

EFFECTO DE LA TEMPERATURA DEL CONCHADO SOBRE LOS POLIFENOLES EN UN CHOCOLATE SEMI-AMARGO

Acevedo Alzate Liz Katherine*, Mejía Díaz Diana Paola, Acosta Otálvaro Elly Vannesa, Valencia Gallego Wilmar Giovanni, Penagos Vélez Lucas.

1. Centro de Investigación, Desarrollo y Calidad-CIDCA, Compañía Nacional de Chocolates S.A.S.

*lkacevedoa@chocolates.com.co, lizkath365@gmail.com

Resumen

El cacao es la principal materia prima del proceso de elaboración del chocolate. Uno de sus atributos nutricionales es la capacidad antioxidante, asociada al contenido de polifenoles, el cual se ve afectado en diferentes etapas de la industrialización. El licor de cacao durante su procesamiento es sometido a una etapa de conchado, siendo uno de los procesos más extensos, consta de tres fases: seca, plástica y líquida. Allí se presentan cambios en la concentración de los compuestos antioxidantes, debido a las reacciones de epimerización y condensación que ocurren por efecto de la temperatura. Este trabajo evaluó el efecto de la temperatura durante el conchado sobre el contenido de polifenoles y la capacidad antioxidante de una cobertura de chocolate semi amargo, durante la etapa plástica y líquida de dos procesos de conchado: Concha 1 (C1) a 45°C y Concha 2 (C2) a 60°C. Se tomaron muestras en los siguientes tiempos: t_0 (0 horas), t_1 (1 hora), t_2 (2 horas), t_3 (5 horas), t_4 (8 horas). Este muestreo se realizó en cinco lotes diferentes para cada equipo. Las variables evaluadas fueron: polifenoles totales, capacidad antioxidante, flavan-3-oles, xantinas y sensorial. Mediante un análisis estadístico multifactorial se determinaron diferencias significativas entre los baches de estudio. Se observó que la mayor reducción de polifenoles y capacidad antioxidante durante el conchado ocurre a una temperatura de 60°C. Las condiciones térmicas elevadas durante el proceso de conchado del chocolate, reducen el contenido de polifenoles totales y tiene efecto a su vez en la capacidad antioxidante del producto final.

Palabras clave: Cacao, antioxidantes, polifenoles, capacidad antioxidante, conchado.

Abstract

Cocoa is the main raw material in the chocolate making process. One of the nutritional attributes of cocoa is its antioxidant capacity, associated with polyphenol content, which is affected in different stages of industrialization. Cocoa liquor, during chocolate processed is to submit at conching stage, which consists of three phases: dry, plastic and liquid; in those phases presents change in the concentration of antioxidants compounds, due to the reactions that occur such as epimerization and condensation by the effect of temperature, which leads to modifications of these compounds. Evaluate the effect of temperature during conching phase on the content of polyphenols and the antioxidant capacity of a semi - bitter chocolate coating during the plastic and liquid phase of two different shells machine: Shell 1 (C1) at 45 ° C and Shell 2 (C2) at 60 ° C. Samples were taken at the following times: t0 (0 hours), t1 (1 hour), t2 (2 hours), t3 (5 hours), t4 (8 hours). This sampling was performed in five different lots for each shell machine. Variables evaluated were: total polyphenols, antioxidant capacity, flavan-3-oles, xanthines and sensorial. Multifactorial statistical analysis determined significant differences between all variables mentioned. It was observed that the major reduction of polyphenols content and antioxidant capacity during the conching, occurs at a temperature of 60 ° C (Shell 2). A higher thermal conditions during chocolate conching process reduce total polyphenol content and has effect on the antioxidant capacity of the final product.

Keywords: Cocoa, antioxidants, polyphenols, antioxidant capacity, conching.

I. INTRODUCCIÓN

El cacao es considerado como una fuente importante de polifenoles que contribuyen a la capacidad antioxidante del chocolate (Hu y otros 2016), estos compuestos pertenecen a un grupo de sustancias químicas que producen las plantas y se caracterizan por la presencia de más de un grupo fenol, estos son potencialmente benéficos para la salud porque reducen el riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares y cáncer (Conacyt 2009). Los polifenoles del cacao tienen propiedades antioxidantes, anti-inflamatorias, anti-necróticas y anti-cancerígenas, las cuales fueron comprobadas en algunos estudios con ratones (Giacometti Muhvi, D., Pavleti, A., Dudari, L. 2016). Al hablar del perfil funcional del chocolate, se hace referencia a los compuestos antioxidantes los cuales son micronutrientes presentes en la dieta que pueden retrasar o inhibir la oxidación de lípidos o impedir la iniciación de esta, también están involucrados en la eliminación de los radicales libres (Páramo 2013).

La cantidad de polifenoles presentes en el grano de cacao depende de: la variedad de los granos, la región de cultivo y el manejo postcosecha durante la fermentación y secado. Żyżelewicz y otros (2016) menciona que la variedad Forastero es la más rica en compuestos polifenólicos (Żyżelewicz y otros 2016). En los últimos años diversos autores han demostrado que el cacao y sus productos: licor de cacao, chocolate

amargo, polvo de cacao o cocoa, son alimentos ricos en polifenoles tales como catequinas (epicatequina, epigallocatequina, galocatequina y catequina), además de otros flavonoides como las procianidinas, antocianinas, flavononas y flavonol glicosídicos, que contribuyen a la capacidad antioxidante (Perea-Villamil y otros 2009), de igual manera se debe considerar las posibles interacciones entre los flavonoides y las metil xantinas (Teobromina y cafeína) debido a que la teobromina en los productos de cacao puede tener efectos benéficos para la salud (Belščak y otros 2009).

La capacidad antioxidante del chocolate puede verse afectada por diferentes procesos industriales; las diferentes etapas en el proceso de industrialización de los granos de cacao son: fermentación, secado, tostado, molienda, prensado, mezclado, refinado, conchado, atemperado y moldeo (Afoakwa y otros 2007). Existen dos etapas principalmente donde se evidencian mayores cambios de dichos compuestos, el tostado y el conchado. En el tostado se puede presentar un aumento de la temperatura por encima de 130 °C, lo que reduce significativamente el nivel de polifenoles en los granos de cacao (Di Mattia y otros 2014).

Otro de los procesos en los cuales puede verse afectada la capacidad antioxidante del cacao es el conchado, el cual contribuye a la obtención de las características organolépticas y reológicas de la masa de chocolate.

