

Actividad antimicrobiana de extractos de diferentes especies de chile (*capsicum*)

Teresa Cerón-Carrillo¹, Ricardo Munguía-Pérez², Silvia García², N. Angélica Santiesteban-López¹

Facultad de Administración¹, Centro de Investigaciones en Ciencias Microbiológicas²

Benemérita Universidad Autónoma de Puebla

Puebla, Puebla; México

[tgceronc_10, asantiesteban2]@hotmail.com, [silgarci15, lewimx]@yahoo.com.mx

Abstract— Total phenolic and capsaicinoid content of Poblano, Habanero and Serrano peppers (*Capsicum annuum* var *annuum*, *Capsicum chinense* and *Capsicum annuum* L. *Acuminatum*, respectively) at three stages of maturity were determined as well as its relationship with their antimicrobial activity against *Escherichia coli*, *Lactobacillus casei* and *Penicillium spp.* Capsaicinoid content and phenolic content were determined by UV-Vis spectrophotometry using gallic acid and vanillin as standards respectively. Habanero pepper extract had the highest concentration of total capsaicinoids and phenolics. Poblano and Habanero pepper extracts presented an inverse relationship between capsaicinoids and total phenolic compounds. Also a direct relationship between fruit ripening and its antimicrobial effect was observed.

Keyword— *Capsicum annuum*, *Capsicum chinense*, total phenolics, capsaicinoids, antibacterial activity.

Resumen— Se determinó el contenido de fenólicos totales y compuestos capsaicinoides de los extractos de tres especies de chile: Poblano, Habanero y Serrano (*Capsicum annuum* var *annuum*, *Capsicum chinense* y *Capsicum annuum* L. *Acuminatum*, respectivamente) en tres estados de maduración y su relación con la actividad antimicrobiana en *Escherichia coli*, *Lactobacillus casei* y *Penicillium spp.* El contenido de compuestos fenólicos y capsaicinoides fue determinado por medio de espectrofotometría UV-Vis usando ácido gálico y vainillina como estándares respectivamente. El extracto de chile Habanero presentó la mayor concentración de capsaicinoides y compuestos fenólicos totales. En los extractos de chiles Poblano y Habanero se observó una relación inversa entre el contenido de capsaicinoides y los compuestos fenólicos totales. Se observó una relación directa entre el estado de madurez de los frutos estudiados y su efecto antimicrobiano

Palabras claves— *Capsicum annuum*, *Capsicum chinense*, fenólicos totales; capsaicinoides; actividad antibacterial.

I. INTRODUCCIÓN

La necesidad de los consumidores por alimentos con menor cantidad de aditivos sintéticos ha incrementado la demanda de productos naturales, tales como aquellos que aumentan la vida de anaquel inhibiendo el crecimiento de bacterias, mohos o levaduras. Durante años, se han realizado estudios sobre procesos y aditivos que pueden conservar la calidad de los alimentos por más tiempo. De la misma manera, se han descubierto propiedades en especies de origen vegetal que contrarrestan la descomposición debida a la actividad microbiana. Estas especies contienen compuestos fenólicos que poseen una amplia actividad antibacteriana, antiviral o antifúngica [1, 2, 3] pero sobretodo su importancia radica en que las bacterias no generan resistencia contra ellos [4, 5, 6]

En otros estudios se ha demostrado que los compuestos fenólicos provenientes de diferentes plantas tienen impacto sobre la resistencia de las membranas microbianas interfiriendo en el metabolismo microbiano, entre otros posibles modos de acción, que retardan o inhiben el crecimiento de los microorganismos [7,8]. Una de estas especies de plantas es el chile (*Capsicum*), la cual se ha utilizado mucho tiempo como hortaliza y como condimento en diversos platillos [9]. Sus extractos han despertado el interés en la industria de los alimentos por sus propiedades antioxidantes y antibacterianas [10]. Estos extractos presentan una gran cantidad de componentes activos, entre los que se encuentran los capsaicinoides, los cuales son un gran grupo de sustancias responsables del sabor característico de los chiles y de la sensación de pungencia al consumirlos [11]. La capsaicina y la dihidrocapsaicina son las que se encuentran en mayor proporción, además de ser las más pungentes del grupo de capsaicinoides presentes en chile [12, 13]

La capsaicina es una amida y un subproducto de la vainillilamida, que no presenta sabor ni olor y promueve la liberación de los neurotransmisores que estimulan los receptores en la boca y lengua [14, 15]. Estrada, Díaz, Pomar y Merino [16], probaron que la cantidad de compuestos fenólicos y capsaicinoides cambian durante la maduración de las especies de *Capsicum*; y que a pesar del incremento de los capsaicinoides en frutos maduros, el contenido de fenólicos totales alcanza su máximo en las etapas tempranas de desarrollo.

