



**EFFECTO DE LA TEMPERATURA SOBRE EL CONTENIDO DE ANTIOXIDANTES
EN UN CHOCOLATE BLANCO CON POLIFENOLES**

CARLOS IVÁN DUQUE ACEVEDO

Directores

MSc. LUZ ALBA CABALLERO PÉREZ

PhD. MARIA ESTHER RIVERA

UNIVERSIDAD DE PAMPLONA

VICERRECTORÍA DE INVESTIGACIONES

FACULTAD DE INGENIERÍAS Y ARQUITECTURA

MAESTRÍA EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE LOS ALIMENTOS

PAMPLONA

2020

**EFFECTO DE LA TEMPERATURA SOBRE EL CONTENIDO DE ANTIOXIDANTES
EN UN CHOCOLATE BLANCO CON POLIFENOLES.**

CARLOS IVÁN DUQUE ACEVEDO

88.158.539

Trabajo presentado para optar el título de Master en Ciencia y Tecnología de Alimentos

Directores

MSc. LUZ ALBA CABALLERO PÉREZ

PhD. MARIA ESTHER RIVERA

Línea de Investigación: Calidad e Inocuidad de Alimentos

Grupo de Investigación GIBA

UNIVERSIDAD DE PAMPLONA

FACULTAD DE INGENIERÍAS Y ARQUITECTURA

MAESTRÍA EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE LOS ALIMENTOS

PAMPLONA

2020

Nota de aceptación

Presidente del Jurado

Jurado

Jurado

Pamplona, Junio 25 de 2020.

Dedicatoria

A mi madre, por ser siempre mi apoyo y compañía.

Y en memoria de mis abuelos, Norberta y Luis Francisco Acevedo.

Agradecimientos

El autor expresa su gratitud primero a Dios quien le permitió iniciar este proyecto profesional, quien le ha dado la fortaleza para continuar con esta meta, también agradece a todas las personas que aportaron su apoyo y conocimiento para cumplir esta inspiración.

A la Magister Luz Alba Caballero Pérez y Dra. María Esther Rivera, directoras del proyecto por su aporte, direccionamiento, tiempo, disposición, colaboración y conocimientos brindados durante el desarrollo de esta investigación, porque sin su ayuda no hubiese sido posible dar feliz término a esta investigación.

Al ingeniero Leonardo Hernández Silva por la disposición y confianza en este proyecto.

A Laura Cristina por su paciencia, dedicación y constante apoyo y a todas aquellas personas que de alguna manera incidieron con su apoyo moral, pedagógico y técnico para la realización de este proyecto.

La realización de esta tesis fue posible gracias a la disposición de los laboratorios del Centro de Atención al Sector Agropecuario, del SENA en Piedecuesta, Santander.

A todos muchas gracias.

Tabla de Contenido

	Pág.
RESUMEN.....	12
1. MARCO REFERENCIAL	13
1.1. ESTADO DEL ARTE.....	13
1.2. EL CACAO (<i>THEOBROMA CACAO L.</i>).....	17
1.2.1. Beneficio del grano de cacao.	21
1.2.2. Proceso de preindustrialización del cacao.	22
1.2.3. Métodos de extracción y determinación de fenoles	24
1.2.4. Proceso de industrialización de cacao: efecto sobre el contenido de polifenoles.	26
1.3. PRODUCTOS DE LA INDUSTRIA DEL CHOCOLATE	30
1.3.1. Calidad microbiológica de coberturas de chocolates	32
1.3.2. Calidad sensorial de las coberturas de chocolate.	33
1.4. CONTENIDO DE POLIFENOLES EN EL CHOCOLATE	35
1.4.1. Polifenol oxidasa (PPO)	36
1.4.2. Los polifenoles presentes en el cacao (<i>Theobroma cacao L.</i>) y almendra de cacao	37
1.4.3. Características de la estructura de los compuestos polifenólicos	38
1.5. NORMATIVIDAD	40
2. OBJETIVOS.....	44
2.1. OBJETIVO GENERAL	44
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	44
3. PLAN DE TRABAJO	45
4. MATERIALES Y MÉTODOS.....	49
4.1. MATERIAS PRIMAS	49
4.2. MATERIALES	50
4.3. MÉTODOS.....	51
4.3.1. Elaboración de un chocolate blanco con polifenoles extraídos de la variedad de Cacao (<i>Theobroma cacao L.</i>) FSV 41.....	51

