



# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

DETERMINACIÓN ESPECTROFOTOMÉTRICA (UV)  
CUANTITATIVA DE CAPSAICINOIDES EN MATERIAS  
PRIMAS PUNGENTES UTILIZADAS EN CONFITERÍA

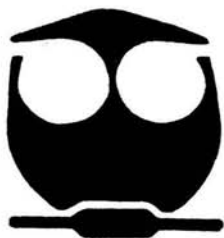
**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

**QUÍMICO DE ALIMENTOS**

**P R E S E N T A :**

**JUAN FRANCISCO VALDÉS VELÁZQUEZ**



MÉXICO, D.F.

EXAMENES PROFESIONALES  
FACULTAD DE QUÍMICA

2004



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

ESTA TESIS NO SALE  
DE LA BIBLIOTECA

**JURADO ASIGNADO:**

Autorizo a la Dirección General de Bibliotecas de la UNAM a difundir en formato electrónico e impreso el contenido de mi trabajo recepcional.

NOMBRE: Juan Francisco

Valdés Velázquez

FECHA: 4-agosto-04

FIRMA: [Firma]

**Presidente:** Ernestina Cervera Flores

**Vocal:** Francisca Iturbe Chiñas

**Secretario:** Adolfo García Osuna

**1er. Suplente:** Georgina Artemisa Duarte Lisci

**2do. Suplente:** Patricia Severiano Pérez

**Sitio donde se desarrollo el tema:** Anexos de los laboratorios 3A y 3B del Departamento de Química Analítica, Edificio A; Facultad de Química. UNAM

**Asesora:** Ernestina Cervera Flores

**Supervisora técnica:** Silvia Mendoza Arellano

**Sustentante:** Juan Francisco Valdés Velázquez

[Firma]  
Silvia Mendoza Arellano  
[Firma]



## **AGRADECIMIENTOS:**

### **A MIS PADRES**

Por todo el apoyo incondicional recibido

### **A MIS HERMANOS**

Por todo el tiempo que hemos compartido de nuestras vidas juntos

### **A MIS FAMILIARES**

Por apoyarme siempre que los he necesitado

### **A CLAUDIA LUIS AGUIRRE**

Gracias por apoyarme siempre y enseñarme a ver las cosas buenas de la vida

### **A MIS AMIGOS**

Por estar conmigo en las buenas y en las malas

### **A LA PROFESORA ERNESTINA CERVERA FLORES**

Gracias por compartirme sus conocimientos y su amistad

### **A LA PROFESORA SILVIA MENDOZA ARELLANO**

Gracias por compartirme sus conocimientos, sus consejos y su amistad

### **AL PROFESOR ADOLFO GARCÍA OSUNA**

Gracias por asesorarme y brindarme su amistad

### **A LA PROFESORA GEORGINA DUARTE ARTEMISA**

Gracias por haber realizado los cromatogramas y espectros de masas

### **A LA PROFESORA CARMEN SANSÓN ORTEGA**

Gracias por haberme prestado el equipo de UV/VIS

## ÍNDICE

|   | Pág.      |
|---|-----------|
| <b>I. INTRODUCCION.....</b>   | <b>1</b>  |
| <b>II. ANTECEDENTES.....</b>  | <b>1</b>  |
| Chile.....  | 2         |
| Capsaicinoides.....   | 7         |
| Evaluación sensorial de alimentos.....  | 9         |
| <b>II.1 ESPECTROSCOPIA ULTRAVIOLETA.....</b>  | <b>10</b> |
| Ley de Lambert y Beer.....  | 11        |
| Análisis de mezclas.....  | 13        |
| Manejo de muestra.....  | 15        |
| Instrumentación UV / VIS.....   | 16        |
| <b>III. OBJETIVOS.....</b>  | <b>18</b> |
| <b>IV. DESARROLLO EXPERIMENTAL.....</b>   | <b>19</b> |
| <b>IV.1. Equipos, reactivos y materias primas.....</b>                              | <b>19</b> |
| <b>IV.2 Estudio espectrofotométrico al UV de la capsaicina estándar.....</b>        | <b>21</b> |
| <b>IV.3 Extracción de capsaicinoides en chiles y materias primas pungentes.....</b> | <b>22</b> |

|  |           |
|--|-----------|
| <b>IV.4 Estudio espectrofotométrico al UV del ácido linoleico estándar.....</b>  | <b>25</b> |
| <b>IV.5 Determinación espectrofotométrica de capsaicinoides en extractos metanólicos de chiles troceados y materias primas pungentes.....</b>              | <b>25</b> |
| <b>IV.6 Determinación espectrofotométrica de capsaicinoides en extractos metanólicos de chiles secos troceados y productos comerciales.....</b>            | <b>26</b> |
| <b>IV.7 Análisis organoléptico de capsaicinoides.....</b>  | <b>26</b> |
| <b>V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....</b>  | <b>28</b> |
| <b>V.1 Curvas patrón de capsaicina estándar.....</b>   | <b>28</b> |
| <b>V.2 Humedad.....</b>  | <b>29</b> |
| <b>V.3 Elección del disolvente.....</b>  | <b>30</b> |
| <b>V.4 Optimización de la extracción.....</b>  | <b>32</b> |
| <b>V.5 Cromatografía de gases y espectrometría de masas.....</b>   | <b>34</b> |
| <b>V.6 Cálculo aproximado de la concentración de las interferencias insaturadas..</b>  | <b>37</b> |
| <b>V.7 Curvas patrón del ácido linoleico estándar.....</b>   | <b>39</b> |
| <b>V.8 Determinación espectrofotométrica de capsaicinoides utilizando una mezcla de estándares de capsaicina y ácido linoleico como interferencia.....</b> | <b>40</b> |
| <b>V.9 Determinación espectrofotométrica de capsaicinoides en materias primas y productos comerciales.....</b>   | <b>42</b> |

|   |           |
|---|-----------|
| <b>V.10</b> Cuantificación de capsaicinoides en materias primas troceadas y en polvo..... | <b>45</b> |
| <b>V.11</b> Cuantificación de capsaicinoides en muestras comerciales de confitería.....   | <b>47</b> |
| <b>V.12</b> Evaluación sensorial.....   | <b>48</b> |
| <b>VI. CONCLUSIONES</b> .....   | <b>52</b> |
| Recomendaciones.....  | <b>54</b> |
| <b>VII. ANEXOS</b> .....  | <b>55</b> |
| <b>Trabajo estadístico</b> .....  | <b>55</b> |
| Linealidad del sistema capsaicina estándar a 267 nm.....                                  | <b>55</b> |
| Linealidad del sistema capsaicina estándar a 279 nm.....                                  | <b>58</b> |
| Linealidad del sistema ácido linoléico estándar 267 nm.....                               | <b>60</b> |
| Linealidad del sistema ácido linoléico estándar a 279 nm.....                             | <b>63</b> |
| <b>Datos experimentales</b> .....   | <b>66</b> |
| Cuantificación de capsaicinoides en materias primas pungentes troceadas.....              | <b>66</b> |
| Cuantificación de capsaicinoides en materias primas pungentes en polvo.....               | <b>67</b> |
| Cuantificación de capsaicinoides en muestras comerciales.....                             | <b>68</b> |

|  |           |
|--|-----------|
| Cuestionario para la prueba de umbral y de ordenación.....               | 71        |
| Aleatorización de muestras para la prueba de umbral y de ordenación..... | 72        |
| Tablas de resultados de la prueba de umbral y de ordenación.....         | 73        |
| Encuesta.....  | 74        |
| Resultados de la encuesta.....   | 75        |
| Espectro de $RM^1H$ .....  | 77        |
| <b>VIII. BIBLIOGRAFÍA.....</b>   | <b>78</b> |

## I.- INTRODUCCIÓN

El chile se consume como vegetal fresco o deshidratado usado como especia, sin embargo la cantidad de productos alimenticios que contiene el chile o sus constituyentes químicos son cada vez mayores, incluyen tanto alimentos preparados de manera tradicional como alimentos procesados, entre los cuales los productos de confitería cada día alcanzan mayor valor comercial (13), y crece el número de consumidores de estos, principalmente entre el público infantil y de adolescentes que día a día se aficionan más a los sabores picantes.

Las tres principales variedades de chiles utilizados como materia prima para confitería son; el chile guajillo, piquín y de árbol, a los dulces se adicionan en diversas presentaciones como jaleas, polvos, troceados y líquidos.

La capsaicina y la dihidrocapsaicina son los dos compuestos responsables de aproximadamente del 90% de la pungencia de los chiles, su estructura molecular está formada por dos partes, la primera un homólogo de la vainillina y la segunda una fracción olefinica de un ácido graso, ambos compuestos absorben radiación ultravioleta de longitudes de onda de 227 y 280 nm (6)

Wilbur Scoville fue el primero en cuantificar la pungencia en alimentos, usando un método organoléptico, realizando una prueba en la que utilizaba a gente entrenada que podía detectar en varias muestras la capsaicina hasta que está fuera imperceptible debido a una serie de diluciones hechas antes de su degustación. El resultado de la dilución fue llamado el valor calórico de Scoville en una muestra. Tood y colaboradores modificaron la subjetividad del método organoléptico encontrando una correlación con un método novedoso de cromatografía de gases (CG) (2)(4)(1).

Los capsaicinoides se determinan oficialmente (17) por dos métodos, cromatografía de gases (CG) y Cromatografía de líquidos de alta eficiencia (CLAE). El análisis de fase inversa de CLAE es el más utilizado para investigaciones y análisis en laboratorios comerciales, no necesita de un pretratamiento de la muestra y es sensitivamente adecuada para determinar la capsaicina y sus derivados en las concentraciones en que usualmente se encuentran en los chiles.

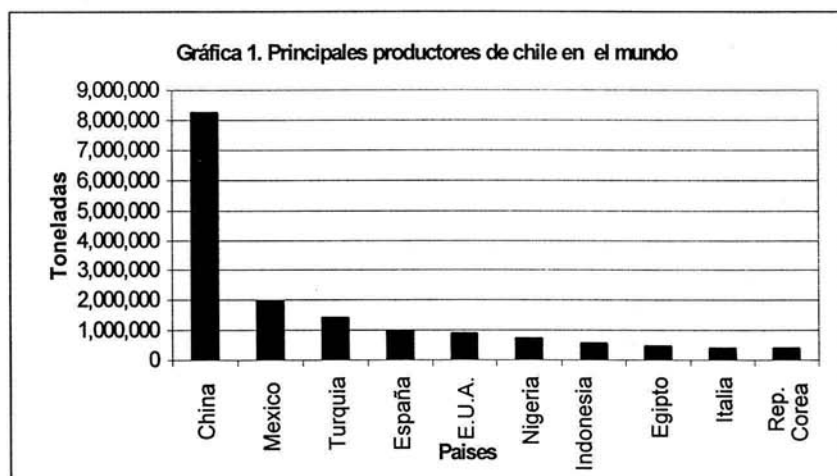
En este trabajo se pretende desarrollar un nuevo método para la determinación de estos compuestos basado en la absorción de estos al UV y aplicarlo en chiles secos molidos y troceados y en productos de confitería de venta en el mercado nacional.

## II ANTECEDENTES. CHILE

México produce una gran variedad de chiles, su consumo se remonta a la época prehispánica durante la cual, no tan solo se usaba en la cocina, sino que además, mezclado con otras plantas se utilizaba por tener usos medicinales principalmente para enfermedades gastrointestinales.

El chile junto con el maíz y el frijol constituyen la base de la alimentación del pueblo mexicano, más del 90% de la producción nacional de chile se utiliza para este fin. Se ha observado una tendencia del mercado a la comercialización de chiles deshidratados, los volúmenes empleados de esta forma son cada vez mayores, presentan la ventaja de tener una vida larga en almacenamiento y que sus precios de venta no sufren grandes fluctuaciones. (12)(10)

México es el segundo país productor de chile, anualmente produce 2, 000,000 de toneladas; China ocupa el primer lugar con una producción de 8, 000,000 de toneladas. (Gráfica 1).



([www.chilepepperinstitute.org](http://www.chilepepperinstitute.org), 2002)

De acuerdo con las condiciones climáticas características de la República Mexicana, se tienen dos épocas perfectamente definidas para el cultivo de chile, las cuales son:

La llamada primera época en la que las plantaciones se hacen del mes de marzo al mes de mayo, dependiendo este amplio margen de la fecha en que se presenten las últimas heladas. Las cosechas, si se realizan a la venta en verde, se realizan desde el mes de mayo hasta fines de septiembre. Cuando se hace la cosecha del chile para secarse, los cortes se hacen hasta que el fruto esta a punto, por lo general desde el mes de agosto hasta el mes de octubre. En la llamada segunda época, las plantaciones tienen lugar desde el mes de mayo a julio, la cosecha se destina preferentemente a su venta en verde generalmente entre los meses de junio y noviembre. (10)

Los chiles pertenecen a las especies *Capsicum* y se reconocen en general cinco especies domesticadas: *C. annuum*, *C. frutescens*, *C. chinense*, *C. baccatum* y *C. pubescens* cuyas características morfológicas y sus lugares de origen se describen en la tabla 1



**Tabla 1. Características morfológicas de las especies de *Capsicum*. (6)**

| Especie  | Países en donde se encuentra                            | Características morfológicas   |
|--|---|--|
| <i>Capsicum annuum</i><br>Ej. var. <i>Annuum</i> l.  | México y América Central, diversos países de Europa     | Flores: blancas<br>Anteras azules o violetas;<br>Pedícelo: solitario en el nodo, usualmente pendiente o erecto en algunos cultivos,<br>Semillas: color amarillo suave.     |
| <i>Capsicum frutescens</i> l                         | India y Africa  | Flores: amarillas a blancas<br>Anteras: azules o violetas<br>Pedícelos: largos y delgados, usualmente dos por nodo, tiesamente erectos,<br>Semillas: color amarillo suave. |
| <i>Capsicum chinense</i>                             | Indias occidentales, norte de Sudamérica, Perú, Bolivia | Flores: blancas o blancas amarillentas,<br>Pedícelo: corto y espeso, de tres a cinco por nodo;<br>Semillas: amarillas con arrugas al margen.                               |
| <i>Capsicum baccatum</i><br>ej. var. <i>pendulum</i> | Perú, Bolivia, Ecuador, Colombia, Brasil                | Flores: blancas con amarillo;<br>Anteras: amarillas; pedicelos uno o raramente dos por nodo, pendientes o erectos;<br>Semillas: color amarillo suave.                      |
| <i>Capsicum pubescens</i>                            | Bolivia, Colombia                                       | Flores: púrpuras con blanco,<br>Anteras: púrpuras;<br>Pedícelos: uno raramente dos por nodo, erectos o pendientes;<br>Semillas: negras arrugadas y curvadas.               |

Los carbohidratos, proteínas y grasas son los componentes mayoritarios del chile. La fructosa es el azúcar que se encuentra en mayor proporción y junto con la glucosa forma el 70% de los azúcares reductores. Hay una mayor cantidad de carbohidratos libres en las semillas que en el pericarpio o la placenta.

Los valores de grasa total varían de 9 a 16 % según la variedad de chile y la composición de ácidos grasos de muestras de chile evidencian un alto contenido de ácido oleico, seguido de ácido linoleico (52.2 %) y un contenido más bajo de ácido mirístico (6)

Las proteínas y fibra cruda se encuentran distribuidas en todo el fruto.

El contenido de vitamina C de los frutos del genero *Capsicum* es de importancia nutricional dado las cantidades que contienen, sin embargo en el procesamiento de los frutos se pierde aproximadamente el 80%.

Los frutos también son una buena fuente de vitamina A, E y complejo B.

Los capsaicinoides se encuentran esencialmente en el pericarpio y en mucha menor cantidad en las semillas.

En la tabla 2 se presenta la composición promedio de los componentes del chile distribuidos en el fruto, pericarpio y tallo.

**Tabla 2. Composición promedio de frutos *Capsicum annum* L. y de algunas de sus partes (6)**

| Constituyente                  | Entero | Pericarpio | Semilla | Tallo  |
|--------------------------------|--------|------------|---------|--------|
| Porcentaje del total           | 100    | 39.9       | 54.1    | 6.0    |
| Humedad (%)                    | 8.9    | 7.5        | 6.3     | 9.1    |
| Extracto etéreo total (%)      | 22.1   | 8.2        | 26.0    | 4.1    |
| Volátil                        | 0.4    | 0.6        | 0.3     | 0.3    |
| no volátil                     | 21.7   | 7.5        | 25.7    | 3.7    |
| Cenizas totales (%)            | 6.3    | 9.8        | 4.5     | 4.5    |
| Solubles en agua (%)           | 5.7    | 9.6        | 2.5     | 8.8    |
| Insolubles en agua (%)         | 1.0    | 0.2        | 0.1     | 1.0    |
| Proteína (Nx6.25)(%)           | 12.8   | 12.7       | 16.2    | 10.5   |
| Fibra cruda (%)                | 31.8   | 34.9       | 37.2    | 25.0   |
| Carbohidratos (dif.)(%)        | 27.0   | 24.3       | 16.1    | 45.9   |
| Capsaicinoides (µg/g)          | 177    | 394        | 35      | Trazas |
| Distribución de capsaicinoides | 100    | 89.2       | 10.2    | Trazas |
| Color total(β-caroteno)(µg/g)  | 1733   | 3977       | 179     | 209    |
| Distribución de colorantes (%) | 100    | 94.6       | 4.9     | 0.5    |
| Ácido ascórbico (mg /100g)     | 29     | 38.6       | 15.3    | 9.1    |
| Hierro (mg/100g)               | 10.2   | 5.9        | 11.1    | 39.9   |
| Fósforo (mg/100g)              | 356.6  | 262.8      | 464.1   | 102.1  |
| Calcio (mg/100g)               | 210    | 200.0      | 70.0    | 1600.0 |

Las variedades de chile más utilizadas en la cocina de los diferentes estados de la República Mexicana son:

Cascabel (cora): Es el chile bolita, seco; pequeño, tiene forma esférica y color rojo oscuro. En la parte central de México se llama así al guajillo porque, al agitarlo, produce un sonido parecido al de la víbora de cascabel cuando agita la cola.

Chilaca: Recién cultivado es de color verde muy oscuro; cuando se seca toma el nombre de pasilla y su color es rojo oscuro.

De árbol: A pesar de su nombre, se produce en un arbusto grande y no en un árbol. Es un poco más largo que el serrano y mucho más picoso. Seco, adquiere un color rojo sepia.

Guajillo: Se produce en casi todo México, con unas ligeras diferencias según la región; mide entre 5 y 11 cm de longitud. Cuando está fresco puede ser verde, amarillo o rojo; sin embargo, se le utiliza más seco siendo este de color rojo sepia, es largo y puntiagudo, y en general más picante cuando es pequeño.

Habanero: Es un chile de tamaño mediano es lustroso y muy picante. Cuando madura toma un color amarillo o anaranjado, se utiliza en el sureste del país. Se le considera el chile más picoso y es ingrediente imprescindible de algunas salsas yucatecas.

Jalapeño (*cuaresmeño*): Es fresco y carnoso, de color verde oscuro o rojizo, de 4 a 6 cm de longitud. Aunque con frecuencia se emplea fresco, también se consigue enlatado en escabeche. Cuando se seca se convierte en el morita, y si se le ahuma, cambia su nombre a Chipotle.

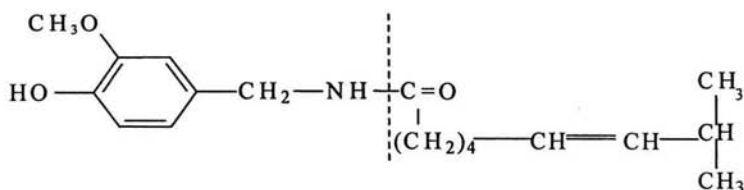
Piquín (*chilepín, pulga*): Es el chile más pequeño que se cultiva; al madurar, cambia su color verde a rojo. Es extremadamente picante y se utiliza, molido, como condimento. (3)

Algunos de los usos no alimentarios más comunes son (6)

- a) En la industria tabacalera proporciona el sabor picante
- b) Como repelente en productos químicos en la agricultura; evita que los animales domésticos la ingieran.
- c) En alimentos para aves; estos animales no perciben el sabor picante, pero si las ardillas y otros roedores que pudieran alimentarse de estos productos.
- d) En pinturas marinas evita que los caracoles y otros crustáceos se adhieran a los cascos de los barcos.
- e) En medicamentos contra el dolor (principalmente cáncer de boca y artritis).