En un estudio realizado por Soetarno, Sukrasno, Yulinah y Sulvia [17], se observó un mínimo deterioro en alimentos que contienen una gran cantidad de chile almacenados por largos periodos de tiempo. También se ha demostrado que los extractos de chile inhiben el crecimiento de diferentes microorganismos [18]. Así mismo, en el estudio realizado por Soetarno, Sukrasno, Yulinah y Sylvia [17], se observó que los frutos de *Capsicum annuum* pueden inhibir el crecimiento de bacterias sin importar el nivel de pungencia. También se ha comprobado que los capsaicinoides no son los únicos compuestos responsables de la actividad antimicrobiana de los extractos de *Capsicum* [19].

Debido a que hay pocos trabajos de investigación que relacionen el nivel de componentes activos en diferentes estados de madurez de los frutos del chile con su capacidad antimicrobiana, el objetivo de este trabajo fue determinar la cantidad de capsaicinoides y fenólicos totales provenientes de tres especies de chile: Poblano (*Capsicum annuum* var. *annuum*), Serrano (*Capsicum annuum* L. *acuminatum*) y Habanero (*Capsicum chinense*) en tres estados de maduración y determinar la actividad antimicrobiana de los extractos en el crecimiento de *Escherichia coli*, *Lactobacillus casei* y *Penicillium spp.*

II. MATERIALES Y MÉTODOS

La materia prima utilizada en este trabajo de investigación se utilizó deshidratada para que así se conservaran en mayor porcentaje sus compuestos bioactivos.

A. Materiales

El estudio fue realizado con tres especies de chile; Poblano, Serrano y Habanero (*Capsicum annuum* var. *annuum*, *Capsicum annuum* L. *acuminatum* y *Capsicum chinense*, respectivamente) obtenidos de un mercado local de la ciudad de Puebla.

Para obtener los chiles en diferentes estados de maduración, los frutos de *Capsicum* fueron lavados y almacenados en bolsa de polietileno a temperatura ambiente hasta alcanzar un cambio de coloración intermedio y un cambio total de color inicial (verde a rojo para chile Serrano y Poblano, verde a naranja para chile Habanero). En el presente trabajo se utilizaron las tres especies en tres estados de maduración; chile Poblano y chile Serrano verde claro (estado de maduración 1), chile Poblano y Serrano verde fuerte (estado de maduración 2) y chile Poblano y Serrano rojo (estado de maduración 3), chile Habanero amarillo (estado de maduración 1), chile Habanero naranja (estado de maduración 2) y chile Habanero naranja (estado de maduración 3).

A los chiles de cada especie y estado de madurez se les eliminaron los tallos y fueron cortados en cubos de 1 cm aproximadamente y se sometieron a un proceso de secado en un deshidratador de alimentos (Excalibur®, 4900-220/240V, EUA) a 56°C con un flujo de aire de 2 m s⁻¹ hasta alcanzar peso constante (aproximadamente 48 h).

B. Preparación del extracto

Para la extracción de capsaicinoides y fenólicos totales se empleó una adaptación del método usado por Dorantes *et al.* (2000) utilizando metanol en lugar de isopropanol. Se pesaron aproximadamente 3 g de chiles secos y se mantuvieron en reflujo durante 3h con 70 mL de metanol (Omnichem®). El extracto fue filtrado a través de papel filtro y se añadió 15% (p/p) de carbón activado al filtrado. El

extracto fue después filtrado nuevamente y se evaporó el metanol a 64°C. Finalmente el extracto libre de disolvente fue almacenado a -4°C hasta su uso.

C. Determinación de capsaicinoides

Se empleó el método usado por Xu, Zhao y Yan [20] para la cuantificación de capsaicina por análisis espectrofotométrico. 100 µL del extracto se disolvieron en 1 mL de agua. Se añadieron 2 mL de una solución 0.5M de HCl a la muestra junto con 1 mL de solución 0.5M de NaNO₂ y 0.025M de NaMoO₄ y se agitó. La solución se dejó reposar durante 15 min, y después se añadieron 2 mL de una solución 0.1M de NaOH. Después de 30 min se midió la absorbancia 420 nm con un espectrofotómetro UV-Vis (Unico, 2800H, EUA). La curva estándar se realizó con 0, 0.2, 0.4, 0.5, 1.0, 2.0, 3.0 y 4.0 mL de una solución de vainillina en acetato de etilo, siendo equivalente a 0, 0.010, 0.020, 0.025, 0.050, 0.100, 0.150, 0.200 mg de capsaicinoides, respectivamente. Los estándares fueron tratados de la misma manera que las muestras.

