta protección a las plantas contra la fotooxidación de la luz ultravioleta del sol, intervienen en el transporte de hormonas y sirve como defensa ante depredadores; por medio del color que otorga a estas, atrae insectos polinizadores apoyando la conservación y reproducción de estas especies (Estrada Reyes et al., 2012).

Los flavonoides están divididos en varios subgrupos (Tabla 3), estos grupos están clasificados acorde al estado de oxidación del anillo heterocíclico (denominado anillo "C") y la posición de anillo B.

**Tabla 3. Subgrupos pertenecientes a flavonoides (Adaptado de Quiñones et al., 2012)**

<b>Subgrupo</b>	<b>Características</b>	<b>Fuentes</b>	<b>Estructura</b>
Flavonoles	Es el grupo de polifenoles con mayor presencia en alimentos.	Té, vino, frutas cítricas y verduras.	
Flavonas	Son el grupo de flavonoides menos abundantes en alimentos.	Apio y perejil.	
Flavanonas	Son localizadas mayoritariamente en partes sólidas de la fruta.	Cítricos, tomates y menta.	
Isoflavonas	Su estructura es similar a los estrógenos.	Presentes casi exclusivamente en leguminosas.	Figura 15
Antocianidinas	Compuesto hidrosoluble y uno de los grupos más importantes de pigmentos vegetales.	Cereales, vino tinto, vegetales y frutas.	
Flavanoles	Pueden encontrarse como monómeros o como polímeros con distintos grados de polimerización.	Frutas, vino, chocolate y té.	

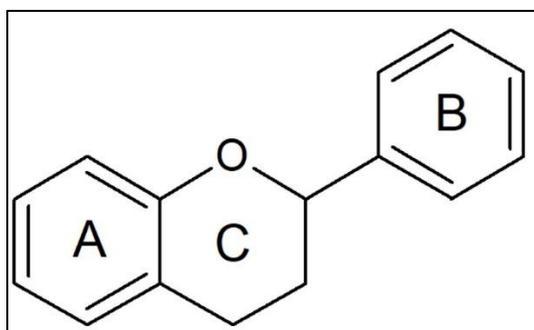


Figura 14. Estructura general de Flavonoides; Fuente: Robert A. (2018)

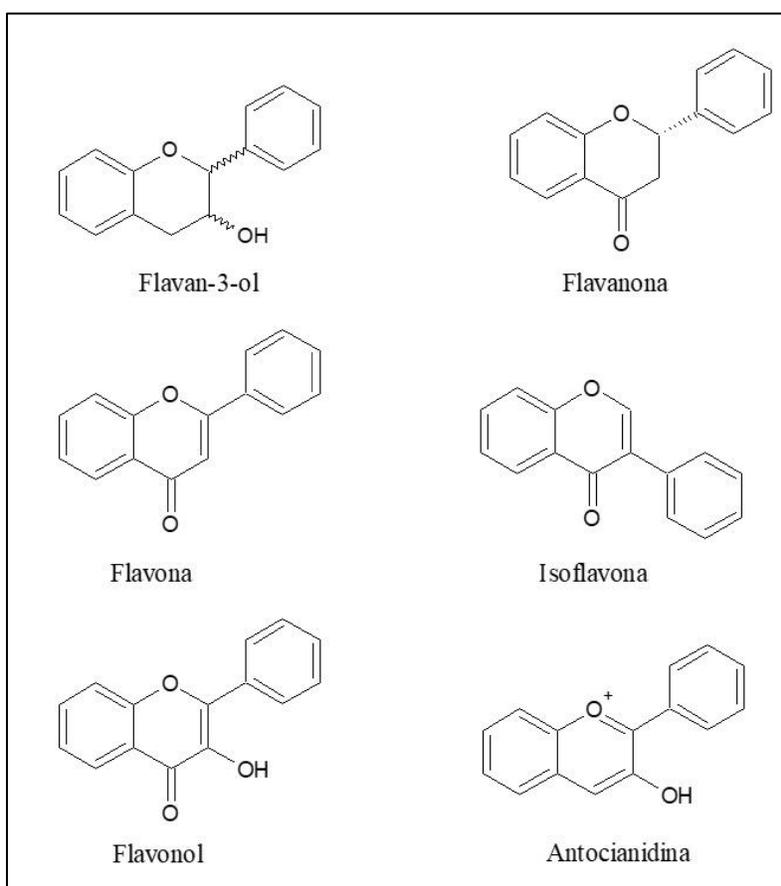


Figura 15. Estructura química subgrupos de flavonoides; Fuente: Robert A. (2018)

**1.5.3.5.3 Estilbenos:** Son hidrocarburos aromáticos que pueden ser encontrados en dos formas isoméricas; como *trans-1,2-difeniletileno* y como *cis-1,2-difeniletileno* (Figura 16). En específico, es el isómero *trans*, el cual presenta mayor actividad

beneficiosa para la salud. Este compuesto ha sido encontrado en plantas como en bacterias.

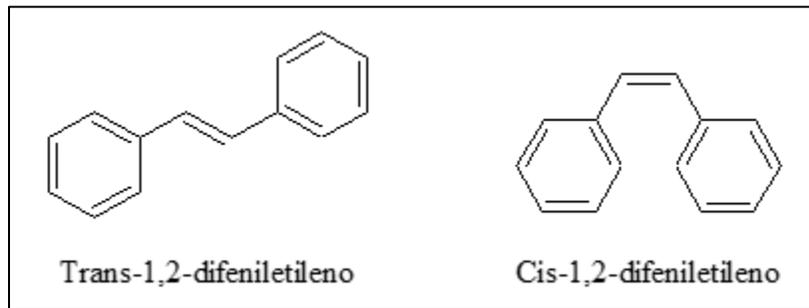


Figura 16. Isómeros del estilbena; Fuente: Propia

**1.5.3.5.4 Lignanos:** Al igual que las isoflavonas, los lignanos son considerados como fitoestrógenos, es decir, que tienen una estructura muy similar al estrógeno. En caso de haber deficiencia de estrógeno en el cuerpo, los lignanos pueden realizar la labor de estos; sin embargo, cuando el estrógeno es abundante, los lignanos pueden llegar a desplazarlo. Las fuentes más ricas de lignanos es la linaza, así como calabaza, arándanos, té negro y té verde.

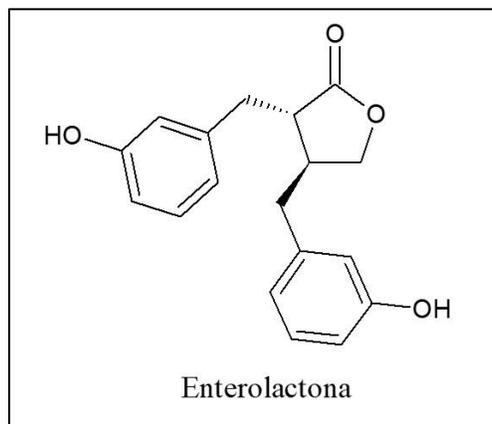


Figura 17. Enterolactona, lignano formado por bacterias intestinales; Fuente: Propia

#### 1.5.4 Alimentos Funcionales

Los alimentos funcionales, son aquellos que además de su valor nutrimental, contienen componentes biológicamente activos que pueden aportar efectos beneficiosos para la salud, disminuyendo el riesgo de contraer ciertas

enfermedades. Estos alimentos pueden ser naturales o bien alimentos a los cuales se les ha añadido, incrementado o eliminado algún componente (Beltrán de Heredia, 2016) .

En la actualidad, el concepto de nutrición ha ido evolucionando, inicialmente se buscaba una alimentación que fuera suficiente; ahora, su objetivo se ha expandido a buscar una mejor calidad de vida, así como aportar a la mejora de la salud del consumidor. Existen diversos tipos de alimentos funcionales (Tabla 4), así como diversos enfoques para estos, entre ellos se encuentran: alimentos probióticos, prebióticos y simbióticos; enriquecidos con fibra; ácidos grasos omega 3, ácido oleico y fitoesteroles; fitoestrógenos y compuestos fenólicos (Silveira-Rodríguez et al., 2003).

**Tabla 4. Alimentos Funcionales**

<b>Alimento Funcional</b>	<b>Descripción</b>	<b>Ejemplos</b>	<b>Fuente de obtención</b>
Probióticos	Contienen probióticos, organismos vivos provenientes de cepas bacterianas específicas que se agregan a los microorganismos sanos alojados en el intestino.	<i>Lactocaseibacillus casei</i> , <i>Lactocaseibacillus rhamnosus</i> , <i>Bifidobacterium animalis</i> , entre otros.	Yogur, chucrut, kéfir.
Prebióticos	Son fibras vegetales, las cuales actúan como nutrimento para las bacterias sanas impulsando así su crecimiento.	Lactulosa, oligofruktosa, inulina, entre otros.	Alimentos como: ajo, cebolla, miel, avena, cebada, entre otros.
Simbióticos	Contienen tanto probióticos como	Yogur enriquecido con <i>Bifidobacterium animalis</i>	Productos comerciales.

<b>Alimento Funcional</b>	<b>Descripción</b>	<b>Ejemplos</b>	<b>Fuente de obtención</b>
	prebióticos, aumentando la eficacia del alimento.	como probiótico e inulina como prebiótico.	
Enriquecidos con fibra	Fibra soluble: Ayuda a reducir los niveles de colesterol y glucosa en la sangre. Fibra insoluble: Apoya al movimiento a través del aparato digestivo, siendo de gran utilidad para combatir el estreñimiento.	Yogur comercial enriquecido con nueces, cereales y semillas.	Productos comerciales, frijoles, cítricos, frutos secos, cebada, entre otros.
Ácidos grasos omega 3	Ácido graso insaturado con la propiedad de reducir la inflamación en el cuerpo, evitando así enfermedades cardíacas o accidentes cerebrovasculares.	Ácido alfa-linoleico, ácido eicosapentaenoico, ácido docosahexaenoico, entre otros.	Pescados y mariscos, nueces y semillas, aceites de plantas y alimentos fortificados.
Ácido Oleico	Grasa monoinsaturada con beneficios a la salud, ya que reduce el riesgo de sufrir enfermedades cardiovasculares o hepáticas.	No aplica	Aceite de oliva, aceite de aguacate, entre otros.
Fitoesteroles	Moléculas con estructura química similar al colesterol con la característica que no	No aplica	Vegetales, frutas, semillas, entre otros.

<b>Alimento Funcional</b>	<b>Descripción</b>	<b>Ejemplos</b>	<b>Fuente de obtención</b>
	pueden ser absorbidos por el organismo además de no ser producidos por el mismo; su consumo ayuda a la disminución de los niveles de colesterol ya que bloquean su absorción intestinal.		
Fitoestrógenos	Moléculas con estructura y funciones similares a la de los estrógenos; previniendo de osteoporosis, enfermedades cardiovasculares, cáncer y síntomas asociados a la menopausia.	Cumestranos, isoflavonas lignanos.	Frutos secos, semillas, vino, cerveza, frutas, etc.
Compuestos fenólicos	Compuestos cuya estructura molecular contiene grupos fenoles; conocidos por su capacidad antioxidante, así como su efecto quelante que se traduce en beneficios para la salud.	Ácidos fenólicos, flavonoides, estilbenos y lignanos	Frutas, verduras y cereales.

### 1.5.5 Compuestos fenólicos.

En los últimos años ha aumentado cada vez más el interés en los compuestos fenólicos gracias a las propiedades medicinales que les son atribuidas. Estudios han demostrado la gran relación entre el consumo de vegetales y frutas con la reducción de diversas enfermedades; por ejemplo, se ha observado un menor riesgo de padecimiento de cáncer en personas con un alto consumo de estos alimentos, mientras que aquellos con bajos consumos presentan mayor propensión a desarrollar este mal (Abu Reidah, 2013).

Se han realizado estudios a diversas fuentes de obtención de compuestos fenólicos como vegetales, frutas, té y residuos alimenticios, entre otras, arrojando una gran presencia de polifenoles en residuos de plantas y de productos agroalimentarios (Alara et al., 2021). Durante la elaboración de licor de chile poblano, los residuos generados usualmente son desechados, esto debido a la presencia del etanol al que fueron expuestos en el proceso de manufactura de esta bebida.

Por lo que la extracción de compuestos fenólicos presentes en el chile significa una reutilización de estos residuos, otorgándoles así una “segunda vida” y permitiendo el aprovechamiento de la ya mencionada capacidad antioxidante que poseen; resultando en un producto con potenciales efectos positivos a la salud, así como la posibilidad de ser aplicado en la preservación de alimentos.

Para lograr la obtención de estos componentes provenientes de la matriz vegetal, se pueden llevar a cabo diversas formas de extracción, entre las cuales se encuentran metodologías convencionales, así como métodos más complejos y no tan comunes (Tabla 5).

**Tabla 5. Métodos de extracción (Adaptado de Alara et al., 2021)**

<b>Convencional</b>	<b>No Convencional</b>
Maceración	Líquidos presurizados
Decocción	Agua subcrítica

<b>Convencional</b>	<b>No Convencional</b>
Percolación	Fluidos supercríticos
Infusión	Asistida por microondas
Soxhlet	Asistida por ultrasonido
Digestión	En fase sólida
Extracción Seriada	Asistida por alta presión hidrostática

Debido a que los métodos de extracción convencionales presentan algunas desventajas, se han desarrollado alternativas que no presenten los mismo errores o fallos que las opciones convencionales. Entre las mejoras implementadas en estos métodos de extracción se encuentran: la automatización, mayor selectividad, mayores eficiencias y reducción en el consumo de solventes. Las extracciones convencionales generalmente requieren un paso de recuperación, así como un paso de concentración de extracto, lo que se traduce en gasto energético, así como una mayor inversión de tiempo, en cambio ofrecen un menor costo de operación y procesos sencillos de realizar; sin embargo, estudios han demostrado los efectos ambientales, así como bajas eficiencias obtenidas al emplear estos métodos. Por el contrario, los métodos no convencionales han demostrado grandes ventajas, como mejores eficiencias, disminución en el uso de solventes, reducción en la generación de residuos tóxicos, menores tiempos de extracción y reproducibilidad (Alara et al., 2021).

### **1.5.6 Extracción Asistida Por Microondas**

Las microondas forman parte del espectro electromagnético, el cual es el conjunto de radiaciones electromagnéticas que se propagan por el espacio en forma de onda. Estas radiaciones son diferenciadas por su frecuencia y su longitud de onda, siendo la primera el número de ciclos que presenta durante un tiempo determinado,

mientras que la longitud de onda es una magnitud inversamente proporcional a la frecuencia, que mide la distancia que existe entre dos crestas de la onda.

