

6 ANÁLISIS DE RESULTADOS EXPERIMENTALES

6.1 Determinación de humedad de la semilla de chile

Tabla 6-1 Humedad en semilla de chile jalapeño

Crisol	Peso Semilla (g)	Peso Inicial (g)	Peso Final (g)	Humedad (g)	%Humedad
1	0.51	20.7767	20.3822	0.3945	77.35
2	0.50	25.9954	25.6210	0.3744	74.88
3	0.51	31.1748	30.7854	0.3894	76.35
				Humedad promedio	76.19

La determinación de la humedad de la semilla se hizo por triplicado para verificar que no hubiera variaciones significativas entre los resultados. La humedad promedio final fue de 76.19% la cual se obtuvo realizando un promedio ponderado de las humedades encontradas en los tres experimentos.

Debido a que la semilla posee un alto contenido de humedad, es necesario secar la semilla ya que ésta ocasionaría daños a la semilla puesto que habría crecimiento de hongos, despediría mal olor y por lo tanto la materia prima se volvería inservible para la extracción.

6.2 Determinación de tiempos de secado

Se dejó secar la semilla hasta llegar al punto de equilibrio del peso que es donde ya no existe variación en el peso del crisol con la semilla.

Tabla 6-2 Tiempo de secado de semillas a 80°C (min)

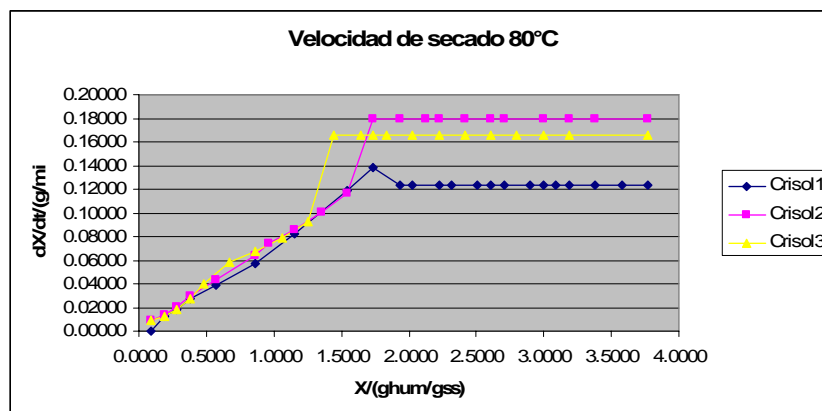
Temperatura 80 °C								
Crisol 1			Crisol 2			Crisol 3		
Tiempo	X	dX/dt	Tiempo	X	dX/dt	Tiempo	X	dX/dt
min	g hum/g ss	g/min	min	g hum/g ss	g/min	min	g hum/g ss	g/min
0	3.7696	0.12380	0	3.7696	0.1795	0	3.7696	0.16610
1	3.5760	0.12380	1	3.3824	0.1795	1	3.1888	0.16610
2	3.3824	0.12380	2	3.1888	0.1795	2	2.9952	0.16610
3	3.1888	0.12380	3	2.9952	0.1795	3	2.8015	0.16610
4	3.0920	0.12380	4	2.7047	0.1795	4	2.6079	0.16610
5	2.9952	0.12380	5	2.6079	0.1795	5	2.4143	0.16610
6	2.8984	0.12380	6	2.4143	0.1795	6	2.2207	0.16610
7	2.7047	0.12380	7	2.2207	0.1795	7	2.0271	0.16610
8	2.6079	0.12380	8	2.1239	0.1795	8	1.8335	0.16610
9	2.5111	0.12380	9	1.9303	0.1795	9	1.7367	0.16610
10	2.3175	0.12380	10	1.7367	0.1795	10	1.6399	0.16610
12	2.2207	0.12380	12	1.5431	0.1165	12	1.4463	0.16610
14	2.0271	0.12380	14	1.3495	0.1002	14	1.2527	0.09226
16	1.9303	0.12380	16	1.1559	0.0862	16	1.0591	0.07915
18	1.7367	0.13808	18	0.9622	0.0741	18	0.8654	0.06791
20	1.5431	0.11906	20	0.8654	0.0638	20	0.6718	0.05826
25	1.1559	0.08220	25	0.5750	0.0438	25	0.4782	0.03973
30	0.8654	0.05675	30	0.3814	0.0300	30	0.3814	0.02709
35	0.5750	0.03918	35	0.2846	0.0206	35	0.2846	0.01847
40	0.3814	0.02705	40	0.1878	0.0141	40	0.1878	0.01259
45	0.2846	0.01867	45	0.0910	0.0097	45	0.0910	0.00858
50	0.1878	0.01289	50	0.0910	0.0000	50	0.0910	0.00000
55	0.0910	0.00000	55	0.0910	0.0000	55	0.0910	0.00000
60	0.0910	0.00000	60	0.0910	0.0000	60	0.0910	0.00000
65	0.0910	0.00000	65	0.0910	0.0000	65	0.0910	0.00000