D. Determinación del contenido de fenólicos totales

Este método fue utilizado previamente por Ornelas-Paz, Martínez-Burrola, Ruíz-Cruz, Santana-Rodríguez e Ibarra-Junquera, *et al.* [21]. En este método se agregaron 200 µL de reactivo de Folin-Ciocalteu al 50% y 2 mL de agua destilada a 100 µL del extracto. Después de incubar la solución anterior durante 10 min en la oscuridad a temperatura ambiente, la solución se mezcló con 1 mL de una solución al 20% de Na₂CO₃ y se incubó nuevamente a temperatura ambiente durante 60 min. Finalmente se midió la absorbancia de la solución a 750 nm con un espectrofotómetro UV-Vis. La curva estándar se realizó utilizando ácido gálico en concentraciones conocidas y tratado de la misma manera que las muestras. El contenido de compuestos fenólicos se expresó en equivalentes de ácido gálico (mg ácido gálico L⁻¹ extracto).

E. Material biológico y condiciones de crecimiento

Dos cepas de bacterias, *Escherichia coli* (ATCC 32218) y *Lactobacillus casei* (NRRL B 1445), y una cepa de moho, *Penicillium spp.* Se obtuvieron del Laboratorio de Microbiología de Alimentos de la Universidad de las Américas Puebla.

E. coli fue inoculada en caldo nutritivo (BD Bioxon), *Penicillium* fue inoculado en caldo Maltosa Sabouraud (BD Bioxon) y *L. casei* fue inoculado en caldo MRS (BD Bioxon). La incubación se llevó a cabo durante 24 h a 37°C para las bacterias y a 27°C durante 5 días para el moho.

F. Evaluación del efecto inhibitorio

El método Kirby-Bauer fue utilizado para evaluar el efecto inhibitorio de los extractos. Fue utilizado anteriormente por Coliveti, Belloso y Hurtado [15]. Se impregnaron discos de papel filtro con cada uno de los extractos y se colocaron en cajas Petri previamente inoculados con 50 µL de caldo con el microorganismo. Se utilizó agar MRS (BD Bioxon), agar nutritivo (BD Bioxon) y agar Dextrosa Sabouraud (BD Bioxon) para *L. casei*, *E. coli* y *Penicillium spp.*, respectivamente. Las cajas fueron incubadas durante 24 h a 34 °C, para *E. coli* y *L. casei* y durante 72 h a 27°C para *Penicillium*. Los halos de inhibición se midieron con una regla Vernier.

G. Análisis estadístico

Los datos obtenidos para los compuestos fenólicos y capsaicinoides fueron analizados con el software Minitab v.15 (Minitab Inc, EUA) mediante ANOVA con un nivel de confianza de 95%. El efecto inhibitorio fue también analizado por medio de ANOVA de dos vías y mediante el comparativo de medias de Tukey con un nivel de confianza de 95%.

III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A continuación se mostrarán los resultados obtenidos de la cuantificación de fenólicos totales, capsaicinoides y halos de inhibición para tres diferentes microorganismos de los extractos de las especies de chiles utilizados.

A. Contenido de capsaicinoides

Se utilizó la metodología utilizada por Xu, Zhao y San [20] el cual usa vainillina como derivado de la capsaicina [22]. La curva estándar fue de tipo lineal, por lo tanto para calcular la concentración de capsaicinoides en cada muestra de extracto de chile, se empleó la siguiente ecuación:

$$\text{Absorbancia} = 25.789(\text{mg capsaicinoides}) - 0.063 \quad (1)$$

Los resultados de la concentración de capsaicinoides para las tres especies de chile en los tres diferentes estados de maduración se muestran en el Tabla I.

Estado de Maduración

Tabla I. Contenido de capsaicinoides (mg capsaicinoides 100 g⁻¹) en tres estados de maduración.

Estado de maduración	Chile		
	Poblano	Serrano	Habanero
1	0.949 + 0.01 ax	0.866 + 0.01bx	1.63 + 0.01 cx
2	1.190 + 0.01 ax	1.26 + 0.01 ay	1.33 + 0.00 ay
3	2.01 + 0.01 ay	3.17 + 0.01 bz	4.65 + 0.01 cz

Medias con distinta letra en una fila son estadísticamente diferente (P<0.05).

