

UNIVERSIDAD DEL PAPALOAPAN

CAMPUS TUXTEPEC

“Obtención de un extracto amargo de *Chamaedorea tepejilote* como aditivo en alimentos”

Tesis para obtener el grado de:

Ingeniero en Alimentos

Presenta

Mayra Isabel Norberto Zúñiga

Dr. Lemuel Pérez Picaso
DIRECTOR DE TESIS

Dra. Norma Francenia Santos Sánchez
CO-DIRECTOR DE TESIS

Tuxtepec, Oaxaca, México, 2017



UNIVERSIDAD DEL PAPALOAPAN CAMPUS TUXTEPEC

San Juan Bautista Tuxtepec, Oax., a 18 de Agosto de 2017

LIC. YESENIA BARRIENTOS ARENAL
JEFA DEL DEPTO. DE SERVICIOS ESCOLARES

Sirva la presente para informarle que los miembros de la Comisión Revisora del trabajo de tesis de la **C. MAYRA ISABEL NORBERTO ZÚÑIGA** pasante de la carrera de Ingeniería en Alimentos con número de matrícula **11070007**, revisó y aprobó el trabajo de investigación denominado **"OBTENCIÓN DE UN EXTRACTO AMARGO DE CHAMAEDOREA TEPEJILOTE COMO ADITIVO EN ALIMENTOS"**, mismo que será presentado como prueba escrita del acto de recepción profesional, para obtener el Título de Ingeniero en Alimentos.

Por lo anterior y de acuerdo a los lineamientos institucionales, se le da trámite legal para que proceda a su impresión el trabajo presentado.

Atentamente
terra uberrima, mens agesta
Bou Lo-tama, mi Iyú


M.C. MIGUEL ÁNGEL GARCÍA MUÑOZ
JEFE DE CARRERA
INGENIERÍA EN ALIMENTOS
CAMPUS TUXTEPEC



c.c.p. M.C. Héctor López Arjona / Vicerrector Académico. Para su conocimiento
c.c.p. Archivo

Este trabajo se realizó en la Universidad del Papalopan, UNPA, *campus* Tuxtepec; en el Laboratorio de Química Orgánica y en el Taller de Alimentos y en el laboratorio Químico-Biológico de la Universidad del Papalopan, *campus* Loma Bonita, bajo la dirección del Dr. Lemuel Pérez Picaso y la codirección de la Dra. Norma Francenia Santos Sánchez.

Parte de este trabajo se presentó en la 13ª Reunión Internacional de Investigación en Productos Naturales en la modalidad de cartel, organizado por la Asociación Mexicana de Investigación en Productos Naturales A. C. (AMIPRONAT) en Morelia, Michoacán, México, celebrada del 17 al 20 de mayo del 2017.

AGRADECIMIENTOS

A **Dios**, por darme el regalo de la vida, por darme fuerzas y sabiduría, por siempre hacerme sentir su presencia en los momentos difíciles, por mostrarme su Amor cada día.

A mis **padres**, por nunca desistir, gracias por apoyarme sin dudarlos, aún aunque no lo merezco, por impulsarme siempre a hacer realidad mis sueños y a dar siempre lo mejor de mí. Gracias por tanto Amor.

A mis hermanos **Eduardo, Eliza, Álvaro, Luis, Roque y Nelly**, juntos hemos logrado vencer grandes obstáculos, y este logro también siéntanlo como suyo, ustedes y yo sabemos todo el sacrificio y todo el trabajo que hay detrás, gracias por su apoyo incondicional, soy muy afortunada de tener esta gran familia. A mi cuñada **Aris**, gracias por tu apoyo, espero algún día poder compensarlo.

Al **Dr. Lemuel Pérez Picaso**, por todo el apoyo brindado, por el conocimiento compartido, por tanta, tanta paciencia, por haber creído en que lo lograría. Gracias porque más que ser solo un profesor para mí, se ha convertido en un amigo.

Al profe **Miguel Ángel García Muñoz** (*El jefe*), por todo el apoyo brindado, por estar siempre pendiente de mis avances, por haber hecho más llevadera mi estancia en la universidad.

A la **Dra. Norma Francenia Santos Sánchez**, por recibirme en su laboratorio (UTM), por transmitirme un poco de sus conocimientos durante mi estancia, enseñarme a ser disciplinada y ser fuente de inspiración para hacer siempre mejor mi trabajo. Gracias por todos los aportes durante la escritura y revisión de esta tesis.

Al **Dr. Adolfo Torres López**, gracias por el apoyo, la paciencia y el conocimiento transmitido durante la realización de mis pruebas de cromatográficas.

Gracias también a la **Dra. Jacqueline Capataz Tafur**, el **Dr. Sergio Ramírez Ordoñez**, por haberme permitido realizar parte de mis experimentos en sus laboratorios. Al **Ing. Juan**, las químicas **Luz** y **Lety** por facilitarme siempre el material para mis pruebas.

A los profesores que de alguna manera han estado involucrados en mi desarrollo académico (**Dr. Andrés Aguirre Cruz**, **M.M.P. José Antonio Hernández Contreras** (*Pepe Toño*), **M.C. Héctor López Arjona** (*Vice*), **Dr. Mario Alberto Magaña**, **Dra. Fabiola Hernández Sánchez**, de manera muy especial al **Dr. Omar Viñas Bravo**, **Dr. Vladimir Sánchez López**, por impulsarme a siempre ser mejor, y no podía faltar mis agradecimientos a la **Dra. Delia E. Páramo Calderón** por todo el apoyo brindado durante mis estancias.

A mi panel de jueces (**Erick**, **Crisanto**, **Valeria**, **Jorge**, **Samuel** y **Joel**) por estar siempre dispuestos a colaborar con este proyecto, a **Daniel** (Sosa) por el apoyo incondicional y principalmente por tu amistad.

A veces en la vida se forman lazos que nunca se pueden romper... Gracias **Yunito** por tu amistad, por recibirme siempre en tu casa y compartir tu familia conmigo. Gracias también a ti **Yure** por dejarme entrar en tu vida y por ser parte de la mía. Les agradezco infinitamente a las dos por enseñarme el valor de la amistad, por todas esas noches de "estudio" que casi siempre terminaban siendo pijamadas llenas de risas y que en algunas ocasiones incluían desde lágrimas hasta abrazos, ustedes saben que las quiero con el Alma, son mis personas favoritas por siempre y para siempre.

A **Brandon** (*Branduquis*), por compartirme tu cariño, por creer siempre en mí y por ser mi compañero de locuras, sé que estarás para mí aún al final del infinito. Te Quiero con toda el Alma.

A **Helder**, por escuchar mis anécdotas (casi siempre repetidas) desde hace ya varios años y quererme de una manera muy particular, sabes que el cariño es recíproco. A **Paco** (*Mono*), por el apoyo y la amistad que me has brindado desde que te conocí.

A **Uba**, por los consejos, tu compañía durante estos seis años, pero principalmente por siempre hacerme poner los pies sobre la tierra y... *por todo*.

A **Eunice (Güerita)**, **Joseoziel**, **Benito** y **Alfredo**, por hacerme sentir como en casa durante mi estancia en la UTM, los aprecio mucho.

DEDICATORIA

A mi Papá, mi héroe, no hay persona que me demuestre su amor como tú lo haces, poniendo mis sueños aún por encima de los tuyos, Papá soy tu más grande admiradora.

A mi mamá, eres el mayor tesoro que tengo en mi vida, todo lo que hago, cada uno de mis logros son en gran parte porque tengo a ti, mi ángel, mi guerrera, no hay palabras que puedan expresar lo mucho que te Amo.

A mis hermanos Lalo y Luis, por tanto esfuerzo, por enseñarme siempre que se puede salir adelante aún a pesar de las adversidades, los Amo.

A mi abuelito Gregorio[†], abue...este *Tulipán* hoy no está marchito, sé que estás muy orgulloso de mí.

El Señor es mi luz y mi salvación, ¿a quién temeré?

El Señor es la fortaleza de mi vida ¿de quién he de atemorizarme?

Salmos 27:1

ÍNDICE

ÍNDICE DE FIGURAS	12
ÍNDICE DE TABLAS	14
SÍMBOLOS Y ABREVIATURAS	15
RESUMEN	17
1. INTRODUCCIÓN	18
2. MARCO TEÓRICO	20
2.1 RECEPTORES DEL SABOR AMARGO	21
2.2. ADITIVOS	21
2.2.1. Colorantes	21
2.2.2. Conservadores	22
2.2.3. Antioxidantes	22
2.2.4. Reguladores de acidez	22
2.2.5. Emulgentes y estabilizantes	22
2.2.6. Antiapelmazantes.....	23
2.2.7. Saborizantes y potenciadores de sabor	23
2.3 EVALUACIÓN SENSORIAL	23
2.3.1 Métodos de evaluación sensorial	25
2.3.2 Clasificación de los jueces sensoriales	26
3. ANTECEDENTES	29
3.1. COMPUESTOS RESPONSABLES DEL SABOR AMARGO	29
3.2. ALIMENTOS EN LOS QUE EL SABOR AMARGO ES UNA CARACTERÍSTICA INDESEABLE	30
3.3. ALIMENTOS EN LOS QUE EL SABOR AMARGO ES UNA CARACTERÍSTICA DESEABLE	31
3.3.1. Lúpulo	32
3.3.2. Colorante Caramelo	32
3.3.4. Amargo Angostura®	33
2.4. EL TEPEJILOTE	35
4. JUSTIFICACIÓN	39

5. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	40
6. OBJETIVOS.....	41
7. HIPÓTESIS	42
8. METODOLOGÍA.....	43
8.1. Pre tratamiento de la muestra.....	43
8.2. Evaluación sensorial.....	44
8.2.1. Selección de jueces	44
8.2.2. Semi-entrenamiento de jueces	46
8.2.3. Obtención de escalas normalizadas de trabajo: Entrenamiento específico.....	49
8.3. pH.....	50
8.4 Pruebas preliminares en un alimento.....	51
8.4.1 obtención del extracto acuoso	51
8.4.2. Prueba sensorial	51
8.4.3 Aplicación de la prueba de aceptación en bisteces de cerdo.	52
8.5. Análisis químico proximal.....	53
8.5.1 Determinación de humedad mediante secado por estufa	53
8.5.2 Cenizas totales.....	54
8.5.3 Lípidos	54
8.5.4 Proteínas	55
8.5.5 Fibra cruda	57
8.6 Perfil fitoquímico preliminar de C. tepejilote	60
8.6.1 Cromatografía en capa fina (CCF)	62
8.7 Perfil cromatográfico	63
9. RESULTADOS.....	66
9.1 Selección de jueces.	66
9.1.1 Resumen de datos de selección.	69
9.2 Semi-Entrenamiento de jueces.....	70
9.2.1 Resumen de los datos de entrenamiento de jueces.....	73

9.3 Obtención de escala de amargor para el extracto acuosos de C. tepejilote.....	73
9. 4 Prueba preliminar en alimentos.	75
9.5 Análisis químico proximal.....	77
9.6 Perfil fitoquímico preliminar	78
9.7 Perfil cromatográfico	83
10. CONCLUSIONES	84
11. ANEXOS	85
12. BIBLIOGRAFÍA	91

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Modelo hipotético de las moléculas amargas, adaptado de Roy (1992). 19	
Figura 2. Compuestos responsables del sabor amargo: A) fenol, B) flavonoide y C) antocianina (cianidina), D) terpeno (limoneno), E) isoflavona, F) sacarina, G) fenilalanina, H) éster, I) lactona sesquiterpénica.	29
Figura 3. Compuestos utilizados para estimular el sabor amargo.	30
Figura 4. Resinas del lúpulo: 1) α -ácidos (humulonas) y 2) β -ácidos (lupulonas) . 32	
Figura 5. Amargo de angostura (Fuente: liquor.com).....	33
Figura 6. Moléculas responsables del sabor amargo en algunos alimentos: N) Sinigrina, O) Limonina, P) Naringenina, Q) Xantina, R) Isohumulonas, S) Ác. clorogénico , T) Cafeína, U) Quinina, V) Ligstrosida, W) Isocumarina, X) Oleurepeina, Y) 2,4,5-trimetoxi benzaldehído.....	34
Figura 7. Palma <i>Chamaedorea Tepejilote</i> . a) Hábitat, b) Inflorescencias sin vaina, c) fruto.....	36
Figura 8. Compuestos aislados de <i>Chamaedorea tepejilote</i> : d) Z- β -sinensol, e) 2,3-dihidrofarnesal, f) Escualeno, g) Farnesol, h) Hexadecanoato de metilo, i) β -sinensal, j) Ácido ursólico, k) β -sitosterol, l) E- β -sinensol.	38
Figura 9. Metodología experimental utilizada en el presente trabajo.	43
Figura 10. a) Inflorescencias de <i>C. tepejilote</i> para liofolizar, b) Liofilizador marca LABCONCO c) Inflorescencias liofilizadas.....	44
Figura 11. Potenciómetro marca HANNA utilizado para la prueba de pH.....	50
Figura 12. a) Equipo soxhlet para la determinación de grasa cruda, b) Muestras sin disolvente.....	55
Figura 13. a) Digestor para la determinación de proteína cruda, b) Destilador.....	57
Figura 14. a) Colocación de la muestra, b) Equipo ANKOM para determinación de fibra cruda.....	60
Figura 15. Muestra de <i>C. tepejilote</i> en el equipo de reflujo.....	61
Figura 16. a) Muestras obtenidas mediante reflujo, b) Separación de fases, e) Secado de la muestra en un rotavapor.	64
Figura 17. Resultados de la prueba de identificación de sabores básicos.....	67

Figura 18. Resultados de la prueba de ordenamiento.....	68
Figura 19. Prueba sensorial en bisteces de cerdo tratadas con extracto de <i>C. tepejilote</i>	76
Figura 20. Cromatograma en fase inversa del extracto acuoso de <i>C. tepejilote</i>	83

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Análisis proximal de inflorescencias de <i>C. tepejilote</i> (Centurión, <i>et al</i> , 2009).....	37
Tabla 2. Criterios para la validación del panel sensorial.	48
Tabla 3. Estudio fitoquímico preliminar para los extractos de <i>C. tepejilote</i>	61
Tabla 4. Disoluciones utilizadas para la prueba de identificación de sabores básicos.....	66
Tabla 5. Disoluciones utilizadas en la prueba de ordenamiento.	67
Tabla 6. Resumen de las pruebas de selección.	69
Tabla 7. Muestras utilizadas en las pruebas de diferenciación del extracto acuoso de <i>C. tepejilote</i>	72
Tabla 8. Disoluciones preparadas para la prueba de ordenamiento con muestras de <i>C. tepejilote</i>	72
Tabla 9. Resumen de los datos de entrenamiento de jueces.	73
Tabla 10. Muestras de cafeína preparadas para la construcción de la escala de amargor.	74
Tabla 11. Muestras de <i>C. tepejilote</i> utilizadas para la construcción de la escala de amargor.	75
Tabla 12. Análisis químico proximal de las inflorescencias de <i>C. tepejilote</i>	78
Tabla 13. Pruebas cualitativas para perfil fitoquímico.	78
Tabla 14. Perfil fitoquímico de <i>C. tepejilote</i>	80
Tabla 15. Placas utilizadas para TLC.....	81

SÍMBOLOS Y ABREVIATURAS

AOAC	Official methods of Analysis of Association of Official Analytical Chemist
Ac	Acetilo
(CH ₃ CO) ₂ O	Anhídrido acético
β	Beta
BHA	Butilhidroxianisol
BHT	Butilhidroxitolueno
C	<i>Chamaedorea</i>
CG	Cromatografía de Gases
CLAR	Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución
±	Más/menos
°C	Grados Celsius
CHCl ₃	Cloroformo
EtOH	Etanol
FeCl ₃	Cloruro de hierro (III)
g	Gramos
h	Hora (s)
H ₂ O	Agua
H ₂ SO ₄	Ácido sulfúrico
HCl	Ácido clorhídrico
HNO ₃	Ácido nítrico
HPLC-PDA	High Performance Liquid Chromatography Photodiode Array Detection
<i>Liebm</i>	Referente a Frederick Michael Liebmann
µg	Microgramos

μL	Microlitros
mg	Miligramos
min	Minutos
mL	Mililitros
mm	Milímetros
msnm	Metros sobre el nivel del mar
N	Normalidad
NaOH	Hidróxido de sodio
NH ₃	Amoniacó
NH ₄ OH	Hidróxido de amonio
nm	Nanómetros
Pb(OAc) ₄	Acetato de plomo
P/V	Peso/Volumen
%	Porcentaje
RAE	Real Academia Española
R _f	Factor de retención
s	Segundo(s)
T°	Temperatura
TLC	Thin Layer Chromatography

RESUMEN

El sabor es una de las principales características de elección de un alimento para los consumidores, generalmente las personas prefieren los alimentos con sabores dulces por encima de los que presentan sabor amargo. Sin embargo, no todos los alimentos amargos son desagradables para el consumidor. La palma *Chamaedorea tepejilote* presenta inflorescencias comestibles con sabor amargo. Esta inflorescencia ha sido consumida de forma tradicional en la parte sur del país y Centroamérica, por lo que en el presente trabajo se efectuaron estudios químicos y se evaluó como posible aditivo en alimentos. El análisis químico proximal de la planta liofilizada muestra un mayor contenido de proteínas (17.6%) con respecto a los demás componentes (cenizas 12.6%, fibra total 12.3%, lípidos 12.5%, humedad 8.7%). El análisis fitoquímico preliminar de los extractos acuoso y etanólico obtenidos por reflujo mostró la presencia de esteroides, saponinas, terpenoides, cumarinas y carbohidratos. El cromatograma HPLC-PDA del extracto acuoso mostró un perfil de al menos 6 compuestos mayoritarios, el cual se podría utilizar como referencia para la obtención de un extracto amargo estandarizado con posible aplicación en alimentos. Las pruebas realizadas para la selección de jueces analíticos permitieron la selección de 12 de los 28 participantes, los cuales se prepararon mediante un semi entrenamiento para la elaboración de un extracto amargo de *C. tepejilote* el cual fue evaluado para construir una escala de amargor utilizando cafeína y agua tónica marca Peñafiel® como referencia. La prueba de aceptación sensorial utilizando una escala hedónica de nueve puntos aplicada en bisteces de cerdo con extracto amargo de *C. tepejilote*, los cuales fueron evaluados por 50 personas, mostró diferencia estadística significativa en la que los evaluadores situaron a la muestra de manera general en una escala de “me gusta mucho” ($p < 0.05$).

1. INTRODUCCIÓN

El sabor amargo forma parte de los cinco sabores básicos y es una sensación común debida a la activación de receptores gustativos que responden a un estímulo químico. Se detecta mediante las papilas gustativas ubicadas en la parte posterior de la lengua. La percepción del sabor amargo es más lenta que los demás sabores y su persistencia en la boca es más tardada; así los alimentos amargos se describen como poseedores de un sabor residual. El sabor amargo disminuye en intensidad y duración conforme pasa el tiempo (Sinesio *et al.*, 2005). Los investigadores en biología evolutiva sugieren que este sabor es interpretado como desagradable en muchas culturas, debido al mecanismo de defensa que muestra la necesidad de sobrevivir evitando los envenenamientos, esto es así debido a que la mayoría de los venenos son de sabor amargo.

Los compuestos amargos no solamente son numerosos, sino también estructuralmente diversos (Meyerhof, *et al.*, 2010). Sin embargo el sabor amargo no se explica únicamente por la estructura de la molécula, esta percepción depende básicamente de diversas variables como; el tamaño de la molécula, grupos funcionales presentes, la posición del azúcar (si es que está presente), estereoquímica de la molécula, entre otros (Inarejos-García *et al.*, 2009). Cambios pequeños en la estructura química pueden convertir a los compuestos amargos en compuestos dulces o viceversa, incluso los sabores amargos y dulces en disolución pueden mejorar o suprimir la percepción de alguno de ellos (Schiffman, 2000).