4.3.2.	Evaluación del color, características químicas y microbiológicas del chocolate blanco.	54
4.3.3.	Evaluación sensorial del chocolate blanco, con adición de polifenoles de cacao (<i>Theobroma cacao</i> L.) FSV 41	56
4.3.4.	Análisis del efecto de la temperatura y el tiempo de exposición en el desarrollo de un chocolate blanco con polifenoles.	57
4.4.	ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE DATOS.	57
5.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.	58
5.1.	CHOCOLATE BLANCO CON POLIFENOLES EXTRAÍDOS DE LA VARIEDAD DE CACAO (<i>THEOBROMA CACAO</i> L.) FSV 41.	58
5.1.1.	Determinación del contenido de polifenoles totales de los extractos etanólicos de la variedad de cacao (<i>Theobroma cacao</i> L.) FSV 41	58
5.1.2.	Contenido de polifenoles en las materias primas	58
5.1.3.	Contenido de polifenoles totales en muestras de chocolate blanco con extractos etanólicos	60
5.1.4.	Resultados del balance de materia.	62
5.2.	RESULTADOS DE LA EVALUACIÓN DEL COLOR, CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS Y MICROBIOLÓGICAS DE UN CHOCOLATE BLANCO.	62
5.2.1.	Resultados de la evaluación del color de un chocolate blanco desarrollado.	62
5.2.2.	Resultados de las características químicas de chocolates blancos	66
5.2.3.	Resultados de los análisis microbiológicos de los tratamientos.	67
5.3.	EVALUACIÓN SENSORIAL DEL CHOCOLATE BLANCO.	68
5.3.1.	Prueba de umbral de detección – discriminativa.....	69
5.3.2.	Prueba de perfil de sabor – descriptiva.	71
5.3.3.	Prueba análisis cuantitativo – descriptiva.....	74
5.3.4.	Prueba escala hedónica verbal – afectiva.....	77
5.4.	EFFECTO DE LA TEMPERATURA Y EL TIEMPO DE EXPOSICION SOBRE EL CONTENIDO DE POLIFENOLES ADICIONADOS.	79
6.	CONCLUSIONES.....	84
7.	RECOMENDACIONES.....	87
8.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	88
9.	ANEXOS.....	100

Lista de Tablas

	Pág.
Tabla 1. Composición química del grano de cacao FSV 41.	21
Tabla 2. Componentes del chocolate blanco.....	31
Tabla 3. Requisitos microbiológicos para el chocolate de mesa, chocolates, coberturas y los sucedáneos para consumo directo.....	32
Tabla 4. Contenido polifenólico en semillas de cacao.....	37
Tabla 5. Principales compuestos polifenólicos del cacao.....	38
Tabla 6. Antioxidantes que se pueden utilizar en alimentos.....	41
Tabla 7. Requisitos fisicoquímicos para chocolate de consumo directo de chocolate blanco.....	42
Tabla 8. Formulación patrón para elaborar un chocolate blanco con polifenoles.....	45
Tabla 9. Evaluación de color para chocolate blanco.....	54
Tabla 10. Evaluación de características químicas de chocolate blanco con polifenoles.....	55
Tabla 11. Evaluación de características microbiológicas de un chocolate blanco con polifenoles.	55
Tabla 12. Evaluación de características sensoriales de un chocolate blanco con polifenoles.....	56
Tabla 13. Resultado del contenido total de polifenoles en las materias primas y en los chocolates comerciales.....	59
Tabla 14. Cantidad agregada de polifenoles en la matriz de chocolate blanco, por tratamiento..	60
Tabla 15. Resultado contenido de los componentes de los grupos de polifenoles en los 4 tratamientos.....	61
Tabla 16. Composición química de las muestras de un chocolate blanco con adición de polifenoles.	66
Tabla 17. Resultados del análisis microbiológico del chocolate blanco con polifenoles.....	67
Tabla 18. Determinación del umbral, panel entrenado en catación de licor de cacao y coberturas de chocolate.....	69
Tabla 19. Análisis de varianza de la Temperatura en los tratamientos aplicados.....	82