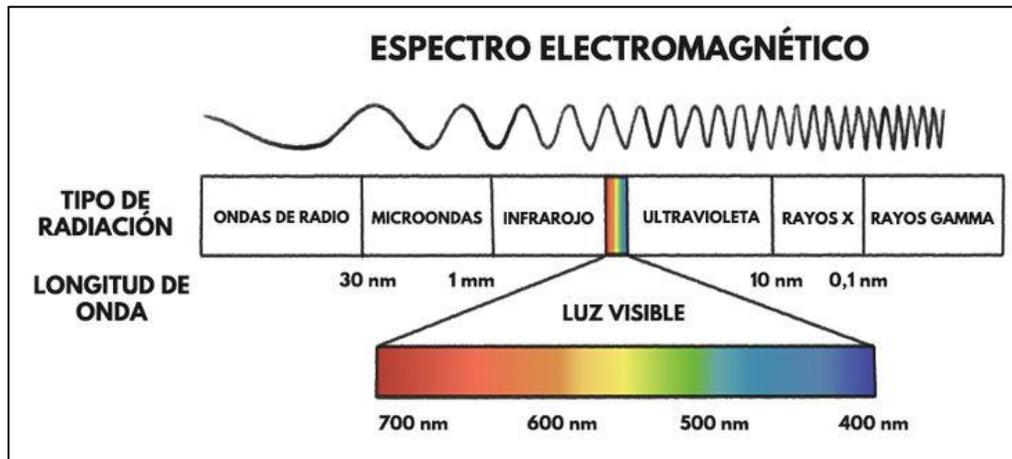


Figura 18. Espectro electromagnético.; Fuente: Ilustra2 (2020)

Las radiaciones electromagnéticas son distribuidas y clasificadas dentro del espectro electromagnético, ordenando dichas radiaciones desde aquellas con menor longitud de onda hasta las que poseen mayor longitud. El espectro está compuesto de diferentes regiones (Tabla 6), cada una de ellas se distingue de las otras por el comportamiento de sus ondas durante la emisión, transmisión y absorción.

**Tabla 6. Regiones del espectro electromagnético.**

Región	Longitud de Onda
Rayos Gamma	Menor a $10 \times 10^{-12}$
Rayos X	Menor a $10 \times 10^{-9}$
Radiación UV extrema	Menor a $200 \times 10^{-9}$
Radiación UV cercana	Menor a $380 \times 10^{-9}$
Espectro de luz visible	Menor a $780 \times 10^{-9}$

<b>Región</b>	<b>Longitud de Onda</b>
Infrarrojo cercano	Menor a $2.5 \times 10^{-6}$
Infrarrojo medio	Menor a $50 \times 10^{-6}$
Infrarrojo lejano	Menor a $1 \times 10^{-3}$
Radiación de microondas	Menor a $1 \times 10^{-2}$
Ondas de radio de ultra alta frecuencia	Menor a 1
Onda de radio de muy alta frecuencia	Menor a 10
Onda corta de radio	Menor a 180
Onda media de radio	Menor a 650
Onda larga de radio	Menor a $10 \times 10^3$
Onda de radio de muy baja frecuencia.	Mayor a $10 \times 10^3$

Las microondas son principalmente utilizadas para la transmisión de información, por ejemplo, las telecomunicaciones, la radiodifusión, internet, señales de televisión, hornos de microondas, entre otros.

El horno de microondas, electrodoméstico que es utilizado en la vida diaria por miles de personas, utiliza estas ondas para lograr el calentamiento de los alimentos introducidos en él; a diferencia de los hornos convencionales de cocina, los cuales basan su funcionamiento ya sea a través de aire caliente o de resistencias, proporcionando calor a la parte externa del alimento, es decir, el calentamiento sucede desde el exterior hacia el interior de este. Por otro lado, el horno de microondas funciona sin un medio que caliente el alimento, siendo las mismas microondas quienes brindan la energía desde el interior del alimento que poco a poco se va propagando en este. El calentamiento se debe a la fricción generada por

las moléculas de agua que se encuentran contenidas dentro del alimento; este comportamiento es causado por el dipolo presente en la molécula, que al ser expuesta a un campo eléctrico intenta alinearse con él, generando oscilaciones y roces entre sí, dando como resultado el calentamiento.

Usado como método de extracción, las microondas han sido probadas y verificadas como método de extracción de componentes bioactivos presentes en material vegetal lo cual ha despertado gran interés desde el punto de vista científico. Asimismo, esta técnica permite una rápida extracción de solutos provenientes de matrices herbales, presentando eficiencias en la extracción similares a los métodos convencionales, diferenciándose por su bajo consumo de disolventes, la poca generación de residuos y la reducción de la liberación de solventes que signifiquen un peligro para el medio ambiente, reduciendo a su vez la exposición del humano a estos solventes (Bagade & Patil, 2019).

A pesar de que comúnmente el material vegetal utilizado para la extracción es secado, las células de las plantas contienen partículas microscópicas con muestras de humedad, siendo estas el objetivo para el calentamiento por microondas. Al calentarse, las partículas de agua se evaporan generando altas presiones, que finalmente provocan la ruptura de las paredes celulares, facilitando la lixiviación. Este fenómeno puede ser potenciado mediante el uso de solventes con una mayor eficiencia en el calentamiento por microondas (Mandal et al., 2007).

Existen diversos factores que afectan la extracción asistida por microondas, entre las que se encuentran las propiedades del solvente, ya que este se debe establecer con base en la solubilidad del constituyente que se quiere extraer; el tiempo de extracción, un factor importante para la optimización de la extracción por microondas debido a que el tiempo de exposición requerido está ligado a la matriz vegetal que se esté utilizando; potencia del microondas, la cual se recomienda que sea de moderada a baja; se han reportado estudios en los cuales potencias mayores a 500 W no presentan ningún impacto en la eficiencia de la extracción; las propiedades de la matriz de la planta; y la temperatura, ya que un aumento de temperatura aumenta la desorción del analito, significando una mejora en la

eficiencia de la extracción, a pesar de ello, es importante el monitoreo de este factor, ya que puede generar la degradación de compuestos termolábiles (Bagade & Patil, 2019)

Acorde a reportes de Alara et al. (2019), donde se extrajeron y caracterizaron compuestos bioactivos en hoja de *Vernonia amigdalina*, mediante la aplicación de las técnicas de extracción Soxhlet y EAM, la asistida por microondas resultó la técnica con mejores resultados en un tiempo de extracción menor y haciendo uso de cantidades mucho menores de solvente.

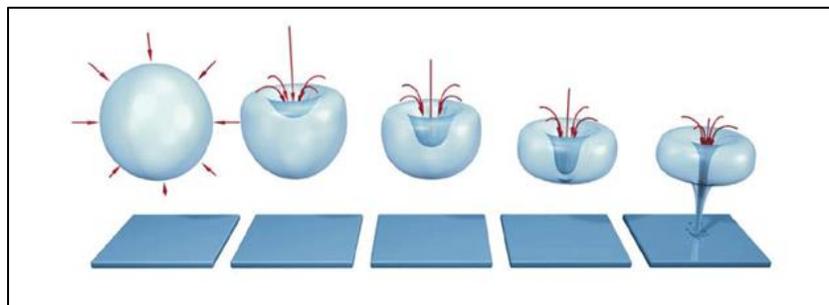
### **1.5.7 Extracción Asistida por Ultrasonido**

El ultrasonido es una serie de ondas electromagnéticas, originadas por la vibración de un cuerpo elástico y propagadas por un medio material, empleando una frecuencia mayor a la audible por el oído humano. Las ondas ultrasónicas son clasificadas como longitudinales y transversales; las primeras son aquellas donde el desplazamiento a través del medio está en la dirección hacia donde se desplaza la onda, y las segundas corresponden a las vibraciones de la onda que son perpendiculares a la dirección hacia donde se propaga esta.

Dependiendo de la frecuencia, el ultrasonido está dividido en tres categorías: Ultrasonido de potencia con frecuencia entre 20 y 100 kHz, ultrasonido de alta frecuencia entre 100 kHz y 1 MHz, y ultrasonido de diagnóstico con frecuencias con valores de 1 a 500 MHz (Pilli et al., 2011). El ultrasonido de potencia (20-100kHz), es usado químicamente debido a la capacidad que presenta de generar cavitaciones (Wu et al., 2013).

El empleo de ultrasonido para fines de extracción de compuestos bioactivos tiene como objetivo destruir las paredes celulares y de esta manera facilitar la disponibilidad de materia intracelular. Al propagarse, el ultrasonido genera ciclos de compresión, los cuales generan una presión positiva en el líquido, empujando y juntando las moléculas; a su vez, genera ciclos de rarefacción, que, contrario a la compresión, ejerce presiones negativas separando las moléculas una de la otra. Causado por las presiones negativas tan altas, se generan microburbujas, las cuales van creciendo poco a poco hasta alcanzar un diámetro inestable, por lo que

terminan colapsando y produciendo ondas de choque con temperaturas de alrededor de 500°C y presiones de 500 atm. Este proceso es el fenómeno conocido como cavitación (Figura 19) (Pilli et al., 2011).



*Figura 19. Fenómeno de la cavitación; Fuente: Mediklar (2020)*

De igual manera, el uso del ultrasonido ejerce un efecto mecánico, el cual, permite una mayor penetración del solvente, incrementando el área de superficie de contacto entre la fase líquida y la sólida (Rostagno et al., 2003).

Por su parte, un baño ultrasónico (Figura 20) es un dispositivo capaz de transformar energía eléctrica en energía mecánica, teniendo una gran variedad de campos de aplicación. De acuerdo con Pilli et al. (2011), el ultrasonido es generado por dos técnicas: magnetostrictiva, donde la energía eléctrica es convertida en vibraciones mediante una bobina magnética unida a una pieza vibrante; y piezoeléctrica, donde la energía es convertida en energía eléctrica de alta frecuencia mediante el uso de cristales piezoeléctricos, para posteriormente ser convertida ondas de sonido.



*Figura 20. Baño ultrasónico; Fuente: Propia*

Al igual que con las microondas, la extracción asistida por ultrasonido tiene variables que deben ser consideradas, las cuales incluyen potencia ultrasónica, características del reactor, interacción entre el solvente y la muestra, temperatura, así como la frecuencia (Esclapez et al., 2011).

Esta metodología de extracción ha demostrado resultados favorables para la extracción de compuestos bioactivos. da Porto et al. (2013), mencionan que para la extracción de aceite de semilla de uva fue empleado ultrasonido con una frecuencia de 20 KHz, una potencia de 150 W durante un periodo de tiempo de 30 minutos, el rendimiento obtenido fue similar al obtenido por medio de extracción Soxhlet, con el diferenciador que este proceso tomó 6 horas y la cantidad de polifenoles extraídos por ultrasonido fueron mayores.

#### 1.5.8 Determinación de capacidad antioxidante mediante radical DPPH

El DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidracilo) es un radical libre utilizado para la determinación de la capacidad de diversas sustancias de donar electrones a este compuesto, es decir, su capacidad antioxidante.

El funcionamiento de este radical está centrado en la presencia de un átomo de nitrógeno desapareado (Figura 21), el cual es reducido mediante el ataque de un átomo de hidrógeno sobre este.

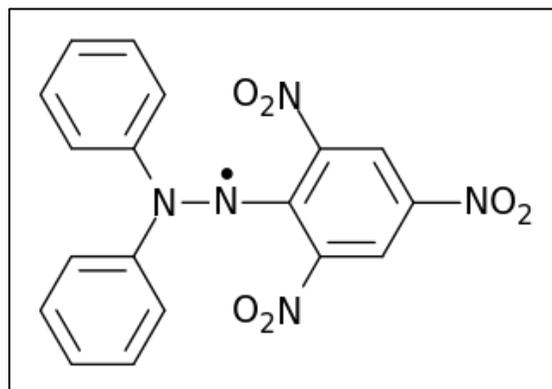


Figura 21. 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH) Fuente: Slashme (2011)

Acorde a Kedare & Singh (2011), la estabilidad del radical libre DPPH es causada a la deslocalización del electrón libre sobre toda la molécula, de esta manera y a

comparación de la mayoría de radicales libres, las moléculas no logran dimerizar; el radical posee un característico color violeta intenso que en solución con etanol arroja valores de absorción de alrededor de 520 nm; siendo la pérdida de esta coloración el principal indicativo de una reacción de reducción, es decir, la ganancia del electrón que otorgan las sustancias antioxidantes provenientes de la muestra que es analizada.

# **CAPÍTULO 2: MATERIALES Y MÉTODOS**

## 2.1 Materia Prima

### 2.1.1 Residuos de Chile Poblano

Se emplearon residuos de chile poblano (*Capsicum annuum* var. *annuum* 'Poblano') fresco (CPC) y asado (CPA), proporcionados por una fábrica local de la ciudad de Puebla después de ser utilizados en la elaboración de licor. Los residuos fueron secados en deshidratador de charolas (Excalibur, Modelo 3900B, EUA) a una temperatura de 52°C por un tiempo total de 8 horas. Una vez secos, se procedió a pulverizar el producto en un procesador de alimentos (NutriBullet, Italia).

## 2.2 Métodos

En la Figura 22 se muestra el procedimiento experimental, el cual fue llevado a cabo en las instalaciones de la División de Ciencias de la Vida (DICIVA), perteneciente a la Universidad de Guanajuato.

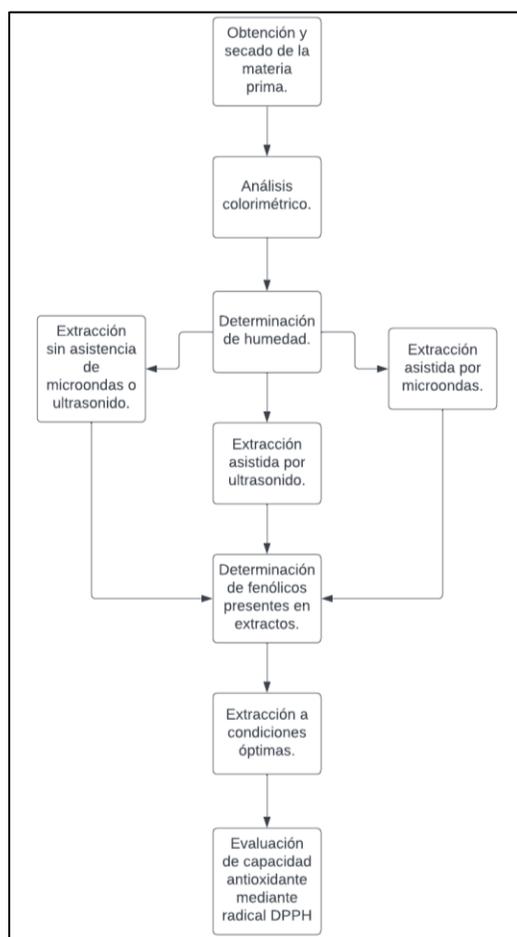


Figura 22. Diagrama de procedimiento experimental; Fuente: Propia

### 2.2.1 Colorimetría

Se realizó el análisis de colorimetría empleando el equipo ColorFlex EZ (Hunterlab, Modelo 45/0, EUA), obteniendo parámetros de luminosidad (L), gamas de verde a rojo (a) y gamas de amarillo a azul (b) (Konica Minolta, 2020).