Las moléculas amargas tienen un determinado arreglo estructural (Figura 1); se puede generalizar y decir que un compuesto amargo es aquel que posee un grupo AH (un electrófilo) y X (un grupo hidrofóbico), en donde un amino o un grupo hidrofóbico interactúa con el receptor llamado A', el grupo hidrofóbico X se enlaza con el receptor X' mientras que el receptor B' debe quedar libre (Roy, 1992)

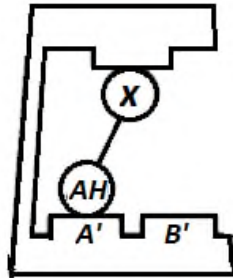


Figura 1. Modelo hipotético de las moléculas amargas, adaptado de Roy (1992).

Muchas sustancias amargas son de origen vegetal, pero otras derivan de los animales o se generan durante el procesamiento, envejecimiento o deterioro de los alimentos (Drewnowski, *et al.*, 2000; Murata, *et al.*, 2000).

2. MARCO TEÓRICO

Los órganos de los sentidos confieren a los seres humanos la capacidad de percibir y responder a una gama amplia de estímulos que provienen del entorno, lo cual nos brinda la facultad de elaborar respuestas con el fin de adaptarnos a los cambios medioambientales, cubrir nuestras necesidades básicas y sobrevivir. El sentido del gusto es el sentido corporal con el que se percibe el sabor de las sustancias químicas presentes en los alimentos (RAE, 2001) y posee un papel primordial que permite seleccionar dentro de una variedad amplia de alimentos los que son agradables a nuestro paladar.

La lengua es el órgano del gusto por excelencia, ya que en esta estructura anatómica es donde se encuentra la mayor cantidad de receptores gustativos. Su superficie es rugosa por la presencia de pequeñas eminencias llamadas papilas linguales. Estas se clasifican en caliciformes o circunvaladas, fungiformes, foliadas y filiformes (Figun & Garino, 2006).

Las denominadas sensaciones o modalidades primarias del gusto, se agrupaban tradicionalmente en cuatro categorías (Guyton & Hall, 2001; Ganong, 1996): dulce, amargo, ácido o agrio y salado. Sin embargo, los estudios realizados en Japón por el profesor Ikeda a principios del siglo XX (Ikeda, 1909), indicaban la existencia de una nueva modalidad gustativa, la cual llamó "Umami", cuya traducción significa "sabroso", "delicioso" o "exquisito". Actualmente, la mayoría de las investigaciones incluyen el sabor umami en sus análisis, agrupando así los sabores básicos en cinco modalidades gustativas (Breslin & Spector, 2008; Kim *et al.*, 2004). Otro cambio importante en el conocimiento es que se creía que cada sensación sólo se podía percibir en una zona específica del dorso lingual describiendo un mapa (Hanig, 1901; Boring, 1942; Collings, 1974). Datos moleculares (Nelson *et al.*, 2002; Huang *et al.*, 2006), han puesto de manifiesto que todas las áreas de la lengua que poseen receptores de gusto, responden a todas las modalidades gustativas.

Para provocar las sensaciones primarias del gusto se han utilizado distintos compuestos químicos, los más usados son: la sacarosa y glucosa para el sabor dulce, glutamato monosódico y aspartato para el umami, quinina y cafeína para el amargo, ácido cítrico para el ácido, y cloruro de sodio para el salado (Chandrashekar *et al.*, 2006; Roper, 2007; Drake, 2007).

2.1 RECEPTORES DEL SABOR AMARGO

La capacidad para percibir el sabor amargo varía entre cada individuo debido a la diferencia genética entre los mismos, y en algunos casos ésta capacidad puede ser un rasgo heredado (Bartoshuk LM. 1994).

Los receptores del sabor amargo son muchos, se estima un aproximado de 40-80 (Adler *et al.*, 2000). Estudios genéticos recientes mencionan que la habilidad de los humanos para detectar este sabor está determinada por un lugar del cromosoma 5 y posiblemente del cromosoma 7 (Montmayeur y Matsunami, 2002). Los compuestos de sabor amargo son percibidos por un conjunto específico de células ubicadas en la lengua y el paladar, caracterizadas por expresar los miembros del receptor llamado TASTE 2 (T2R o TAS2R); estos receptores son capaces de responder ante diversos compuestos amargos (Ley, 2008; Zhang *et al.*, 2003; Mueller *et al.* 2005; Montmayeur y Matsunami, 2002).

2.2. ADITIVOS

Los aditivos se clasifican por su función en: colorantes, conservantes, antioxidantes, reguladores de acidez, emulgentes y estabilizantes, antiapelmazantes, saborizantes y potenciadores de sabor (Morcillo *et al.*, 2011).

2.2.1. Colorantes

Existe una toda una variedad de compuestos orgánicos, sustancias químicas sintéticas y pigmentos naturales que se pueden agregar a los alimentos para mejorar su color. También se emplean algunas sales minerales; las sales de calcio y hierro pueden mejorar el valor nutrimental de un alimento así como su color.

2.2.2. *Conservadores*

Se utilizan para proteger a los alimentos contra la proliferación de microorganismos que pueden deteriorarlos con el fin de aumentar la vida útil del producto. Tales compuestos incluyen a los ácidos ascórbico, benzoico y sus sales, dióxido de sulfuro y sus sales, así como los nitritos y nitratos utilizados en salmueras. Además existen diversos compuestos orgánicos que se producen de forma natural, como los ácidos fumárico, málico, propiónico, acético y sus sales, se utilizan para dar sabor, para controlar la acidez de los alimentos, y por tener una efectiva acción antimicrobiana.

2.2.3. *Antioxidantes*

Se usan para evitar que los alimentos grasos se pongan rancios y para proteger las vitaminas liposolubles de la oxidación. Entre los antioxidantes sintéticos están los ésteres de ácido gálico, butilhidroxitolueno (BHT) y butilhidroxianisol (BHA). Las vitaminas C y E también se pueden utilizar como agentes antioxidantes.

2.2.4. *Reguladores de acidez*

Los correctores de acidez se utilizan para alterar o controlar la acidez o la alcalinidad de un alimento y mantenerla en un nivel adecuado, lo que es importante en términos de procesamiento, sabor y seguridad alimentaria.

Los ácidos y sus sales se utilizan para dar sabor y también para controlar el pH de los alimentos. Los álcalis (incluidos los hidróxidos de magnesio, calcio, potasio y sodio) se pueden utilizar para neutralizar el exceso de acidez en los alimentos.

2.2.5. *Emulgentes y estabilizantes*

Los aditivos de este grupo se emplean para que los aceites y grasas se puedan mezclar con agua y formen emulsiones suaves (como la margarina y la mayonesa), para dar una textura cremosa y suave a los alimentos y para aumentar el periodo de duración de los productos horneados. En este grupo podemos encontrar a las gomas vegetales (alginatos, agar-agar y la goma de algarrobo) y como emulgentes también se pueden citar a la lecitina y ésteres de ácidos grasos.

2.2.6. *Antiapelmazantes*

Estos agentes se usan para que algunos productos en polvo como la sal o harina no se vuelvan compactos. En este grupo se incluyen la harina de huesos, polifosfatos, silicatos, estearatos (de calcio, sodio y potasio) y gluconatos.

2.2.7. *Saborizantes y potenciadores de sabor*

Dentro del grupo de los saborizantes se incluyen los dulcificantes, algunos ácidos, aceites esenciales, extractos naturales de frutas e hierbas y compuestos sintéticos que imitan los sabores naturales.

Además de estos, existen otros compuestos que se emplean para mejorar el sabor en los alimentos sin aportar su sabor propio, sino que refuerzan el de otros compuestos presentes. Esto es especialmente importante en el caso de las sopas y salsas deshidratadas, aunque también son muy utilizados en muchos otros alimentos (Ibáñez, *et al*, 2003) estos son denominados potenciadores de sabor. Entre los potenciadores más utilizados se encuentran el ácido glutámico y sus sales (glutamato monosódico) los cuales se utilizan para potenciar el sabor umami principalmente en productos cárnicos; el maltol utilizado en la elaboración de pasteles y productos de panadería; el caramelo 150 obtenido de manera natural o sintética dependiendo del reactivo utilizado para su fabricación, que además de funcionar como colorante potencia el sabor amargo en productos como refrescos, bebidas alcohólicas, salsas, chocolates, entre otros.

2.3 EVALUACIÓN SENSORIAL

La "Evaluación Sensorial" es una disciplina científica mediante la cual se evalúan las propiedades organolépticas a través del uso de uno o más de los sentidos humanos.

Mediante esta evaluación se pueden clasificar las materias primas y productos terminados, conocer que opina el consumidor sobre un determinado alimento o producto, su aceptación o rechazo, así como su nivel de agrado, estos criterios se tienen en cuenta en la formulación y desarrollo de los mismos (Manfugas, 2007).

Algunas de las propiedades que se evalúan en una prueba sensorial son:

a) Apariencia.

Es el aspecto general de un producto que incluye el color, el tamaño y la forma en que se presenta la muestra a evaluar.

b) Consistencia, viscosidad y textura.

Estos atributos son aquellos que pueden ser percibidos por los sensores localizados en la boca, en la piel y músculos del cuerpo.

La evaluación sensorial se basa en diversas disciplinas como; psicología, fisiología, química, física y estadística, por tal razón ha ido aumentando su reconocimiento en laboratorios gubernamentales, universitarios e industriales haciendo que su campo de aplicación se amplíe. A continuación se enlistan algunas de las múltiples aplicaciones de la evaluación sensorial.

a) Aseguramiento de calidad.

Establece los criterios de calidad y referencias a través de los cuales la materia prima y el producto terminado se pueden calificar, clasificar y evaluar.

b) Control de calidad.

Determina los atributos sensoriales de los productos, los cuales deben ser considerados desde la manufactura hasta el almacenamiento de los mismos con el propósito de cumplir con las normas comerciales, así como con la aceptación por parte del consumidor.

c) Desarrollo de nuevos productos.

Ayuda en la formulación de productos y en la modificación de los ya existentes, al tratar de mantener las características sensoriales deseadas.

d) Correlación con medidas químicas, físicas o instrumentales.

Permite desarrollar cálculos de propiedades sensoriales de forma inmediata y reproducible. Ejemplo: Correlación de atributos de textura con viscosímetros y texturómetros.

e) Reducción de costos.

Determina si existe algún cambio significativo en los atributos sensoriales de un producto al sustituir una materia prima por otra con la finalidad de reducir el costo.

f) Estudios de mercado.

Ayuda a conocer las preferencias del consumidor, así como el nivel de agrado, en relación a los atributos sensoriales de un producto.

Clasificación de las pruebas sensoriales

Estas pruebas no requieren de jueces analíticos, por el contrario se emplean grupos representativos de consumidores potenciales o habituales del producto, quienes no tienen que conocer la razón del estudio que se realiza, sino entender el procedimiento de la prueba y responder a ella (Andalucía, 1994).

2.3.1 Métodos de evaluación sensorial

Los métodos de evaluación sensorial se dividen en dos grandes grupos: pruebas afectivas y pruebas analíticas (Espinoza, 2007)

- Pruebas afectivas

Se realizan con personas no seleccionadas ni entrenadas, las que constituyen los denominados jueces afectivos. Los mismos en la mayoría de los casos se escogen atendiendo a que sean consumidores reales o potenciales del producto que se evalúa, pudiendo tener en cuenta aspectos económicos, demográficos, entre otros aspectos. Las pruebas afectivas se emplean en condiciones similares a las que normalmente se utilizan al consumir el producto, de ahí que puedan llevarse a cabo en supermercados, escuelas, plazas, etc. Los resultados que se obtienen permiten conocer la aceptación, rechazo, preferencia o nivel de agrado de uno o varios productos, por lo que es importante que las personas entiendan la necesidad de emitir respuestas lo más reales posibles. El cuestionario a emplear es otro elemento que debe ser analizado con rigor, para evitar que este introduzca errores en los resultados obtenidos. El mismo no debe ser muy extenso para evitar

fatiga en los jueces o rechazo a realizar la prueba, además debe ser fácil de responder, con una redacción clara, con preguntas fáciles de comprender y con impresión legible.

- Pruebas analíticas

Se realizan en condiciones controladas de laboratorio y son realizadas con jueces que han sido seleccionados y entrenados previamente (jueces analíticos). Las mismas se subdividen en pruebas discriminativas, escalares y descriptivas.

Las pruebas discriminatorias permiten comparar dos o más productos, e incluso estimar el tamaño de la diferencia. De manera general son sencillas y de gran utilidad práctica. Las pruebas escalares son aquellas en las cuales se mide de manera cuantitativa la intensidad de una propiedad sensorial con la ayuda de una escala. Debido a que las mismas se emplean como herramientas de trabajo en otros métodos sensoriales, algunos autores y especialistas en la temática no las tienen en cuenta dentro de la clasificación de los métodos de evaluación sensorial. Las pruebas descriptivas son de manera general más complejas, mediante las mismas, los jueces establecen los descriptores que definen las diferentes características sensoriales de un producto y utilizan dichos descriptores para cuantificar las diferencias existentes entre varios productos.

2.3.2 Clasificación de los jueces sensoriales

Se distinguen dos tipos de jueces: afectivos y analíticos (Espinoza, 2007).

- Juez afectivo

El juez afectivo es el individuo que no tiene que ser seleccionado ni adiestrado, son consumidores escogidos al azar y representan la población a la cual se estima está dirigido el producto que se evalúa. El objetivo que se persigue al aplicar una prueba de evaluación sensorial con este tipo de juez, es conocer la aceptación, preferencia o nivel de agrado que estas personas tienen con relación al alimento evaluado. Las pruebas con consumidores pueden realizarse en un supermercado, una escuela, centro de trabajo, etc. El número de participantes en cada prueba debe ser grande para minimizar la variación propia de la subjetividad de las

respuestas y puedan identificarse las diferencias más importantes del producto sujeto al estudio. Se plantea que el número mínimo de jueces a emplear debe ser 80, aunque a medida que se aumente este valor el error tiende a disminuir. Debido a que los juicios que se emiten están influenciados por diversos factores propios del individuo, es de esperarse una variación grande entre ellos, por lo que debe tratarse de normalizar ciertas condiciones que permitan lograr resultados más objetivos, como son: una explicación detallada a los participantes del procedimiento de la prueba y de la importancia de los criterios que se emitan para complementar los objetivos de la misma, el conocimiento de las características socioculturales y económicas del grupo y la presentación adecuada de las muestras, entre otras.

- Juez analítico

El juez analítico es el individuo que entre un grupo de candidatos ha demostrado una sensibilidad sensorial específica para uno o varios productos. Es necesario tener en cuenta algunos aspectos personales de los jueces analíticos entre los que se encuentran los siguientes:

Edad. Como representante de la población en general se consideran las personas entre 18 y 50 años de edad, pues se supone que sus organismos han logrado un desarrollo óptimo, tanto desde el punto de vista fisiológico como cultural.

Sexo. Es aconsejable que las comisiones de evaluación sensorial estén formadas por individuos de ambos sexos, evitando así las variables debidas a este factor.

Estado de salud. Los jueces analíticos no deben presentar ninguna enfermedad, bien sea esta de tipo orgánica o psíquica, pues se altera su capacidad perceptiva y su atención. Las personas que padecen afecciones respiratorias o visuales crónicas no pueden ser seleccionadas.

Carácter y responsabilidad. El juez tiene que ser honesto, confiable y cuando trabaja en grupo no debe ser ni demasiado pasivo ni muy dominante en su actitud. Debe mostrar preocupación e interés en la prueba que está realizando, siendo puntual, receptor y fiel al procedimiento solicitado.

Afinidad con el material objeto de prueba. Los jueces analíticos no pueden emplearse cuando presentan un franco rechazo al material que se estudia, por ejemplo, no podrá participar en una prueba con chocolate, la persona a quien este producto cause alergia o una sensación de malestar físico. No es fundamental que cada juez considere cada muestra agradable, lo decisivo es que evalúe las muestras con cuidado y objetividad. Tampoco deben considerarse las personas que tengan una preferencia excesiva sobre el producto a evaluar.

Disponibilidad. Las personas que no disponen del tiempo necesario para participar en las actividades que requiere la evaluación sensorial no deben ser catadores, ya que la habilidad y destreza de los mismos sólo puede lograrse con una participación constante en las diferentes sesiones de cata.

Una vez conformada la Comisión de Evaluación Sensorial el grupo actúa como un instrumento de medición, por lo que la presencia de todos los integrantes de la misma es de vital importancia.

3. ANTECEDENTES

El sabor es una de las principales características en la que los consumidores se enfocan al momento de elegir un alimento, generalmente las personas prefieren los alimentos con sabores dulces por encima de los alimentos con sabor amargo, sin embargo no todos los alimentos amargos son desagradables para el consumidor. Existen en la actualidad diversas bebidas y alimentos en los cuales una concentración definida de un compuesto amargo ayuda a equilibrar el perfil de sabor en los mismos.

3.1. COMPUESTOS RESPONSABLES DEL SABOR AMARGO

La mayoría de los compuestos responsables del sabor amargo tienen la característica general de poseer fenoles en su estructura molecular y presentan actividad antioxidante tales como los polifenoles (A-E), las antocianinas y los carotenoides (Ares *et al.*, 2009). Sin embargo, se pueden encontrar otras moléculas como terpenos (D), sulfimidadas (sacarina (F)), algunos aminoácidos (G), péptidos, ésteres (H), lactonas (I), metilxantinas (cafeína (T)) (Figuras 2 y 6), que también presentan esta característica sensorial.

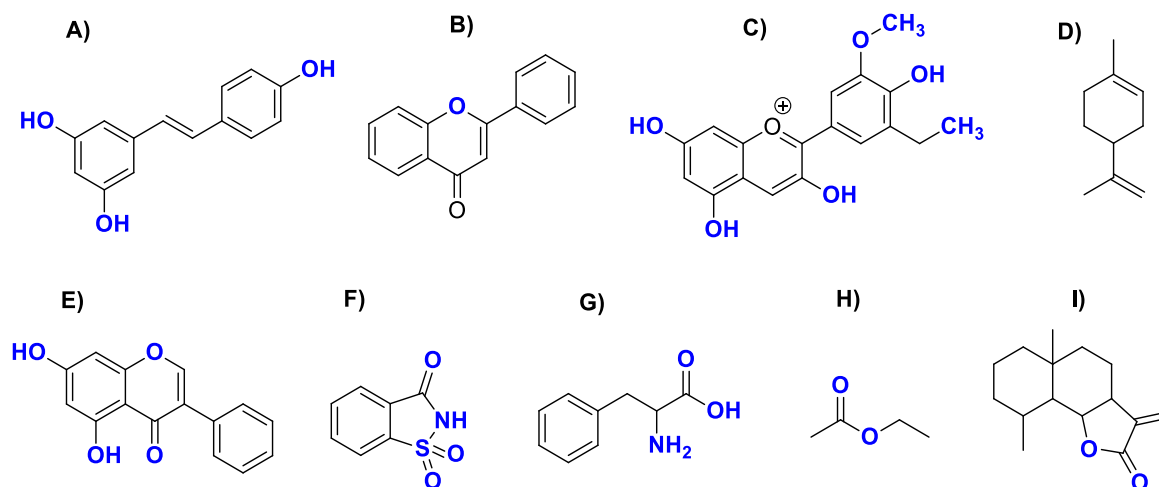


Figura 2. Compuestos responsables del sabor amargo: A) fenol, B) flavonoide y C) antocianina (cianidina), D) terpeno (limoneno), E) isoflavona, F) sacarina, G) fenilalanina, H) éster, I) lactona sesquiterpénica.

Existen compuestos que son utilizados para estimular el sabor amargo en algunos experimentos y se clasifican en iónicos y no iónicos; el primer grupo incluye al benzoato de denatonio (J), quinona hidroclicorada (L) y el sulfato de magnesio, los cuales son amargos a muy bajas concentraciones (Figura 3). El segundo grupo incluye a la cafeína (Q) y al octaacetato de sacarosa (K) (Figura 6, Frank *et al.*, 2004).