Durante esta etapa ocurren los siguientes fenómenos: eliminación de humedad, pérdida de compuestos volátiles no deseados, cobertura de las partículas sólidas con dispersión de la manteca de cacao libre, desaglomeración del chocolate, desarrollo de características organolépticas (reacción de Maillard) y la obtención de una textura y reología típica del producto (Montanari-OPM 2016). La etapa de conchado se basa en la agitación de la masa de chocolate y generalmente se da a una temperatura de 50 °C. El conchado ocurre en tres etapas: etapa seca, plástica y líquida. En la etapa seca se reduce de manera significativa el contenido de humedad de un 1.5% a un 0.6-0.8% aproximadamente. Adicionalmente, se eliminan compuestos indeseables como ácidos, aldehídos y cetonas. En la etapa plástica se produce un efecto de cizallamiento de la masa del chocolate, con el fin de garantizar la humectación de las partículas de azúcar, desarrollo del aroma y un cambio en la plasticidad de la masa de cacao. Por último se encuentra la etapa líquida, donde se adiciona la grasa faltante según la fórmula y un emulsionante para obtener la viscosidad deseada según el tipo de chocolate. Por último se agregan las esencias líquidas y se homogeniza hasta incorporar el resto de ingredientes (Tobergte and Curtis 2013). Actualmente es comúnmente usado el conchado "húmedo", dado que una gran cantidad de manteca de cacao está presente desde el comienzo del proceso obstaculizando la degradación de los compuestos antioxidantes (Di

Mattia y otros 2014). En un estudio propuesto por Di Mattia y otros (2014), se realizaron pruebas modificando los tiempos y las temperaturas de la etapa de conchado, lo que evitó la degradación de la procianidina durante el proceso y no afectó su actividad antioxidante, así como el contenido fenólico y las fracciones de melanoidina la cual es producto de la reacción de Maillard. En uno de los ensayos, se planteó un proceso de largo tiempo de conchado, el cual constaba de 12 horas de proceso a menor temperatura (60°C) lo cual favoreció la reacción de condensación de procianidinas y determinó una mayor actividad antioxidante de la fracción de procianidina. Como resultado de las reacciones de condensación, la actividad antioxidante también aumentó en la fracción melanoidina como producto de la reacción de Maillard. Los compuestos fenólicos también aumentaron en el largo tiempo de conchado, probablemente a la ocurrencia de fenómenos hidrolíticos (Di Mattia y otros 2014). De acuerdo con lo anterior diferentes estudios buscan variar el tiempo de conchado como parte esencial del producto final, donde se afirma que dicho tiempo podría ser acertado realizándole un pre-tratamiento al licor con temperaturas más altas, llevando a que en el proceso puntal no se den cambios significativos en el contenido de antioxidantes y polifenoles (Gil 2012).

Este trabajo representa para la Compañía Nacional de Chocolates S.A.S y la línea de investigación en

procesos del chocolate y snacks la oportunidad de conocer el efecto de la temperatura del proceso de conchado sobre la capacidad antioxidante, con el fin de garantizar una cantidad significativa de estos compuestos en el producto final, buscando ofrecerle al consumidor una diferenciación y un mayor valor agregado a través de un producto que contribuya a la satisfacción de sus necesidades y deseos de tener una alimentación saludable.

II. MATERIALES Y MÉTODOS.

a. Preparación de las muestras y proceso de conchado

Las muestras de cobertura de chocolate semi amargo con 47% de sólidos de cacao fueron tomadas durante el proceso de conchado industrial en la planta de Compañía Nacional de Chocolates S.A.S, se muestrearon 5 lotes de 6000 Kilos en dos conchas a diferentes condiciones de temperatura de proceso: concha 1 (C1) a 45°C y concha (C2) a 60°C, ambas, marca Homega 6 (Carle & Montanari, Italia, 1992). La formulación de la cobertura de chocolate semi amargo es principalmente: azúcar refinado, licor de cacao, y manteca de cacao, en menores proporciones contiene lecitina de soya y extracto de vainilla. Los dos tratamientos se ejecutaron bajo los mismos tiempos: etapa seca-plástica 11 horas y etapa líquida 1 hora aproximadamente. Las muestras se tomaron en la etapa

plástica y líquida del proceso en los siguientes tiempos: t0 (0 horas) inicio de etapa plástica, t1 (1 hora), t2 (2 horas), t3 (5 horas) aproximadamente mitad del proceso, t4 (8 horas) etapa líquida donde se cumple las 12 horas de conchado. La toma de muestras se realizó en estos tiempos dado a que en la etapa seca la masa no tiene una consistencia adecuada que facilite el muestreo, debido a que por seguridad la concha se detiene y se toma la muestra por la parte superior del equipo lo cual no podría hacerse en la etapa seca dado a que en esta parte se le realiza trabajo a la masa lo cual ayuda a que la grasa de la formula aflore y se dé el cambio de etapa al caer la potencia. Estas muestras fueron tratadas con n-hexano (Merck) en un baño ultrasónico bajo el método propuesto por Di Mattia y otros (2014), con el fin de eliminar el contenido de grasa y proceder con la extracción de los compuestos de interés (Di Mattia y otros 2014).

b. Análisis de polifenoles (TP)

El contenido de polifenoles totales se determinó por espectroscopia UV-VIS usando el método a micro-escala de Folin-Ciocalteu (FC) (Merck), descrito por Rover and Brown, 2013 (Rover and Brown 2013). Se utilizaron 100 µl de extracto, diluidos apropiadamente (1/10) para la determinación a una absorbancia a 725 nm frente al blanco en un espectrofotómetro Thermo Scientific GENESYS 10S UV-Vis (Waltham, Massachusetts). La curva de

calibración fue realizada con ácido gálico (Merck) (concentración entre 0 y 250 ppm). Los resultados se expresaron en mg equivalentes de ácido gálico (Gaes) por g de muestra desengrasada (mg de Gaes / g muestra desengrasada).

c. Análisis de capacidad antioxidante por ABTS

Se realizó siguiendo la metodología propuesta por Contreras-Calderón y otros (2016). Se utilizaron 100 µl de extracto, diluidos apropiadamente (1/100) para la determinación a una absorbancia a 730 nm frente al blanco en un espectrofotómetro Thermo Scientific GENESYS 10S UV-Vis (Waltham, Massachusetts). La curva de calibración fue realizada con Trolox (Sigma Aldrich) (concentraciones entre 0 y 500 mM). Los resultados se expresaron como micromoles equivalentes de Trolox (TES) por gramo de muestra desengrasada (µmol de ET / g muestra desengrasada).

d. Análisis de capacidad antioxidante por FRAP

Se realizó siguiendo la metodología propuesta por Contreras-Calderón y otros (2016). Se utilizaron 30 µl de extracto, diluidos apropiadamente (1/50) para la determinación a una absorbancia a 595 nm frente al blanco en un espectrofotómetro Thermo Scientific GENESYS 10S UV-Vis (Waltham, Massachusetts). La curva de calibración fue realizada con Trolox

(Sigma Aldrich) (concentraciones entre 0 y 500 mM). Los resultados se expresaron como micromoles equivalentes de Trolox (TES) por gramo de muestra desengrasada (µmol de ET / g muestra desengrasada).

e. Análisis de Flavan-3-oles (catequina y epicatequina) y Xantinas (Teobromina y cafeína)

La determinación de flavonoides y xantinas se realizó bajo el método propuesto por T-sanova-Savova (2005). El análisis cromatográfico se realizó en un cromatógrafo líquido de alta resolución (Agilent Technologies de la serie 1260, Palo Alto, CA, USA). Los datos fueron almacenados y analizados con el software OpenLab CDS Chemstation Edition. La disolución de los extractos concentrados se efectuó con solución 0.1% de ácido acético, la identificación se realizó comparando los tiempos de retención de los estándares externos y se cuantificaron por medio de sus respectivas curvas de calibración.