El procedimiento constó de la previa calibración del equipo haciendo uso del cristal negro (calibración a cero), para la posterior medición por triplicado de muestras de CPC y CPA. Una vez obtenidos los valores se calculó el promedio y desviación estándar; así como el ángulo hue (h), que expresa el matiz.

### 2.2.2 Determinación de humedad.

El contenido de humedad se determinó siguiendo el método oficial 31.012 1984 de la A.O.A.C (1984), el cual consta de someter la muestra a secado en estufa de desecación, teniendo un registro de los pesos antes y después del secado, calculando el porcentaje de humedad mediante el uso de la siguiente fórmula.

$$\text{Humedad \%} = \frac{(M_1 - M_2)100}{M_1 - M_0}$$

*Ecuación 1: Cálculo de porcentaje de humedad*

Donde:

$M_0$  es el peso del crisol.

$M_1$  es el peso de la muestra y crisol antes del secado.

$M_2$  es el peso de la muestra y crisol posterior al secado.

Para esta determinación, se utilizaron placas metálicas, ingresadas a un horno (ShellLab, EUA) con el objetivo de lograr un peso constante. Una vez terminado ese proceso, se pesaron y se les agregó 1 g de chile poblano crudo (CPC) y chile poblano asado (CPA) por triplicado, las muestras ingresaron a 105 °C por aproximadamente 24 h.

### **2.2.3 Extracción de fenoles sin asistencia de microondas o ultrasonido.**

La extracción sin emplear ninguno de ambos métodos de asistencia (EAU y EAM), se llevó a cabo con el fin contar con valores de referencia con los cuales poder comparar los resultados que se obtengan mediante la aplicación de las tecnologías aplicando la siguiente metodología: Se agregaron 500 mL de agua destilada en vasos de precipitado con capacidad de 1000 mL; posteriormente, se pesaron 25 mg de chile poblano asado y 25 mg de chile poblano crudo con la intención de lograr la máxima concentración establecida en el diseño de experimentos (5% p/v).

Para evitar la separación entre los sólidos y el líquido, las muestras fueron agitadas mecánicamente por 150 segundos haciendo uso un homogeneizador mecánico (IKA, T25 digital Ultra-Turrax, China) a una velocidad de 7000 revoluciones por minuto.

Una vez terminado este proceso, se trasvasaron aproximadamente 12 mL de muestra a tubos falcon con capacidad de 15 mL para ser sometidos a centrifugación en centrífuga (Hermle, Modelo Z 326 K, Alemania) por 15 minutos, a una temperatura de 4 °C y 3750 rpm. Al finalizar el centrifugado, se retiró el sobrenadante y fue almacenado en congelación para su posterior análisis.

### **2.2.4 Extracción de fenoles mediante EAM**

Antes de iniciar los trabajos de extracción, se realizó una curva de calibración para el horno de microondas con el objetivo de calcular la potencia de salida y así determinar cuáles de los niveles de calentamiento presentan menor variación en sus resultados y aplicar las condiciones con menor variabilidad.

Se pesaron e introdujeron en un horno de microondas convencional (Figura 23) (LG, modelo MS-0745VS, Corea del Sur), 1000 g de agua por 60 segundos variando los porcentajes de potencia del equipo (10-100%); para la obtención de los resultados, se midió la temperatura del agua antes de ser expuesta a microondas ( $T_i$ ) y la temperatura posterior al calentamiento ( $T_f$ ). Se realizó este procedimiento por duplicado para tener una mayor certeza en los datos obtenidos.

Teniendo los datos recopilados, se emplearon las siguientes fórmulas para realizar los cálculos correspondientes:

$$Q = mCp\Delta T$$

*Ecuación 2: Cálculo de calor*

$$P = \frac{E}{t}$$

*Ecuación 3: Energía transferida*

Donde:

*Q = Calor Recibido*

*Cp = Calor Específico*

*m = Masa*

*$\Delta T$  = Temperatura Final – Temperatura Inicial*

*E = Energía transferida*

*t = Tiempo de exposición*

Se obtuvo la media y desviación estándar de los valores obtenidos para cada porcentaje de potencia, y con estos datos se construyó la curva de calibración; se analizó dicha gráfica y se determinaron los porcentajes de potencia a ser empleados, la decisión fue basada en aquellos porcentajes que presentaban valores bajos de desviación y que ayudaran abarcando un rango más amplio de potencias.

Para la extracción asistida por microondas, con el fin de determinar el efecto de las variables de potencia, tiempo de extracción y concentración del soluto durante la extracción, se construyó un diseño de experimentos de tipo Box-Behnken empleando el software estadístico Minitab 19 (Minitab Inc., State College, PA, U.S.A.); en la Tabla 7 se muestran los niveles asignados a las variables a evaluar; y la Tabla 8 muestra los tratamientos resultantes.



Figura 23. Microondas utilizado para extracción; Fuente: Propia

**Tabla 7. Rango de valores asignados para EAM.**

Factor	Nivel bajo	Nivel alto
Potencia del microondas (%)	20	100
Tiempo de extracción (segundos)	60	150
Concentración del soluto (% p/v)	2	5

**Tabla 8. Corridas y condiciones de tratamiento por microondas.**

Corrida	Tiempo (s)	Concentración (%p/v)	Potencia (%)
1	60	3.5	100
2	105	5	100
3	105	3.5	60
4	105	2	20
5	150	3.5	20
6	150	3.5	100
7	105	5	20
8	60	3.5	20

<b>Corrida</b>	<b>Tiempo (s)</b>	<b>Concentración (%p/v)</b>	<b>Potencia (%)</b>
9	105	3.5	60
10	105	2	100
11	150	5	60
12	60	5	60
13	60	2	60
14	105	3.5	60
15	150	2	60

Una vez terminada la curva de calibración y establecidos los valores de los parámetros para las extracciones, se procedió a comenzar los tratamientos.

Se inicia el procedimiento pesando la cantidad requerida de muestra de chile, dependiendo del porcentaje de concentración que se vaya a utilizar; una vez pesado, se agrega la muestra a un vaso de precipitado con capacidad de 1000 mL para posteriormente agregar 500 mL de solvente (agua destilada); el siguiente paso consiste en someter a agitación en un homogeneizador mecánico (IKA, T25 digital Ultra-Turrax, China) con los parámetros aplicados anteriormente, es decir, 150 segundos a 7000 revoluciones por minuto; al terminar este proceso de agitación, el vaso con la muestra es introducido al horno de microondas y expuesto a los valores de tiempo y temperatura correspondientes a la corrida que se esté realizando.

Al terminar el tratamiento, una pequeña porción de la muestra es trasvasada a un vaso de precipitado de 40 mL e introducido a un recipiente que contiene agua con hielo; esto con el fin de realizar un choque térmico que detenga el calentamiento de la muestra y así evitar una posible descomposición de los compuestos termolábiles extraídos.

Posteriormente, se vació una cantidad aproximada de 12 mL de muestra a tubo falcon con capacidad de 15 mL, el cual se sometía a centrifugación por 15 minutos

a 4 °C y 3750 rpm; terminado este proceso se retira el sobrenadante y se dispone la muestra a congelación.



*Figura 24. Muestras sometidas a choque térmico posterior a exposición a microondas; Fuente: Propia*

### **2.2.5 Extracción de fenoles mediante EAU**

Durante la extracción asistida por ultrasonido se empleó, un baño ultrasónico (VelaQuin, modelo 8893). De igual manera, la intención de este trabajo es evaluar los efectos de las variables involucradas en el proceso; temperatura, tiempo y concentración. Se repitió la elaboración del diseño de experimentos utilizando el Software Estadístico Minitab 19 (Minitab Inc., State College, PA, U.S.A.); la Tabla 9 muestra el rango de valores para las variables asignadas; en la Tabla 10 se encuentran los tratamientos a realizar.



*Figura 25. Baño ultrasónico y EPP empleados para extracción; Fuente: Propia*

**Tabla 9. Rango de Valores Asignados EAU**

<b>Factor</b>	<b>Nivel bajo</b>	<b>Nivel alto</b>
Temperatura de extracción (°C)	20	60
Tiempo de extracción (minutos)	5	25
Concentración del soluto (% p/v)	2	5

**Tabla 10. Corridas y condiciones de tratamiento por ultrasonido**

<b>Corrida</b>	<b>Temperatura (°C)</b>	<b>Tiempo (min)</b>	<b>Concentración (%p/v)</b>
1	60	5	3.5
2	20	15	2
3	40	25	2
4	40	15	3.5
5	60	15	2
6	40	25	5
7	20	5	3.5
8	60	25	3.5
9	60	15	5
10	40	5	2
11	20	15	5
12	20	25	3.5
13	40	5	5
14	40	15	3.5
15	40	15	3.5

El procedimiento es similar a los realizados anteriormente, inicialmente se pesa la cantidad necesaria de chile para obtener la concentración deseada y se agrega a un matraz Erlenmeyer de 250 mL agregando 200 mL del solvente utilizado.

Posteriormente, se sometieron a agitación mecánica siguiendo los parámetros empleados en los procesos anteriores.



*Figura 26. Muestras antes de ser sometidas a ultrasonido; Fuente: Propia*

Para el proceso de extracción, se programó el baño ultrasónico con el tiempo y temperatura indicados, para llegar a la temperatura se aceleraba el proceso agregando agua caliente en caso de necesitarse una temperatura mayor o agua fría para una temperatura menor; se colocaron los matraces en el interior del baño, se ingresaban de manera simultánea el CPC como el CPA; como equipo de protección personal fue necesario el uso de protección auditiva, debido a los continuos y largos periodos de exposición al ultrasonido.



*Figura 27. Muestras de chile durante extracción con ultrasonido; Fuente: Propia*

Por último, se realizó el procedimiento de trasvase, centrifugación y congelación descritos en la sección 2.2.4

### **2.2.6 Determinación de fenoles presentes en los extractos obtenidos**

El cálculo para determinar la presencia de fenoles en los extractos obtenidos fue elaborado de la siguiente manera:

Se preparó el reactivo de Folin – Ciocalteu, agregando 1 mL de reactivo por 4 mL de agua destilada, así como una solución de carbonato de sodio en agua (0.5% p/v). Una vez finalizada la centrifugación (15 min, 4°C y 3750 rpm), el paso siguiente consistió en agregar en tubos de ensaye 200  $\mu$ L de cada extracto, 200  $\mu$ L del reactivo de Folin-Ciocalteu y 2 mL de solución de carbonato de sodio, así como la elaboración de un “blanco” el cual contenía agua destilada reemplazando el extracto (Singleton & Rossi, 1965).

Los tubos fueron almacenados durante una hora en la oscuridad para posteriormente hacer la medición de absorbancia a una longitud de onda establecida de 760 nm en espectrofotómetro (Thermo Scientific, Modelo: Genesys 10S, EUA), midiendo inicialmente la muestra “blanca” seguido por las muestras.

Por último, se determinó la concentración en gramo de muestra seca (CPC o CPA) por mL de agua (g/mL).

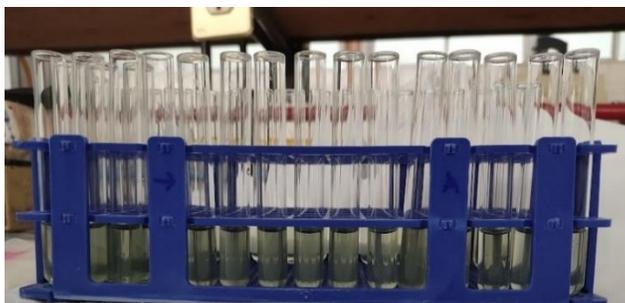


Figura 28. Extractos sometidos a Folin-Ciocalteu; Fuente: Propia



Figura 29. Espectrofotómetro utilizado en medición de absorbancia; Fuente: Propia

Se utilizó ácido gálico como estándar y el contenido de fenoles en muestra se expresa como equivalente de ácido gálico; para dicho cálculo. Se realizó la curva de calibración de ácido gálico a diferentes concentraciones con el objetivo de calcular su absorbancia y obtener la ecuación perteneciente a dicha curva.

A partir de la ecuación de la recta:  $y=mx+b$  en la cual “y” se refiere a los valores obtenidos en las mediciones de absorbancia, se despeja y calcula “x” que son los miligramos de equivalente de ácido gálico por mililitro (mg EAG/mL). El siguiente paso consta en la división de los valores obtenidos (mg EAG/mL) por la

concentración (g PS/mL) para obtener valores en función de miligramos de equivalente de ácido gálico por gramo de peso seco (mg EAG/g PS).

$$\frac{\frac{mg \text{ EAG}}{mL}}{\frac{g \text{ PS}}{mL}} = \frac{mg \text{ EAG} * mL}{g \text{ PS} * mL} = \frac{mg \text{ EAG}}{g \text{ PS}}$$

*Ecuación 4. Unidades de fenólicos totales*

Para la elaboración de la curva de ácido gálico, se siguió la siguiente metodología:

Se pesaron 30 mg de muestra de ácido gálico, se agregó 10 ml de agua con el objetivo de obtener una concentración de 3 mg/ml.

Se preparó el reactivo de Folin Ciocalteau, así como la solución de carbonato.

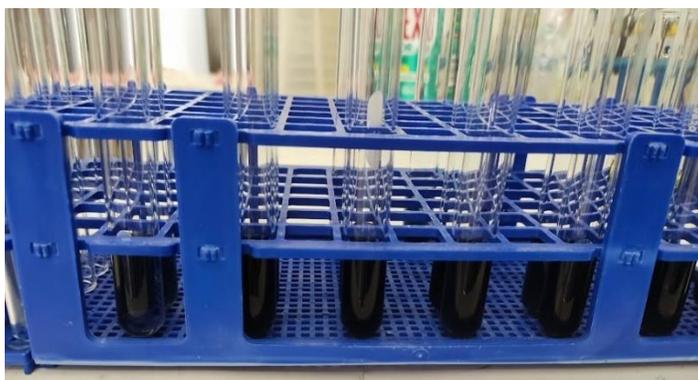
Se trasvasó consecutivamente para obtener diluciones con concentraciones más bajas manteniendo un volumen constante de 10mL (Tabla 11).

