

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
FACULTAD DE SALUD PÚBLICA Y NUTRICIÓN



**DETERMINACIÓN DE CAPSAICINOIDES Y COMPUESTOS
FENÓLICOS Y SU CORRELACIÓN CON LA CAPACIDAD DE
INHIBICIÓN DE α -AMILASA Y α -GLUCOSIDASA EN DOS
VARIETADES DE *Capsicum chinense Jacq* CULTIVADAS EN
INVERNADERO EN EL ESTADO DE NUEVO LEÓN**

**POR
PAOLA ELIZABETH RODRÍGUEZ DE LEÓN**

**COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO
DE MAESTRÍA EN CIENCIAS EN NUTRICIÓN**

NOVIEMBRE, 2018

Tesis de Posgrado

"DETERMINACIÓN DE CAPSAICINOIDES Y COMPUESTOS FENÓLICOS Y SU CORRELACIÓN CON LA CAPACIDAD DE INHIBICIÓN DE α -AMILASA Y α -GLUCOSIDASA EN DOS VARIEDADES DE *Capsicum chinense Jacq* CULTIVADAS EN INVERNADERO EN EL ESTADO DE NUEVO LEÓN"

Por

PAOLA ELIZABETH RODRÍGUEZ DE LEÓN

Como requisito parcial para obtener el Grado de:

MAESTRÍA EN CIENCIAS EN NUTRICIÓN

Director de tesis: Dra. en C. Aurora de Jesús Garza Juárez

Co-Director: Dra. Vania Urías Orona

En Monterrey, Nuevo León a noviembre del 2018.

Dra. Blanca Edelia González Martínez
Subdirectora de Investigación, Innovación y Posgrado
Facultad de Salud Pública y Nutrición
Universidad Autónoma de Nuevo León

P R E S E N T E

Por este conducto le comunicamos que hemos concluido la dirección y codirección de la tesis titulada "Determinación de capsaicinoides y compuestos fenólicos y su correlación con la capacidad de inhibición de α -amilasa y α -glucosidasa en dos variedades de *Capsicum chinense Jacq* cultivadas en invernadero en el estado de Nuevo León", presentada por la IIA. Paola Elizabeth Rodríguez de León, con la finalidad de obtener el grado de maestría en ciencias en nutrición.

Sin otro particular, le enviamos un cordial saludo.

Atentamente

“Alere Flammam Veritatis”

Monterrey, Nuevo León a noviembre de 2018.

Dra. en C. Aurora de Jesús Garza
Juárez

Director

Dra. Vania Urías Orona

Co-Director

COMITÉ DE EVALUACIÓN DE TESIS

El Comité de Evaluación de Tesis APROBÓ la tesis titulada: "Determinación de capsaicinoides y compuestos fenólicos y su correlación con la capacidad de inhibición de α -amilasa y α -glucosidasa en dos variedades de *Capsicum chinense Jacq* cultivadas en invernadero en el estado de Nuevo León", presentada por la IIA. Paola Elizabeth Rodríguez de León con la finalidad de obtener el grado de Maestría en Ciencias en Nutrición.

Monterrey, Nuevo León a noviembre de 2018.

Dra. en C. Aurora de
Jesús Garza Juárez
Presidente

Dra. Vania Urias Orona
Secretario

Dr. Juan Ricardo Lucio Gutiérrez

Vocal

**"DETERMINACIÓN DE CAPSAICINOIDES Y COMPUESTOS FENÓLICOS Y SU
CORRELACIÓN CON LA CAPACIDAD DE INHIBICIÓN DE α -AMILASA Y α -
GLUCOSIDASA EN DOS VARIETADES DE *Capsicum chinense Jacq*
CULTIVADAS EN INVERNADERO EN EL ESTADO DE NUEVO LEÓN"**

Aprobación de la tesis:

Dra. en C. Aurora de Jesús Garza Juárez

Presidente

Dra. Vania Urías Orona

Secretario

Dr. Juan Ricardo Lucio Gutiérrez

Vocal

Dra. Blanca Edelia González Martínez

Subdirectora de Investigación, Innovación y Posgrado

TABLA DE CONTENIDO

LISTA DE TABLAS.....	9
LISTA DE FIGURAS	10
NOMENCLATURA	11
1. RESUMEN Y ABSTRACT.....	13
2. INTRODUCCIÓN	16
2.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	16
3 ANTECEDENTES	18
3.1 DIABETES MELLITUS (DM).....	18
3.1.1 <i>Etiología</i>	18
3.1.2 <i>Fisiopatología</i>	19
3.1.3 <i>Epidemiología</i>	20
3.2 ESPECIES VEGETALES.....	21
3.2.1 <i>El chile (Capsicum)</i>	22
3.2.2 <i>Chile habanero (Capsicum chinense Jacq)</i>	23
3.2.3 <i>Propiedades del chile habanero</i>	27
3.2.4 <i>Justificación</i>	35
4. HIPÓTESIS.....	36
5. OBJETIVOS.....	36
5.1 GENERAL.....	36
5.2 ESPECÍFICOS.....	36
6. MATERIALES Y MÉTODOS.....	37
6.1 DISEÑO DEL ESTUDIO	37
6.2 EQUIPO.....	37
6.3 MATERIALES.....	38
6.4 REACTIVOS	38
6.5 DISOLVENTES.....	39
6.6 MATERIAL VEGETAL	39
6.7 CRITERIOS DE SELECCIÓN	40
6.7.1 <i>Inclusión</i>	40

6.7.2	<i>Exclusión</i>	40
6.7.3	<i>Eliminación</i>	40
6.8	TÉCNICA DE MUESTRA Y CÁLCULO DE TAMAÑO DE MUESTRA:	40
6.9	PRUEBA PILOTO:.....	41
6.10	VARIABLES DE ESTUDIO.....	41
6.11	PROCEDIMIENTO.....	41
6.7.1	<i>Diagrama de estrategia general</i>	41
6.7.2	<i>Condiciones cromatográficas</i>	42
6.7.3	<i>Selección de condiciones cromatográficas</i>	43
6.7.4	<i>Optimización del proceso de obtención de extractos</i>	45
6.7.5	<i>Validación del método cromatográfico</i>	46
6.7.6	<i>Cuantificación del contenido de capsaicinoides</i>	49
6.7.7	<i>Determinación de contenido de compuestos fenólicos totales</i>	49
6.7.8	<i>Determinación de actividad inhibitoria de α-amilasa y α-glucosidasa</i>	50
6.7.9	<i>Correlación de la capacidad de inhibición de amilasa y α-glucosidasa con el contenido de capsaicinoides y compuestos fenólicos</i>	51
6.7.10	<i>Plan de análisis</i>	52
6.8	CONSIDERACIONES ÉTICAS Y DE BIOSEGURIDAD	52
6.9	RECURSOS.....	53
6.9.1	<i>Materiales (infraestructura)</i>	53
6.9.2	<i>Financieros</i>	53
6.9.3	<i>Humanos</i>	53
7	RESULTADOS.....	54
7.1	CONDICIONES CROMATOGRÁFICAS	54
7.2	PROCESO DE OBTENCIÓN DE EXTRACTOS	55
7.3	VALIDACIÓN DEL MÉTODO CROMATOGRÁFICO	56
7.3.1	<i>Linealidad</i>	56
7.3.2	<i>Límites de detección y Límites de Cuantificación</i>	57
7.3.3	<i>Precisión</i>	57
7.3.4	<i>Exactitud</i>	57
7.3.5	<i>Robustez</i>	58
7.3	CUANTIFICACIÓN DEL CONTENIDO DE CAPSAICINOIDES	59
7.4	DETERMINACIÓN DE CONTENIDO DE COMPUESTOS FENÓLICOS TOTALES	61

7.5	DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD INHIBITORIA DE LAS ENZIMAS A -AMILASA Y A-GLUCOSIDASA EN EXTRACTOS DE DOS VARIEDADES DE CHILE HABANERO	62
7.6	CORRELACIÓN DE LA CAPACIDAD DE INHIBICIÓN DE A-AMILASA Y A-GLUCOSIDASA CON EL CONTENIDO DE CAPSAICINOIDES Y COMPUESTOS FENÓLICOS	63
8	DISCUSION	69
8.1	CONDICIONES CROMATOGRÁFICAS	69
8.2	OBTENCIÓN DE EXTRACTOS	70
8.3	VALIDACIÓN DEL MÉTODO CROMATOGRÁFICO	71
8.3.1	<i>Linealidad y límites de detección y cuantificación</i>	71
8.3.2	<i>Precisión y exactitud</i>	72
8.3.3	<i>Robustez</i>	73
8.4	CUANTIFICACIÓN DE CAPSAICINOIDES	73
8.5	DETERMINACIÓN DE CONTENIDO DE COMPUESTOS FENÓLICOS TOTALES	75
8.6	ACTIVIDAD INHIBITORIA DE A-AMILASA Y A-GLUCOSIDASA	76
8.7	ANÁLISIS DE CORRELACIÓN.....	78
9	CONCLUSIONES	80
10	REFERENCIAS.....	81

LISTA DE TABLAS

Tabla	Pág.
1. Variables de estudio.	41
2. Rangos de interpretación del coeficiente de correlación.	52
3. Resultados de los parámetros evaluados bajo las diferentes condiciones cromatográficas en el proceso de optimización.	54
4. Resultados probando los dos métodos de tratamiento previo de la muestra.	55
5. Límites de detección y cuantificación para la validación del método.	57
6. Resultados de la prueba de precisión intradía e intermedia.	58
7. Resultados de la prueba de exactitud.	58
8. Resultados de prueba de robustez.	59
9. Concentración de capsaicina y dihidrocapsaicina por detector de fluorescencia (FLR).	60
10. Correlaciones entre el contenido de capsaicina, dihidrocapsaicina y compuestos fenólicos con la capacidad de inhibición de α -amilasa y α -glucosidasa en las variedades Jaguar y Texcoco de chile habanero.	68

LISTA DE FIGURAS

Figura	Pág.
1. Variedades de <i>Capsicum chinense</i> Jacq producidas en Nuevo León	24
2. Cultivo en invernadero de <i>Capsicum chinense</i> Jacq producidas en Nuevo León.	25
3. Estructura química de los principales capsaicinoides presentes en los frutos del género <i>Capsicum</i>	29
4. Corte transversal de un fruto de <i>Capsicum chinense</i> Jacq, en donde se indican los sitios de síntesis y acumulación de los capsaicinoides.	30
5. Diagrama de estrategia general	42
6. Cromatogramas de capsaicina y dihidrocapsaicina.	55
7. Curvas de calibración de capsaicina y dihidrocapsaicina.	56
8. Resultados del contenido de capsaicinoides en las dos variedades Texcoco y Jaguar de chile habanero	60
9. Cromatogramas por CLAR-DAD de extractos de Jaguar y Texcoco.	61
10. Curva de calibración de ácido gálico	62
11. Resultados de la cantidad de compuestos fenólicos presentes en las dos variedades de chile habanero.	64
12. Resultados del porcentaje de inhibición de α -amilasa y α -glucosidasa de las dos variedades de chile habanero.	64
13. Gráficas de correlación entre contenido de capsaicinoides en Jaguar y Texcoco.	65
14. Gráficas de correlación en la variedad Jaguar de chile habanero.	66
15. Gráficas de correlación en la variedad Texcoco de chile habanero.	67

NOMENCLATURA

%	Porcentaje
%DER	Porcentaje de Desviación Relativa
°C	Grados centígrados
µg/g	Microgramo por gramo
µL	Microlitro
µm	Micrómetros
AOAC	Association of Official Analytical Chemists
Cap	Capsaicina
CLAR	Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución
cm	Centímetro
DAD	Detector de arreglo de diodos
DE	Desviación estándar
Dih	Dihidrocapsaicina
DM	Diabetes Mellitus
DNS	Ácido dinitrosalicílico
FDA	Administración de Alimentos y Drogas
FLR	Fluorescencia
FR	Factor de respuesta
g	Gramo
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
ICH	International Conference on Harmonisation
kg	Kilogramo
LC	Límite de cuantificación
LD	Límite de detección
M	Molaridad
Mg	Miligramos
mg/g	Miligramo por gramo
mg/kg	Miligramo por kilogramo
mL	Mililitros

mL/min	Mililitros por minuto
Mm	Milímetro
mmol/L	Milimol por litro
N	Número de platos teóricos
N	Número de muestra
mM	Milimolar
Nm	Nanómetro
No.	Número
<i>P</i>	p-valor
pH	Potencial de hidrógeno
Ppm	Partes por millón
R	Resolución
R ²	Coefficiente de correlación lineal
tR	Tiempo de retención
U/mL	Unidades por mililitro
US	Unidades Scoville
UV-Vis	Ultravioleta Visible
Vs.	Versus
v/v	Relación volumen/volumen
W	Ancho de la base del pico
X	Media de los factores de respuesta
A	Alfa
Λ	Longitud de onda

1. RESUMEN Y ABSTRACT

RESUMEN

El chile habanero contiene compuestos fenólicos y capsaicinoides, sustancias que inhiben la actividad de α -amilasa y α -glucosidasa. Hasta la fecha no existen reportes de su composición química y actividad biológica en los cultivos del estado de Nuevo León. Por ello se determinó el contenido de capsaicinoides y compuestos fenólicos y la capacidad de inhibición de α -amilasa y α -glucosidasa en las variedades Jaguar y Texcoco de *Capsicum chinense Jacq*, cultivadas en el estado de Nuevo León.

Para esto se probaron dos condiciones de obtención de extractos: baño maría y agitación a temperatura ambiente; y como solventes: metanol, etanol y acetonitrilo. El mejor sistema de extracción se seleccionó en base a la cantidad de compuestos extraídos y a su precisión. La cuantificación de capsaicinoides se basó en el método de Canto-Flick et al. (2008), empleando una columna C18 y como fase móvil metanol:agua, bajo condiciones isocráticas con detector UV-Vis con arreglo de diodos. Para la optimización del sistema cromatográfico se probaron diferentes temperaturas de columna y velocidades de flujo. Para la validación del método se siguieron los parámetros de las guías de la ICH. Se cuantificaron los compuestos fenólicos con el método de Folin-Ciocalteu ($\lambda = 760$ nm), empleando ácido gálico como estándar. El % de inhibición de α -amilasa y α -glucosidasa se determinó siguiendo lo reportado por Subramanian et al. (2008) y Adisakwattana et al. (2009), respectivamente.

La obtención de extractos se logró empleando 80% metanol con agitación a 25°C. Las mejores condiciones cromatográficas fueron: fase móvil isocrática con 70% solvente B (100% metanol) y 30% de solvente A (solución de metanol 10%

v/v), velocidad de flujo de 0.5 mL/min y temperatura de columna de 27°C. Bajo estas condiciones la resolución fue de 1.06 y α de 0.66 cumpliendo lo recomendado en la literatura (Oscar Quattrocchi 1992). El contenido de capsaicina y dihidrocapsaicina en la variedad Jaguar fue de $35,865.6040 \pm 3886.93$ y $15,942.84 \pm 1658.34$ mg/kg chile seco, y en Texcoco fue $43,042.11 \pm 9576.74$ y $12,710.99 \pm 1744.60$ mg/kg chile seco, respectivamente, observándose diferencia significativa ($p = 0.000$) en el contenido de capsaicina y de dihidrocapsaicina entre las variedades. El contenido de compuestos fenólicos en Jaguar y Texcoco fue $1,202.83 \pm 93.19$ y $1,318.97 \pm 178.02$ $\mu\text{g/g}$, respectivamente, mostrando diferencia significativa ($p = 0.001$) entre los valores presentes en las variedades. El porcentaje de inhibición de α -amilasa y α -glucosidasa para Jaguar fue 79.81% y 85.10% y para Texcoco 81.38% y 87.19%, respectivamente. Se observó una correlación significativa entre el contenido de dihidrocapsaicina y compuestos fenólicos y la actividad de inhibición de α -amilasa en ambas variedades.

ABSTRACT

Habanero chilli peppers contains phenolic compounds and capsaicinoids, substances that inhibit the activity of α -amylase and α -glucosidase. There are no reports of their chemical composition and biological activity in the crops of the state of Nuevo León. Therefore, in this study the content of capsaicinoids and phenolic compounds and the capacity of inhibition of α -amylase and α -glucosidase were determined in varieties of *Capsicum chinense* Jacq, cultivated in Nuevo Leon.

For this, two conditions of obtaining extracts were tested: water bath and agitation at room temperature; and as solvents: methanol, ethanol and acetonitrile. The best extraction system was selected based on the amount of extracted compounds and their precision. For the quantification of capsaicinoids, we used the Canto Flick et al. (2018) method, using a C18 column and methanol: water mobile phase, with a UV-

Vis detector. For the optimization of the chromatographic system, different column frequencies and flow rates were tested. For the validation of the method, we rely on the ICH guides. The phenolic compounds were quantified with the Folin-Ciocalteu method ($\lambda = 760$ nm), using gallic acid as standard. The inhibition of α -amylase and α -glucosidase was determined following the information provided by Subramanian et al. (2008) and Adisakwattana et al. (2009), respectively.

Extracts were obtained using 80% methanol with agitation at 25°C. The best chromatographic conditions were: isocratic mobile phase (30% solvent A and 70% solvent B), flow velocity of 0.5 mL/min and temperature of column of 27°C. Under these conditions the resolution was 1.06 and α of 0.66 following the criteria established by Quattrocchi. The content of capsaicin and dihydrocapsaicin in the Jaguar variety was $35,865.6040 \pm 3886.93$ and $15,942.84 \pm 1658.34$ mg/kg dry chilli, and in Texcoco it was $43,042.11 \pm 9576.74$ and $12,710.99 \pm 1744.60$ mg/kg dry chilli, respectively, showing significant difference ($p = 0.000$) in the content of capsaicin and dihydrocapsaicin between the varieties. The content of phenolic compounds in Jaguar and Texcoco was $1,202.83 \pm 93.19$ and $1,318.97 \pm 178.02$ μ g/g, respectively, showing significant difference ($p = 0.001$) between the values present in the varieties. The percentage of inhibition of α -amylase and α -glucosidase for Jaguar was 79.81% and 85.10% and for Texcoco 81.38% and 87.19%, respectively. A significant correlation was observed between the content of dihydrocapsaicin and phenolic compounds and the inhibition activity of α -amylase in both varieties.

2. INTRODUCCIÓN

2.1 Planteamiento del problema

La Diabetes Mellitus (DM) es una enfermedad crónica que se caracteriza por la acumulación de glucosa en la sangre debido a una baja producción de insulina (Centers for Disease Control and Prevention 2013), disminuyendo el tiempo de vida de las personas que lo padecen de 5 a 10 años. La DM es silenciosa en primera instancia, al ser detectada después de mucho tiempo y no tratada de manera adecuada, puede agravar la salud provocando algunas otras complicaciones (Hernández et al., 2013). Esta enfermedad se puede prevenir reduciendo la absorción de azúcar a través de la inhibición de las enzimas α -amilasa presente en la saliva y α -glucosidasa presente en el intestino, encargadas de degradar los carbohidratos en unidades más pequeñas (Watcharachaisoponsiri et al., 2016). Los costos en fármacos necesarios para su tratamiento, así como para hacer frente a las complicaciones resultan elevados, situación que ha llevado a la población a la elección de terapias alternativas, una de ellas es el consumo de productos de origen vegetal (Susalit et al., 2011).