## CAPSAICINOIDES

El efecto pungente del chile se debe principalmente a un alcaloide llamado capsaicina (N-[(4-hidroxi-3-metoxi-fenil)-metil] -8- metil-6-nonenamida) cuya formula molecular es  $C_{18}H_{27}NO_3$ , la primera parte de la molécula es un homólogo de vainillina y la segunda una fracción olefínica de un ácido graso.



Vainillinalamina

Ácido 6 - Isodecenoico

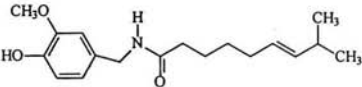
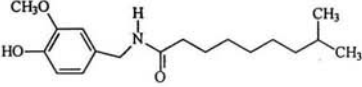
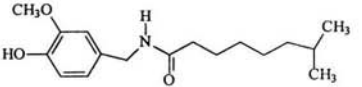
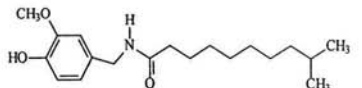
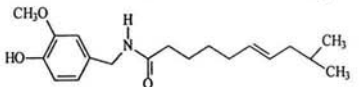
Figura 1. Estructura de la capsaicina

Los compuestos que junto con la capsaicina son responsables de la pungencia total de los chiles se reportan en el cuadro no I, de estos la dihidrocapsaicina (N-(4-hidroxi-3-metoxi-fenil)-metil] -8- metil-nonamida) es el más abundante y junto con la capsaicina producen del 90% de la pungencia total. (6).

La concentración de la capsaicina en los frutos *Capsicum* varía significativamente dependiendo la variedad. Por ejemplo el chile ancho contiene 0.048% de capsaicina, mientras que el chile de árbol contiene 0.416%, casi diez veces más (6). Se ha encontrado que el contenido de capsaicina de algunas variedades de chiles varía de 0.2 % a 1% (2)

**Cuadro no-I**

**Estructura de los componentes que integran el sabor pungente de Capsicum. Según Kosuge y Furuta (1970).**

| Componente            | Estructura Química  | P.M. | % del componente en la mezcla total |
|-----------------------|---|------|-------------------------------------|
| Capsaicina            |  | 305  | 48.6                                |
| Dihidrocapsaicina     |  | 307  | 36.0                                |
| Norhidrocapsaicina    |  | 293  | 7.4                                 |
| Homodihidrocapsaicina |  | 319  | 2.0                                 |
| Homocapsaicina        |  | 321  | 2.0                                 |

La tabla 4 muestra la solubilidad de la capsaicinoides en algunos disolventes (6)(13)(2)

**Tabla 3.**

| DISOLVENTE  | TEÓRICO          |
|-------------|------------------|
| Agua        | <b>Insoluble</b> |
| Metanol     | <b>Soluble</b>   |
| Acetona     | <b>Soluble</b>   |
| Hexano      | <b>Insoluble</b> |
| Éter        | <b>Soluble</b>   |
| Cloroformo  | <b>Soluble</b>   |
| Isopropanol | <b>Soluble</b>   |

Los capsaicinoides absorben radiación ultravioleta presentando 2 longitudes de onda máximas de absorción, una a 227 nm y la otra a 280 nm debidas éstas a la presencia del anillo aromático, al grupo carbonilo y a los pares de electrones libres del nitrógeno, es de hacer notar que todos los capsaicinoides presentan las mismas bandas de absorción al UV.

## **EVALUACION SENSORIAL DE ALIMENTOS.**

La evaluación sensorial es la disciplina científica usada para evocar, medir, analizar e interpretar características de los alimentos y materiales, así como la percepción por los sentidos de la vista, olor, gusto, tacto y oído (19). Entre dichas características se pueden mencionar por su importancia las siguientes:

Apariencia: color, tamaño, forma, conformación, uniformidad.

Olor: los miles de compuestos volátiles que contribuyen al aroma.

Gusto: dulce, amargo, salado y ácido

Textura: las propiedades físicas como dureza, viscosidad, granulosis.

Sonido: se relaciona por ejemplo con la efervescencia, tronido y crujido.

Algunos otros sistemas sensoriales secundarios contribuyen a la percepción, particularmente a través de los labios y la parte interior de la boca, zonas que son muy sensibles al dolor, por ejemplo el efecto de la pimienta, jengibre, chile, etc. y a la temperatura a causa de alimentos fríos y calientes. (9)

La percepción del sabor de los alimentos es un proceso complejo que incluye los sentidos del gusto y olfato y sensaciones chemestésicas (chemesthesis). Estas últimas son llamadas "sentido químico" o "sensaciones trigéminales".

Poco se conoce acerca de los mecanismos de activación de los compuestos irritantes para producir estas sensaciones. Se cree que estos "irritantes" interactúan con las terminaciones libres de los nervios vagos y trigéminales en las cavidades oral y nasal mediante disolución de los compuestos en las membranas lipídicas de los nervios y alteran la conductancia del  $Ca^{2+}$ . Según Laing y Jinks (1996) se proponen tres clases de irritantes químicos aquellos que interactúan con grupos nucleofílicos (OH,  $NH_2$ , HS); aquellos que rompen puentes disulfuro y compuestos como alcoholes alifáticos de cadena corta, ésteres, ácidos y mono terpenos. (8)

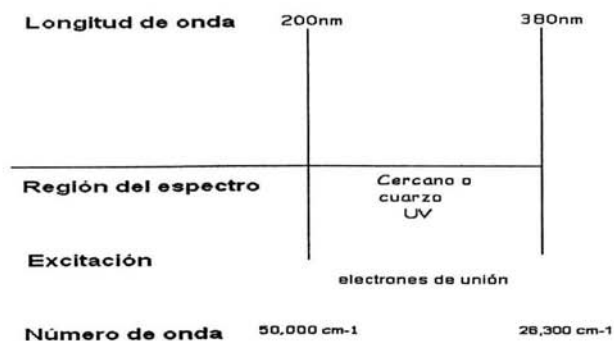
Dos de los métodos más utilizados para el análisis organoléptico, son la llamada prueba de umbral y la prueba de ordenación.

La prueba de umbral sirve para determinar cuál es la mínima cantidad perceptible (umbral) del estímulo en estudio, en esta prueba se tienen que tomar en cuenta las siguientes recomendaciones: el umbral debe elegirse entre un gradiente de

concentración de un mismo estímulo, representado en una serie de muestras cuyo cambio en concentración ha sido uniformemente establecido, la presentación de las muestras debe incluir concentraciones subumbral (estímulo no perceptible) y supraumbral (estímulo fácilmente perceptible), es recomendable que se incluyan muestras ciegas (con cero concentración del estímulo) intercaladas en cada serie. En la prueba de ordenación, cuyo objetivo es de ordenar una serie de muestras en orden creciente o decreciente, de acuerdo con un criterio específico el máximo de muestras por presentar está limitado por la naturaleza del estímulo, el órgano sensor y el nivel de entrenamiento de los jueces. Las muestras se presentan ordenadas y codificadas al azar. La preparación y presentación de las muestras ante los jueces debe realizarse de tal manera que solo el parámetro en estudio sea variable.

### ESPECTROSCOPIA ULTRAVIOLETA.

La porción ultravioleta del espectro electromagnético está indicado en la Fig. 2, la longitud de onda en la región ultravioleta es usualmente expresada en nanómetros y se extiende desde 200 hasta 380 nm. La energía absorbida por los orbitales moleculares produce cambios en la energía electrónica de la molécula provocando transiciones de los electrones de un enlace  $\sigma$  ó  $\pi$  a niveles excitados  $\sigma^*$  ó  $\pi^*$ .



**Fig. 2. Región UV del Espectro electromagnético**

Se denomina cromóforo a todo orbital molecular que absorbe radiación.

### Ley de Lambert y Beer:

La absorción de la radiación UV por la materia puede tener aplicaciones cualitativas y cuantitativas. Las aplicaciones cualitativas se basan en que cada cromóforo presenta absorción a longitudes de onda características. Las aplicaciones cuantitativas se fundamentan en que si el número de moléculas que sufren una transición electrónica es grande, la cantidad de energía absorbida será grande y dará como resultado en el espectro de UV una banda intensa, y si el número de moléculas que sufren una transición electrónica es pequeño, la cantidad de energía absorbida será de menor intensidad y dará como resultado en el espectro de UV una banda de poca intensidad. Esta información es el fundamento de la ley de Lambert y Beer: "La fracción de radiación absorbida por un medio, es proporcional al número de átomos, iones o moléculas absorbentes a través de las cuales pasa".

La intensidad de absorción puede ser expresada como transmitancia (T) que está definida por

$$T = I / I_0$$

Donde  $I_0$  es la intensidad de la energía radiante que incide en la muestra, e  $I$  es la intensidad de radiación que emerge desde la muestra. Una expresión más conveniente de la intensidad de absorción es la que establece una relación entre la absorbancia, el espesor de la muestra, y la concentración de las especies. Esta relación es la ley de Lambert and Beer y se expresa como:

$$\text{Log}_{10} (I_0 / I) = kcb = A$$

Donde  $k$  = es una constante

$c$  = concentración del soluto

$b$  = paso de la luz a través de la muestra

$A$  = absorbancia

Cuando  $c$  es expresada en moles por litro, y el paso de la luz ( $b$ ) a través de la muestra es expresado en centímetros, la expresión se transforma en

$$A = \epsilon cb$$



El término  $\varepsilon$  es conocido como coeficiente de absorptividad molar.

Sí la concentración ( $c$ ) del soluto se define como gramo por litro (g/L), la ecuación se transforma a:

$$A = abc$$

donde  $a$  es el coeficiente de absorptividad y se relaciona con el coeficiente de absorptividad molar de acuerdo a la siguiente expresión

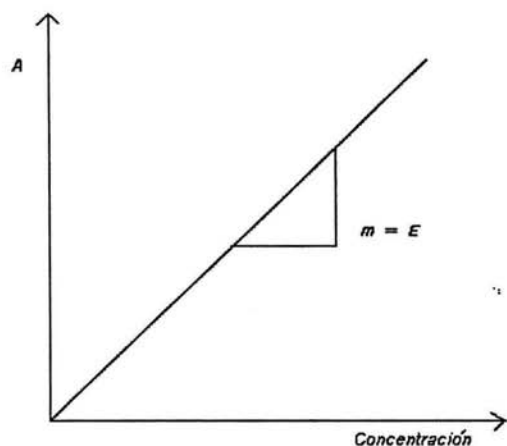
$$\varepsilon = aM$$

donde  $M$  es el peso molecular del soluto.

La intensidad de una banda de absorción del espectro de ultravioleta es usualmente expresada como el coeficiente de absorptividad molar medido en la máxima longitud de onda de las bandas ( $\lambda_{\text{máx.}}$ , longitud de máxima absorción), los valores de coeficiente de absorptividad se reportan, indicando el disolvente utilizado para su determinación.

La intensidad de absorción además de la concentración depende de dos factores; la probabilidad de interacción entre la energía de radiación y el orbital molecular y la diferencia entre el estado basal y el estado excitado.

Cuando se mantiene la longitud de la radiación constante y se aumenta la concentración del analito, la absorbancia deberá incrementarse proporcionalmente con la concentración, de tal modo que si se registran los espectros de un mismo compuesto a diferentes concentraciones y se gráfica la concentración como función de la absorbancia el registro gráfico es una línea recta y la pendiente de está es el coeficiente de absorptividad medido a la longitud de onda en la que se mide la absorbancia. Esta gráfica es llamada curva de calibración o curva patrón y es el principio de las aplicaciones cuantitativas de la espectroscopia UV (14).

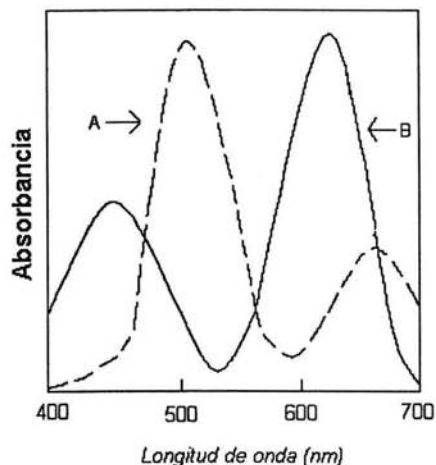


**Gráfica 2. Curva de calibración para representar la ley de Lambert y Beer.**

Cuando se trabaja con concentraciones altas, arriba de 0.01 M, la distancia entre las partículas absorbentes disminuye provocando interacciones moleculares entre ellas, las interacciones moleculares producen cambios en la distribución de su energía electrónica alterando la capacidad de las moléculas para absorber la radiación a una determinada longitud de onda, por lo que al contacto con la radiación ultravioleta no siempre se registran las mismas energías para efectuar las transiciones, alterando la magnitud de las absorbancias. Se puede producir un efecto similar en soluciones de muy baja concentración del analito, cuando esto sucede se tienen desviaciones de la linealidad, otra causa de estas desviaciones ocurre cuando un analito se disocia y se asocia o reacciona con el disolvente para formar un producto con un espectro de absorción diferente al del analito (11)

#### **Análisis de mezclas por ultravioleta**

La absorbancia total de una disolución a una longitud de onda dada es igual a la suma de las absorbancias de los componentes individuales presentes. Esta aditividad hace posible la aplicación del análisis cuantitativo por ultravioleta para analizar mezclas de analitos aún cuando exista traslape en la absorción de dos o más cromóforos en un espectro, es decir que sus longitud de absorción se sobrepongan (Fig. 4)



**Fig 4. Análisis espectrofotométrico simultáneo de un sistema de dos componentes**

De acuerdo a la ley de aditividad, la absorbancia de la mezcla de los dos compuestos **A** y **B** a las dos longitudes de onda  $\lambda_1$  y  $\lambda_2$  es la suma de las absorbancias particulares de **A** y de **B** a esas mismas longitudes de onda, si se mantiene constante la longitud de la celda:

Las concentraciones de los compuestos problema se calculan resolviendo el sistema de ecuaciones, las absorptividades molares ( $\epsilon_1$  y  $\epsilon_2$ ) de los compuestos **A** y **B**, a las dos longitudes de onda se calculan a partir de disoluciones patrón y la absorbancia a las dos longitudes de onda se determinan directamente del espectro. (11)

El desarrollo matemático suponiendo celdas de 1 cm de espesor es el siguiente.

$$A_{T\lambda_1} = A_{A\lambda_1} + A_{B\lambda_1}$$

$$A_{T\lambda_1} = \epsilon_{A\lambda_1}C_A + \epsilon_{B\lambda_1}C_B \dots 1$$

$$A_{T\lambda_2} = A_{A\lambda_2} + A_{B\lambda_2}$$

$$A_{T\lambda_2} = \epsilon_{A\lambda_2}C_A + \epsilon_{B\lambda_2}C_B \dots 2$$

Se tienen dos ecuaciones con dos incógnitas despejando  $C_A$  de la ecuación 1 y después se sustituye en la ecuación 2.

$$C_A = \frac{(A_{T\lambda_1} - \epsilon_{B\lambda_1} C_B)}{(\epsilon_{A\lambda_1})} \dots 3$$

$$A_{T\lambda_2} = \epsilon_{A\lambda_2} \left[ \frac{A_{T\lambda_1} - \epsilon_{B\lambda_1} C_B}{\epsilon_{A\lambda_1}} \right] + \epsilon_{B\lambda_2} C_B \dots 4$$

Se despeja  $C_B$  de la ecuación 4, calculándose la concentración y después este valor se sustituye en la ecuación 3 para conocer  $C_A$ .

Las variables son:

$A_{T\lambda_1}$  = Absorbancia total de la mezcla a  $\lambda_1$

$A_{T\lambda_2}$  = Absorbancia total de la mezcla a  $\lambda_2$

$\epsilon_{A\lambda_1}$  = Coeficiente de absorptividad molar del estándar A, a una  $\lambda_1$

$\epsilon_{A\lambda_2}$  = Coeficiente de absorptividad molar del estándar A, a una  $\lambda_2$

$\epsilon_{B\lambda_1}$  = Coeficiente de absorptividad molar del estándar B, a una  $\lambda_1$

$\epsilon_{B\lambda_2}$  = Coeficiente de absorptividad molar del estándar B, a una  $\lambda_2$

$C_B$  = Concentración molar de A

$C_A$  = Concentración molar de B.

### Manejo de la muestra.

En espectro de ultravioleta de una muestra es usualmente determinado en disolución.

Las celdas usadas para la determinación de espectros en disolución varían en la longitud de paso de 1 hasta 10 cm. Las celdas de cuarzo de 1 cm, son usadas comúnmente y requieren alrededor de 4 mL de disolución.

Cuando se dispone de una pequeña cantidad de la disolución se puede utilizar microceldas.

Los disolventes que se usan para análisis por ultravioleta deben estar libres de absorciones que interfieran en las regiones donde absorben los analitos por determinar.

En la Fig. 5. se muestra las regiones del espectro (sombreadadas) en la que no absorben los principales disolventes (14), el disolvente adecuado para la disolución será aquel cuyas absorciones no se superpongan con las de la muestra.

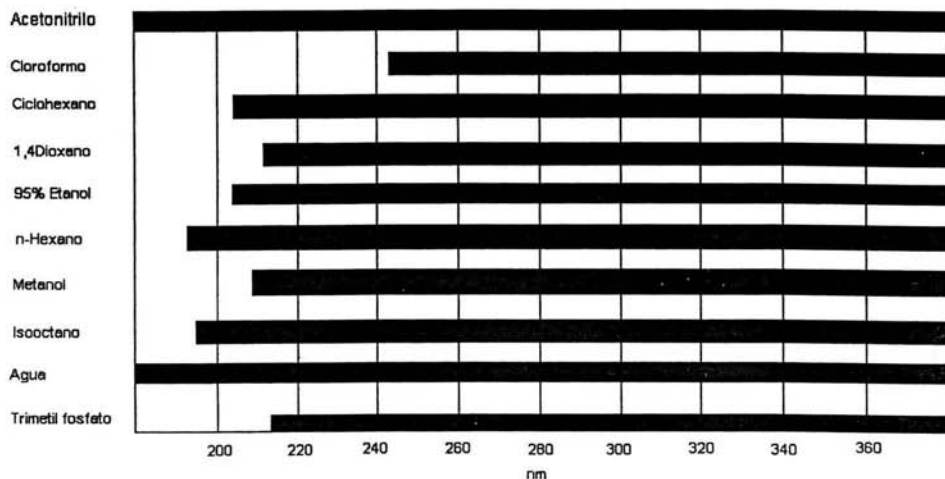


Fig. 5. Intervalos de transparencia útil en la región ultravioleta

### Instrumentación UV VIS.

Los instrumentos para medir la absorción de la radiación ultravioleta y visible están compuestos de las siguientes partes:

Fuente de radiación UV, un sistema óptico que permita dirigir la radiación a la muestra, y un detector de la radiación (Fig. 6)

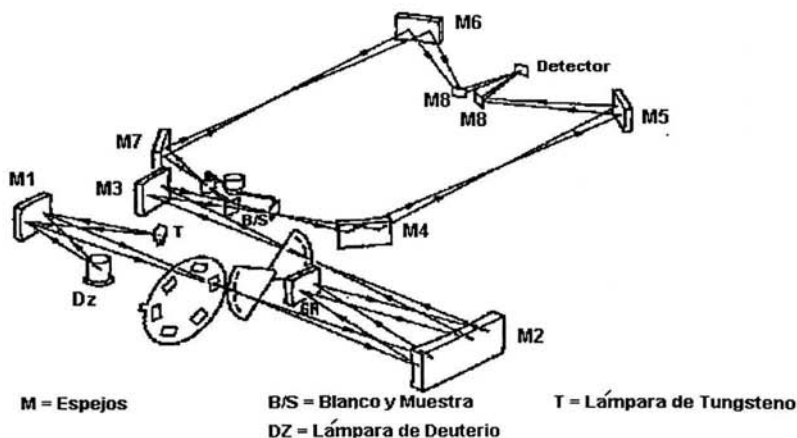


Fig. 6. Diagrama del sistema óptico de equipo UV/Visible de doble haz

La fuente debe generar un haz de radiación cuya emisión deberá ser estable durante periodos de tiempo razonables. Entre ellas se encuentran principalmente las lamparas de tungsteno y deuterio.

El sistema óptico está formado por celdas, ventanas, lentes, espejos y elementos de selección de longitud de onda, deben dirigir hacia la muestra la radiación en la región de la longitud de onda que se utilice.