**Tabla 11. Concentraciones de primera dilución de ácido gálico para curva de calibración**

<b>Concentraciones de ácido gálico.</b>							
<b>Concentración (mg/ml)</b>	3	2.5	2	1.5	1	0.5	0.2
<b>Volumen de Agua</b>	10	1.7	2.0	1.5	3.3	5.0	6.0
<b>Volumen utilizado de solución previa</b>	-	8.3	8.0	7.5	6.7	5.0	4.0

Las diluciones se sometieron al método Folin Ciocalteau, sin embargo, las muestras presentaron una coloración azul oscura, señal de una concentración muy alta de

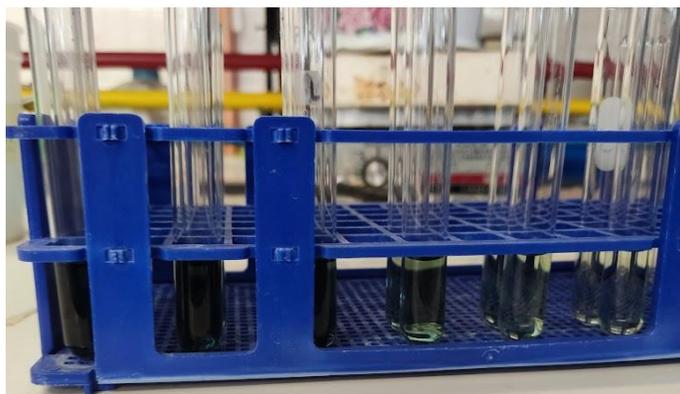
ácido gálico; por lo cual se determinó tomar 200  $\mu\text{L}$  de la muestra más concentrada (3 mg/mL) para ser diluida en 1, 2 y 3 mL de agua.



*Figura 30. Muestras con alta concentración de fenólicos; Fuente: Propia*

A estas tres diluciones se les volvió a someter al método de Folin Ciocalteu, arrojando como mejor resultado la muestra diluida en 3 mL, por lo que se decidió tomar 200  $\mu\text{L}$  de todas las muestras y diluirlas en 3 mL de agua.

Para abarcar valores más bajos, de la última muestra (concentración de 0.2) se tomaron 0.5 mL y se llevaron a agua destilada con una relación 1:1 y 1:2; de igual manera a esas diluciones se le aplicó la metodología empleada anteriormente.



*Figura 31. Muestras posteriormente a dilución con agua; Fuente: Propia*

Se obtuvieron los siguientes valores de absorbancia y con base en ellos se elaboró la curva de calibración y se calculó la ecuación de la recta (Tabla 12).

**Tabla 12. Concentraciones de primera dilución de ácido gálico para curva de calibración**

Concentración (mg/mL) de ácido gálico.									
<b>Concentración</b>	3	2.5	2	1.5	1	0.5	0.2	0.0125	0.0062
<b>Volumen de Agua</b>	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	1.0	1.5
<b>Concentración Final</b>	0.1875	0.1562	0.125	0.0937	0.0625	0.0312	0.0125	0.0062	0.0041
<b>Absorbancia</b>	1.318	1.032	0.73	0.65	0.429	0.233	0.085	0.046	0.038

### 2.2.7 Extracción a condiciones óptimas

Una vez obtenidos los resultados arrojados en la determinación de fenólicos, la información obtenida fue analizada mediante un diseño de experimentos de tipo Box Behnken con un nivel de confianza de 90%. Se analizaron las medias de los valores obtenidos en las extracciones y se calcularon los valores de  $p$  de los factores y sus interacciones. Se construyeron gráficas de contorno para conocer el efecto de las interacciones en el rendimiento de los compuestos fenólicos. Finalmente, utilizando los coeficientes obtenidos, se propuso un modelo de predicción para optimizar el rendimiento de los compuestos fenólicos para ambos métodos (EAU y EAM). De igual manera, se llevó a cabo un análisis de varianza (ANOVA) para determinar el efecto de la materia prima usada (CPC y CPA) y la tecnología de extracción aplicada (EAM y EAU), realizando una comparación de medias con una prueba de Tukey con un nivel de confianza del 95%.

Una vez obtenidas las ecuaciones y mediante el uso del software Excel, se obtuvieron las condiciones óptimas de tiempo, potencia y concentración para extracción asistida por microondas; temperatura, tiempo y concentración para extracción asistida por ultrasonido.

Se realizaron las extracciones correspondientes siguiendo la metodología indicada para cada una (EAM y EAU), así como el cálculo de fenólicos totales siguiendo el proceso realizado y descrito anteriormente.

## **2.2.8 Evaluación de capacidad antioxidante mediante radical DPPH**

### **2.2.8.1 DPPH**

Por último, los extractos óptimos fueron sometidos a medición de capacidad antioxidante empleando el radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH).

Para la prueba de inhibición de radical DPPH, se disolvieron 3 mg de radical en 50 mL de metanol absoluto; se programó el espectrofotómetro a 515 nm y se midió la absorbancia de la solución buscando una absorbancia de  $0.70 \pm 0.02$  nm, en caso de quedar con valores superiores se agregaba más metanol, por el contrario, en caso de obtener valores debajo del objetivo, se aumentaba la concentración de radical DPPH (Brand-Williams et al., 1995).



*Figura 32. Solución radical DPPH en metanol; Fuente: Propia*

Los extractos por analizar fueron descongelados y centrifugados para precipitar las partículas sólidas presentes; posterior a la centrifugación, las muestras fueron filtradas por gravedad y se tomaron 1.5 mL de sobrenadante para ser centrifugados nuevamente; para terminar, se dispusieron 0.250 mL de extracto en 0.750 mL de agua destilada.



Figura 33. Filtración de extractos a analizar; Fuente: Propia

El siguiente paso consistió en agregar 1.6 mL de solución de radical DPPH a la solución de metanol con agua dejando reaccionar por 30 minutos en la oscuridad; finalmente, se realizaron las lecturas de la absorbancia a 515 nm.

Para la interpretación de los datos obtenidos se calculó el porcentaje de radical DPPH mediante la siguiente fórmula:

$$\%DPPH \text{ Inhibición} = \frac{A_{control} - A_{muestra}}{A_{control}} * 100$$

Ecuación 5. Cálculo % de inhibición DPPH

Donde:

$A_{Control}$  es la mezcla de metanol con la solución de DPPH

$A_{Muestra}$  es la mezcla del extracto con la solución de DPPH.

La capacidad antioxidante es expresada como micromol de equivalente de Trolox por gramo de muestra ( $\mu mol ET/g$ ); para el cálculo de estos valores y al igual que para el cálculo de fenólicos, es empleada la ecuación de la recta obtenida mediante curva de calibración; de igual manera se lleva a cabo la sustitución de la variable “y” correspondiente al porcentaje de inhibición, así como el despeje de “x” variable que expresa en micromol los equivalentes de Trolox por mL ( $\mu mol ET/mL$ ); para ser posteriormente dividido por la concentración (g/mL) quedando expresado en las unidades mencionadas anteriormente (Ecuación 5). Debido a que las muestras

fueron diluidas en agua, los valores obtenidos se multiplicaron por el factor de dilución.

$$\frac{\frac{\mu\text{mol ET}}{\text{mL}}}{\frac{\text{g}}{\text{mL}}} = \frac{\mu\text{mol ET} * \text{mL}}{\text{g} * \text{mL}} = \frac{\mu\text{mol ET}}{\text{g}}$$

*Ecuación 6. Unidades de capacidad antioxidante*

# **CAPÍTULO 3: RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

### 3.1 Colorimetría

De acuerdo con Martínez Damián et al. (2019), el color es un parámetro de medición de gran utilidad para la determinación de la calidad en frutos y hortalizas; resultados pertenecientes a estudios realizados por los autores, arrojan un alto contenido de compuestos polifenólicos en chile guajillo, atribuyendo la presencia de estos al color rojo característico de esta materia prima.

Basado en esto, se realizó el estudio de colorimetría a las muestras de chile poblano crudo y chile poblano asado (Tabla 13).

**Tabla 13. Resultados estudio de colorimetría de chile poblano crudo y asado**

Parámetro	CPC	CPA
L	38.627±0.176 <sup>A</sup>	26.090±0.157 <sup>B</sup>
a	3.196±0.005 <sup>A</sup>	4.053±0.058 <sup>B</sup>
b	25.580±0.31 <sup>A</sup>	16.470±0.141 <sup>B</sup>
h	82.915±0.097 <sup>A</sup>	76.207±0.251 <sup>B</sup>

\*Los valores en fila que comparten misma letra no presentan una diferencia significativa ( $p < 0.05$ ).

Basado en el diagrama de cromaticidad  $L^*a^*b^*$  (Figura 34), el chile poblano crudo presentó valores más altos para luminosidad (L) y parámetro “b” (transición entre azul y amarillo), mientras que la muestra asada obtuvo valores superiores en cuanto al parámetro “a” (transición entre verde y rojo).

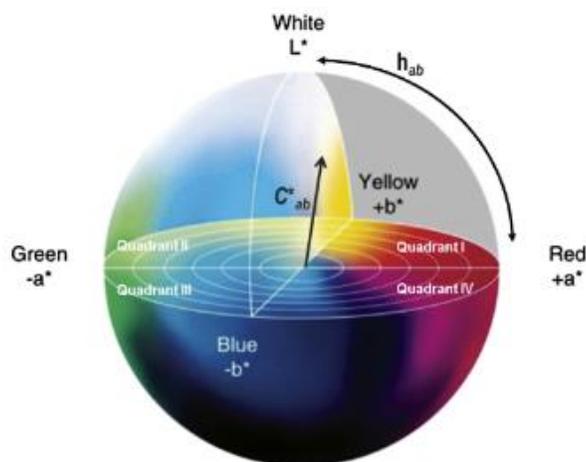


Figura 34. Diagrama de Cromaticidad; Fuente: Konica Minolta (2020)

Los valores fueron promediados e ingresados a un convertidor con el objetivo de transformar los valores obtenidos en forma  $L^* a^* b$  a RGB y así conseguir una interpretación visual de la coloración medida de cada muestra (Figura 35).



*Figura 35. Color presente en muestras de CPC y CPA; Fuente: Propia*

Sant'Anna et al. (2013), realizaron una evaluación de la relación entre los cambios de color de diversas muestras haciendo uso de los parámetros de CIELAB y su contenido de compuestos bioactivos; sin embargo, existe mucha variabilidad en los resultados reportados por investigaciones que buscan encontrar la conexión entre el color y los componentes bioactivos en frutos y vegetales, ya que, para cada uno de estos alimentos, así como el proceso al que se haya sometido, la presencia de compuestos está relacionada a diferentes parámetros CIELAB; se expone el caso de la extracción de zanahoria negra por maceración enzimática, donde se encontró una correlación existente entre los valores de  $a^*$  y el contenido total de flavonoides como de fenólicos; dicha correlación indica que entre más rojiza sea la coloración, mayor contenido de fenólicos presentes en el extracto; por el contrario al extracto de arrayán al cual se relaciona su concentración de fenólicos con valores pertenecientes al parámetro  $b^*$ .

### **3.2 Determinación de Humedad**

Para el proceso de extracción asistida por microondas, el agua contenida en la muestra juega un papel muy importante; de acuerdo con Mandal et al. (2007), al calentarse las partículas de agua, éstas se evaporan generando altas presiones,

provocando la ruptura de las paredes celulares facilitando la lixiviación. Por su parte, en la extracción asistida por ultrasonido, el agua sirve como medio de propagación de las ondas ultrasónicas, generándose en ella el fenómeno de las burbujas de cavitación y como consecuencia la extracción de la materia celular.

En la presente investigación, se calculó el porcentaje de humedad presente en las muestras de CPC y CPA, arrojando los resultados mostrados en la Tabla 14.

**Tabla 14. Resultados determinación de humedad de chile poblano crudo y chile poblano asado**

<b>Muestra</b>	<b>Humedad (%)</b>
CPA	6.246±0.147
CPC	5.023±0.277

Ambas muestras fueron sometidas al mismo proceso de deshidratación por lapsos aproximados de 4 horas, entre los cuales se dejaba reposar al equipo para posteriormente seguir con el proceso; siendo estas pausas la posible causa de la diferencia presentada.

### **3.3 Extracción de fenoles sin asistencia de microondas o ultrasonido.**

La extracción sin emplear ninguno de los métodos de extracción ya mencionados, se realizó con el objetivo de obtener valores de referencia con los cuales contrastar los valores de fenólicos arrojados por las extracciones asistidas.

Se ingresaron 50 gramos de chile poblano crudo y chile poblano asado a vasos de precipitado con un contenido de 500 mL para posteriormente ser agitados mecánicamente, una vez obtenidos los extractos se tomó una pequeña porción de estos para ser centrifugados.

Debido a que las muestras y SUA no iban a ser sometidas a ningún proceso de extracción asistida, se determinó utilizarlas con la concentración más alta que se emplearía en los demás tratamientos.

### 3.4 Extracción Asistida por Microondas

Para la extracción asistida por microondas, Bagade & Patil (2019), reportan la importancia y repercusión en el rendimiento, de factores presentes en el proceso de extracción como lo es la temperatura, la naturaleza y volumen del solvente, el tiempo de exposición, la potencia del microondas, así como las propiedades de la matriz. Por lo que se realizaron una serie de pruebas con el equipo para poder determinar el volumen óptimo de solvente a emplear con base en las temperaturas que se lograban alcanzar, tiempo de exposición y la potencia del microondas.

#### 3.4.1 Determinación de volumen y tiempo a emplear.

Se iniciaron los trabajos de prueba utilizando volúmenes de 25 y 50 mL, sin embargo, en periodos sumamente cortos la muestra entraba en ebullición perdiendo gran cantidad de solvente y llegando a temperaturas muy altas, por lo que se optó por realizar pruebas a volúmenes superiores; en Tabla 15 se muestran los valores de temperatura alcanzados empleando un volumen de 500 mL a la máxima potencia ofrecida por el equipo.

**Tabla 15. Temperaturas alcanzadas por la muestra en microondas.**

Tiempo (minutos)	Temperatura (°C)
0 (Inicial)	25.3
1	44.1
2	65.1
3	83.5
4	92.3
5	93.2

Con base en lo obtenido se decretó hacer uso de 500 mL de agua como solvente, esto gracias al rango de tiempo del que permite hacer uso sin llegar a la ebullición con tanta rapidez, como sucedió con los volúmenes preliminares.

Para la variable correspondiente al tiempo de exposición, se tomó como base lo reportado por Sepúlveda & Zapata (2019), donde se evaluó el efecto de la temperatura

sobre compuestos fenólicos presentes en extracto de *Bixa Orellana* L.; los autores experimentaron con valores de temperatura de 70/80/90 °C, los cuales demostraron que la velocidad de degradación aumenta conforme incrementa la temperatura. Sustentado en lo presentado por los autores, se decidió utilizar el parámetro inferior de temperatura aplicada (70°C) como temperatura máxima para la realización de las extracciones en microondas.