Algunos alimentos de origen vegetal poseen efectos beneficiosos para la salud (además del aporte de nutrientes), tales efectos se atribuyen a la mezcla compleja de fitoquímicos que proporcionan diversas actividades biológicas (Heinrich et al., 2012). Aplicando esto en función de la DM, el contenido de compuestos fenólicos y de otros metabolitos bioactivos presentes en algunos alimentos de origen vegetal, pueden ayudar a la prevención y/o control de sus síntomas y/o complicaciones. Entre las diversas fuentes de alimentos de origen vegetal que poseen tales propiedades, se encuentran algunas especies como el chile (género *Capsicum*) (Rubi et al., 2013), un fruto peculiar y único comúnmente utilizado en algunos platillos mexicanos (Canto-Flick et al., 2008). Algunas de las especies de este

género son: *Capsicum annuum*, *C. baccatum*, *C. chinense Jacq.*, *C. frutescens* y *C. pubescens* (Roy 2016). Las variedades con mayor intensidad de sabor picante son parte de la familia de *C. chinense Jacq*, cuyo nombre común es chile habanero (Ruiz et al., 2011).

El chile habanero se distingue por su contenido de capsaicinoides, compuestos determinantes del grado de picor del fruto. Entre el grupo de capsaicinoides destacan la capsaicina (Cap) y dihidrocapsaicina (Dih) por las propiedades biológicas que han demostrado poder antioxidante y antiinflamatorio que podrían ofrecer beneficios a la salud (Orellana-Escobedo et al., 2013). El chile habanero también contiene compuestos fenólicos en concentraciones elevadas (Ruiz et al., 2011), que por su capacidad de inhibir las enzimas α -amilasa y α -glucosidasa (Oboh et al., 2011) conducen a la disminución de la absorción de los carbohidratos a nivel intestinal, representando una alternativa para contribuir en el tratamiento de la enfermedad (Watcharachaisoponsiri et al., 2016). La concentración de los compuestos fitoquímicos en el chile se puede ver alterada por diferentes factores ambientales como el tipo de tierra (pH, conductividad eléctrica, humedad, etc.) la temperatura, luz, régimen de fertilización, entre otros (González-Zamora et al., 2015).

En el 2015 la Secretaría de agricultura, ganadería, desarrollo rural, pesca y alimentación, publicó que Yucatán (41%) y Tabasco (32%) son los principales estados productores de chile habanero a nivel nacional. De acuerdo con los datos del Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (2010), Nuevo León es uno de los estados con menor aporte en la producción total de chiles en el país. Sin embargo, actualmente en esta región ha crecido el interés por el cultivo del chile habanero debido a la demanda de la población y por la utilidad de sus componentes fitoquímicos en la industria farmacéutica y cosmetológica. Además, la caracterización química de este fruto cultivado en Nuevo León no ha sido establecida. Por ello, y ante la necesidad de contribuir en la búsqueda de alternativas para el mejoramiento de la DM, en el presente proyecto se pretende

cuantificar algunos de los compuestos bioactivos presentes en el chile habanero mediante Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución con detector de arreglo de diodos (DAD). Así como determinar la actividad de inhibición de las enzimas α -amilasa y α -glucosidasa de dos variedades *Capsicum chinense Jacq*, cultivadas en invernadero en el estado de Nuevo León. Estos estudios sirven para comprobar su probable efecto en la prevención y tratamiento de enfermedades crónico-degenerativas como la DM.

3 ANTECEDENTES

3.1 Diabetes Mellitus (DM)

La DM es definida como una enfermedad que se presenta cuando los niveles de glucosa en la sangre están elevados debido a la ausencia o baja producción de insulina en el páncreas (Andrade y Heinrich 2005).

3.1.1 Etiología

La glucosa en la sangre es la principal fuente de energía y cumple un papel importante en el metabolismo humano. La insulina, una hormona secretada por las células β del páncreas, ayuda a la glucosa de los alimentos a entrar en las células para ser utilizada como energía. Algunas veces el cuerpo tiene una producción nula o insuficiente de insulina, por lo que la glucosa entonces permanece en la sangre y no llega a las células. La acumulación de glucosa en la sangre puede causar problemas de salud disminuyendo el tiempo de vida de 5 a 10 años, sin embargo,

aunque la DM no tiene cura, se pueden tomar medidas para su control y mantenimiento del estado de salud (National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases. 2016).

La DM se clasifica en dos tipos conocidos según su grado de afectación en las células β del páncreas:

- Diabetes Mellitus tipo I (DM tipo I): es una enfermedad autoinmune que resulta de la destrucción de las células β del páncreas; también llamada “dependiente de insulina”, debido a que los pacientes afectados requieren de insulina exógena de por vida.

- Tipo II (DM tipo II): es la más común representando arriba del 90 % de los casos de DM. El riesgo de manifestarla está fuertemente influenciado por el estilo de vida, la edad, obesidad, entre otros. La enfermedad se caracteriza por una secreción insuficiente o resistencia a la insulina por las células del páncreas, lo cual impide la cobertura de los requerimientos para normalizar la concentración de glucosa (El-Abhar y Schaalán 2014; Rorsman y Braun 2013).

3.1.2 Fisiopatología

La resistencia a la insulina y la obesidad son dos cambios funcionales que se encuentran estrechamente asociados al desarrollo de DM tipo II. La resistencia a la insulina está relacionada con la DM tipo II debido a un defecto en la capacidad de su producción, para así eliminar la producción hepática de glucosa y su captación por parte del músculo (Bogan 2012). Por otro lado, la obesidad está relacionada con una inflamación crónica sistémica originada por la respuesta de macrófagos y el infiltrado en tejido adiposo de células del sistema inmunológico, los cuales pueden conducir a las células del organismo a generar resistencia a la insulina, y, por lo

tanto, aumentar el riesgo de desarrollar DM tipo II y complicaciones de la misma (Sun et al., 2012).

Los islotes pancreáticos normalmente responden aumentando la cantidad de células β por medio de procesos de proliferación y neogénesis, y mejorando su funcionamiento, con la finalidad de adaptarse a estas condiciones metabólicas generadas por la resistencia a la insulina y la obesidad, sin embargo, esta adaptación celular tarde o temprano conlleva a fallas causando un declive progresivo en su función y supervivencia. Por lo tanto, los individuos afectados con una masa de células β pancreáticas disminuida progresan de un cuadro clínico de intolerancia a la glucosa a la diabetes (Back y Kaufman 2012).

3.1.3 Epidemiología

En México la DM es la principal causa de muerte en las mujeres y la segunda en los hombres desde el año 2000. La Encuesta Nacional de Salud y Nutrición de Medio Camino 2016 analizó el estado de las diferentes enfermedades crónicas en los mexicanos con edad mayor de 20 años, entre ellas la DM con un incremento en su prevalencia de un 9.2% en 2012 a un 9.4% en 2016. Los factores relacionados con el estilo de vida como la buena alimentación y la actividad física pueden ser modificados con la intención de mejorar la salud y disminuir hasta en un 31% los riesgos de padecer la enfermedad (ENSANUT MC 2016).

Diversos estudios científicos han permitido el desarrollo de nuevas alternativas para el tratamiento de la enfermedad, contribuyendo a su mejoramiento y control. Sin embargo, en el 2012 la DM generó altos costos debido a que los fármacos necesarios para el tratamiento y el control de la enfermedad fueron de los gastos más altos en México, posicionando a la enfermedad como un gran reto y amenaza para los sistemas de salud (Fundación Mídete 2016). Por lo tanto, es necesaria la

búsqueda de tratamientos alternativos que resulten en un menor costo para el país, como el uso de especies vegetales que han surgido como alternativa terapéutica (Susalit et al., 2011).

Algunos estudios epidemiológicos han demostrado una relación positiva entre el consumo de frutas y verduras y una reducción en la tasa de mortalidad por enfermedades crónicas no transmisibles. Esto se atribuye al hecho de que estos alimentos son la principal fuente de compuestos fitoquímicos, tales como vitaminas, minerales, antioxidantes naturales, fibra y otros compuestos bióticos que protegen contra el daño oxidativo a las células y por lo tanto previenen el desarrollo de enfermedades tales como la DM (Chávez-Mendoza et al., 2015).

3.2 Especies vegetales

Los vegetales se caracterizan por su metabolismo secundario, representado por rutas metabólicas diferentes a las del metabolismo primario de los seres vivos, por medio de las cuales se producen compuestos químicos propios de cada especie (Ruiz et al., 2011). Los metabolitos secundarios en las plantas pueden ser de muchos tipos y se clasifican en función a la presencia o ausencia de nitrógeno en su composición. Los terpenoides, alcaloides y compuestos fenólicos son los tres grupos de metabolitos secundarios más importantes en las plantas como lo indica Valle (2008). La producción de estos compuestos es regulada en función al estado específico de desarrollo y en ocasiones a las diferentes condiciones ambientales a las que se someta el cultivo. La cantidad total de nutrientes disponibles depende de la concentración y la forma utilizable del mismo en el suelo (Ruiz et al., 2011).

A pesar de que nuestro país tiene una historia ancestral del uso de las especies vegetales para el cuidado de la salud y posee una flora abundante, muchas de estas especies no han sido estudiadas sobre los beneficios a la salud. Entre los vegetales

más populares por su alto contenido en compuestos bioactivos y fuerte capacidad antioxidante se encuentra el chile, un fruto que se encuentra en muchas variedades con diferentes colores, sabores y valor nutricional (Chávez-Mendoza et al., 2015).

3.2.1 El chile (*Capsicum*)

El chile, del género *Capsicum*, es un fruto originario de América, siendo México uno de sus principales centros de origen. Cuenta con características peculiares y únicas que aparte de cumplir un papel importante en la cultura por ser un ingrediente cotizado en los platillos mexicanos, es un símbolo con el que se identifica a nuestro país (Canto-Flick et al., 2008). El chile es a nivel mundial uno de los principales cultivos debido a su alta demanda, y es consumido de múltiples maneras que van desde fresco, seco (destinado principalmente a la industria de alimentos), procesado, hasta combinado con otros alimentos (Hernández y Ocotero 2015).

Existen más de 200 variedades de chiles agrupadas en más de treinta especies; sin embargo, son solo cinco las especies que han sido domesticadas en el territorio mexicano: *Capsicum annum*, *Capsicum baccatum*, *Capsicum chinense Jacq*, *Capsicum frutescens* y *Capsicum pubescens* (González-Zamora et al., 2015). Se distinguen entre ellas por presentar diferentes formas redondas y alargadas, con tamaños que van desde poco menos de 1 cm hasta 30 cm de largo y colores que pueden ser desde verde, salmón, rojo, amarillo, naranja, hasta café, así como variados niveles de pungencia (Hernández y Ocotero 2015). Según González et al. (2015) los niveles de pungencia basados en la escala de Scoville van desde no punzante hasta fuertemente picante; sin embargo, es una escala subjetiva. Los frutos con mayor intensidad de sabor picante pertenecen a la especie *C. chinense Jacq*, uno de los más comunes es el “habanero”, un fruto pequeño que como cultivo tiene gran importancia biológica (Ruiz et al., 2011).

3.2.2 Chile habanero (*Capsicum chinense Jacq*)

El chile habanero se caracteriza por ser uno de los chiles mexicanos con mayor grado de picor. Este fruto es una pequeña baya hueca con forma de trompo redondo, que varía de 2 a 6 centímetros de largo por 2 a 4 de ancho, con una constricción en la base. Consta de 2 a 4 cavidades en donde se alojan las semillas del fruto (lóculos), siendo más común con 3 lóculos. Por lo general, son de color verde claro cuando aún se encuentran en estado inmaduro y de color amarillo, naranja o rojo al madurar (Long-Solís, 1998). Se caracterizan también por poseer una epidermis (superficie) brillante y lisa, en algunas ocasiones levemente arrugada.

Tienen un aroma peculiar y pueden encontrarse variedades muy picantes y algunas otras con un nivel de picor extremo, dentro de la escala Scoville clasifica entre los 200 mil y 300 mil unidades (Comisión del Codex Alimentarius 2008; Curry et al., 1999).

La teoría de sus orígenes se relaciona al hecho de que el habanero es el único chile que no cuenta con un nombre de origen maya. Soria et al. (2002) citan que Laborde mencionó desde 1982 que existe probabilidad de que la especie *Capsicum chinense Jacq* sea originaria de América del Sur y que haya pasado a Cuba y, posteriormente a la Península de Yucatán, en donde actualmente se encuentra completamente distribuida.

3.2.2.1 Producción

La Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (2015) declaró que son Yucatán (41%) y Tabasco (32%) los dos principales estados productores de chile habanero a nivel nacional, los cuales junto con otros estados

como Quintana Roo, Campeche y Nayarit se encargan de abastecer al país, generando importantes ingresos económicos.

Nuevo León es uno de los estados con menor aporte en la producción total de chiles en el país (SIAP, 2010). Sin embargo, actualmente en esta región se ha comenzado a cultivar chile habanero debido a la demanda de la población y por el interés de la industria farmacéutica y cosmetológica en la utilidad de las propiedades de sus componentes fitoquímicos, los cuales han demostrado tener un efecto benéfico en la salud (González-Zamora et al., 2015). En la Figura 1 se observa la imagen de las dos variedades que se han comenzado a cultivar, llamadas Jaguar y Texcoco, las cuales fueron cultivadas en invernadero bajo las mismas condiciones.



Figura 1. Variedades de *Capsicum chinense* Jacq producidas en Nuevo León.

Un invernadero es una estructura agrícola cerrada que se diseña y equipa con la finalidad de controlar las condiciones óptimas para la exitosa producción de cultivos. Estos espacios son muy importantes ya que permiten abastecer la creciente demanda de alimentos y la producción libre de factores que afecten a la misma (Alcorta et al., 2006). El chile habanero muestra su mejor desarrollo en zonas templadas, subtropicales, en altitudes que oscilan entre 0 y 2700 metros. Se desarrolla en un rango de precipitación óptima de 600 a 1250 mm (FAO, 1994). Sin

embargo, estos valores varían en base a la variedad que se vaya a cultivar y la adaptabilidad que presenta (FAO, 1994; Aragón, 1995). Es una hortaliza de clima caliente, los rangos de temperatura en que se desarrolla de forma normal son: mínima 10°C, máxima 35°C y óptima de 30 °C, las temperaturas menores de 10°C y mayores a 35°C limitan el desarrollo del cultivo (Ramírez et al., 2006). La temperatura para la germinación fluctúa entre los 18 y 35 °C, siendo la óptima de 30°C (Rodarte 2014).



Figura 2. Cultivo en invernadero de *Capsicum chinense* Jacq producidas en Nuevo León.

En regiones áridas como las del norte de México, el cultivo de chile habanero no se lleva a cabo comercialmente en condiciones de campo abierto debido a la presencia de altas temperaturas e incidencia solar, las cuales provocan un mal desarrollo de la planta y una producción insuficiente, dando como resultado un producto poco costeable. Sin embargo, el cultivo de chile habanero no deja de ser importante para los productores debido a sus altos precios de venta en el mercado. Por esto, el cultivo en invernadero representa una alternativa favorable para su

producción (Figura 2), ya que disminuye los riesgos en la producción, facilita el cultivo durante todo el año, permite producir fuera de temporada productos de alta calidad, conservar las condiciones adecuadas evitando las temperaturas extremas, baja humedad relativa y radiación solar intensa (Robledo et al., 1988) y permite contar con las condiciones apropiadas para la experimentación e investigación (ACEA, 2012).

3.2.2.2 Requerimientos edáficos

Los suelos más favorables para el desarrollo del chile habanero son aquellos que tienen buen drenaje y buena retención de humedad. Con un pH de 6.5 a 7.0, para lograr una mayor disponibilidad de los nutrientes; cuando el pH del suelo es diferente a estos valores necesitarán enmiendas por lo que es muy importante conocer y considerar este factor para el buen uso de fertilización y asimilación de los nutrientes. El cultivo de chile habanero requiere una lámina de riego de 750 a 1000 mm para obtener altos rendimientos. Una lámina de riego menor a 30 mm mensuales afecta el rendimiento, el cual se ven disminuido (Ramírez et al., 2006).

La cantidad de agua que consume un cultivo dentro de un invernadero depende de factores ambientales y del cultivo. Como principales factores ambientales están la radiación solar, temperatura y la humedad del aire. A mayor radiación y mayor déficit de humedad en el aire, mayor consumo de agua; existe una relación directa entre estos tres factores. Como principal factor del cultivo se tiene la cantidad de hojas, es decir, la superficie foliar expuesta, la cual aumenta gradualmente desde el trasplante hasta el desarrollo pleno del cultivo. A mayor área foliar, mayor consumo de agua ya que las pérdidas de agua por transpiración son mayores al haber más estomas. Los métodos de programación del riego se basan en la medición del contenido de agua del suelo o sustrato, del estado hídrico de la planta o de variables climáticas (Ramírez et al., 2006).

La cosecha se lleva a cabo cuando alcanza la madurez fisiológica, que es cuando el fruto tiene una consistencia firme y presenta el color anaranjado característico del fruto. La primera cosecha se realiza de los 75 a los 84 días después del trasplante y se hacen hasta 18 cosechas con intervalos de siete a diez días. El rendimiento total de fruto puede alcanzar hasta 62 toneladas por hectárea, el peso de fruto individual fluctúa entre 8.5 a 10 g, mientras que el largo y ancho del fruto es de 4 a 5 cm y 2.7 a 4.5 cm, respectivamente (Ramírez et al., 2006).

3.2.3 Propiedades del chile habanero

El chile habanero es una fuente excelente de colorantes naturales, vitaminas, minerales, compuestos fenólicos, entre otros, los cuales son considerados como fuertes antioxidantes que cuentan con propiedades importantes para la prevención de algunas enfermedades como el cáncer, enfermedades cardiovasculares y neurodegenerativas como el Alzheimer y la Diabetes (Rubi et al., 2013).

Las características organolépticas, aromáticas y antioxidantes de este fruto están basadas en la cantidad de compuestos fenólicos presentes en el mismo y su pungencia se debe que es rico en unos compuestos bioactivos llamados capsaicinoides, sustancias responsables del picor. Algunos investigadores aseguran que los capsaicinoides son sustancias que cumplen un papel protector en el chile, sirviendo como sistema de defensa natural contra insectos, aves y hongos, sin embargo, se desconoce el motivo de su presencia en los chiles (Ruiz et al., 2011).

De manera general, los compuestos presentes en el chile habanero podrían ser de gran utilidad en la industria farmacéutica debido a que se encuentran en altas concentraciones y pueden ser aprovechados en el desarrollo de nuevos productos

farmacéuticos con el propósito de prevenir o mejorar enfermedades como la diabetes (Al Othman et al., 2011).

La producción y la biodisponibilidad de los nutrientes presentes en el fruto ha sido estudiada a través de los años. Se conoce que algunos factores del ambiente, tales como: la temperatura, la luz, la humedad del suelo, el régimen de fertilización, los periodos de sequía e incluso la genética de la planta, son de gran importancia; ya que podrían determinar la cantidad total de nutrimentos disponibles (Ruiz et al., 2011).

3.2.3.1 Capsaicinoides

Como se había mencionado, los capsaicinoides son las sustancias responsables del picor en los chiles; pertenecen al grupo de los compuestos fenólicos, son solubles en grasa y amidas derivadas de ácidos grasos que tienen entre 9 y 11 átomos de carbono. Las diferencias estructurales entre ellos se derivan de la longitud de la cadena de alquilo y la presencia de un doble enlace. Estas características químicas determinan la pungencia relativa y otras actividades biológicas, ver Figura 3.