Los detectores más utilizados en espectrofotometría UV son el fotomultiplicador y el de fotodiodos.

### **III OBJETIVOS**

#### **OBJETIVO GENERAL**

Desarrollar un método analítico por espectrofotometría UV para la determinación cuantitativa de capsaicinoides en mezclas pungentes usadas en confitería.

#### **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

Realizar un estudio espectrofotométrico por UV de capsaicina estándar

Diseñar un método de extracción de capsaicinoides en chiles secos troceados y en polvo.

Realizar pruebas organolépticas para la percepción de la pungencia.

## **IV.1 EQUIPOS, REACTIVOS Y MATERIAS PRIMAS**

### **Equipos**

Espectrofotómetro Unicam UV 500 Thermo Spectronic.

Cromatógrafo de gases acoplado a espectrómetro de masas:

Cromatógrafo de gases - Marca Hewlett Packard Modelo 5890 serie II

Espectrómetro de masas - Marca JEOL, Modelo SX-102, tipo doble sector, geometría inversa

Balanza Analítica Sartorius BP2105 de 210 g y sensibilidad = 0.1 mg

Parrilla eléctrica Fisher Scientific.

Agitador magnético

Estufa 108 – 118°C. Hoffmann pinther, Bosworth S. A.

### **Reactivos**

Estándar de capsaicina (70% capsaicina, 30% dihydrocapsaicina) Sigma-Aldrich.

Estándar de ácido linoleico (aproximadamente 95 %) Sigma-Aldrich

Metanol grado analítico J. T. Baker.

Isopropanol grado analítico J. T. Baker.

Cloroformo grado analítico J. T. Baker.

Etanol absoluto anhidro grado analítico J. T. Baker.

Carbón vegetal activado.

Agua potable (Bonafont)

Azúcar Domino extra fina. Grupo Sáenz

### **Materias primas:**

Chiles secos troceados:

Chile de árbol

Chile guajillo

Chile piquín

Chiles molidos Tres Villas:

Chile guajillo

Chile B-30

Chile de árbol



Muestras comerciales de confitería y condimentos:

En el cuadro no.2 se enlistan las muestras trabajadas y la formulación publicada en sus respectivas etiquetas

**Cuadro no-2. Muestras comerciales de confitería.**

|   | Ingredientes *<br>Según etiqueta   | Elaborado  | Contenido<br>neto | Lote          |
|---|--|--|-------------------|---------------|
| Súper Lucas<br>Chile picosito ♦           | Sal yodatada, chile, ácido cítrico, sabor limón natural y dióxido de silicio   | Effem. México                                    | 33 g              | 110012        |
| Súper<br>rebanaditas<br>Dulces Vero ♦     | Azúcar, glucosa, chile guajillo, sal yodatada, ácido cítrico, colorantes artificiales (amarillo # 5 y rojo #40) y bioxido de titanio                       | Candy Pop. S.A.C.V.                              | 25 g              | SR01          |
| DIPS<br>Polvo enchilado<br>Miguelito ♦    | Azúcar, glucosa, polvo enchilado (azúcar, sal yodatada, ácido cítrico, chile piquín molido, harina de soya), sabor artificial, colorante natural (cúrcuma) | Chupa Chup's.<br>Industrial Mexicana<br>S.A.C.V. | 19 g              | L2N227<br>M01 |
| Vero<br>Pulpa<br>rellerindos<br>(jalea)   | Azúcar, glucosa, almidón, modificado, chile guajillo, agua purificada, ácido cítrico, sal, sabor artificial y conservadores                                | Angel Ibarra y CIA.<br>S.A.C.V.                  | 43 g              | 0043          |
| Pizza Hut<br>Chile guajillo<br>Quebrado   | Chile guajillo en trocitos   | Pizza Hut Mexicana<br>S.A.C.V.                   | 1 g               | -----         |
| Migolito ♦                                | Sal yodatada, azúcar, chile en polvo, harina de soya   | Felipe Zuñiga                                    | 5 g               | -----         |
| Oyuki<br>Bironguitos ♦                    | Harina de Maíz, harina de trigo, aceite vegetal comestible, sal yodatada y chile piquín molido   | Abraham Cruz J.                                  | 40 g              | -----         |
| Valentina<br>Salsa picante<br>Muy picante | Agua, Chiles secos puyas, y serranos, ácido acético, sal yodatada, condimentos especias y 0.1 % de benzoato de sodio como conservador (verde claro)        | Salsa Tamazula<br>S.A.C.V.                       | 370 mL            | 52            |

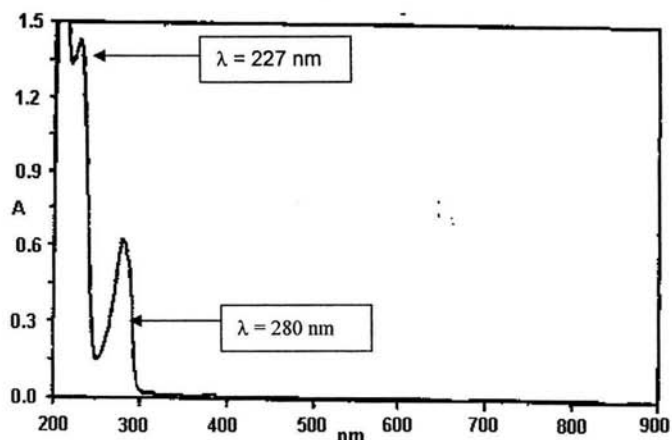
\* Por orden de concentración dependiendo del producto

## IV.2 ESTUDIO ESPECTROFOTOMÉTRICO AL UV DE LA CAPSAICINA ESTÁNDAR

### Absorbancia del Estándar

Los capsaicinoides disueltos en metanol presentan 2 absorciones una a 227 nm y otra 280 nm

#### Espectro 1. Absorción al UV de capsaicina estándar disuelta en metanol.



### Determinación del coeficiente de absortividad molar ( $\epsilon$ ) de capsaicina estándar

Para determinar el coeficiente de absortividad molar se preparan disoluciones de diferentes concentraciones, se registran sus respectivas absorbancias y se grafican una en función de la otra en cada una de las longitudes de onda máximas de absorción.

Partiendo de una disolución básica de capsaicina estándar de una concentración de 148 mg/mL se preparan las siguientes disoluciones (tabla 4):

Tabla 4. Preparación de la curva patrón de capsaicina estándar.

| # de matraz | ML de solución 0.148 mg/mL de capsaicina estándar | Aforo con metanol (mL) | Concentración final (Molar) |
|-------------|---|------------------------|-----------------------------|
| 1           | 1.5   | 10                     | 0.000072                    |
| 2           | 2.5   | 10                     | 0.000120                    |
| 3           | 4   | 10                     | 0.000190                    |
| 4           | 5.5   | 10                     | 0.000260                    |
| 5           | 7   | 10                     | 0.000339                    |

Se registraron los espectros de absorción al UV. Las lecturas se realizaron a 267 y 279 nm.

### **IV.3 EXTRACCIÓN DE CAPAICINOIDES EN CHILES SECOS Y MATERIAS PRIMAS PUNGENTES.**

#### **Determinación de humedad en chiles secos y materias primas pungentes**

Humedad es la pérdida de peso que sufre un material cuando se calienta a una temperatura cercana a la de ebullición del agua, durante un tiempo seleccionado arbitrariamente o bien hasta que dos pesadas sucesivas no difieran. Se varía el tiempo y temperatura de acuerdo a la muestra y a la cantidad de agua presente.

El residuo recibe el nombre de sólidos totales.

La técnica de secado, consiste en pesar 1 gramo aproximadamente de muestra en un pesafiltro el cual ya debe estar a peso constante, éste se coloca en una estufa a temperatura de 110 °C por dos horas y media. Por diferencia de peso se sabe el porcentaje de humedad de la muestra.

Los chiles a los cuales se les determinó humedad ya han sufrido un proceso de secado previo, esto se hace para lograr se preserven en buenas condiciones (evitar crecimiento de microorganismos patógenos, infestaciones por insectos, etc.), en este caso solo se determina la cantidad de agua libre que después de este tratamiento aún se encuentra presente en la materia prima pungente.

$$\% \text{ Humedad} = \frac{[(\text{Peso muestra} + \text{Peso crisol}) - (\text{Peso muestra seca} + \text{Peso crisol})]}{\text{Peso de la muestra}} * 100$$

#### **Metodología de extracción**

Empleando una extracción estática en donde el material a ser extraído se pone en contacto con un volumen fijo del disolvente de extracción durante un tiempo determinado y se agita mecánicamente. Durante esta extracción, no hay recambio de disolvente y si la cantidad de soluto es suficiente para saturar al disolvente, se llega a una condición de equilibrio entre las moléculas de soluto que se disuelven en el disolvente y las que vuelven a formar parte del material sólido.

Cuando hablamos de una extracción estática, el tiempo de extracción debe estar determinado por el tiempo de equilibrio. Una vez alcanzado el equilibrio entre el disolvente y el soluto, un aumento en el tiempo de extracción no se traduce en un

mayor rendimiento mientras que si implica un costo innecesario.

La extracción que se lleva a cabo es sólido – líquido que se puede definir como el retiro de un analito soluble en un solvente de una matriz sólida permeable e insoluble en éste. La separación implica, la disolución selectiva por difusión. Los constituyentes solubles, entre ellas los capsaicinoides, son sólidos y están incorporados o bien mantenidos mecánicamente en la estructura porosa del material insoluble.

Es conveniente que los capsaicinoides sean transportados lo suficientemente rápido por difusión desde el interior de la matriz en la cual están contenidos, para lograr la difusión del analito hacia el fluido por entre los poros de ésta. La relación tiempo / transporte dependerá de la forma y de las dimensiones de la matriz o sus partículas. Es por eso que los chiles secos son troceados y molidos para lograr que las dimensiones sean pequeñas ya que el tiempo de transporte por difusión se ve favorecido al disminuir las distancias radiales que se deben atravesar en el interior de los sólidos, aparte que hay un aumento de la superficie de contacto de la matriz.

Para elegir el mejor método de extracción es necesario conocer el volumen del disolvente adecuado y el tiempo de extracción.

#### **Elección del disolvente de extracción.**

Los capsaicinoides son solubles en metanol, acetona, éter, cloroformo e isopropanol.

Es requisito en una determinación cuantitativa espectrofotométrica es que las absorbancias del disolvente no se superpongan con las del analito por determinar, por lo que se procedió al estudio espectrofotométrico de los disolventes para conocer sus posibles interferencias a 227 y 280 nm.

#### **Determinación del tiempo óptimo de extracción:**

1 gramo de muestra de Chile se coloca en un vaso de precipitados con 25 mL de metanol, se agita y se muestrea a los 5, 10, 15, 20 y 25 minutos, a cada muestra se le registra su absorbancia al UV

#### **Determinación del volumen óptimo de metanol utilizado para la extracción de**

### 1 gramo de chile seco

Para conocer la influencia del volumen de metanol utilizado en la extracción se realizan las siguientes experiencias:

Se pesan 5 muestras de chile guajillo troceado de 1 gramo y cada una de éstas se colocan en vasos de precipitados con diferentes volúmenes de metanol 20, 25, 30, 35 y 40 mL, manteniendo la agitación por 15 minutos. Se filtra, se pone carbón activado para purificar el extracto, se agita durante 2 minutos, se filtra otra vez, se toma una alícuota de 1 mL se afora a 10 mL y registran las absorbancias.

#### Purificación de los extractos obtenidos:

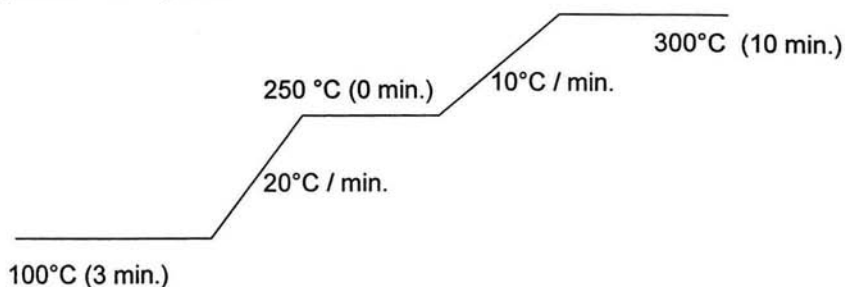
La adsorción es un proceso por el cual los átomos en la superficie de un sólido, atraen y retienen moléculas de otros compuestos. Por lo tanto al ser un fenómeno que ocurre en la superficie mientras mayor área superficial disponible tenga un sólido, mejor adsorbente podrá ser. Cuando se desea remover una impureza orgánica que causa color, olor o sabor indeseable, la adsorción con carbón activado suele ser la técnica más económica y sencilla. El volumen de extracto metanólico se decoloró utilizando 0.25 g de carbón activado, agitando durante 2 minutos para su posterior filtración.

#### Análisis de los extractos obtenidos

Para el análisis de los extractos se utilizó un cromatógrafo de gases acoplado a un detector de masas.

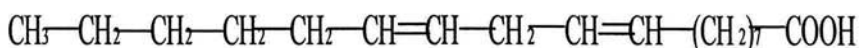
La muestra del estándar de capsaicina (35 % Dihidrocapsaicina y 65% Capsaicina) se preparó disolviendo 3.9 mg en 25 mL de metanol, está y el extracto se trabajaron en el cromatógrafo de gases en las siguientes condiciones:

Temperatura del inyector = 300 °C



#### IV 4 ESTUDIO ESPECTROFOTOMÉTRICO AL UV DEL ÁCIDO LINOLÉICO ESTÁNDAR

El ácido linoleico tiene por fórmula



El principal cromóforo responsable de la absorción al UV presente en este ácido y en los ácidos grasos insaturados son las dobles ligaduras.

Considerando al ácido linoleico como componente mayoritario en el chile se registra su espectro de UV en dos concentraciones, una diluida con una concentración de 0.046 mg / mL y otra concentrada de 11.62 mg / mL (Espectros 5 y 6).

##### **Coefficiente de absortividad molar ( $\epsilon$ ) del ácido linoleico estándar:**

Para determinar el coeficiente de absortividad del ácido linoleico se prepara una disolución base de una concentración de 12.96 mg/mL

La curva patrón se preparó con las siguientes diluciones:

**Tabla 10. Preparación de la curva de calibración de ácido linoleico estándar.**

| # de matraz | mL de solución 12.96 mg/mL de capsaicina estándar | Aforo con metanol (mL) | Concentración final (M) |
|-------------|---|------------------------|-------------------------|
| 1           | 1.5   | 10                     | 0.0107                  |
| 2           | 2.5   | 10                     | 0.0179                  |
| 3           | 3.5   | 10                     | 0.0251                  |
| 4           | 5   | 10                     | 0.0359                  |
| 5           | 6.5   | 10                     | 0.0465                  |
| 6           | 7.5   | 10                     | 0.0537                  |

Se registraron los espectros de absorción al UV. Las lambdas máximas elegidas para el análisis cuantitativo son; las presentes en 267 y 279 nm.

#### IV.5 DETERMINACIÓN ESPECTROFOTOMÉTRICA DE CAPSAICINOIDES EN EXTRACTOS METANÓLICOS DE CHILES TROCEADOS Y MATERIAS PRIMAS PUNGENTES.

Con el objeto de comprobar la factibilidad de la realización del análisis cuantitativo por UV utilizando el principio de aditividades de mezclas de ácidos grasos y capsaicinoides se preparó una disolución estándar de capsaicina y ácido linoleico en las concentraciones obtenidas del espectro de resonancia magnética nuclear

del extracto metanólico de los chiles

La disolución se trabajó como sigue 3.7 mg de capsaicina estándar y 660 mg de ácido linoleico estándar, se colocan en un vaso de precipitados de 100 mL, con 25 mL de metanol, se agita durante 15 minutos, se le agregan 0.25 g de carbón activado, se agita durante dos minutos y se filtra. Se hace una dilución de 7 mL / 10 mL de metanol.

#### **IV.6 DETERMINACIÓN ESPECTROFOTOMÉTRICA DE CAPSAICINOIDES EN EXTRACTOS METANÓLICOS DE CHILES SECOS TROCEADOS Y PRODUCTOS COMERCIALES.**

Después de comprobar la factibilidad del método y considerando que los extractos metanólicos de los chiles secos troceados y los productos comerciales contienen solo los cromóforos presentes en los capsaicinoides y en los ácidos grasos, se propone la siguiente metodología de cuantificación:

1 gramo de muestra se coloca en un vaso de precipitado, se agregan 25 mL de metanol y se agita durante 15 minutos (durante este tiempo se mantiene tapado con un vidrio de reloj), se clarifica el extracto agregándole 0.25 g de carbón activado manteniendo la agitación por 2 minutos. Se filtra obteniendo un filtrado de color naranja, se toma 1 mL y se afora a 10 mL, por último se registra por triplicado su espectro de UV registrando las lecturas a 267 y 279 nm.

#### **IV.7 ANÁLISIS ORGANOLÉPTICO DE CAPSAICINOIDES**

Prueba de Umbral

Para las pruebas sensoriales se procedió a solubilizar los capsaicinoides con etanol.

Estas pruebas no pretenden ser cuantitativas solo se trata de corroborar el umbral de un cierto número de personas y si son capaces éstas de ordenar una serie de muestras de diferente pungencia.

**Tabla 12. Concentraciones de capsaicina estándar para la prueba de umbral.**

| Clave | Solución stock ppm de capsaicina estándar(etanol) | Dilución con agua (mL) | Concentración ppm de capsaicina estándar |
|-------|---|------------------------|--|
| 175   | 0   | 0                      | 0  |
| 746   | 40  | 0.5 / 50               | 0.4                                      |
| 296   | 40  | 1.5 / 50               | 1.2                                      |
| 329   | 40  | 3.0 / 50               | 2.4                                      |
| 336   | 40  | 4.0 / 50               | 3.2                                      |
| 527   | 0   | 0                      | 0  |
| 338   | 40  | 5 / 50                 | 4  |

En el anexo 8 se encuentran los cuestionarios que se utilizaron para llevar a cabo estas pruebas, además de la encuesta realizada para conocer (anexo 11 y 12) el consumo de picante de cada uno de los jueces. En el anexo 9 se pone como ejemplo la presentación de muestras de las charolas del juez 1.

#### Prueba de Ordenación

En la Prueba de ordenación se usó la metodología de agitación mecánica, las concentraciones fueron cercanas a los valores de la prueba de umbral y se prepararon de la siguiente manera.

**Tabla 13. Preparación de muestras para la prueba de ordenación**

| Clave | Muestra     | Concentración en ppm de las muestras | Dilución con agua (mL) | Concentración ppm de capsaicinoides |
|-------|-------------|--------------------------------------|------------------------|-------------------------------------|
| A     | Valentina   | 16                                   | 25/50                  | 8                                   |
| B     | Súper Lucas | 48                                   | 25/50                  | 24                                  |
| C     | Rebanaditas | 144                                  | 25/50                  | 72                                  |
| D     | Pizza Hut   | 80                                   | 25/50                  | 40                                  |

Se les pidió que ordenaran las muestras utilizando como mínimo = 1 y como máximo =4 la intensidad de la pungencia en las muestras.

En el anexo 8 se encuentra el cuestionario utilizado para la prueba de ordenación y en el anexo 9 la aleatorización de las muestras para la evaluación sensorial de esta prueba. Las concentraciones de las muestras evaluadas se reportan en la tabla 13.



## V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### V.1 CURVAS PATRÓN DE CAPSAICINA ESTÁNDAR

Tabla 5. Curva patrón de capsaicina estándar a 267 nm y 279 nm

| Concentración (M) | Absorbancia a 267 nm | Absorbancia a 279 nm |
|-------------------|----------------------|----------------------|
| 0.000072          | 0.1544               | 0.2585               |
| 0.000120          | 0.2202               | 0.3962               |
| 0.000190          | 0.3326               | 0.6168               |
| 0.000260          | 0.4085               | 0.8033               |
| 0.000339          | 0.5375               | 1.0323               |

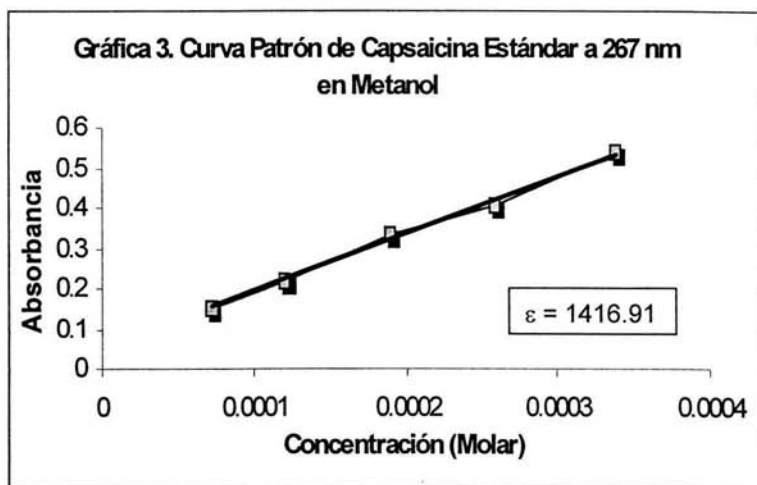
Se grafican las concentraciones en función de las absorbancias para encontrar los coeficientes de absortividad molar de los capsaicinoides, los resultados estadísticos se publican en el anexo 1 y 2.