Lista de figuras

	Pág.
Figura 1. Frutos de cacao (<i>Theobroma cacao</i> L.) de 4 a 5 meses de edad, cortados longitudinalmente. Fuente: Fedecacao (2013).....	19
Figura 2. Perfil sensorial FSV 41. Fuente: Fedecacao-UIS (2013).	34
Figura 3. Flujograma del proceso de elaboración de cobertura de chocolate.....	46
Figura 4. Flujograma de fabricación de chocolate blanco. Fuente: Fórmulas estandarizadas del SENA.	53
Figura 5. Proceso de refinado y mezclado para un chocolate blanco.	62
Figura 6. Cambio de color incididos por la adición de los 4 tratamientos.....	63
Figura 7. Resultados del diagrama de cajas y bigotes para el parámetro de luminosidad en los 4 tratamientos.....	63
Figura 8. Resultados del diagrama de cajas y bigotes para el parámetro de a*= coordenadas rojo/verde en los 4 tratamientos.	64
Figura 9. Resultados de Caja de bigotes b*= coordenadas amarillo/azul en los 4 tratamientos...	65
Figura 10. Representación gráfica del color de un chocolate blanco con polifenoles adicionados para los 4 tratamientos.	65
Figura 11. Análisis sensorial de los 4 tratamientos.....	68
Figura 12. Resultado determinación de umbral del panel entrenado en catación de licor de cacao y coberturas de chocolate.....	71
Figura 13. Resultados del perfil de sabor de un chocolate blanco sin adición de polifenoles (T 1).	72

Figura 14. Resultados del perfil de sabor de un chocolate blanco sin adición de polifenoles (T 2).	73
Figura 15. Resultados del perfil de sabor de un chocolate blanco sin adición de polifenoles (T 3).	73
Figura 16. Resultados del perfil de sabor de un chocolate blanco sin adición de polifenoles (T 4).	74
Figura 17. Atributo de sabor de un chocolate blanco con polifenoles para los 4 tratamientos. ...	75
Figura 18. Atributo de textura de un chocolate blanco con polifenoles para los 4 tratamientos. .	76
Figura 19. Atributo de Aroma de un chocolate blanco con polifenoles para los 4 tratamientos. .	77
Figura 20. Resultados prueba escala hedónica verbal – afectiva de un chocolate blanco con polifenoles para los 4 tratamientos.	78
Figura 21. Efecto de la temperatura y el tiempo de exposición sobre el contenido de polifenoles en el tratamiento 1.....	80
Figura 22. Efecto de la temperatura y el tiempo de exposición sobre el contenido de polifenoles en el tratamiento 2.	80
Figura 23. Efecto de la temperatura y el tiempo de exposición sobre el contenido de polifenoles en el tratamiento 3	81
Figura 24. Efecto de la temperatura y el tiempo de exposición sobre el contenido de polifenoles en el tratamiento 4.	82
Figura 25. Efecto del tiempo de exposición sobre el contenido de polifenoles.....	83

Lista de Anexos

	Pág.
Anexo A. Proceso de elaboración del chocolate blanco	100
Anexo B. Procedimiento de elaboración del chocolate blanco	103
Anexo C. Medición del color.....	104
Anexo D. Prueba de umbral de detección – discriminativa.....	105
Anexo E. Formato perfil de sabor – descriptiva	106
Anexo F. Prueba de análisis cuantitativo - descriptiva.....	107
Anexo G. Prueba escala hedónica verbal – afectiva.....	108
Anexo H. Resultados análisis a las marcas comerciales – Laboratorio de Alimentos CICTA- UIS	109
Anexo I. Resultados análisis de materia prima – Laboratorio de Alimentos CICTA- UIS.....	113
Anexo J. Resultados pruebas químicas a los tratamientos – Laboratorio de Alimentos CICTA- UIS	117
Anexo K. Balance materia de la elaboración de un chocolate blanco	125