Fue entre los tiempos de exposición de 2 y 3 minutos donde se encontró el valor de temperatura seleccionado para el proceso de extracción (70°C), por lo que se llevó a cabo una interpolación simple con la intención de calcular con mayor exactitud el tiempo al cual se alcanzan este valor (Tabla 16).

**Tabla 16. Regresión con valores obtenidos**

Tiempo (min)	Temperatura (°C)
2	65.1
2.15	70
2.5	74.07
3	83.5

La interpolación arrojó un tiempo de 2.15 minutos (129 s); con fines de practicidad se optó por emplear 2.5 minutos (150 s) los cuales reportaban una temperatura de 74.07 °C, valor muy cercano al establecido.

### 3.4.2 Potencia del microondas

La potencia del microondas es un factor con gran impacto al momento de realizar una extracción en microondas; se reporta por parte de Bagade & Patil (2019) que el uso de altas potencias puede significar la pérdida de constituyentes presentes en las plantas, de igual manera, se menciona el poco efecto que tienen potencias superiores a 500 watts en el rendimiento de extracción de compuestos bioactivos.

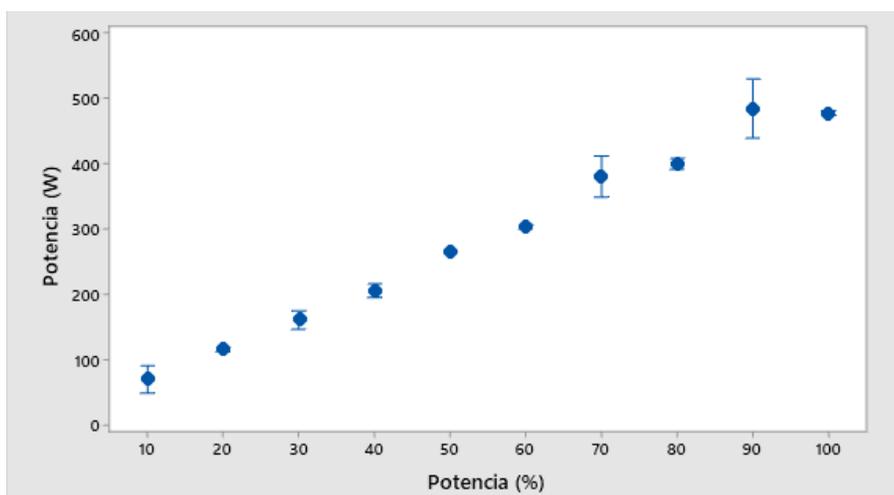
El equipo utilizado ofrece la posibilidad de controlar el porcentaje de potencia utilizado, por lo que con la finalidad de conocer de forma numérica la potencia que

ofrece cada porcentaje, se realizaron las mediciones de potencia mostradas en la Tabla 17.

**Tabla 17. Potencia de salida del microondas**

<i>Potencia (%)</i>	<i>Q(J)</i>	<i>Potencia (W)</i>
10	4184±1775	69.73±29
20	6903.6±295	115.06±4
30	9623.2±1183	160.38±19
40	12342.8±887	205.71±14
50	15899.2±0	264±0
60	18200.4±295	303.34±4
70	22802.8±2662	380.04±44
80	24476.4±295	399.80±44
90	29078.8±3846	484.64±64
100	28660.4±295	477.67±4

Para realizar un análisis visual de los datos recolectados, se graficó la potencia expresada en porcentaje con la potencia expresada en watts (Figura 36).



*Figura 36. Potencias de salida microondas; Fuente: Propia*

Con la información proporcionada, se buscaron aquellos porcentajes de potencia cuyos resultados presentaran menor desviación estándar, es decir, valores más constantes, los cuáles fueron el 20, 40, 50, 60, 80 y 100%; finalmente, se determinó hacer uso de potencias que permitieran evaluar tanto valores bajos como medios y altos de estas, por lo que se decidió utilizar los porcentajes correspondientes al 20, 60 y 100% de capacidad del equipo.

### **3.4.3 Proceso de Extracción**

Una vez finalizado estos procesos preliminares, se dieron por iniciadas las corridas previamente determinadas (Tabla 8) para la extracción asistida por microondas.

En Tabla 19 se presenta el peso y concentración contenido en cada una de las corridas, así como su nomenclatura correspondiente.

### **3.5 Extracción Asistida por Ultrasonido**

Para llevar a cabo la extracción asistida y al igual que la asistida por microondas, hay una serie de parámetros que se deben tener en cuenta con la intención de obtener los mejores resultados posibles, entre estos se encuentra la potencia ultrasónica, la frecuencia, temperatura, el diseño del reactor, los solventes a utilizar, la relación entre la muestra y solvente, entre otros (Esclapez et al., 2011).

El equipo utilizado nos ofrece una potencia de 200 W, así como una frecuencia de 40 kHz y permite controlar las variables de tiempo, así como temperatura; basado en diversas fuentes consultadas, se determinó trabajar con tiempos de 5, 15 y 25 minutos, y temperaturas de 20, 40 y 60°C.

Posterior a estas consideraciones, se realizó el respectivo diseño de experimentos y se obtuvieron las condiciones para la extracción (Tabla 10). La Tabla 20 muestra los valores de peso y concentración para cada corrida.

### **3.6 Determinación de compuestos fenólicos presentes en extractos.**

La determinación de grupos fenólicos presentes en la muestra se determinó mediante el uso del reactivo Folin-Ciocalteu; estos compuestos reaccionan con el reactivo dando como resultado una característica coloración azul que puede ser determinada por espectrofotometría.

Se realizó una curva de calibración empleando ácido gálico para la obtención de una ecuación de la recta que permitiera calcular la presencia de fenoles en los extractos obtenidos; se realizaron diversas diluciones hasta encontrar las adecuadas para este procedimiento, a las cuales se les midió la absorbancia (Tabla 12) y con la información recolectada se construyó un gráfico (Figura 37) relacionando las concentraciones con la absorbancia medida para posteriormente obtener la ecuación buscada.

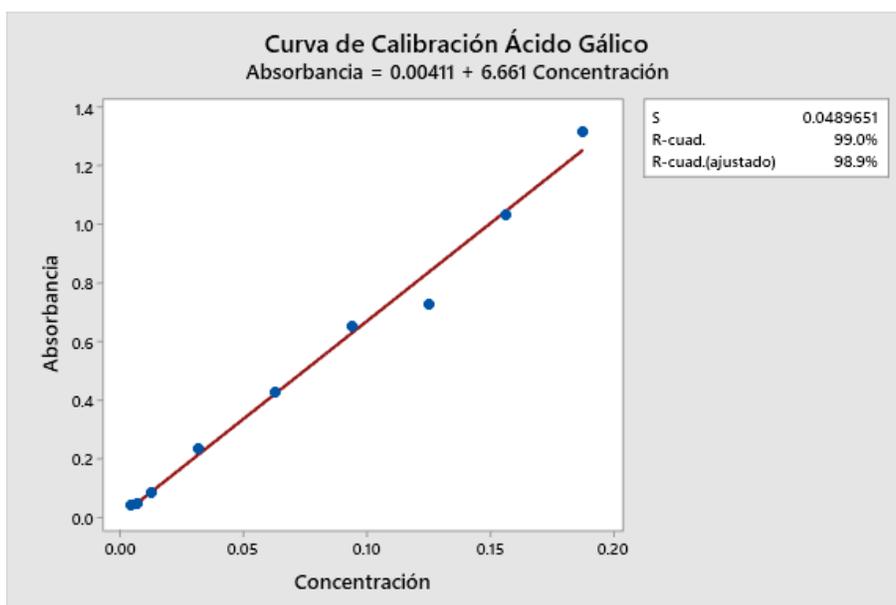


Figura 37. Curva de calibración de ácido gálico; Fuente: Propia

La recta resultante presentó un alto coeficiente de determinación ( $R^2=0.9901$ ) dando así la certeza que la ecuación (Ecuación 7) presenta una alta confiabilidad para poder ser utilizada en los cálculos necesarios.

$$\text{Absorbancia} = 6.6612 (\text{Concentración}) + 0.0041$$

*Ecuación 7. Ecuación de la recta AG*

Contando con la ecuación requerida, se procedió a hacer la medición de absorbancia, así como cálculo de fenólicos de todos los extractos obtenidos hasta el momento (extracción sin asistencia, con microondas y con ultrasonido).

**Tabla 18. Cálculo de fenólicos a extractos de CPA y CPC sin asistencia.**

Muestra	Peso (g)	Concentración (g/mL)	Absorbancia (nm)	Contenido de compuestos fenólicos	
				<i>mgEAG/mL</i>	<i>mg EAG /g PS</i>
SUA	25.006	0.050	0.439	0.065	1.304
SUC	25.041	0.050	0.205	0.030	0.603

**Tabla 19. Cálculo de fenólicos a extractos de CPA y CPC por microondas.**

Muestra	Peso (g)	Concentración (g/mL)	Absorbancia (nm)	Contenido de compuestos fenólicos	
				<i>mgEAG/mL</i>	<i>mg EAG/g PS</i>
MA 1	17.503	0.035	0.311	0.046	1.316
MA 2	25.009	0.050	0.447	0.066	1.329
MA 3	17.52	0.035	0.355	0.053	1.503
MA 4	10.045	0.020	0.207	0.030	1.516
MA 5	17.535	0.035	0.403	0.060	1.708
MA 6	17.544	0.035	0.486	0.072	2.062
MA 7	25.011	0.050	0.49	0.073	1.458
MA 8	17.511	0.035	0.412	0.061	1.748
MA 9	17.508	0.035	0.419	0.062	1.779
MA 10	10.01	0.20	0.219	0.032	1.611
MA 11	25.004	0.050	0.599	0.089	1.786
MA 12	25.007	0.050	0.572	0.085	1.705
MA 13	10.006	0.020	0.203	0.030	1.492
MA 14	17.503	0.035	0.375	0.056	1.591
MA 15	10.009	0.020	0.209	0.031	1.537
MC 1	17.528	0.035	0.175	0.026	0.732
MC 2	25.015	0.050	0.278	0.041	0.822
MC 3	17.505	0.035	0.149	0.022	0.621

Muestra	Peso (g)	Concentración (g/mL)	Absorbancia (nm)	Contenido de compuestos fenólicos	
				<i>mgEAG/mL</i>	<i>mg EAG/g PS</i>
MC 4	10.034	0.020	0.109	0.016	0.785
MC 5	17.539	0.035	0.156	0.023	0.650
MC 6	17.544	0.035	0.2	0.029	0.838
MC 7	25.012	0.050	0.23	0.034	0.678
MC 8	17.502	0.035	0.195	0.029	0.819
MC 9	17.503	0.035	0.176	0.026	0.737
MC 10	10.006	0.20	0.117	0.017	0.847
MC 11	25.01	0.050	0.25	0.037	0.738
MC 12	25.005	0.050	0.23	0.034	0.678
MC 13	10.01	0.020	0.103	0.015	0.742
MC 14	17.502	0.035	0.197	0.029	0.827
MC 15	10.012	0.020	0.119	0.017	0.861

MA: Microondas Asado, MC: Microondas Crudo

**Tabla 20. Cálculo de fenólicos a extractos de CPA y CPC por ultrasonido**

Muestra	Peso (g)	Concentración (g/mL)	Absorbancia (nm)	Contenido de Compuestos Fenólicos	
				<i>(mgEAG/ mL)</i>	<i>mg EAG /g PS</i>
UA 1	7.012	0.035	0.449	0.067	1.905
UA 2	4.01	0.020	0.262	0.039	1.931
UA 3	4.007	0.020	0.223	0.033	1.640
UA 4	7.003	0.035	0.468	0.070	1.989
UA 5	4.003	0.020	0.295	0.044	2.182
UA 6	10.007	0.050	0.578	0.086	1.722
UA 7	7.005	0.035	0.41	0.061	1.740
UA 8	7.01	0.035	0.48	0.071	2.038
UA 9	10.007	0.050	0.616	0.092	1.836

Muestra	Peso (g)	Concentración (g/mL)	Absorbancia (nm)	Contenido de Compuestos Fenólicos	
				(mgEAG/ mL)	mg EAG /g PS
UA 10	4.003	0.020	0.29	0.043	2.144
UA 11	10.012	0.050	0.55	0.082	1.637
UA 12	7.004	0.035	0.406	0.060	1.723
UA 13	10.006	0.050	0.56	0.083	1.668
UA 14	7.005	0.035	0.342	0.051	1.448
UA 15	7.006	0.035	0.436	0.065	1.851
UC 1	7.006	0.035	0.203	0.030	0.852
UC 2	4.006	0.020	0.113	0.016	0.816
UC 3	4.004	0.020	0.105	0.015	0.757
UC 4	7.006	0.035	0.208	0.031	0.874
UC 5	4.003	0.020	0.106	0.015	0.764
UC 6	10.018	0.050	0.256	0.038	0.755
UC 7	7.007	0.035	0.177	0.026	0.741
UC 8	7.012	0.035	0.206	0.030	0.865
UC 9	10.008	0.050	0.254	0.038	0.750
UC 10	4.012	0.020	0.14	0.020	1.017
UC 11	10.005	0.050	0.25	0.037	0.738
UC 12	7.012	0.035	0.182	0.027	0.762
UC 13	10.008	0.050	0.199	0.029	0.585
UC 14	7.007	0.035	0.231	0.034	0.972
UC 15	7.006	0.035	0.21	0.031	0.882

UA: Ultrasonido Asado, MC: Ultrasonido Crudo

Para un mejor análisis, se calculó el valor promedio de fenólicos obtenidos de cada chile y cada técnica (Tabla 21); se puede observar que el chile asado presenta mayor cantidad de fenólicos a comparación del crudo para ambas técnicas.

**Tabla 21. Contenido promedio de fenólicos (mg EAG/g PS) por extracción y tipo de Chile.**

Tipo de Chile	Técnica	
	Microondas	Ultrasonido
Crudo	0.75±0.07 <sup>a</sup>	0.80±0.10 <sup>a</sup>
Asado	1.60±0.19 <sup>a</sup>	1.83±0.2 <sup>b</sup>

\*Los valores en fila que comparten misma letra no presentan una diferencia significativa ( $p < 0.05$ ).

Con la intención de analizar y distinguir si existe alguna diferencia en el contenido de fenólicos causado por las técnicas de extracción utilizadas en ambos tipos de muestra, se realizó un análisis de varianzas y una comparación de Tukey con intervalo de confianza del 95%; la extracción llevada a cabo con asistencia por microondas arrojó valores de 0.75±0.07 y 1.60±0.19 para las muestras de CPC y CPA, respectivamente y no se detectó diferencia significativa entre ambos tipos de materia prima ( $p < 0.05$ ); por el contrario, al emplear la extracción asistida por ultrasonido, hubo una diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) entre ambos tipos de Chile, siendo el asado el cual fue favorecido por esta técnica de extracción.