Medias con distinta letra en una columna son estadísticamente diferentes (P<0.05)

En las especies de chile estudiadas, se observó un incremento en la concentración de capsaicinoides al avanzar su maduración lo que se debe al cambio en el metabolismo del fruto y muy probablemente al decremento en peroxidasas lo que resulta en el incremento de enzimas relacionadas con el metabolismo de la capsaicina [16, 23]. Sin embargo, y en comparación con las otras dos especies de chile estudiadas, en chile Poblano, el incremento es el más bajo (0.949 a 2.006 mg capsaicinoides 100 g⁻¹). Lo anterior es debido a que las especies menos pungentes no poseen ciertas “vesículas” en el tejido placentario las que también se encuentran relacionadas con la producción de capsaicina [24, 25]. En algunos reportes, la concentración de capsaicinoides se encuentra relacionada con la pungencia del chile [22]. Sin embargo, en otros estudios, se observó que al madurar el fruto, el contenido de capsaicinoides decrece [26, 27].

El contenido de capsaicinoides en el chile Habanero fue mayor en comparación con las otras especies de chile estudiadas, debido a que generalmente el grado de pungencia se encuentra relacionado con el contenido de capsaicina [22]. Esto, a su vez, coincide con el trabajo realizado por Kurian y Starks [28], quienes observaron que el contenido de capsaicina y D-hidrocapsaicina fue mayor en el chile Habanero que en las otras especies estudiadas. Así mismo, en otro estudio, se probó que el contenido de capsaicinoides y los fenólicos totales fueron mayores en chile Habanero que en chile Jalapeño [29]. Además se ha observado que en el chile Habanero, estos compuestos aumentan considerablemente al madurar el fruto, lo que está en concordancia con las investigaciones realizadas por Menichini, Tundis, Boneessi, Loizzo, Conforti, et al. [30] y Cisneros-Pineda, Torres-Tapia, Gutierrez-Pacheco, Contreras-Martín, González-Estrada et al. [31] quienes al estudiar el contenido fitoquímico y biológico de algunas especies de chile en diferentes etapas de maduración observaron un incremento en el contenido de capsaicinoides al aumentar la maduración de los frutos.

B. Contenido de fenólicos totales

El contenido de fenólicos totales se cuantificó mediante el método de Folin-Ciocalteu utilizando ácido gálico como estándar calculándose mediante la siguiente ecuación:

$$\text{Absorbancia} = 0.1143 (\text{mg ácido gálico mL}^{-1}) - 0.0977 \quad (2)$$

Esta determinación se realizó debido a que se ha probado que el chile contiene sustancias que contribuyen a reducir el riesgo de enfermedades degenerativas, como lo son los compuestos fenólicos, los cuales a su vez tienen propiedades antioxidantes y antimicrobianas [32]. Los resultados mostraron que el chile Habanero posee el mayor contenido de compuestos fenólicos ($P < 0.05$) en los tres estados de maduración (Tabla 2). Los resultados concuerdan con lo observado por Antonius, Kochhar, Jarret y Snyder [33] quienes compararon el contenido de fenólicos en cuatro especies de *Capsicum* y observaron que *C. chinense* presentó la mayor concentración de compuestos fenólicos.

Tabla II. Contenido de compuestos fenólicos totales (mg ácido gálico 100 g-1) en tres estados de maduración.

Estado de maduración	Chile		
	Poblano	Serrano	Habanero
1	111.60 + 10.02 ax	166.05 + 8.05 bx	294.31 + 9.03 cx
2	108.38 + 5.06 ay	197.15 + 7.04 bx	276.86 + 7.05 cx
3	108.97 + 8.04 az	242.63 + 10.04 bx	211.55 + 8.04 cy

Medias con distinta letra en una fila son estadísticamente diferente ($P < 0.05$).

Medias con distinta letra en una columna son estadísticamente diferentes ($P < 0.05$).

En el chile Serrano el contenido de estos compuestos fenólicos aumentó al avanzar la maduración, debido seguramente a que en especies maduras se encuentra un mayor contenido de compuestos como los glucopiranosidos [34]. Estos resultados son similares a los reportados por Wangcharoen y Morasuk [35] en el cual se determinó el contenido de compuestos fenólicos en dos diferentes etapas de maduración y observaron un incremento en estos compuestos, siendo los chiles maduros los que presentaron la mayor cantidad.