RESUMEN

Los polifenoles son sustancias químicas presentes en los granos de cacao (*Theobroma cacao* L.) uno de sus atributos es la capacidad antioxidante asociada al contenido de polifenoles. El objetivo de la presente investigación fue evaluar el efecto de la temperatura y tiempo de exposición sobre el contenido de antioxidantes en el desarrollo de un chocolate blanco con polifenoles, utilizando extractos obtenidos de la variedad FVS 41, adquiridos en el Laboratorio del Centro de Investigación en Ciencias y Tecnología de Alimentos, Universidad Industrial de Santander (UIS); la formulación y evaluación se realizaron en los laboratorios del Centro de Atención al Sector Agropecuario y en la Escuela Latinoamericana de Chocolatería. Se trabajaron las formulaciones bajo los lineamientos de la Resolución 1511 de 2011 y el CODEX STAN 87-1981, Rev.1-2003, añadir los polifenoles (T1: 0%; T2: 0.1%, T3: 0.3% y T4: 0.8%). Se determinó el efecto de la temperatura (40 a 50 ± 1 °C) y el tiempo de exposición (5, 10 y 15 min.) sobre el contenido de polifenoles adicionados en el mezclado – refinado, empleando la refinadora de bolas (Wafa 20). Se partió de una base de cálculo de 5 Kg, estandarizando la elaboración del chocolate blanco, para obtener 4 baches de cobertura por triplicado, de los cuales se tomaron aleatoriamente muestras de 100 gramos para evaluar las características fisicoquímicas y microbiológicas según Resolución 1511 de 2011 y NTC 792 de 2008. Para la determinación del contenido de polifenoles totales final se empleó el método Folin - Ciocalteu (F-C). De igual manera, se evaluaron sensorialmente las barras de chocolate blanco elaboradas donde participaron panelistas y consumidores, aplicando pruebas discriminativas, descriptivas y afectivas respectivamente. El análisis de resultados mostró que no existen diferencias estadísticamente significativas entre la temperatura y tiempo de exposición a un nivel de significancia de 0.05. Además, se observó que la mayor reducción de polifenoles durante el proceso de refinado y mezclado ocurrió en el tratamiento 4, con temperaturas de 45 a 50 ± 1 °C. Así mismo, la variación natural del proceso fue estadísticamente aceptable. Por último, se concluye que el proceso térmico de la elaboración del chocolate blanco con polifenoles establece que a mayor tiempo de exposición se presenta una leve disminución del contenido de polifenoles adicionados.

Palabras clave: Cacao, Chocolate blanco, Efecto, Polifenoles, Temperatura.

1. MARCO REFERENCIAL

1.1. ESTADO DEL ARTE

Se analizaron trabajos de investigación en el campo de coberturas de chocolates en general y antioxidantes (polifenoles del cacao), realizados en diferentes áreas de investigación, y constituyen una fuente que permite obtener datos para formalizar el estado del arte sobre el tema de estudio. A continuación, se relacionan algunos de los trabajos:

Todorovic *et al.*, (2015) realizaron el análisis de diferentes tipos de chocolate producidos en Serbia, con el contenido de polifenoles, flavanes y proanthocyanidin, por métodos espectrofotométricos, determinando su capacidad antioxidante aplicando ensayos de DPPH, FRAP, ABTS Y ORAC, esto lo midieron con la adición de frambuesas a una cobertura de chocolate oscuro, demostrando que hubo un aumento representativo de los antioxidantes, con el enriquecimiento de chocolates oscuros con frutas con altos contenidos de antioxidantes (polifenoles), aspecto que sirvió como referente al momento de agregar los polifenoles extraídos.

De otra parte, se han realizado estudios sobre la “Incidencia de la tecnología wafa (sistema completo) en las características sensoriales del chocolate” (Jorge, 2011), aspectos que se evaluarán en la investigación propuesta haciendo énfasis en la etapa de mezclado – refinado a realizar en una Wafa, definiendo las variables de temperatura y tiempo, y como estas influyen en el contenido final de polifenoles.

Otro trabajo investigativo de gran aporte es el relacionado con “El chocolate oscuro y los polifenoles nuestros de cada día” realizado por Michel *et al.*, (2016), los cuales determinaron que los diferentes antioxidantes presentes en frutas, verduras, especias aromáticas y granos, principalmente en el cacao y chocolate oscuro, se veían afectados por factores como: clima, ambiente, y temperaturas.

Es importante poder reducir y controlar las pérdidas de antioxidantes como polifenoles y conservarlos durante los procesos de transformación del cacao, la presente investigación busca ofrecer una alternativa de consumo al enriquecer el chocolate blanco.