La mayor concentración de compuestos fenólicos en el Chile asado sobre el Chile crudo puede ser explicado por lo reportado por Nayak et al. (2015), quienes mencionan diferentes comportamientos registrados en materias primas sometidas a tratamientos térmicos; dichos comportamientos fueron encontrados por estudios realizados en maíz dulce, tomate, café y betabel; en el caso del maíz, fue reportado un incremento mayor al 50% en su contenido de compuestos fenólicos como antioxidantes a pesar de haber sido sometido a un tratamiento térmico superior a los 100°C por periodos de tiempo de entre 10 y 50 minutos; para el tomate y café, se presentó un comportamiento muy similar al ocurrido en este documento, donde las especies que fueron sometidas a algún tipo de fuente de calor presentaron mejores resultados que sus similares frescos; el caso más particular se presentó con el betabel, el cual reportó pérdidas en su contenido de compuestos fenólicos al aplicarle calor (115°C) por un plazo de entre 15-30 minutos, sin embargo, al haber transcurrido 45 minutos se presentó un aumento, alcanzado y posteriormente superando los valores iniciales registrados.

Este comportamiento puede ser atribuido a la presencia de productos generados durante la reacción de Maillard, específicamente a las melanoidinas, las cuales son compuestos de alto peso molecular con un característico color café-marrón que aporta a los alimentos propiedades organolépticas, así como numerosos beneficios a la salud del consumidor entre los cuales se encuentra la actividad antioxidante.

Con la intención de tener un mejor panorama acerca de los resultados obtenidos de fenólicos presentes en chile poblano crudo y chile poblano asado, fue recolectada información proveniente de estudios similares, donde se emplearon variadas especies de chile, de las cuales se seleccionaron únicamente aquellas que poseen una coloración similar a la materia prima analizada en este estudio (Tabla 22).

**Tabla 22. Fenólicos totales extraídos de chiles verdes mediante diferentes técnicas**

<b>Variedad de chile</b>	<b>Fenólicos Totales (mg EAG/ g)</b>	<b>Estado de maduración.</b>	<b>Tratamiento</b>	<b>Condiciones de extracción</b>	<b>Referencia</b>
Poblano	2.19±0.06	-	-	Sonicación en solución	(Ornelas Paz et al., 2010)
	3.67±0.13	-	Asado	MeOH (80%).	
	1.11±0.10	Verde claro	Deshidratación	Reflujo en solución MeOH	(Cerón Carrillo et al., 2014)
	1.08±0.05	Verde oscuro	Deshidratación	(100%)	
	0.93±0.06	-	Liofilización	Sonicación por 30 minutos en solución MeOH 100%	(Cruz Vázquez, 2019)
Habanero	1.18±0.05	-	-	Sonicación en solución	(Ornelas Paz et al., 2010)
	2.77±0.06	-	Asado	MeOH (80%).	
Serrano	1.64±0.15	-	-	Sonicación en solución	(Ornelas Paz et al., 2010)
	2.29±0.16	-	Asado	MeOH (80%).	
	1.66±0.08	Verde claro	Deshidratación	Reflujo en solución MeOH	(Cerón Carrillo et al., 2014)
	1.97±0.07	Verde oscuro	Deshidratación	(100%)	
Jalapeño	1.60±0.05	-	-	Sonicación en solución	(Ornelas Paz et al., 2010)
	3.74±0.19	-	Asado	MeOH (80%).	
Chilaca	1.22±0.04	-	-	Sonicación en solución	(Ornelas Paz et al., 2010)
	2.34±0.04	-	Asado	MeOH (80%).	
Pimiento	1.15±0.04	-	-	Sonicación en solución	(Ornelas Paz et al., 2010)
	1.06±0.04	-	Asado	MeOH (80%).	

Haciendo una comparación y análisis entre los valores registrados en la Tabla 22 y los obtenidos en la experimentación realizada (Tabla 21), se puede apreciar que los resultados obtenidos en este trabajo presentan valores ligeramente inferiores de fenólicos totales en relación a lo reportado por otros autores; esta diferencia de contenido, puede ser atribuida a que la materia prima empleada en esta investigación son residuos de chile poblano que anteriormente fueron sometidos a un proceso industrial de maceración alcohólica para posteriormente en trabajo de laboratorio ser deshidratado y finalmente sometido a extracción y los resultados de otras investigaciones fueron obtenidos con materia prima sin tratamiento previo.

Como se mencionó en párrafos previos en esta sección, la exposición del producto a un tratamiento térmico puede contribuir al aumento de compuestos fenólicos; en todas las especies de chiles estudiadas se observó un incremento en el contenido total de fenólicos para aquellas muestras que pasaron por un proceso de asado en comparación con sus similares que fueron examinadas sin ninguna alteración; este comportamiento se puede observar en el caso del chile serrano, donde la concentración de fenólicos medida en la muestra cruda arrojó  $1.64 \pm 0.15$  mientras que el mismo chile pero siendo sometido a tratamiento térmico obtuvo valores de  $2.29 \pm 0.16$  mg EAG/ g.

Continuando con el análisis de información, otro factor involucrado en la extracción es el tipo de solvente utilizado; según lo reportado por Esclapez et al. (2011), la utilización de solventes empleados para los procesos de extracción tradicionales, pueden no ser los más indicados tratándose de ultrasonido; usualmente el solvente utilizado y seleccionado se basa en la afinidad existente entre el soluto y este, sin embargo, para la extracción asistida por esta técnica, es recomendable mezclar dichos compuestos con agua, que ocupar un solvente puro, ya que dicho solvente al volatilizarse puede introducirse dentro de las burbujas de cavitación, causando que al colapsar, la intensidad de las ondas de choque generadas sea menor y por consecuencia, se afecta de manera negativa el proceso; muestra de ello es la diferencia de valores obtenidos entre la extracción en metanol puro con aquella que emplea un 80% (Tabla 22), así como con los resultados obtenidos en esta

investigación (Tabla 21), en el que únicamente se hizo uso de agua y el contenido de fenólicos obtenidos fue mayor.

### 3.7 Optimización del proceso de extracción de compuestos fenólicos totales

Una vez finalizados ambos procesos de extracción para cada una de las formas de chile poblano empleadas, así como terminado el cálculo de la cantidad total de fenólicos presentes en cada muestra, estos datos se ingresaron al diseño de experimentos de tipo Box-Behnken con la intención de conocer aquellas condiciones con mayor impacto en el proceso de extracción, así como sus interacciones.

Correspondiente a la extracción asistida por microondas, se obtuvo lo siguiente (Tabla 23).

**Tabla 23. Impacto de las variables e interacciones entre ellas sobre la extracción de fenólicos presentes en CPC y CPA por microondas.**

Variable	Significancia (p)	
	CPA	CPC
Tiempo	0.150	0.556
Concentración	0.821	0.129
Potencia	0.836	0.142
Tiempo*Concentración	0.925	0.670
Tiempo*Potencia	0.066	0.073
Concentración*Potencia	0.561	0.556

Como se puede observar en ambos tipos de muestra, el nivel de significancia “p” más bajo se encuentra para la interacción que existe entre las variables de tiempo de exposición, así como la potencia empleada en el microondas, lo cual significa que son estas dos condiciones en conjunto las que más repercuten en el proceso de extracción; para un mejor análisis y apreciar de manera visual estas interacciones, se construyeron las gráficas de contorno correspondientes, tanto para CPC (Figura 39) y CPA (Figura 40).

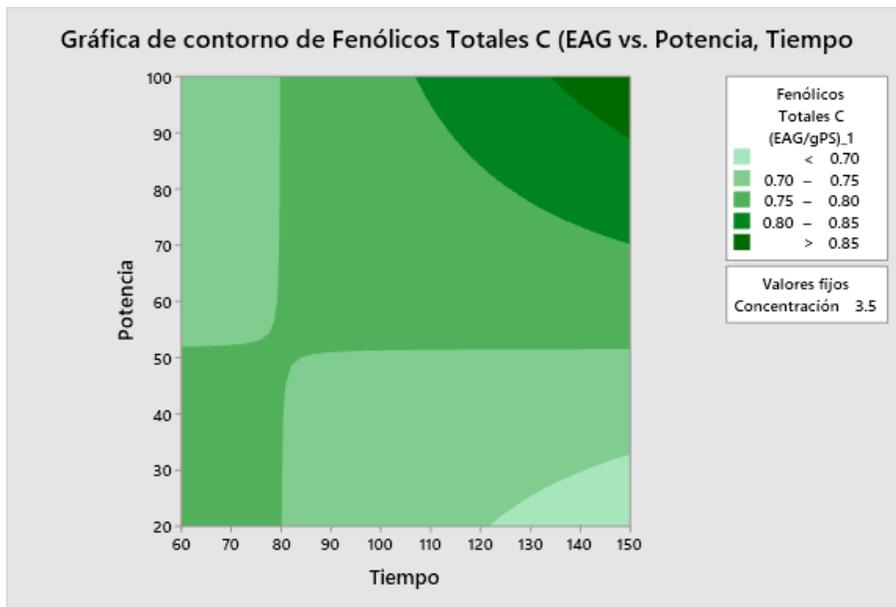


Figura 38. Impacto de la interacción Tiempo-Potencia en extracción EAM para CPC; Fuente: Propia

En la gráfica presentada se puede apreciar que los valores más altos son alcanzados a las condiciones más elevadas de potencia y tiempo; sin embargo, se observa una tendencia en la cual la concentración de fenólicos totales aumenta al disminuir estos parámetros, por lo que se infiere que a una menor potencia que la empleada, los resultados puedan continuar aumentando. Considerando la información mostrada en Tabla 17, se puede notar que la potencia mínima ofrecida por el equipo presentaba una alta desviación, por lo que se decidió no aplicarla, siendo esta la causa por la que la perspectiva ofrecida por la gráfica de contorno mostrada no permita ver más allá del 20% de potencia y por lo tanto distinguir de mejor manera el comportamiento de estas variables.

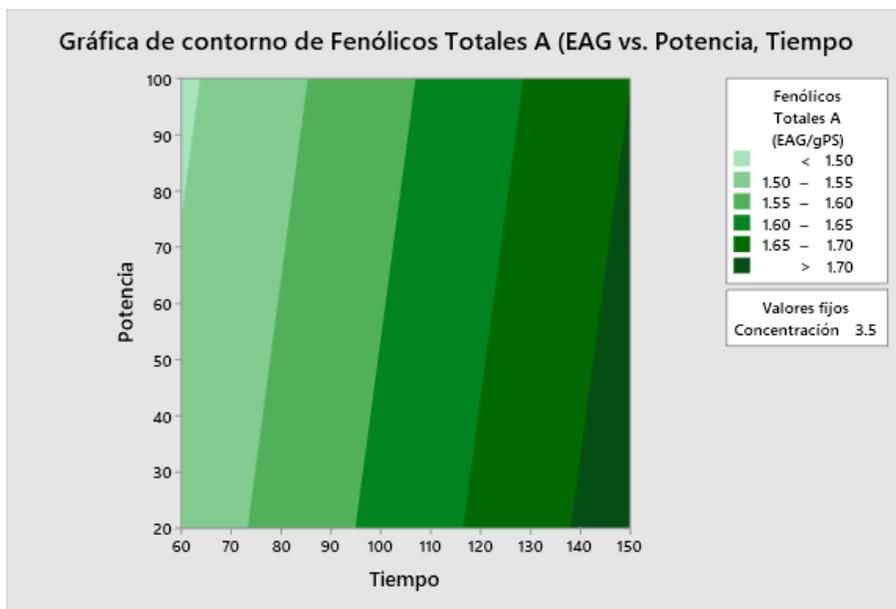


Figura 39. Impacto de la interacción Tiempo-Potencia en extracción EAM para CPA; Fuente: Propia

En cuanto a CPA, se puede distinguir que, a mayor tiempo de exposición a microondas, y sin necesidad de aplicar potencias elevadas, se obtienen las concentraciones más elevadas de fenólicos en el extracto.

El siguiente paso fue la búsqueda de aquellos valores óptimos referentes a las condiciones de extracción que lograran arrojar los mejores resultados en cuanto a fenólicos totales; por lo que se obtuvo una ecuación de regresión para CPC (Ecuación 8) y CPA (Ecuación 9); y de esta manera poder calcular dichos valores (Tabla 24).

$$FT = 0.992 - 0.0012t - 0.024C - 0.00425W - 0.000219tC + 0.000038tW + 0.00034CW$$

Ecuación 8. Regresión CPC, EAM.

$$FT = 1.893 - 0.00471t - 0.052C - 0.00855W - 0.00013tC + 0.000109tW + 0.00093CW$$

Ecuación 9. Regresión CPA, EAM.

Donde:

$FT = \text{Fenólicos Totales}$

$t = \text{Tiempo}$

$C = \text{Concentración}$

$W = \text{Potencia}$

**Tabla 24. Condiciones óptimas de extracción por microondas.**

Muestra	Potencia (%)	Tiempo (s)	Concentración (%)
CPC	20	60	2
CPA	20	60	5

Se procedió a llevar a cabo las extracciones y determinación de fenólicos totales (Tabla 25) aplicando las condiciones de extracción obtenidas para cada tipo de chile siguiendo la misma metodología que fue aplicada anteriormente.

**Tabla 25. Contenido de fenólicos previstos vs reales EAM.**

Muestra	Fenólicos obtenidos (EAG/g PS)	Fenólicos esperados (EAG/g PS)
CPC	0.79±0.05 <sup>Aa</sup>	0.81 <sup>A</sup>
CPA	1.48±0.05 <sup>Bb</sup>	1.77 <sup>B</sup>

\*Los valores en fila que comparten misma letra mayúscula no presentan diferencia significativa ( $p < 0.05$ ); los valores en columna que comparten misma letra minúscula no presentan diferencia significativa ( $p < 0.05$ )

Como se puede observar para la muestra correspondiente al chile crudo, se concretó la inferencia que se realizó acorde a lo observado en la Figura 39, en la cual se mencionó que a una menor potencia las concentraciones de fenólicos totales podían aumentar

Para ambas muestras, se puede observar en la Tabla 20, que existen resultados de fenólicos más altos que los calculados como óptimos, sin embargo, dichos valores fueron obtenidos con condiciones más altas de tiempo y potencia.

Referente a la extracción asistida por ultrasonido se calcularon los datos mostrados en Tabla 26.