Regresión lineal a  $\lambda$  de onda 267 nm:

Ordenada al origen = 0.0526

Coefficiente de absortividad =  $\epsilon = 1416.91 \text{ mL mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$

Coefficiente de regresión = 0.9983

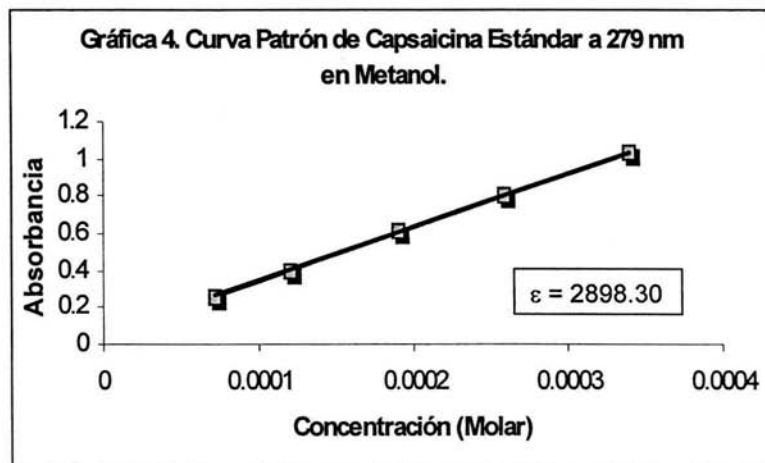


Regresión lineal a  $\lambda$  de onda 279 nm:

Ordenada al origen = 0.0526

Coefficiente de absortividad =  $\epsilon = 2898.30 \text{ mL mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$

Coefficiente de regresión = 0.9997



De la parte estadística se concluye que si existe correlación entre la señal (absorbancia) y la concentración de capsaicina estándar.

## V.2 HUMEDAD

**Tabla 6. % de humedad en materias primas pungentes troceadas.**

| # de muestras       | % de humedad del chile guajillo | % de humedad del chile piquín | % de humedad del chile árbol |
|---------------------|---------------------------------|-------------------------------|------------------------------|
| 1                   | 14.7                            | 6.8                           | 9.33                         |
| 2                   | 14.7                            | 7.4                           | 8.63                         |
| 3                   | 14.5                            | 7.1                           | 8.45                         |
| Promedio            | 14.6                            | 7.1                           | 8.80                         |
| Desviación Estándar | 0.1154                          | 0.3000                        | 0.4649                       |

Existe otro tipo de materias primas pungentes que han sufrido un proceso laborioso de secado y molienda, este tipo de materia prima se trata de mantener seca, debido a que como son partículas pequeñas el intercambio con el medio se ve favorecido por el contacto de superficie.

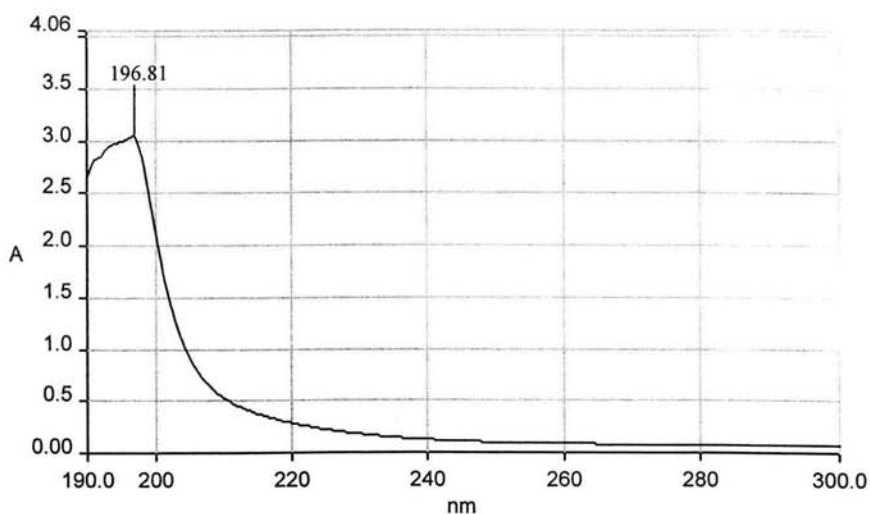
**Tabla 7. % de humedad en materias primas pungentes procesados en polvo.**

| # de muestras       | % de humedad del chile guajillo | % de humedad del chile piquín | % de humedad del chile B30 | % de humedad del chile árbol |
|---------------------|---------------------------------|-------------------------------|----------------------------|------------------------------|
| 1                   | 8.34                            | 7.23                          | 6.98                       | 9.33                         |
| 2                   | 8.03                            | 7.32                          | 7.96                       | 8.63                         |
| 3                   | 6.77                            | 7.42                          | 7.09                       | 8.45                         |
| Promedio            | 7.71                            | 7.32                          | 7.34                       | 8.80                         |
| Desviación Estándar | 0.8315                          | 0.0950                        | 0.5368                     | 0.4649                       |

### V.3 ELECCIÓN DEL DISOLVENTE

**Metanol:**

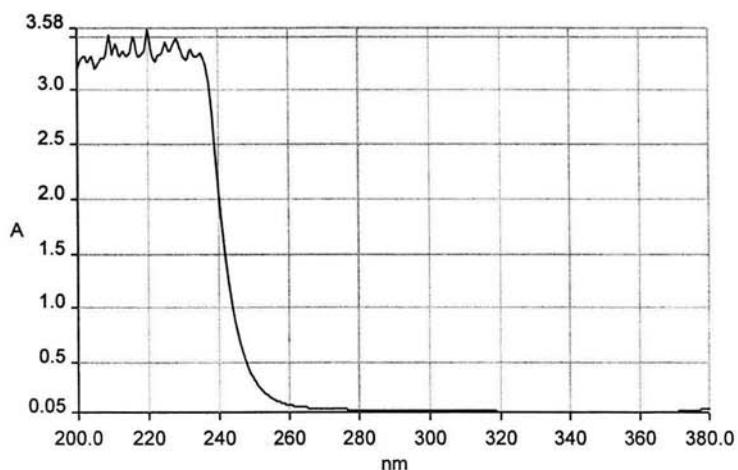
**Espectro 2. Metanol**



El metanol presenta una absorción al UV a  $\lambda_{\text{máx.}}$  de 196.81 nm, parte de ella podría sobreponerse con la banda de absorción de los capsaicinoides a 227 nm por lo que se recomienda utilizar para la cuantificación la banda a 280 nm.

**Cloroformo:**

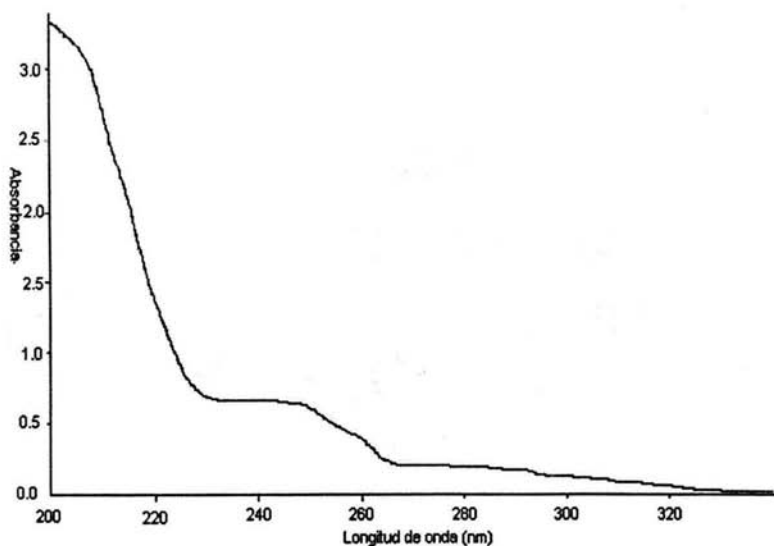
**Espectro 3. Cloroformo**



En este espectro se observa la interferencia de la absorción del cloroformo a 240 nm con la absorbancia de la capsaicina estándar a 227 nm y la posible interferencia con la absorbancia a 280 nm.

**Isopropanol:**

**Espectro 4. Isopropanol**



El isopropanol de acuerdo con la bibliografía es el disolvente más utilizado para la extracción de los capsaicinoides (13), sin embargo presenta absorciones muy amplias que van de 200 a 260 nm afectando las  $\lambda$ 's de absorción de los capsaicinoides.

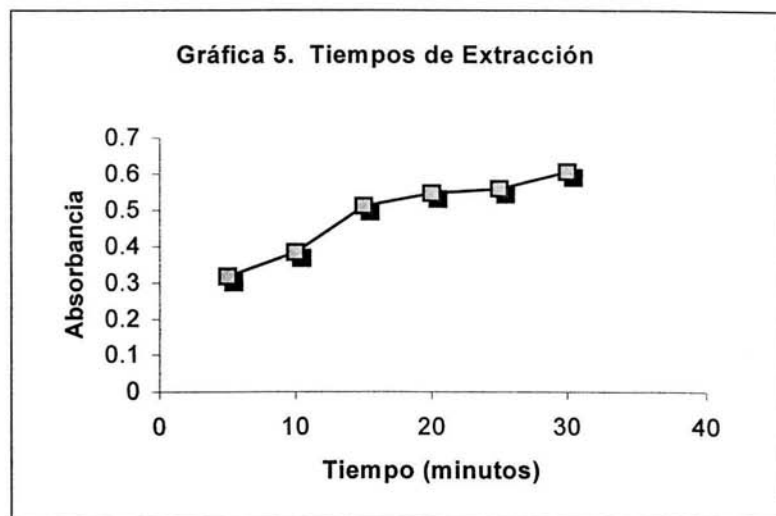
De lo anterior se concluye que el disolvente adecuado para la determinación espectrofotométrica de capsaicinoides es el metanol, utilizando para la cuantificación la banda a 280 nm.

#### V.4 OPTIMIZACIÓN DE LA EXTRACCIÓN

##### Tiempo óptimo de extracción

**Tabla 8. El tiempo óptimo de extracción.**

| Tiempo (minutos) | Absorbancia total a 280 nm |
|------------------|----------------------------|
| 5                | 0.3182                     |
| 10               | 0.3837                     |
| 15               | 0.5110                     |
| 20               | 0.5469                     |
| 25               | 0.5581                     |
| 30               | 0.6057                     |



Se concluye que el tiempo de agitación más adecuado para la extracción es de 15 minutos porque la absorbancia a este tiempo presenta un cambio significativo, después de 20 minutos los cambios son despreciables.

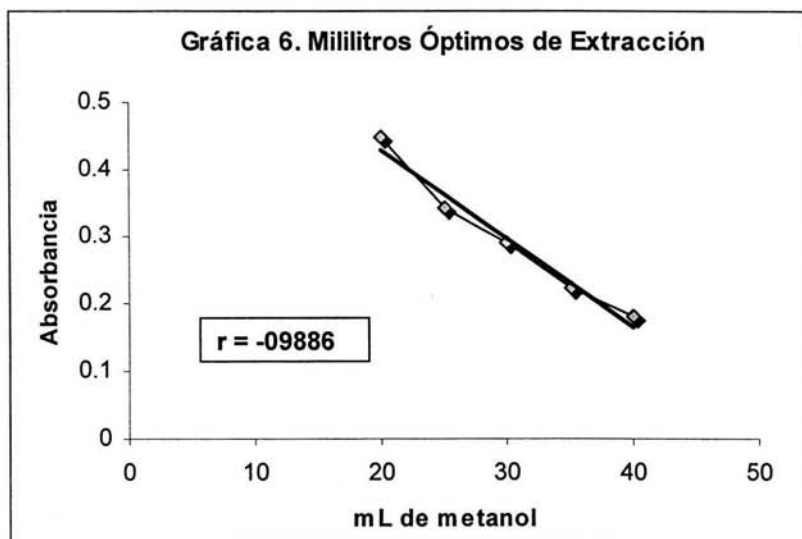
## Volumen óptimo de extracción

**Tabla 9. El volumen óptimo de extracción**

| mL de metanol | Absorbancia a 280 nm |
|---------------|----------------------|
| 20            | 0.4500               |
| 25            | 0.3433               |
| 30            | 0.2909               |
| 35            | 0.2217               |
| 40            | 0.1802               |

Durante esta extracción, no hay recambio de disolvente y sí la cantidad de soluto es suficiente para saturar al disolvente, se llega a una condición de equilibrio entre las moléculas de soluto que se disuelven en el disolvente y las que vuelven a formar parte del material sólido.

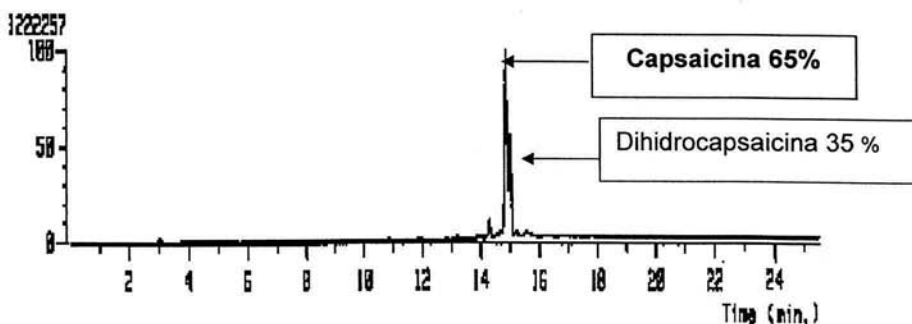
Al graficar las absorbancias en función de los mililitros de disolvente (gráfica 6) se observa una linealidad ( $r = 0.9886$ ), lo que indica que todos los factores que interviene en el proceso se mantienen constantes y lo único que modifica a la absorbancia es el volumen que se utiliza para la extracción. Se concluye que el volumen más adecuado para la extracción es de 25 mL, el utilizar un volumen mayor a éste implica un gasto innecesario.



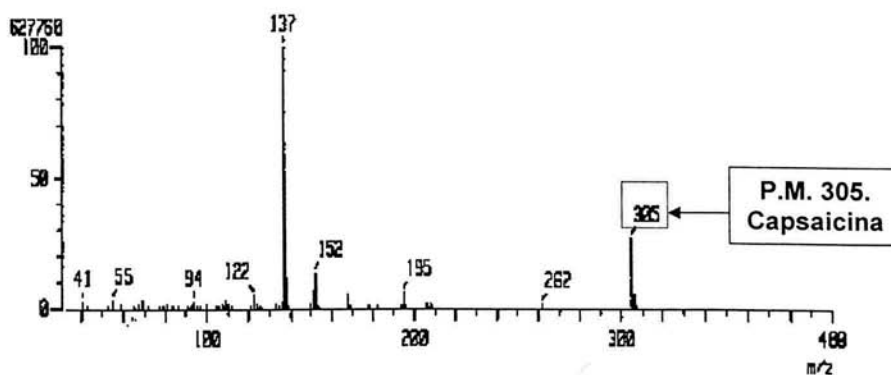
De lo anterior se concluye que para extraer los capsaicinoides de un gramo de muestra es necesario disolverla en 25 mL de metanol y mantenerla en agitación 15 minutos.

## V.5 CROMATOGRAFÍA DE GASES Y ESPECTROMETRÍA DE MASAS

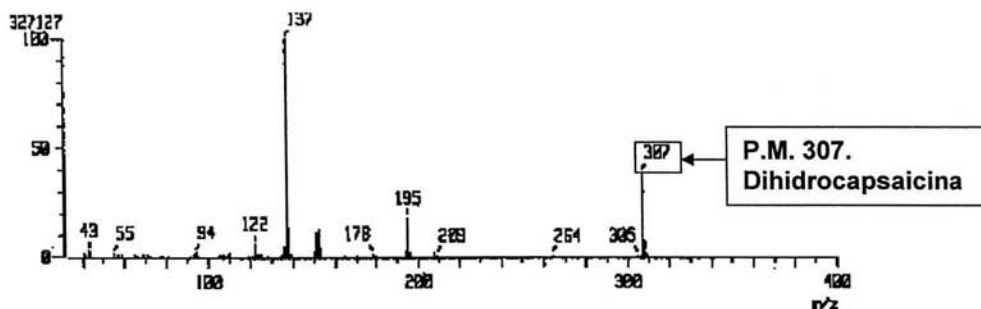
### Cromatograma 1. Capsaicina estándar



### Espectro de masas 1. Capsaicina estándar tr. 14.85 minutos



## Espectro de masas 2. Dihidrocapsaicina tr. 14.99 minutos



El cromatograma del extracto metanólico obtenido (cromatograma 2), presenta a un tiempo de retención (tr) 12.48 minutos, un componente mayoritario y 2 de baja intensidad a tr 14.83 minutos y 14.99 minutos estos últimos de acuerdo a los estándares corresponden a la capsaicina y dihidrocapsaicina respectivamente (espectro de masas 4 y 5).