Los granos de cacao (*Theobroma cacao* L.) son ampliamente utilizados en la fabricación de diversos alimentos y bebidas como chocolates, bebidas en polvo, galletas, confiterías y otros. El procesamiento juega un papel vital en el control del perfil final del sabor de las almendras de cacao, especialmente durante el tostado. En el 2017, Hii *et al.*, realizaron estudios con el objetivo de determinar las propiedades de transporte de las almendras de cacao (*Theobroma cacao* L.) durante el tostado y también investigar la calidad de las almendras de cacao (*Theobroma cacao* L.) tostadas. De acuerdo con los autores, el mayor contenido de polifenoles totales y antocianinas se encontró en los chocolates con inclusión de nibs no fermentados de cacao. De igual manera, Delgado *et al.*, (2018) encontró que, en los perfiles con contenido de humedades observadas, siguieron el decaimiento exponencial típico, como comúnmente se explica por la segunda ley de difusión de Fick. La elevada temperatura de tostado tuvo un impacto negativo en los polifenoles de cacao (*Theobroma cacao* L.) en los que se observó una mayor degradación. La evaluación sensorial mostró que el licor de cacao (*Theobroma cacao* L.) producido a partir del tratamiento a temperatura más alta ($T = 140\text{ }^{\circ}\text{C}$) tenía el sabor de cacao (*Theobroma cacao* L.) más alto. En el mismo año, Alean (2011), estudió el efecto del proceso de secado del cacao (*Theobroma cacao* L.) en polifenoles, reportó que la menor degradación de polifenoles durante el proceso de secado se llevó a cabo a una temperatura de $40\text{ }^{\circ}\text{C}$, con una concentración de polifenoles de $3329,76\text{ mg Ac. Gallic} / 100\text{ g}$ de almendra seca, lo que corresponde a una reducción del 45 %.

Mientras que De Taeye *et al.*, (2017) encontró que la mayor degradación de los polifenoles se presentó a una temperatura de $60\text{ }^{\circ}\text{C}$. Concluyendo que la degradación depende de la temperatura, humedad y tiempos de secado. Estos son factores que afectan a los procesos oxidativos irreversibles de los polifenoles y también pueden verse afectados por la destrucción celular. Este análisis experimental se completó con el desarrollo de un modelo fenomenológico que simula el comportamiento de la desorción del agua y la degradación de los polifenoles. Adicionalmente, se conoce que el tostado del cacao (*Theobroma cacao* L.) es importante para crear el aroma típico del chocolate a través de las reacciones de Maillard, pero también es un paso clave del deterioro en el contenido y perfil del polifenol. Así mismo, reportaron que, en comparación con el tostado habitual a $150\text{ }^{\circ}\text{C}$, mantener las almendras durante 30 min a $120\text{ }^{\circ}\text{C}$ o durante 1 h a $90\text{ }^{\circ}\text{C}$ resultó mucho mejor para prevenir la fuerte degradación de los flavan-3-ol nativos de P1, P2 y P3 en el cacao (*Theobroma cacao* L.) Para cultivares Forastero, Trinitario y Criollo). Sorprendentemente, las

almendras cubanas, mexicanas y de Madagascar se comportaron atípicamente cuando se tostaron durante 30 minutos a 150 ° C, liberando un grupo de catequinas.

La separación cromatográfica enantiomérica demostró que este grupo contenía principalmente (-) - catequina procedente de (-) - epicatequina por epimerización. Como el contenido de (-) - epicatequina permaneció relativamente constante a través del tostado de almendras criollas, los monómeros de flavan - 3 - ol debieron regenerarse a partir de oligómeros. Esta aparición de (-) - catequina solo en almendras Criollas, que se informa aquí por primera vez, podría deberse a una mayor estabilidad del monómero de flavan-3-ol en ausencia de productos derivados de antocianidina. De Yaeye *et al.*, (2011), concluyeron que la tasa de degradación de los flavan-3-ols a través de la torrefacción es mayor en los granos de cacao (*Theobroma cacao* L.) que contienen antocianos (di) ns. La liberación de un grupo de (-) - catequina cuando se somete a tostado a 150 ° C permite distinguir las variedades de almendra tipo porcelana, según su sabor y usos.