f. Relación Teobromina/Cafeína

Se determinó la relación a partir de los valores individuales para las xantinas (Teobromina y cafeína) y su respectiva clasificación de acuerdo a la variedad se realizó de acuerdo a Carrillo y otros (2014).

g. Análisis de procianidina

La determinación se realizó de acuerdo al método propuesto por

Robbins y otros , (2012). La muestra (t2) de cada bache se desengrasó con n-hexano, a partir del residuo desengrasado se procede a realizar la extracción con una solución (Acetona (Merck): agua: ácido acético (Merck)), posteriormente la muestra se hace pasar por cartuchos SPE (Strata SCX (55um, 70A) 8B-S010-HBJ Phenomenex), se filtra y se transfiere a los viales cromatográficos para su análisis en el HPLC.

h. Análisis sensorial

La evaluación sensorial se dividió en 2 fases, teniendo en cuenta que se realizó a la muestra tomada en la etapa líquida (t4). En la primera fase, se realizaron pruebas comparativas de los atributos de sabor a chocolate, dulce, amargo y sensación astringente bajo la NTC 2680 (ISO 4120:2004 n.d.). En la segunda parte, se ejecutaron pruebas de diferencia bajo los lineamientos descritos en las NTC 2681 (Icontec n.d.), usando para la prueba un nivel de confianza de ($p \leq 0,05$) con el fin de identificar si la variación en la intensidad de los atributos sabor a chocolate, dulce, amargo y sensación astringente que tienen influencia en la percepción de una diferencia global de sabor entre los baches era detectada por el panel experto (ISO 4120:2004 n.d.). Todo lo anterior se analizó en el Software Fizz Adquisicion y con la participación de 6 jueces entrenados bajo la NTC 4129 (Icontec n.d.) y NTC 4130 del panel sensorial de la Compañía Nacional de Chocolates S.A.S. (Icontec n.d.).

i. Análisis de componentes principales (PCA)

Se realizó un análisis estadístico multifactorial con la finalidad de analizar si existen diferencias significativas entre los baches de estudio bajo una misma variable respuesta, de igual manera se aplicó un estadístico multivariado bajo el análisis de componentes principales (PCA) el cual se empleó cuantitativamente para investigar las relaciones entre los baches objeto de estudio con respecto a los indicadores: capacidad antioxidante, polifenoles, flavan-3-oles y xantinas. La relación entre las variables se determinó por medio de correlaciones de Pearson. Todos los análisis estadísticos se realizaron con el software Stat Graphics Centurion XVI.

III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

a. Análisis de polifenoles totales (TP) y capacidad antioxidante (ABTS, FRAP)

En la Figura 1 se presentan los resultados obtenidos para los TP (FOLIN) y la capacidad antioxidante (ABTS Y FRAP) en las conchas C1 y C2. El contenido de TP (FOLIN) tuvo una variación de 8,0 mg de GAES/g de muestra desengrasada de

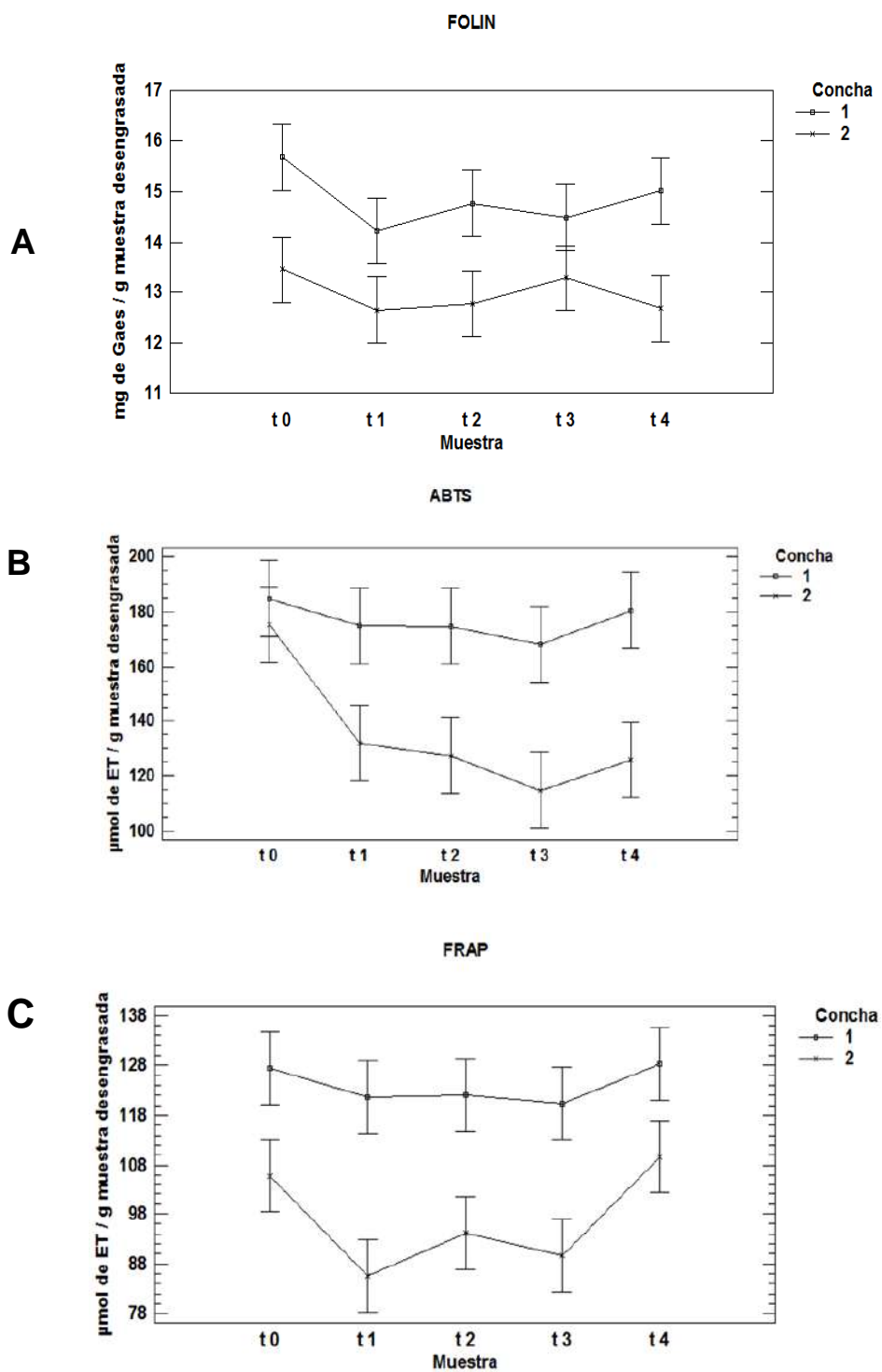


Figura 1. A. Polifenoles totales TP (FOLIN). B Capacidad antioxidante (ABTS). C. Capacidad antioxidante (FRAP) de las muestras obtenidas en C1 y C2.

manera general para todas las muestras (t0-t4) en cada equipo (C1 y C2), un comportamiento similar fue reportado por Di Mattia y otros (2014), obteniendo variaciones entre 8,0-10,0 mg de Gaes/ g de muestra desengrasada (Di Mattia y otros 2014). Se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($p \leq 0,05$) entre los tratamientos C1 y C2 (Tabla 1). En la Figura 1.A se observa una mayor disminución en el contenido de

TP en C2, lo que evidencia que el efecto térmico superior (60°C) presente en este equipo, tiene una influencia negativa en el contenido de polifenoles presentes en la cobertura de chocolate semi amargo evaluada. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($p \geq 0,05$) entre las muestras (t0-t4) tanto para C1 como en C2 (Tabla 1) para el contenido de polifenoles TP.