En la tabla 6-2 se muestra la variación del peso conforme avanza el tiempo. El término X es los gramos de humedad evaporada, que se obtiene restando el peso al tiempo n+1 el peso al tiempo n-1, entre los gramos de sólido seco que son el peso del crisol al tiempo final menos el peso constante del crisol sin semilla.

Para calcular la velocidad de secado (dx/dt), se grafica el tiempo contra X, se realiza una regresión por medio de Excel que se adecue a la función, se obtiene la ecuación correspondiente y finalmente la ecuación se deriva.

El tiempo de secado para una temperatura de 80°C es de aproximadamente 45 minutos que es el tiempo donde el peso llega al punto de equilibrio y la velocidad de secado es cero.

Ilustración 6-1 Velocidad de secado a 80°C por triplicado



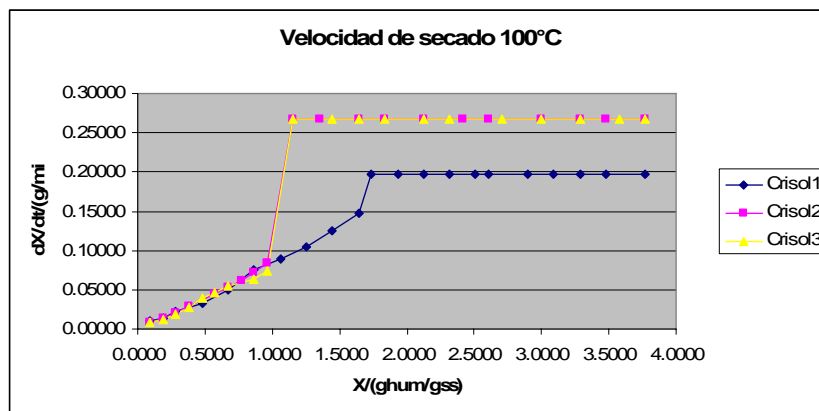
En la gráfica anterior se observa una velocidad constante que se presenta cuando se evapora el agua no ligada en la semilla; el agua no ligada es el agua en el alimento que se comporta como agua común y que es fácil de evaporar [1]. También se observa un periodo de decaimiento en la velocidad, esto se debe a que se llega al contenido de humedad crítica puesto a que el agua que se encuentra en la semilla es el agua ligada que tiene menos movilidad y más difícil de evaporar debido a que se retiene en pequeños poros y en las paredes celulares del alimento [10]. Las velocidades de secado de los tres crisoles son aproximadamente las mismas llegando a un máximo de 0.1795 dx/dt.