A nivel nacional, se tiene que de las 33 regionales, al menos 13 están desarrollando programas de formación y actividades que involucran directamente al sector del cacao, relacionado con el mejoramiento de criterios de calidad física, química y sensorial, tanto en la materia prima como en los productos de chocolatería y confitería, determinante en la aceptación del producto final (Quintero, 2015).

El departamento de Santander, según los últimos informes de Fedecacao en producción registrada 2002-2014, es el primer productor nacional de Cacao (*Theobroma cacao* L.) con 19.085 Toneladas anuales (Fedecacao, 2017). En consecuencia, el Centro de Atención al Sector Agropecuario – C.A.S. A - responde a esta vocación agrícola e industrial de la región, ofreciendo en sus dos sedes instalaciones y programas de formación orientadas a desarrollar esta actividad económica.

Actualmente, el Servicio Nacional de Aprendizaje (SENA) tiene como objetivo consolidarse, como dinamizador del desarrollo agrícola para el país, mediante la renovación del cultivo de cacao, una constante ejecución de actividades dirigidas al adecuado mantenimiento de los cultivos, la cosecha, beneficio, transformación y producción de este importante producto agrícola nacional considerado el cultivo de la paz.

La primera sede del Centro de Formación en Chocolatería está ubicada en el municipio de Piedecuesta y cuenta con la Escuela Latinoamericana de Chocolatería, con el fin de formar talento humano que aporte a la productividad del sector. Es la única planta piloto en Colombia que ofrece formación en temas de procesamiento y transformación del cacao, con tecnología alemana e italiana. Además, es la única existente del Nororiente Colombiano.

La segunda sede del Centro, llamada Aguas Calientes, está ubicada en el municipio El Playón a 44 kilómetros de la capital del departamento vía a la costa; esta cuenta con un área de 130 hectáreas, donde destaca el cultivo de cacao (*Theobroma cacao* L.) con una extensión de 12 hectáreas.

De acuerdo con los estudios realizados por el Centro de Investigación y Tecnología de Alimentos – CICTA de la Universidad Industrial de Santander y el Departamento de Investigación de la Federación Nacional de Cacaoteros en el año 2013, identificaron 8 genotipos de Cacao (*Theobroma cacao* L.) con características especiales en: índice de grano, de mazorca, número de almendras por mazorca, autocompatibilidad, cáscara delgada. Un buen porcentaje de almendras de color claro que pueden conferir características sensoriales especiales, como notas frutales, nuez y caramelo, similares al perfil sensorial del tipo Criollo. Lo anterior, se llevó a cabo en un periodo de 10 años en fincas propias y en la de varios agricultores que hicieron parte del trabajo. Estos materiales tienen una productividad superior a los 1.500 Kg por hectárea, frente a los 450 Kg promedios que se alcanzan actualmente con las variedades tradicionales. Además, ofrecen tolerancia a las principales plagas y enfermedades que afectan el cultivo del cacao (*Theobroma cacao* L.) como son Monilia y Escoba de Bruja. Los materiales vegetales ya fueron entregado oficialmente a los productores, con registro comercial del Instituto Colombiano Agropecuario, ICA, estos son: FLE 2, FLE 3, FSV 41, FEC 2, FSA 12, FSA 13, FEAR 5 y FTA 2, de estas variedades se destaca el FSV 41 por sus características químicas en contenidos de Polifenoles y metilxantinas presentes en el grano de cacao.

El clon FSV41 es originario de San Vicente de Chucuri, Santander, es uno de los granos con mayor contenido de Polifenoles de los materiales Regionales, certificados, con características organolépticas similares a un material vegetal criollo. En general La Federación Nacional de Cacaoteros encontró que el material vegetal FSV41 presenta atributos especiales, permitiendo

demostrar que el cacao (*Theobroma cacao* L.) en Colombia tiene el potencial para ser catalogado como fino en el mercado internacional (Contexto ganadero, 2014).

Por lo tanto, la presente la investigación busco evaluar el efecto de la temperatura del molino refinador (Wafa), como afecta la estabilidad de los polifenoles adicionados en la elaboración de coberturas de chocolate blanco, los antioxidantes son extraídos de la variedad de Cacao (*Theobroma cacao* L.) FSV 41, determinando cantidad de antioxidantes que se pierden en el proceso, con diferentes tratamientos.