Tabla 1. Valores p del análisis multifactorial para TP, ABTS y FRAP.

Análisis de Polifenoles	p -value	
	CONCHA (C1-C2)	MUESTRA (t0-t4)
TP (FOLIN)	0,0000*	0,1885
ABTS	0,0000*	0,0028*
FRAP	0,0000*	0,0094*

El símbolo (*) en una fila indica diferencias significativas ($p \leq 0,05$) entre tratamientos (C1 y C2) y entre muestras (t0-t4).

En el estudio realizado por Ioannone y otros (2015), se observó un comportamiento similar al obtenido en el presente estudio en la Figura 1A, donde se encontró una evolución no lineal de los valores TP durante el tostado, con una disminución general en las primeras fases del proceso, seguido de un ligero aumento en las últimas fases (Ioannone y otros 2015). La disminución inicial de los valores de TP podría ser explicado por la reducción de los flavonoides y procianidinas. El ligero aumento de TP observado en las últimas fases del tostado puede deberse a la formación de las procianidinas de alto peso molecular, así como la generación de reductonas como consecuencia de reacciones de pardeamiento no enzimático (Reacción de Maillard), que

se producen durante el tostado, dicho comportamiento es similar al obtenido en este estudio, teniendo en cuenta que en la etapa de conchado se manejan menores temperaturas a las del tostado pero por mayor tiempo, lo que puede ocasionar los cambios observados en la composición. En el estudio realizado por Perea-Villamil y otros (2009), en la etapa de conchado obtuvo 12 mg Gaes/ g muestra desengrasada en TP, dicho valor se encuentra en el rango obtenido en el presente estudio (10,02-18,15 mg Gaes/g muestra desengrasada).

Se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($p \leq 0,05$) entre C1 y C2 para la capacidad antioxidante obtenida por ABTS (Tabla 1). En la Figura 1.B se observa una disminución progresiva para las

muestras obtenidas entre t1-t3 en C2, esto se debe al efecto de la temperatura a medida que transcurre el tiempo de proceso. En la muestra t4 se presenta un aumento en la CA, esto puede ocurrir por modificaciones estructurales tales como la epimerización de los monómeros de flavan-3-oles causadas por el tratamiento térmico el cual acelera dicha reacción. Dicho comportamiento se observó en un estudio realizado en chocolate negro donde se encontró que un proceso de conchado seco entre 50-70°C y conchado húmedo entre 60-90°C no tienen efecto negativo en la actividad antioxidante del chocolate, por el contrario, la conserva o incluso lo aumenta en comparación con la actividad antioxidante justo antes del proceso de conchado (t = 0) bajo dichos parámetros (Bram y otros 2011).

Algunos estudios han demostrado la presencia de cuatro compuestos: La (-) - epicatequina da lugar a la (-) - catequina y a partir de (+) - catequina puede generarse (+) - epicatequina, lo cual tiene influencia en el aumento de la CA (Kothe y otros 2013). En un estudio realizado en chocolate amargo o licor de cacao puro (Perea-Villamil y otros 2009), se observaron valores similares a los obtenidos en este trabajo, para la capacidad antioxidante obtenida mediante ABTS, 270,11 $\mu\text{mol TE/ g}$ muestra desengrasada, seguido del chocolate de mesa con azúcar con 129,70 $\mu\text{mol TE/ g}$ muestra desengrasada. Dichos valores referenciados son similares a los

obtenidos en este estudio (80,01-258,66 $\mu\text{mol TE/ g}$ muestra desengrasada). Es importante tener en cuenta que dichos valores son obtenidos en un producto en proceso y que se parte de formulaciones diferentes.

Se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($p \leq 0,05$) entre C1 y C2 para la capacidad antioxidante obtenida por FRAP (Tabla 1). En la Figura 1.C se observa una disminución progresiva para C1, pero en el caso de C2 se observa mayor variabilidad entre t1-t3. Dicho comportamiento puede deberse a que el método FRAP mide el potencial reductor de un antioxidante al reaccionar con un complejo (Fe^{3+} -TPTZ) y la producción de (Fe^{2+} -TPTZ). En general, las propiedades reductoras están asociados con la presencia de compuestos, que ejercen su acción mediante la ruptura de la cadena de los radicales libres a través de la donación de un átomo de hidrógeno, dicha reducción se da un pH bajo, lo que hace que este método presente mayor sensibilidad al momento de la cuantificación, debido a que el chocolate presenta un pH alrededor de 5,5 (Othman y otros 2007).

Actualmente hay pocas investigaciones enfocadas en la etapa de conchado. En el estudio realizado por Di Mattia y otros (2014), se observó un rango de valores entre 250 – 400 $\mu\text{mol TE/ g}$ muestra desengrasada para la metodología FRAP. En un estudio realizado en la etapa de conchado (Perea-Villamil y otros 2009) se observaron valores similares a los encontrados en la metodología FRAP, para chocolate

amargo o licor de cacao puro con 260,29 $\mu\text{mol TE/g}$ muestra desengrasada, seguido de 104,05 $\mu\text{mol TE/g}$ muestra desengrasada para chocolate de mesa con azúcar. Dichos valores son acordes a los del presente estudio los cuales están entre 75,29-175,62 $\mu\text{mol TE/g}$ muestra desengrasada. Como puede observarse en general la capacidad antioxidante y a su vez el contenido de polifenoles se ve afectado por procesos donde hay combinación de tiempo y temperatura (Perea-Villamil y otros 2009).

b. Análisis Flavan-3-oles (catequina y epicatequina) y Xantinas (teobromina y cafeína)

En la Figura 2 se presentan los resultados obtenidos para (+)-catequina y (-)-epicatequina en C1 y

C2. En la Figura 3 se observa la relación obtenida para teobromina/cafeína en las muestras tomadas en cada tiempo (t0-t4). Se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($p \leq 0,05$) entre los tratamientos C1 y C2 para catequina (Tabla 2). En la Figura 2.A se observa una mayor disminución en el contenido de catequina en C2, lo que evidencia al igual que en la capacidad antioxidante el efecto de la temperatura (60°C) que tiene una influencia en el contenido de catequina presente en la cobertura de chocolate semi amargo evaluada. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($p \geq 0,05$) entre las muestras (t0-t4) en C1 y C2 (Tabla 2). El mismo comportamiento se observó para epicatequina donde se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($p \leq 0,05$) entre los tratamientos de C1 y C2, pero no se encontró diferencias estadísticamente significativas ($p \geq 0,05$) entre las muestras (t0-t4) (Tabla 2).

Tabla 2. Valores p del análisis multifactorial para catequina y epicatequina.