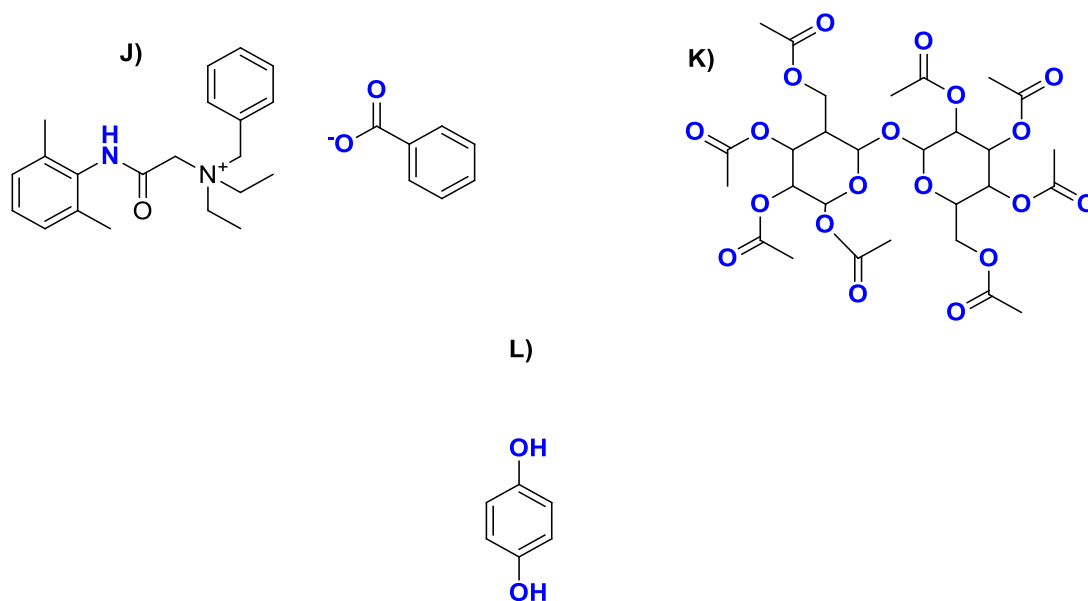


Figura 3. Compuestos utilizados para estimular el sabor amargo.

3.2. ALIMENTOS EN LOS QUE EL SABOR AMARGO ES UNA CARACTERÍSTICA INDESEABLE

El aceite de oliva virgen presenta una nota amarga y se debe a los compuestos derivados de ligstrosida (V) y oleurepeina (X) y se encuentran en los frutos de olivo no maduros. Esta es una característica sensorial deseable en el producto terminado debido a que potencializa las notas relacionadas con el mismo (Sinesio *et al.*, 2005; Iranejos *et al.*, 2009).

La zanahoria es un alimento con compuestos a los cuales se les atribuye efectos anticancerígenos, pero la presencia de estos compuestos contribuyen al sabor

amargo de la misma (Kreutzmann *et al.*, 2007). Contiene ácidos fenólicos, isocoumarinas (W) y 2,4,5-trimetoxibenzaldehído (Y), los cuales son responsables del sabor amargo presente en el tubérculo.

Los cítricos como la naranja, limón y toronja contienen compuestos como la naringenina (P) y limonina (O) que proporcionan el sabor amargo característico de estas frutas (Figura 6).

Actualmente se ha reportado que el sabor amargo en plantas alimenticias como el camote, frijol, chícharo, col, pepino, entre otras, presentan la característica de contener toxinas amargas (Villegas *et al.*, 2010).

El sabor amargo indeseable también se ha observado frecuentemente en los hidrolizados de proteína y en los quesos curados, este efecto es por la hidrofobicidad global de las cadenas laterales de los aminoácidos presentes en los péptidos (Fennema, 2000).

3.3. ALIMENTOS EN LOS QUE EL SABOR AMARGO ES UNA CARACTERÍSTICA DESEABLE.

Un ejemplo de un producto alimenticio donde el sabor amargo es una característica deseable es la cerveza, la cual se forma a partir de la fermentación de la malta, donde se producen los iso- α -ácidos ó isohumulonas (R) que provienen de la secreción glandular de las flores femeninas no fecundadas del lúpulo. Éstos compuestos muchas veces se utilizan como agentes para evitar reacciones de oxidación que dan lugar al desarrollo de sabores rancios en la cerveza.

Por otro lado alimentos como el chocolate, donde el sabor amargo está presente en los granos de cacao debido a la presencia de xantinas (Q), la salsa de soya debido a la presencia de agliconas. En el café debido a la presencia de cafeína (T) y ácidos clorogénicos (S), el té verde por la presencia de flavonoides (B), así como jugos, algunos vinos también presentan amargor que procede de los ácidos fenólicos y principalmente de los taninos presentes en las semillas, en los hollejos

y en el escobajo de las uvas y en el agua tónica debido a la presencia de quinina (U), (Figura 5, Szejtli y Szente, 2005; Roy, 1992,).

3.3.1. Lúpulo

El lúpulo es una planta perteneciente a la familia de las cannabináceas, llega a crecer hasta los 8 m de altura, se cultiva solo en climas templados. Se emplean flores femeninas para obtener una sustancia amarga útil para la elaboración de cerveza a la cual le otorga su aroma peculiar y sabor, al mismo tiempo que permite su conservación.

Las resinas del lúpulo fresco están constituidas por α y β ácidos siendo los primeros el principal componente amargo de la cerveza. Durante la cocción del lúpulo en el mosto, los α -ácidos se isomerizan de manera que los iso α -ácidos o humulonas producidos son más amargos y mucho más solubles que los β -ácidos o lupulonas (Figura 4, Houg J.S., 1985).

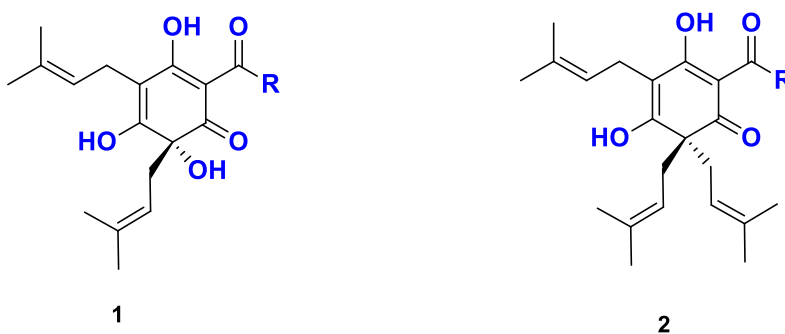


Figura 4. Resinas del lúpulo: 1) α -ácidos (humulonas) y 2) β -ácidos (lupulonas)

3.3.2. Colorante Caramelo

Es el colorante más utilizado en la elaboración de productos alimenticios y además de actuar como saborizante (Granados, 2013). Puede ser natural o sintético, es de color marrón oscuro y de sabor amargo, se obtiene mediante la caramelización cuidadosa del jarabe de glucosa o fructosa de trigo y maíz. Se utiliza ampliamente en la industria de los alimentos como aditivo en bebidas gaseosas (refrescos),

bebidas alcohólicas (cerveza, destilados y licores) y no alcohólicas (jugos y café), galletas, botanas, yogures, dulces, salsa de soya, entre otros.

3.3.3. Quinina

La quinina (U) (Figura 6) es un alcaloide utilizado como estándar para la detección del sabor amargo y está permitida como aditivo en bebidas como el agua tónica en la que actúa como potenciador de sabor confiriéndole su sabor amargo característico, se usa en los refrescos en donde el sabor amargo se mezcla con otras sustancias proporcionándole una sensación gustativa refrescante a las mismas (Sánchez *et al.* 2008).

3.3.4. Amargo Angostura®

El amargo de Angostura o zumo de lima concentrado, es un ingrediente apreciado en la elaboración como biter en cócteles, y también como condimento de sopas y salsas. Tiene sabor amargo con un contenido alcohólico de 44.7% en volumen, se usa en pequeñas cantidades para dar un toque a diferentes mezclas. Fue creado inicialmente para curar algunos malestares estomacales, sin embargo actualmente es conocido por su uso como aromatizante y potenciador de sabor en diferentes bebidas y alimentos.



Figura 5. Amargo de angostura (Fuente: liquor.com)

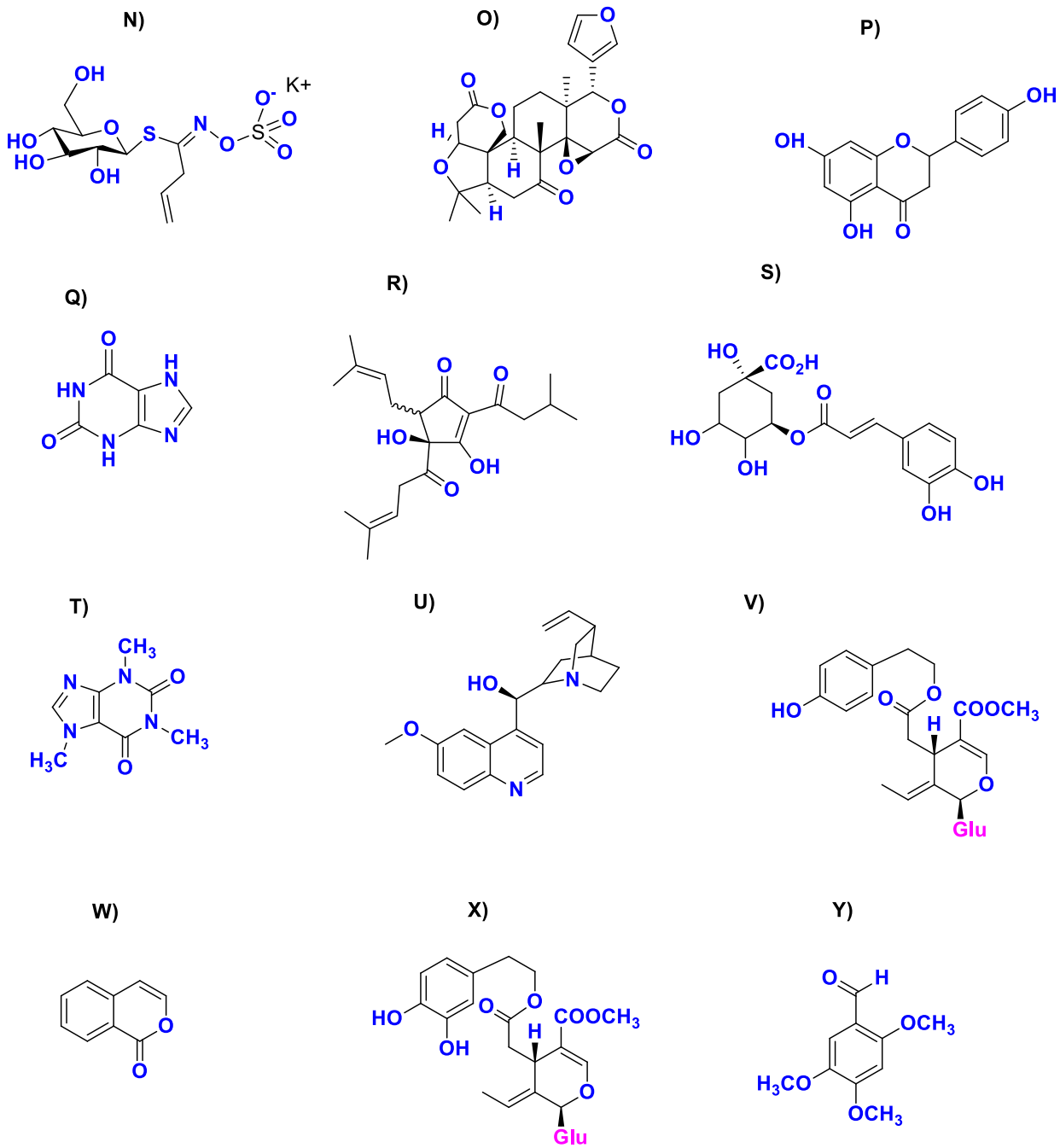


Figura 6. Moléculas responsables del sabor amargo en algunos alimentos: N) Sinigrina, O) Limonina, P) Naringenina, Q) Xantina, R) Isohumulonas, S) Ác. clorogénico, T) Cafeína, U) Quinina, V) Ligstrosida, W) Isocumarina, X) Oleuropeina, Y) 2,4,5-trimetoxi benzaldehído.

2.4. EL TEPEJILOTE.

El género *Chamaedorea* es endémico del continente americano, se distribuye desde el centro de México hasta Brasil y Bolivia. Hay diferentes opiniones respecto al número de especies que existen para este género, aunque se conocen más de 100 (113-133) (Castro 1992 y Hole, 1999).

México es el país con mayor biodiversidad de especies de este género (entre 45 y 50), Oaxaca y Chiapas son los estados que presentan la mayor parte de estas plantas (Ramírez, 2001).

El tepejilote (*Chamaedorea tepejilote Liebm.*) es una especie de distribución amplia y se localiza desde México (Jalisco, Oaxaca, Tabasco, Chiapas, Veracruz) hasta Colombia, pasando por Guatemala, Belice, Honduras, El Salvador, Nicaragua, Costa Rica y Panamá. Son palmas que van desde 1-7 m de altura, con tallos solitarios o agregados, producen inflorescencias intrafoliares casi siempre solitarias con flores densamente agrupadas, verdes a amarillas (Chizmar Fernández, 2009), crece en los bosques mesófilos, selva mediana perennifolia y subperennifolia, en sitios poco sombreados y suelos pedregosos con roca aflorante, en altitudes que van desde el nivel del mar hasta 1,600 msnm (Mendoza, 1996), con preferencia hacia los sitios húmedos como son las cañadas y “rejollas”.

A lo largo de su distribución en México se le conoce con varios nombres como: tepejilote, pacaya, guaya, chiib, caña verde, ixquil, quib, chimp, bojon, aula-te, chem-chem, ternero pacaya grande y elote de monte. El nombre tepejilote deriva de una voz náhuatl que significa “espiga de monte”, tal vez porque sus inflorescencias asemejan espigas de maíz y son comestibles (Figura 7).

El tepejilote, en México, se consume en Chiapas y Oaxaca principalmente, siendo la región de la Sierra Norte de Oaxaca donde se consume en grandes cantidades. En esta región habitan indígenas de las etnias, chinanteca, mixe y zapoteca que aprecian el sabor amargo del tepejilote y se alimentan de sus inflorescencias (Flores, 2002).

Hasta el momento, la única utilidad que se conoce de las inflorescencias del tepejilote es la de alimento tradicional, sin embargo, algunas personas le atribuyen cualidades medicinales y en el occidente de Honduras se usa como estimulante del apetito (Cordero y Boshier, 2003). También cuenta con aplicaciones medicinales en nuestro país, donde se utiliza para curar enfermedades respiratorias (Roldan, 2007).



Figura 7. Palma *Chamaedorea Tepejilote*. a) Hábitat, b) Inflorescencias sin vaina, c) fruto.

En un estudio fitoquímico de las inflorescencias de *C. tepejilote* (Jiménez-Arellanes *et al.* 2005) reportaron la bioactividad de las fracciones F1 y F8 del extracto hexánico, con la inhibición del crecimiento de *Mycobacterium tuberculosis* a una concentración de 100 $\mu\text{g/mL}$ en 96.24% y 74.82%, respectivamente. En la fracción F1 identificaron tres compuestos: escualeno (f) como el principal constituyente, farnesol (g) y el hexadecanoato de metilo (l) (Figura 8). Mientras que en las fracciones F3-F5 detectaron β -sitosterol (k) (Corregir la estructura química). La purificación de la fracción F8 produjo 11 subfracciones identificando al β -sitosterol en la F8A y al ácido ursólico (j) (Corregir la estructura química, falta un metilo) en las F8E y F8F. Por otro lado, se evaluaron al esqualeno, farnesol y ácido ursólico a una concentración de 100 $\mu\text{g/mL}$ contra *M. tuberculosis* y se observó que reduce su crecimiento en un 99%.

En el 2006 Pérez y colaboradores realizaron un estudio para evaluar la actividad antitusiva de los extractos clorofórmico, metanólico y acuoso, así como un estudio fitoquímico del extracto activo de *C. tepejilote* en ratones a los cuales se les indujo tos con dióxido de azufre. Los autores describieron que los extractos metanólico y clorofórmico presentan propiedades antitusivas con un porcentaje de inhibición del 49 y 41%, respectivamente en ratones con tos inducida. El estudio fitoquímico dio positivo para flavonoides y carbohidratos.

En el 2013 Riquett y Sorlózano, estudiaron la actividad hipoglucémica del extracto acuoso de tepejilote. La administración de 300 mg/kg del extracto de *C. tepejilote* en ratones normoglucémicos redujo la glucosa sanguínea en 29,77 % lo que confirmó el efecto hipoglicémico de esta planta usada en la medicina tradicional para el tratamiento de la diabetes.

Se realizaron estudios en los que se identificaron los compuestos siguientes de *C. tepejilote* (Kaiser, 1997): l) *E*- β -sinensol, e) 2,3-dihidrofarnesal, f) escualeno, g) farnesol, h) *Z*- β -sinensol, y i) β -sinensal (Figura 8).

Un estudio nutrimental de inflorescencias de palmas comestibles de *C. tepejilote* realizado en la sierra de Tabasco mostró los datos mostrados en la Tabla 1, (Centurión, *et al.* 2009). De estos datos resalta el contenido de proteínas ($24.19 \pm 0.04\%$) y de cenizas ($17.25 \pm 0.004 \%$).

Tabla 1. Análisis proximal de inflorescencias de *C. tepejilote* (Centurión, *et al.*, 2009)

Componente	%
Humedad	8.31 ± 0.002
Cenizas	17.25 ± 0.004
Extracto etéreo	1.62 ± 0.03
Proteína cruda	24.19 ± 0.04
Fibra cruda	12.16 ± 0.02
Hidratos de carbono	36.47 ± 0.01

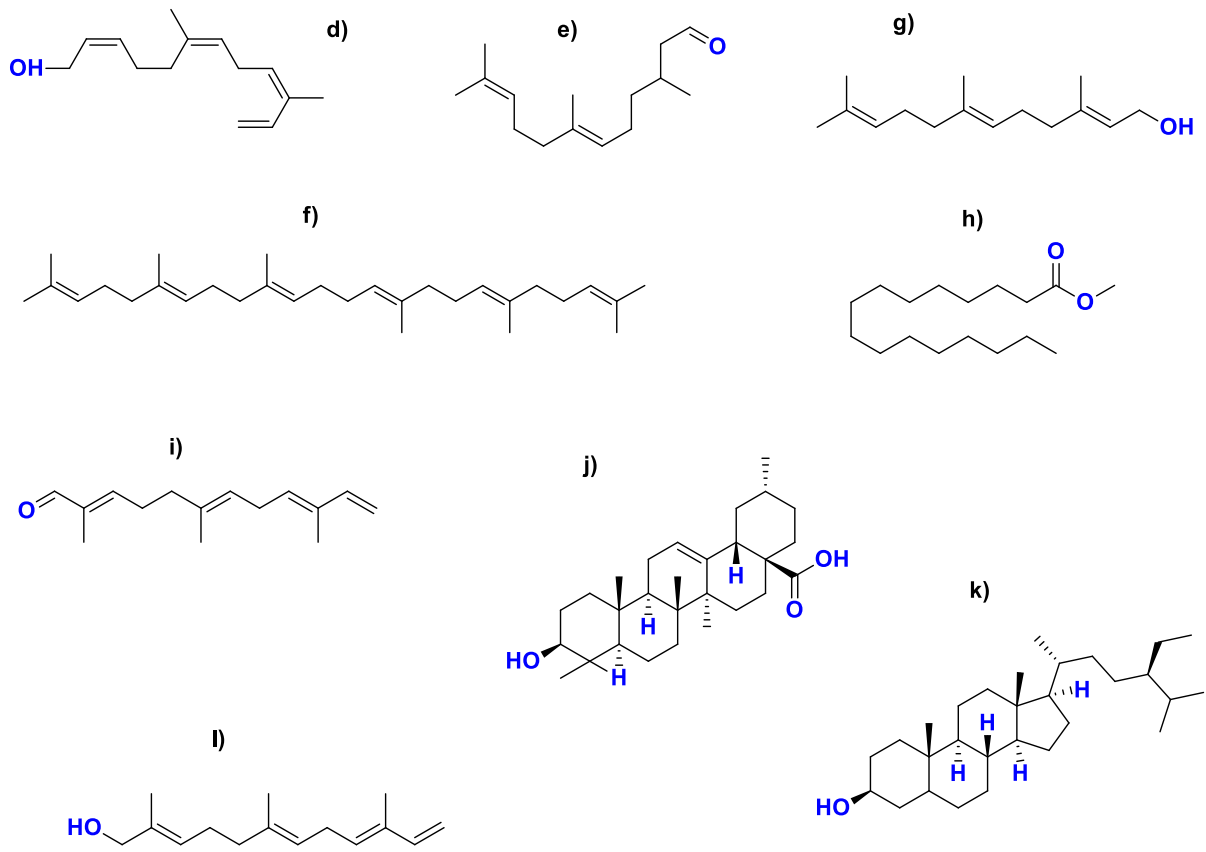


Figura 8. Compuestos aislados de *Chamaedorea tepejilote*: d) Z-β-sinensol, e) 2,3-dihidrofarnesal, f) Escualeno, g) Farnesol, h) Hexadecanoato de metilo, i) β-sinensal, j) Ácido ursólico, k) β-sitosterol, l) E-β-sinensol.