1.2. EL CACAO (*THEOBROMA CACAO* L.)

Para Perea (2013), el cacao (*Theobroma cacao* L.) es un fruto que nace de un árbol procedente de América; su uso se remonta a la época de los mayas, aztecas e incas, y desde entonces se ha usado tanto para fines nutricionales como médicos. El cacao (*Theobroma cacao* L.) cuenta con un alto índice de grasas (sobre todo saturadas, y en menor medida, monoinsaturadas y poliinsaturadas), hidratos de carbono y proteínas, pero también contiene magnesio, fósforo, potasio, teobromina, cafeína, antioxidantes y agua, entre otros. De igual manera, contiene un elevado aporte de energía, y su principal uso es para hacer chocolate, de este fruto se consigue tanto el polvo de cacao como la manteca, por lo que ambas pueden ser usadas en una mezcla de azúcares refinados y leche; dependiendo de la cantidad que se utiliza de cada uno surgen los distintos tipos de chocolate.

El chocolate y los productos derivados del cacao son considerados únicamente como exquisitas golosinas; sin embargo, se han reconocido como fuentes de compuestos fitoquímicos con potenciales efectos favorables a la salud. El 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).

Para Dostert *et al.*, (2011), el cacao, cuyo nombre científico es *Theobroma cacao* L., pertenece al orden Malvales y a la familia de las Sterculiaceae. Los árboles se encuentran en climas cálidos y

húmedos en las zonas alrededor de 20° de latitud norte y al sur del Ecuador. En su desarrollo este árbol alcanza alturas que van de 3 a 8 metros, aunque por interés fitotécnico (para facilitar la poda de regulación de sombra y la cosecha) se mantiene a alturas menores de 3 a 4 metros.

Sin embargo, Infocafes, (2017) considera que el cacao (*Theobroma cacao* L.) como producto agrícola es el resultado de variadas interacciones que se expresan a través de las diversas características de este producto; pero no solamente las variables agroecológicas, genéticas y de condiciones específicas de cultivo influyen, sino además son todas aquellas en las cuales interviene el hombre (cosecha y post cosecha), cuya influencia es decisiva en la realización de ese potencial que la naturaleza brinda al cacao. En general, las semillas del *Theobroma cacao* L. son conocidas en cuatro variedades principales: criollo, que constituye el 5 % de la producción mundial; el más común Forastero, con granos más pequeños, planos y violetas; el Nacional, originario de Ecuador, de fino aroma y sabor; y la cuarta variedad llamado Trinitario, es esencialmente un híbrido entre Criollo y Forastero, que se caracteriza por su resistencia a enfermedades y por ser considerado como un grano de sabor.

Las mazorcas de cacao son el fruto del árbol *Theobroma cacao* L., tienen un tamaño que se encuentra en el intervalo 15 - 21 centímetros y sus formas básicas son de angoleta, cundeamor, amelonado y calabacillo. Dentro del fruto están los granos de cacao cubiertos por una superficie blanca y viscosa denominada mucílago. El grano tiene forma ovalada, un tamaño aproximado de 1,5 - 3 centímetros de altura y entre 0,5 - 1 centímetros de ancho, pesa entre 1,3 y 1,7 gramos y está cubierto por una capa fina exterior denominada cascarilla (Sira, 2015). En la Figura 1, se presentan algunos frutos o mazorcas de cacao (*Theobroma cacao* L.) abiertas y en su interior se observan las semillas recubiertas por el mucílago.



Figura 1. Frutos de cacao (*Theobroma cacao* L.) de 4 a 5 meses de edad, cortados longitudinalmente. Fuente: Fedecacao (2013).

En Colombia las principales variedades hacen referencias al conjunto de plantas de una misma especie, que poseen una plantación de características homogéneas, las cuales se mantienen y se transmiten a toda la descendencia. Es decir, está conformado por individuos homocigotos (lo cual no se da en el caso del Cacao) Clon. En cuanto a las variedades cultivadas; son los híbridos entre Forastero/amazónico y los clones trinitarios, mientras que las principales regiones de cultivo son: los Santanderes, Arauca y el pacífico (Carrillo *et al.*, 2013).