Tabla 6-3 Tiempo de secado de semillas a 100°C (min)

Temperatura 100 °C								
Crisol 1			Crisol 2			Crisol 3		
Tiempo	X	dX/dt	Tiempo	Humedad	dX/dt	Tiempo	X	dX/dt
min	g hum/g ss	g/min	min	g hum/g ss	g/min	min	g hum/g ss	g/min
0	3.7696	0.19800	0	3.7696	0.26670	0	3.7696	0.26750
1	3.4792	0.19800	1	3.4792	0.26670	1	3.5760	0.26750
2	3.2856	0.19800	2	3.2856	0.26670	2	3.2856	0.26750
3	3.0920	0.19800	3	2.9952	0.26670	3	2.9952	0.26750
4	2.8984	0.19800	4	2.6079	0.26670	4	2.7047	0.26750
5	2.6079	0.19800	5	2.4143	0.26670	5	2.3175	0.26750
6	2.5111	0.19800	6	2.1239	0.26670	6	2.1239	0.26750
7	2.3175	0.19800	7	1.8335	0.26670	7	1.8335	0.26750
8	2.1239	0.19800	8	1.6399	0.26670	8	1.6399	0.26750
9	1.9303	0.19800	9	1.3495	0.26670	9	1.4463	0.26750
10	1.7367	0.19800	10	1.1559	0.26670	10	1.1559	0.26750
12	1.6399	0.14670	12	0.9622	0.08474	12	0.9622	0.07449
14	1.4463	0.12431	14	0.8654	0.07219	14	0.8654	0.06385
16	1.2527	0.10534	16	0.7686	0.06149	16	0.6718	0.05472
18	1.0591	0.08926	18	0.6718	0.05238	18	0.5750	0.04690
20	0.8654	0.07564	20	0.5750	0.04461	20	0.4782	0.04020
25	0.6718	0.05000	25	0.3814	0.02988	25	0.3814	0.02734
30	0.4782	0.03305	30	0.2846	0.02001	30	0.2846	0.01859
35	0.2846	0.02185	35	0.1878	0.01340	35	0.1878	0.01265
40	0.1878	0.01444	40	0.0910	0.00897	40	0.0910	0.00860
45	0.0910	0.00954	45	0.0910	0.00000	45	0.0910	0.00000
50	0.0910	0.00000	50	0.0910	0.00000	50	0.0910	0.00000
55	0.0910	0.00000	55	0.0910	0.00000	55	0.0910	0.00000
60	0.0910	0.00000	60	0.0910	0.00000	60	0.0910	0.00000

En la tabla 6-3 se muestra que el tiempo de secado a una temperatura de 100°C es de aproximadamente 40 minutos, cinco minutos menos que a la temperatura de 80°C. Para obtener los datos se hicieron los mismos cálculos que en el experimento a 80°C.

Ilustración 6-2 Velocidad de secado a 100°C por triplicado



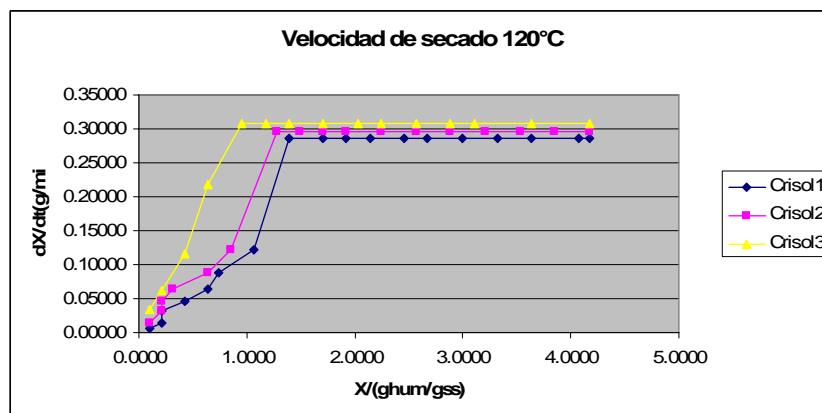
La velocidad de secado en los tres crisoles a una temperatura de 100°C es de 0.26750 dx/dt aproximadamente excepto para el crisol uno donde hubo una velocidad de 0.19800 dx/dt la cual no difiere sustancialmente con las velocidades en el crisol dos y tres. El comportamiento de las velocidades antes mencionadas se presenta en la gráfica 6-2 donde al igual que en la gráfica 6-1 la velocidad es cero cuando la humedad es cero.