Existen muchos tipos de capsaicinoides, sin embargo, el capsaicinoide primario es la capsaicina, seguida de la dihidrocapsaicina, nordihidrocapsaicina, homodihidrocapsaicina y homocapsaicina. El noventa por ciento del picor está dado principalmente por la capsaicina y la dihidrocapsaicina (Roy 2016), sustancias que sólo difieren en sus moléculas por la saturación en la cadena alifática del grupo acilo y que su cantidad representa un parámetro de calidad para diferentes tipos de productos (González et al., 2015). La capsaicina (trans-8-metil-N-vanilil-6-nonenamida) es una amida con fórmula molecular $C_{18}H_{27}NO_3$, es un polvo cristalino blanco incoloro, inodoro y altamente volátil, picante, hidrófobo y un subproducto de la vainillilamida (Sharma et al., 2013). El resto de los capsaicinoides generalmente

contribuyen poco a la concentración total de capsaicinoides y pungencia de los frutos y se diferencian principalmente por la longitud de su cadena, presencia o ausencia de dobles enlaces, su punto de ramificación y su nivel de pungencia (Ruiz et al., 2011), ver Figura 3.

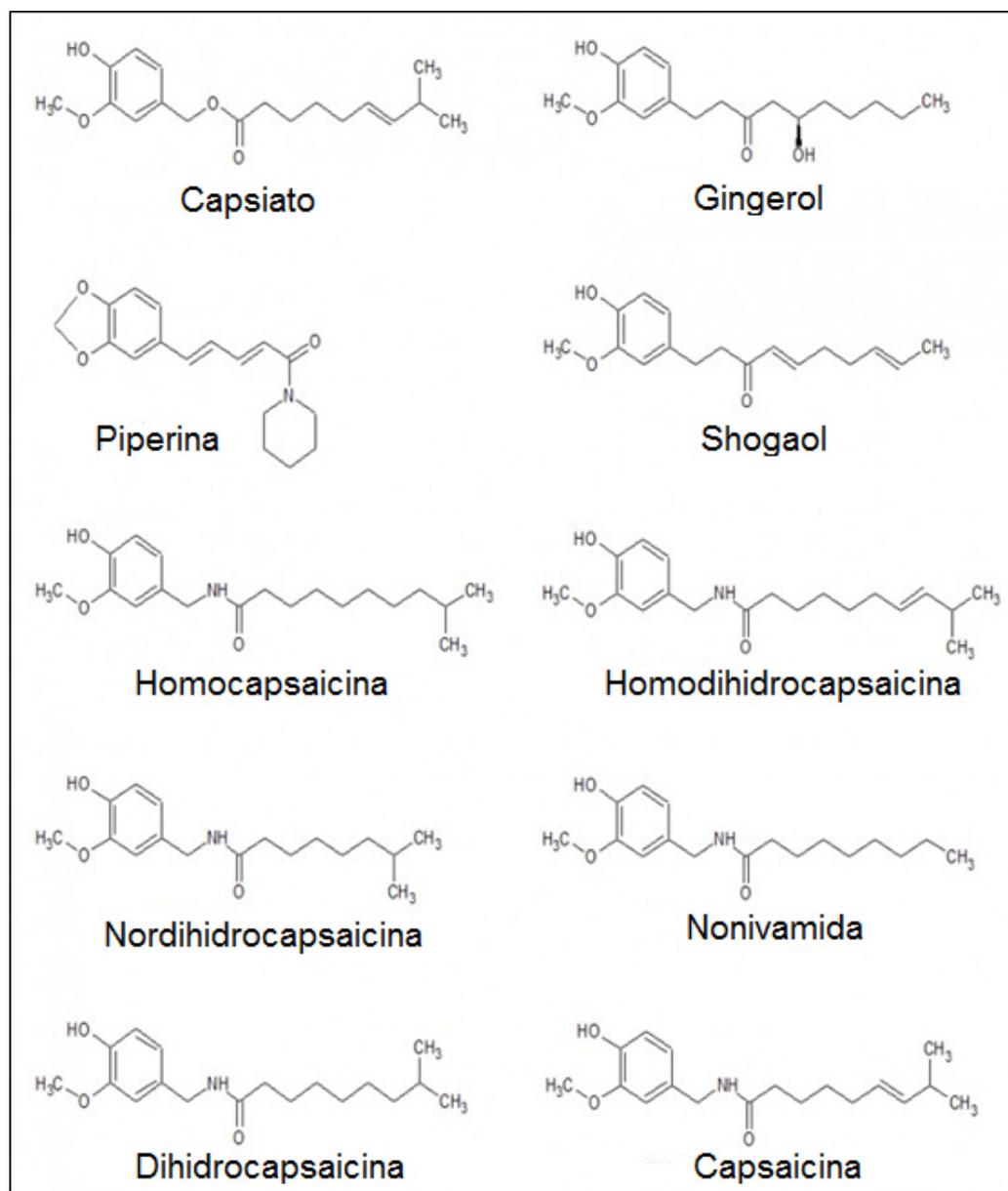


Figura 3. Estructura química de los principales capsaicinoides presentes en los frutos del género *Capsicum*. Obtenido de Forner, 2016.

La pungencia característica de los capsaicinoides es una propiedad que puede ser percibida por los mamíferos. La mayoría de las personas suponen que la parte más picosa de los chiles es la semilla, sin embargo, Roy (2016) señaló que la biosíntesis de estos compuestos ocurre principalmente en la placenta y su acumulación es principalmente en el *septum* (“costillas blancas”), además del pericarpio. Las semillas no producen capsaicinoides, pero debido a que se encuentran muy próximas a la placenta, también son picantes (Bosland 1992), ver Figura 4.

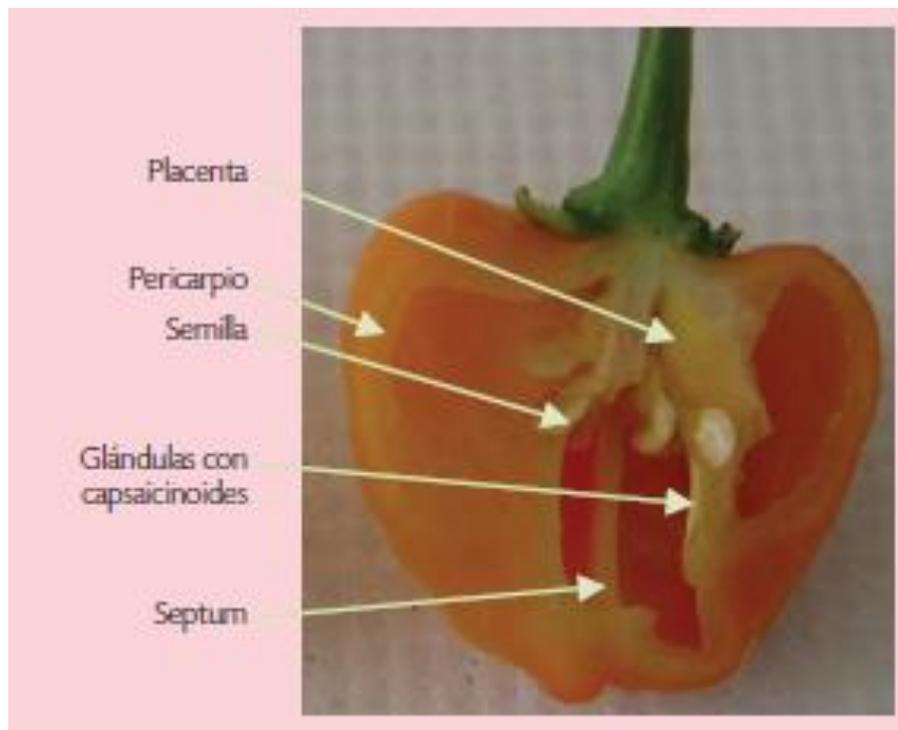


Figura 4. Corte transversal de un fruto de *Capsicum chinense Jacq*, en donde se indican los sitios de síntesis y acumulación de los capsaicinoides. Obtenido de (Ruiz, Nancy et al., 2011).

Conocer las cantidades de capsaicinoides presentes en los frutos ha sido un tema de interés para los fitomejoradores, tecnólogos en alimentos y nutricionistas desde hace muchos años. En el pasado se utilizaban pruebas organolépticas para

determinar el grado de pungencia de los chiles; una de ellas es la escala Scoville, introducida en 1912 por Wilbur Scoville. Esta prueba está sujeta a la subjetividad humana, por lo que ha sido sustituida por métodos analíticos de cuantificación más precisos, confiables, rápidos y eficientes, como es la Espectrofotometría UV-VIS, Cromatografía de gases y Cromatografía Líquida de Alta Resolución (González-Zamora et al., 2015).

De estos métodos la más utilizada es la Cromatografía Líquida de Alta Resolución (CLAR), la cual ofrece suficiente exactitud y precisión. Esta técnica analítica ha permitido realizar múltiples estudios que han contribuido en el conocimiento del contenido de capsaicinoides totales presentes en los diferentes chiles.

El estudio de los capsaicinoides también ha permitido conocer sus diferentes beneficios farmacológicos y aplicaciones clínicas, entre los que destacan el alivio del dolor, propiedades antiinflamatorias, actividad anticancerígena, reducción de peso, efectos hepatoprotectores, beneficios gastrointestinales, efectos bactericidas, actividad cardiovascular, efectos antioxidantes, actividad antidiabética, entre otras. Estos beneficios se consideran de importancia en la salud y enfermedad, posicionando a los capsaicinoides como compuestos que podrían tener una implicación importante en el área de la salud (Roy 2016).

3.2.3.2 Compuestos fenólicos

Los polifenoles son los antioxidantes más abundantes en la dieta humana y son los constituyentes más comúnmente encontrados en las plantas, algunos como los taninos y el ácido gálico (Juanbo Xiao et al., 2013). Son un grupo de metabolitos secundarios producidos por las plantas de manera natural y en grandes cantidades. Cuentan con una gran diversidad estructural que varía de moléculas simples a muy

complejas, que van de un bajo a un alto peso molecular. Se caracterizan por presentar uno o más anillos fenólicos en su estructura y son capaces de interactuar con otras moléculas cercanas a ellas debido a que son compuestos polares y solubles en agua y en algunos solventes como el metanol. Se clasifican dependiendo de su complejidad química en antocianidinas, flavonoles, flavonas e isoflavonas. Sus propiedades y aplicaciones son variados, pudiendo dañar o favorecer a la salud (Castro et al., 2015). Funcionan como antioxidantes de manera similar a las vitaminas C y E, y β -caroteno, por lo que han comenzado a ser muy estudiadas (Rubi et al., 2013).

Estos compuestos no pueden ser producidos por el organismo humano y son adquiridos principalmente a través de la dieta. El conocimiento sobre el papel nutricional y terapéutico de los antioxidantes fenólicos en la dieta es esencial para la mejora en la salud (Rubi et al., 2013), ya que cumplen diferentes funciones esenciales en el organismo, como poder antioxidante con la capacidad de neutralizar la acción oxidante de los radicales libres (Castro-López, L.R., Ortega-Regules A.E. 2015).

El chile habanero, como ya se había mencionado, es un fruto que contiene compuestos fenólicos, algunos como la capsaicina, la cual posee potentes propiedades antimutagénicas y anticancerígenas (Rubi et al., 2013).

3.2.3.3 Capacidad de inhibición de α -amilasa y α -glucosidasa

Un abordaje terapéutico para tratar la DM es disminuir la hiperglucemia posprandial. Esto se hace retardando la absorción de glucosa a través de la inhibición de las enzimas hidrolizantes, α -amilasa y α -glucosidasa, en el tracto digestivo. Los inhibidores de estas enzimas prolongan el tiempo total de digestión de los carbohidratos, provocando una reducción en la velocidad de absorción de la

glucosa y consecuentemente atenuando el aumento post-prandial de la glucosa plasmática (Menichini et al., 2009).

La α -amilasa es una enzima digestiva que se encuentra en la saliva y el páncreas. Hidroliza el enlace α -1-4-glucosídico sobre el almidón, produciendo unidades de azúcar más pequeñas tales como disacárido (maltosa) y glucosa. La digestión del almidón se inicia en la cavidad oral mediante α -amilasa salivar y continúa hasta intestino delgado por α -amilasa pancreática. Los productos de la reacción, unidades de glucosa, se absorben en la pared del intestino. Las moléculas de glucosa son entonces administradas por la sangre a las células objetivo en todo el cuerpo. Por lo tanto, la inhibición de la α -amilasa es importante para retrasar la degradación de los carbohidratos y la absorción de glucosa (Watcharachaisoponsiri et al., 2016).

De forma similar, la α -glucosidasa puede hidrolizar el polisacárido en glucosa en el enlace α -1-4-glicosídico no reductor terminal en el intestino delgado, donde está localizada la enzima. El producto de α -glucosidasa es el monosacárido de glucosa, que se absorbe en la pared del intestino. De este modo, la inhibición de la α -glucosidasa también puede controlar la DM retrasando la degradación de los carbohidratos y la absorción de la glucosa (Watcharachaisoponsiri et al., 2016).

Muchas drogas sintéticas disponibles, tales como la voglibosa, miglitol y la acarbosa, se utilizan ampliamente para inhibir estas enzimas en pacientes con DM tipo II. Sin embargo, se dice que estos inhibidores causan efectos secundarios tales como distensión abdominal, flatulencia, meteorismo y diarrea debido a la excesiva inhibición de la α -amilasa. Por lo tanto, los esfuerzos se han dirigido a encontrar inhibidores naturales y más seguros de estas enzimas con efectos secundarios mínimos (Oboh et al., 2011).

Es por esto que el conocimiento de las propiedades biológicas del habanero es fundamental, ya que podría contribuir de manera importante en el área de la salud,

en el desarrollo potencial de suplementos alimenticios y nutraceuticos, y en el futuro diseño de fármacos para el tratamiento diabético basado en las interacciones enzima-fármaco (Watcharachaisoponsiri et al., 2016).

3.2.4 Justificación

El aumento de la DM es un reto para los sistemas de salud pública debido a que los fármacos necesarios para su tratamiento representan un gasto considerable, es por esto que se buscan alternativas menos costosas para el tratamiento de las enfermedades, como lo es el uso de las especies vegetales. El chile habanero (*Capsicum chinense Jacq*) posee una importante cantidad de compuestos bioactivos que pueden ser aprovechados en la prevención o tratamiento de enfermedades. Sin embargo, estudios realizados sugieren que algunos factores ambientales como los periodos de sequía alteran la concentración de los nutrimentos.

La mayor parte del estado de Nuevo León cuenta con un tipo de clima seco y semiseco, este tipo de clima podría someter al cultivo de chile habanero a condiciones de estrés hídrico y probablemente la concentración de compuesto bioactivos, fenómeno observado por otros investigadores. Una mayor concentración de capsaicinoides y compuestos fenólicos podría permitir una mayor actividad biológica del fruto. Hasta el momento no se ha realizado la cuantificación de los compuestos antes mencionados, ni se ha evaluado la actividad biológica que presenta el chile habanero cuando es cultivado en la región noreste del País. Por lo que en el presente estudio se plantea proporcionar información cuantitativa del contenido de capsaicina, dihidrocapsaicina y compuestos fenólicos totales para dos variedades de *Capsicum chinense Jacq* (Texcoco y Jaguar) cultivados en el estado de Nuevo León. Así mismo, se evalúa la relación que guardan estas sustancias y la capacidad de inhibición de las enzimas α -amilasa y α -glucosidasa. Los resultados obtenidos podrían proporcionar base científica a estudios posteriores sobre esta especie vegetal, cuando es cultivada en nuestra región.

4. HIPÓTESIS

Existe correlación entre el contenido de capsaicinoides y compuestos fenólicos del chile habanero cultivado en el estado de Nuevo León con la capacidad de inhibición de las enzimas α -amilasa y α -glucosidasa.

5. OBJETIVOS

5.1 General

Determinar en variedades de *Capsicum chinense Jacq*, cultivadas en invernadero en el estado de Nuevo León, el contenido de capsaicinoides y compuestos fenólicos y evaluar la capacidad de inhibición de la α -amilasa y la α -glucosidasa.

5.2 Específicos

1. Establecer y validar un método por Cromatografía Líquida de Alta Resolución (CLAR) para la cuantificación de capsaicina y dihidrocapsaicina en extractos metanólicos de *Capsicum chinense Jacq*.
2. Determinar el contenido de capsaicinoides y compuestos fenólicos totales en las variedades Texcoco y Jaguar de habanero cultivado bajo condiciones de invernadero en el estado de Nuevo León.
3. Determinar la actividad inhibitoria de las enzimas α -amilasa y α -glucosidasa que presentan los extractos de las variedades de habanero Jagua y Texcoco en estudio.
4. Evaluar la relación entre la capacidad de inhibición de la α -amilasa y la α -glucosidasa con el contenido de capsaicinoides y compuestos fenólicos mediante coeficientes de correlación.

6. MATERIALES Y MÉTODOS

6.1 Diseño del estudio

El estudio es de carácter experimental, descriptivo, analítico y transversal.

6.2 Equipo

- a) Cromatógrafo de Líquidos de Alta Resolución Waters Alliance e2695 con detector UV-Vis con arreglo de diodos y de Fluorescencia.
- b) Espectrofotómetro UV-Vis Aligent Technologies Cary 60
- c) Bomba de vacío
- d) Sonicador Branson
- e) Potenciómetro HACH sensION
- f) Vortex VWR
- g) Bascula
- h) Balanza analítica OHAUS Pionner
- i) Horno de secado Shel Lab
- j) Molino
- k) Baño seco Labnet
- l) Agitador orbital Shaker VWR
- m) Centrifuga Solbat C-40
- n) Plancha de calentamiento con agitador magnético

6.3 Materiales

- a) Columna Kinetex EVO C18, fase reversa (150 mm x 3 mm x 5 μ m)
- b) Matraces de aforación de 1 y 10 mL
- c) Matraces Erlenmeyer de 250 mL
- d) Vasos de precipitado de 200, 140 y 40 mL
- e) Probeta de 100 y 25 mL
- f) Espátula
- g) Papel Parafilm
- h) Tubos de ensaye de 14 y 50 mL
- i) Embudos
- j) Papel Whatman No. 4
- k) Pipeta automática de 10, 100 y 1000 μ L y puntillas
- l) Agitador magnético
- m) Acrodiscos de 0.20 μ m
- n) Jeringa de vidrio de 10 mL
- o) Viales 1.5 mL
- p) Membranas de nylon de 0.45 μ m

6.4 Reactivos

- a) Estándar de capsaicina (pureza \geq 95%, Sigma Aldrich)
- b) Estándar de dihidrocapsaicina (pureza \geq 85%, Sigma Aldrich)
- c) Reactivo Folin-Ciocalteu (Sigma Aldrich)
- d) Carbonato de sodio (Na_2CO_3) (Fermont)
- e) Estándar de ácido gálico (Fermont)
- f) Enzima α -amilasa (Sigma Aldrich)
- g) Enzima α -glucosidasa (Sigma Aldrich)

- h) Almidón 1% (Sigma Aldrich)
- i) Buffer de fosfatos (NaH_2PO_4) pH 7
- j) Ácido dinitrosalicílico (DNS)
- k) p-nitrofenil-D-glucopiranosido (p-NPG)
- l) Acarbosa (Sigma Aldrich)

6.5 Disolventes

- a) Metanol (MeOH) grado HPLC
- b) Agua (H_2O) MiliQ o grado HPLC

6.6 Material vegetal

La población de estudio está compuesta por la especie vegetal *Capsicum chinense Jacq.*, específicamente dos variedades de chile habanero (Jaguar y Texcoco), las cuales fueron proporcionadas por la Facultad de Agronomía de la Universidad Autónoma de Nuevo León. Las plantas fueron cultivadas al mismo tiempo y bajo las mismas condiciones de invernadero, sometiéndose a riego diario por goteo en un rango de temperatura de 22 a 30 °C. Los habaneros fueron cosechados al llegar a la madurez fisiológica. Para cada especie, se analizaron por triplicado seis lotes independientes ($n = 18$).