4. JUSTIFICACIÓN

La búsqueda de sabores exóticos en alimentos es un área de interés para las características sensoriales deseadas en la satisfacción del paladar de consumidores de bebidas y alimentos. El sabor amargo es una de las percepciones intensas presentes en algunos alimentos de amplia demanda comercial, por lo que el desarrollo de nuevos aditivos de fuentes novedosas naturales con esas características puede potenciar el desarrollo y formulación de un aditivo alimentario.

5. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El sabor amargo es una de las características sensoriales deseables en determinados tipos de alimentos y bebidas. Muchos de los productos que presentan estas características son comercializados mundialmente como las cervezas, café, tónicos, entre otros. En la industria de los alimentos la búsqueda de aditivos alimentarios sigue siendo un área de oportunidad para productos de origen natural que satisfagan las tendencias de consumo. En este trabajo se exploró el uso del jugo de inflorescencias de *Chamaedorea tepejilote* como aditivo alimenticio para su empleo como aditivo para el marinado de carnes y la evaluación sensorial de los productos cárnicos que son tratados con el mismo, con la finalidad de avanzar hacia el diseño de una formulación a partir de esta planta.

6. OBJETIVOS

5.1. Objetivo general:

Obtener un extracto con características amargas de *Chamaedorea tepejilote* para su empleo como aditivo alimentario.

5.2. Objetivos específicos:

- ✓ Obtener un extracto amargo de las inflorescencias de la planta *C. tepejilote* mediante ebullición.
- ✓ Reclutar a un grupo de personas que cuenten con aptitudes sensoriales para formar parte de un panel de jueces semi-entrenados que evalúen el extracto amargo de *C. tepejilote*.
- ✓ Construir una escala de amargor del extracto acuoso.
- ✓ Realizar pruebas preliminares del uso del extracto amargo de *C. tepejilote* en un alimento.
- ✓ Realizar pruebas cualitativas para obtener el perfil fitoquímico del extracto amargo de *C. tepejilote*

7. HIPÓTESIS

Las características amargas del tepejilote pueden ser apropiadas para el desarrollo de un potenciador de sabor para el marinado de productos cárnicos.

8. METODOLOGÍA.

El esquema general que se realizó en el presente trabajo implica la selección y entrenamiento de jueces sensoriales para la construcción de una escala de amargor del extracto acuoso de *Chamaedorea tepejilote*, la realización el análisis químico proximal de las inflorescencias y la obtención el perfil fitoquímico preliminar y cromatográfico de los extractos para finalmente llevar a cabo una prueba sensorial utilizando bisteces de cerdo tratados con extracto amargo de tepejilote, (Figura 9).

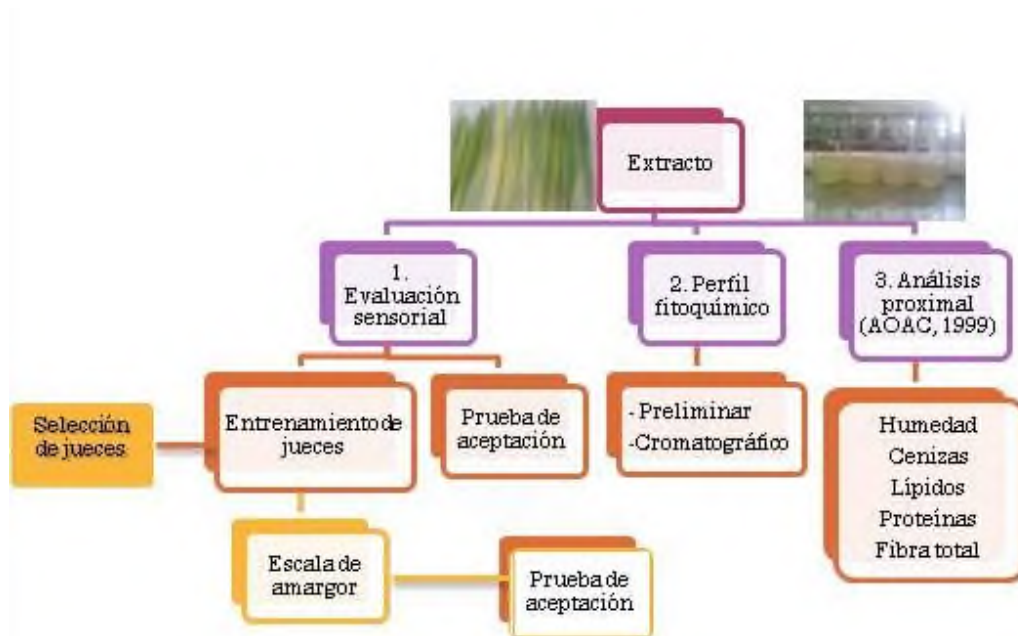


Figura 9. Metodología experimental utilizada en el presente trabajo.

8.1. Pre tratamiento de la muestra

Las inflorescencias frescas de *C. tepejilote* (Figura 10a) se secaron en un liofilizador marca LABCONCO (Figura 10b). La muestra liofilizada (Figura 10c) se pulverizó y se guardó para posteriormente realizar su análisis proximal (ver sección 8.5), obtención del extracto acuoso (ver sección 8.2.3) el perfil fitoquímico preliminar (ver sección 8.6) y el perfil cromatográfico (ver sección 8.7).

Los extractos utilizados en la fase de entrenamiento de jueces, en la construcción de la escala de amargor y en la prueba de aceptación, se elaboraron con inflorescencias frescas de *C. tepejilote* obtenidas de la localidad de **Cerro Quemado**, Municipio de San Pedro Ixcatlán, Oaxaca.

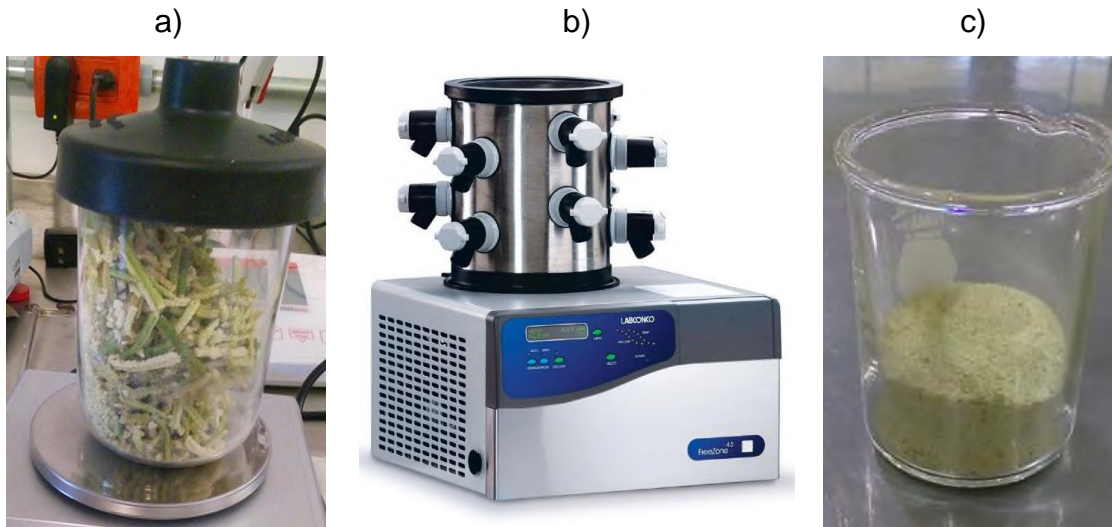


Figura 10. a) Inflorescencias de *C. tepejilote* para liofilizar, b) Liofilizador marca LABCONCO c) Inflorescencias liofilizadas.

8.2. Evaluación sensorial

8.2.1. Selección de jueces

Para la prueba descriptiva cuantitativa, es necesario contar por lo menos con 10 jueces para asegurar que los resultados obtenidos sean confiables. Para esto se reclutaron 28 candidatos los cuales fueron hombres y mujeres en edad entre 20-45 años, y se entrevistaron inicialmente para determinar si contaban con las características deseadas para formar parte del panel de jueces analíticos. Posteriormente, se procedió a entrenar a todas aquellas personas que cubrieron con estos requisitos para finalmente seleccionar con base en los resultados a aquellas personas que fueron más adecuadas para el estudio final.

La objetividad con que se desarrolló la prueba fue de gran importancia en la confiabilidad de los resultados del análisis sensorial. Para seleccionar a los jueces analíticos que realizaron las pruebas finales para construir la escala de amargor

del extracto acuoso de *C. tepejilote* se tomaron en cuenta los siguientes criterios de selección (Andalucía, 1996):

- a) *Disponibilidad de tiempo.* Es necesario contar mínimo con el 80% de asistencia de cada uno de los jueces durante la etapa del entrenamiento.
- b) *Edad.* Se toman en cuenta personas entre los 18 y 50 años de edad, debido a que es el intervalo de edad en la que ya han alcanzado un óptimo desarrollo físico.
- c) *Salud.* El funcionamiento del organismo es de suma importancia, ya que si el juez padece cualquier enfermedad o malestar ya sea orgánico o psíquico, se altera su capacidad perceptiva así como su enfoque de atención. De tal forma que se seleccionaron personas sanas.
- d) *Habilidad.* Un juez incapaz de detectar una propiedad, o de diferenciar entre dos muestras, no va a ser adecuado para participar en pruebas sensoriales y las respuestas que de no podrán ser tomadas como válidas.
- e) *Hábitos.* Fumar o usar perfumes puede alterar la percepción o distraer a los demás jueces durante la prueba.
- f) *Comportamiento frente a los productos alimentarios.* Se debe conocer si los sujetos experimentan alguna repulsión o rechazo frente a determinados productos alimentarios. Por otro lado, puede darse el caso de que una persona muestre una especial preferencia por algún tipo de producto, de tal modo que condicione sus respuestas a las muestras evaluadas y asigne incorrectamente las puntuaciones para un atributo en particular o para un conjunto de características.
- g) *Interés y motivación.* Los jueces que estén interesados en formar parte de un panel de análisis sensorial, estarán más motivados y por consiguiente serán mejores jueces que aquellos que no lo estén. Por ello, es importante detectar a aquellos candidatos a juez que muestren buena disposición para llevar a cabo las pruebas.
- h) *Conocimientos y aptitudes.* Puesto que las percepciones sensoriales deben interpretarse y expresarse adecuadamente, es necesario que los candidatos posean ciertas habilidades físicas e intelectuales que les

permita concentrarse en un estímulo de forma aislada con respecto al entorno

Identificación de sabores básicos.

Se realizó una prueba en la que los candidatos a formar parte del panel de jueces entrenados trataron de identificar cada uno de los sabores básicos (dulce, salado, ácido, amargo), para ello se utilizaron cuatro disoluciones representativas de cada sabor básico junto con su hoja de respuestas.

Interpretación de resultados: En esta prueba quedaron rechazados los candidatos con menos del 75% de aciertos.

Prueba de ordenamiento de sabores básicos.

Se realizaron cuatro pruebas de ordenamiento, una por cada sabor básico (dulce, salado, ácido y amargo), durante la selección del panel de evaluación sensorial.

Cada uno de los jueces ordenaron de menor a mayor una serie de disoluciones de cada sabor básico a concentraciones diferentes, con la finalidad de determinar su habilidad para discriminar los diferentes niveles de intensidad en un atributo específico. Duración de la prueba: 15 minutos.

Interpretación de resultados: Se aceptaron los candidatos que ordenaron las muestras correctamente o que invirtieron solo pares adyacentes.

8.2.2. Semi-entrenamiento de jueces

Una vez llevada a cabo la selección, los candidatos se sometieron a pruebas sensoriales semejantes a las que se emplearon en la prueba definitiva, con el objetivo de que cada individuo se familiarizara con los procedimientos de la evaluación e incrementara su capacidad para identificar los atributos sensoriales de diferentes productos, que en este caso, también presentan características amargas, además de aumentar la sensibilidad y memoria sensorial de manera que la persona pueda emitir juicios precisos, consistentes y reproducibles. El número de pruebas para hacer una selección correcta no está determinado, pues depende fundamentalmente de los objetivos que se persiga lograr con los catadores seleccionados (Manfugas, 2007).

Durante las pruebas de entrenamiento y en las pruebas definitivas, los jueces siguieron ciertas reglas con la finalidad de que no hubiera algún factor que afectara la veracidad y confiabilidad de los resultados.

Dentro de estas reglas, se pueden mencionar las siguientes:

- No mascar chicle o tomar cualquier alimento por lo menos treinta minutos antes de la prueba.
- No participar en las pruebas cuando estén enfermos.
- Evitar el uso de perfumes y pintura de labios.
- Evaluar las muestras de izquierda a derecha y de adelante hacia atrás.
- Enjuagar la boca con agua antes de que comience la prueba y entre cada muestra.
- Hacer una pausa entre la prueba de cada muestra.
- Entrar en silencio a las cabinas de evaluación sensorial y no hablar con los demás jueces durante la prueba.

El semi-entrenamiento de jueces se llevó a cabo en 10 sesiones, de acuerdo al siguiente programa:

Sesión 1. Introducción a la evaluación sensorial. Se dio una breve explicación de que es la evaluación sensorial, los tipos de prueba y su aplicación.

Sesiones 2 y 3. Pruebas triangulares. Se llevaron a cabo dos pruebas de diferenciación (con cafeína y agua tónica) explicando previamente el objetivo, así como los pasos a seguir para la realización de cada prueba. De esta manera se determinó la capacidad de cada individuo para detectar diferencias entre productos similares con una variación en la concentración de dichos productos obtenidos mediante diluciones. Duración de la prueba: 20 minutos cada una. La prueba la realizó un grupo de 10 catadores. El formato utilizado se adaptó de Andalzúa, 1994.

Interpretación de resultados: Se aceptaron los candidatos que lograron identificar la muestra diferente.

Sesión 4 y 5. Prueba Dúo-Trío

El objetivo de la prueba es igual a la prueba triangular, en la que se permite identificar si existe alguna diferencia entre dos productos, sin indicar específicamente el atributo en que ambas difieren (Olivas Gastélum, 2008).

Interpretación de resultados: se aceptaron los candidatos que lograron identificar la muestra igual a la referencia.

Sesión 6 y 7. Pruebas de diferenciación.

Se llevó a cabo una prueba de diferenciación por el método dúo-trío. Para llevar a cabo esta prueba se prepararon extractos de *C. tepejilote* a dos concentraciones diferentes, el objetivo principal de esta prueba fue reafirmar la capacidad de los jueces para diferenciar la intensidad del sabor amargo en las muestras que se utilizarían en la prueba final. La prueba se llevó a cabo dos veces con una duración de 15 min cada una.

Criterios para la validación del panel de evaluación sensorial

Actualmente no existe una metodología específica para la selección de jueces sensoriales, los criterios son más bien definidos por el líder del panel. Los criterios para la selección de jueces que participaron en la construcción de la escala de amargor del extracto amargo de *C. tepejilote* se enlistan en la Tabla 2.

Tabla 2. Criterios para la validación del panel sensorial.

Criterio	Porcentaje mínimo de selección (%)
Sesión 1	80
Sesión 2	70
Sesión 3	70
Sesión 4	80
Sesión 5	80
Sesión 6	90

Sesión 7	90
Asistencia	80

8.2.3. Obtención de escalas normalizadas de trabajo: Entrenamiento específico.

Las escalas estándares pertenecen al grupo de intervalo cuyos puntos, en vez de contener descripciones tales como ligeramente duro o muy ácido, constan de alimentos que representan el grado de intensidad del atributo que está siendo medido.

Escala de estimación de magnitud

Es una técnica que le permite medir al juez diferencias proporcionales libremente que indican intensidad de un estímulo específico en una o varias muestras. Mide la relación entre la percepción de atributos sensoriales y los parámetros físicos del estímulo. La escala de magnitud no proporciona una escala finita al juez, sino que este asume la proporcionalidad que más se ajusta a su concepción para el estímulo evaluado.

Se evaluaron muestras de cafeína, agua tónica marca Peñafiel® y extracto amargo de *C. tepejilote*. El objetivo de la prueba fue obtener un extracto amargo y que fuese comparable con el grado de amargor de un compuesto o producto comercial que presentara características de sabor amargo para utilizarlo en una prueba sensorial aplicada en bisteces de cerdo y de esta manera estar seguros de que el grado de amargor aportado por el extracto acuoso de *C. tepejilote* fuese igual en todas las muestras. El procedimiento se llevó a cabo en dos sesiones separadas. Duración de la prueba: 1 h por cada sesión.

Comparación entre muestras de cafeína con agua tónica marca Peñafiel®. Se prepararon y se presentaron a los jueces disoluciones de cafeína a cuatro concentraciones distintas y una muestra de agua tónica como referencia y se le pidió a los jueces que evaluaran a qué concentración de cafeína el grado de amargor del agua tónica era equivalente o similar. Una vez seleccionada la muestra que de acuerdo al criterio de los jueces era similar al amargor del agua

tónica se prepararon nuevas disoluciones de cafeína y se repitió nuevamente el proceso hasta que todos los jueces estuvieron de acuerdo en aceptar una muestra con un grado de amargor idéntico al de la muestra de agua tónica.

Comparación entre muestras de extracto acuoso de C. tepejilote y agua tónica marca Peñafiel®. Para la evaluación de las muestras se llevó a cabo un proceso idéntico al que se realizó con la cafeína, se prepararon y se le presentaron a los jueces muestras de extractos acuosos de *C. tepejilote* a diferentes concentraciones y una muestra de agua tónica como referencia hasta encontrar una muestra que se igualara a la intensidad del amargor del agua tónica.

Interpretación de resultados: Se aceptó una muestra de cafeína y de extracto de *C. tepejilote* solo si todos los jueces concordaron con sus respuestas.

8.3. pH

El cálculo de pH de los extractos se realizó de acuerdo con la NOM-F-317-S-1978, el cual se basa en la medición electrométrica de la actividad de los iones hidronio presentes en una muestra del producto mediante un aparato medidor de pH (potenciómetro).

Procedimiento:

Al extracto seleccionado en las pruebas para la construcción de la escala de amargor se midió el pH del extracto acuoso utilizando un potenciómetro marca Hanna (Figura 11).



Figura 11. Potenciómetro marca HANNA utilizado para la prueba de pH.

8.4 Pruebas preliminares en un alimento

8.4.1 obtención del extracto acuoso

A partir de inflorescencias frescas de *C. tepejilote* se preparó 1.5 L extracto acuoso al 75%(p/v) mediante ebullición. Las inflorescencias se trocearon y se suspendieron en agua hirviendo durante 5 min., posteriormente se filtró el extracto para eliminar los residuos de las inflorescencias, se dejó enfriar a temperatura ambiente y finalmente se utilizó para la prueba de aceptación.

8.4.2. Prueba sensorial

Una vez seleccionado el extracto acuoso por medio de evaluaciones sensoriales, se llevó a cabo una prueba sensorial en bisteces de cerdo utilizando el extracto acuoso de *C. tepejilote* con el propósito de encontrarle una posible aplicación como aditivo para el marinado de carne.

Se realizó una prueba de aceptación en la que el objetivo fue conocer de acuerdo a un criterio sensorial si la muestra presentada es aceptada o no por los consumidores.

Estas pruebas no requieren de jueces analíticos, por el contrario se emplean grupos representativos de los consumidores potenciales o habituales del producto, quienes no tienen que conocer el porqué del estudio que se realiza, sino entender el procedimiento de la prueba y responder a ella (Andalucía, 1994).

Procedimiento

Obtención del extracto para la prueba de aceptación.