Tabla 6-4 Tiempo de secado de semilla a 120°C (min)

Temperatura 120 °C								
Crisol 1			Crisol 2			Crisol 3		
Tiempo	Humedad	dX/dt	Tiempo	Humedad	dX/dt	Tiempo	Humedad	dX/dt
min	g hum/g ss	g/min	min	g hum/g ss	g/min	min	g hum/g ss	g/min
0	4.1736	0.28550	0	4.1736	0.29620	0	4.1736	0.30890
1	4.0665	0.28550	1	3.8521	0.29620	1	3.6377	0.30890
2	3.6377	0.28550	2	3.5305	0.29620	2	3.1018	0.30890
3	3.3162	0.28550	3	3.2090	0.29620	3	2.8875	0.30890
4	2.9946	0.28550	4	2.8875	0.29620	4	2.5659	0.30890
5	2.6731	0.28550	5	2.5659	0.29620	5	2.2444	0.30890
6	2.4587	0.28550	6	2.2444	0.29620	6	2.0300	0.30890
7	2.1372	0.28550	7	1.9228	0.29620	7	1.7085	0.30890
8	1.9228	0.28550	8	1.7085	0.29620	8	1.3869	0.30890
9	1.7085	0.28550	9	1.4941	0.29620	9	1.1726	0.30890
10	1.3869	0.28550	10	1.2797	0.29620	10	0.9582	0.30890
12	1.0654	0.12290	12	0.8510	0.12279	12	0.6367	0.21753
14	0.7438	0.08837	14	0.6367	0.08835	14	0.4223	0.11667
16	0.6367	0.06355	16	0.3151	0.06357	16	0.2079	0.06257
18	0.4223	0.04569	18	0.2079	0.04574	18	0.1008	0.03356
20	0.2079	0.03286	20	0.2079	0.03291	20	-0.0064	0.00000
25	0.2079	0.01441	25	0.1008	0.01445	25	-0.2208	0.00000
30	0.1008	0.00632	30	0.1008	0.00000	30	-0.2208	0.00000
35	0.1008	0.00000	35	0.1008	0.00000	35	-0.2208	0.00000
40	0.1008	0.00000	40	0.1008	0.00000	40	-0.2208	0.00000
45	0.1008	0.00000	45	0.1008	0.00000	45	-0.2208	0.00000

A una temperatura de 120°C el tiempo de secado es de aproximadamente 30 minutos con una velocidad de secado de entre 0.28550 y 0.30890 dx/dt obteniéndose por medio de los cálculos antes mencionados.

Ilustración 6-3 Velocidad de secado a 120°C por triplicado



Como era de esperarse la velocidad de secado aumenta conforme es mayor la temperatura ya que la humedad se evapora más rápidamente. Con base a los resultados anteriores para el secado en el proceso final se empleará una temperatura de 100°C para evitar la pérdida de las propiedades de la semilla puesto que una temperatura de 120°C es muy alta y no promueve una disminución de tiempo de secado considerable.

6.3 Concentración de capsicinoides en el extracto

Primeramente se calculó cual era la masa en miligramos de solución estándar o patrón de capsicina natural inyectada en el HPLC. Multiplicando la concentración de la dilución del estándar por el volumen de inyección, se obtuvo una masa de capsicinoides en la inyección de 2.3E-06 mg.

Tabla 6-5 Determinación de la concentración de la solución estándar

Concentración de diluciones del estándar	
Concentración inicial	0.015 mg/ml
Dilución Num.	Concentración (mg/ml)
1	0.00150
2	0.00075
3	0.00038
4	0.00019
5	0.00009
6	0.00005
Volumen de inyección (ml)	0.05
Masa en la inyección (mg)	2.3E-06

A partir de los 2.3E-06 mg de patrón inyectados, se determinaron los miligramos que existen de cada capsicinoide en el patrón; lo cual se obtiene multiplicando la masa inyectada del patrón por el porcentaje de área de cada uno de los picos correspondientes a cada capsicinoide en el cromatograma.