Este trabajo se llevó a cabo en el municipio de Escobedo, Nuevo León, localizado geográficamente entre los paralelos 25° 47' 36" latitud norte y entre los meridianos 100° 9' 30" longitud oeste, respecto al meridiano de Greenwich. El clima de la región es seco y semiseco con máxima precipitación de lluvia en septiembre con un

promedio de 97 mm y con temperatura máxima promedio de 36°C. El tipo de suelo de la región es calcáreo o básico, con pH de 7.1 a 8.2.

6.7 Criterios de selección

6.7.1 Inclusión

Se incluyeron únicamente las cosechas de chile habanero en madurez fisiológica, cultivadas en la Facultad de Agronomía de la UANL. Las variedades incluidas fueron Jaguar y Texcoco.

6.7.2 Exclusión

Se excluyeron los frutos de chile habanero en malas condiciones o con pérdida de la integridad del fruto o con estado de madurez diferente al establecido.

6.7.3 Eliminación

Se eliminaron las muestras de chile habanero que durante el procedimiento mostraron contaminación de manera visible con hongos.

6.8 Técnica de muestra y cálculo de tamaño de muestra:

No aplica

6.9 Prueba piloto:

No aplica

6.10 Variables de estudio

En la Tabla 1 se describen las variables del estudio.

Tabla 1. Variables de estudio.

<i>Variable</i>	<i>Tipo</i>	<i>Unidad de medida</i>	<i>Instrumento de medición</i>
Capsaicina	Independiente	mg/kg chile seco	CLAR
Dihidrocapsaicina	Independiente	mg/kg chile seco	CLAR
Compuestos fenólicos	Independiente	µg/g chile fresco	Espectrofotómetro
α-amilasa	Dependiente	% Inhibición	Espectrofotómetro
α-glucosidasa	Dependiente	% Inhibición	Espectrofotómetro

6.11 Procedimiento

6.7.1 Diagrama de estrategia general

En la Figura 5 se describe el diagrama de la estrategia general del proyecto.

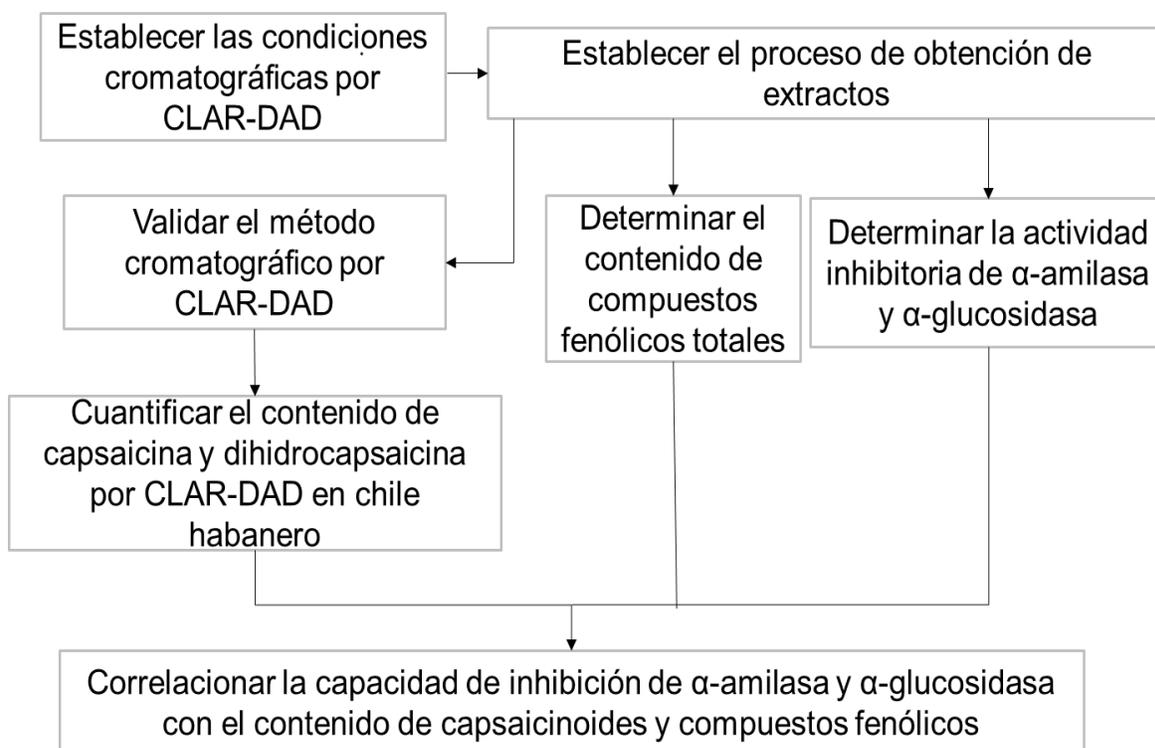


Figura 5. Diagrama de estrategia general.

6.7.2 Condiciones cromatográficas

Para establecer las condiciones cromatográficas que permitieran la cuantificación de capsaicinoides en chile habanero, se siguió la metodología reportada por Canto-Flick et al. (2008) con simples modificaciones. Para ello se trabajó con un CLAR Waters Alliance e2695, equipado con una Columna Kinetex EVO C18, fase inversa con dimensiones de 150 mm x 3 mm x 5 μ m y con detector de arreglo de diodos (DAD) a una longitud de onda de 280 nm. Como fase móvil se utilizó una mezcla isocrática con 70% del solvente B (100% metanol) y 30% de solvente A (solución de metanol 10% v/v). Se inició con las siguientes condiciones de operación: temperatura de la columna y de las muestras de 25 °C, velocidad de flujo de 1 mL/min, inyección de 10 μ L del extracto y tiempo de corrida de 10 minutos.

Todos los solventes fueron filtrados utilizando membranas de nylon de 0.45 μm y colocados en un baño de ultrasonido por 10 minutos para desgasificarlos.

La capsaicina y dihidrocapsaicina fueron identificadas y cuantificadas utilizando los tiempos de retención y áreas de los estándares de ambos compuestos (*Sigma Aldrich*, pureza $\geq 95\%$ para capsaicina y $\geq 85\%$ para dihidrocapsaicina). La curva de calibración se preparó en metanol grado HPLC aplicando diluciones en serie de 50, 100, 200, 300 y 500 ppm de una dilución de la solución madre de 2000 ppm de cada compuesto. Las muestras analizadas fueron previamente filtradas a través de un acrodisco de 0.20 μm antes de su inyección (Al Othman et al., 2011).

El contenido total de capsaicinoides se expresó en mg/kg peso seco y en Unidades Scoville (US). Para convertir a US se multiplicaron las partes por millón (ppm) por 16 (Helrich 1990).

6.7.3 Selección de condiciones cromatográficas

En la selección de las condiciones cromatográficas, se probaron tres velocidades de flujo (0.4 mL/min, 0.5 mL/min y 0.6 mL/min) con temperatura de columna de 27 °C; además, fue reducido el tiempo de análisis de 10 a 4 minutos. Las mejores condiciones cromatográficas fueron elegidas en base a los valores del factor de separación (α), el número de platos teóricos (N) y en la resolución de los picos (R_s). Las ecuaciones utilizadas para el cálculo de cada parámetro cromatográfico son como sigue:

Factor de separación (α):

$$\alpha = t_{R2}/t_{R1} \quad (\text{ecuación 1})$$

En donde:

t_{R2} = Tiempo de retención 2

t_{R1} = Tiempo de retención 1

Número de platos teóricos (N):

$$N = 16 (tr/w)^2 \quad \text{(ecuación 2)}$$

En donde:

t_R = Tiempo de retención

w = Ancho de la base del pico

Resolución (R):

$$R_s = \frac{2 [(T_R)_B - (T_R)_A]}{W_A + W_B} \quad \text{(ecuación 3)}$$

Donde:

$(t_R)_A$ = tiempo de retención del pico A en minutos

$(t_R)_B$ = tiempo de retención del pico B en minutos

W_A = anchura del pico A en su base en minutos

W_B = anchura del pico B en su base en minutos

6.7.4 Optimización del proceso de obtención de extractos

Los frutos enteros (placenta, pericarpio y semillas) fueron sometidos a secado en horno a 60 °C hasta un peso constante y, una vez secos, triturados en molino y etiquetados adecuadamente para conservar en congelación a -20°C hasta su uso.

Para la obtención de extractos se siguieron dos metodologías. Se partió con la metodología A de extracción, realizada según lo reportado por Canto-Flick et al. (2008), en donde a 1 gramo de chile seco fueron añadidos 20 mL de acetonitrilo grado HPLC. La mezcla se mantuvo en baño maría a 80 °C durante 4 horas con movimiento constante. Una vez transcurrido este tiempo, la mezcla llegó a temperatura ambiente y posteriormente fue filtrada para almacenar en vial (5 °C) hasta su uso. Este procedimiento fue por triplicado.

La metodología B consistió en la prueba de tres sistemas con solventes diferentes y se realizó en base a lo reportado por Castro-Concha et al. (2014), que consistió en tomar 1 gramo de muestra seca y suspender en 20 mL de los siguientes solventes a prueba: etanol, metanol y acetonitrilo al 80% con agua destilada (v/v), para posteriormente someter a agitación orbital durante 3 horas a temperatura ambiente. La suspensión resultante fue sometida a centrifugación a 3500 rpm durante 10 minutos y se separó el sobrenadante para realizar una segunda extracción bajo las mismas condiciones. Los dos sobrenadantes resultantes fueron mezclados y filtrados a través de papel filtro Whatman No. 4 para posteriormente almacenar a 5 °C hasta su uso. Este procedimiento se realizó por triplicado.

Para seleccionar las mejores condiciones del proceso de extracción se tomó en cuenta el porcentaje de recuperación (ecuación 6) y la precisión calculando los coeficientes de variación.

Todos los extractos fueron filtrados a través de un acrodisco de 0.20 µm antes de su inyección al sistema cromatográfico (Al Othman et al., 2011).

6.7.5 Validación del método cromatográfico

La validación del método cromatográfico se basó en las guías de la ICH (2005) y en los criterios establecidos por Oscar Quattrocchi (1992). Los parámetros incluidos fueron linealidad, exactitud, precisión, límites de detección y cuantificación y robustez.

6.7.5.1 Linealidad

La linealidad fue evaluada mediante la inspección visual de los gráficos de las concentraciones de los estándares de Cap y Dih (rango de concentración de 25 a 500 ppm) vs. las áreas obtenidas y con el valor del coeficiente R^2 obtenido por mínimos cuadrados empleando el programa Excel. Además, fue evaluado el %DER de los factores de respuesta, calculado como sigue:

$$FR = A/C \quad (\text{ecuación 4})$$

En donde:

A= Área de la señal del estándar

C= Concentración del estándar

$$\%DER = (DE/X) \times 100 \quad (\text{ecuación 5})$$

En donde:

DE = Desviación estándar

X = Media de los factores de respuesta

6.7.5.2 Límites de Detección y Límites de Cuantificación

Para calcular el límite de detección (LD) y cuantificación (LC) empleamos el método de la desviación estándar del blanco considerando tres veces para el límite de detección y diez veces para el límite de cuantificación.

$$LD = \frac{(b+3DE)}{m} \quad (\text{ecuación 6})$$

$$LC = \frac{(b+10DE)}{m} \quad (\text{ecuación 7})$$

En donde:

b = señal del blanco

DE = desviación estándar de la señal del blanco

M= Pendiente de la curva de calibración

6.7.5.3 Precisión

La precisión se evaluó con la repetibilidad del método, realizando al menos nueve determinaciones que cubran el rango específico para el procedimiento, considerando tres concentraciones con tres réplicas de cada una de ellas. Así mismo, se evaluó el %DER de la precisión intermedia repitiendo el procedimiento en días diferentes.

6.7.5.4 Exactitud

Para la evaluación de la exactitud probamos el método de adición estándar con dos niveles de concentración (50, 100 y 200 ppm) de capsaicina y dihidrocapsaicina en matriz dentro del intervalo de trabajo y se reportó el porcentaje de recuperación.

$$\% \text{ Recuperación} = \frac{(\text{Cf}-\text{Cu}) \times 100}{\text{Ca}} \quad (\text{ecuación 8})$$

En donde:

Cf = Concentración analito medida en muestra fortificada

Cu = Concentración analito medida en muestra sin fortificar

Ca = Concentración analito adicionado

6.7.5.5 Robustez

Para evaluar la robustez se probaron pequeñas variaciones en la temperatura de la columna (26°C, 27°C y 28°C) y la velocidad de flujo (0.4 mL/min, 0.5 mL/min y 0.6 mL/min) utilizando una solución estándar de capsaicinoides (500 ppm). Para analizar si estas variables tienen efectos significativos en estos resultados, se siguió el método reportado por Quattrocchi (1992).

6.7.6 Cuantificación del contenido de capsaicinoides

Con el método cromatográfico ya validado, se procedió a la cuantificación por CLAR de capsaicina y dihidrocapsaicina presentes en los extractos de Jaguar y Texcoco obtenidos bajo las condiciones previamente seleccionadas. Con la finalidad de seleccionar el mejor detector, se analizaron los resultados utilizando un detector de arreglo de diodos (DAD) a una longitud de onda de 280 nm y con detector de fluorescencia (FLR) a una longitud de onda de 280 nm de excitación y 338 nm de emisión. Cada muestra se analizó por triplicado.

6.7.7 Determinación de contenido de compuestos fenólicos totales

Para la determinación de los fenoles totales se trabajó con un Espectrofotómetro UV-Vis Aligent Cary 60 siguiendo el método de Folin-Ciocalteu reportado por Singleton et al. (1998) con simples modificaciones, en donde 500 μ L del extracto metanólico se mezclaron con 200 μ L de reactivo de Folin-Ciocalteu (Sigma-Aldrich) y 500 μ L de carbonato de sodio, y se completó a un volumen final de 10 mL con agua destilada. La absorbancia se midió a 760 nm utilizando un espectrofotómetro (UV-Vis) después de una incubación de 1 hora a temperatura ambiente (oscuridad).

Los niveles de contenido total de fenoles se determinaron por triplicado. La curva de calibración se estableció utilizando concentraciones de 1, 5, 10, 15 y 20 ppm de ácido gálico en 80% metanol y el contenido total de fenoles se expresó como equivalentes de ácido gálico en μ g/g de peso fresco.

6.7.8 Determinación de actividad inhibitoria de α -amilasa y α -glucosidasa

6.7.8.1 Inhibición de α -amilasa

Para determinar la capacidad de inhibición de α -amilasa de los extractos de habanero, se siguió la metodología informada por Subramanian et al. (2008). Se partió de la mezcla de 100 μ L del extracto metanólico, 100 μ L buffer de fosfato sódico (pH 6.9) y 100 μ L de amilasa pancreática porcina reconstituida en buffer de pH 6.9 con una concentración de 1 U/mL (preincubada a 20°C durante 10 min) y 100 μ L de una solución de almidón al 1% preparada en buffer. Se incubaron a 20 °C durante 30 minutos y la reacción se detuvo con 1 mL de ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS) 96 mM (reactivo de color). Después, la mezcla se incubó en un baño seco a 100 °C durante 5 minutos y, posteriormente, se llevó a temperatura ambiente y se agregaron 5.6 mL de agua destilada.

Se utilizó acarbosa como control positivo de inhibición. La absorbancia se midió en Espectrofotometro UV-Vis Aligent Cary 60 a una longitud de onda de 450 nm. La actividad inhibidora de α -amilasa se calculó utilizando la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Inhibición} = \frac{\text{Abs Control} - \text{Abs Muestra}}{\text{Abs Control}} \times 100 \quad (\text{ecuación 9})$$

En donde:

Abs Control = Absorbancia del control

Abs Muestra = Absorbancia de la muestra

6.7.8.2 Inhibición de α -glucosidasa

La capacidad de inhibición de α -glucosidasa se realizó según lo descrito por Adisakwattana et al. (2009). Para esto, se preparó una mezcla acuosa con 500 μ L de extracto metanólico, 500 μ L de una solución de α -glucosidasa (1 U/mL) y 500 μ L de un buffer de fosfato (pH 6.8), esta solución se incubó a 37 °C durante 5 minutos. A la mezcla acuosa se le añadieron 500 μ L de *p*-nitrofenil-*D*-glucopiranosido (*p*-NPG) 5 mmol/L (una unidad de la enzima liberó D-glucosa a partir de *p*-nitrofenil-*D*-glucósido) y se incubó a 37 °C durante 10 minutos. Se utilizó acarbosa como control positivo de inhibición. Posteriormente, se leyó la absorbancia en Espectrofotómetro UV-Vis Aligent Cary 60 a una longitud de onda de 405 nm. La actividad inhibidora de α -glucosidasa se calculó utilizando la ecuación 9, antes descrita.

6.7.9 Correlación de la capacidad de inhibición de α -amilasa y α -glucosidasa con el contenido de capsaicinoides y compuestos fenólicos

Para evaluar la correlación entre el contenido de capsaicinoides y compuestos fenólicos con la capacidad de inhibición de α -amilasa y α -glucosidasa se empleó el programa estadístico SPSS Statistics aplicando la prueba *rho* de Spearman para muestras no paramétricas, que establece el grado de asociación entre dos cantidades.

En el presente análisis estadístico los valores de *rho* se determinaron según los rangos de interpretación propuestos por Derek Rowntree (1984), que se muestran en la Tabla 2.

Tabla 2. Rangos de interpretación del coeficiente de correlación.

Coeficiente	Interpretación
0	Nula
>0.0 – 0.2	Muy baja
>0.2 – 0.4	Baja
>0.4 – 0.6	Moderada
>0.6 – 0.8	Alta
>0.8 - <1.0	Muy alta
1.0	Perfecta

6.7.10 Plan de análisis

El análisis estadístico que se aplicó en este proyecto de investigación es un análisis descriptivo que incluye promedios, desviación estándar, coeficientes de variación o desviación estándar relativa y comparación de medias ($p = 0.05$) por prueba de Mann Whitney (Wilcoxon), para lo cual se empleó el programa estadístico SPSS Statistics.

6.8 Consideraciones éticas y de bioseguridad

Para el desarrollo de la metodología se contempló el uso correcto de las normas y reglas de seguridad de la Unidad de Nutrición del Centro de Investigación y Desarrollo en Ciencias de la Salud, y el tratamiento y confinamiento de los desechos químicos generados. Toda la información generada de este trabajo es propiedad de la UANL, por lo que se guardará la confidencialidad de los datos.

6.9 Recursos

6.9.1 Materiales (infraestructura)

El presente estudio se realizó en las instalaciones de la Unidad de Nutrición del Centro de Investigación y Desarrollo en Ciencias de la Salud – UANL, ubicado en Avenida Dr. José Eleuterio González (Gonzalitos), Mitras Centro, Monterrey, Nuevo León.

6.9.2 Financieros

Se financió la compra de reactivos gracias al apoyo del Proyecto DSA/103.5/16/10510 PROMEP, de la propia dependencia universitaria y Proyecto PAICYT 2016. Apoyo de CONACYT como becario de Posgrado.

6.9.3 Humanos

El estudio se llevó a cabo por la tesista de la Maestría en Ciencias en Nutrición Paola Elizabeth Rodríguez de León, bajo la dirección de la Doctora en Ciencias Aurora de Jesús Garza Juárez y la asesoría de la Dra. Vania Urías Orona. Además de la asesoría externa del Dr. Juan Ricardo Lucio Gutiérrez, el Dr. Edgar Vladimir Gutiérrez Castorena y la M.C. Nora Estela García Treviño, profesores de la Facultad de Medicina y Agronomía de la UANL, respectivamente, así mismo se contó con la colaboración de estudiantes de pregrado de la Facultad de Salud Pública y Nutrición y de la Unidad de Nutrición del CIDICS-UANL.