	<i>p-value</i>	
	CONCHA (C1-C2)	MUESTRA (t0-t4)
CATEQUINA	0,0000*	0,1798
EPICATEQUINA	0,0000*	0,2044

El símbolo (*) en una fila indica diferencias significativas ($p \leq 0,05$) entre tratamientos (C1 y C2) y entre muestras (t0-t4)

Se observó que las muestras (t0-t4) pertenecientes a C1 no sufrieron reducciones significativas en el contenido de flavan-3-oles mientras que en las muestras pertenecientes a C2 se presentó una variación mayor en el contenido de estos, teniendo en cuenta que no se dieron diferencias

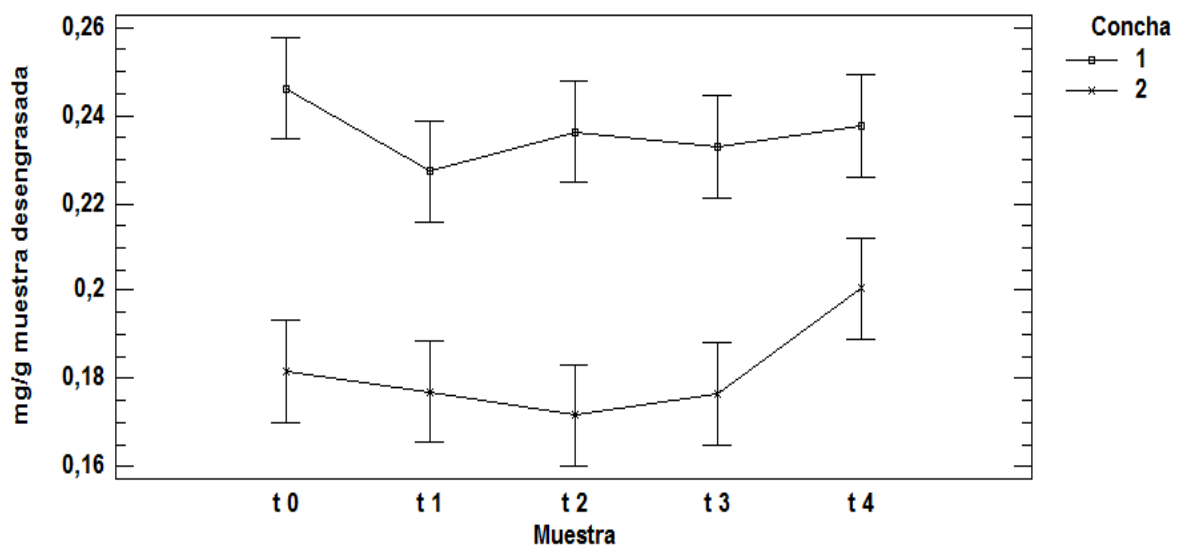
estadísticamente significativas entre las muestras evaluadas. El estudio realizado por Di Mattia y otros (2014) reportó que la actividad antioxidante y la concentración de polifenoles del chocolate se redujeron significativamente por el efecto de la temperatura de conchado. En el estudio

realizado por Ioannone y otros (2015) se observó que la proporción epicatequina/catequina, ha sido propuesta como un indicador útil en el procesamiento de los granos de cacao, en este estudio se encontró que disminuyó durante el tiempo de tostado,

lo que sugiere que la degradación de la epicatequina es más rápida que la de la catequina, posiblemente debido a isomerización de (-)- epicatequina a (+) catequina.

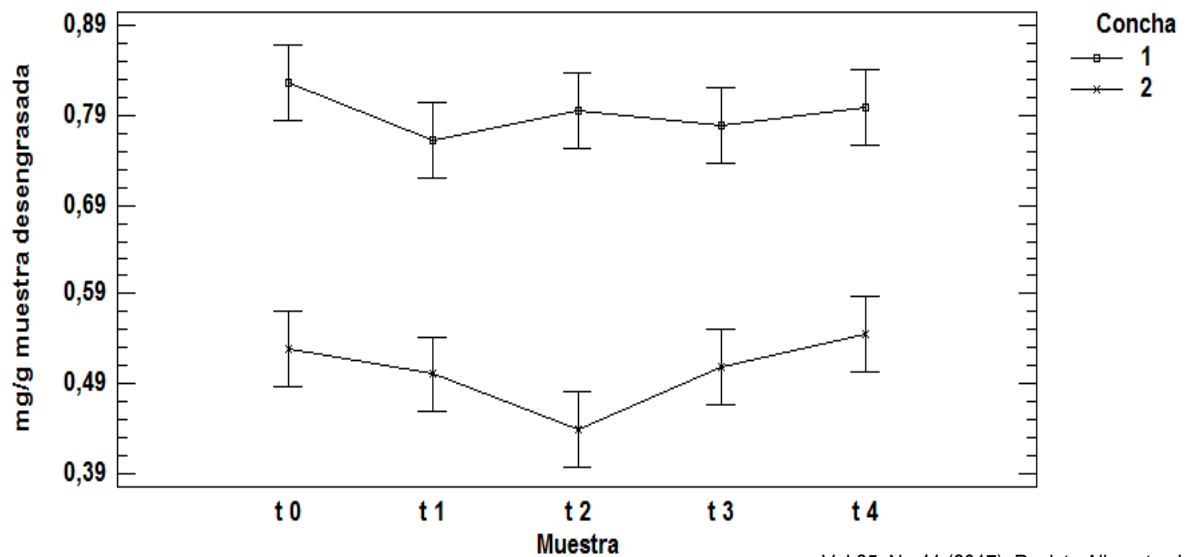
A

CATEQUINA

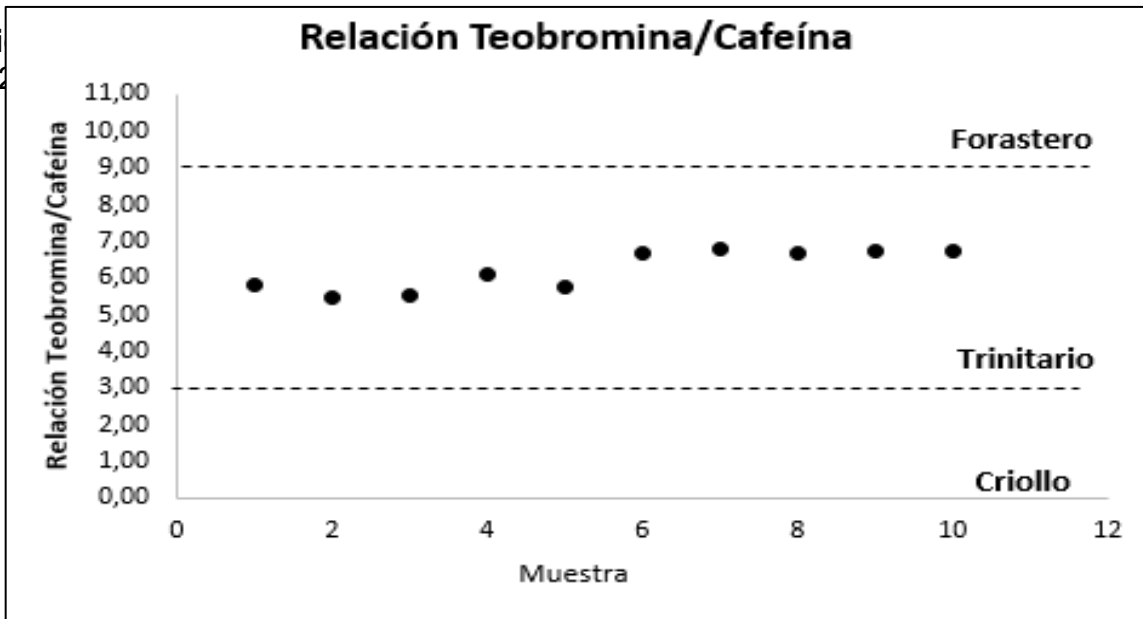


EPICATEQUINA

B



Fi
C2



1 y

Figura 3. Relación Teobromina/cafeína en las muestras (t0-t4).