**Tabla 26. Impacto de las variables e interacciones entre ellas sobre la extracción de fenólicos presentes en CPC y CPA por ultrasonido.**

Variable	Significancia	
	CPA	CPC
Tiempo	0.518	0.806
Concentración	0.070	0.063
Temperatura	0.096	0.466
Tiempo*Concentración	0.149	0.040
Tiempo*Temperatura	0.678	0.957
Concentración*Temperatura	0.885	0.700
Temperatura*Temperatura	-	0.213
Concentración*Concentración	-	0.092
Tiempo*Tiempo	-	0.303

Para esta técnica se presentaron efectos de las condiciones diferentes para cada tipo de muestra, en comparación con microondas que presentaron influencia por las mismas interacciones. Para el chile poblano asado, la temperatura y la concentración por separado fueron las que presentaron mayor significancia, mientras que en el caso del chile poblano crudo fue la interacción entre el tiempo y la concentración la que presentó mayor significancia. De igual manera se generaron las gráficas para realizar los análisis correspondientes (Figura 41, 42).

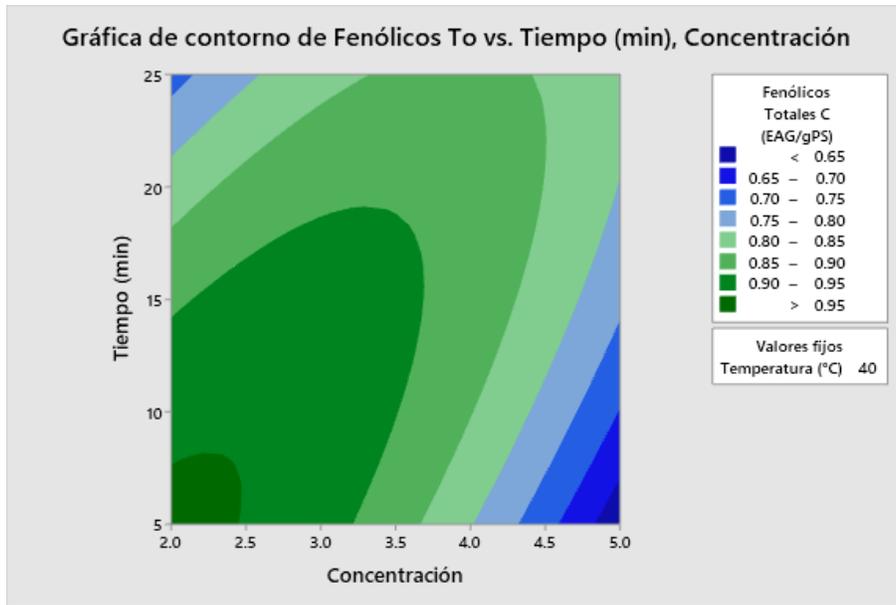


Figura 40. Impacto de la interacción Concentración-Tiempo en extracción EAU para CPC; Fuente: Propia

Las condiciones de extracción muestran una mayor presencia de fenólicos cuando las extracciones se realizan a concentraciones bajas con periodos cortos de tiempo.

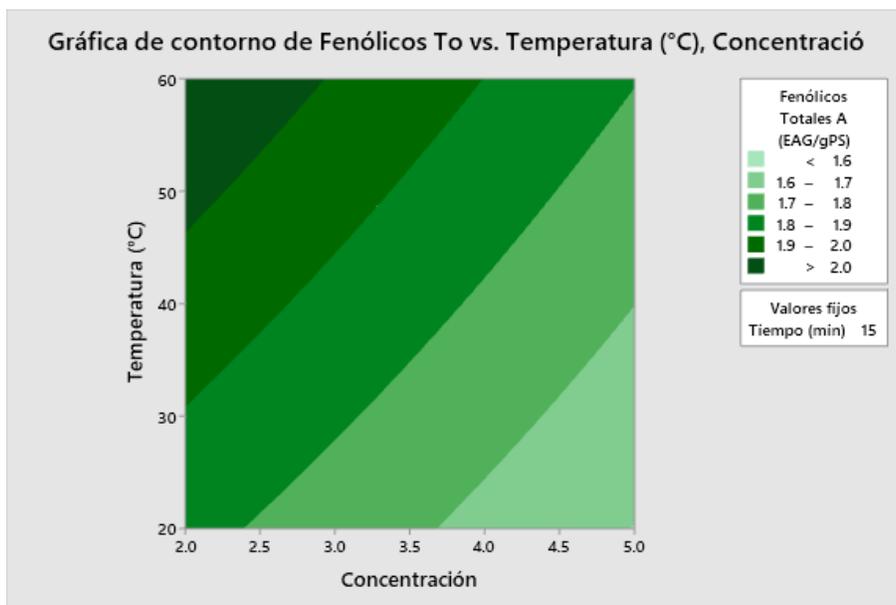


Figura 41. Impacto de la interacción Concentración-Temperatura en extracción EAU para CPA; Fuente: Propia

Para el chile asado, la concentración y temperatura fueron las variables que más impacto presentaron, para poder analizarlas se decidió graficarlas en conjunto para apreciar su efecto en las extracciones, lográndose distinguir mejores resultados en valores altos de temperatura empleando concentraciones bajas de muestra.

Se realizó la regresión correspondiente, obteniendo así la ecuación que nos proporciona las condiciones óptimas (Tabla 27) para CPC (Ecuación 10) y CPA (Ecuación 11).

$$FT = 0.678 + 0.01099T - 0.0114t + 0.090C - 0.000145T^2 - 0.000467t^2 - 0.0376C^2 - 0.000011Tt + 0.00053TC + 0.00718tC$$

*Ecuación 10. Regresión CPC, EAU.*

$$FT = 2.502 + 0.0045T - 0.0442t - 0.208C + 0.000188Tt - 0.00043TC + 0.0093tC$$

*Ecuación 11. Regresión CPA, EAU*

Donde:

*FT = Fenólicos Totales*

*t = Tiempo*

*C = Concentración*

*T = Temperatura*

**Tabla 27. Condiciones óptimas de extracción por ultrasonido**

<b>Muestra</b>	<b>Temperatura (°C)</b>	<b>Tiempo (min)</b>	<b>Concentración (%)</b>
<b>CPC</b>	40	5	2
<b>CPA</b>	60	5	2

Se realizaron las extracciones, así como la determinación de fenólicos obteniendo los resultados presentados en Tabla 28.

**Tabla 28. Contenido de fenólicos previstos vs reales EAU**

<b>Muestra</b>	<b>Fenólicos obtenidos (EAG/g PS)</b>	<b>Fenólicos esperados (EAG/g PS)</b>
CPC	0.79±0.04 <sup>Aa</sup>	0.91 <sup>A</sup>
CPA	1.76±0.14 <sup>Bb</sup>	2.23 <sup>B</sup>

\*Los valores en fila que comparten misma letra mayúscula no presentan diferencia significativa ( $p < 0.05$ ); los valores en columna que comparten misma letra minúscula no presentan diferencia significativa ( $p < 0.05$ )

Al igual que la extracción por microondas, se reportaron valores de fenólicos (Tabla 20) más altos al aplicar otras condiciones, sin embargo, las óptimas arrojan datos similares sin requerimientos elevados.

### 3.8 Evaluación de capacidad antioxidante por DPPH

La evaluación de capacidad antioxidante se cuantificó mediante el cálculo del porcentaje de inhibición de radical DPPH al ser expuesto a los extractos obtenidos, esta determinación es debida a la diferencia de absorbancias medidas, causadas por el cambio de coloración de dicho reactivo; tal porcentaje se sustituyó en la ecuación de la recta obteniendo de esta forma los micromol de equivalente de Trolox (ET) por gramo de muestra.

**Tabla 29. Micromol de equivalente de Trolox por gramo de muestra de CPA y CPC**

<b>Muestra</b>	<b>μmol ET/g</b>
<b>OUA</b>	80.56±2.26 <sup>a</sup>
<b>OUC</b>	13.72±0.95 <sup>b</sup>
<b>OMA</b>	43.91±3.78 <sup>c</sup>
<b>OMC</b>	15.04±1.44 <sup>b</sup>

\*Los valores en columna que comparten misma letra minúscula no presentan diferencia significativa ( $p < 0.05$ );  
OUA/OUC: Optimizado Ultrasonido Asado/Crudo, OMA/OMC: Optimizado Microondas Asado/Crudo.

Como se puede apreciar, las muestras de chile poblano asado presentaron una mayor capacidad antioxidante que su similar crudo, la razón de esta conducta se

infiera es por la extracción de capsaicinoides. Srinivasan (2005) compiló una gran cantidad de trabajos de investigación relacionados a los efectos benéficos a la salud otorgados por especias como potencial antidiabético, efectos antilítogenico, propiedades antioxidantes, entre otros; entre las especias estudiadas se encontró la capsaicina, la cual presentó gran efectividad como agente antioxidante.

Ornelas Paz et al. (2010) midieron la presencia de tres tipos de capsaicinoides (capsaicina, dihidrocapsaicina y nordihidrocapsaicina) en chiles antes y después de ser sometidos a tratamiento térmico, resultando en un aumento en la presencia de estos compuestos una vez que fueron sometidos a calor. Específicamente, respecto al chile poblano se reportó únicamente la presencia de capsaicina al inicio del estudio ( $0.6 \pm 0.1 \mu\text{g/g}$ ), posterior al proceso de asado se hizo presente un incremento de este compuesto ( $6.5 \pm 1.5 \mu\text{g/g}$ ), sin embargo, la presencia de la capsaicina se redujo al 62% del total de capsaicinoides, esto debido a la aparición de la nordihidrocapsaicina ( $4.0 \pm 0.8 \mu\text{g/g}$ ), ocupando un 38% del total.

Ambos métodos de extracción empleados en este trabajo de investigación han demostrado tener resultados positivos en cuanto a obtención de capsaicinoides se refiere. Para la obtención de capsaicinoides provenientes de chile morrón, la extracción asistida por microondas fue comparada con extracciones obtenidas por reflujo ( $0.31 \pm 0.08 \text{ mg/ml}$ ), así como por frasco agitado ( $0.22 \pm 0.01 \text{ mg/ml}$ ) obteniendo mejores concentraciones que ambas técnicas mencionadas ( $0.48 \pm 0.11 \text{ mg/ml}$ ) (Williams et al., 2004).

Barbero et al. (2006), realizaron un análisis entre la extracción asistida con microondas y la extracción por agitación magnética de capsaicinoides presentes en la especie *Capsicum frutescens*, resultando en valores superiores con tiempos de extracción más bajos aplicando EAM; de igual manera los autores mencionan las condiciones óptimas para desarrollar la extracción, estableciendo una potencia de 500W, por un tiempo de 5 minutos, temperatura de  $125^\circ \text{C}$ , empleando etanol y agregando 0.5g de muestra en 25mL de solvente.

Por su parte, para la extracción asistida por ultrasonido, Barbero et al. (2008) buscaron el desarrollo de una metodología óptima para la extracción de

capsaicinoides contenidos en *Capsicum frutescens*, para ello se experimentó variando el solvente utilizado, la temperatura y tiempo de extracción, cantidad de solvente y cantidad de muestra; los resultados obtenidos arrojan al metanol como mejor opción, la temperatura óptima se encuentra en el rango de entre 30-60 °C, el tiempo de extracción se localiza entre los 10 y 20 min, y por último, el volumen y cantidad de muestra no representan un factor que pueda alterar la extracción, por lo que no se define un valor óptimo.

Chuichulcherm et al. (2013), realizaron una comparación entre 3 tipos de extracción (EAM, EAU y Soxhlet) en la obtención de capsaicinoides empleando *Capsicum frutescens* como materia prima; se evaluó la concentración de estos compuestos, así como el tiempo y gasto energético requerido para llevar a cabo el procedimiento. El resultado obtenido mostró una mayor eficiencia en cuanto a la obtención de compuestos por parte de la extracción asistida por microondas (5.243 mg/g de chile seco), sin embargo, el gasto energético requerido es mayor en comparación con la extracción asistida por ultrasonido en el mismo tiempo, por lo que a pesar de haber arrojado resultados menores (4.014 mg/g de chile seco), el uso de ultrasonido fue definido como el método óptimo de obtención de capsaicinoides.

Mencionado lo anterior, la diferencia en capacidad antioxidante calculada entre CPC y CPA se puede atribuir al ya mencionado aumento en la presencia de capsaicina, así como de compuestos fenólicos y la aparición de norhidrocapsaicina en la muestra previamente expuesta a tratamiento térmico, comparado a su similar en estado fresco.

# **CAPÍTULO 4: CONCLUSIONES**

Después de los trabajos de experimentación, se encontró que el chile poblano que fue sometido a proceso de asado durante la realización del licor presentó una mayor presencia de fenólicos en los extractos obtenidos por medio de ambas técnicas, en comparación con aquel que fue utilizado sin asar, mientras que la muestra a la que únicamente se le sometió a agitación mecánica obtuvo los valores más bajos, a pesar de haber sido empleado el mayor porcentaje de concentración.

Con base en los estudios realizados, la extracción por microondas se ve beneficiada por cortos periodos de exposición (60 s) y con valores bajos de potencia (20%), las variaciones se presentan en las concentraciones, donde el chile asado requiere presencia de más muestra, mientras que el crudo requiere menores cantidades; esto puede ser explicado por la gran capacidad de absorción de agua que presentó la muestra cruda en comparación de la asada.

Por otro lado, las condiciones en las cuales se presenta un mejor funcionamiento empleando ultrasonido fueron aquellas con bajos valores de concentración (2%) y de tiempos de exposición (5 minutos), las variaciones fueron presentadas para los valores de temperatura a los cuales se llevaron a cabo los procesos, recordando que a pesar de ser ambas muestras procedentes de chile, sus composiciones son diferentes, por lo que se infiere una mayor resistencia al calor por parte de los compuestos contenidos en la muestra asada gracias al proceso previo a alta temperatura al que fue sometido, mientras que aquellos encontrados en muestras frescas pueden ser más sensibles a valores elevados de estas, siendo este el motivo por el cual CPC presentó mejores extracciones a 40°C mientras que CPA a 60 °C.

Haciendo un contraste entre técnicas, la asistida por ultrasonido es aquella que presenta mejores resultados en la extracción y cuantificación de fenólicos obtenidos de ambos chiles en comparación con la asistida por microondas.

La medición de capacidad antioxidante por radical DPPH presentó el mismo comportamiento que se ha descrito, en el cual los extractos obtenidos de CPA presentan mejores resultados que los extraídos de CPC, así como una ventaja por parte de ultrasonido sobre microondas.

Analizando en conjunto la concentración de fenólicos totales, la capacidad antioxidante y los rendimientos en las extracciones, podemos concluir que de los cuatro tratamientos evaluados (CPA/EAM, CPC/EAM, CPA/EAU, CPC/EAU), los mejores resultados fueron mediante la combinación de extracción asistida por ultrasonido empleando chile poblano asado como materia prima.

Finalmente, a pesar de haber pasado por un proceso de maceración alcohólica para la elaboración de licor, los residuos de chile poblano presentan un gran potencial para emplearse como fuente de obtención de compuestos bioactivos, en específico aquellos con propiedades antioxidantes, abriendo la puerta a posibles aplicaciones en pro de la salud del consumidor, así como en la conservación de alimentos.