Tabla 6-6 Masa de capsicinoides en el patrón

Areas de los picos del patrón			
Picos	Area (mV*s)	% área	mg en la dilución
1	10061	0.0509	1.2E-07
2	17006	0.0860	2.0E-07
3	148292	0.7496	1.8E-06
4	22479	0.1136	2.7E-07

Donde los picos 1 y 2 corresponden a la nordihidrocapsicina, el pico 3 corresponde a la capsicina y el pico 4 corresponde a la dihidrocapsicina. Esta clasificación se hizo basándose en los cromatogramas del AOAC. (1999) y de Luna [35] al analizar los tiempos de retención de cada uno de los capsicinoides.

Se observó que los picos uno y dos en el patrón coinciden con el tiempo de retención del pico uno de las muestras; el pico tres del patrón coincide con el pico dos de las muestras y el pico cuatro del patrón coincide con el pico tres de las muestras. Estas coincidencias se muestran en la ilustración 6-4 e ilustración 6-5.

Ilustración 6-4 Cromatograma del patrón interno

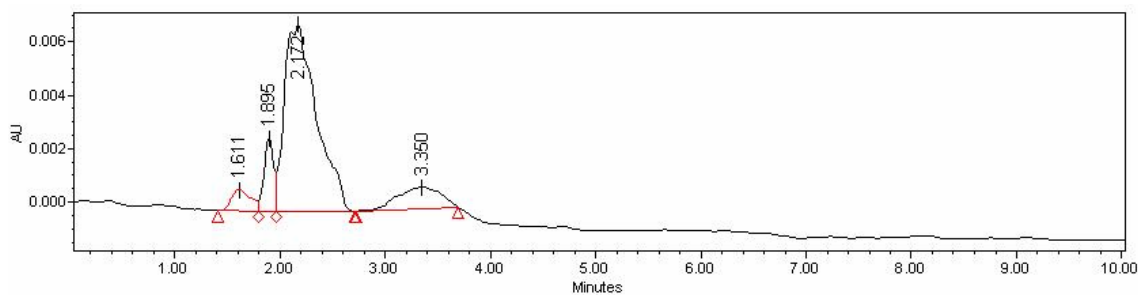
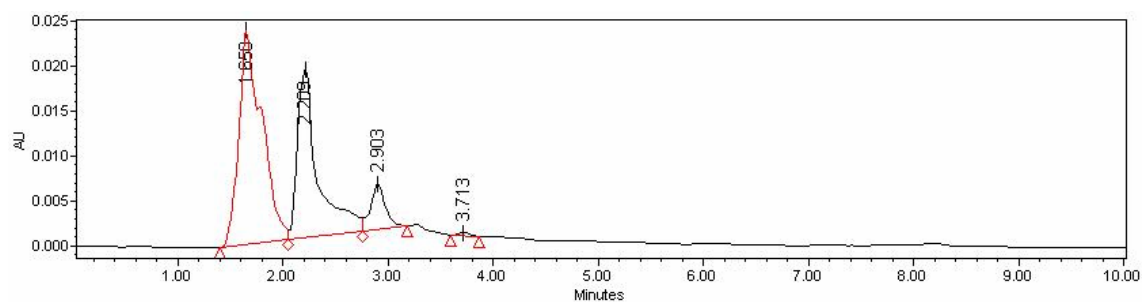
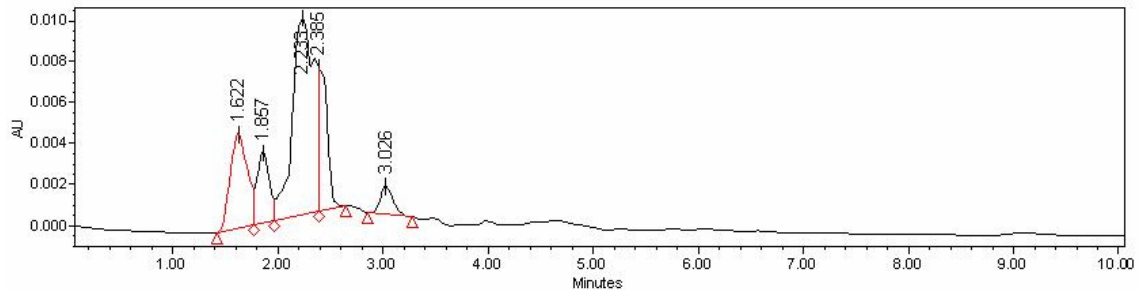