En los chiles Poblano y Habanero, el contenido de fenólicos descendió durante la maduración debido a que, al menos para algunas especies de *Capsicum*, el contenido de compuestos como derivados hidroxycinámicos, glucósidos de quercitina y luteolina se encuentran en mayor cantidad en frutas inmaduras [36]. Lo mismo ha sido reportado por Menichini, Tundis, Boneesi, Loizzo, Conforti, et al. [30] quienes encontraron que los compuestos fenólicos disminuyen al avanzar la maduración de *C. chinense*. La disminución o aumento de los compuestos fenólicos pudiera ser debido también a la cantidad de semillas encontradas en cada especie, ya que han probado ser ricas en los compuestos anteriormente mencionados así como en compuestos antioxidantes [37]. Estos compuestos también contribuyen al soporte celular, es decir, si hubiera una infección en la fruta, los compuestos fenólicos incrementarían [34].

C. Evaluación del efecto antimicrobiano

En la Tabla III se muestran los resultados del efecto inhibitorio de los extractos de chile en *E. coli*, *Penicillium spp* y *L. casei*. Al incrementar el diámetro del halo, el efecto inhibitorio es mayor. El extracto de chile Habanero, presentó el mayor efecto inhibitorio ($P < 0.05$) para los microorganismos estudiados debido seguramente a componentes específicos en esta especie de chile como es el caso de un péptido presente en las semillas (G10P1.7.57) que presenta efecto antimicrobiano [38]. Se ha probado que los extractos etanólicos de *C. chinense* verde tienen efecto inhibitorio debido a compuestos activos solubles en etanol [15].

Tabla III. Efecto inhibitorio (cm) contra *Escherichia coli*.

Estado de maduración	Chile		
	Serrano	Poblano	Habanero
1	0.40 + 0.12 ax	0.83 + 0.15 bx	0.83 + 0.15 bx
2	0.47 + 0.05 ax	0.75 + 0.11 by	1.06 + 0.07 cy
3	1.00 + 0.03 ay	1.62 + 0.03 bz	1.32 + 0.1 cz

Medias con distinta letra en una fila son estadísticamente diferente (P<0.05).

Medias con distinta letra en una columna son estadísticamente diferentes (P<0.05)

Los resultados del efecto inhibitorio para *Lactobacillus casei* de los extractos de chile se encuentran en la Tabla IV. El comportamiento de esta bacteria hacia los diferentes extractos es debido a que posee una mayor sensibilidad a los compuestos no polares por ser una bacteria Gram positiva [39]. Este efecto también podría deberse a que los extractos de chile poseen ciertos compuestos que inhiben el crecimiento tal es el caso del ácido ascórbico. También se comprobó que los compuestos fenólicos afectan de manera importante al mecanismo de síntesis de proteínas de las células [40, 41]. Como puede observarse la inhibición para este microorganismo no es tan marcada, a excepción del estado de maduración 3, cuyo halo de inhibición es mayor por lo tanto; su aplicación en un sistema real tendría que tener cierto cuidado, ya que esta es una bacteria probiótica, por lo tanto, no se busca su inhibición.

Tabla IV. Efecto inhibitorio (cm) contra *Lactobacillus casei*

Estado de maduración	Chile		
	Serrano	Poblano	Habanero
1	0.10 + 0.00 ax	0.41 + 0.02 bx	0.19 + 0.10 cx
2	0.19 + 0.02 ay	0.49 + 0.01 by	0.63 + 0.01 cy
3	0.20 + 0.00 ay	NI	1.27 + 0.07 cz

Medias con distinta letra en una fila son estadísticamente diferente (P<0.05).

Medias con distinta letra en una columna son estadísticamente diferentes (P<0.05)

Para el estado de maduración 3, en general, se observó que los extractos exhiben un aumento en el efecto antimicrobiano en comparación con otros estados de maduración (P<0.05), el gran efecto inhibitorio es debido a la mayor cantidad de compuestos bioactivos presentes en esta etapa. En el caso del chile Habanero, el efecto antimicrobiano presente en la tercera etapa de maduración puede deberse al incremento en el contenido de capsaicinoides; sin embargo, la actividad antimicrobiana para el extracto de chile Serrano puede deberse no sólo a la cantidad de capsaicinoides sino también a la mayor cantidad de compuestos fenólicos totales presentes ya que este tipo de compuestos penetran a través de la membrana causando lisis [40].