7 RESULTADOS

7.1 Condiciones cromatográficas

Las condiciones cromatográficas que proporcionaron la mejor resolución y respuesta de las señales fueron: fase estacionaria una columna Kinetex EVO C18, fase reversa (150 mm x 3 mm x 5 μ m), fase móvil metanol:agua bajo condiciones isocráticas, con una velocidad de flujo de 0.5 mL/min, temperatura de columna de 27°C y un tiempo de corrida de 4 minutos. Bajo estas condiciones cromatográficas la resolución (R_s) obtenida mayor a 1 y con un factor de separación de 0.662, por otro lado, el número de los platos teóricos obtenido para capsaicina fue de 266.34 y para dihidrocapsaicina fue de 507.30. Estos resultados cumplieron con los criterios establecidos por Oscar Quattrocchi (1992). Los resultados obtenidos de los parámetros analizados bajo las diferentes condiciones probadas se muestran en la Tabla 3.

Tabla 3. Resultados de los parámetros evaluados bajo las diferentes condiciones cromatográficas en el proceso de optimización.

Condición	tR		Platos teóricos		R	α
	Cap	Dih	Cap	Dih		
1.0 mL/min - 27 °C	1.800	2.290	230.73	273.38	0.95	0.490
0.4 mL/min - 27 °C	3.343	4.170	261.75	339.75	0.95	0.827
0.5 mL/min - 27 °C	2.679	3.341	266.34	507.30	1.06	0.662
0.6 mL/min - 27 °C	2.223	2.767	262.93	279.92	0.90	0.545

En la Figura 6 se muestra el cromatograma obtenido de la mezcla de estándares de capsaicina y dihidrocapsaicina bajo las condiciones cromatográficas previamente seleccionadas. Le elución de capsaicina y dihidrocapsaicina de 2.67 y 3.34 min respectivamente con un tiempo final de corrida de 4 min.

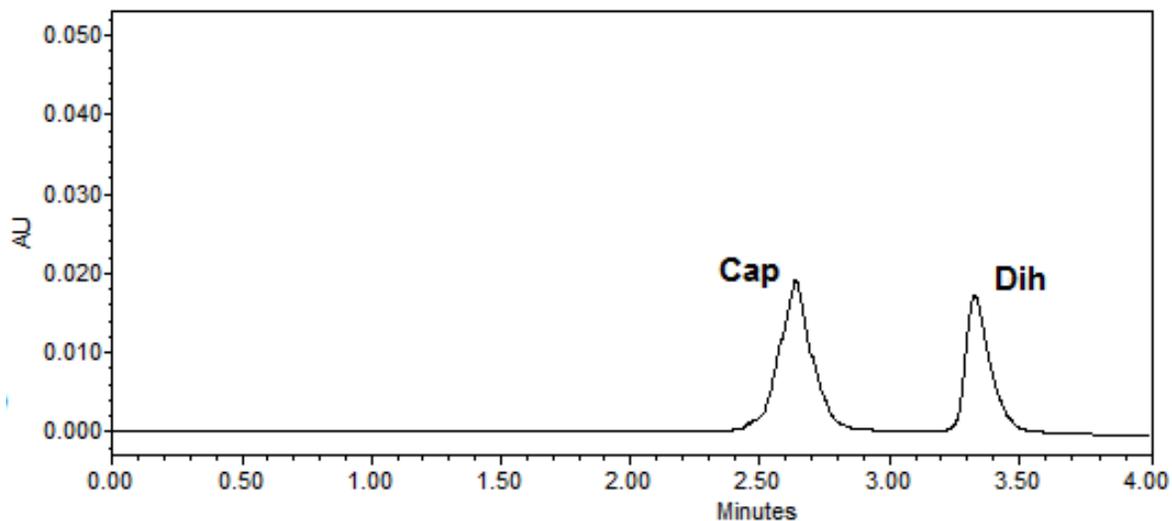


Figura 6. Cromatograma de capsaicina y dihidrocapsaicina correspondiente a la condición de 0.5 mL/min y 27 °C.

7.2 Proceso de obtención de extractos

La mayor recuperación con la mejor precisión de capsaicina y dihidrocapsaicina se obtuvieron con la metodología B que consistió en agitación orbital durante 6 horas a temperatura ambiente empleando como solvente metanol al 80% (Tabla 4). El extracto obtenido bajo estas condiciones se utilizó además para las pruebas de actividad biológicas y contenido total de compuestos fenólicos.

Tabla 4. Resultados probando los dos métodos de tratamiento previo de la muestra.

Metodología	Solvente	Capsaicina		Dihidrocapsaicina	
		(mg/g)	%DER	(mg/g)	%DER
A	Acetonitrilo	520.0	9.1	453.8	11.3
B	Metanol	525.7	4.0	400.1	0.8
	Etanol	509.8	8.6	394.2	8.3
	Acetonitrilo	494.9	4.1	389.5	2.7
%DER > 0.5% - <15%					

7.3 Validación del método cromatográfico

7.3.1 Linealidad

En los resultados validación, para la linealidad se obtuvo un coeficiente de correlación (R^2) de 0.999 para capsaicina y 0.998 para dihidrocapsaicina (Figura 7), con porcentajes de desviación estándar relativa (%DER) de los factores de respuesta (FR) de 5.40 y 6.53%, respectivamente. Estos resultados cumplieron los criterios establecidos por la ICH.

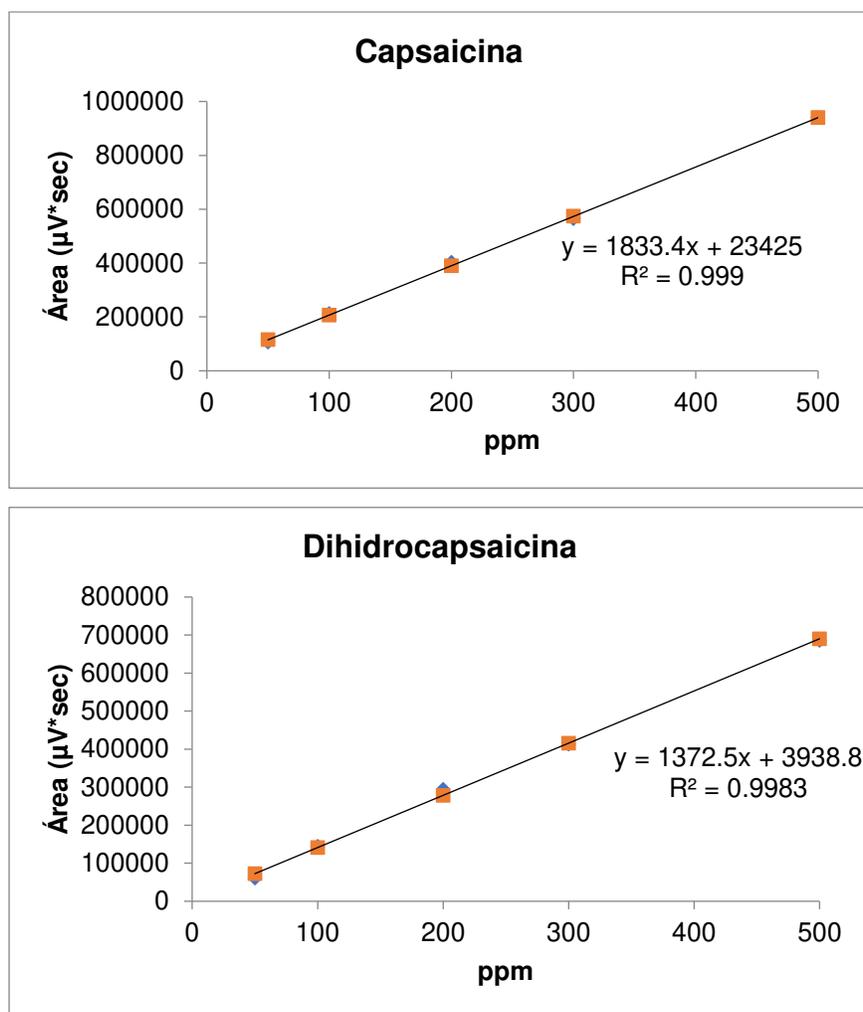


Figura 7. Curvas de calibración de capsaicina y dihidrocapsaicina por DAD.

7.3.2 Límites de detección y Límites de Cuantificación

Los límites de detección para capsaicina y dihidrocapsaicina fueron de 27.32 y 12.72 ppm, mientras que los de cuantificación fueron de 44.12 y 27.14 ppm, respectivamente. Los resultados se muestran en la Tabla 5.

Tabla 5. Límites de detección y cuantificación para capsaicina y dihidrocapsaicina.

Capsaicinoide	Límite de detección (ppm)	Límite de cuantificación (ppm)
Capsaicina	27.32	44.12
Dihidrocapsaicina	12.72	27.14

7.3.3 Precisión

Los resultados de precisión intradía e intermedia a tres niveles de concentración para los dos analitos se muestran en la Tabla 6. En donde se observa que en todos los casos los % de DER fueron menores al 3%.

7.3.4 Exactitud

En la evaluación de la exactitud, la adición estándar de 50, 100 y 200 ppm de solución madre de la mezcla de capsaicina y dihidrocapsaicina en matriz permitió obtener un porcentaje de recuperación mayores del 80%. Los resultados establecidos cumplen con los parámetros de la AOAC como se muestra en la Tabla 7.

Tabla 6. Resultados de la prueba de precisión intradía e intermedia.

Mezcla estándar	Precisión Intradía % DER			Precisión intermedia %DER		
	Nivel 1 (50 ppm)	Nivel 2 (200 ppm)	Nivel 3 (500 ppm)	Nivel 1 (50 ppm)	Nivel 2 (200 ppm)	Nivel 3 (500 ppm)
Capsaicina	2	3	1	1.7	2.3	1.1
Dihidrocapsaicina	1.6	1	2.7	1.7	1.3	2.2
*Criterio de aceptación ICH			% DER < 10%			

Tabla 7. Resultados de la prueba de exactitud.

Solución	Cap	Dih
Extracto + Solución madre (50 ppm)	81.28	78.03
Extracto + Solución madre (100 ppm)	90.35	89.34
Extracto + Solución madre (200 ppm)	94.55	90.17

7.3.5 Robustez

Los resultados de robustez se presentan la Tabla 8, estos resultados muestran que ligeros cambios en la temperatura de la columna y en la velocidad de flujo, modifican de manera significativa los tiempos de retención de ambos analitos ($p = 0.000$). Por otro lado, la concentración de los dos capsaicinoides se modifica de manera significativa ($p = 0.001$) al realizar ligeros cambios en la velocidad de flujo, pero no cuando con cambios en la temperatura de la columna.

Tabla 8. Resultados de prueba de robustez.

Condición	Capsaicina		Dihidrocapsaicina	
	t _R (min)	Concentración (ppm)	t _R (min)	Concentración (ppm)
27 °C 0.4 mL/min	3.343	742.14	4.170	657.49
27°C 0.5 mL/min	2.679	574.55	3.341	496.43
27°C 0.6 mL/min	2.223	484.83	2.767	452.49
26 °C 0.5 mL/ml	2.700	574.07	3.374	502.86
27°C 0.5 mL/min	2.679	574.55	3.341	496.43
28°C 0.5 mL/min	2.658	584.31	3.306	523.69

* Muestras significativamente diferentes ($p = 0.05$).

7.3 Cuantificación del contenido de capsaicinoides

Bajo las condiciones previamente establecidas de extracción y de análisis cromatográfico, se logró cuantificar el contenido de capsaicina y dihidrocapsaicina en la variedad Jaguar y Texcoco. El contenido de capsaicina fue mayor en la variedad Texcoco (43,042.11 mg/kg seco), mientras que el contenido de dihidrocapsaicina fue mayor en la variedad Jaguar (15,942.84 mg/kg seco). Sin embargo, el mayor contenido de capsaicinoides totales se presentó en la variedad Texcoco. Los resultados de concentración se expresaron en mg/kg de chile seco y muestran en la Tabla 9. Por otro lado, se realizó una prueba Wilcoxon en la que se observó diferencia significativa en el contenido de capsaicina ($p = 0.000$) y dihidrocapsaicina ($p = 0.000$) entre ambas variedades (Figura 8).

Tabla 9. Concentración de capsaicina y dihidrocapsaicina por detector de fluorescencia (FLR).

Variedad	Capsaicina mg/kg seco	Dihidrocapsaicina mg/kg seco	US
Jaguar	35,865.60	15,942.84	834,115.99
Texcoco	43,042.11	12,710.99	897,624.99

n = 3

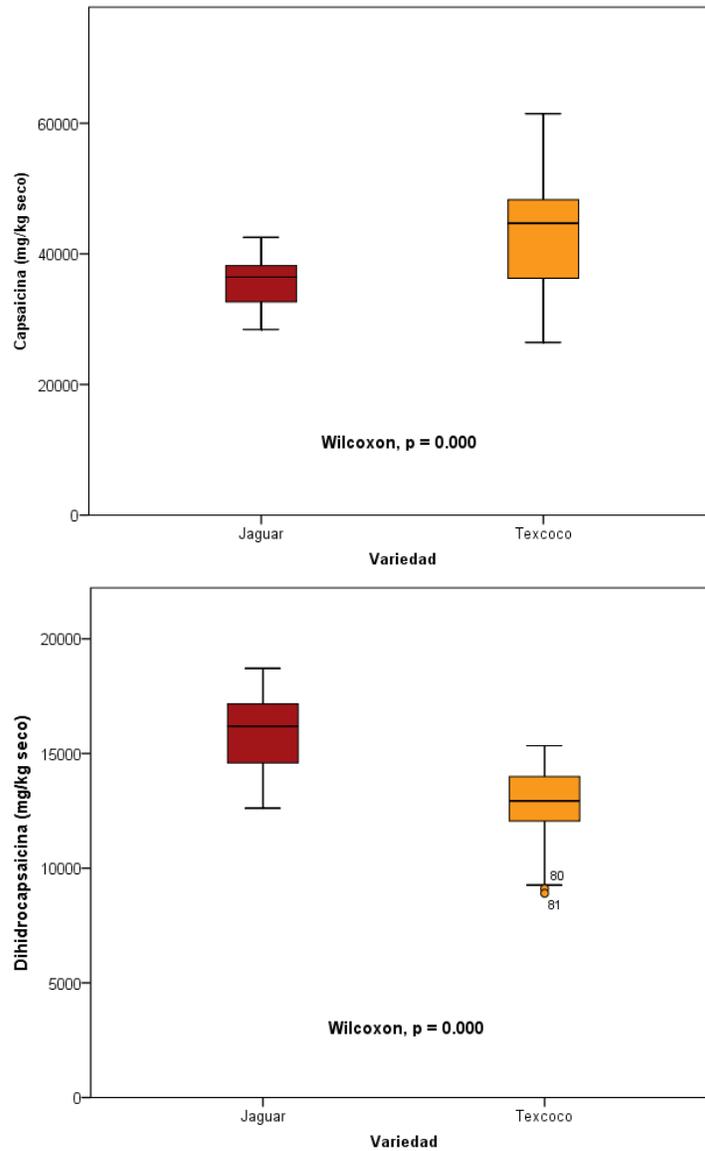


Figura 8. Resultados del contenido de capsaicinoides en las dos variedades de Texcoco y Jaguar de chile habanero.

En la Figura 9 se pueden apreciar los cromatogramas de los extractos metanólicos obtenidos de las dos variedades de chile habanero en estudio, en donde se observan los picos correspondientes a capsaicina y dihidrocapsaicina. Las señales fueron identificadas tanto por su tiempo de retención, como por el espectro de absorción de UV-vis de cada una de las señales.

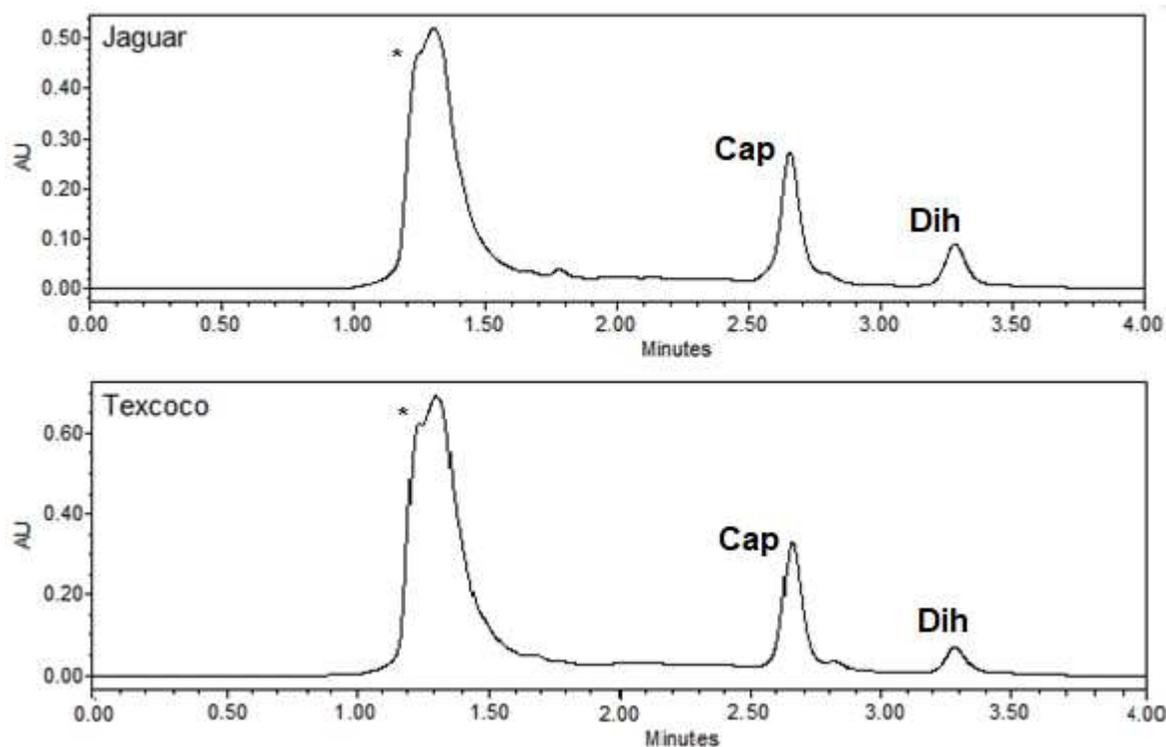


Figura 9. Cromatogramas por CLAR-DAD de extractos de Jaguar y Texcoco. Se muestran las señales de ambos capsaicinoides (Cap y Dih) y de los pigmentos (*).

7.4 Determinación de contenido de compuestos fenólicos totales

Se logró cuantificar el contenido de compuesto fenólicos totales de ambas variedades. La cuantificación se realizó empleando como estándar ácido gálico,

cuya curva de calibración en el intervalo de concentraciones de 1 a 20 ppm mostró un coeficiente de correlación (R^2) aceptable de 0.999 (Figura 10).