Ilustración 6-5 Cromatograma de la muestra



Ya que no se visualiza con claridad que capsicinoides son los que se presentan en el cromatograma del estándar o patrón, para verificar que los picos del cromatograma del patrón corresponden con los picos en el cromatograma de la muestra y saber que pico corresponde a cada compuesto, se hizo la prueba de patrón interno para observar que picos del cromatograma de la muestra son los que aumentan de tamaño por la adición de una cantidad conocida de patrón a la muestra; sabiendo que la capsicina natural está compuesta por 65% capsicina, 35% dihidrocapsicina y 5% nordihidrocapsicina. Al hacer esta prueba, el primer pico de la muestra se separa en dos picos más pequeños, el segundo pico de la muestra crece y el tercer pico de la muestra crece. Estos crecimientos y divisiones de picos se muestran en el siguiente cromatograma:

Ilustración 6-6 Cromatograma de muestra con la adición de patrón



Se puede concluir que la suposición de que se puede determinar que capsicinoides se obtienen al comparar los tiempos de retención es la correcta. Sin embargo los dos primeros picos que representan a la nordihidrocapsicina se superponen, esto puede ser debido a que la columna se encuentra saturada de algún compuesto con el un tiempo de retención parecido. Debido a esto, la cantidad de nordihidrocapsicina encontrada en las muestras será una cantidad aproximada.

Para obtener la masa de cada capsicinoide en las diluciones de las muestras problema, se relacionaron las áreas (Tabla 6-7) y masas de capsicinoides en la dilución del patrón con las áreas de los picos obtenidas en la inyección de la muestra problema diluida. De esta forma se obtuvieron las concentraciones en la dilución de la muestra (Tabla 6-8). Por último después de calcular la masa en la dilución se obtiene la masa en la solución concentrada.

Tabla 6-7 Área de cada pico en cromatogramas de las muestras

Muestra (relación)	Área pico nordihidrocapsicina (mV*s)	Área pico capsicina (mV*s)	Área pico dihidrocapsicina (mV*s)
1:3.2	387388	175066	38195
1:5	358091	229496	32830
1:6	394111	226840	40020
1:6.6	594732	370098	65312
1:8	341064	199997	30789
1:10	394336	240968	32734

Tabla 6-8 Masa de capsicinoides en cada muestra problema

Muestra (relación)	Nordihidrocapsicina (mg)	Capsicina (mg)	Dihidrocapsicina (mg)	Capsicinoides totales (mg)
1:3.2	1.5E-02	6.6E-03	1.4E-03	2.3E-02
1:8	1.3E-02	7.6E-03	1.2E-03	2.2E-02
1:5	1.4E-02	8.7E-03	1.2E-03	2.4E-02
1:6	1.5E-02	8.6E-03	1.5E-03	2.5E-02
1:6.6	2.3E-02	1.4E-02	2.5E-03	3.9E-02
1:10	1.5E-02	9.1E-03	1.2E-03	2.5E-02

En la tabla 6-8 se observa que la mayor concentración de capsicinoides totales en la muestra se obtiene con la relación 1:6.6 (semilla:etanol) con una masa de 3.9E-02 mg de capsicinoides. Mientras que la masa de capsicinoides en las otras muestras no varía considerablemente obteniendo resultados de entre 2.2E-02 mg a 2.5E-02 mg.

Teniendo las áreas de los picos de cada capsicinoide se pueden realizar los cálculos para la obtención de las unidades Scoville (SHU) totales en la muestra y así conocer el grado de picor de la muestra. Para obtener las SHU totales se utilizaron las ecuaciones propuestas en el método AOAC encontrado en el anexo C.