La actividad antioxidante del cacao y el chocolate se ha demostrado que se correlaciona con los contenidos de catequina, epicatequina y procianidina según resultados encontrados (Todorovic y otros 2015). En chocolate negro con un porcentaje de cocoa entre 65-75%, se han encontrado valores de catequina entre 0,057-0,183 (mg/g), epicatequina 0,181-0,263 (mg/g), polifenoles entre 7,21-12,05 mg Gaes/g (Todorovic y otros 2015), los cuales son acordes a los obtenidos en el presente estudio. Para la etapa de conchado se encontraron valores de catequina entre 0,13-0,29 (mg/g muestra

desengrasada), epicatequina 0,33-0,95 (mg/g muestra desengrasada) y un contenido de polifenoles entre 10,02-18-15 (mg Gaes/g muestra desengrasada). En el estudio realizado por Cadena and Herrera (2008), se observaron valores para catequina de 0,08 (mg/g muestra desengrasada) y de epicatequina de 0,44 (mg/g muestra desengrasada), lo cuales son cercanos a los obtenidos en el presente estudio, teniendo en cuenta que dichos valores son en producto terminado, y los del presente estudio son datos de producto en proceso (Cadena and Herrera. Dichos valores obtenidos en este estudio son mayores a los encontrados

en las investigaciones referenciadas, pero se debe tener presente que el producto final ha pasado además del conchado por un proceso de atemperado. En dicho proceso se dan cambios de temperatura del producto los cuales podrían afectar su contenido de polifenoles.

Los valores encontrados para teobromina y cafeína presentaron diferencias estadísticamente significativas ($p \geq 0,05$) para la mayor parte de las muestras (t0-t4). En la investigación realizada por Alañón y otros (2016), se postuló a la teobromina como un indicador de cantidad de polifenoles y antioxidantes, dicha afirmación no presentó relación al concluir el estudio, de igual manera se presenta el mismo comportamiento en la presente investigación. Se observaron coeficientes de correlación de Pearson para catequina ($r = 0,2589, 0,3385$) y epicatequina ($r = 0,4070, 0,4447$) con ($p \leq 0,05$) para cada uno de los métodos ABTS y FRAP respectivamente. Dichas correlaciones son similares a las obtenidas por Alañón y otros (2016) con catequina ($r = 0,25$). En el caso de la cafeína, se observó una correlación y a su vez una diferencia significativa ($p \leq 0,05$) con ($r = 0,6056, 0,5016, 0,7616$) para catequina, epicatequina y teobromina, respectivamente, la cual muestra correlaciones más altas para la cafeína con respecto a las variables de estudio.

c. Análisis de procianidina.

En la Figura 4 se presentan los resultados obtenidos de procianidina en la muestra (t2) de cada lote en estudio. Se analizó el efecto de la procianidina en C1 y C2 a la muestra (t2) donde se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($p \leq 0,05$). En el estudio realizado por Di Mattia y otros (2014), se observaron diferencias en la composición de procianidina: Las muestras producidas por STC (proceso corto: 7h, 6 de ellas a 90°C y 1h a 60°C) se caracterizaron por una mayor cantidad de monómeros, en comparación con los resultados obtenidos para las muestras provenientes del proceso LTC (proceso largo: 12 horas a temperatura constante 60°C), a su vez, se observó mayor polimerización para LTC, lo cual se confirma por la presencia de polímeros DP10. Al aplicar tratamientos térmicos durante el proceso, los polifenoles pueden someterse a reacciones de condensación, por tanto es probable que el proceso LTC, llevado a cabo durante tiempos más largos a la temperatura más baja, permite una mayor solubilización del oxígeno y por lo tanto una mayor ocurrencia de reacciones de condensación. Para el proceso STC se favorecieron las reacciones hidrolíticas, lo cual dió lugar a la mayor concentración de monómeros (Di Mattia y otros 2014). Con relación al estudio referenciado se observó un comportamiento similar en esta investigación. En las diferentes muestras sometidas a estudio por Di Mattia y otros (2014) se observó que el

DP1 representaba la mayor fracción de procianidina, a su vez se encontró que las fracciones de DP1-DP3, se consideran como las más biodisponibles para ser absorbidos por el organismo, las cuales representaban aproximadamente el 70% del contenido total de procianidina. Dichos resultados son acordes a los obtenidos en este estudio, dado a que al realizar la

relación de la suma de DP1 a DP3, respecto al total de procianidina se encontró el mismo porcentaje en las muestras de estudio para la cobertura de chocolate semi amargo, adicionalmente se observó una diferencia en la muestra (t2) perteneciente al lote 6 con un porcentaje de 83,6%.

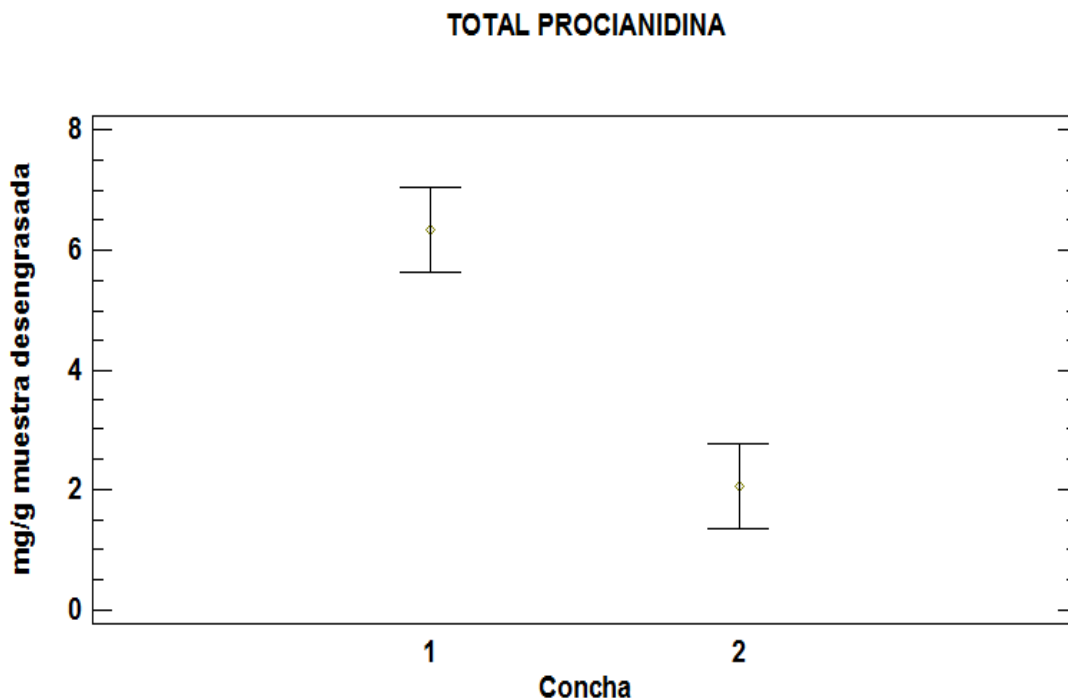


Figura 4. Diferencias estadísticamente significativas ($p \leq 0,05$) entre C1 y C2.