Para llevar a cabo la preparación del extracto que se utilizó en la prueba de aceptación, se utilizaron los resultados obtenidos en la construcción de la escala de amargor, de esta manera se prepararon 1.5 L de extracto de *C. tepejilote* al 75% (p/v) mediante ebullición.

Pre-tratamiento de la muestra.

Se colocaron 3 kg de bisteces de cerdo en un recipiente y se le adicionó el extracto de tepejilote hasta que la carne quedó cubierta en su totalidad, el recipiente se metió a refrigeración y se dejó reposar la carne durante 10 horas

continuas. Al término de ese tiempo, la carne se sometió a cocción en una parrilla y se retiró hasta que la carne presentó una apariencia agradable.

Se utilizó un método afectivo, la prueba de preferencia, la cual consistió en evaluar como su nombre lo indica, la preferencia que tiene un grupo de consumidores (jueces no entrenados) hacia la muestra, de acuerdo a una escala hedónica de nueve puntos (tabla 3).

8.4.3 Aplicación de la prueba de aceptación en bisteces de cerdo.

El grupo de consumidores fue de 50 personas (28 mujeres, 22 hombres) con un intervalo de edad entre 18 y 57 años. Se colocaron 15g de muestra tratada con extracto de tepejilote. Las muestras (15 g) se colocaron en recipientes de plástico y se les asignó un número aleatorio por grupo. Después de la degustación de la muestra, el consumidor indicó de acuerdo a la escala hedónica su nivel de preferencia.

Tabla 2. Escala hedónica de 9 puntos.

Escala	Puntos
GUSTA MUCHÍSIMO	1
GUSTA MUCHO	2
GUSTA MODERADAMENTE	3
GUSTA POCO	4
NI GUSTA NI DISGUSTA	5
DISGUSTA POCO	6
DISGUSTA MODERADAMENTE	7
DISGUSTA MUCHO	8
DISGUSTA MUCHÍSIMO	9

Análisis estadístico

A los resultados obtenidos en la prueba de aceptación se le realizó un análisis de varianza (ANOVA simple), utilizando el procedimiento de diferencia mínima significativa (LSD) de Fisher mediante una comparación de medias con un nivel de

significancia de $\alpha=0.05$. Se utilizó el paquete estadístico Statgraphics (Centurion XVII-X64, versión 17.2.02).

8.5. Análisis químico proximal

El análisis químico proximal proporciona información de la concentración de los nutrientes presentes en un alimento. Para efectuar este análisis se determinó el contenido de humedad, cenizas, lípidos y proteínas, de acuerdo con los métodos oficiales de la AOAC: 925.09, 923.03, 920.29, 977.14, respectivamente, para la determinación de fibra total se utilizó el método de ANKOM. La determinación del contenido de carbohidratos totales se calculó por diferencia en % del resto de los componentes y está expresado como extracto libre de nitrógeno.

8.5.1 Determinación de humedad mediante secado por estufa

La determinación de humedad por el método de secado en estufa se basa en la pérdida de peso de la muestra por evaporación del agua a una temperatura por encima de la temperatura de ebullición del agua. Para esto se requiere que la muestra sea térmicamente estable y que no contenga una cantidad significativa de compuestos volátiles.

El principio operacional del método de determinación de humedad utilizando estufa y balanza analítica, incluye la preparación de la muestra, pesado, secado, enfriado y pesado nuevamente de la muestra (Nollet, 1996).

Procedimiento:

Se colocaron dos gramos de muestra en charolas de aluminio previamente pesadas y a peso constante y se dejaron en una estufa convencional a 130 ± 1 por una hora. Todas las determinaciones se realizaron por triplicado y los valores se expresaron como la media de las mediciones \pm la desviación estándar. El porcentaje de humedad se calcula por diferencia de peso mediante la siguiente fórmula:

$$\%Humedad = \frac{\text{peso de la muestra (g)} - \text{peso final (g)} - \text{peso de la charola (g)}}{\text{peso de la muestra (g)}} \times 100$$

8.5.2 Cenizas totales

La determinación en seco es el método más común para cuantificar la totalidad de minerales en alimentos y se basa en la descomposición de la materia orgánica quedando solamente materia inorgánica en la muestra. Es un método eficiente ya que determina tanto cenizas solubles en agua así como insolubles y solubles en medio ácido. Este procedimiento permite que toda la materia orgánica se oxide en ausencia de flama a una temperatura que fluctúa entre los 550-600 °C; el material inorgánico que no se volatiliza a esta temperatura se conoce como ceniza. (Nollet, 1996).

Procedimiento:

Se pesó 1 g de muestra de inflorescencias frescas de *C. tepejilote* en un crisol (a peso constante) previamente pesado, posteriormente se carbonizó la muestra sobre la flama de un mechero. La muestra carbonizada se colocó dentro de una mufla a 550±1 °C por 5 horas hasta que las cenizas presentaron un color blanco. Pasado este tiempo los crisoles se colocaron en un desecador hasta que se enfriaron y finalmente se pesaron. El porcentaje de cenizas se calcula con la fórmula siguiente:

$$\% \text{ cenizas} = \frac{\text{peso del residuo}(g)}{\text{peso de la muestra en base seca}(g)} \times 100$$

8.5.3 Lípidos

La cuantificación de lípidos se llevó a cabo mediante el uso de un equipo Soxhlet, (Figura 12) la cual consiste en una extracción semicontinua de una muestra con un disolvente orgánico con polaridad apropiada para la solubilización de los componentes de interés. En este método el disolvente se calienta, se volatiliza y condensa goteando sobre la muestra, la cual queda sumergida en el disolvente. Posteriormente el disolvente es sifoneado al matraz de calentamiento para empezar de nuevo el proceso. El contenido de grasa se cuantifica por diferencia de peso (Nielsen, 2003).

Procedimiento:

Se pesaron 3 g de muestra seca en un cartucho de celulosa. Se colocaron en el aparato de extracción Soxhlet, se adicionaron 100 mL de éter de petróleo a los vasos del equipo (a peso constante) y seguido de eso se realizó la extracción por 4 horas. Finalmente, los vasos se colocaron en la estufa a 60 ± 1 °C por una hora y se pesaron. Todas las determinaciones se realizaron por triplicado y los valores se expresaron como la media de las mediciones \pm la desviación estándar. Se calculó el porcentaje de lípidos mediante la siguiente ecuación:

$$\% \text{Lípidos} = \frac{\text{peso final del vaso}(g) - \text{peso inicial del vaso}(g)}{\text{peso de la muestra en base seca}(g)} \times 100$$

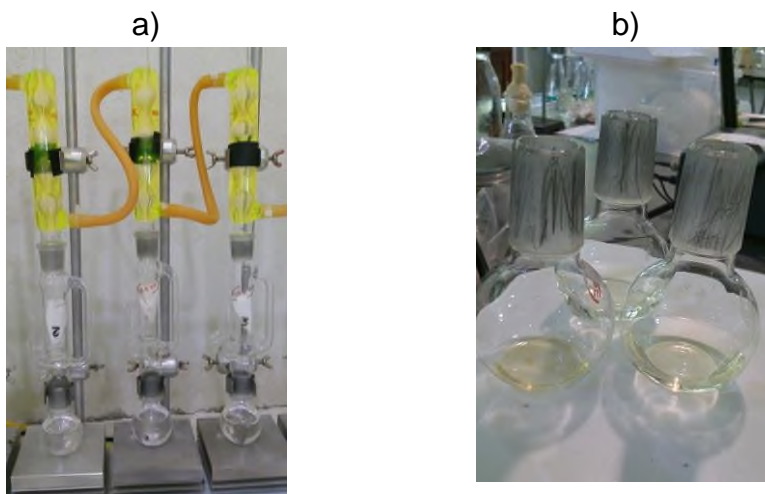


Figura 12. a) Equipo soxhlet para la determinación de grasa cruda, b) Muestras sin disolvente.

8.5.4 Proteínas

En el trabajo de rutina se determina mucho más frecuentemente la proteína total que las proteínas o aminoácidos individuales. En general, el procedimiento de referencia es el método Kjeldahl, que determina la materia nitrogenada total, incluye tanto las moléculas con nitrógeno que no son proteínas como las proteínas (Aurand et al, 1987)

El método se basa en la determinación de la cantidad de nitrógeno orgánico contenido en productos alimentarios, incluye dos pasos consecutivos:

a) La descomposición de la materia orgánica bajo calentamiento en presencia de ácido sulfúrico concentrado.

b) El registro de la cantidad de amoníaco obtenida de la muestra.

Durante el proceso de descomposición ocurre la deshidratación y carbonización de la materia orgánica combinada con la oxidación del carbono a dióxido de carbono. El nitrógeno orgánico se transforma a amoníaco que se retiene en la disolución como sulfato de amonio. La recuperación del nitrógeno y velocidad del proceso pueden ser incrementados adicionando sales que abaten la temperatura de descomposición (sulfato de potasio) o por la adición de oxidantes (peróxido de hidrógeno, tetracloruro, persulfatos o ácido crómico) y por la adición de un catalizador (Nollet, 1996).

Procedimiento:

Se pesaron 40 mg de muestra liofilizada y se pasaron a un tubo microkjeldahl, al cual se agregaron 2 g de mezcla de catalizador y 3 mL de ácido sulfúrico concentrado. Se colocó el tubo en el digestor y se calentó gradualmente a 400°C, manteniendo la temperatura por 1.5 horas hasta que el contenido del tubo presentó un color transparente. Posteriormente el tubo se dejó enfriar a temperatura ambiente y se le adicionaron 10 mL de agua destilada para disolver el residuo, el tubo se colocó en el destilador y se le adicionaron 13 mL de solución de hidróxido de sodio (60%) tiosulfato de sodio (5%). En un matraz Erlenmeyer se añaden 5 mL de ácido bórico al 2% y 2 gotas del indicador para recibir el destilado (Figura 13). Se realiza la destilación hasta obtener un volumen de 50 mL de la muestra en la disolución con ácido bórico en el matraz previamente preparado. La muestra obtenida se titula con ácido corhídrico 0.1 N. Todas las determinaciones se realizaron por triplicado y los valores se expresaron como la media de las mediciones \pm la desviación estándar. Se calcula el porcentaje de proteína mediante la siguiente ecuación:

$$\% N = \frac{(V2 - V1)(eqN)N}{M} \times 100$$

Donde:

%N= porcentaje de nitrógeno total

V1= Volumen de HCl gastado en titular el blanco (ml)

V2= Volumen de HCl gastado en titular la muestra (ml).

eqN= 14.007

N= Normalidad de HCl (0.01)

M= peso de la muestra (mg)

Para conocer el valor de proteína cruda a partir del contenido de nitrógeno se utiliza un factor, que varía según el origen de la proteína, por ejemplo:

F= 6.25 (proteína animal)

F= 6.38 (proteína de leche o derivados)

F= 5.7 (algunos vegetales)

$$\% P.C = \%N \times F$$

Donde:

%P.C= porcentaje de proteína cruda

% N= porcentaje de nitrógeno total

F= Factor de conversión

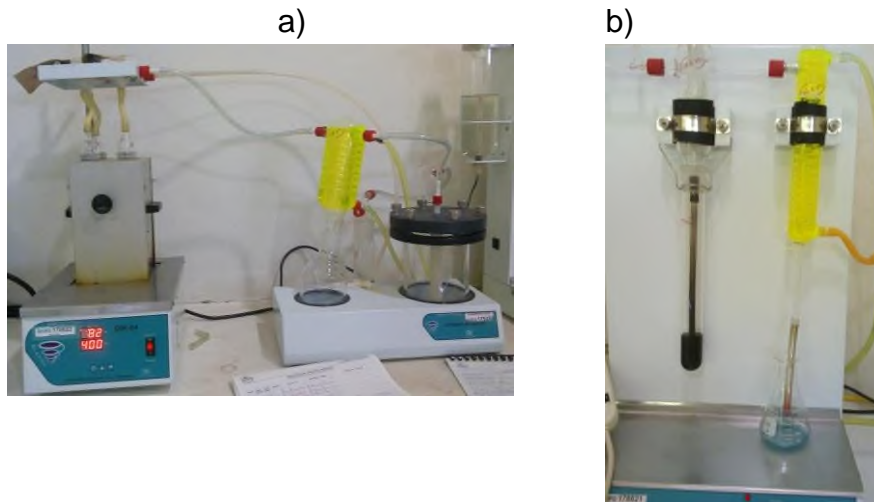


Figura 13. a) Digestor para la determinación de proteína cruda, b) Destilador.

8.5.5 Fibra cruda

En el proceso de la determinación de la fibra cruda se trata de simular el proceso de digestión que ocurre normalmente dentro del aparato digestivo de los animales. Esta simulación se efectúa tratando a la muestra a una "digestión" (hidrólisis) en un medio ácido, como ocurriría en el estómago de los animales, y posteriormente

se somete la misma muestra a otra "digestión" en un medio alcalino, como sucedería en el intestino delgado.

Debemos señalar que en el proceso de digestión arriba descrito, no intervienen las enzimas digestivas propias del organismo de los animales, además el proceso se lleva a cabo a ebullición de la muestra (primero en una disolución de ácido sulfúrico diluido), seguido de una ebullición en una disolución de hidróxido de sodio diluida. Este procedimiento permite la hidrólisis de las proteínas, grasas y la mayoría de los carbohidratos. Para esta determinación, se requiere que la muestra a analizar esté seca y desengrasada.

El método de Ankom determina la fibra cruda que es el residuo orgánico que queda después de someter la muestra a una digestión con H_2SO_4 0.255 N y NaOH 0.313 N. Los compuestos removidos son principalmente proteína, azúcar, almidón, lípidos y porciones de carbohidratos estructurales y lignina.

Procedimiento:

Preparación de la muestra

- Las bolsas filtros se marcaron y se pesaron (W1), posteriormente se agregó 1.0 g de muestra (W2) directamente en la bolsa filtro. Las bolsas se sellaron con calor y la muestra se distribuyó uniformemente. Aparte, se pesó una bolsa filtro para utilizarla como blanco (C1) e incluirla en la corrida.
- Para extraer la grasa de la muestra se colocaron todas las bolsas en un vaso de precipitado y se agregó suficiente acetona hasta que las bolsas estuvieron totalmente cubiertas y se dejaron sumergidas por 10 minutos. El disolvente se desechó y se dejaron secar las muestras.
- Se colocaron las muestras en los platillos y se insertó el suspendedor con las muestras dentro de la vasija del aparato Ankom (Figura 14).

Digestión ácida

- Se agregaron 2 L de la disolución ácida de H_2SO_4 0.255N en la vasija y se procedió a programar el equipo con calor y agitación, se dejó cerrada la tapa herméticamente y se dejó actuar por 40 minutos.
- Al final de la extracción se drenó toda la disolución lentamente así como el vapor antes de abrir la tapa. Una vez drenada la disolución se lavó la muestra, para realizarlo se agregaron 1.9 mL (50-90 °C) de agua destilada y se dejó agitar por 5 minutos manteniendo la tapa de la vasija semi-abierta, el proceso de lavado se lleva a cabo dos veces.

Digestión alcalina

- Para realizar la digestión alcalina se agregaron 2000 mL de disolución básica de NaOH 0.313 N y nuevamente se programó el equipo con calor y agitación, se dejó cerrada la tapa herméticamente y se dejó actuar por 40 minutos. Al finalizar la extracción se llevó a cabo el proceso de drenado y lavado de la misma forma que en la digestión ácida.
- Una vez que el proceso de lavado se completó, las muestras se removieron y se eliminó el exceso de agua presionando cuidadosamente cada una de las bolsas. Se procedió a colocarlas en un vaso de precipitado de 250 mL, se agregó suficiente acetona para cubrir las bolsas las cuales se dejaron sumergidas durante 5 minutos, posteriormente se les eliminó el exceso de disolvente, el proceso de secado se completó en una estufa a 100°C durante 4 horas. Al término del proceso de secado las bolsas se retiraron de la estufa y se dejaron enfriar en un desecador y se pesaron.

Cenizas

- Finalmente cada bolsa se colocó en un crisol previamente pesado (peso constante) y se incineró en la mufla a 600 °C por 2 horas. Se enfrió en un desecador y se pesó (W3) para calcular el peso perdido de materia orgánica.

CÁLCULOS:

$$\% \text{ FIBRA CRUDA} = \frac{(W3 - (W1 \times C1))}{W2} \times 100$$

Dónde:

W1 = peso de la bolsa.

W2 = peso de la muestra.

W3 = peso de la materia orgánica (peso perdido en la incineración de las bolsas con fibra).

C1 = factor de ceniza corregida de la bolsa *blanco* (pérdida de peso en la ignición de la bolsa blanco/peso original de la bolsa *blanco*).

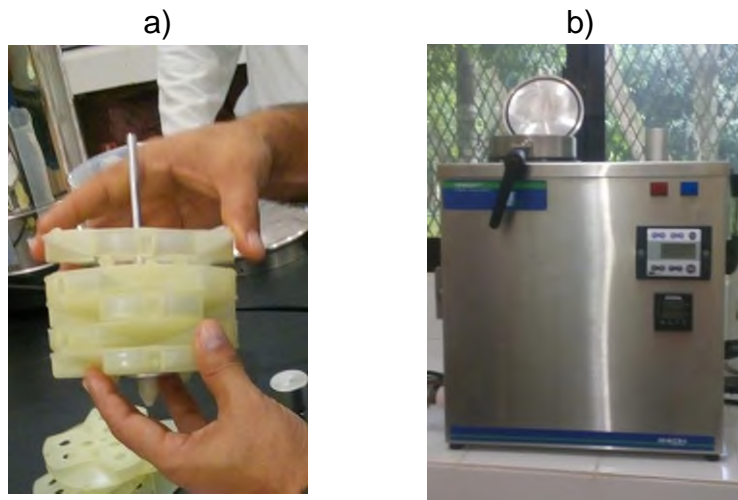


Figura 14. a) Colocación de la muestra, b) Equipo ANKOM para determinación de fibra cruda.

8.6 Perfil fitoquímico preliminar de *C. tepejilote*

Teniendo en cuenta que la composición fitoquímica de *C. tepejilote* ha sido poco descrita, se realizó en este trabajo el estudio fitoquímico cualitativo de esta especie, como una contribución a su conocimiento mediante CCD. Para esto se emplearon diversas fases móviles y reveladores, además de pruebas de coloración y precipitación ampliamente descritas en la literatura para perfiles fitoquímicos (Tabla 3). El análisis fitoquímico preliminar permite establecer la presencia de metabolitos secundarios como: alcaloides, flavonoides, esteroides,

triterpenos, naftoquinonas, antraquinonas, lactonas terpénicas, cumarinas y agentes cardioactivos.

Preparación de las muestras

Se pesaron 2 g de muestra liofilizada y se pasaron a un matraz, posteriormente se agregaron 100 mL de agua destilada para obtener el extracto acuoso y 100 mL de agua-etanol (50:50) para la obtención del extracto etanólico y se sometieron a reflujo durante 1 h (Figura 15).

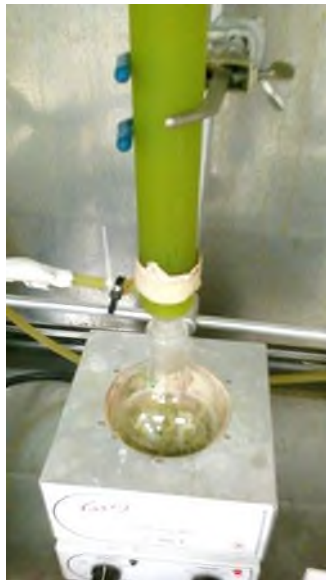


Figura 15. Muestra de *C. tepejilote* en el equipo de reflujo.