Se observó inhibición del crecimiento para *Penicillium* sólo de los extractos de chile Habanero (Tabla V) posiblemente debido a una saponina presente en éste y que es responsable de la actividad fungicida [42]. Lo mismo se observó en otro estudio donde los extractos de *Capsicum frutescens* inhibieron la esporulación de *Penicillium expansum* [43].

Tabla V. Efecto inhibitorio (cm) contra *Penicillium* spp

Estado de maduración	Chile		
	Serrano	Poblano	Habanero
1	NI	NI	NI
2	NI	0.05 + 0.00 ax	0.1 + 0.00 cy
3	0.02 + 0.00 ax	NI	0.2 + 0.01 by

Medias con distinta letra en una fila son estadísticamente diferente (P<0.05).

Medias con distinta letra en una columna son estadísticamente diferentes (P<0.05)

Se observó también que existe una relación entre el estado de madurez (combinación de capsaicinoides y compuestos fenólicos totales) de las especies estudiadas de Chile y la actividad antimicrobiana de estos.

IV. CONCLUSIONES

Tanto en el Chile Poblano como el Habanero, se encontró una relación inversa entre los compuestos capsaicinoides y los fenólicos totales. Sin embargo, para el Chile Serrano, el contenido de compuestos fenólicos totales aumenta de igual manera que los capsaicinoides con la madurez del fruto. Los extractos de Chile Habanero en el tercer estado de maduración presentaron el mayor efecto antimicrobiano para diversos tipos de microorganismos por lo cual se puede concluir que los compuestos capsaicinoides son muy importantes para la inhibición de diferentes microorganismos.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) de México por el financiamiento del proyecto "Extracción, Caracterización y Funcionalidad de Compuestos de Origen Vegetal Obtenidos de Materiales Mexicanos Empleados como Condimentos. Obtención de Agentes Antimicrobianos, Antioxidantes e Ingredientes Funcionales" del cual es parte este trabajo. Teresa Gladys Cerón agradece al CONACYT.

REFERENCIAS

- [1] B. Halliwell, "Ascorbic acid in the prevention and treatment of cancer" *Altern. Med. Rev.* vol. 3, pp. 174-186, 1996.
- [2] C. Sánchez-Moreno, J.A. Larrauri, and F. Saura-Calixto, "A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols" *J. Sci. Food Agric.* Vol. 76, pp. 270-276, 1998.
- [3] A.C. Argolo, A.E. Sant'Ana, M. Pletsch, and L.C. Coelho, "Antioxidants activity of leaf extracts from *Bauhinia monandra*" *Biores. Technol.* Vol. 95, pp. 229-233, 2004.
- [4] R.E.W. Hancock, and R.I. Lehrer, "Cationic peptide: A new source of antibiotics" *Trends Biotechnol.* Vol.16 pp. 82-88, 1998.
- [5] M. Zasloff, "Antimicrobial peptides of multicellular organisms" *Nature* vol. 415, pp. 389-395, 2002.
- [6] M.S. Castro, and W. Fontes, "Plant defense and antimicrobial peptides" *Protein Peptide Lett.* Vol. 12, pp. 11-16, 2005.
- [7] G.J.E. Nychas, "Natural antimicrobials from plant" En: Gould G.W (ed.) *New methods of food preservation.* Black Academic and Professional. Glasgow. Pp:59-89, 1995
- [8] J.J. Kabara, "Medium-chain fatty acids and esters" En: Davidson P.M, J.N Sofos, and A.L Branen (eds.) *Antimicrobials in food.* Marcel Dekker. New York. pp. 327-360, 2005
- [9] F.R. Teixeira, M.C.O.P. Lima, H.O. Almeida, R.S. Romeiro, and D.J.H. Silva, "Bioprospection of cationic and anionic antimicrobial peptides from bell pepper leaves for a inhibition of *Ralstoniasolanacearum* y *Clavibactermichiganensis* ssp. *Michiganensis* growth" *J Phytopathol.* Vol. 154 pp. 418-421, 2006.
- [10] A. Monroy-Vazquez, L.R.G. González, K.A.F. Salazar, y I.G. Martínez, "Antioxidantes I. Chile ancho (*Capsicum annum* L. *grossum* sendt) y romero (*Rosmarinus officinalis* L.) como fuentes naturales de antioxidantes" *Ciencia y Tecnología* vol. 6, pp. 112-116, 2007.