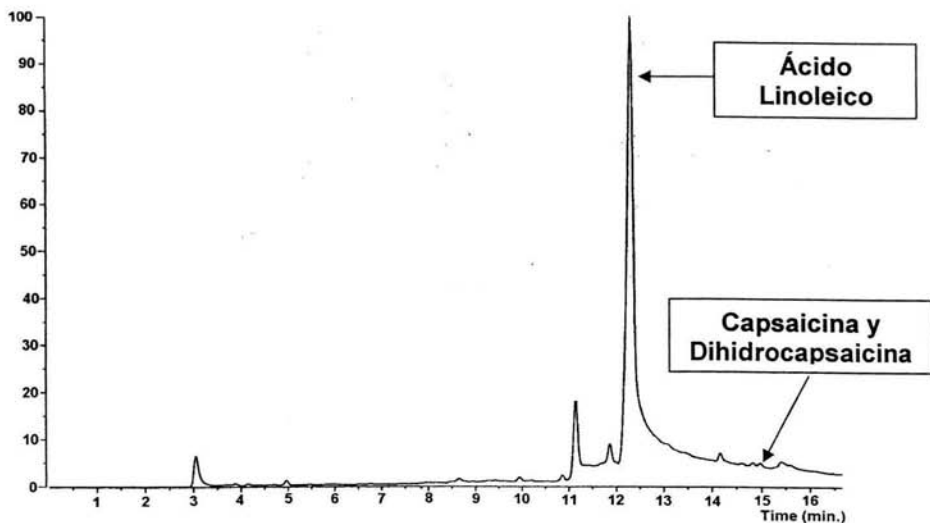
Al interpretar el espectro de masas del pico a tr 12.48 minutos (espectro 3) se llega a la conclusión que es ácido linoleico ( $C_{18}H_{32}O_2$ ). Lo que se comprueba al compararlo con un estándar del mismo ácido (espectro 4, biblioteca NIST)

Se presentan además otros picos cromatográficos en menor proporción que el correspondiente al linoleico que no se interpretan pero basados en sus tiempos de retención probablemente se trate de otros ácidos grasos

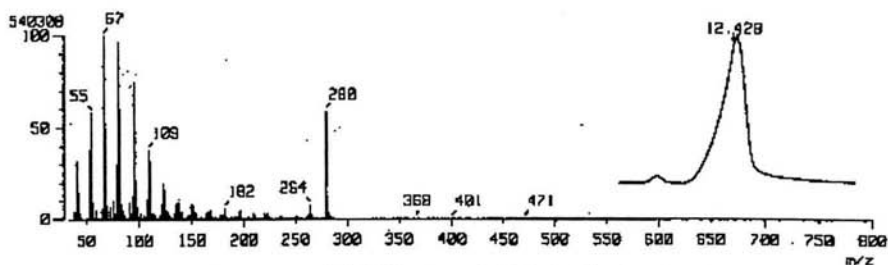
En conclusión y para los fines analíticos que se pretenden, se considera que el extracto metanólico obtenido es principalmente una mezcla de 3 compuestos, ácido linoleico, capsaicina y dihidrocapsaicina



**Cromatograma 2. Extracto metanólico de chile guajillo en polvo.**



**Espectro de masas 3. Extracto metanólico de chile guajillo en polvo  
tr. 12.43 minutos (ácido linoleico)**



**Espectro de masas 4. Biblioteca NIST del ácido linoleico**

[ Mass Library Spectrum ]

Library : Public/NIST

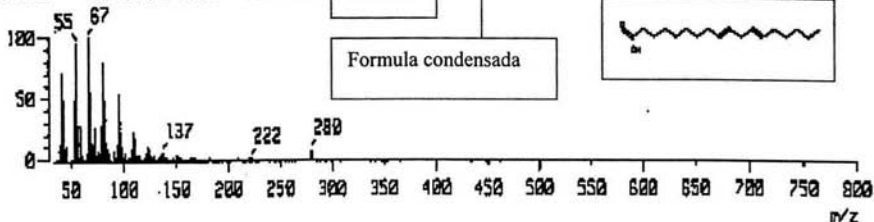
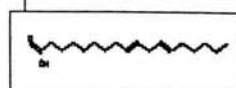
Entry No. : 31360 CAS No. : 60-33-3

Name : 9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-

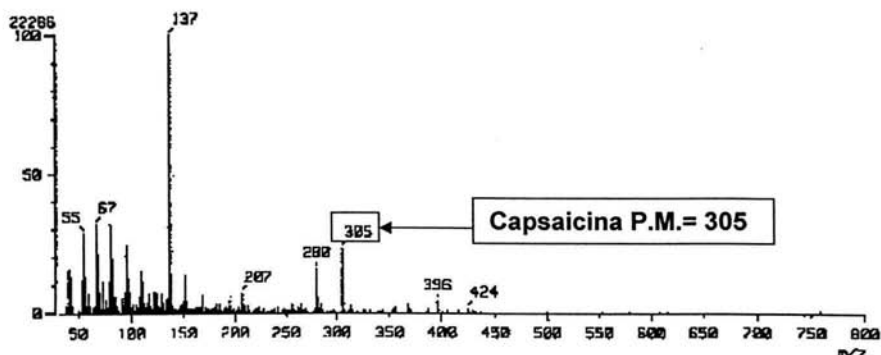
MW : 280 BP : m/z 67.0 Formula : C<sub>18</sub>H<sub>32</sub>O<sub>2</sub>

Formula desarrollada

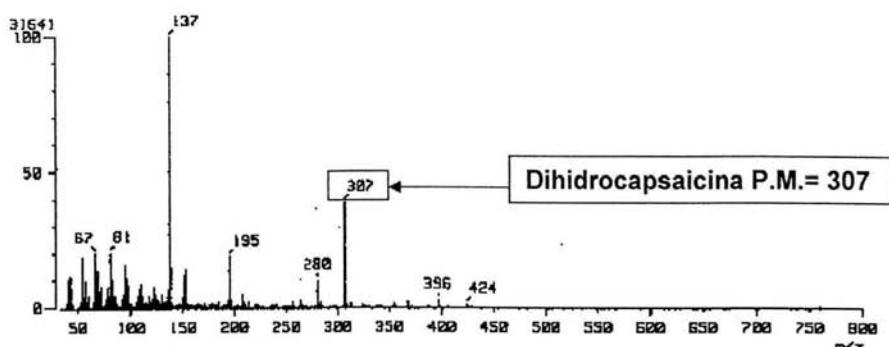
Formula condensada



**Espectro de masas 5. Extracto metanólico de chile guajillo en polvo tr. 14.83 minutos (capsaicina)**



**Espectro de masas 5. Extracto metanólico de chile guajillo en polvo tr. 14.99 (dihidrocapsaicina)**



Reconociendo al ácido linoléico como compuesto mayoritario, es importante definir las interferencias espectroscópicas que puede causar éste en la determinación cuantitativa de los capsaicinoides.

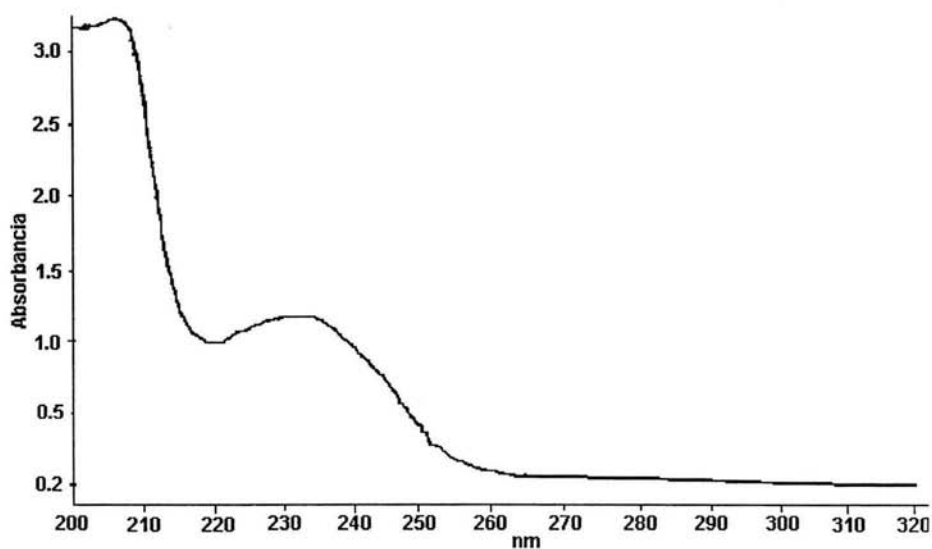
### **V.6 CÁLCULO APROXIMADO DE LA CONCENTRACIÓN DE LAS INTERFERENCIAS INSATURADAS**

Para conocer la concentración del ácido linoleico en la mezcla se registró el espectro de RM<sup>1</sup>H del extracto metabólico seco (anexo 14) y basado en las insaturaciones presentes se encontró que en 25 mL de extracto se tienen aproximadamente 660 mg de ácidos insaturados.

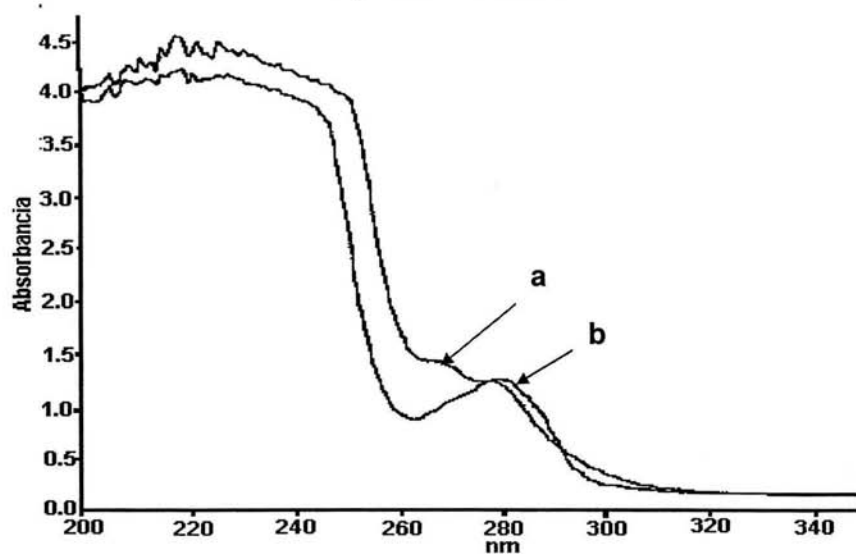
En disolución diluida su absorbancia al UV no interfiere con las de la capsaicina,

en disolución concentrada el final de la banda de absorción si se superpone con la de las capsaicina estándar.

**Espectro 5. Ácido linoleico estándar diluido.**



**Espectro 6. Espectro (a) ácido linoleico estándar concentrado, espectro (b) capsaicina estándar**



## V.7 CURVAS PATRÓN DEL ÁCIDO LINOLEICO ESTÁNDAR

Tabla 11. Curva de calibración de ácido linoleico a 267 y 279 nm.

| Concentración (M) | Absorbancia a 267 nm | Absorbancia a 279 nm |
|-------------------|----------------------|----------------------|
| 0.0107            | 0.2695               | 0.2224               |
| 0.0179            | 0.4229               | 0.3585               |
| 0.0251            | 0.5924               | 0.4956               |
| 0.0359            | 0.8017               | 0.6657               |
| 0.0465            | 1.0785               | 0.9289               |
| 0.0537            | 1.2836               | 1.0908               |

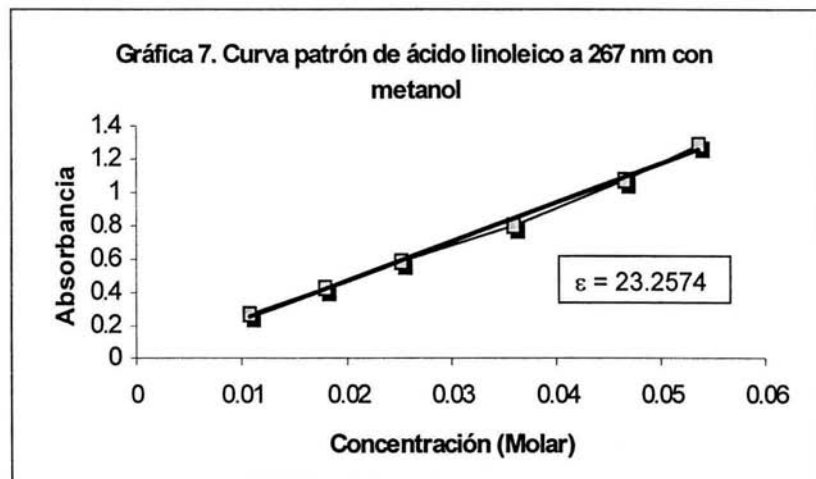
Se grafican las absorbancias y las concentraciones encontrando los respectivos coeficientes de absorptividad molar, los resultados estadísticos se publican en el anexo 3 y 4

Los resultados de la regresión lineal a la  $\lambda$ 267 nm son:

Ordenada al origen = 0.0057

Coefficiente de absorptividad =  $\epsilon = 23.2574 \text{ mL mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$

Coefficiente de regresión = 0.9982

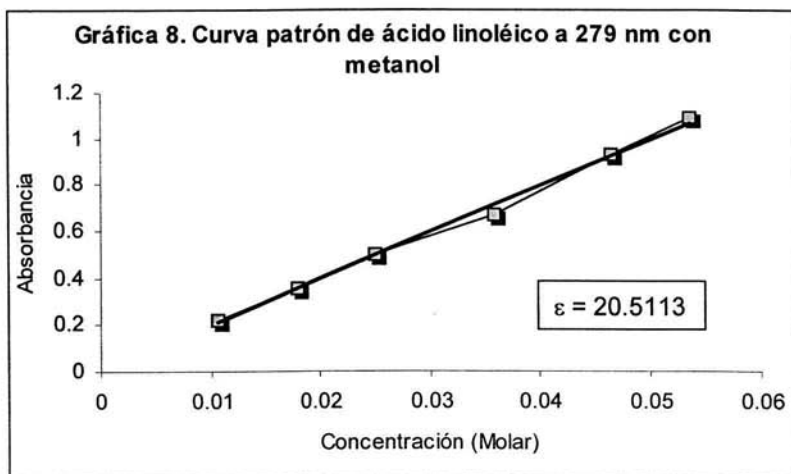


Los resultados de la regresión lineal a la  $\lambda = 279 \text{ nm}$  son:

Ordenada al origen = 0.0054

Coefficiente de absorptividad =  $\epsilon = 20.5113 \text{ mL mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$

Coefficiente de regresión = 0.9973



Por todo lo anterior se concluye que para determinar los capsaicinoides es necesario utilizar el principio de aditividades, leyendo a las  $\lambda$  máximas de 267 y 279 nm.

De la parte estadística se concluye que si existe correlación entre la señal (absorbancia) y la concentración del ácido linoleico estándar.

#### **V.8 DETERMINACIÓN ESPECTROFOTOMETRICA DE CAPSAICINOIDES UTILIZANDO UNA MEZCLA DE ESTANDARES DE CAPSAICINA Y DEL ÁCIDO LINOLEICO COMO INTERFERENCIA.**

Ácido linoleico estándar = 18.48 mg / mL

Capsaicina estándar = 0.1036 mg / mL

**Coefficientes de absortividad de los estándares de la curva patrón a 267 y 280 nm**

$\epsilon_{\lambda 267 \text{ nm}} = 23.2574 \text{ mL} / \text{mol cm}$  ácido linoleico

$\epsilon_{\lambda 279 \text{ nm}} = 20.5113 \text{ mL} / \text{mg cm}$  ácido linoleico

$\epsilon_{\lambda 267 \text{ nm}} = 1416.91 \text{ mL} / \text{mol cm}$  capsaicina

$\epsilon_{\lambda 279 \text{ nm}} = 2898.30 \text{ mL} / \text{mg cm}$  capsaicina

$A_{T 267 \text{ nm}} = 1.9805$

$$A_{T 279 \text{ nm}} = 2.2932$$

La celda utilizada es de 1 cm de espesor

$C_B$  = Concentración molar de A (ácido linoleico)

$C_A$  = concentración molar de B (capsaicinoides)

Los cálculos se realizan como sigue:

$$\lambda = 267 \text{ nm}$$

$$A_{T \lambda_{267 \text{ nm}}} = A_A + A_B$$

$$A_{T \lambda_{267 \text{ nm}}} = \epsilon_{A \lambda_{267 \text{ nm}}} C_A + \epsilon_{B \lambda_{267 \text{ nm}}} C_B \dots 1$$

$$\lambda = 279 \text{ nm}$$

$$A_{T \lambda_{279 \text{ nm}}} = A_A + A_B$$

$$A_{T \lambda_{279 \text{ nm}}} = \epsilon_{A \lambda_{279 \text{ nm}}} C_A + \epsilon_{B \lambda_{279 \text{ nm}}} C_B \dots 2$$

Sustituyendo los valores correspondientes en las ecuaciones (1) y (2).

$$A_{T \lambda = 267 \text{ nm}} = (23.2574)C_A + (1416.91)C_B$$

$$A_{T \lambda = 279 \text{ nm}} = (20.5113)C_A + (2898.30)C_B$$

Al resolver el sistema de ecuaciones se tiene:

$$\lambda = 267 \text{ nm}$$

$$C_A = \frac{(A_{T \lambda_{267 \text{ nm}}} - \epsilon_{B \lambda_{267 \text{ nm}}} C_B)}{(\epsilon_{A \lambda_{267 \text{ nm}}})} \dots 3$$

$$\lambda = 279 \text{ nm}$$

$$A_{T \lambda_{279 \text{ nm}}} = \epsilon_{A \lambda_{279 \text{ nm}}} \left[ \frac{A_{T \lambda_{267 \text{ nm}}} - \epsilon_{B \lambda_{267 \text{ nm}}} C_B}{\epsilon_{A \lambda_{267 \text{ nm}}}} \right] + \epsilon_{B \lambda_{279 \text{ nm}}} C_B \dots 4$$

$$2.2932 = (20.5113) \left[ \frac{(1.9805) - (1416.91)C_B}{(23.2574)} \right] + 2898.30C_B \dots 4$$

$$C_B = 3.29 \times 10^{-4} \text{ mol/L}$$

tomando en cuenta las diluciones realizadas se tiene:

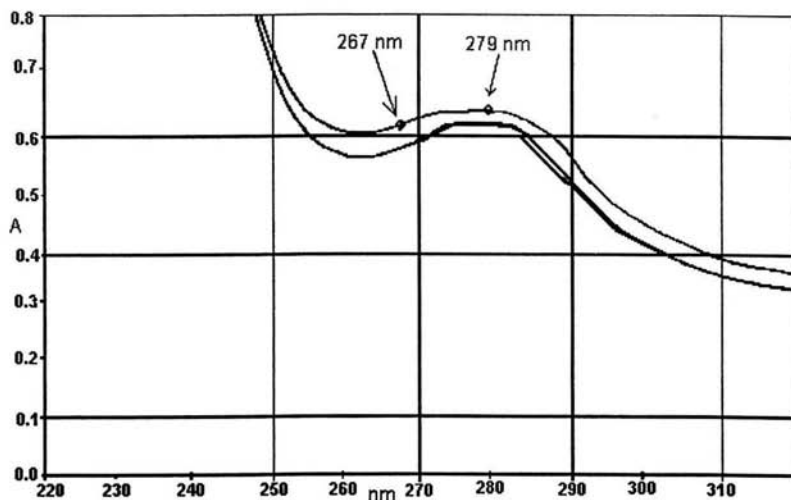
$$C_B = 3.58 \text{ mg de capsaicinoides}$$

Comparando los resultados obtenidos con la concentración de la capsaicina se observa que el método es aplicable.

### V.9 DETERMINACIÓN ESPECTROFOTOMETRICA DE CAPSAICINOIDES EN MATERIAS PRIMAS Y PRODUCTOS COMERCIALES

Como ejemplo se describe el análisis de una muestra de chile piquín, el espectro de ultravioleta de su extracto metanólico es el siguiente:

**Espectro 7. Extracto de chile piquín**



La celda utilizada es de 1 cm de espesor.

Las variables son:

$$A_{T 267 \text{ nm}} = 0.5745$$

$$A_{T \lambda_{279 \text{ nm}}} = 0.6064$$

$$\epsilon_A \lambda_{267} = 23.2574 \text{ mL mol}^{-1} \text{cm}^{-1} \text{ ácido linoleico estándar}$$

$$\epsilon_B \lambda_{267} = 1416.91 \text{ mL mol}^{-1} \text{cm}^{-1} \text{ capsaicina estándar}$$

$$\epsilon_A \lambda_{279} = 20.5113 \text{ mL mol}^{-1} \text{cm}^{-1} \text{ ácido linoleico estándar}$$

$$\epsilon_B \lambda_{279} = 2898.30 \text{ mL mol}^{-1} \text{cm}^{-1} \text{ capsaicina estándar}$$

$C_B$  = Concentración molar de A (ácido linoleico)

$C_A$  = Concentración molar de B (capsaicinoides)

**Los cálculos se realizan como sigue:**

$$\lambda = 267 \text{ nm}$$

$$A_{T \lambda_{267 \text{ nm}}} = A_A + A_B$$

$$A_{T \lambda_{267 \text{ nm}}} = \epsilon_A \lambda_{267 \text{ nm}} C_A + \epsilon_B \lambda_{267 \text{ nm}} C_B \dots 1$$

$$\lambda = 279 \text{ nm}$$

$$A_{T \lambda_{279 \text{ nm}}} = A_A + A_B$$

$$A_{T \lambda_{279 \text{ nm}}} = \epsilon_A \lambda_{279 \text{ nm}} C_A + \epsilon_B \lambda_{279 \text{ nm}} C_B \dots 2$$

Sustituyendo los valores correspondientes en las ecuaciones (1) y (2).

$$A_{T \lambda_{267 \text{ nm}}} = (23.2574) C_A + (1416.91) C_B$$

$$A_{T \lambda_{279 \text{ nm}}} = (20.5113) C_A + (2898.30) C_B$$

Al resolver el sistema de ecuaciones se tiene:

$$\lambda = 267 \text{ nm}$$



$$C_A = \frac{(A_{T\lambda_{267\text{ nm}}} - \epsilon_{B\lambda_{267\text{ nm}}} C_B)}{(\epsilon_{A\lambda_{267\text{ nm}}})} \dots 3$$

$\lambda = 279\text{ nm}$

$$A_{T\lambda_{279\text{ nm}}} = \epsilon_{A\lambda_{279\text{ nm}}} \left[ \frac{A_{T\lambda_{267\text{ nm}}} - \epsilon_{B\lambda_{267\text{ nm}}} C_B}{\epsilon_{A\lambda_{267\text{ nm}}}} \right] + \epsilon_{B\lambda_{279\text{ nm}}} C_B \dots 4$$

$$0.6064 = (20.5113) \left[ \frac{(0.5745) - (1416.91) C_B}{(23.2574)} \right] + 2898.30 C_B \dots 4$$

$$C_B = 6.04 \times 10^{-5} \text{ mol} / \text{L}$$

$C_B = 0.46\%$  de capsaicinoides

En base seca queda:

92.9 % en base seca del chile piquín → 0.46 % de capsaicinoides

100 % en base seca del chile piquín → X

X = 0.49 % de capsaicinoides

El valor obtenido 0.49 % de capsaicinoides se encuentra dentro de lo establecido en la bibliografía.