Tabla 3. Estudio fitoquímico preliminar para los extractos de *C. tepejilote*

FITOCONSTITUYENTES	PRUEBA	OBSERVACIÓN
Taninos (Prueba de Braymer)	2 mL de extracto+ 2 mL H ₂ O + 2-3 gotas de FeCl ₃ (5%)	La formación de un precipitado verde indica la presencia de taninos.
Terpenoides	2 mL extracto+ 2 mL (CH ₃ CO) ₂ O+2-3 gotas de H ₂ SO ₄ concentrado	La coloración roja intensa indica la presencia de terpenoides.
Saponinas (Prueba de la espuma)	5 mL de extracto +5 mL de agua destilada + agitación por 15 min.	La formación de espuma indica la presencia de saponinas.
Esteroides (prueba de Skalwoski)	2 mL extracto + 2 mL CHCl ₃ + 2 mL H ₂ SO ₄ concentrado	Anillo rojizo marrón en la unión
Carbohidratos (Prueba de Molisch)	2 mL extracto + 10 mL H ₂ O +2 gotas de α-naftol etanólico	La formación de un anillo violeta rojizo indica la

	(20%) + H ₂ SO ₄ concentrado	presencia de carbohidratos.
Cumarinas	2 mL extracto + 3 mL NaOH (10%)	La coloración amarilla indica la presencia de cumarinas.
Alcaloides	2 mL extracto + pocas gotas de reactivo de Hager 2 mL de extracto + pocas gotas de reactivo de Dragendorff	La coloración amarilla indica la presencia de alcaloides.
Proteínas (prueba de xantoproteicas)	2 mL extracto + 1 mL H ₂ SO ₄ concentrado	La formación de un precipitado blanco indica la presencia de proteínas
Emodinas	2 mL del extracto + 2 mL de NH ₄ OH + 3 mL de benceno.	La coloración rojo indica la presencia de emodinas.

8.6.1 Cromatografía en capa fina (CCF)

Se emplearon como fase estacionaria para los metabolitos de las inflorescencias frescas de *C. tepejilote* más apolares una placa de gel de sílice (SiO₂) grado 60 de 0.2 mm de espesor, ALUGRAM Xtra SIL G/UV254 de Macherey-Nagel. Para la fase móvil, se puntearon los extractos (acuoso y etanólico) obtenidos mediante reflujo y extraídos por un sistema de disolventes H₂O/EtOH (1:1) para el extracto etanólico y agua. Los extractos (acuoso y etanólico) se eluyeron en sistemas de disolventes diferentes variando la polaridad con el propósito de obtener el sistema más adecuado para separar los metabolitos presentes en dichos extractos.

Para el revelado de las placas cromatográficas eluidas obtenidas se utilizó: una lámpara de luz ultravioleta UVG-11 de onda corta de 254 nm y de onda larga de 365 nm, una cámara de yodo y por inmersión: en *p*-anisaldehído, ácido *p*-toluensulfónico y H₂SO₄ al 50 %, para posteriormente someterlas a calentamiento a 100 °C durante 5-10 minutos en una parrilla de calentamiento. Para calcular el factor de retención (R_f) de los metabolitos de cada extracto, se utilizó la ecuación siguiente:

$$R_f = \frac{\text{distancia recorrida por el compuesto}}{\text{distancia recorrida por el disolvente}}$$

8.7 Perfil cromatográfico

El perfil cromatográfico de un extracto de planta vegetal con interés medicinal y/o alimenticio se realiza para conocer su composición química, para la estandarización de extractos, identificación de plantas, determinar el perfil fitoquímico de una planta en diferentes épocas del año o para realizar análisis de productos fitoterapéuticos. Este perfil puede obtenerse mediante una cromatografía de gases (CG) y mediante el uso de cromatografía de líquidos de alta resolución (CLAR); en ambos casos (CG y CLAR) proporcionan un cromatograma, que muestra los compuestos separados y el área del pico de cada uno de ellos, que es proporcional a su concentración.

Dependiendo de la naturaleza química del extracto vegetal y en condiciones definidas de análisis, se observará un diseño característico debido a la migración diferencial de sus constituyentes, llamado huella dactilar de la planta. La huella dactilar cromatográfica de una planta es una característica obtenida por un procedimiento ya establecido, separando tantos compuestos como sea posible para construir un patrón de reconocimiento específico. La identidad de estos componentes químicos puede ser conocida o desconocida. Este conjunto de compuestos son los responsables de caracterizar la composición química de la planta. Por lo tanto, la huella digital cromatográfica representa una metodología cualitativa razonable, en la cual todo el cromatograma se analiza para discriminar especies diferentes de la misma familia de plantas (Tomasi *et al.* 2004).

Para la obtención de los extractos se partió de material vegetal (inflorescencias de *C. tepejilote*) liofilizado y pulverizado, el procedimiento fue el siguiente:

Preparación de las muestras para el perfil cromatográfico

1. Se pesaron dos muestras de 0.3 g cada una, las cuales se pasaron a un matraz y se agregaron 100 mL de agua destilada para la primera (M1) y 100 mL de agua-etanol (1:1) para la segunda (M2) y se dejaron en reflujo por 1 h (Figura 17 a).

2. El producto obtenido (M1) se filtró y se llevó a cabo el proceso de desengrasado utilizando hexano. El filtrado (fase acuosa obtenida mediante reflujo) se colocó en un embudo de separación de 60 mL y se realizó la extracción líquido-líquido con 60 mL de hexano (Figura 17 b). Se agitó y se dejó separar por 15 min o hasta que las fases se separaron completamente, la fase acuosa se recogió en un matraz y la fase orgánica en otro. A la fase acuosa se le realizaron dos extracciones más con 60 mL de hexano cada una.
3. La fase acuosa desengrasada resultante de las extracciones anteriores se colocó en un embudo de separación y se le realizó la extracción líquido-líquido con 50 mL de AcOEt. Se agitó y se dejó reposar 15 min o hasta que las fases se separaron completamente. El procedimiento se realizó tres veces más.
4. Las fases orgánicas se combinaron y se llevaron al rotavapor para eliminar el disolvente (Figura 17 c).
5. Para la muestra M2 se le llevó a cabo el mismo procedimiento 2,3 y 4.

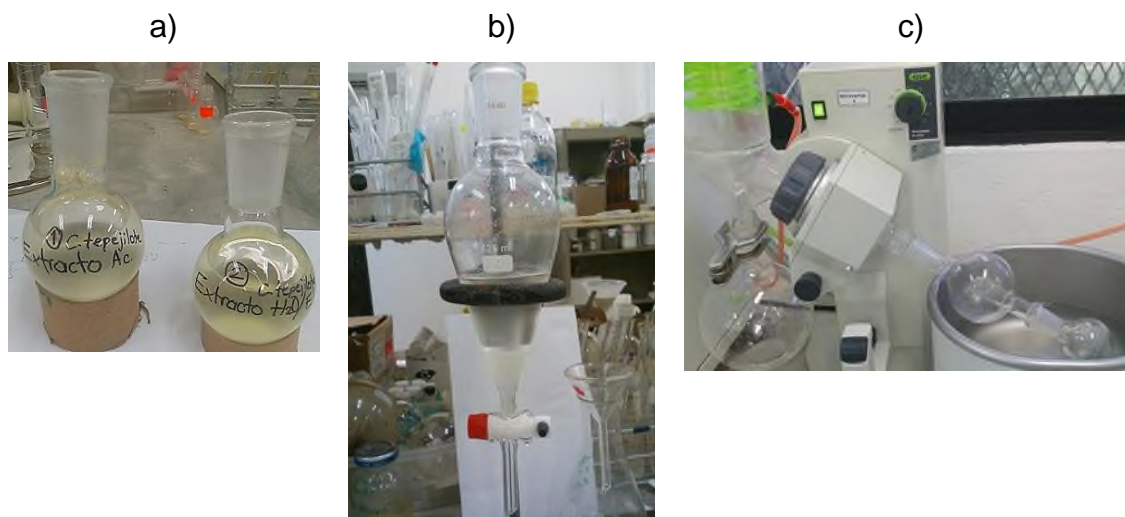


Figura 16. a) Muestras obtenidas mediante reflujo, b) Separación de fases, e) Secado de la muestra en un rotavapor.

Preparación de los estándares

Se utilizaron 10 compuestos como estándares (ácido gálico, ácido ferúlico, 2-hidroxi-4-metoxibenzaldehído, ácido *p*-hidroxifenilacético, ácido *m*-anísico, ácido 4-acetilbenzoico, vainillina, ácido salicílico y ácido benzoico). Se suspendieron 10 mg de cada uno de estos estándares en 10 mL de MeOH para obtener una concentración de 1 mg/mL, posteriormente se realizó una dilución del estándar para obtener una concentración de 10 µg/mL (Yi *et al.* 2014).

Perfil cromatográfico HPLC-PAD

Los extractos obtenidos por reflujo se analizaron en un sistema UHPLC Acquity Arc (Waters) equipado con un detector de fotodiodos (PDA). La separación se llevó a cabo en una columna LunaC18 (4.6 x 250 mm, 5 µm, Phenomenex). Se utilizaron las fases móviles: agua (Fase A), acetonitrilo (Fase B), fosfato de amonio 30 mM pH 2.5 (Fase C) y metanol (Fase D); con el siguiente gradiente de separación: 0 min 70 % A, 10 % B, 10 % y 10 %D; 2 min 66 % A, 12 % B, 10 % y 12 % D; 14 min, 10 % A 40 % B, 10 % C y 40 % D; 14.5 min 70 % A, 10 % B, 10 % y 10 %D. El flujo de la fase móvil fue de 1 mL/min, con un volumen de inyección de 10 µL, la temperatura de la columna se fijó a 35 °C. El detector se programó a una longitud de onda de detección de 254 nm (Torres *et al.* 2013).

9. RESULTADOS

9.1 Evaluación sensorial

La selección de jueces se llevó a cabo dentro de las instalaciones de la Universidad del Papaloapan, *campus* Tuxtepec. Únicamente 28 participantes entre docentes y estudiantes accedieron a participar en el proceso de selección. Los participantes se ordenaron alfabéticamente según sus nombres y se enumeraron del 1 al 28 con el objetivo de identificarlos fácilmente.

9.1 Selección de jueces.

Como resultado de la encuesta aplicada, de los 28 candidatos reclutados los jueces 3 y 12 no contaban con la disponibilidad de tiempo necesario para llevar a cabo el proceso de entrenamiento, mientras que el juez 14 tenía tendencia hacia el consumo de tabaco y el juez 28 mostró desagrado hacia el producto a evaluar. A pesar de estos resultados ninguno de los participantes se descartó del proceso de selección hasta realizar las dos pruebas sensoriales establecidas para la selección definitiva.

Prueba de identificación de sabores básicos (PI).

Se realizó una prueba para la identificación de sabores básicos (dulce, salado, ácido y amargo). A cada aspirante se les proporcionaron cuatro muestras, una por cada sabor básico junto con su hoja de respuestas (ver ANEXO 11.1) y se les pidió que las identificaran. Las concentraciones de las disoluciones que se utilizaron en esta prueba se muestran en la Tabla 4.

Tabla 4. Disoluciones utilizadas para la prueba de identificación de sabores básicos.

SABOR BÁSICO	ESTÍMULO	CONCENTRACIÓN (g/L) ^a
Dulce	Sacarosa	15.0
Salado	Cloruro de sodio	2.0
Ácido	Ácido cítrico	0.5
Amargo	Cafeína	1.0

^aEn agua a temperatura ambiente

Los resultados de la prueba aplicada para la identificación de sabores básicos se pueden apreciar en la Figura 17.

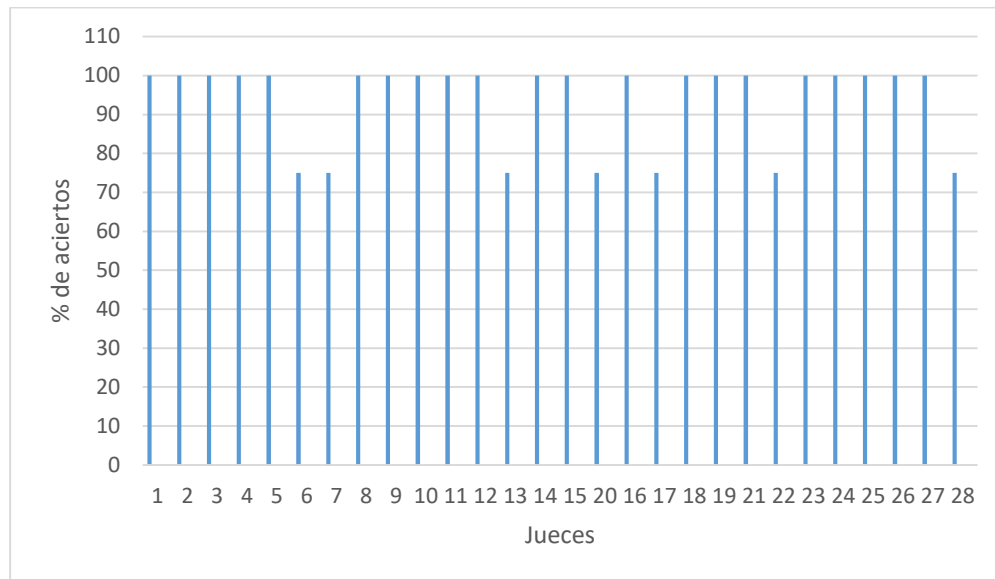


Figura 17. Resultados de la prueba de identificación de sabores básicos.

De los 28 participantes para esta prueba, el 75% de ellos identificaron correctamente todas las muestras evaluadas y ninguno de los participantes obtuvo valores por debajo del porcentaje de error permitido para esta prueba (75%), por lo que ninguno se descartó para la realización de las pruebas posteriores.

Prueba de ordenamiento de sabores básicos (PO)

Esta prueba se realizó con la finalidad de determinar la habilidad de los candidatos para diferenciar los diferentes niveles de intensidad en un atributo específico. A cada juez se le presentó una serie de disoluciones de un sabor básico a diferentes concentraciones junto con su hoja de respuestas (ver ANEXO 11.2). Las concentraciones utilizadas en esta prueba para cada sabor básico se muestran en la Tabla 5.

Tabla 5. Disoluciones utilizadas en la prueba de ordenamiento.

SABOR BÁSICO	ESTÍMULO	CONCENTRACIÓN (g/L) ^a			
Dulce	Sacarosa	5.0	10.0	20.0	40.0
Salado	Cloruro de sodio	1.0	2.0	5.0	10.0

Ácido	Ácido cítrico	0.25	0.5	1.0	1.5
Amargo	Cafeína	0.3	0.6	1.2	2.4

^aEn agua a temperatura ambiente

La Figura 18 muestra los resultados obtenidos por cada juez en la que se puede apreciar que de los 28 participantes de la prueba 8 jueces (Juez No. 2, 5, 8, 14, 15, 16, 23 y 25) obtuvieron el 100 % de aciertos al ordenar de manera correcta los cuatro sabores básicos y 3 de ellos (Juez No. 4, 10, 18 y 27) alcanzaron aciertos mayores al 70% con respecto a cada sabor básico. Cabe resaltar que de los 28 jueces evaluados, 24 de ellos obtuvieron al menos un 70% de aciertos con el sabor de interés (sabor amargo) de este estudio. Los promedios obtenidos indican que 15 de los 28 participantes tienen el porcentaje de aciertos permitidos para continuar con el proceso de entrenamiento (ver Tabla 6) de acuerdo con los criterios de selección (ver sección 8.2.1).

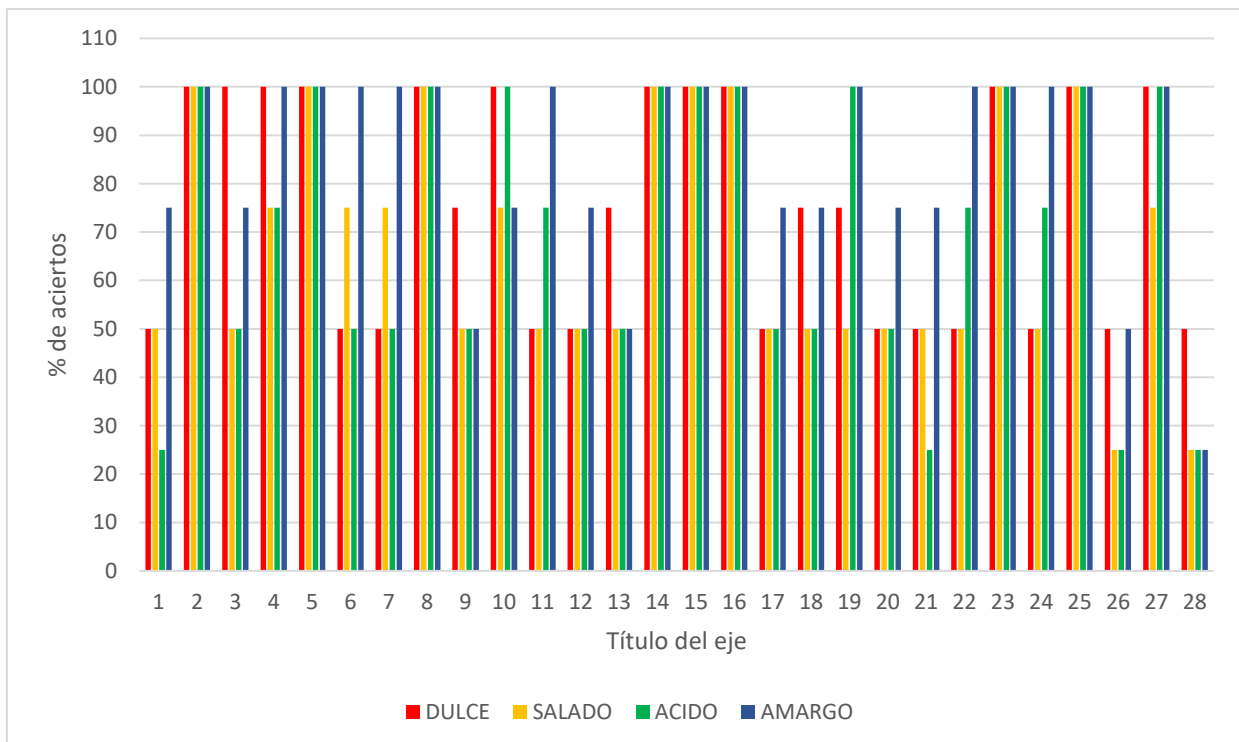


Figura 18. Resultados de la prueba de ordenamiento.

9.1.1 Resumen de datos de selección.

La selección de 15 jueces de los 28 participantes se hizo de acuerdo con el criterio de selección establecido (ver sección 8.2.1), que indica que los participantes que deben considerarse para realizar el entrenamiento deben contar con un promedio mayor al 80%. Sin embargo se prescindió del apoyo de los jueces No. 3, 10, 11, 18 y 23 debido a que no contaban con la disponibilidad de tiempo y completa disposición para llevar a cabo el entrenamiento. El juez No. 14 que presentó tendencia al consumo de tabaco obtuvo resultados muy favorables en las dos pruebas realizadas y por este motivo se consideró su participación en la siguiente etapa.

Tabla 6. Resumen de las pruebas de selección.

Juez	PI	PO	Promedio
2	100	100	100
5	100	100	100
8	100	100	100
14	100	100	100
15	100	100	100
23	100	100	100
25	100	100	100
27	100	93.75	96.8
4	100	87.5	93.7
10	100	87.5	93.7
18	100	81.25	90.6
20	75	100	87.5
3	100	68.75	84.3
11	100	68.75	84.3
24	100	68.75	84.3
9	100	56.25	78.1
12	100	56.25	78.1
16	100	56.25	78.1
19	100	56.25	78.1
1	100	50	75
21	100	50	75
6	75	68.75	71.8
7	75	68.75	71.8
22	75	68.75	71.8
17	75	62.5	68.7

26	100	37.5	68.7
13	75	56.25	65.6
28	75	31.25	53.1

9.2 Semi-Entrenamiento de jueces

Para las sesiones de entrenamiento de jueces se utilizaron únicamente productos con características amargas debido a que la única característica a evaluar en el extracto de *C. tepejilote* es el grado de amargor.

Sesión 1. Introducción a la evaluación sensorial

Durante la primera sesión se les explicó a los jueces la importancia de los sentidos en la evaluación sensorial y se dio una breve explicación de las pruebas que se llevarían a cabo durante el semi-entrenamiento.

Sesión 1 y 2. Pruebas triangulares

En las pruebas triangulares se presentan tres muestras simultáneamente, dos de ellas son idénticas y una es de una formulación diferente, las cuales permiten conocer si existe diferencia perceptible entre dos productos sin tener que especificar la naturaleza de la diferencia (Lawless y Heymann, 1999).

A cada juez se le presentó un conjunto de tres muestras codificadas de agua tónica marca Peñafiel®, junto con su hoja de respuestas (ver ANEXO 3).