- [11] A.M. Krajewska, and J.J. Powers, "Sensory properties of naturally occurring capsaicinoids" *J. Food Sci.* vol. 53, pp. 902-905, 1988.
- [12] A. Topuz, and F. Ozdemir, "Assesment of carotenoids, capsaicinoids and ascorbic acid composition of some selected pepper cultivars (*Capsicum annuum* L.) grown in Turkey" *J. Food Comp. Anal.* Vol. 20, pp. 596-602, 2000.
- [13] N. Kozukue, J.S. Han, E. Kozukue, S.J. Lee, J.A. Kim, K.R. Lee, C.E. Levin, and M. Friedman, "Analysis of eight capsaicinoids in peppers and pepper containing foods by high-performance liquid chromatography and liquid chromatography-mass spectrum" *J. Agric. Food Chem.* Vol. 53, pp. 9172-9181, 2005
- [14] N. Ochoa-Alejo, y E. Lozaya-Gloria, "Cultivo de células, tejidos y órganos vegetales: el chile como sistema modelo" *Avance y Perspectiva* vol. 16, pp. 43-51, 1997.
- [15] J.M. Coliveti, G. Belloso, y E. Hurtado "Comparación del efecto inhibitor de extractos de ají dulce (*Capsicum chinense*) sobre el crecimiento de *Escherichiacoli* y *Bacillus*" *Saber* vol. 18, pp. 168-173, 2006.
- [16] B. Estrada, M.A. Bernal, J. Díaz, F. Pomar, and F. Merino, "Fruit development in *Capsicum annuum*: Changes in capsaicin, lignin, free phenolics and peroxidase patterns" *J. Agric. Food Chem.* Vol. 48, pp. 6234-6239, 2000.
- [17] S. Soetarno, S. Sukrasno, E. Yulinah, and T. Sylvia, "Antimicrobial activities of the ethanol extracts of *Capsicum* fruits with different level of pungency" *J. Matematika da Sains* Vol. 2, pp. 57-63, 1997.
- [18] L. Dorantes, R. Colmenero, H. Hernández, L. Mota, M.E. Jaramillo, E. Fernández, and C. Solano, "Inhibition of growth of some food borne pathogenic bacteria by *Capsicum annuum* extracts" *Int. J. Food Microbiol.* Vol. 57, pp. 125-128, 2000.
- [19] R.H. Cichewicz, and P.A. Thorpe, "The antimicrobial properties of chilli peppers (*Capsicum* species) and their uses in Mayan medicine" *J. Ethnopharmacol.* Vol. 52, pp.61-70, 1996.
- [20] X. Xu, Y. Zhao, and S. Yan, "Optimization of Soxhlet extraction of capsaicinoids using orthogonal experiment" Science paper online. Disponible en: http://www.paper.edu.cn/index.php/default/en_releasepaper/content/29790, 2009.
- [21] J.J. Ornelas-Paz, J M. Martínez-Burrola, S. Ruíz-Cruz, V. Santana-Rodríguez, V. Ibarra-Junquera, G.I. Olivas, and J.D. Pérez-Martínez, "Effect of cooking on the capsaicinoids and phenolics content of Mexican peppers" *Food Chem.* Vol.199, pp. 1619-1625, 2010.
- [22] H.L. Constant, and H.A. Cordell. "Nonivamide, a constituent of *Capsicum oleoresin*" *J. Nat. Prod.* Vol. 59, pp. 425-426, 1996.
- [23] H.K. Pandey, D.V. Pandey, T. Pant, and Z. Ahmed, "Variation of capsaicinoids in chilli (*Capsicum frutescens*) cultivars with the maturity of fruits in middle hill conditions of western Himalayas" *Int. J. Green Pharm.* Vol.4, pp. 178-182, 2010.
- [24] C.E. Broderick, and P.H. Cooke, "Fruit composition, tissues, and localization of antioxidant and capsaicinoids in *Capsicum* peppers by fluorescent microscopy" *Acta Horticulturae* vol. 841, pp. 85-90, 2007.
- [25] J.C. Stewart, M. Mazourek, G.M. Stellari, M. O'Connell, and M. Jahn, "Genetic control of pungency in *C. chinense* via the Pun 1 locus" *J. Exp. Bot.* vol. 5, pp. 979-991, 2007.
- [26] I. Perucka, and M. Materska, "Phenylalanine ammonia lyase and antioxidant activities of lipophilic fraction of fresh pepper fruits *Capsicum annuum* L" *IFSET* Vol. 2, pp. 189-192, 2001.