d. Análisis sensorial

De acuerdo a las pruebas realizadas con el panel de expertos no se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($p \geq 0,05$) en las pruebas discriminativas y comparativas aplicadas. El contenido de polifenoles es una variable que puede afectar el perfil sensorial del chocolate ya que está relacionado con propiedades organolépticas de la semilla como astringencia, aroma, acidez, amargor y presencia de alcaloides como la teobromina (Cadena and Herrera 2008). De acuerdo a los resultados obtenidos para TP se observaron diferencias estadísticas ($p \leq 0,05$) en C1 y C2.

e. Análisis de componentes principales (PCA)

En la Figura 5 se presenta el análisis de componentes principales para cada una de las variables de estudio en las muestras (t0-t4) en C1 y C2. En este estudio, se obtuvieron dos componentes principales (PCs) que explican el 71,83 % de la varianza total. En la Figura 5 se observa el gráfico (PC2 vs PC1) de las muestras de cobertura de chocolate semi amargo y sus variables de estudio. PC1 explica el 43,34% de la varianza total, la cual tiene influencia en los parámetros de

FRAP, TP, ABTS, epicatequina, catequina y en menor medida con cafeína. Además existe una correlación positiva y significativa entre ABTS, FRAP, TP, catequina y epicatequina, lo que implica una relación entre la actividad antioxidante, contenido de polifenoles y los flavan-3-oles. El PC2 explica 28,49% de la varianza en este componente, que se caracteriza principalmente por el contenido de teobromina (Figura 5); por lo tanto, de acuerdo con este análisis, teobromina, posiblemente, no está relacionada directamente con la capacidad antioxidante.

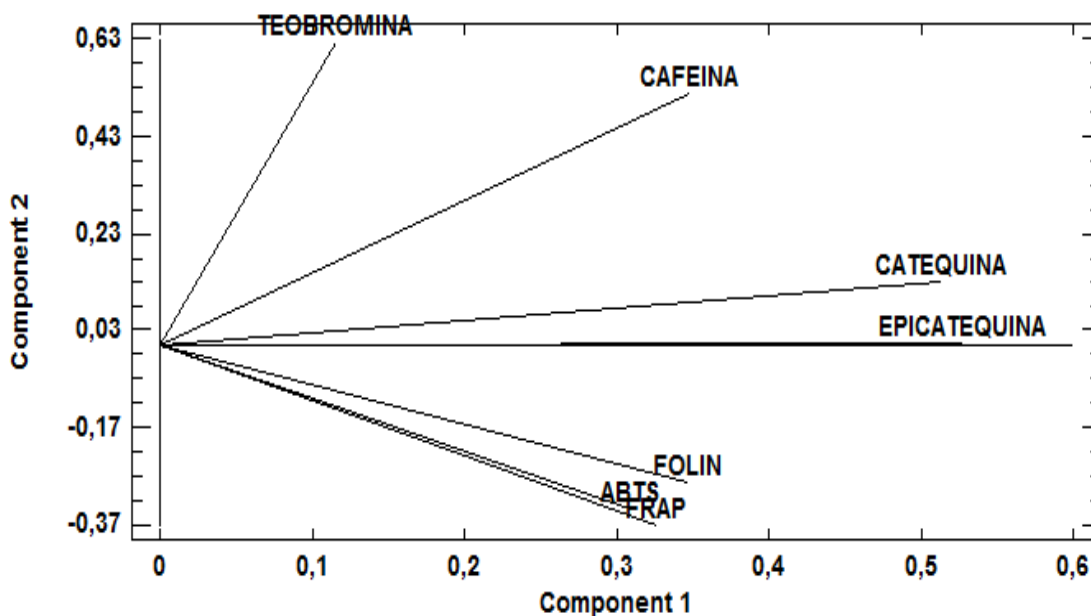


Figura 5. Análisis de componentes principales en la cobertura de chocolate semi amargo.

IV. CONCLUSIONES Y/O RECOMENDACIONES.

Con este trabajo se evidenció que la temperatura del proceso de conchado es una variable que incide en el contenido de polifenoles y directamente en la capacidad antioxidante de la cobertura de chocolate semi amargo generando una disminución a condiciones térmicas elevadas. Los principales efectos sobre la reducción de polifenoles y capacidad antioxidante dados durante el conchado se presentaron a temperatura de 60 °C.

A condiciones de temperatura de 45°C no se presentó un efecto significativo sobre la capacidad antioxidante del producto. Además, de acuerdo con la evaluación sensorial obtenida, se encontró que a pesar de la reducción encontrada en la capacidad antioxidante a 60 °C, en ninguno de los tratamientos evaluados (60°C y 45°C) se presentan diferencias sensorialmente perceptibles.

Los resultados obtenidos permiten entender los cambios que sufren los polifenoles y la capacidad antioxidante del cacao bajo las condiciones de temperatura del proceso de conchado. Se recomienda evaluar el efecto de otras variables presentes en esta etapa, tales como: pH, tiempo y condiciones iniciales de estas variables en la materia prima, ya que los cambios mencionados en dichos factores pueden verse reflejados en los resultados obtenidos con los diferentes métodos empleados para la validación de capacidad antioxidante.

Es importante resaltar que las metodologías presentadas en esta investigación, aunque son reportadas en diferentes estudios similares, estas son necesarias de ser ajustadas a las matices de estudio ya que cada una de ellas difieren en cuanto tecnologías de proceso y formulación. Adicionalmente, los resultados obtenidos en este estudio se realizaron bajo las condiciones de proceso actuales de Compañía Nacional de Chocolates y no a escala piloto.

Este trabajo representa la posibilidad de presentar una metodología de caracterización que permita identificar en diferentes etapas del proceso cuál es el comportamiento de los compuestos más importantes desde el punto de vista nutricional del cacao, con fines de establecer las cantidades mínimas presentes en los productos para establecer alternativas de proceso y formulación que permitan la conservación de los antioxidantes con el fin de buscar alternativas que a futuro permitan realizar declaraciones asociadas a los beneficios nutricionales del cacao.

De acuerdo con las reacciones de epimerización y condensación que se dan en los polifenoles cuando estos son sometidos a procesos que involucran tiempo y temperatura como el conchado, se hace necesario hacer un estudio más detallado de la configuración estereoquímica y la cuantificación de los mismos, dado a que estos pueden tener influencia en la

capacidad antioxidante y el contenido de polifenoles.