Los resultados obtenidos en las muestras trabajadas se reportan en el capítulo correspondiente

## V.10 CUANTIFICACIÓN DE CAPSAICINOIDES EN MATERIAS PRIMAS TROCEADAS Y EN POLVO

El análisis cuantitativo de las muestras trabajadas se realizó por triplicado, los datos de absorbancias y trabajo estadístico se reporta en los anexos 5, 6 y 7.

La concentración de capsaicinoides en base seca de los chiles árbol, guajillo y piquín se reportan en la tabla 14

**Tabla 14. Cuantificación de capsaicinoides en materias primas pungentes (troceados)**

| Chiles troceados | % promedio de capsaicinoides B.S. | Coefficiente de variación (%) |
|------------------|-----------------------------------|-------------------------------|
| Árbol            | <b>0.27</b>                       | <b>6.4</b>                    |
| Guajillo         | <b>0.19</b>                       | <b>29.8</b>                   |
| Piquín           | <b>0.48</b>                       | <b>4.3</b>                    |

La bibliografía reporta concentraciones de capsaicina desde 0.04 a 0.4% dependiendo de la variedad de chile y del método de extracción (14). En la tabla de resultados se observa que los valores obtenidos concuerdan con lo anterior.

El coeficiente de variación es una forma de ver las desviaciones estándar pero en valor de porcentaje, los valores obtenidos pueden considerarse normales ya que dado que los capsaicinoides se encuentran más dispersos en el pericarpio y la placenta, los chiles pequeños como el piquín al tener más centralizado este compuesto presentan menos coeficiente de varianza que el chile guajillo de mayor tamaño.

### **Cuantificación de capsaicinoides en base seca (BS) en materias primas pungentes**

Los resultados de la cuantificación de capsaicinoides en materias primas pungentes en polvo se reportan en la tabla 15

**Tabla 15. Cuantificación de capsaicinoides en materias primas pungentes (polvo)**

| Chiles en polvo | % promedio de capsaicinoides B.S. | Coefficiente de variación (%) |
|-----------------|-----------------------------------|-------------------------------|
| Árbol           | <b>0.43</b>                       | <b>9.3</b>                    |
| Guajillo        | <b>0.28</b>                       | <b>18.3</b>                   |
| Piquín          | <b>0.16</b>                       | <b>9.5</b>                    |
| B30             | <b>0.22</b>                       | <b>2.6</b>                    |

Los resultados reportan que la concentración de capsaicinoides en muestras en polvo es mayor que en las muestras troceadas, esto debido al tamaño de partícula que mejora el proceso de extracción al aumentar la superficie de contacto, también existe una disminución en la distancia que debe atravesar el disolvente hacia el interior de los sólidos (14).

La disminución de la pungencia de algunas variedades (piquín) se puede deber a una degradación de los capsaicinoides causada por la presencia de peroxidases y a la oxidación de la dihidrocapsaicina, ya que el producto había rebasado la fecha de caducidad.

El coeficiente de variación se incrementa y es lógico debido a que los valores promedios de capsaicinoides también aumentaron. El chile guajillo a causa de la distribución de los capsaicinoides vuelve a presentar una variación considerable debido a su tamaño

La muestra B 30 es una mezcla de chiles de composición desconocida

## V.11 CUANTIFICACIÓN DE CAPSAICINOIDES EN MUESTRAS COMERCIALES DE CONFITERÍA

El resultado de los análisis de los capsaicinoides en las muestras comerciales se reportan en la tabla 16:

**Tabla 16. Cuantificación de capsaicinoides en muestras comerciales**

| Productos comerciales | % promedio de capsaicinoides | Coefficiente de variación |
|-----------------------|------------------------------|---------------------------|
| Súper Lucas           | 0.12                         | 12.6                      |
| Rebanaditas           | 0.36                         | 15.4                      |
| Dips                  | 0.0                          | 0.0                       |
| Pulpa-rellerindos     | 0.0                          | 0.0                       |
| Pizza Hut             | 0.20                         | 12.5                      |
| Migolito              | 0.0                          | 0.0                       |
| Valentina             | 0.04                         | 14.25                     |

Los resultados de capsaicinoides pueden no corresponder a la percepción organoléptica de la pungencia ya que en estos productos se encuentra presente grandes cantidades de ácido cítrico y cloruro de sodio.

El resultado de cero puede corresponder o no, a la presencia de capsaicinoides ya que en éste tipo de trabajo no se determinó el límite de detección.

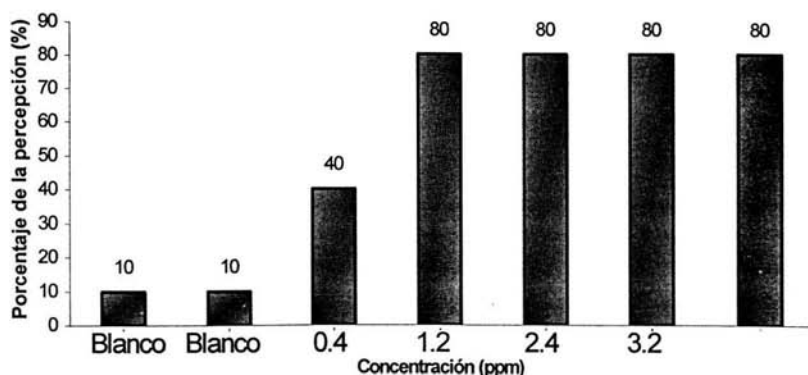
## V 12 EVALUACIÓN SENSORIAL

### Prueba de umbral

En base a los resultados de la encuesta (frecuencia de consumo) se decidió que las concentraciones a evaluar estuvieran en un intervalo de 0.4 ppm hasta 4 ppm.

Los resultados de la prueba de umbral se presentan en las gráficas 11 y 12.

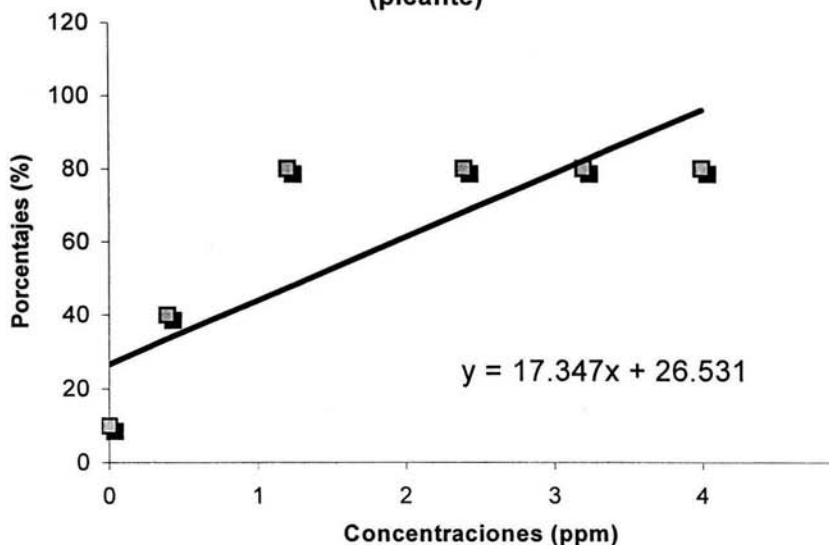
**Gráfica 12. Prueba de Umbral**



En la gráfica 12 se puede observar que en las muestras "ciegas" (que son aquellas que contiene lo mismo que las demás muestras con excepción del compuesto a evaluar), solo el 10 % de los jueces no fueron capaces de distinguir la diferencia y se anticiparon a la percepción del estímulo creyendo que estas si picaban.

Por otro lado se observa que a partir de 1.2 ppm el 80% de los jueces dan una respuesta similar en todas las muestras.

**Gráfica 13. Regresión lineal del estímulo percibido (picante)**



El umbral calculado en la gráfica 13 se puede observar que fue del 1.3 ppm y representa el estímulo (concentración) que percibe el 50 % para el grupo de jueces de esta población.

Al observar la regresión esta no es lineal porque a partir de la concentración de 1.2 ppm el porcentaje de respuesta de los jueces es constante.

El valor de umbral encontrado de 1.3 ppm es razonable y esperado si consideramos que el umbral encontrado en un grupo de jueces españoles fue de 0.5 ppm (31), es decir, que al ser la población mexicana consumidor habitual es lógico esperar que el umbral sea mayor.

Prueba de Ordenación.

Se tabularon las respuestas de la prueba de ordenación de las 4 muestras realizando el estadístico no paramétrico de análisis de ordenamiento de rangos, haciendo la comparación de todas las muestras entre sí.

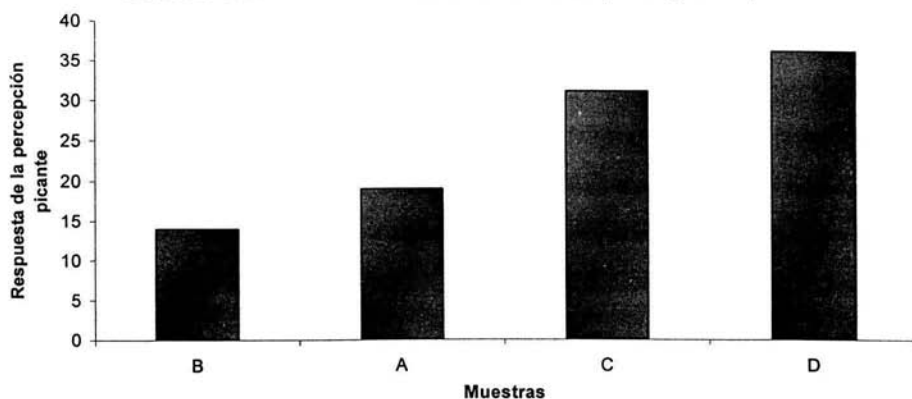
Los resultados de las muestras de la prueba de ordenación se presentan en la tabla 17 y gráfica 14.

**Tabla 17. Análisis de ordenación de rangos**

| Diferencias absolutas entre suma de rangos | Diferencia Significativa |
|--|--------------------------|
| A-B = 19 – 14 = 5                          | No                       |
| A-C = 19 – 31 = 12                         | No                       |
| A-D = 19 – 36 = 17                         | Sí                       |
| B-C = 14 – 31 = 17                         | Sí                       |
| B-D = 14 – 36 = 22                         | Si                       |
| C-D = 31 – 36 = 5                          | No                       |

Valor crítico para ordenación de rango al 5% de significancia = 15

**Gráfica 14. Prueba de ordenación de la percepción picante**

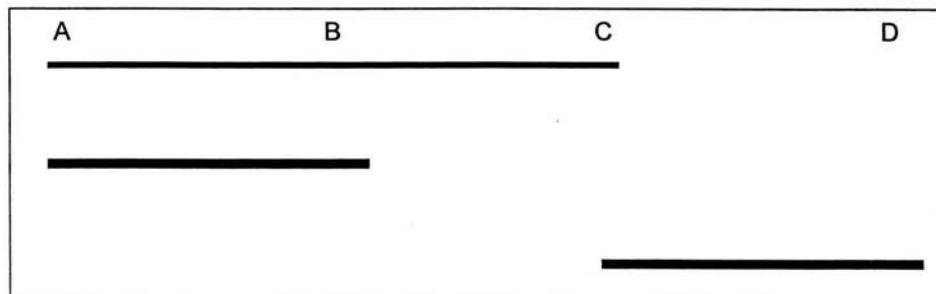


A – Valentina (8 ppm), B – Super Lucas (24 ppm), C – Rebanaditas (72 ppm) y D – Pizza Hut (40 ppm).

Analizando los resultados se observó que los jueces no ordenaron correctamente las muestras en base a su contenido de capsaicinoides, esto nos puede indicar que el grado de pungencia se ve enmascarado por otros ingredientes de las formulaciones, en la figura 7 se muestra la representación de las formas de discriminación que pudieron realizar en la prueba de ordenación quedando de la siguiente manera: Valentina (A), contra Super Lucas (B) y Rebanaditas (C) no se

encontraron diferencias, entre Super Lucas (B) con respecto a Valentina (A) tampoco hay diferencia y entre Rebanaditas (C) con respecto a Pizza Hut (D) no se encontró diferencia.

**Figura 7. Representación gráfica de la discriminación en muestras de confitería y condimentos**



En la tabla 13 se presentan las concentraciones reales de las muestras que en orden ascendente son: Valentina, Pizza Hut, Super Lucas y Rebanaditas, al comparar los resultados de los jueces contra las concentraciones reales se observa claramente que hubo problemas en encontrar el orden de las muestras con la concentración más cercana, caso Valentina (8 ppm) y Super Lucas (24 ppm), también Pizza Hut (40) y Rebanaditas (72 ppm), causando confusión a los jueces, esto se interpreta como algo lógico, debido que los jueces no presentan un entrenamiento previo en la evaluación de la pungencia, es obvio que al extraer las sustancias que causan la pungencia en el producto también fueron extraídos el azúcar, ácido cítrico y demás ingredientes solubles en etanol que se encuentran presentes en las muestras de confitería causando interferencia y amortiguando la pungencia de la misma.

Se puede concluir que hay interferencias para evaluar la intensidad del estímulo aún siendo las muestras de confitería las más concentradas mientras que en los condimentos aún siendo estos menos concentrados que los dulces, los jueces



podieron percibir la pungencia sin ninguna dificultad señalando a estas como las de mayor intensidad.

## **VII CONCLUSIONES**

### **1.- Método de extracción**

El disolvente adecuado para la extracción y determinación espectrofotométrica de los capsaicinoides es el metanol porque no interfiere con su absorción al UV.

El volumen de extracción no debe ser mayor de 25 mL

El tiempo de extracción necesario para lograr que el soluto y el disolvente lleguen al equilibrio es de 15 minutos.

El método de extracción elegido extrae al mismo tiempo los capsaicinoides y ácidos grasos de los cuales el ácido linoleico se encuentra en mayor proporción.

La metodología de extracción propuesta es la siguiente:

1 gramo de muestra se coloca en un vaso de precipitado, se agregan 25 mL de metanol y se agita durante 15 minutos (durante este tiempo se mantiene tapado con un vidrio de reloj), se clarifica el extracto agregándole 0.25 g de carbón activado manteniendo la agitación por 2 minutos. Se filtra obteniendo un filtrado de color naranja, se toma 1 mL y se afora a 10 mL.

### **2.- Determinación espectrofotométrica cuantitativa de capsaicinoides**

La capsaicina estándar absorbe al UV a 227 y 280 nm y a esta longitud de onda se cumple la ley de Lambert y Beer.

El ácido linoleico estándar absorbe a 232, 267 y 279 nm y se cumple la ley de Lambert y Beer para las longitudes de onda trabajadas.

El método elegido para la cuantificación de capsaicinoides por UV es utilizando el principio de aditividades utilizando las bandas 267 y 279 nm.

De la aplicación del método propuesto se concluye:

La variedad con mayor concentración de capsaicinoides es el chile piquín.

Las variedades de chile analizadas con mayor concentración de capsaicinoides para la materia prima pungente troceada es el chile piquín con un valor promedio

de 0.48% de capsaicinoides. Para la materia prima pungente en polvo es el chile de árbol con un valor promedio de 0.43% de capsaicinoides.

Las concentraciones de capsaicinoides encontrados en chiles troceados presentan una variación de 0.19 % a 0.48 % de capsaicinoides y en chiles en polvo es de 0.16 a 0.43 % de capsaicinoides.

Las concentraciones encontradas en los productos de confitería van de 0.0 % a 0.36 % de capsaicinoides.

La salsa Valentina (es catalogada como muy picosa) solo contiene 0.04 % de capsaicinoides. Su marbete reporta contener chiles secos puyas y serranos, los cuales no son considerados como variedades muy picantes

### **3.- Trabajo estadístico**

Existe correlación entre la señal (absorbancia) y la concentración de la capsaicina estándar

Existe correlación entre la señal (absorbancia) y la concentración del ácido linoleico estándar.

Se demuestra para ambos casos que las variables de concentración y la señal (absorbancia) estadísticamente siguen una distribución t, por lo tanto se calculan los intervalos de confianza para la pendiente y la ordenada.(anexo 1,2,3 y 4)

### **5.- Análisis sensorial**

En la prueba de umbral las muestras "ciegas" (que son aquellas que contiene lo mismo que las demás muestras con excepción del compuesto a evaluar), solo el 10 % de los jueces no fueron capaces de distinguir la diferencia y se anticiparon a la percepción del estímulo creyendo que éstas si picaban.

El umbral de 1.3 ppm, representa el estímulo (concentración) que percibe el 50 % de los jueces

En la prueba de ordenación la falta de entrenamiento no permitió que los jueces pudieran discriminar entre las muestras de confitería y los condimentos.

## **RECOMENDACIONES**

Para optimizar la información obtenida en este trabajo es recomendable considerar y realizar los siguientes puntos:

- 1) Mejorar la técnica de extracción de capsaicinoides buscando la posibilidad de extraer solo estos compuestos.
- 2) En el caso de seguir utilizando al metanol como disolvente se debe insistir en la purificación de los extractos metanólicos para separar estos de las interferencias presentes.
- 3) En el caso de la realización de cualquiera de los dos puntos anteriores sería adecuado corroborar la presencia de capsaicinoides en las muestras trabajadas realizando una corrida en un sistema CG/EM en los sus respectivos extractos.

## TRABAJO ESTADÍSTICO

### VII ANEXOS

#### ANEXO 1

##### Linealidad del sistema de capsaicina estándar a 267 nm.

Con esto se pretende demostrar que la señal (absorbancia) medida es directamente proporcional a la concentración del estándar.

La regresión lineal es la siguiente:

Ordenada al origen = 0.0526

Pendiente = Coeficiente de absortividad molar =  $m = 1416.91 \text{ L mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$

Coeficiente de correlación = 0.9983

La prueba de hipótesis sobre la linealidad del sistema es:

$H_0$  = No existe correlación entre la señal (absorbancia) y la concentración del estándar

$H_1$  = Si existe correlación entre la señal (absorbancia) y la concentración del estándar.

El estadístico empleado es:

$$t_{calc.} = \frac{|r|\sqrt{n-2}}{\sqrt{1-r^2}}$$
$$t_{calc.} = 36.47$$

$r$  = Coeficiente de correlación.

Se trata de una región bilateral o de "dos colas" con un riesgo de  $\alpha = 0.05$ ,  
g.l. =  $n - 2 = 3$ .

Para rechazar  $H_0$ :

$$t_{calc} > t_{tablas}$$

Donde :

$$t > t_{\alpha/2}$$

$$t_{0.025} = 3.182$$

Se concluye que  $36.47 > 3.75$  se rechaza la hipótesis nula y se acepta la  $H_1$  ó alterna lo que significa que si existe correlación entre la señal (absorbancia) y la concentración del estándar.

#### Capsaicina estándar a 267 nm

Cálculo para el intervalo de confianza del 95 % para la ordenada y la pendiente.

Se calculan  $\bar{X}$ ,  $S_{xx}$ ,  $S_{yy}$ ,  $S_{xy}$  y  $Se$ .

$$\bar{X} = \frac{\sum X}{n} = 0.0001962$$

$$S_{xx} = \sum X^2 - \frac{(\sum X)^2}{n} = 7.7 \times 10^{-8}$$

$$S_{yy} = \sum y^2 - \frac{(\sum y)^2}{n} = 0.1832169$$

$$S_{xy} = \sum xy - \frac{(\sum X)(\sum y)}{n} = 1.18 \times 10^{-4}$$

$$Se = \sqrt{\frac{S_{yy} - \frac{(S_{xy})^2}{S_{xx}}}{n - 2}} = 0.0488444$$

$\bar{X}$  = Media de "X"

$\sum X$  = Sumatoria de "X"

$\sum x^2$  = Sumatoria de las "x" al cuadrado

$\sum y^2$  = Sumatoria de las "y" al cuadrado

$\sum xy$  = Sumatoria de las "X" y "y"

n = Número de parejas experimentales

**Intervalo de confianza sobre la ordenada**

$$\beta = b \pm t_{\frac{\alpha}{2}} * Se \sqrt{\frac{1}{n} + \frac{X^2}{S_{xx}}}$$

$$\beta = 0.0526 \pm 0.1107$$

$$(-0.0580 < \beta > 0.1633)$$

**Intervalo de confianza para la pendiente**

$$\mu = m \pm t_{\frac{\alpha}{2}} * Se \frac{1}{\sqrt{S_{xx}}}$$

$$\mu = 1416.91 \pm 488.64$$

$$(928.26 < m > 1905.55)$$

## ANEXO 2

### Linealidad del sistema de capsaicina estándar 279 nm.

Con esto se pretende demostrar que la señal (absorbancia) medida es directamente proporcional a la concentración del estándar.