Tabla 6-9 Unidades Scoville de las muestras

Solvente (ml)	Semilla (g)	PN	Pc	Pd	Ps	Cs	WT	C	NC	DC	SHU total
100	10	394336	240968	32734	148292	0.009	10	5291	4542	688	10521
100	15	594732	370098	65312	148292	0.009	15	5418	4567	915	10900
100	20	358091	229496	32830	148292	0.009	20	2520	2062	345	4927
80	25	387388	175066	38195	148292	0.009	25	1538	1785	321	3644
150	25	394111	226840	40020	148292	0.009	25	1992	1816	336	4145
200	25	341064	199997	30789	148292	0.009	25	1757	1571	259	3587

Donde:

P_N	Área promedio del pico nordihidrocapsicina	C	Capsicina
P_c	Área promedio del pico capsicina	NC	Nordihidrocapsicina
P_D	Área promedio del pico dihidrocapsicina	DC	Dihidrocapsicina
P_s	Area promedio del pico estándar		
C_s (mg/ml)	Concentración de la solución estándar		
W_T (g)	Peso de la porción de prueba		

Como se esperaba la muestra con más unidades Scoville es la muestra de 15 g de semilla con 100 ml de etanol (1:6.6) con un valor de 10900 unidades Scoville las cuales equivalen a las unidades Scoville de un chile jalapeño o de la salsa Tabasco TM.

En esta investigación se espera que la masa de capsicinoides y su concentración en la muestra sea mucho menor pues sólo se somete a extracción a la semilla del chile, que es la parte del chile con menos cantidad de capsicinoides en su interior.

En la tabla 6-10 se muestra la concentración de capsicinoides en mg/L en las muestras analizadas, estos resultados se obtienen dividiendo los mg de capsicinoides totales en la muestra entre los litros de solución de muestra inyectada en el HPLC.

Tabla 6-10 Concentración (ppm) de capsicinoides en las muestras problema

Muestra (relación)	mg de capsicinoides en muestra	L de solución	Concentración (ppm)
1:3.2	2.28E-05	0.00005	456
1:5	2.35E-05	0.00005	471
1:6	2.51E-05	0.00005	501
1:6.6	3.91E-05	0.00005	781
1:8	2.17E-05	0.00005	434
1:10	2.53E-05	0.00005	507

En la tabla anterior se observa que la relación gramos de semilla:mililitros de etanol correspondiente a la relación 1:6.6 es con la que se obtiene la mayor concentración de capsicinoides en el extracto.

Ya que para la extracción se utilizó etanol al 100% y el etanol a más del 24% en volumen es considerado material peligroso por su inflamabilidad según la NOM-052-SEMARNAT-1993, se hizo una corrida con una muestra obtenida mediante extracción por etanol al 100% diluido con agua para tener una solución al 20% de alcohol en volumen a efecto de estar por debajo de la norma y no ser clasificado como material peligroso.

Los resultados obtenidos son:

Tabla 6-11 Concentración de capsicinoides en muestras extraídas con etanol al 20%

Muestras (relación)	Area total (mV*s)	mg en la dilución	mg de capsicinoides en la muestra	L de solución	Concentración (ppm)
1:6.6	1697384	2.0E-05	6.4E-05	0.00005	1287
1:10	654895	7.8E-06	2.5E-05	0.00005	497

Al parecer las concentraciones obtenidas en las muestras extraídas con etanol al 20% que se muestran en la tabla 6-11 son más altas que las extraídas con etanol al 100%. Sin embargo estos no se puede hacer una cuantificación ni una cualificación adecuada debido a que el agua extrae otros colorantes aparte de los carotenoides probablemente polifenoles [6] y porque entre más polar es el solvente más interferencias se muestran en el cromatograma. Por lo tanto se muestran interferencias en los cromatogramas ocasionando que los picos no se definan correctamente y que no se puedan determinar las áreas de cada capsicinoide en el cromatograma como se puede ver en la ilustración 6-7.

Ilustración 6-7 Cromatogramas obtenidos por la inyección de muestras extraídas con etanol al 20%. (relación 1:6.6 y 1:10 respectivamente)