La diferencia de las muestras codificadas con los números 0070 y 0456 con respecto a la muestra con el código 0678, consiste en que esta última se preparó a una concentración del 85% (v/v).

Resultados: De los 10 jueces participantes solo 7 acertaron al identificar la muestra diferente.

Esta misma prueba se realizó con cafeína, en la cual se presentaron a los jueces tres muestras codificadas de cafeína, dos muestras (0984 y 0230) preparadas al 5% (p/v) y la muestra 1127 al 2% (p/v). Se aceptaron a los candidatos que identificaron la muestra diferente.

Resultados: De los 10 jueces participantes 8 acertaron al identificar la muestra diferente.

Sesión 2 y 3 Pruebas Dúo-Trío

En la prueba Dúo-Trío, se presentan tres muestras simultáneamente al juez. Una de estas está identificada como referencia y es idéntica a una de las dos muestras identificadas con un código. La tarea del juez es identificar la muestra codificada igual a la referencia. El objetivo de la prueba es igual a la prueba triangular en la que se permite identificar si existe alguna diferencia entre dos productos sin indicar específicamente el atributo en que ambas difieren (Olivas Gastélum, 2008).

Para esta prueba se utilizaron tres muestras de agua tónica y cafeína junto con su hoja de respuestas (ver ANEXO 4).

La muestra de cafeína utilizada como referencia (R) difería de la muestra codificada con los números 0170, la diferencia consistió en que esta última se preparó a una concentración del 1.5% (v/v) con respecto a la muestra de referencia preparada al 2%.

Resultados: de los 10 jueces únicamente 7 participantes acertaron a identificar la muestra de cafeína igual a la referencia.

Un procedimiento similar se llevó a cabo con muestras de agua tónica en la que una de las muestras codificada con los números 0230 difería de la muestra R.

Resultados: Únicamente 6 de los 10 jueces participantes acertaron al identificar la muestra de cafeína igual a la referencia.

Sesión 4 y 5. Pruebas de diferenciación

Se llevaron a cabo dos pruebas de diferenciación muy similares a las anteriores utilizando extracto de *C. tepejilote* obtenido mediante ebullición, la primera consistió en una prueba triangular y la segunda en una prueba Dúo-Trío, Tabla 7. Las concentraciones de los extractos utilizados se muestran en la Tabla 5. El formato de respuestas fue adaptado de las pruebas de diferenciación anteriores (ANEXO 11.3 y 11.4).

Resultados: 7 de los 10 participantes acertaron al identificar la muestra diferente para prueba triangular y 8 acertaron al identificar la muestra igual a la referencia en la prueba dúo-trío.

Tabla 7. Muestras utilizadas en las pruebas de diferenciación del extracto acuoso de *C. tepejilote*.

Prueba	Concentración (g/mL)*		
	R	M1	M2
Triangular	0.25	0.30	0.25
Dúo-Trío	0.25	0.25	0.25

*gramos de inflorescencias frescas de *C. tepejilote* en agua a temperatura ambiente

Sesión 6 y 7. Prueba de ordenamiento

Se le presentó a cada juez un set de cuatro muestras codificadas de extracto de *C. tepejilote*, dos muestras codificadas junto con su hoja de respuestas y se les indicó que ordenaran las muestras de menor a mayor intensidad de acuerdo con el grado de amargor percibido. Las concentraciones utilizadas en el extracto se muestran en la Tabla 7 (ANEXO 11.3). Se realizaron dos repeticiones.

Tabla 8. Disoluciones preparadas para la prueba de ordenamiento con muestras de *C. tepejilote*.

Muestras	Concentración (g/mL)*
1	0.15
2	0.20
3	0.25
4	0.30

*gramos de inflorescencias frescas de *C. tepejilote* en agua a temperatura ambiente

Resultados: En ambas pruebas todos los jueces participantes acertaron al ordenar las muestras en el orden correcto.

9.2.1 Resumen de los datos de entrenamiento de jueces.

Los resultados de las pruebas aplicadas en el semi-entrenamiento de jueces se resumen en la Tabla 9, donde los aciertos están marcados con “✓”, los desaciertos con “x” y las inasistencias con “-”.

Tabla 9. Resumen de los datos de entrenamiento de jueces.

Juez	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7
1	✓	✓	x	✓	✓	✓	✓
2	✓	✓	✓	x	✓	✓	✓
3	✓	X	✓	✓	✓	✓	✓
4	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
5	✓	✓	x	x	X	-	-
6	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
7	✓	X	x	x	X	-	-
8	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
9	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
10	✓	X	x	✓	✓	-	-

Al término de las 7 sesiones los jueces mostraron buenos avances a medida de que las pruebas fueron avanzando, con excepción de los jueces No. 5, 7 y 10 (Tabla 9), quienes no cumplieron con los criterios de validación establecidos, por lo que su participación no se consideró para realizar las pruebas finales.

9.3 Obtención de escala de amargor para el extracto acuosos de *C. tepejilote*.

Para la construcción de la escala de amargor los jueces semi-entrenados se dedicaron a evaluar exclusivamente el sabor amargo en cada una de las muestras presentadas dejando de lado atributos como el color y el aroma. Esto con el propósito de contar con un grado de amargor en los extractos que pudiera ser reproducible.

Comparación entre muestras de cafeína con agua tónica marca Peñafiel®.

Se le presentó a cada juez un set de cuatro muestras codificadas de cafeína y una muestra de agua tónica junto con su hoja de respuestas (ANEXO 3) (Tabla 10). Las concentraciones iniciales que fueron utilizadas se muestran en la Tabla 8.

Tabla 10. Muestras de cafeína preparadas para la construcción de la escala de amargor.

Muestras	(g/L)
1	0.3
2	0.6
3	1.2
4	2.4

Los jueces coincidieron en que la muestra codificada con el No. 2, fue la que más se igualó a la intensidad del amargor del agua tónica pero el grado de amargor de la muestra aún era menor al amargor de la muestra de referencia (agua tónica Peñafiel®). Una vez determinado el primer resultado se procedió a preparar nuevas muestras de cafeína pero ahora con concentraciones menores a las probadas, las concentraciones fueron 0.6, 0.7 y 0.8 g/L, respectivamente. Se repitió el proceso anterior y en esta segunda prueba los jueces eligieron la muestra con concentración de 0.7 g/L, esta vez indicaron que el grado de amargor era bastante similar al de referencia. Dicho lo anterior, se prepararon dos nuevas muestras de cafeína a una concentración de 0.75 y 0.78 g/L, respectivamente, mismas que posteriormente evaluaron los jueces. Por decisión unánime se eligió a la muestra de 0.75 g/L como la que mejor igualaba el grado de amargor del agua tónica.

Comparación entre muestras de extracto acuoso de C. tepejilote con agua tónica marca Peñafiel®.

Se le presentó a cada juez un set de cuatro muestras codificadas de extracto amargo de C. tepejilote y una muestra de agua tónica junto con su hoja de

respuestas (ver ANEXO 3). Las concentraciones iniciales que se utilizaron se muestran en la Tabla 11.

Tabla 11. Muestras de *C. tepejilote* utilizadas para la construcción de la escala de amargor.

Muestras ET	% (p/v)
1	1:9
2	2:8
3	4:6
4	6:4

Los jueces seleccionaron a la muestra No. 2 como la más parecida en cuanto al grado de amargor a la muestra de referencia. Se procedió a preparar nuevos extractos al 23:77, 25:75, 27:73 y 30:70 (p/v) y por unanimidad de votos se seleccionó a la muestra preparada al 25:75 (p/v) como la muestra que mejor igualaba al grado de amargor del agua tónica utilizada como referencia.

8.3 pH

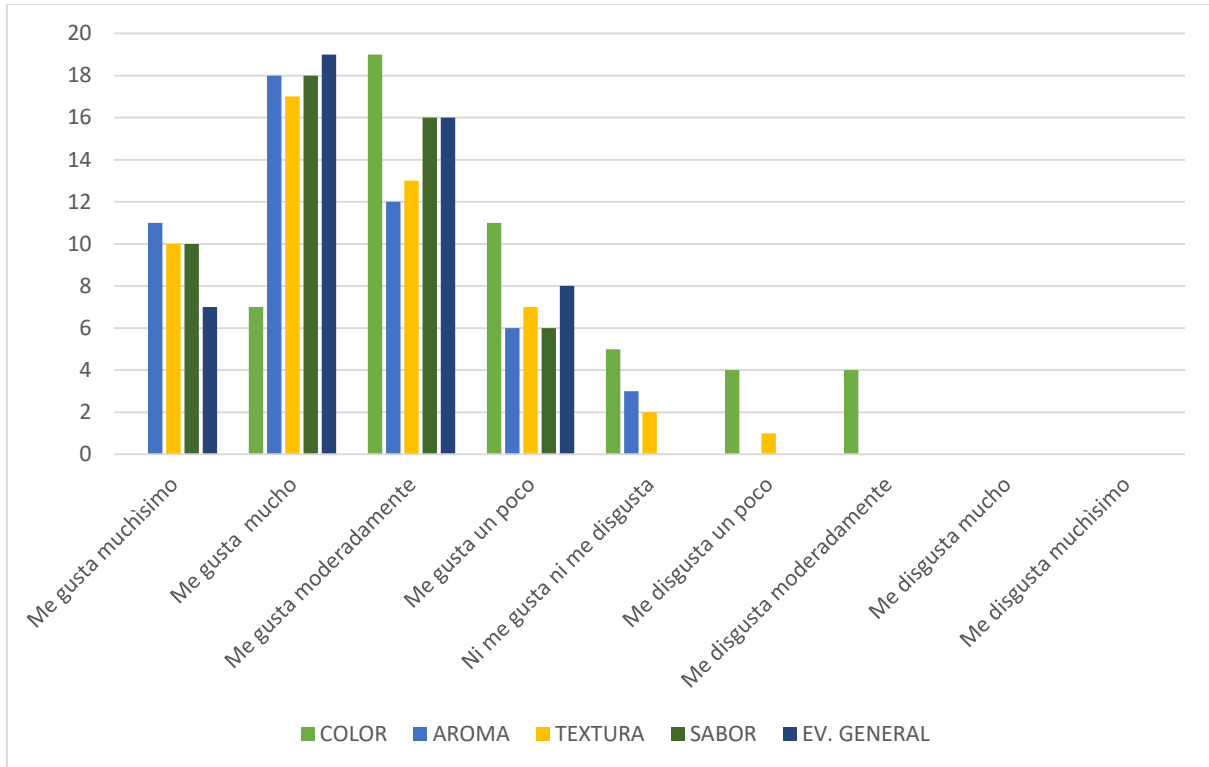
La prueba de pH del extracto acuoso de *C. tepejilote* dio como resultado un pH de 13.2.

9. 4 Prueba preliminar en alimentos.

Se realizó la prueba sensorial en las instalaciones de la Universidad del Papaloapan. Se utilizaron cabinas desmontables de 4 divisiones como las que se pueden observar en la Figura 17.



Figura 19. Prueba sensorial en bistec de cerdo tratadas con extracto de *C. tepejilote*.



Gráfica 1. Resultados de la prueba de aceptación

Analizando la escala hedónica por el atributo de color y haciendo un comparativo de medias se vio que existe diferencia estadística significativa ($p < 0.05$) entre ellas, donde la mejor puntuación se logró con “Me gusta moderadamente”, lo cual se atribuye a que la cocción de las muestras no fue la adecuada debido a que presentaron una apariencia un poco más oscura de lo esperado. Para el caso del aroma, textura y sabor hubo diferencia estadística significativa ($p < 0.05$), en la que el mayor puntaje de acuerdo con la escala hedónica se ubica en “Me gusta mucho” para los tres casos. De manera general los evaluadores ubicaron la muestra en la escala de “me gusta mucho”, éstos resultados nos indican que el extracto amargo de *C. tepejilote* puede ser una buena opción para utilizarse como aditivo en la preparación de carnes marinadas.

9.5 Análisis químico proximal

Se realizó el estudio químico proximal a las inflorescencias liofilizadas y pulverizadas del tepejilote, el cual consistió en la determinación del % de

humedad, cenizas, lípidos, proteínas y fibra cruda (Tabla 8). Este estudio muestra que las inflorescencias de *C. tepejilote* presentan un mayor contenido de proteínas y un bajo porcentaje de humedad, lo cual puede deberse al estado de maduración de la inflorescencia. Las inflorescencias que se utilizaron en este experimento presentaron un porcentaje menor de humedad con respecto al trabajo descrito (Centurión, *et al*, 2009), esta variación puede deberse a que en el experimento descrito se utilizaron muestras secadas al aire libre y en este estudio las inflorescencias se liofilizaron, el porcentaje de cenizas también es menor al reportado, con respecto al porcentaje de lípidos se observó una diferencia significativa con respecto a lo reportado y en cuanto a la fibra cruda los resultados obtenidos son muy semejantes.

Tabla 12. Análisis químico proximal de las inflorescencias de *C. tepejilote*.

Componente	%	Reportado
Humedad	6.8 ± 0.02	8.31 ± 0.002
Cenizas	12.6 ± 0.02	17.25 ± 0.004
Lípidos	12.5 ± 0.003	1.62 ± 0.03
Proteínas	17.3 ± 0.04	24.19 ± 0.04
Fibra cruda	12.13 ± 0.03	12.16 ± 0.02

9.6 Perfil fitoquímico preliminar

El análisis fitoquímico preliminar de los extractos obtenidos mediante reflujo (acuoso y etanólico) se sometieron a pruebas colorimétricas cualitativas de detección de grupos de metabolitos secundarios (Tabla 11). En ambos extractos se detectó la presencia de terpenoides, cumarinas y carbohidratos, únicamente en el extracto acuoso se detectó la presencia de saponinas y en el extracto etanólico la presencia de esteroides. Los resultados se muestran en la Tabla 12.

Tabla 13. Pruebas cualitativas para perfil fitoquímico.



ESTEROIDES**DRAGENDORF****CUMARINAS****ALCALOIDES****CARBOHIDRATOS (Molish)****SAPONINAS****TANINOS**

Nota: El tubo de la izquierda en todos los casos corresponde al extracto acuoso y el tubo de la derecha corresponde al extracto etanólico, respectivamente.

Para el caso de los terpenoides, una coloración rojiza en la prueba indica la presencia de estos derivados orgánicos. En la imagen correspondiente a la prueba de terpenoides (Tabla 13), se observa una coloración rojiza tenue, por lo que la prueba se considera positiva en ambos extractos. Con respecto a la prueba realizada para cumarinas se puede observar una coloración amarilla intensa en ambos extractos (más remarcada en el extracto acuoso), por lo que podemos

sugerir la presencia de las mismas en los dos extractos evaluados. La prueba de carbohidratos es positiva en ambos extractos, en los que se aprecia la formación de un anillo color violeta principalmente en el extracto acuoso y un poco menos visible en el extracto etanólico. El resumen de estos resultados se enlistan en la Tabla 14.

Tabla 14. Perfil fitoquímico de *C. tepejilote*.

Metabolito	Extracto Acuoso	Extracto Etanólico
<i>Taninos</i>	-	-
<i>Terpenoides</i>	+	+
<i>Saponinas</i>	+	-
<i>Esteroides</i>	+	-
<i>Carbohidratos</i>	+	+
<i>Cumarinas</i>	+	+
<i>Alcaloides (Hagger)</i>	-	-
<i>Alcaloides (Dragendorff)</i>	-	-
<i>Proteínas</i>	-	-
<i>Emodinas</i>	-	-

8.6.1 Cromatografía en capa fina (TLC)

A los extractos obtenidos mediante reflujo (acuoso y etanol 50%), se les efectuó el análisis mediante TLC, la cual se realizó en cromatofolios de aluminio utilizando como fase estacionaria gel de sílice, y como fase móvil: sistema de eluentes hexano/AcOEt (9:1), hexano/AcOEt (7:3), AcOEt (100%) y CH₂Cl₂/MeOH (9:1, 8:2 y 7:3). Se emplearon todos los sistemas de eluentes para realizar la TLC en ambos extractos obtenidos, se detectó la presencia de los compuestos en las placas mediante el uso luz ultravioleta (UV) y reactivos reveladores como el yodo el cual produce manchas de color amarillo-marrón, ácido sulfúrico el cual produce manchas de diferentes colores debido a la oxidación de los compuestos, *p*-anisaldehído y ácido *p*-toluensulfónico) para cada uno de los extractos (Tabla 15).

La cromatografía en capa fina muestra que el extracto acuoso (E1) presenta al menos tres componentes, mientras que el extracto etanólico (E2) presentan al

menos cinco componentes principales al ser tratados con diferentes agentes reveladores. Los valores de R_f de los componentes encontrados para ambos extractos se muestran en la Tabla 15, de acuerdo con su aparición en la placa mediante el uso de reveladores.

Tabla 15. Placas utilizadas para TLC.

SISTEMA: AcOEt, (E1,E2,R,E1,E2)

Revelado en UV	Revelado en I_2	Revelado en H_2SO_4	Revelado con ác. p -toluensulfónico
 <p>R_f de compuestos 1. 0.8787 2. 0.7575 1. 0.8787 2. 0.7575</p>	 <p>R_f de compuestos 1. 0.7575 1. 0.7575</p>	 <p>R_f de compuestos 1. 0.8787</p>	 <p>R_f de compuestos 1. 8787</p>

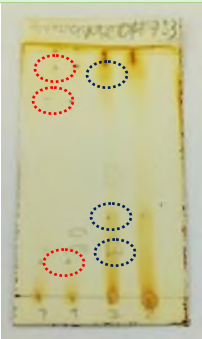
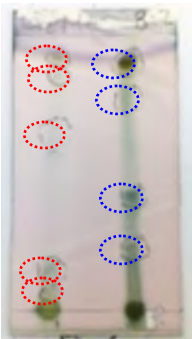

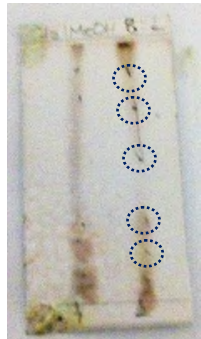
SISTEMA 9:1 HEXANO/AcOEt (E1,E2,R.E1.E2)

Revelado en UV	Revelado en I_2	Revelado en H_2SO_4	Revelado con ác. p -toluensulfónico
 <p>R_f de compuestos 1. 0.1515 1. 0.1515 2. 0.3939</p>	 <p>R_f de compuestos 1. 0.3939</p>	 <p>R_f de compuestos 1. 0.1515 2. 0.3030</p>	 <p>R_f de compuestos 1. 0.3939</p>

SISTEMA 7:3 HEXANO/AcOEt (E1,E2,R.E1.E2)

Revelado en UV	Revelado en I ₂	Revelado en H ₂ SO ₄	Revelado con ac. <i>p</i> -toluensulfónico
 <p>R_f de compuestos</p> <p>1. 0.5000 R. 0.9000 1. 0.2500 2. 0.4687 3. 0.5312</p>	 <p>R_f de compuestos</p> <p>1. 0.2500 2. 0.4687 3. 0.9000 R. 0.5312</p>	 <p>R_f de compuestos</p> <p>1. 0.2500 2. 0.4687 3. 0.5312 4. 0.9000 R. 0.5312</p>	 <p>R_f de compuestos</p> <p>1. 0.2500 2. 0.4687 3. 0.9000 R. 0.5312</p>

SISTEMA CH₂Cl₂/ MeOH (E1,E1,R,E2,E2)

Revelado I ₂ (7:3)	Revelado <i>p</i> -anisaldehído (8:2)	Revelado en H ₂ SO ₄ (9:1)	Revelado ac. <i>p</i> -toluensulfónico (8:2)
 <p>R_f de compuestos</p> <p>1. 0.1562 2. 0.7812 3. 0.9375 1. 0.1875 2. 0.2812 3. 0.9375</p>	 <p>R_f de compuestos</p> <p>1. 0.0588 2. 0.1470 3. 0.6470 4. 0.8529 5. 0.9375 1. 0.2352 2. 0.4117 3. 0.7647 4. 0.9117</p>	 <p>R_f de compuestos</p> <p>1. 0.5757 2. 0.6666 3. 0.7878 1. 0.1515 2. 0.2424 3. 0.3636 4. 0.7878</p>	 <p>R_f de compuestos</p> <p>1. 0.1764 2. 0.2941 3. 0.5294 4. 0.7352 5. 0.8823</p>

9.7 Perfil cromatográfico

El cromatograma HPLC-PDA ($\lambda=254$ nm) (Fig. 19) del extracto acuoso mostró un perfil de al menos 6 compuestos mayoritarios empleando una columna de fase reversa. Los compuestos observados presentaron un tiempo de retención de 3.64, 3.98, 7.14, 7.58, 8.30, 9.04 min, donde los compuestos con tiempos de retención de 3.64 y 7.14 son los componentes mayoritarios y estos dos compuestos podrían usarse como referencia para la obtención de un extracto amargo estandarizado con posible aplicación en alimentos.