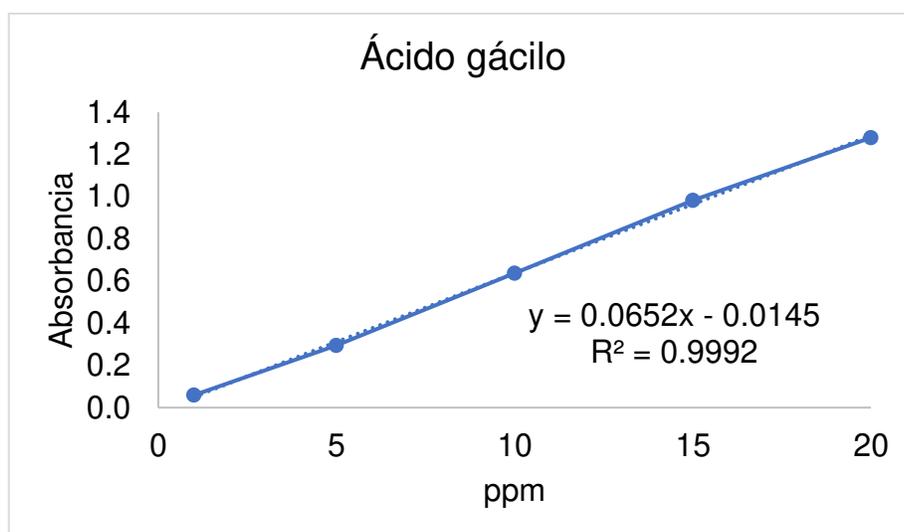


Figura 10. Curva de calibración de ácido gálico.

El contenido de compuestos fenólicos en chile fresco para las variedades Jaguar y Texcoco fue de $1,202.83 \pm 93.19$ y $1,318.97 \pm 178.02$ $\mu\text{g/g}$, respectivamente. Los resultados mostraron una diferencia significativa ($p = 0.001$) en el contenido de fenoles totales entre las variedades (Figura 11).

7.5 Determinación de la actividad inhibitoria de las enzimas α -amilasa y α -glucosidasa en extractos de dos variedades de chile habanero

La actividad biológica de los chiles se determinó en base a la respuesta de la acarbosa que se utilizó como control positivo, con resultados de inhibición de 96.7% para α -amilasa y 99.9% para α -glucosidasa.

El porcentaje de inhibición de α -amilasa y α -glucosidasa en la variedad Jaguar fue de 79.81% y 85.10%, respectivamente, mientras que para la variedad Texcoco fue de 81.38% y 87.19%, respectivamente. Sin embargo, no se observó diferencia significativa entre los porcentajes de inhibición de α -amilasa ($p = 0.526$) y α -glucosidasa ($p = 0.315$) de las dos variedades de chile habanero (Figura 12).

7.6 Correlación de la capacidad de inhibición de α -amilasa y α -glucosidasa con el contenido de capsaicoides y compuestos fenólicos

Con ayuda del programa estadístico SPSS se realizó una prueba de Spearman para establecer correlación lineal entre el contenido de capsaicoides y compuestos fenólicos y la capacidad de inhibición de α -glucosidasa y α -amilasa.

En la variedad Jaguar se encontró una alta correlación entre el contenido capsaicina y dihidrocapsaicina ($\rho = 0.641$; $p = 0.000$), además de una correlación negativa moderada entre el contenido de capsaicina y compuestos fenólicos ($\rho = 0.001$, $p = -0.459$). Por otro lado, en Texcoco existió una correlación moderada entre el contenido de capsaicina y dihidrocapsaicina ($\rho = 0.506$; $p = 0.000$) y dihidrocapsaicina y compuestos fenólicos ($\rho = 0.524$; $p = 0.000$), además de una muy alta correlación entre el contenido de capsaicina y compuestos fenólicos ($\rho = 0.805$; $p = 0.000$), como se aprecia en la Figura 13.

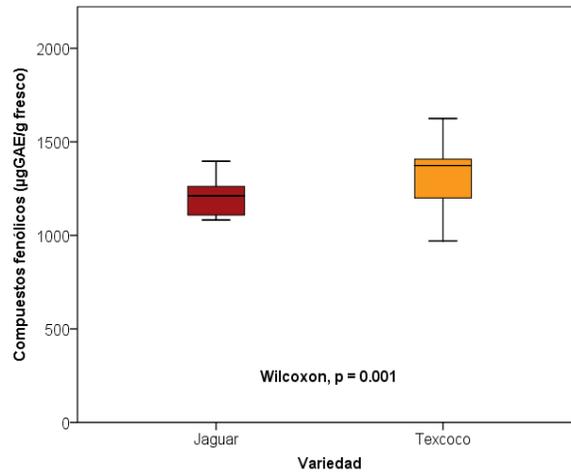


Figura 11. Resultados de la cantidad de compuestos fenólicos presentes en las dos variedades de chile habanero.

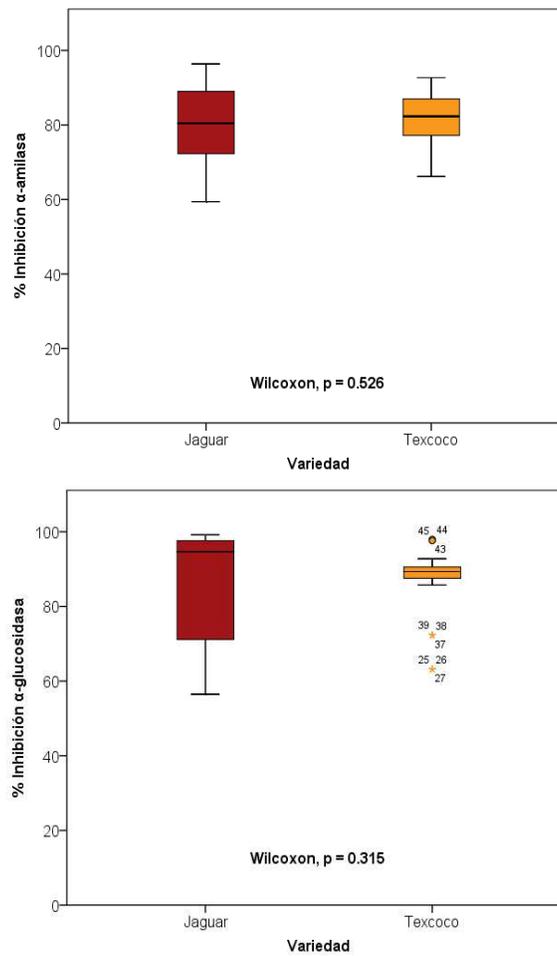


Figura 12. Resultados del porcentaje de inhibición de α -amilasa y α -glucosidasa de las dos variedades de chile habanero.

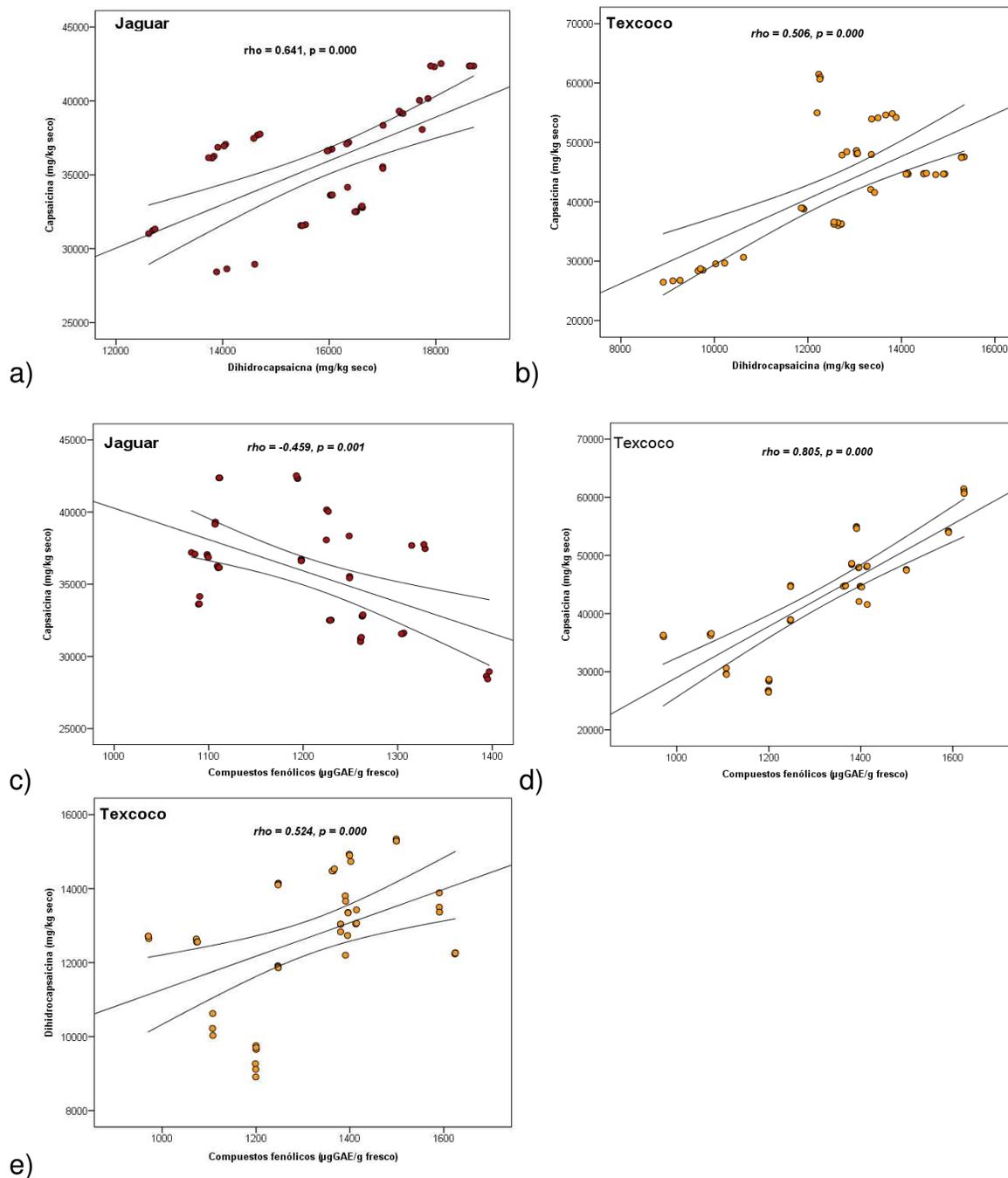


Figura 13. Graficas de correlación entre contenido de capsaicinoides en Jaguar y Texcoco. En el gráfico a) y b) se muestra la correlación entre el contenido de capsaicina y dihidrocapsaicina en Jaguar y Texcoco, respectivamente. En c) y d) se muestra la correlación entre capsaicina y compuestos fenólicos en Jaguar y Texcoco, respectivamente, y en e) la correlación del contenido de dihidrocapsaicina y compuestos fenólicos en Texcoco.

Por otro lado, en la variedad Jaguar la actividad de inhibición de α -amilasa mostró baja correlación con el contenido de dihidrocapsaicina ($\rho = 0.360$ y $p = 0.012$) y compuestos fenólicos ($\rho = 0.342$ y $p = 0.018$), sin embargo, la actividad de inhibición de α -glucosidasa únicamente mostró baja correlación con el contenido de capsaicina ($\rho = 0.335$ y $p = 0.020$) como se muestra en la Figura 14.

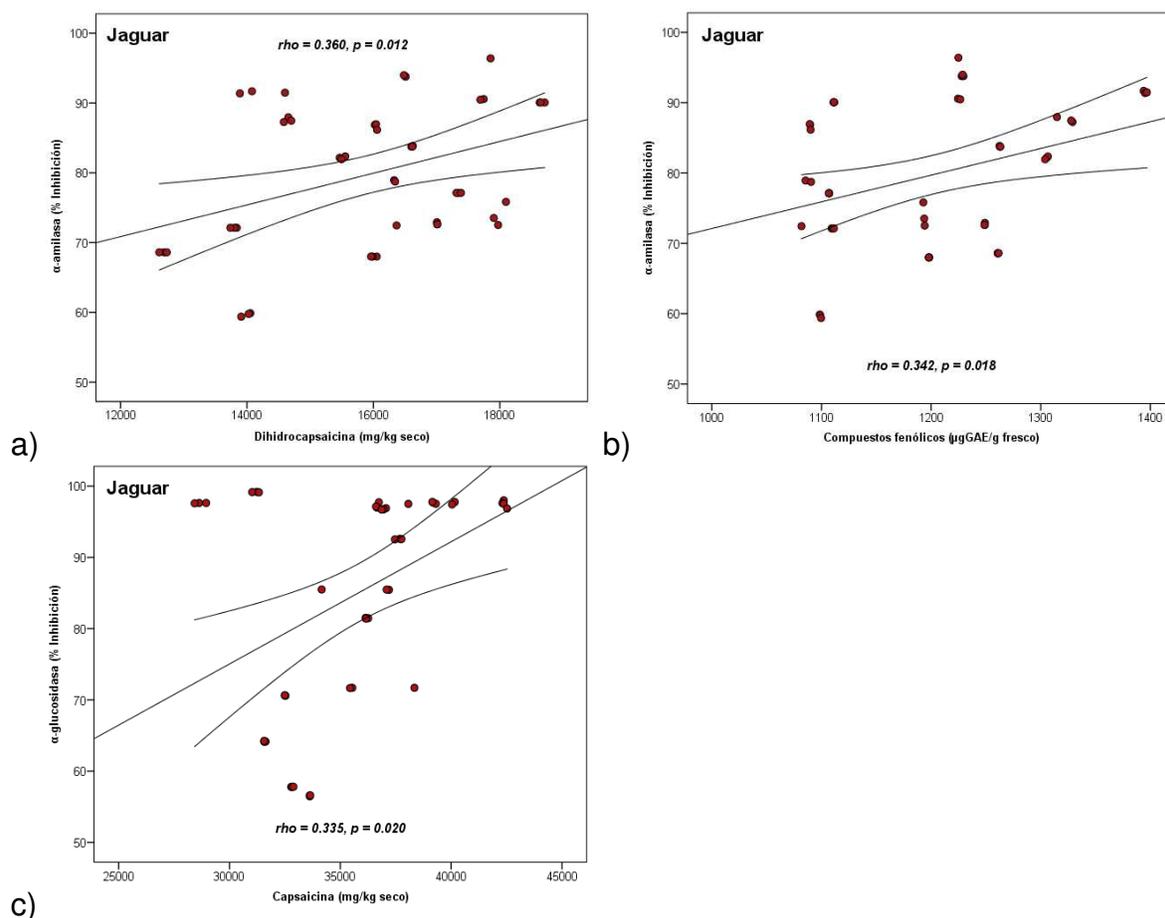


Figura 14. Gráficas de correlación en la variedad Jaguar de chile habanero. En los gráficos a) y b) se muestran las correlaciones entre el contenido de dihidrocapsaicina y compuestos fenólicos con la actividad de inhibición de α -amilasa y en c) la correlación de capsaicina con α -glucosidasa, respectivamente.

En la variedad Texcoco se observó una correlación baja entre la actividad de α -amilasa con el contenido de capsaicina ($\rho = 0.388$ y $p = 0.006$) y una correlación moderada con el contenido de dihidrocapsaicina ($\rho = 0.502$ y $p = 0.000$) y compuestos fenólicos ($\rho = 0.476$ y $p = 0.001$); mientras que para la actividad de inhibición de α -glucosidasa se obtuvo correlación moderada con el contenido de dihidrocapsaicina ($\rho = 0.570$ y $p = 0.000$), pero no con la concentración de capsaicina y compuestos fenólicos (Figura 15).

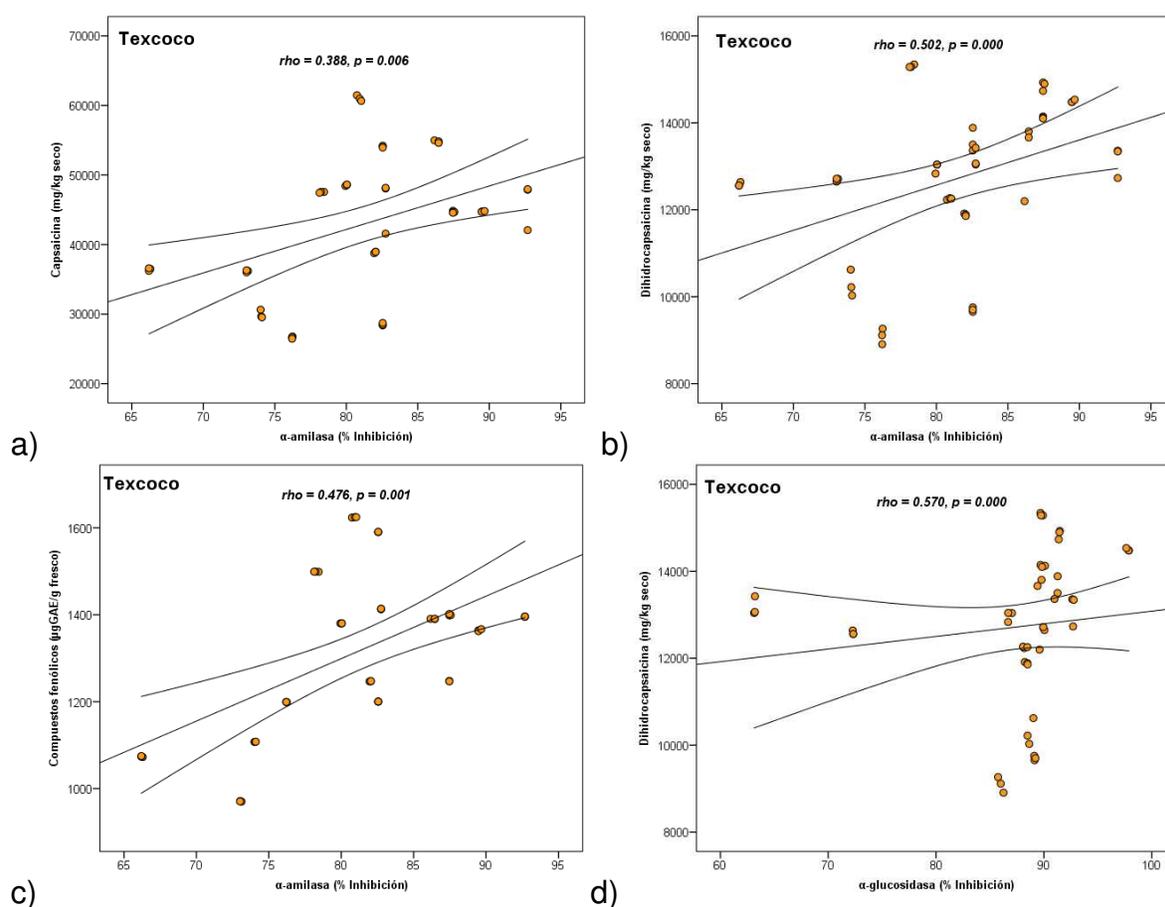


Figura 15. Gráficas de correlación en la variedad Texcoco de chile habanero. En los gráficos a), b) y c) se muestran las correlaciones entre el contenido de capsaicina dihidrocapsaicina y compuestos fenólicos frente a la actividad de inhibición de α -amilasa y en d) se muestra la correlación entre el contenido de dihidrocapsaicina frente a la actividad de inhibición de α -glucosidasa, respectivamente.

En la Tabla 10 se muestran los resultados de todas las correlaciones analizadas en el estudio.

Tabla 10. Correlaciones entre el contenido de capsaicina, dihidrocapsaicina y compuestos fenólicos con la capacidad de inhibición de α -amilasa y α -glucosidasa en las variedades Jaguar y Texcoco de chile habanero.