La regresión lineal es la siguiente:

Ordenada al origen = 0.0526

Pendiente = Coeficiente de absortividad molar =  $m = 2898.30 \text{ L mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$

Coeficiente de regresión = 0.9997

La prueba de hipótesis sobre la linealidad del sistema es:

**Ho** = No existe correlación entre la señal (absorbancia) y la concentración del estándar

**Hi** = Si existe correlación entre la señal (absorbancia) y la concentración del estándar.

El estadístico empleado es:

$$t_{calc.} = \frac{|r|\sqrt{n-2}}{\sqrt{1-r^2}}$$
$$t_{calc.} = 47.10$$

$r$  = Coeficiente de correlación.

Se trata de una región bilateral o de "dos colas" con un riesgo de  $\alpha = 0.05$ , g.l. =  $n - 2 = 3$ .

Para rechazar  $H_0$ :

$$t_{calc} > t_{tablas}$$

Donde :

$$t > t_{\alpha/2}$$

$$t_{0.025} = 3.182$$

Se concluye que  $47.10 > 3.182$  se rechaza la hipótesis nula y se acepta la  $H_i$  ó alterna lo que significa que si existe correlación entre la señal (absorbancia) y la concentración del estándar.

### Capsaicina estándar a 279 nm

Cálculo para el intervalo de confianza del 95 % para la ordenada y la pendiente.

Se calculan  $\bar{X}$ ,  $S_{xx}$ ,  $S_{yy}$ ,  $S_{xy}$  y  $Se$ .

$$\bar{X} = \frac{\sum X}{n} = 0.0001962$$

$$S_{xx} = \sum X^2 - \frac{(\sum X)^2}{n} = 7.7 \times 10^{-8}$$

$$S_{yy} = \sum y^2 - \frac{(\sum y)^2}{n} = 0.7061375$$

$$S_{xy} = \sum xy - \frac{(\sum X)(\sum y)}{n} = 2.33 \times 10^{-4}$$

$$Se = \sqrt{\frac{S_{yy} - \frac{(S_{xy})^2}{S_{xx}}}{n - 2}} = 0.032947$$

$\bar{X}$  = Media de "X"

$\sum X$  = Sumatoria de "X"

$\sum x^2$  = Sumatoria de las "x" al cuadrado

$\sum y^2$  = Sumatoria de las "y" al cuadrado

$\sum xy$  = Sumatoria de las "X" y "y"



n = Número de parejas experimentales

**Intervalo de confianza sobre la ordenada**

$$\beta = b \pm t_{\frac{\alpha}{2}} * Se \sqrt{\frac{1}{n} + \frac{\bar{X}^2}{S_{xx}}}$$

$$\beta = 0.0526 \pm 0.0746$$

$$(-0.0220 < \beta > 0.1272)$$

**Intervalo de confianza para la pendiente**

$$\mu = m \pm t_{\frac{\alpha}{2}} * Se \frac{1}{\sqrt{S_{xx}}}$$

$$\mu = 2898.30 \pm 329.60$$

$$(2568.69 < m > 3227.99)$$

### ANEXO 3

**Linealidad del sistema ácido linoleico a 267 nm.**

Con esto se pretende demostrar que la señal (absorbancia) medida es directamente proporcional a la concentración del estándar.

La regresión lineal es la siguiente:

Ordenada al origen = 0.0057

Pendiente = Coeficiente de absortividad molar = m = 23.2574 L mol<sup>-1</sup>cm<sup>-1</sup>

Coeficiente de regresión = 0.9982

La prueba de hipótesis sobre la linealidad del sistema es:

**Ho** = No existe correlación entre la señal (absorbancia) y la concentración del estándar

Hi = Si existe correlación entre la señal (absorbancia) y la concentración del estándar.

El estadístico empleado es:

$$t_{calc.} = \frac{|r|\sqrt{n-2}}{\sqrt{1-r^2}}$$
$$t_{calc.} = 33.28$$

r = Coeficiente de correlación.

Se trata de una región bilateral o de "dos colas" con un nivel de riesgo es de  $\alpha = 0.05$ , g.l. =  $n - 2 = 4$ .

Para rechazar Ho:

$$t_{calc.} > t_{tablas}$$

Donde :

$$t > t_{\alpha / 2}$$
$$t_{0.025} = 2.776$$

Se concluye que  $33.28 > 2.77$  se rechaza la hipótesis nula y se acepta la Hi ó alterna lo que significa que si existe correlación entre la señal (absorbancia) y la concentración del estándar.

#### Ácido linoleico estándar a 267 nm

Cálculo para el intervalo de confianza del 95 % para la ordenada y la pendiente.

Se calculan  $\bar{X}$ , Sxx, Syy, Sxy y Se.

$$\bar{X} = \frac{\sum X}{n} = 0.031633$$

$$S_{xx} = \sum X^2 - \frac{(\sum X)^2}{n} = 0.001395$$

$$S_{yy} = \sum y^2 - \frac{(\sum y)^2}{n} = 0.757586$$

$$S_{xy} = \sum xy - \frac{(\sum X)(\sum y)}{n} = 0.032459353$$

$$Se = \sqrt{\frac{S_{yy} - \frac{(S_{xy})^2}{S_{xx}}}{n - 2}} = 0.0324559$$

$\bar{X}$  = Media de "X"

$\sum X$  = Sumatoria de "X"

$\sum x^2$  = Sumatoria de las "x" al cuadrado

$\sum y^2$  = Sumatoria de las "y" al cuadrado

$\sum xy$  = Sumatoria de las "X" y "y"

n = Número de parejas experimentales

**Intervalo de confianza sobre la ordenada**

$$\beta = b \pm t_{\frac{\alpha}{2}} * Se \sqrt{\frac{1}{n} + \frac{X^{-2}}{S_{xx}}}$$

$$\beta = 0.0057 \pm 0.0589740$$

$$(- 0.0532 < \beta > 0.0646 )$$

### Intervalo de confianza para la pendiente

$$\mu = m \pm t_{\frac{\alpha}{2}} * Se \frac{1}{\sqrt{S_{xx}}}$$

$$\mu = 23.2574 \pm 1.7862$$
$$(21.4712 \langle m \rangle 25.0436)$$

### ANEXO 4

#### Linealidad del sistema ácido linoléico a 279 nm

Con esto se pretende demostrar que la señal (absorbancia) medida es directamente proporcional a la concentración del estándar

La regresión lineal es la siguiente:

Ordenada al origen = -0.0134

Pendiente = Coeficiente de extinción molar =  $m = 20.5113 \text{ L mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$

Coeficiente de regresión = 0.9959

La prueba de hipótesis sobre la linealidad del sistema es:

**Ho** = No existe correlación entre la señal (absorbancia) y la concentración del estándar

**Hi** = Si existe correlación entre la señal (absorbancia) y la concentración del estándar.

El estadístico empleado es:

$$t_{calc.} = \frac{|r|\sqrt{n-2}}{\sqrt{1-r^2}}$$
$$t_{calc.} = 22.01$$

r = Coeficiente de correlación

Se trata de una región bilateral o de "dos colas" con un nivel de riesgo es de

$\alpha = 0.05$ , g.l. =  $n - 2 = 4$ .

Para rechazar **Ho**:

$$t_{\text{calc}} > t_{\text{tablas}}$$

Donde :

$$t > t_{\alpha / 2}$$

$$t_{0.025} = 2.776$$

Se concluye que  $22.01 > 2.776$  se rechaza la hipótesis nula y se acepta la  $H_1$  ó alterna lo que significa que si existe correlación entre la señal (absorbancia) y la concentración del estándar.

#### Ácido linoléico estándar a 279 nm

Cálculo para el intervalo de confianza del 95 % para la ordenada y la pendiente.

Se calculan  $\bar{X}$ ,  $S_{xx}$ ,  $S_{yy}$ ,  $S_{xy}$  y  $S_e$ .

$$\bar{X} = \frac{\sum X}{n} = 0.031633$$

$$S_{xx} = \sum X^2 - \frac{(\sum X)^2}{n} = 0.001395$$

$$S_{yy} = \sum y^2 - \frac{(\sum y)^2}{n} = 0.5608111$$

$$S_{xy} = \sum xy - \frac{(\sum X)(\sum y)}{n} = 0.0279033$$

$$Se = \sqrt{\frac{S_{yy} - \frac{(S_{xy})^2}{S_{xx}}}{n - 2}} = 0.0270946$$

$\bar{X}$  = Media de "X"

$\sum X$  = Sumatoria de "X"

$\sum x^2$  = Sumatoria de las "x" al cuadrado

$\sum y^2$  = Sumatoria de las "y" al cuadrado

$\sum xy$  = Sumatoria de las "X" y "y"

n = Número de parejas experimentales

**Intervalo de confianza sobre la ordenada**

$$\beta = b \pm t_{\frac{\alpha}{2}} * Se \sqrt{\frac{1}{n} + \frac{\bar{X}^2}{S_{xx}}}$$

$$\beta = 0.0054 \pm 0.0707008$$

$$(-0.0653 < \beta > 0.0553)$$

**Intervalo de confianza para la pendiente**

$$\mu = m \pm t_{\frac{\alpha}{2}} * Se \frac{1}{\sqrt{S_{xx}}}$$

$$\mu = 20.5113 \pm 2.01332$$

$$(18.4979 < m > 22.5246)$$

## DATOS EXPERIMENTALES

### ANEXO 5

**Tabla 18. Cuantificación de capsaicinoides en materias primas pungentes (troceados)**

| Chile de Árbol               |   |   |                           |
|------------------------------|---|---|---------------------------|
| Muestras                     | Absorbancia<br>$\lambda = 267 \text{ nm}$ | Absorbancia<br>$\lambda = 279 \text{ nm}$ | (%) BS.<br>Capsaicinoides |
| 1                            | 0.3580                                    | 0.3677                                    | 0.26                      |
| 2                            | 0.3464                                    | 0.3628                                    | 0.29                      |
| 3                            | 0.2989                                    | 0.3153                                    | 0.26                      |
| Media                        | 0.3344                                    | 0.3486                                    | 0.27                      |
| Desviación estándar          | 0.0313                                    | 0.0289                                    | 0.02                      |
| Coeficiente de variación (%) | 9.36                                      | 8.29                                      | 6.40                      |

**Tabla 19. Cuantificación de capsaicinoides en materias primas pungentes (troceados)**

| Chile Guajillo               |   |   |                           |
|------------------------------|---|---|---------------------------|
| Muestras                     | Absorbancia<br>$\lambda = 267 \text{ nm}$ | Absorbancia<br>$\lambda = 279 \text{ nm}$ | (%) BS.<br>Capsaicinoides |
| 1                            | 0.5442                                    | 0.5256                                    | 0.24                      |
| 2                            | 0.4101                                    | 0.3873                                    | 0.13                      |
| 3                            | 0.4355                                    | 0.4244                                    | 0.20                      |
| Media                        | 0.4632                                    | 0.4457                                    | 0.19                      |
| Desviación estándar          | 0.0712                                    | 0.0715                                    | 0.06                      |
| Coeficiente de Variación (%) | 15.30                                     | 16.04                                     | 29.89                     |

**Tabla 20. Cuantificación de capsaicinoides en materias primas pungentes (troceados).**

| Chile Piquín                 |   |   |                           |
|------------------------------|---|---|---------------------------|
| Muestras                     | Absorbancia<br>$\lambda = 267 \text{ nm}$ | Absorbancia<br>$\lambda = 279 \text{ nm}$ | (%) BS.<br>Capsaicinoides |
| 1                            | 0.5745                                    | 0.6064                                    | 0.49                      |
| 2                            | 0.5740                                    | 0.5993                                    | 0.46                      |
| 3                            | 0.6141                                    | 0.6422                                    | 0.48                      |
| Media                        | 0.5875                                    | 0.6159                                    | 0.48                      |
| Desviación estándar          | 0.0230                                    | 0.0229                                    | 0.02                      |
| Coeficiente de Variación (%) | 3.91                                      | 3.71                                      | 4.33                      |

## ANEXO 6

**Tabla 21. Cuantificación de capsaicinoides en materias primas pungentes (polvo).**

| Muestras                      | Chile Guajillo                            |   |                           |
|-------------------------------|---|---|---------------------------|
|                               | Absorbancia<br>$\lambda = 267 \text{ nm}$ | Absorbancia<br>$\lambda = 279 \text{ nm}$ | (%) BS.<br>Capsaicinoides |
| 1                             | <b>1.3228</b>                             | <b>1.2174</b>                             | <b>0.24</b>               |
| 2                             | <b>1.4490</b>                             | <b>1.3472</b>                             | <b>0.34</b>               |
| 3                             | <b>1.3638</b>                             | <b>1.2582</b>                             | <b>0.27</b>               |
| Media                         | <b>1.3785</b>                             | <b>1.2742</b>                             | <b>0.28</b>               |
| Desviación estándar           | <b>0.0643</b>                             | <b>0.0663</b>                             | <b>0.05</b>               |
| Coefficiente de Variación (%) | <b>4.66</b>                               | <b>5.20</b>                               | <b>18.32</b>              |

**Tabla 22. Cuantificación de capsaicinoides en materias primas pungentes (polvo)**

| Muestras                      | Chile Piquín                              |   |                           |
|-------------------------------|---|---|---------------------------|
|                               | Absorbancia<br>$\lambda = 267 \text{ nm}$ | Absorbancia<br>$\lambda = 279 \text{ nm}$ | (%) BS.<br>Capsaicinoides |
| 1                             | <b>0.6099</b>                             | <b>0.5696</b>                             | <b>0.16</b>               |
| 2                             | <b>0.6220</b>                             | <b>0.5854</b>                             | <b>0.18</b>               |
| 3                             | <b>0.5894</b>                             | <b>0.5498</b>                             | <b>0.15</b>               |
| Media                         | <b>0.6071</b>                             | <b>0.5682</b>                             | <b>0.16</b>               |
| Desviación estándar           | <b>0.0164</b>                             | <b>0.0178</b>                             | <b>0.02</b>               |
| Coefficiente de Variación (%) | <b>2.70</b>                               | <b>3.13</b>                               | <b>9.5</b>                |

**Tabla 23. Cuantificación de capsaicinoides en materias primas pungentes (polvo)**

| Muestras                      | Chile B 30                                |   |                           |
|-------------------------------|---|---|---------------------------|
|                               | Absorbancia<br>$\lambda = 267 \text{ nm}$ | Absorbancia<br>$\lambda = 279 \text{ nm}$ | (%) BS.<br>Capsaicinoides |
| 1                             | <b>0.7695</b>                             | <b>0.7231</b>                             | <b>0.22</b>               |
| 2                             | <b>0.7478</b>                             | <b>0.7057</b>                             | <b>0.23</b>               |
| 3                             | <b>0.7650</b>                             | <b>0.7188</b>                             | <b>0.22</b>               |
| Media                         | <b>0.7607</b>                             | <b>0.7158</b>                             | <b>0.22</b>               |
| Desviación estándar           | <b>0.0114</b>                             | <b>0.0090</b>                             | <b>0.01</b>               |
| Coefficiente de Variación (%) | <b>1.49</b>                               | <b>1.25</b>                               | <b>2.6</b>                |



**Tabla 24. Cuantificación de capsaicinoides en materias primas pungentes (polvo)**

| Muestras                         | Chile de Árbol                            |   |                           |
|----------------------------------|---|---|---------------------------|
|                                  | Absorbancia<br>$\lambda = 267 \text{ nm}$ | Absorbancia<br>$\lambda = 279 \text{ nm}$ | (%) BS.<br>Capsaicinoides |
| 1                                | <b>1.0679</b>                             | <b>1.0274</b>                             | <b>0.43</b>               |
| 2                                | <b>1.1281</b>                             | <b>1.0911</b>                             | <b>0.48</b>               |
| 3                                | <b>1.0474</b>                             | <b>1.0026</b>                             | <b>0.40</b>               |
| Media                            | <b>1.0811</b>                             | <b>1.0403</b>                             | <b>0.43</b>               |
| Desviación<br>estándar           | <b>0.0419</b>                             | <b>0.0456</b>                             | <b>0.04</b>               |
| Coefficiente de<br>Variación (%) | <b>3.87</b>                               | <b>4.38</b>                               | <b>9.39</b>               |

**ANEXO 7**

**Tabla 25. Cuantificación de capsaicinoides en muestras comerciales**

| Muestras                         | Súper Lucas                               |   |                       |
|----------------------------------|---|---|-----------------------|
|                                  | Absorbancia<br>$\lambda = 267 \text{ nm}$ | Absorbancia<br>$\lambda = 279 \text{ nm}$ | (%)<br>Capsaicinoides |
| 1                                | <b>0.4561</b>                             | <b>0.4339</b>                             | <b>0.14</b>           |
| 2                                | <b>0.3857</b>                             | <b>0.3667</b>                             | <b>0.12</b>           |
| 3                                | <b>0.3468</b>                             | <b>0.3296</b>                             | <b>0.11</b>           |
| Media                            | <b>0.3962</b>                             | <b>0.3767</b>                             | <b>0.12</b>           |
| Desviación<br>estándar           | <b>0.0554</b>                             | <b>0.0528</b>                             | <b>0.01</b>           |
| Coefficiente de<br>Variación (%) | <b>13.98</b>                              | <b>14.01</b>                              | <b>12.66</b>          |

**Tabla 26. Cuantificación de capsaicinoides en muestras comerciales**

| Muestras                         | Rebanaditas de sandía                     |   |                       |
|----------------------------------|---|---|-----------------------|
|                                  | Absorbancia<br>$\lambda = 267 \text{ nm}$ | Absorbancia<br>$\lambda = 279 \text{ nm}$ | (%)<br>Capsaicinoides |
| 1                                | <b>0.9911</b>                             | <b>0.9504</b>                             | <b>0.35</b>           |
| 2                                | <b>1.0397</b>                             | <b>0.9842</b>                             | <b>0.31</b>           |
| 3                                | <b>1.0277</b>                             | <b>0.9978</b>                             | <b>0.42</b>           |
| Media                            | <b>1.0195</b>                             | <b>0.9774</b>                             | <b>0.36</b>           |
| Desviación<br>estándar           | <b>0.0253</b>                             | <b>0.0244</b>                             | <b>0.05</b>           |
| Coefficiente de<br>Variación (%) | <b>2.48</b>                               | <b>2.49</b>                               | <b>15.44</b>          |

**Tabla 27. Cuantificación de capsaicinoides en muestra comerciales**

| Muestras                      | Dips con chile Miguelito                  |   |                    |
|-------------------------------|---|---|--------------------|
|                               | Absorbancia<br>$\lambda = 267 \text{ nm}$ | Absorbancia<br>$\lambda = 279 \text{ nm}$ | (%) capsaicinoides |
| 1                             | <b>0.1470</b>                             | <b>0.1277</b>                             | <b>0.0</b>         |
| 2                             | <b>0.1476</b>                             | <b>0.1282</b>                             | <b>0.0</b>         |
| 3                             | <b>0.1428</b>                             | <b>0.1239</b>                             | <b>0.0</b>         |
| Media                         | <b>0.1458</b>                             | <b>0.1266</b>                             | <b>0.0</b>         |
| Desviación estándar           | <b>0.0026</b>                             | <b>0.0023</b>                             | <b>0.0</b>         |
| Coefficiente de Variación (%) | <b>1.78</b>                               | <b>1.81</b>                               | <b>0.0</b>         |

**Tabla 28. Cuantificación de capsaicinoides en muestra comerciales.**

| Muestras                      | Vero. Pulpa rellerindos                   |   |                    |
|-------------------------------|---|---|--------------------|
|                               | Absorbancia<br>$\lambda = 267 \text{ nm}$ | Absorbancia<br>$\lambda = 279 \text{ nm}$ | (%) Capsaicinoides |
| 1                             | <b>1.3180</b>                             | <b>1.1317</b>                             | <b>0.0</b>         |
| 2                             | <b>0.8600</b>                             | <b>0.7457</b>                             | <b>0.0</b>         |
| 3                             | <b>0.8386</b>                             | <b>0.7214</b>                             | <b>0.0</b>         |
| Media                         | <b>1.0055</b>                             | <b>0.8662</b>                             | <b>0.0</b>         |
| Desviación estándar           | <b>0.2708</b>                             | <b>0.2301</b>                             | <b>0.0</b>         |
| Coefficiente de Variación (%) | <b>26.93</b>                              | <b>26.56</b>                              | <b>0.0</b>         |