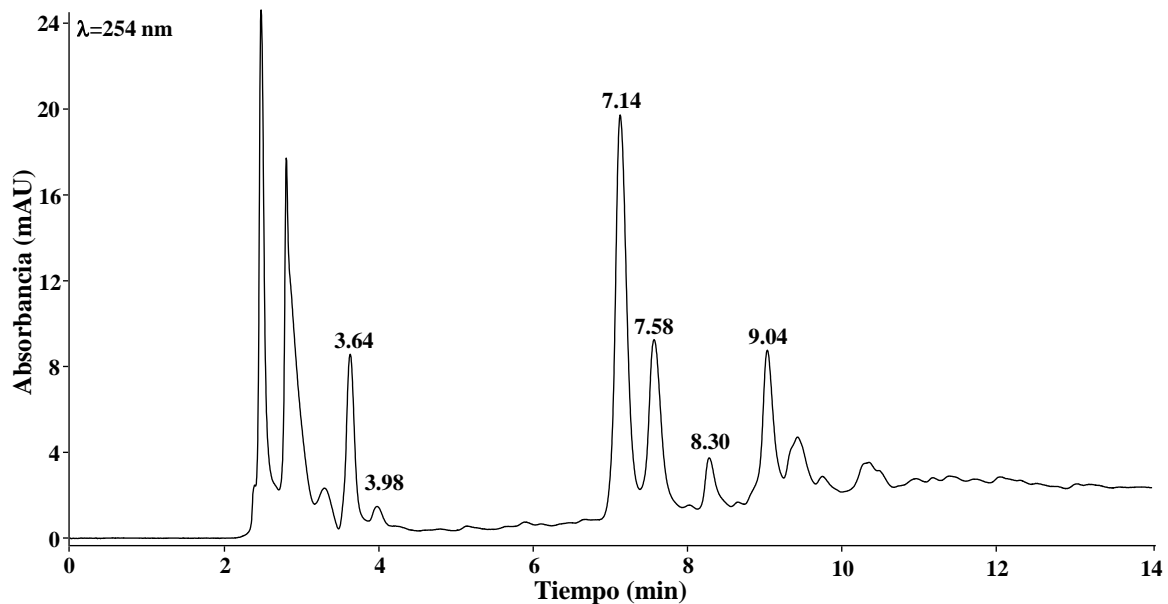


Figura 20. Cromatograma en fase inversa del extracto acuoso de *C. tepejilote*.

10. CONCLUSIONES

En el estudio de un extracto amargo de *C. tepejilote* se reclutaron 28 participantes para la selección de jueces entre alumnos y personal docente de la Universidad del Papaloapan *campus* Tuxtepec. De los 28 participantes solo 14 aprobaron las pruebas realizadas para la selección. Sin embargo, se prescindió de la participación de 3 de los participantes seleccionados.

El semi-entrenamiento de jueces se llevó a cabo en 10 sesiones, en las cuales se preparó a los jueces únicamente en la detección del sabor amargo en todas las muestras evaluadas.

Los jueces semi-entrenados realizaron la construcción de una escala de amargor utilizando cafeína y agua tónica marca Peñafiel como referencia y eligieron al extracto de *C. tepejilote* con una concentración del 25% como la muestra que más igualaba al sabor amargo de las referencias.

El extracto acuoso de *C. tepejilote* obtenido mediante ebullición se utilizó para una prueba en bisteces de cerdo, el cual fue evaluado sensorialmente por un grupo de 50 personas. De manera general los evaluadores ubicaron la muestra en la escala de “Me gusta mucho” con diferencia estadística significativa ($p < 0.05$). Los resultados de la prueba de aceptación indican que el extracto amargo de *C. tepejilote* puede tener potencial como aditivo en el proceso de marinación de carnes.

El estudio químico proximal indica que el componente mayoritario en las inflorescencias de *C. tepejilote* son las proteínas. Además se encontró una diferencia significativa en el contenido de lípidos con respecto a lo descrito, lo que se puede deber a las diferentes condiciones en que fue cultivada la planta (altura, estrés, clima, etc.).

Se detectó la presencia de esteroides, cumarinas, carbohidratos, saponinas y terpenoides mediante el perfil fitoquímico preliminar, lo cual se corroboró mediante métodos cromatográficos (CCF y HPLC).

11. ANEXOS

11.1 Formato para la prueba de identificación de sabores básicos

Nombre: _____ Fecha: _____

INSTRUCCIONES: por favor antes de empezar la prueba enjuague su boca con agua.

Se le han dado a usted 4 muestras con sabores **salado, dulce, ácido y amargo**. Primero pruébelas y sepárelas en 4 grupos, dependiendo sabor.

Indique sus respuestas usando la clave señalada en cada vaso.

Enjuáguese la boca con agua después de probar cada muestra.

NO SE TRAGUE LAS MUESTRAS

INDIQUE LAS CLAVES DE LAS MUESTRAS

_____ _____ _____ _____
DULCE SALADO ÁCIDO AMARGO

11.2 Formato para la prueba de ordenamiento de sabores básicos

Nombre: _____ Fecha: _____

INSTRUCCIONES: por favor antes de empezar la prueba enjuague su boca con agua.

Se le han dado a usted 16 muestras con sabores **salado, dulce, agrio y amargo**.
Primero pruébelas y sepárelas en 4 grupos, dependiendo del sabor, y después, **para cada sabor, ordénelas de menor a mayor intensidad de sabor**.

Indique sus respuestas usando la clave señalada en cada vaso.

Enjuáguese la boca con agua después de probar cada muestra.

NO SE TRAGUE LAS MUESTRAS

DULCE

INDIQUE LAS CLAVES DE LAS MUESTRAS, DE MENOR A MAYOR INTENSIDAD

SALADO

INDIQUE LAS CLAVES DE LAS MUESTRAS, DE MENOR A MAYOR INTENSIDAD

AGRIO

INDIQUE LAS CLAVES DE LAS MUESTRAS, DE MENOR A MAYOR INTENSIDAD

AMARGO

INDIQUE LAS CLAVES DE LAS MUESTRAS, DE MENOR A MAYOR INTENSIDAD

11.3 Formato utilizado en las pruebas triangulares

NOMBRE _____ FECHA _____

Frente a usted hay tres muestras de AGUA TÓNICA, dos son iguales y una diferente, saboree cada una con cuidado y marque con una **X** la muestra diferente.

MUESTRAS	MUESTRA DIFERENTE
0060	
7116	
6034	

COMENTARIOS _____

11.4 Formato utilizado en las pruebas Dúo-Trio

NOMBRE _____ FECHA _____

Frente a usted hay tres muestras codificadas de AGUA TÓNICA, la muestra marcada con **R** es la referencia, 2 son iguales y una diferente, saboree cada una con cuidado y marque con una **X** la muestra que es igual a la referencia.

MUESTRAS	MUESTRA IGUAL A R
0230	
0129	

COMENTARIOS _____

11.5 Formato para la prueba de ordenamiento (Sesión 6 y 7)

NOMBRE _____ FECHA _____

PRODUCTO: EXTRACTO ACUOSO DE TEPEJILOTE

Frente a usted están 4 muestras de extracto amargo de **C. tepejilote**, pruebe cada una y ordénelas de menor a mayor de acuerdo con el grado de amargor.

*No olvide enjuagar su boca antes de probar cada muestra.

Muestras:

Clave	
3792	_____
4725	_____
4863	_____
1841	_____

11.6 Formato para la prueba de aceptación con escala hedónica de 9 puntos.

NOMBRE: _____ EDAD _____

INSTRUCCIONES: Antes de empezar la prueba **beba un poco de agua**.Se le ha dado a usted una muestra de carne tratada con **extracto de Tepejilote**, pruebe la muestra y califique según su agrado.

	COLOR	AROMA	TEXTURA	SABOR	EV. GRAL.
Me gusta muchísimo					
Me gusta mucho					
Me gusta moderadamente					
Me gusta un poco					
Ni me gusta ni me disgusta					
Me disgusta un poco					
Me disgusta moderadamente					
Me disgusta mucho					
Me disgusta muchísimo					

Comentarios: _____

11.7 Prueba de multiples rangos por atributo (COLOR)

Método: 95.0 porcentaje LSD

<i>ESCALA</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
E	2	7.0	X
F	2	7.0	X
D	2	10.0	X
A	2	14.0	X
C	2	23.0	X
B	2	39.0	X

11.8 Prueba de multiples rangos por atributo (TEXTURA)

Método: 95.0 porcentaje LSD

<i>A.ESCALA</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
E	2	7.0	X
F	2	7.0	X
D	2	10.0	X
A	2	14.0	X
C	2	23.0	X
B	2	39.0	X

11.9 Prueba de multiples rangos por atributo (AROMA)

Método: 95.0 porcentaje LSD

<i>B.ESCALA</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
E	2	6.0	X
D	2	13.0	X
A	2	21.0	X
C	2	24.0	X
B	2	36.0	X

11.10 Prueba de multiples rangos por atributo (SABOR)

Método: 95.0 porcentaje LSD

<i>C.ESCALA</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
E	2	16.0	X
B	2	20.0	X
C	2	31.0	X
D	2	33.0	X

12. BIBLIOGRAFÍA

- Adler, E.; Hoon, M. A.; Mueller, K.L. A novel family of mammalian taste receptors. *Cell* 2000, **100**, 693-702.
- Amerine, M. A.; Roessler, E. B. *Sequential procedure for selection of judges en wines, the sensory evaluation*. Editorial Freeman, 1976, San Francisco. C. A.
- Anzaldúa, A. *La evaluación sensorial de los alimentos en la teoría y la práctica*. Editorial Acribia, 1994, España.
- AOAC. Association of official Analytical Chemist, in: Horwitz, W. *Official methods of Analysis of Association of Official Analytical Chemist*, 19 th Edn. AOAC International, 1999, Gaithersburg.
- Ares, G.; Barreiro, C.; Deliza R.; Gámbaro, A. Alternatives to reduce the bitterness, astringency and characteristic flavor of antioxidant extracts. *Food research International* 2009, **42**, 871-878
- Aurand, L. W.; Woods, A.E.; Wells, M.R. *Food Composition and Analysis*. Editorial AVI Book, 1987, New York.
- Bartoshuk , L. M. The biological basis of food perception and food acceptance. *Food Quality and Preference* 1994, **4**, 21-32.
- Boring, E. *Sensation and perception in the history of experimental psychology*. Editorial Academic Press, 1942, New York.
- Breslin, P.; Spector, A.; Mammalian taste perception. *Current Biology* 2008, **18**,148-55.
- Castro, E. H. *Cultivo, recolección y comercialización de palma comedor Chamaedorea spp*. México (Inédito).
- Chandrashekar, J.; Mueller, K. L.; Hoon, M. A.; Adler, E.; Feng, L.; Guo, W.; Zuker, C. S. & Ryba, N. J. T2Rs function as bitter taste receptors. *Cell* 2000, **100**, 703-11.
- Chízmar Fernández, C. *Plantas comestibles de Centroamérica*. Editorial INBio, 2009, Costa Rica.
- Collings, V. Human taste response as a function of location of stimulation on the tongue and soft palate. *Perception & Psychophysics* 1974, **16**, 169-74.

- Cordero, J.; Boshier, D. *Arboles de Centroamérica: un manual para extensionistas*. Editorial Catie, 2003, Costa Rica.
- Drake, M. Sensory Analysis of Dairy Foods. *Journal Dairy Scielo* 2007, **90**, 4925-37.
- Drewnowski, A.; Gomez, C.; Bitter taste, phytonutrients, and the consumer: a review. *American Journal of Clinical Nutrition*, 2000, **72**, 1424-1435.
- Espinoza, M. J. *Evaluación sensorial de los alimentos*. Editorial Universitaria, 2007, Cuba.
- Fennema, O. *Química de los Alimentos*. (2da edición). Editorial Acribia, 2000, España.
- Figun, M.; Garino, R. *Anatomía odontológica funcional y aplicada*. (2a edición). Editorial El Ateneo 2006, Argentina.
- Flores, J. Carlos. Informe de mercadeo, Tepejilote (*Chamaedorea tepejilote*). 2002, México.
- Frank, M. E.; Bouverat, B. P.; MacKinnon, B. I.; Hettinger, T. P. The distinctiveness of ionic and nonionic bitter stimuli. *Physiology and Behavior* 2004, **80**, 421-431.
- Ganong, W. *Fisiología médica*. (15a edición). Editorial El Manual Moderno, 1996, México.
- Guyton, A. & Hall, J. *Tratado de Fisiología Médica*. (10a edición). Editorial McGraw Hill, 2001, España.
- Hanig, D. Zur psychophysik des geschmacksinnes. *Philosophische Studien* 1901, **17**, 576-623.
- Hofmann T. Taste-active maillard reaction products: the “tasty” world of nonvolatile maillard reaction products. *Annals of the New York Academy of Sciences* 2005. **1043**, 20–29.
- Hole, R. B. The North American and Caribbean Palms, 1999. (Consulta en el Internet)
- Hough, J. S. *Biología de la cerveza y de la malta*. Editorial Acribia, 1985, España.

- Huang, A.; Chen, X.; Hoon, M. A.; Chandrashekar, J.; Guo, W.; Tränkner, D.; Ryba, N. J. & Zuker, C. S. The cells and logic for mammalian sour taste detection. *Nature* 2006, **442**, 934-8.
- Ikeda, K. New Seasonings. *Journal of the Chemical Society of Tokyo* 1909, 30: 820–36. Traducción parcial en Ikeda, K. New seasonings. *Chemical Senses* 2002, **27**, 847-9.
- Inarejos, A. M.; Androulaki, A.; Desamparados, M. S.; Fregapane, G.; Tsimidou, M.Z. Discussion on the objective evaluation of virgin olive oil bitterness. *Food Research International* 2009, **42**, 279-284.
- Jiménez, A.; Meckes, M.; Álvarez, V.; Torres J.; Parra, R. Secondary metabolites from *Chamaedora tepejilote* (Palmae) are active against *Mycobacterium tuberculosis*. *Phytotherapy Research* 2005, **19**, 320-322.
- Kaiser, R. Environmental scents at the Ligurian coast. *Perfumer Flavorist* 1997, **22**, 7-18.
- Kaiser, R. New or uncommon volatile compounds in the most diverse natural scents. *Revista Ital. Eppos* 1997, **18**, 18-47.
- Kim, U.; Breslin, P; Reed, D. & Drayna D. Genetics of human taste perception. *Journal of Dental Research* 2004, **83**, 448- 53.
- Kreutzmann, S.; Christensen, L. P.; Edelenbos, M. Investigation of bitternes in carrots (*Daucus carota L.*) base don quantitative chemical and sensory analyses. *LTW- Food Science and Technology* 2007, **41**, 193-205.
- Ley, J. P. Masking bitter taste by molecules. *Chemosensory Perception* 2008, **1**, 58-77.
- Manfugas, E. J. *Evaluación sensorial de los alimentos*. Editorial Universitaria 2007, Cuba.
- Meyerhof, W.; Batram, C.; Kuhn, C.; Brockhoff, A.; Chudoba, E.; Bufe, B.; Appendino, G.; Behrens, M. The Molecular Receptive Ranges of Human TAS2R Bitter Taste Receptors. *Chem senses* 2010, **35**,157-70
- Montmayeur, J. P.; Matsunami, H. Receptors for bitter and sweet taste. *Sensory Systems* 2002, **12**, 366-371.

- Morcillo, G.; Cortés, E.; García, J. L. *Bioteología y alimentación*. Editorial Uned 2013, España.
- Mueller, K. L.; Hoon, M. A.; Erlenbach, I.; Chandrshekar, J.; Zuker, C. S.; Ryba N. J. P. The receptors and coding logic for bitter taste. *Nature* 2005. **434**,225–229.
- Murata, Y.; Sata, N. U. Isolation and structure of pulcherrimine, a novel bitter-tasting amino acid, from the sea urchin (*Hemicentrotus pulcherrimus*) ovaries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2000. **48**, 5557–5560.
- Nelson, G.; Chandrashekar, J.; Hoon, M. A.; Feng, L.; Zhao, G.; Ryba, N. J.; Zuker C. S. An amino-acid taste receptor. *Nature* 2002, **416**,199–202.
- Nielsen, S. *Food Analysis*. (3ra Ed). Editorial Board 2003, Indiana.
- Nollet, L. M. L. *Handbook of Food Analysis*. Editorial Dekker, 1996, E.U.
- Pérez, C.; Pérez, S.; Zavala, M.A.; Ventura, E. Propiedades antitusivas de diferentes extractos de *Chamaedorea tepejilote*. *Revista de Fitoterapia* 2006, **6**, 18-19.
- RAE, Real Academia Española. *Diccionario de la lengua española*. (22a edición). Editorial Espasa Calpe 2001, Barcelona.
- Riquett, D. J.; Solórzano E.R. Actividad hipoglucemiante de *Chamaedorea tepejilote* Liebm. (pacaya). *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 2013, **18**, 27-33.
- Roldán Ramírez. I. Flores comestibles. *Seminarios de Prensa Libre*, 2007, No. 141.
Disponible en URL <http://servicios.prensalibre.com/pl/domingo/archivo/revistad/2007/marzo07/180307/gastronomia.shtml>. [citado: 02 de agosto de 2013]
- Rousseau, B.; Meyer, A.; O'Mahony, M. power and sensitivity of the same-different test: comparison with triangle and duotrio methods. *Journal of Sensory Studies* 1998, **13**, 149-173.
- Roy, G. Bitterness: reduction and inhibition. *Trends in food science and technology* 1992, **3**, 85-9.

- Sánchez, X. F.; Brasic, J. R.; Fente, C. A.; Cepeda, A. Aspectos toxicológicos del consumo de bebidas refrescantes que contienen quinina. *Nutrición clínica y dietética hospitalaria* 2008, **28**, 20-25.
- Sancho, J.; Bota, E.; Castro, J. J. *Análisis Sensorial de los Alimentos*. Editorial Alfaomega, 2002. México.
- Schiffman, S.S. Taste quality and neural coding: implications from psychophysics and neurophysiology. *Physiol Behav* 2000, **69**, 147-59.
- Sinesio, F.; Moneta, E.; Esti, M. The dynamic sensory evaluation of bitterness and pungency in virgin olive oil. *Food Quality and Preference* 2005, **16**, 557-556-564.
- Skoog, D. A.; Holer, F. J.; Nieman, T. A. *Principios de análisis instrumental*. (5ta. Ed). McGraw-Hill/Interamericana de España 2000, España.
- Szejtli, J.; Szente, L. Elimination of bitter, disgusting tastes of drugs and foods by cyclodextrins. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 2005, **61**, 115-125.
- Tomasi, G.; van den Berg, F.; Andersson, C. Correlation optimized warping and dynamic time warping as preprocessing methods for chromatographic data. *Journal of Chemometrics* 2004, **18**, 231-241.
- Torres, E. J. C; Yanez B. E; Wrobel, K.; Wrobel, K.; Effect of cadmium (Cd (II)), selenium (Se (IV)) and their mixtures on phenolic compounds and antioxidant capacity in *Lepidium sativum*. *Acta physiologiae plantarum* 2013, **35**, 431-441.
- Villegas, R. X.; Ruiz, E. H.; Bárcenas, P. M. E. Tecnologías de enmascaramiento de sabor amargo en alimentos. *Temas Selectos de Ingeniería en Alimentos* 2010, **4**, 27-36.
- Zhang, Y.; Hoon, M. A.; Chandrashekar, J.; Mueller, K. L.; Cook, B.; Wu, D.; Zuker, C. S.; Ryba, N. J. P.; Coding of sweet, bitter and umami tastes: different receptor cells sharing similar signaling pathways. *Cell Press* 2003, **112**, 293-301.