Correlación	Jaguar		Texcoco	
	<i>p</i>	<i>rho</i>	<i>p</i>	<i>rho</i>
Capsaicina vs. Dihidrocapsaicina	0.000	0.641*	0.000	0.506*
Capsaicina vs. Compuestos fenólicos	0.001	-0.459*	0.000	0.805*
Dihidrocapsaicina vs. Compuestos fenólicos	0.149	-0.212	0.000	0.524*
α -amilasa vs. Capsaicina	0.654	-0.066	0.006	0.388*
α -amilasa vs. Dihidrocapsaicina	0.012	0.360*	0.000	0.502*
α -amilasa vs. Compuestos fenólicos	0.018	0.342*	0.001	0.476*
α -glucosidasa vs. Capsaicina	0.020	0.335*	0.252	0.168
α -glucosidasa vs. Dihidrocapsaicina	0.614	0.075	0.000	0.570*
α -glucosidasa vs. Compuestos fenólicos	0.942	0.011	0.192	0.192

* Correlaciones significativas

8 DISCUSION

8.1 Condiciones cromatográficas

Con la finalidad de mejorar la eficiencia del método cromatográfico para la cuantificación de capsaicinoides, en una primera etapa se probaron las siguientes velocidades de flujo: 1, 0.8, y 0.5 mL/min y temperaturas de columna de 25, 26 y 27°C, empleando como fase móvil un sistema isocrático de 70% del solvente B (100% metanol) y 30% de solvente A (metanol 10%).

Al calcular los parámetros de eficiencia como son el factor de separación (α), el número de platos teóricos (N) y la resolución de los picos (Rs), se observó que con una velocidad de flujo de 1.0 mL/min con temperatura de columna de 25 °C, el número de platos teóricos y α eran menores que con las condiciones seleccionadas (velocidad de flujo de 0.5 mL/min y temperatura de columna de 27°C); además, de mostrar la mejor resolución. Estos resultados cumplieron con los criterios establecidos por Oscar Quattrocchi (1992), por lo que no fue necesario realizar mayores cambios en las condiciones cromatográficas como pudo haber sido en la composición o gradiente de la fase móvil (Tabla 3).

Estos resultados concuerdan con lo establecido por otros autores como Martins et al. (2017), quienes aseguran que la velocidad de flujo de la fase móvil influye de manera importante en la eficiencia del sistema cromatográfico, debido a que entre más baja sea la velocidad, mayor será el tiempo que tendrán los analitos para que se pueda realizar el equilibrio de reparto, por lo que el número de platos teóricos aumentará.

Por otro lado, fue posible reducir el tiempo de corrida de 10 a 4 minutos debido a que la columna utilizada, bajo las condiciones seleccionadas, retiene a la capsaicina

y dihidrocapsaicina a los 2.6 y 3.3 minutos (Figura 6), respectivamente, lo que conlleva a una mayor eficiencia del método ya que esta propuesta reduce el tiempo de análisis, además de generar un menor gasto de solventes y de generación de residuos. En los primeros ensayos se probaron tiempos de análisis cromatográfico de 10 minutos, sin embargo, observamos que después de la aparición de la última señal al minuto 3.3 no se observó ninguna respuesta. Además, al comparar los resultados de este estudio con otros como el de Sricharoen et al. (2017) en donde encontraron tiempos de elución mayores para estos analitos, es posible comprobar que el método seleccionado cuenta con tiempos de retención más cortos y que tiene las ventajas antes señaladas.

8.2 Obtención de extractos

Huang et al. (2009) reporta que la elección del método de extracción debe de ser cuidadosa, ya que es necesario evitar el uso de disolventes nocivos, altas temperaturas y reducir el material de desecho. Actualmente, el uso de solventes nocivos en la fabricación de alimentos y medicinas ha sido estrictamente controlado por agencias de salud, incluyendo la Food and Drug Administration (FDA) y la Agencia Europea de Alimentos (EMA). El método más utilizado para extraer capsaicina se basa en la extracción con hexano, sin embargo su desventaja es que es un solvente muy tóxico y produce un disolvente residual (Martins et al., 2017), por lo que no fue probado en este estudio y se optó por el análisis con otros disolventes.

En el presente proyecto se optimizaron las condiciones de obtención de extractos partiendo de lo reportado por Canto Flick et al. (2008), en el que los autores utilizaron acetonitrilo como solvente. Sin embargo, con la finalidad de economizar y de prevenir el desperdicio, decidimos probar una segunda metodología

(método B), en el que se empleó metanol como solvente de extracción. De manera general, las dos metodologías de obtención de extractos empleadas (A y B) mostraron recuperaciones de los compuestos muy similares (Tabla 4). Sin embargo, las recuperaciones y presiciones fueron mayores con la metodología B utilizando metanol como solvente. Otro aspecto importante para decidir qué condiciones de extracción eran más convenientes fue la necesidad de contar con un mismo extracto que pudiera ser utilizado para la cuantificación cromatográfica de los capsaicinoides, contenido de compuestos fenólicos totales y fuera útil además para medir las actividades biológicas en estudio; ya que uno de los objetivos de este trabajo es establecer correlaciones entre estas variables (Teixeira et al., 2015).

8.3 Validación del método cromatográfico

Para demostrar que el método cromatográfico es confiable, reproducible y exacto, se procedió a su validación siguiendo los criterios establecidos por las guías de la ICH, AOAC y Quattrocchi que son las directrices más importantes en el área analítica, con la finalidad de obtener resultados más confiables.

8.3.1 Linealidad y límites de detección y cuantificación

Para la determinación de la linealidad del método se realizó una curva de calibración con la que se obtuvo un coeficiente de correlación lineal ($R^2 = 0.99$) para ambos capsaicinoides el cual fue satisfactorio (Figura 7). Martins et al. (2017) mencionan que valores de coeficiente de correlación mayores 0.90 son considerados satisfactorios o aceptables, por lo que los resultados obtenidos cumplieron con este criterio. Además para corroborar que se mantuvo una constante

en la respuesta obtenida ante la concentración, se calculó el factor de respuesta (FR) como un parámetro más sensible frente a la linealidad. Según la ICH Harmonised (2005) (Oscar Quattrocchi 1992) cuando la desviación estándar relativa (%DER) de los factores de respuesta es menor al 10% se considera un parámetro aceptable. En la Tabla 5 se puede observar que los valores de DER cumplen con los parámetros establecidos.

Por otro lado, los límites de detección y cuantificación obtenidos por el método cromatográfico aplicado permiten detectar y cuantificar de manera apropiada los capsaicinoides presentes en nuestras muestras.

8.3.2 Precisión y exactitud

Los tiempos de retención obtenidos bajo las condiciones cromatográficas seleccionadas fueron satisfactorios. Por otro lado, la precisión intradía e intermedia evaluada a través de los tiempos de retención y de las concentraciones de cada uno de los capsaicinoides fue adecuada (%DER menor del 3%). La exactitud evaluada a través de los porcentajes de recuperación a tres niveles de concentración (50, 100 y 200 ppm) fue aceptable ya que en todos los casos se obtuvieron recuperaciones cercanas y mayores al 80%. Los resultados de precisión y de exactitud cumplieron con los criterios establecidos por la ICH Harmonised (2005) para la validación, por lo que se puede afirmar que el método permitió cuantificar correctamente ambos capsaicinoides.

8.3.3 Robustez

El análisis de la robustez de un método es realizado con la finalidad de verificar su confiabilidad frente a ligeros cambios en las condiciones cromatográficas establecidas. En este estudio se comprobó que es importante el control de la velocidad de flujo y de la temperatura de la columna. Como se muestra en la Tabla 8, ambas variables pueden alterar la cantidad de equilibrios que presenta el analito entre la fase estacionaria y la fase móvil, lo cual influye en la respuesta, así como en el tiempo de retención en la que aparece la señal (Roura et al., 2005).

8.4 Cuantificación de capsaicinoides

Para la cuantificación de los capsaicinoides se decidió emplear como detector DAD a una longitud de onda de 280 nm. Si bien en el laboratorio en que se trabajó se cuenta con el detector de fluorescencia, el cual ha sido reportado con otros autores (Collins, Wasmund, and Bosland 1995), en el presente estudio no fue necesario emplear este detector, ya que el objetivo del trabajo fue demostrar el alto contenido de estos compuestos en los extractos de dos variedades del chile habanero. El detector de fluorescencia permite mejorar la sensibilidad de manera importante cuando se desea alcanzar límites de detección y cuantificación en el orden de nanogramos o picogramos (González-Zamora et al., 2015), lo cual no es el caso. En este estudio se observaron altas concentraciones de capsaicinoides, en los extractos de Jaguar y Texcoco, por lo que fue necesario realizar diluciones 1:2 con metanol 80% de tal manera que permitiera realizar la cuantificación dentro del rango de linealidad de la curva de calibración previamente establecida. El detector de fluorescencia puede ser utilizado en el caso de la cuantificación de

capsaicinoides en frutos menos picantes como son los pimientos, así como lo recomienda Davis et al. (2007), en donde se requiere una mayor sensibilidad para ser detectados de manera precisa.

Con el método cromatográfico validado fue posible la cuantificación de la capsaicina y dihidrocapsaicina presente en los extractos de habanero previamente diluidos. Los resultados mostraron una diferencia significativa ($p = 0.000$) en el contenido de capsaicinoides totales entre las dos variedades; esto podría ser atribuido a que el grado de pungencia de los chiles varía significativamente dependiendo de la variedad (Sukrasno y Yeoman, 1993), del genotipo y de las diferentes características fisiológicas de los frutos. Sin embargo, los mecanismos por los que las cantidades de capsaicinoides están reguladas en diferentes chiles aún no se han dilucidado por completo (Kaiser et al., 2017).

Orelana-Escobedo et al. (2013) informaron que el chile habanero cultivado en Chihuahua mostró concentraciones de $9,097.35 \pm 183.33$ mg/kg chile seco de capsaicina y $4,023.63 \pm 142.55$ mg/kg de chile seco de dihidrocapsaicina. En otro estudio europeo realizado por Garcés-Claver et al. (2006) se analizaron chiles habaneros cultivados bajo sistemas hidropónicos con una solución de nutrientes continuamente aireada y con temperatura controlada de 25°C . De igual manera, los resultados de su análisis arrojaron concentraciones de capsaicinoides de $6,639 \pm 348$ mg/kg de chile seco de capsaicina y $3,727 \pm 179$ mg/kg de chile seco de dihidrocapsaicina; las cuales son mucho menores a las de Jaguar ($35,865.60 \pm 3886.93$ y $15,942.84 \pm 1658.34$ mg/kg de chile seco de Cap y Dih, respectivamente) y Texcoco ($43,042.11 \pm 9576.74$ y $12,710.99 \pm 1744.60$ mg/kg de chile seco de Cap y Dih, respectivamente) cultivadas en Nuevo León.

Las mayores concentraciones de capsaicina y dihidrocapsaicina en los chiles cultivados en Nuevo León podrían atribuirse al efecto de la humedad sobre el

contenido de capsaicinoides, ya que en esta región se cuenta con un tipo de clima seco, así como suelos áridos. Estrada et al. (1998) mencionan que al disminuir el volumen de riego en la producción de chile (*Capsicum annum L.*) se obtienen concentraciones mayores de estos alcaloides. Adicionalmente, Borges et al. (2010) afirman que además de la humedad, la nutrición mineral de los diferentes suelos es un factor influyente en el aumento de las concentraciones de capsaicinoides en frutos del género *Capsicum*.

No obstante, los resultados indican que existe la probabilidad de que el contenido de capsaicinoides se encuentre asociado no sólo con factores ambientales, sino también a los genotipos; ya que se aplicaron las mismas condiciones ambientales para el desarrollo de los cultivos de habanero de las dos variedades (Jaguar y Texcoco), las cuales presentaron diferencias significativas en el contenido de estos compuestos (Canto-Flick et al., 2008).

8.5 Determinación de contenido de compuestos fenólicos totales

Los compuestos fenólicos totales en los extractos de habanero se cuantificaron usando el reactivo Folin-Ciocalteu. Aunque este método puede proporcionar resultados sobreestimados debido a la posible interferencia de otros compuestos presentes, este es de los más ampliamente utilizados para determinar los compuestos fenólicos en los alimentos (Zimmer et al., 2012).

El contenido de compuestos fenólicos de los extractos de Jaguar y Texcoco se muestran en la Figura 11, en donde se observa que en este estudio se obtuvieron concentraciones similares, aunque cantidades mayores a las reportadas por Ornelas-Paz et al. (2010) quienes encontraron concentraciones de $1,186.35 \pm 85.3$

$\mu\text{gGAE/g}$ de chile fresco en sus muestras de habanero. Sin embargo, los valores obtenidos en este estudio no coinciden con los reportados por Cerón-carrillo et al. (2014) quienes obtuvieron concentraciones mayores de $211.55+8.04 \text{ mgGAE/100g}$.

Las diferencias en el contenido fenólico pueden atribuirse al método aplicado, al solvente de extracción o a las variedades botánicas y al origen geográfico de las plantas (Meckelmann et al., 2014), además el sistema de cultivo también puede influir en los compuestos bioactivos en *Capsicum* (Bogusz et al., 2018). Por otro lado, Velioglu et al. (1998) aseguran que la disminución o aumento de los compuestos fenólicos podría ser atribuido a la cantidad de semillas encontradas en cada chile, ya que han demostrado contener altas cantidades de estos compuestos, así como de otros antioxidantes.

8.6 Actividad inhibitoria de α -amilasa y α -glucosidasa

Diversas especies de chiles han sido estudiadas con respecto a sus promociones de la salud frente a la DM, a través de este mecanismo de inhibición enzimática (Watcharachaisoponsiri et al., 2016). Algunas de las propiedades que han sido demostradas son que el chile habanero en su estado maduro tiene una potente propiedad antioxidante con la prueba de blanqueo con β -caroteno e inhiben la actividad de la α -amilasa, mientras que los inmaduros muestran la mayor actividad como eliminador de radicales y una inhibición selectiva de la enzima α -glucosidasa (Menichini et al., 2009).

Otro estudio realizado en Estados Unidos por Ranilla et al. (2010), evaluó diferentes especies de chiles. En sus resultados, de manera general, encontraron una inhibición de α -glucosidasa moderada (de 31% a 55% a 2.5 mg de muestra seca), siendo los extractos de pimiento rojo (*Capsicum chinense*) y Rocoto

(*Capsicum pubescens*) (55%) los responsables de las mayores inhibiciones. Respecto a la capacidad de inhibición de la enzima α -amilasa, los chiles mexicanos llamados "vainas de chile japonés" y todos los chiles peruanos mostraron una actividad inhibidora moderada de α -amilasa (del 28% al 35% a 25 mg de muestra seca). Por el contrario, los otros pimientos mexicanos como el chile de árbol y el chile ancho presentaron la menor inhibición (11% y 5%, respectivamente). Sin embargo, se dispone de poca información relativa acerca de las propiedades antidiabéticas del chile habanero.

Por lo tanto, en el presente estudio se analizaron por primera vez la correlación entre las propiedades bioquímicas (cuantificación de capsaicinoides y compuestos fenólicos totales) con las enzimas clave en el control de la diabetes de dos especies de chile habanero cultivadas en Nuevo León. Como resultado, se encontró que los chiles de la variedad Jaguar y Texcoco cuentan con altos porcentajes de inhibición de α -amilasa y α -glucosidasa que oscilan entre 80% y 86%, respectivamente, siendo mayor la actividad sobre la α -glucosidasa. Este hallazgo concuerda con lo reportado en un estudio europeo realizado por Menichini et al. (2009) quienes encontraron una mayor actividad de inhibición de la α -glucosidasa frente a la α -amilasa cuando el chile habanero se encuentra en un estado maduro.

Los efectos inhibitorios de los polifenoles para la α -glucosidasa han despertado un gran interés entre los investigadores (Juanbo Xiao et al., 2013). El elevado contenido de los compuestos fenólicos, además de los capsaicinoides, presentes en Jaguar y Texcoco podría estar impulsando el potencial antidiabético de los chiles, debido a que existe la teoría de que, a mayor concentración de componentes bioactivos, mayor es la actividad biológica de los frutos. Un ejemplo es el del trabajo de Ranilla et al. (2010) quienes reportan que la actividad fenólica y antioxidante total de algunas plantas medicinales fue moderadamente proporcional a la actividad inhibidora de la α -glucosidasa.

8.7 Análisis de correlación

Diferentes estudios han correlacionado el contenido de compuestos bioactivos con actividad biológica de diferentes alimentos. En el presente estudio, se estudiaron diferentes correlaciones entre las concentraciones de capsaicina, dihidrocapsaicina, compuestos fenólicos totales y la actividad de inhibición de α -amilasa y α -glucosidasa en dos extractos de chile habanero.

Diversos autores expresan que no existe un consenso de la interpretación de los coeficientes de correlación, sin embargo, existen diferentes escalas de discusión, las cuales dependen principalmente del tipo de investigación en curso y del nivel de conocimiento en el tema de estudio.

De manera general, el contenido de capsaicina y dihidrocapsaicina de las variedades de chile habanero estudiadas se correlacionaron de manera directa (Figura 13), mostrando una proporción relativa promedio de aproximadamente 2:1 (Cap:Dih), lo que respalda investigaciones previas como la de Govindarajan y Orellana-Escobedo quienes encontraron que algunos chiles de la variedad *Capsicum annuum* L. var. *annuum* mostraron una proporción relativa promedio de 1:1, mientras que los chiles de la variedad *Capsicum chinense* Jacq., y *Capsicum annuum* L. var. *aviculare* mostraron una proporción de 2:1 (Govindarajan 1986; Orellana-Escobedo et al., 2013).

Por otro lado, es bien conocido que la composición fenólica está relacionada con la síntesis de capsaicinoides (Arora et al., 2011), se ha demostrado que el ácido 8-metilnonenoico podría tener un importante papel regulador en la síntesis de estos compuestos (Scoville 1912). Como era de esperarse, en este estudio se encontró esta misma relación en ambas variedades, siendo mayor en la variedad Texcoco.

Para la variedad Jaguar, únicamente el contenido de dihidrocapsaicina no mostró relación significativa con el contenido de compuestos fenólicos. Ranilla et al. (2010) explican que esto podría deberse a la presencia de otros compuestos bioactivos como pigmentos, carotenoides y tocoferoles también contenidos en los chiles, los cuales pueden jugar un papel en su funcionalidad, probablemente de manera sinérgica. Esto podría explicar los resultados de correlación obtenidos en este estudio ya que se empleó el extracto completo para la cuantificación de los compuestos bioactivos y la determinación de la actividad biológica conservando la actividad sinérgica entre los constituyentes (Loizzo et al., 2015).

Los resultados de correlación entre la actividad de α -amilasa y el contenido de capsaicinoides y compuestos fenólicos presentes en los extractos de ambas variedades mostraron correlaciones positivas. Por otro lado, la actividad de inhibición de α -glucosidasa mostró correlación con el contenido de capsaicinoides, pero no con el contenido de compuestos fenólicos en ninguna de las variedades. Esta diferencia puede deberse a que las variedades cuentan con fenotipos distintos. Estos hallazgos han sido previamente reportados por otros autores en distintas variedades de Chile (Sricharoen et al., 2017). Sin embargo, no han sido reportados respecto al Chile habanero cultivado en Nuevo León por lo que es un primer hallazgo.

Por último, de manera general, en las Figuras 14 y 15 se muestran los gráficos de correlación de Jaguar y Texcoco, en donde en la mayoría de los casos se observa una tendencia que indica que entre mayor es la concentración de los compuestos bioactivos, mayor es la actividad biológica. Esto confirma que el *Capsicum chinense Jacq* cultivado en Nuevo León cuenta con propiedades biológicas importantes. Por lo tanto, los resultados obtenidos pueden servir de base para estudios posteriores del potencial uso farmacéutico de esta especie vegetal.