**Tabla 29. Cuantificación de capsaicinoides en muestras comerciales**

| Muestras                      | Pizza Hut                                 |   |                    |
|-------------------------------|---|---|--------------------|
|                               | Absorbancia<br>$\lambda = 267 \text{ nm}$ | Absorbancia<br>$\lambda = 279 \text{ nm}$ | (%) Capsaicinoides |
| 1                             | <b>0.4168</b>                             | <b>0.4115</b>                             | <b>0.20</b>        |
| 2                             | <b>0.4388</b>                             | <b>0.4371</b>                             | <b>0.23</b>        |
| 3                             | <b>0.3759</b>                             | <b>0.3712</b>                             | <b>0.18</b>        |
| Media                         | <b>0.4105</b>                             | <b>0.4066</b>                             | <b>0.20</b>        |
| Desviación estándar           | <b>0.0319</b>                             | <b>0.0332</b>                             | <b>0.02</b>        |
| Coefficiente de Variación (%) | <b>7.77</b>                               | <b>8.16</b>                               | <b>12.55</b>       |

**Tabla 30. Cuantificación de capsaicinoides en muestras comerciales**

| Muestras                         | Migolito                                  |   |                       |
|----------------------------------|---|---|-----------------------|
|                                  | Absorbancia<br>$\lambda = 267 \text{ nm}$ | Absorbancia<br>$\lambda = 279 \text{ nm}$ | (%)<br>Capsaicinoides |
| 1                                | <b>0.1608</b>                             | <b>0.1401</b>                             | <b>0.0</b>            |
| 2                                | <b>0.1592</b>                             | <b>0.1391</b>                             | <b>0.0</b>            |
| 3                                | <b>0.1530</b>                             | <b>0.1332</b>                             | <b>0.0</b>            |
| Media                            | <b>0.1576</b>                             | <b>0.1374</b>                             | <b>0.0</b>            |
| Desviación<br>estándar           | <b>0.0041</b>                             | <b>0.0037</b>                             | <b>0.0</b>            |
| Coefficiente de<br>Variación (%) | <b>2.60</b>                               | <b>2.69</b>                               | <b>0.0</b>            |

**Tabla 31. Cuantificación de capsaicinoides en muestras comerciales**

| Muestras                         | Valentina                                 |   |                       |
|----------------------------------|---|---|-----------------------|
|                                  | Absorbancia<br>$\lambda = 267 \text{ nm}$ | Absorbancia<br>$\lambda = 279 \text{ nm}$ | (%)<br>Capsaicinoides |
| 1                                | <b>0.2531</b>                             | <b>0.2319</b>                             | <b>0.04</b>           |
| 2                                | <b>0.2638</b>                             | <b>0.2430</b>                             | <b>0.05</b>           |
| 3                                | <b>0.2863</b>                             | <b>0.2640</b>                             | <b>0.05</b>           |
| Media                            | <b>0.2677</b>                             | <b>0.2463</b>                             | <b>0.04</b>           |
| Desviación<br>estándar           | <b>0.0169</b>                             | <b>0.0163</b>                             | <b>0.01</b>           |
| Coefficiente de<br>Variación (%) | <b>6.31</b>                               | <b>6.61</b>                               | <b>14.25</b>          |

## ANEXO 8

### Cuestionarios aplicados para la prueba de umbral y de ordenación Prueba de Umbral

Nombre: \_\_\_\_\_ Fecha: \_\_\_\_\_

Instrucciones: Pruebe las muestras de izquierda a derecha de atrás hacia delante. Indique que sabor o sensación percibes a parte del etanol y en que intensidad. Enjuague su boca con agua entre muestra y muestra y si lo considera necesario coma un poco de galleta.

| Muestra | Sensación | Intensidad |
|---------|-----------|------------|
| 746     | _____     | _____      |
| 296     | _____     | _____      |
| 527     | _____     | _____      |
| 329     | _____     | _____      |
| 336     | _____     | _____      |
| 338     | _____     | _____      |

---

### Prueba de Ordenación

Nombre: \_\_\_\_\_ Fecha: \_\_\_\_\_

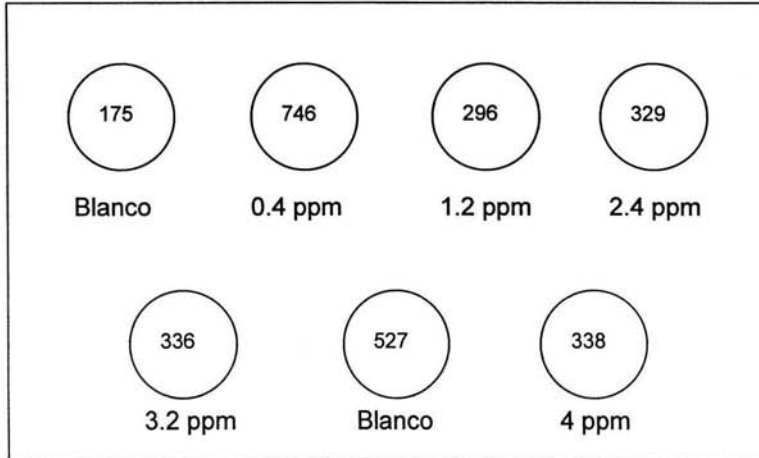
Instrucciones: Pruebe las muestras de izquierda a derecha y ordénelas según su incremento en intensidad de picante, considerando que 1 = mínima y 4 = máxima de picante. Enjuague su boca con agua entre muestra y muestra y si lo considera necesario coma un poco de galleta.

|           |       |       |       |       |
|-----------|-------|-------|-------|-------|
| Muestra   | 569   | 540   | 117   | 394   |
| Respuesta | _____ | _____ | _____ | _____ |

## ANEXO 9

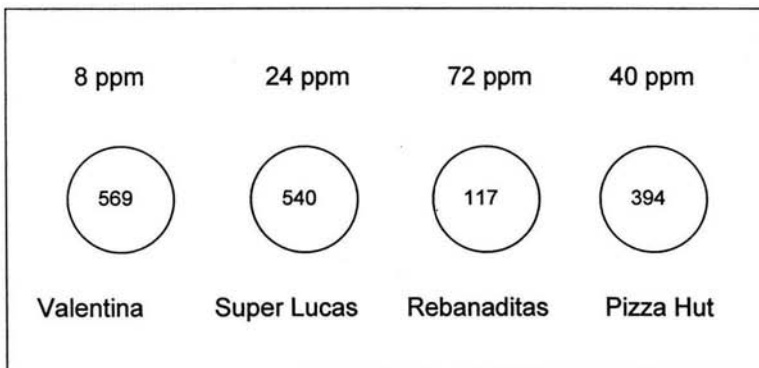
**Ejemplo de la aleatorización para la presentación de muestras. Prueba de Umbral.**

Juez 1.



**Ejemplo de la aleatorización para la presentación de muestras. Prueba de Ordenación**

Juez 1



**ANEXO 10**

**Tablas de resultados de la prueba de umbral y de ordenación**

**Tabla 32. Respuesta de los jueces a la prueba de umbral.**

| Clave      | 175             | 746      | 296      | 329      | 336      | 527      | 338      |
|------------|-----------------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|
| Jueces     | <b>Muestras</b> |          |          |          |          |          |          |
|            | <b>1</b>        | <b>2</b> | <b>3</b> | <b>4</b> | <b>5</b> | <b>6</b> | <b>7</b> |
| 1          | 1               | 1        | 1        | 1        | 1        | 0        | 1        |
| 2          | 0               | 0        | 1        | 1        | 1        | 0        | 1        |
| 3          | 0               | 0        | 1        | 1        | 1        | 0        | 1        |
| 4          | 0               | 0        | 1        | 1        | 1        | 0        | 1        |
| 5          | 0               | 1        | 1        | 1        | 1        | 0        | 1        |
| 6          | 0               | 1        | 1        | 1        | 1        | 0        | 1        |
| 7          | 0               | 0        | 1        | 1        | 1        | 0        | 1        |
| 8          | 0               | 0        | 0        | 0        | 0        | 0        | 0        |
| 9          | 0               | 1        | 1        | 1        | 1        | 1        | 1        |
| 10         | 0               | 0        | 0        | 0        | 0        | 0        | 0        |
| Frecuencia | 1               | 4        | 8        | 8        | 8        | 1        | 8        |
| Porcentaje | 10%             | 40%      | 80%      | 80%      | 80%      | 10%      | 80%      |

0= no-percepción

1= percepción

El porcentaje se da en base a los 10 jueces que participaron en la evaluación.

**Tabla 33. Prueba de ordenación de 4 muestras comerciales.**

| Clave          | 569             | 540         | 117         | 394       |
|----------------|-----------------|-------------|-------------|-----------|
| Producto       | Valentina       | Super Lucas | Rebanaditas | Pizza Hut |
| Jueces         | <b>Muestras</b> |             |             |           |
|                | <b>A</b>        | <b>B</b>    | <b>C</b>    | <b>D</b>  |
| 1              | 3               | 1           | 2           | 4         |
| 2              | 2               | 1           | 4           | 3         |
| 3              | 2               | 1           | 3           | 4         |
| 4              | 1               | 2           | 3           | 4         |
| 5              | 2               | 1           | 4           | 3         |
| 6              | 2               | 1           | 3           | 4         |
| 7              | 2               | 1           | 3           | 4         |
| 8              | 2               | 1           | 3           | 4         |
| 9              | 2               | 1           | 3           | 4         |
| 10             | 1               | 4           | 3           | 2         |
| Suma de rangos | 19              | 14          | 31          | 36        |

## ANEXO 11

**Encuesta presentada a los jueces después de las dos evaluaciones.**

Nombre: \_\_\_\_\_ Fecha: \_\_\_\_\_

Cuestionario.

1. ¿Eres consumidor habitual de condimentos o alimentos picantes? ¿Cuáles?

---

---

2. ¿Con qué frecuencia consumes alimentos picantes? \_\_\_\_\_

---

---

3. ¿Acostumbra comer dulces que contienen chile? \_\_\_\_\_

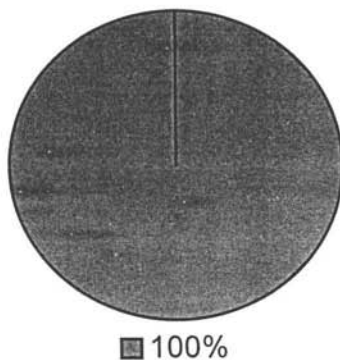
---

---

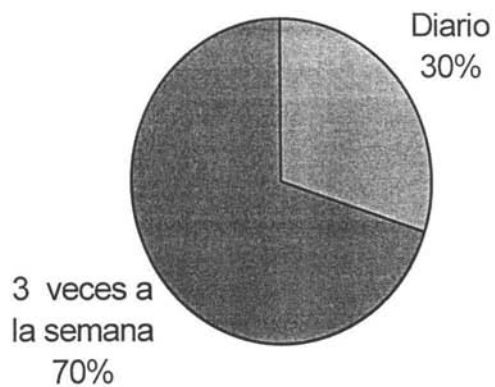
## ANEXO 12

Resultados de la encuesta (anexo 11) aplicada a los 10 jueces

Jueces que consumen condimentos y alimentos picantes



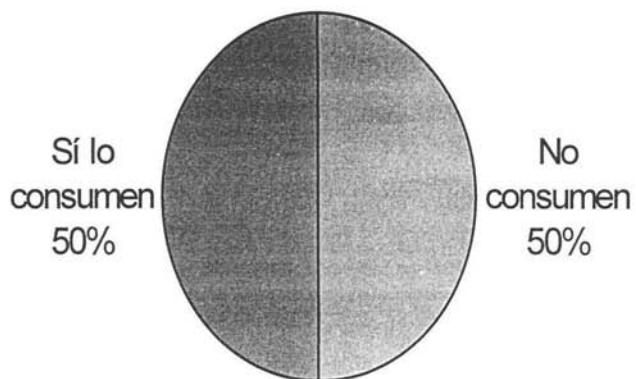
Frecuencia con la que consumen alimentos picantes





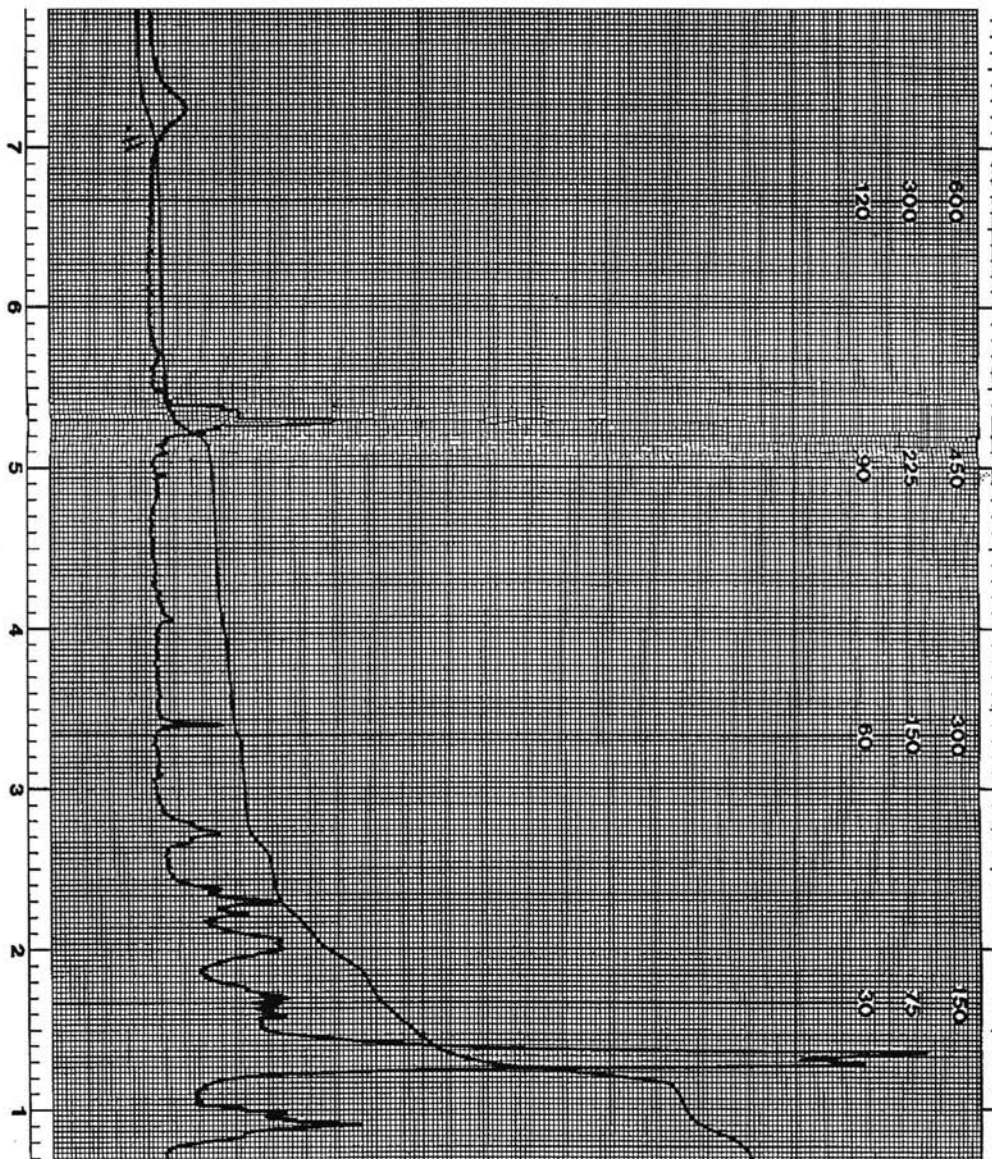
ANEXO 13

Jueces que consumen dulces con chile



### ANEXO 14

El espectro de RM<sup>1</sup>H del extracto metanólico de un gramo de chile troceado corresponde a una mezcla de ácidos grasos saturados e insaturados. Suponiendo ácidos de 18 átomos de carbono, el estudio de integraciones de áreas reporta una proporción aproximada de 2 moles de insaturado por 1 de ácido saturados.



## VIII BIBLIOGRAFIA

1. Bachelot, J. D., Bradley T. J. Determination of the Scoville heat value for hot sauces and chillies: An HPLC experiment. Department of chemistry, Wake Forest University Winston, Vol. 77, no-2, February 2000. Journal Chem. Education.
2. Castro Cid del P. V., Determinación de capsaicina en algunas variedades mexicanas de Capsicum. Tesis Licenciatura, UNAM, México D.F., Pág.: 8, 10, Año 1979.
3. Contreras.M.P. and Yahia E.M. Changes in Capsaicinoids during Development, Maturation, and Senescence of Chile Peppers and Relation with Peroxidase Activity DIPA, Facultad de Química, Universidad Autónoma de Querétaro, México 2075. 1998, 46, Pág. 2075-2079 *J. Agric. Food Chem.*
4. Díaz H. P. Las recetas de la abuela. Platos tradicionales de México. Reader's Digest. 1996. Pág. 91-93.
5. Miller J. N., Miller J. C., Estadística y quimiometría para química analítica. Prentice hall, cuarta edición, 2000. Pág. 115 –118.
6. Moreno M, A. Extracción supercrítica de colorantes y capsaicina de Capsicum annum, Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México (U.N.A.M.), México D.F., Pág. 4, 5, .7-10, 17-30. 2000.
7. Norma Oficial Mexicana. Bienes y servicios materias primas para alimentos, productos de perfumería y belleza, colorantes orgánicos naturales, especificaciones sanitarias. NOM-119-SSA1-1994.
8. Ordóñez A. I., Ibáñez F.C., Estudio preliminar sobre la sensibilidad humana a la

- capsaicina como responsable de la percepción del picante, Alimentaria, extraordinario 02/123, Pág.: 123-126, 2002.
9. Pedrero D. L., Pangborn R. M., Evaluación sensorial de los alimentos (métodos analíticos), Alahmbra mexicana, segunda reimpresión, 1997. Pág. 67-70, 78-79 y 145 - 147.
10. Ramírez C. C., Chile (*Capsicum.annum*), Ensayo Bibliográfico. Tesis de Licenciatura Escuela Nacional de Ciencias Biológicas (ENCB), I.P.N., México D.F., Pág. 6, 23, 24, 25, 1993.
11. Ramírez M. E., Nuevo método por espectrofotometría UV con segunda derivada para la determinación de ácido ascórbico en jugos de fruta procesados. Tesis de Licenciatura, Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México (U.N.A.M.), México D.F., Pág. 23 - 28, 31 - 33, 2002.
12. Ríos M. V., Capsaicina en frutos del genero *Capsicum*. Tesis de Licenciatura Escuela Nacional de Ciencias Biológicas (ENCB), I.P.N., México D.F., Pág. 17, 18, 19, 20. 1969.
13. Sansón, O. L., Aspectos cinéticos y de calidad en la deshidratación de chile (*Capsicum anuum*) de los tipos chilaca, marrón y jalapeño. Tesis de maestría en ciencias con especialidad en alimentos, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas(ENCB), México D.F., Pág. 7,38,40,41,42,80 y 98, 2001.
14. Silverstein R. M., Bassler G. C., Spectrometric identification of organic compounds. Quinta edición. John Wiley and Sons, inc. 1991. Pág. 289-295.
15. Skoog H. D. A., James F.H., Nieman A.T., Principios de Análisis Instrumental, Mc Graw Hill, quinta edición, México D.F., Pág. 322-336, Año 1998.
16. Vargas E. M., Estudios sobre capsaicina y vitamina "C" en frutos del genero

Capsicum. Purificación cromatográfica y caracterización del principio pungente de frutos Capsicum., Tesis de Licenciatura, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas (ENCB), México D.F., Pág. 4-33, 40-50,53,72-78., 1976.

17. Woodbury J. E., Determination of Capsicum pungency by high-pressure liquid chromatography and spectrofluometric detection, J. Assoc. Off. Anal. Chem., vol. 63, No. 3, California, 1980
18. ([www.chilepepperinstitute.org](http://www.chilepepperinstitute.org), (Última actualización 2002).
19. <http://www.ift.org/divisions/sensory/index.html>. (Última actualización, mayo del 2004).