- [27] M. Materska, and I. Perucka, "Accumulation of phenylpropanoids in green and red pepper fruits of semi-hot cultivars *Capsicum annum L*" Acta Agrobotanica vol. 63, pp. 149-154, 2010.
- [28] A.L. Kurian, and A.N. Starks, "HPLC analysis of capsaicinoids extracted from whole orange Habanero chilli peppers" J. Food Sci. vol. 67, pp. 956-962, 2002.
- [29] S.H.G. Guzmán-Maldonado, I.T Pacheco, M.G. Chavira, M.A.M. Aviles, M.G.H. Hernández, D.H. López, "Análisis preliminar de compuestos fenólicos y capsaicinoides en variedades de chiles con diferente capacidad pungente" En: Primera Convención Mundial del Chile, Zacatecas, México. Pp: 115-122, 2004.
- [30] F. Menichini, R. Tundis, M. Boneesi, M.R. Loizzo, F. Conforti, G. Statti, B. Cindio, P.J. Houghton, and F. Menichini, "The influence of fruit ripening on the phytochemical content and biological activity of *Capsicum chinense Jacq. Cv. Habanero*" Food Chem. Vol. 114, pp. 553-560, 2009.
- [31] O. Cisneros-Pineda, L.W. Torres-Tapia, L.C. Gutiérrez-Pacheco, F. Contreras-Martín, T. González-Estrada, and S.R. Peraza-Sánchez, "Capsaicinoids quantification in chili peppers cultivated in the state of Yucatan, Mexico" Food Chem. Vol. 104, pp. 1755-1760, 2007.
- [32] N.S. Prasad, R. Raghavendra, B.R. Lokesh, and K.A. Naidu, "Spice phenolics inhibit human PMNL 5-lipoxygenase" Prostag. Leukot. Ess. vol. 70, pp. 521-528, 2004.
- [33] G.F. Antonious, T.S Kochhar, R.L Jarret, and J.C. Snyder, "Antioxidants in hot pepper: variation among accessions" J. Environ. Sci. Health vol. 41, pp. 1237-1243, 2006.
- [34] M. Materska and I. Perucka, "Antioxidant activity of the main phenolic compounds isolated from hot fruit (*Capsicum annum L.*)" J. Agric. Food Chem. Vol. 53, pp. 1750-1756, 2005.
- [35] W. Wangcharoen, and W. Morasuk, "Antioxidant capacity and phenolic content of some Thai culinary plants" MIJST. Vol. 1, pp. 100-106, 2007.
- [36] A. Marin, F. Ferres, F.A. Tomás-Barberán, and M.I. Gil, "Characterization and quantitation of antioxidant constituents of sweet pepper (*Capsicum annum L.*)" J. Agric. Food Chem. Vol. 52, pp. 3861-3869, 2004.
- [37] Y.S. Velioglu, G. Mazza, L. Gao, and B.D. Oomah, "Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables and grain products" J. Agric. Food Chem. Vol. 46, pp. 4113-4117, 1998.
- [38] L. Brito-Argaez, J. García e I. Islas-Flores, "Detección de actividad enzimática de fosfatasa y dnasa en la fracción G10P1.7.57 obtenida de chile Habanero (*Capsicum chinense Jacq.*)" En: Octava Convención Mundial del Chile, León Guanajuato, México. Pp: 19-20, 2011.
- [39] P.M. Davidson, "Parabens and phenolics compounds" In: Davidson P.M and A.L. Branen. (eds.). Antimicrobial in Foods. Marcel Dekker, Nueva York. pp: 263-306, 1993.
- [40] J. Brul, and P. Coote, "Preservative agents in foods: mode of action and microbial resistance mechanism" Int. J. Food Microbiol. Vol. 50, pp. 1-17, 1999.
- [41] Karou D., M.H. Dicko, J. Simporé, and A.S. Traroe. 2005. Antioxidant and antimicrobial activities of polyphenols from ethnomedicinal plants of Burkina Faso. African Journal of Biotechnology 4(8):823-825.
- [42] De Lucca A.J., J.M. Bland, C.B. Vigo, M. Cushion, C.P. Selitiennikoffs, J. Meter, and T.J. Walsh. 2002. CAY-1 a fungicidal saponin from *Capsicum sp.* Fruit. Medical Mycology 40: 131-137.
- [43] Bautista S., A. De Luca, and C.L. Wilson. 2004. Evaluation of the antifungal activity of natural compounds to reduce post harvest blue mould (*Penicillium expansum* Link) of apples (*Malus domestica* Borkh) during storage. Revista Mexicana de Fitopatología 22: 362-369.