# REFERENCIAS

- Abu Reidah, I. M. (2013). *Characterization of phenolic compounds in highly-consumed vegetable matrices by using advanced analytical techniques* [Centro de Investigación y Desarrollo de Alimento Funcional]. <http://hdl.handle.net/10481/29557>
- Alara, O. R., Abdurahman, N. H., & Ukaegbu, C. I. (2021). Extraction of phenolic compounds: A review. *Current Research in Food Science*, 4, 200–214. <https://doi.org/10.1016/J.CRFS.2021.03.011>
- Alara, O. R., Abdurahman, N. H., Ukaegbu, C. I., & Kabbashi, N. A. (2019). Extraction and characterization of bioactive compounds in Vernonia amygdalina leaf ethanolic extract comparing Soxhlet and microwave-assisted extraction techniques. *Journal of Taibah University for Science*, 13(1), 414–422. <https://doi.org/10.1080/16583655.2019.1582460>
- Albuquerque, B. R., Heleno, S. A. 8., Oliveira, M. B. P. P., Barros, L., & Ferreira, I. C. F. R. (2021). Phenolic compounds: current industrial applications, limitations and future challenges. *Food & Function*, 12(1), 14–29. <https://doi.org/10.1039/D0FO02324H>
- Bagade, S. B., & Patil, M. (2019). Recent Advances in Microwave Assisted Extraction of Bioactive Compounds from Complex Herbal Samples: A Review. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 51(2), 138–149. <https://doi.org/10.1080/10408347.2019.1686966>
- Barbero, G. F., Liazid, A., Palma, M., & Barroso, C. G. (2008). Ultrasound-assisted extraction of capsaicinoids from peppers. *Talanta*, 75(5), 1332–1337. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2008.01.046>
- Barbero, G. F., Palma, M., & Barroso, C. G. (2006). Determination of capsaicinoids in peppers by microwave assisted extraction-high-performance liquid chromatography with fluorescence detection. *Analytica Chimica Acta*, 578(2), 227–233. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2006.06.074>
- Beltrán de Heredia, M. R. (2016). Alimentos funcionales. *Farmacia Profesional*, 30(3), 12–14. <https://www.elsevier.es/es-revista-farmacia-profesional-3-articulo-alimentos-funcionales-X0213932416546681>
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. (1995). Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. *LWT-Food Science and Technology*, 28, 25–30.
- Bromberger Soquetta, M., de Marsillac Terra, L., & Peixoto Bastos, C. (2018). Green technologies for the extraction of bioactive compounds in fruits and vegetables. *CyTA-Journal of Food*, 16(1), 400–412. <https://doi.org/10.1080/19476337.2017.1411978>
- Carranco Jáuregui, M. E., Calvo Carrillo, Ma. de la C., & Pérez-Gil Romo, F. (2011). Carotenoides y su función antioxidante: Revisión. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 61(3), 233–241.
- Carvajal Carvajal, C. (2019). ESPECIES REACTIVAS DEL OXÍGENO: FORMACIÓN, FUNCION Y ESTRÉS OXIDATIVO. *Medicina Legal de Costa Rica*, 36(1).

- Castillo-Velarde, E. R. (2019). Cite as: Edwin Rolando Castillo-Velarde. Vitamin C in health and disease. *Rev. Fac. Med. Hum. October, 19(4)*, 95–100.  
<https://doi.org/10.25176/RFMH.v19i4.2351>
- CCA (2017), Caracterización y gestión de los residuos orgánicos en América del Norte, informe sintético, *Comisión para la Cooperación Ambiental*, Montreal, 52 pp.
- Cerón Carrillo, T., Munguía Pérez, R., García, S., & Santiesteban López, N. A. (2014). Actividad antimicrobiana de extractos de diferentes especies de Chile (Capsicum). *Revista Iberoamericana de Ciencias, 1(2)*, 214–221.  
<https://www.researchgate.net/publication/273320012Actividadantimicrobianadeextractosdediferentesespeciesdechile>
- Céspedes Miranda, E., & Castillo Herrera, J. (2008). La peroxidación lipídica en el diagnóstico del estrés oxidativo del paciente hipertenso. ¿Realidad o mito? *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas, 27(2)*.
- Chuichulcherm, S., Prommakort, S., Srinophakun, P., & Thanapimmetha, A. (2013). Optimization of capsaicin purification from *Capsicum frutescens* Linn. with column chromatography using Taguchi design. *Industrial Crops and Products, 44*, 473–479.  
<https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2012.10.007>
- Corrales, L. C., & Muñoz Ariza, M. M. (2012). Estrés oxidativo: origen, evolución y consecuencias de la toxicidad del oxígeno. *NOVA, 10(8)*, 135–250.
- Cruz Vázquez, A. O. (2019). *Caracterización y cuantificación de fenoles totales, capacidad antioxidante y capsaicinoides en diferentes tejidos de tres especies del género Capsicum spp. cultivados en Mesoamérica*.
- da Porto, C., Porretto, E., & Decorti, D. (2013). Comparison of ultrasound-assisted extraction with conventional extraction methods of oil and polyphenols from grape (*Vitis vinifera* L.) seeds. *Ultrasonics Sonochemistry, 20(4)*, 1076–1080.  
<https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2012.12.002>
- Duran, M. R., & Borja Padilla, R. (1993). Actividad antioxidante de las vitaminas C y E y de la provitamina A. *Grasas y Aceites, 44(2)*, 107–111.  
<http://grasasyaceites.revistas.csic.es>
- Durand, M., & Mach, N. (2013). El ácido alfa lipoico y su poder antioxidante frente al cáncer y las patologías de sensibilización central. *Nutrición Hospitalaria, 28(4)*, 1031–1038. <https://doi.org/10.3305/nh.2013.28.4.6589>
- Esclapez, M. D., García-Pérez, J. v., Mulet, A., & Cárcel, J. A. (2011). Ultrasound-Assisted Extraction of Natural Products. In *Food Engineering Reviews* (Vol. 3, Issue 2, pp. 108–120). <https://doi.org/10.1007/s12393-011-9036-6>
- Estrada Reyes, R., Ubaldo Suárez, D., & Araujo Escalona, A. G. (2012). Los flavonoides y el Sistema Nervioso Central. *Salud Mental, 35(5)*, 375–384.

- Febles Fernández, C., Soto Febles, C., Saldaña Bernabeu, A., & García Triana, B. (2002). FUNCIONES DE LA VITAMINA E. ACTUALIZACIÓN. *Rev Cubana Estomatol*, 40(1), 28–32.
- Granados Conde, C., Pajaro, N. P., & Méndez León, G. (2019). Actividad antioxidante y contenido fenólico del extracto etanólico de *Capsicum annum* L. *Revista Cubana de Farmacia*, 52(2), 1–12. <https://orcid.org/0000-0002-9831-9663>
- Ilustra2 (2020) Lección 5: El valor y la luz [imagen] Recuperado de: <https://lamonalista.com/valor-y-luz/>
- Jacotet-Navarro, M., Rombaut, N., Deslis, S., Fabiano-Tixier, A. S., Pierre, F. X., Bily, A., & Chemat, F. (2016). Towards a “dry” bio-refinery without solvents or added water using microwaves and ultrasound for total valorization of fruit and vegetable by-products. *Green Chemistry*, 18(10), 3106–3115. <https://doi.org/10.1039/C5GC02542G>
- Johnson, E. J. (2002). *The Role of Carotenoids in Human Health*. 5(2), 56–65. <https://doi.org/10.1046/j.1523-5408.2002.00004.x>
- Konica Minolta (2020) Entendiendo El Espacio de Color CIE L\*A\*B\* [Imagen] Recuperado de: <https://sensing.konicaminolta.us/mx/blog/entendiendo-el-espacio-de-color-cie-lab/>
- Liu, Z., Ren, Z., Zhang, J., Chuang, C. C., Kandaswamy, E., Zhou, T., & Zuo, L. (2018). Role of ROS and nutritional antioxidants in human diseases. *Frontiers in Physiology*, 9(MAY), 477. <https://doi.org/10.3389/FPHYS.2018.00477/BIBTEX>
- Mandal, V., Mohan, Y., & Hemalatha, S. (2007). Microwave Assisted Extraction-An Innovative and Promising Extraction Tool for Medicinal Plant Research. *Pharmacognosy Reviews*, 1(1), 7–18. <http://www.phcogrev.com>
- Martínez Damián, M. T., Cruz Álvarez, Ó., Moreno Pérez, E. del C., & Valle Guadarrama Salvador. (2019). Intensidad de color y compuestos bioactivos en colectas de chile guajillo ddel norte de México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 10(1).
- Mediklar (2020) CAVITACELL™ ULTRA-CAVITATION SYSTEM [Imagen] Recuperado de: <https://mediklar.es/equipos-aparatologia-estetica/cavitacell-sisneo/>
- Menéndez, J. (2014) La vitamina E [Imagen]. Recuperado de: <https://www.asturnatura.com/articulos/nutricion/energia-nutrientes-componentes-dieta/vitamina-e.php>
- Nayak, B., Liu, R. H., & Tang, J. (2015). Effect of Processing on Phenolic Antioxidants of Fruits, Vegetables, and Grains—A Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 55(7), 887–918. <https://doi.org/10.1080/10408398.2011.654142>
- Ornelas Paz, J. de J., Martínez Burrola, J. M., Ruiz Cruz, S., Santana Rodríguez, V., Ibarra Junquera, V., Olivas, G. I., & Pérez Martínez, J. D. (2010). Effect of cooking on

- the capsaicinoids and phenolics contents of Mexican peppers. *Food Chemistry*, 119(4), 1619–1625. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.09.054>
- Pilli, S., Bhunia, P., Yan, S., LeBlanc, R. J., Tyagi, R. D., & Surampalli, R. Y. (2011). Ultrasonic pretreatment of sludge: A review. *Ultrasonics Sonochemistry*, 18(1), 1–18. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2010.02.014>
- Prakash, D., & Gupta, K. R. (2009). The Antioxidant Phytochemicals of Nutraceutical Importance. *The Open Nutraceuticals Journal*, 2(1), 20–35. <https://doi.org/10.2174/1876396000902010020>
- Quiñones, M., Miguel, M., & Aleixandre, A. (2012). Los polifenoles, compuestos de origen natural con efectos saludables sobre el sistema cardiovascular. *Nutrición Hospitalaria*, 27(1), 76–89. <https://doi.org/10.3305/nh.2012.27.1.5418>
- Robert, A. (2018) Los Flavonoides [Imagen] Recuperado de: <https://oushia.com/los-flavonoides/>
- Rostagno, M. A., Palma, M., & Barroso, C. G. (2003). Ultrasound-assisted extraction of soy isoflavones. *Journal of Chromatography A*, 1012(2), 119–128. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(03\)01184-1](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(03)01184-1)
- Sanchez, M. E. (2013). *Antioxidantes Consumo de Antioxidantes Naturales en Adultos Mayores de entre 65 y 75 años con Dislipidemia*. Universidad Abierta Interamericana.
- Sant'Anna, V., Deyse Gurak, P., Ferreira Marczak, L. D., & Tessaro, I. C. (2013). Tracking bioactive compounds with colour changes in foods - A review. *Dyes and Pigments*, 98(3), 601–608. <https://doi.org/10.1016/j.dyepig.2013.04.011>
- SEMARNAT. (2020). *DIAGNÓSTICO BÁSICO PARA LA GESTIÓN INTEGRAL DE LOS RESIDUOS*. <https://www.gob.mx/inecc/acciones-y-programas/diagnostico-basico-para-la-gestion-integral-de-los-residuos-2020>
- Sepúlveda, C. T., & Zapata, J. E. (2019). Efecto de la Temperatura, el pH y el Contenido en Sólidos sobre los Compuestos Fenólicos y la Actividad Antioxidante del Extracto de Bixa orellana L. *Información Tecnológica*, 30(5), 57–66. <https://doi.org/10.4067/S0718-07642019000500057>
- Shahidi, F., Zhong, Hy. J., & Ambigaipalan, P. (2020). Antioxidants: Regulatory Status. *Bailey's Industrial Oil and Fat Products*, 1–21. <https://doi.org/10.1002/047167849X.BIO035.PUB2>
- Silveira Rodríguez, M. B., Monereo Megías, S., & Begoña Molina, B. (2003). ALIMENTOS FUNCIONALES Y NUTRICIÓN ÓPTIMA. ¿CERCA O LEJOS? *Rev Esp Salud Pública*, 77(3), 317–331.
- Singleton, V. L., & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144–158.

- Srinivasan, K. (2005). Spices as influencers of body metabolism: An overview of three decades of research. *Food Research International*, 38(1), 77–86. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2004.09.001>
- Urías Oroña, V., Basilio Heredia, J., Muy Rangel, D., & Niño Medina, G. (2016). ÁCIDOS FENÓLICOS CON ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE EN SALVADO DE MAÍZ Y SALVADO DE TRIGO. *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios*, 3(7), 43–50. <http://ri.ujat.mx/handle/20.500.12107/1088>
- Valenzuela V., C., & Pérez M., P. (2016). Actualización en el uso de antioxidantes naturales derivados de frutas y verduras para prolongar la vida útil de la carne y productos cárneos. *Revista Chilena de Nutrición*, 43(2), 188–195. <https://doi.org/10.4067/S0717-75182016000200012>
- Venereo Gutiérrez, J. R. (2002). DAÑO OXIDATIVO, RADICALES LIBRES Y ANTIOXIDANTES. *Rev Cubana Med Milit*, 31(2), 126–159.
- Vitamina C - Datos en español*. (2019, December 18). <https://ods.od.nih.gov/factsheets/VitaminC-DatosEnEspañol/>
- Vitamina E - Datos en español*. (2020, November 20). <https://ods.od.nih.gov/factsheets/VitaminE-DatosEnEspañol/>
- Williams, O. J., Vdaya Raghavan, G. S., Orsat, V., & Dai, J. (2004). MICROWAVEASSISTED EXTRACTION OF CAPSAICINOIDS FROM CAPSICUM FRUIT. *Journal of Food Biochemistry*, 28, 113–122.
- Wu, T. Y., Guo, N., Teh, C. Y., & Hay, J. X. W. (2013). Theory and Fundamentals of Ultrasound. In *Advances in Ultrasound Technology for Environmental Remediation* (1st ed., pp. 5–12). Springer Dordrecht. [https://doi.org/10.1007/978-94-007-5533-8\\_2](https://doi.org/10.1007/978-94-007-5533-8_2)
- Zamora S, J. D. (2007). ANTIOXIDANTES: MICRONUTRIENTES EN LUCHA POR LA SALUD. *Revista Chilena de Nutrición*, 34(1), 17–26. <https://doi.org/10.4067/S0717-75182007000100002>