Referencias bibliográficas.

Afoakwa OE, Paterson A, Fowler M. 2007. "Factors Influencing Rheological and Textural Qualities in Chocolate - a Review." *Trends in Food Science and Technology* 18(6): 290–98.

Alañón ME, Castle SM, Siswanto PJ, Cifuentes-Gómez T, Spencer JPE. 2016. "Assessment of Flavanol Stereoisomers and Caffeine and Theobromine Content in Commercial Chocolates." *Food Chemistry* 208: 177–84.

<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S030881461630499X>.

Azizah O, Amin I, Nawalyah AG, Ilham A. 2007. "Antioxidant Capacity and Phenolic Content of Cocoa Beans." *Food Chemistry* 100(4): 1523–30.

Beheydt B, Ouwerx C, Collin C, Deledicque C, Nguyen F. 2011. "Method to Increase the Antioxidant Activity of Chocolate." Patente US20110059223A1

Belščak A, Komes D, Horžić D, Kovačević K, Karlović D. 2009. "Comparative Study of Commercially Available Cocoa Products in Terms of Their Bioactive Composition." *Food Research International* 42: 707–16.

Cadena T, Herrera Y. 2008. "Evaluación Del Efecto Del Procesamiento Del Cacao Sobre El

Contenido de Polifenoles Y Su Capacidad Antioxidante." <http://tangara.uis.edu.co/biblioweb/tesis/2008/128865.pdf>.

Carrillo LC, Londoño-Londoño J, Gil A. 2014. "Comparison of Polyphenol, Methylxanthines and Antioxidant Activity in Theobroma Cacao Beans from Different Cocoa-Growing Areas in Colombia." *FRIN* 60: 273–80. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2013.06.019>.

Conacyt. 2009. "Chocolate: Alimento Y Medicina." <http://www.cyd.conacyt.gob.mx/233/Articulos/Elchocolate/Elchocolate4.html>.

Contreras-Calderón J, Mejía-Díaz D, Martínez-Castaño M, Bedoya-Ramírez D, 2016. "Evaluation of Antioxidant Capacity in Coffees Marketed in Colombia: Relationship with the Extent of Non-Enzymatic Browning." *Food Chemistry* 209: 162–70.

<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0308814616305568>.

Di Mattia Ca, Martuscelli M, Sacchetti G, Beheydt B, Mastrocola D. 2014. "Effect of Different Conching Processes on Procyanidin Content and Antioxidant Properties of Chocolate." *Food Research International* 63: 367–72.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2014.04.009>.

Giacommetti J, Muhvic DG, Pavletic A, Dudaric L. 2016. "Cocoa Polyphenols Exhibit Antioxidant, Anti-

Inflammatory, Anticancerogenic, and Anti-Necrotic Activity in Carbon Tetrachloride-Intoxicated Mice.” *Journal of Functional Foods* 23: 177–87.

Gil JA. 2012. “Extracción Y Actividad Antioxidante de Catequinas Presentes En Cacaos Colombianos Durante Los Procesos de Pre-Industrialización.” Universidad de Antioquia: 119. [http://tesis.udea.edu.co/dspace/bitstream/10495/1621/1/TESIS Jorge Andres Gil FINAL.pdf](http://tesis.udea.edu.co/dspace/bitstream/10495/1621/1/TESIS%20Jorge%20Andres%20Gil%20FINAL.pdf).

Icontec. 1997. “NTC 4130: Análisis Sensorial. Guía General Para La Selección, Entrenamiento Y Seguimiento de evaluadores. Parte :2. Expertos.”

Icontec. 2006. “NTC 2681: Análisis Sensorial. Metodología. Prueba Triangular.”

Icontec. 2014. “NTC 4129: Análisis Sensorial. Guía General Para La Selección, Entrenamiento Y Seguimiento de evaluadores. Parte :1. Evaluadores Seleccionados.”

Ioannone F, Di Mattia CD, De Gregorio M, Sergi M, Serafini M, Sacchetti G. 2015. “Flavanols, Proanthocyanidins and Antioxidant Activity Changes during Cocoa (*Theobroma Cacao* L.) Roasting as Affected by Temperature and Time of Processing.” *Food Chemistry* 174: 256–62.

ISO 4120:2004. 2004. “NTC 2680: Prueba de Comparación Pareada.”

Kothe L, Zimmermann BF, Galensa R. 2013. “Temperature Influences Epimerization and Composition of Flavanol Monomers, Dimers and Trimers during Cocoa Bean Roasting.” *Food Chemistry* 141(4): 3656–63. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.06.049>.

Montanari-OPM, Carle. 2016. “Carle Y Montanari-OPM.” En <http://www.cm-opm.com/>

Perea-Villamil J, Cadena-Cala T, Herrera-Ardila J. 2009. “El Cacao y sus productos como fuente de antioxidantes: Efecto del procesamiento.” *Salud UIS* 41: 128–34.

Robbins R, Leonczak J, Li J, Johnson C, Collins T. 2012. “Determination of Flavonol and Procyanidin (by Degree of Polymerization 1-10) Content of Chocolate, Cocoa Liquors, Powder(s), and Cocoa Flavonol Extracts by Normal Phase High- Performance Liquid Chromatography: Collaborative Study.” *Journal AOAC international* 95: 1–9.

Rover MR, Brown RC. 2013. “Quantification of Total Phenols in Bio-Oil Using the Folin-Ciocalteu Method.” *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis* 104: 366–71. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jaap.2013.06.011>.

Tanquina IM. 2013. "Efecto de la especie y el procesamiento sobre el contenido de compuestos y propiedades antioxidantes del maíz (zea mays l.) negro, frejol (phaseolus vulgaris l.) negro, sangorache (amaranthus quitensis l.) y variedades de papas nativas." *Journal of Chemical Information and Modeling* 53(9): 1689–99.

Tobergte DR, Curtis S. 2013. "Segmentation and Customer Insight in Contemporary ServicesMarketing Practice: Why Grouping Customers Is No Longer Enough" *Journal of Chemical Information and Modeling* 53(9): 1689–99.

Todorovic V, Radojic I, Todorovic Z, Jankovic G, Dodevska M, Sobajic S. 2015. "Polyphenols, Methylxanthines, and Antioxidant Capacity of Chocolates Produced in Serbia." *Journal of Food Composition and Analysis* 41: 137–43. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jfca.2015.01.018>.

Tsanova-Savova S, Ribarova F, Gerova M. 2005. "(+)-Catechin and (-)-Epicatechin in Bulgarian Fruits." *Journal and food composition and analysis* 18: 691–98.

Yaxi H; Pan P, Wen L, Jiaqi L, Gruget P, Kitts D, Xiaonan L. 2016. "Determination of Antioxidant Capacity and Phenolic Content of Chocolate by Attenuated Total Reflectance-Fourier Transformed-Infrared Spectroscopy." *Food Chemistry* 202: 254–61.

<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0308814616301303>.

Żyżelewicz D, Krysiak W, Oracz J, Sosnowska D, Budryn G, Nebesny E. 2016. "The Influence of the Roasting Process Conditions on the Polyphenol Content in Cocoa Beans, Nibs and Chocolates." *Food Research International*.

<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0963996916301028>.