9 CONCLUSIONES

1. El método establecido resultó ser confiable y reproducible ya que los parámetros de validación cumplieron con lo establecido en las guías oficiales.
2. Las condiciones ambientales y el genotipo parecen influir en el contenido de capsaicinoides y compuestos fenólicos presentes en los chiles habaneros (*Capsicum chinense Jacq*) de las variedades Jaguar y Texcoco. Ya que al ser cultivados en Nuevo León presentan mayor contenido de capsaicinoides y compuestos fenólicos que los reportados en cultivos de otras regiones del país, siendo mayor la diferencia en la variedad Texcoco.
3. Los extractos de *Capsicum chinense Jacq* de las variedades Jaguar y Texcoco mostraron alta actividad de inhibición de las enzimas α -amilasa y la α -glucosidasa, las cuales se correlacionaron con el contenido de capsaicinoides y compuestos fenólicos, siendo mayor en la variedad Texcoco.
4. Este estudio *in vitro* proporciona por primera vez información importante sobre el potencial biológico de *Capsicum chinense Jacq* cultivado en Nuevo León, para inhibir las enzimas clave en la prevención de enfermedades como la DM y sienta las bases para estudios futuros en animales de laboratorio.

10 REFERENCIAS

- Adisakwattana, Sirichai, Praew Chantarasinlapin, Haruthai Thammarat, and Sirintorn Yibchok-Anun. 2009. "A Series of Cinnamic Acid Derivatives and Their Inhibitory Activity on Intestinal Alpha-Glucosidase." *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry* 24(November 2008):1194–1200.
- Alcorta, F. H. Rodríguez; I. S. Muñoz; E. G. 2006. *El Tomate Rojo*. Editorial.
- Andrade-Cetto, Adolfo and Michael Heinrich. 2005. "Mexican Plants with Hypoglycaemic Effect Used in the Treatment of Diabetes." *Journal of Ethnopharmacology* 99(3):325–48.
- Arora, R., Ns Gill, G. Chauhan, and Ac Rana. 2011. "An Overview about Versatile Molecule Capsaicin." *International Journal of*
- Back, Sung Hoon and Randal J. Kaufman. 2012. "Endoplasmic Reticulum Stress and Type 2 Diabetes." *Annual Review of Biochemistry* 81(1):767–93. Retrieved (<http://www.annualreviews.org/doi/10.1146/annurev-biochem-072909-095555>).
- Bogan, Jonathan S. 2012. "Regulation of Glucose Transporter Translocation in Health and Diabetes." *Annual Review of Biochemistry* 81(1):507–32. Retrieved (<http://www.annualreviews.org/doi/10.1146/annurev-biochem-060109-094246>).
- Bogusz, Stanislaw et al. 2018. "Brazilian Capsicum Peppers: Capsaicinoid Content and Antioxidant Activity." *Journal of the Science of Food and Agriculture*.
- Borges Gómez, Lizette et al. 2010. "Capsaicinoides En Chile Habanero (Capsicum Chinense Jacq.) Bajo Diferentes Condiciones de Humedad y Nutrición." *TERRA Latinoamericana* 28:35–41.
- Bosland, P. W. 1992. "Chiles: A Diverse Crop." *Hortic Technol* 7–10.
- C.V., ACEA. Asesores en Construcción y Extensión Agrícola A. A. de. 2012. *Invernaderos Para El Mundo*.

- Canto-Flick, Adriana et al. 2008. "Capsaicinoids Content in Habanero Pepper (*Capsicum Chinense* Jacq.): Hottest Known Cultivars." *HortScience* 43(5):1344–49.
- Castro-Concha, Lizbeth A., Jemina Tuyub-Che, Angel Moo-Mukul, Felipe A. Vazquez-Flota, and Maria L. Miranda-Ham. 2014. "Antioxidant Capacity and Total Phenolic Content in Fruit Tissues from Accessions of *Capsicum Chinense* Jacq. (Habanero Pepper) at Different Stages of Ripening." *The Scientific World Journal* 2014.
- Castro-López, L.R., Ortega-Regules A.E., Lozada Ramiírez J. D. 2015. "Modificaciones Enzimáticas de Compuestos Fenólicos." *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos* 5(14):5–14.
- Centers for Disease Control and Prevention. 2013. *What Is Diabetes?* Atlanta.
- Cerón-carrillo, Teresa, Ricardo Munguía-pérez, Silvia García, and N. Angélica Santiesteban-lópez. 2014. "Actividad Antimicrobiana de Extractos de Diferentes Especies de Chile (*Capsicum*)." *Revista Iberoamericana de Ciencias* 1(2):213–21.
- Chávez-Mendoza, Celia, Esteban Sanchez, Ezequiel Muñoz-Marquez, Juan Pedro Sida-Arreola, and Maria Antonia Flores-Cordova. 2015. "Bioactive Compounds and Antioxidant Activity in Different Grafted Varieties of Bell Pepper." *Antioxidants (Basel, Switzerland)* 4(2):427–46. Retrieved (<http://www.mdpi.com/2076-3921/4/2/427/htm>).
- Collins, Margaret D., Loide Mayer Wasmund, and Paul W. Bosland. 1995. "Improved Method for Quantifying Capsaicinoids in *Capsicum* Using High-Performance Liquid Chromatography." *HortScience* 30(1):137–39.
- Comisión del Codex Alimentario. 2008. *Propuestas de Nuevos Trabajos Para Normas Del Codex Sobre El Chile Fresco y El Ajo*. México.
- Davis, Christopher B., Carolyn E. Markey, Marianna A. Busch, and Kenneth W. Busch. 2007. "Determination of Capsaicinoids in Habanero Peppers by

Chemometric Analysis of UV Spectral Data.” *Journal of Agricultural and Food Chemistry*.

Derek Rowntree, Clemencia Chiappe. 1984. *Introducción a La Estadística: Un Enfoque Matemático*. Bogotá: Norma, 1984.

El-Abhar, Hanan S. and Mona F. Schaalán. 2014. “Phytotherapy in Diabetes: Review on Potential Mechanistic Perspectives.” *World Journal of Diabetes* 5(2):176–97. Retrieved (<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3990312&tool=pmc-entrez&rendertype=abstract>).

ENSANUT MC. 2016. *Cifras de Sobrepeso y Obesidad En México*. Retrieved (<http://oment.ua.nl.mx/cifras-de-sobrepeso-y-obesidad-en-mexico-ensanut-mc-2016/>).

Estrada, B., F. Pomar, J. Díaz, F. Merino, and M. A. Bernal. 1998. “Effects of Mineral Fertilizer Supplementation on Fruit Development and Pungency in ‘Padron’ Peppers.” *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*.

Forner, D. 2016. “Capsaicina, El Picante de Los Picantes.” *5 Enero*. Retrieved (<http://didacforner.net/capsaicina-picante-los-picantes/>).

Fundación Mídete. 2016. *Asumiendo El Control de La Diabetes*. México.

Garcés-Claver, Ana, María S. Arnedo-Andrés, Javier Abadía, Ramiro Gil-Ortega, and Ana Álvarez-Fernández. 2006. “Determination of Capsaicin and Dihydrocapsaicin in Capsicum Fruits by Liquid Chromatography-Electrospray/Time-of-Flight Mass Spectrometry.” *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54(25):9303–11.

González-Zamora, Alberto et al. 2015. “Measurement of Capsaicinoids in Chiltepin Hot Pepper: A Comparison Study between Spectrophotometric Method and High Performance Liquid Chromatography Analysis.” *Journal of Chemistry* 2015.

Govindarajan, V. S. 1986. “Capsicum — Production, Technology, Chemistry, and

- Quality — Part II. Processed Products, Standards, World Production and Trade.” *C R C Critical Reviews in Food Science and Nutrition*.
- Heinrich, Michael; Barnes, J.; Gibbons, S. .. Williamson E. 2012. *Fundamental of Pharmacognosy and Phytotherapy*. Elsevier.
- Helrich, K. 1990. *Official Methods of Analysis*. 15th Ed. edited by A. of O. A. Chemist. Arlington, VA.
- Hernández-Ávila, Mauricio, Juan Pablo Gutiérrez, and Nancy Reynoso-Noverón. 2013. “Diabetes Mellitus En México. El Estado de La Epidemia.” *Salud Publica de Mexico* 55(1):129–36.
- Hernández, E. A.; Ocotero, V. M. 2015. “El Chile Como Alimento.” *Ciencia*.
- Huang, Wen, An Xue, Hai Niu, Zhen Jia, and Jiawen Wang. 2009. “Optimised Ultrasonic-Assisted Extraction of Flavonoids from Folium Eucommiae and Evaluation of Antioxidant Activity in Multi-Test Systems in Vitro.” *Food Chemistry*.
- ICH Harmonised. 2005. *Validarion of Analytical Procedures: Text and Methodology Q2 (R1)*.
- Jeanne Curry, Aluru M., Marcus Mendoza, Jacob Nevarez, Martin Melendrez, Mary A. O’Connell. 1999. “No Tran-Scripts for Possible Capsaicinoid Biosynthetic Genes Are Differentially Accumulated in Pungent and Non-Pungent Capsicum Spp.” *Plant Science* 148:47-57.
- Juanbo Xiao, Guoyin Kai, Koichiro Yamamoto, Xiaoqing Chen. 2013. “Advance in Dietary Polyphenols as α -Glucosidases Inhibitors: A Review on Structure-Activity Relationship Aspect.” *Food Science and Nutrition* 53:818-836.
- Kaiser, Mathias, Inocencio Higuera, and Francisco M. Goycoolea. 2017. “Capsaicinoids: Occurrence, Chemistry, Biosynthesis, and Biological Effects.” in *Fruit and Vegetable Phytochemicals: Chemistry and Human Health: Second Edition*.

- Loizzo, Monica R., Alessandro Pugliese, Marco Bonesi, Francesco Menichini, and Rosa Tundis. 2015. "Evaluation of Chemical Profile and Antioxidant Activity of Twenty Cultivars from *Capsicum Annuum*, *Capsicum Baccatum*, *Capsicum Chacoense* and *Capsicum Chinense*: A Comparison between Fresh and Processed Peppers." *LWT - Food Science and Technology* 64(2):623–31.
- Long-Solís, Janeth. 1998. "Capsicum y Cultura: La Historia Del Chile." *Fondo de Cultura Económica*.
- Martins, Frederico S., Leonardo L. Borges, Claudia S. C. Ribeiro, Francisco J. B. Reifschneider, and Edemilson C. Conceição. 2017. "Novel Approaches to Extraction Methods in Recovery of Capsaicin from Habanero Pepper (CNPH 15.192)." *Pharmacognosy Magazine*.
- Meckelmann, Sven W. et al. 2014. "Capsaicinoids, Flavonoids, Tocopherols, Antioxidant Capacity and Color Attributes in 23 Native Peruvian Chili Peppers (*Capsicum* Spp.) Grown in Three Different Locations." *European Food Research and Technology*.
- Menichini, Federica et al. 2009. "The Influence of Fruit Ripening on the Phytochemical Content and Biological Activity of *Capsicum Chinense* Jacq. Cv Habanero." *Food Chemistry* 114(2):553–60.
- National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases. 2016. *What Is Diabetes?* Retrieved (<https://www.niddk.nih.gov/health-information/diabetes/overview/what-is-diabetes>).
- Oboh, Ganiyu, Adedayo O. Ademiluyi, and Yetunde M. Faloye. 2011. "Effect of Combination on the Antioxidant and Inhibitory Properties of Tropical Pepper Varieties Against Alpha-Amylase and Alpha-Glucosidase Activities In Vitro." *Journal of Medicinal Food* 14(10):1152–58.
- Orellana-Escobedo, L., L. E. Garcia-Amezquita, G. I. Olivas, J. J. Ornelas-Paz, and D. R. Sepulveda. 2013. "Capsaicinoids Content and Proximate Composition of Mexican Chili Peppers (*Capsicum* Spp.) Cultivated in the State of Chihuahua." *CyTA - Journal of Food* 11(2):179–84. Retrieved

(<http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/19476337.2012.716082>).

Ornelas-Paz, José de Jesús et al. 2010. "Effect of Cooking on the Capsaicinoids and Phenolics Contents of Mexican Peppers." *Food Chemistry* 119(4):1619–25.

Oscar Quattrocchi. 1992. *Introducción a La HPLC*. Argentina.

Al Othman, Zeid Abdullah, Yacine Badjah Hadj Ahmed, Mohamed Abdelaty Habila, and Ayman Abdel Ghafar. 2011. "Determination of Capsaicin and Dihydrocapsaicin in Capsicum Fruit Samples Using High Performance Liquid Chromatography." *Molecules* 16(10):8919–29.

Ranilla, Lena Galvez, Young I. Kwon, Emmanouil Apostolidis, and Kalidas Shetty. 2010. "Phenolic Compounds, Antioxidant Activity and in Vitro Inhibitory Potential against Key Enzymes Relevant for Hyperglycemia and Hypertension of Commonly Used Medicinal Plants, Herbs and Spices in Latin America." *Bioresource Technology*.

Robledo P. F.; V. L. Martín. 1988. *Aplicación de Los Plásticos En La Agricultura*. 2da Edición. Madrid.

Rodarte, Magdalena Villa Castorena; Ernesto Alonso Catalán Valencia; Marco Antonio Inzunza Ibarra; Abel Román López; Hilario Macías Rodríguez; Daniel Cabrera. 2014. *Producción Hidropónica de Chile Habanero En Invernadero*. Primera Ed. Coyoacán, D.F.

Rorsman, Patrik and Matthias Braun. 2013. "Regulation of Insulin Secretion in Human Pancreatic Islets." *Annual Review of Physiology* 75(1):155–79. Retrieved (<http://www.annualreviews.org/doi/10.1146/annurev-physiol-030212-183754>).

Roura, Jiovanna Contreras, Yunaysi Jardines Leyva, Magdalena Fonseca, and Belinda Águila. 2005. "Validación de Un Método Analítico Por HPLC Para La Cuantificación Del Principio Activo En Tabletas de Controfilina-200." *Revista CENIC. Ciencias Químicas*.

Roy, A. 2016. "Bhut Jolokia (Capsicum Chinense JAQC): A Review." *International*

Journal of Pharmaceutical Sciences and Research 7(3):882–89. Retrieved ([http://www.embase.com/search/results?subaction=viewrecord&from=export&id=L608858071%5Cnhttp://dx.doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.7\(3\).882-89%5Cnhttp://sfx.library.uu.nl/utrecht?sid=EMBASE&issn=09758232&id=doi:10.13040%2FIJPSR.0975-8232.7%283%29.882-89&at](http://www.embase.com/search/results?subaction=viewrecord&from=export&id=L608858071%5Cnhttp://dx.doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.7(3).882-89%5Cnhttp://sfx.library.uu.nl/utrecht?sid=EMBASE&issn=09758232&id=doi:10.13040%2FIJPSR.0975-8232.7%283%29.882-89&at)).

Rubi, Maira, Segura Campos, Karen Ramírez Gómez, Yolanda Moguel Ordoñez, and David Betancur Ancona. 2013. “Polyphenols, Ascorbic Acid and Carotenoids Contents and Antioxidant Properties of Habanero Pepper (*Capsicum Chinense*) Fruit.” *Food and Nutrition Sciences* 4(August):47–54. Retrieved (<http://dx.doi.org/10.4236/fns.2013.48A006%5Cnhttp://www.scirp.org/journal/fns>).

Ruiz, Nancy; Medina, Fatima; Martínez, Manuel. 2011. *El Chile Habanero: Su Origen y Usos*.

SAGARPA. 2015. *Márgenes de Comercialización*. México.

Scoville, W. L. 1912. “Note Capsicum.” *J. Am. Pharm. Assoc.* 453.

Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). 2010. *Un Panorama Del Cultivo Del Chile*.

Singleton, Vernon L., Rudolf Orthofer, and Rosa M. Lamuela-Raventós. 1998. “Analysis of Total Phenols and Other Oxidation Substrates and Antioxidants by Means of Folin-Ciocalteu Reagent.” *Methods in Enzymology* 299:152–78.

Soria, F. M.; Trejo, A.; Tun, J.; Saldívar, R. 2002. *Paquete Tecnológico Para La Producción de Chile Habanero (Capsicum Chinense Jacq.)*.

Sricharoen, Phitchan et al. 2017. “Phytochemicals in Capsicum Oleoresin from Different Varieties of Hot Chilli Peppers with Their Antidiabetic and Antioxidant Activities Due to Some Phenolic Compounds.” *Ultrasonics Sonochemistry*.

Subramanian, Rammohan, M. Zaini Asmawi, and Amirin Sadikun. 2008. “In Vitro Alpha-Glucosidase and Alpha-Amylase Enzyme Inhibitory Effects of

- Andrographis Paniculata Extract and Andrographolide.” *Acta Biochimica Polonica* 55(2):391–98.
- Sukrasno, N. and M. M. Yeoman. 1993. “Phenylpropanoid Metabolism during Growth and Development of Capsicum Frutescens Fruits.” *Phytochemistry*.
- Sun, Shengyi, Yewei Ji, Sander Kersten, and Ling Qi. 2012. “Mechanisms of Inflammatory Responses in Obese Adipose Tissue.” *Annual Review of Nutrition* 32(1):261–86. Retrieved (<http://www.annualreviews.org/doi/10.1146/annurev-nutr-071811-150623>).
- Susalit, Endang et al. 2011. “Olive (*Olea Europaea*) Leaf Extract Effective in Patients with Stage-1 Hypertension: Comparison with Captopril.” *Phytomedicine* 18(4):251–58.
- Teixeira, Gisele et al. 2015. “A Comparative Study of the Capsaicinoid and Phenolic Contents and in Vitro Antioxidant Activities of the Peppers of the Genus *Capsicum*: An Application of Chemometrics.” *J Food Sci Technol*.
- Valle, P. C. 2008. “Metabolitos Secundarios En Las Plantas, Tesina de Curso de Naturopatía. Psicostasia.” Retrieved (www.psicostasia.com/revista.html).
- Velioglu, Y. S., G. Mazza, L. Gao, and B. D. Oomah. 1998. “Antioxidant Activity and Total Phenolics in Selected Fruits, Vegetables, and Grain Products.” *Journal of Agricultural and Food Chemistry*.
- Watcharachaisoponsiri, T., P. Sornchan, S. Charoenkiatkul, and U. Suttisansanee. 2016. “The α -Glucosidase and α -Amylase Inhibitory Activity from Different Chili Pepper Extracts.” *International Food Research Journal* 23(4):1439–45.
- Zimmer, Aline Rigon et al. 2012. “Antioxidant and Anti-Inflammatory Properties of *Capsicum Baccatum*: From Traditional Use to Scientific Approach.” *Journal of Ethnopharmacology* 139(1):228–33.

RESUMEN CURRICULAR

Paola Elizabeth Rodríguez de León

Candidata para el Grado de
Maestría en Ciencias en Nutrición

Tesis: DETERMINACIÓN DE CAPSAICINOIDES Y COMPUESTOS FENÓLICOS Y SU CORRELACIÓN CON LA CAPACIDAD DE INHIBICIÓN DE α -AMILASA Y α -GLUCOSIDASA EN DOS VARIETADES DE *Capsicum chinense* Jacq CULTIVADAS EN INVERNADERO EN EL ESTADO DE NUEVO LEÓN

Campo de estudio: Ciencias de la Salud

Datos personales: Nacida en Monterrey, Nuevo León el 13 de abril de 1993, hija de José Horacio Rodríguez García y Fabiola de León Chapa.

Educación: Egresada de la Universidad Autónoma de Nuevo León, grado obtenido Ingeniero en Industrias Alimentarias en 2014.

Dedicada con todo mi amor a mis papás y mi hermana:

Horacio, Fabiola y Andrea.