Actualmente, hay dos tipos de cacao en el mercado, el primero corresponde al cacao (*Theobroma cacao* L.) corriente u ordinario que representa el 95 % de la producción anual, cuya producción viene del África y Brasil; el segundo se refiere a los cacaos finos que tienen sabores y aromas distintivos representan el 5 % de la producción mundial. Con ellos se pueden elaborar chocolates negros o chocolates tipo gourmet porque le confieren a los productos características de aroma y sabor especiales. En el grano de cacao también se encuentran otros componentes mayoritarios relevantes por su calidad, como las proteínas, la fibra y algunos minerales esenciales en la dieta como el potasio, el magnesio y el fósforo (Perea *et al.*, 2011).

a. Cacao (*Theobroma cacao* L.) criollo o nativo.

Es conocido como el cacao (*Theobroma cacao* L.) genuino, bautizado así por los españoles al llegar a México. Se cultiva actualmente en América en países como Perú, Venezuela, Honduras,

Colombia, Ecuador, Guatemala, Trinidad, Bolivia, México, Granada y Nicaragua. El criollo es reconocido como de gran calidad, de escaso contenido en tanino, reservado para la fabricación de los chocolates más finos. Su mercado principal es el Japón (Trognitz *et al.*, 2011).

b. Cacao (*Theobroma cacao* L.) forastero.

El forastero es originario de la alta Amazonia, se trata de un cacao (*Theobroma cacao* L.) con el tanino más elevado. Proviene normalmente de África donde se han desarrollado muchos híbridos. El grano tiene una cáscara gruesa, es resistente y poco aromático. Para neutralizar sus imperfecciones, requiere de un intenso tueste, de donde proceden el sabor y el aroma a quemado de la mayoría de los chocolates. Los mejores productores usan granos forasteros en sus mezclas, para dar cuerpo y amplitud al chocolate, pero la acidez, el equilibrio y la complejidad de los mejores chocolates que se obtienen con esta variedad provienen de mezclas con la variedad criolla (Adomako y Adu, 2003).

c. Cacao (*Theobroma cacao* L.) trinitario.

Entre las semillas de cacao (*Theobroma cacao* L.) híbridos destaca el trinitario. Como su nombre sugiere, es originario de Trinidad de donde surgió como resultado de un proceso de cruce entre el forastero y el criollo. Así heredó la robustez del cacao (*Theobroma cacao* L.) forastero y el delicado sabor del cacao (*Theobroma cacao* L.) criollo, se usa también normalmente mezclado con otras variedades, aunque su calidad es más próxima al forastero presenta similares o mayores concentraciones de polifenoles que las anteriores variedades. En el mundo se producen anualmente 4.3 millones de toneladas de grano de cacao (ICCO, 2011) de los cuales 74.9 % se concentran en África Occidental, 12.1 % en el sureste asiático y 13 % en América Latina. Costa de Marfil produce 35 % de la producción mundial.

1.2.1. Beneficio del grano de cacao.

El cacao (*Theobroma cacao* L.) es fuente de macronutrientes como proteína, grasa y fibra; también de micronutrientes: potasio magnesio y fosforo.). En el grano de cacao (*Theobroma cacao* L.) se deben 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 *et al.*, 2009). En la tabla 1, se muestra el resumen de la composición química del grano según lo reportado por varios autores que han evaluado materiales de cacao (*Theobroma cacao* L.) en diferentes regiones geográficas.

Tabla 1. Composición química del grano de cacao FSV 41.

Características químicas	
% Grasa	59,4 ± 0,49
% Fibra	4,5 ± 0,44
% Proteína	10,9 ± 0,22
Contenido de ácidos grasos	
% Esteárico	32,8 ± 0,31
% Oleico	31,6 ± 0,10
% Palmítico	30,6 ± 0,27
% Lionoleico	2,4 ± 0,06
Sustancias funcionales	
Polifenoles totales (mgEAG/g muestra seca)	59,9 ± 2,24
Cafeína (mg/g muestra seca)	3,0 ± 0,16
Teobromina (mg/g muestra seca)	8,1 ± 0,41
Relación Teobromina/Cafeína	2,8 ± 0,24

Fuente: Fedecacao-UIS (2013).

El proceso de beneficio del cacao comprende todo el manejo postcosecha que se le da a los frutos y semillas, y es fundamental para obtener un grano de buena calidad. Durante este proceso se realiza la transformación biológica de semillas de cacao (*Theobroma cacao* L.) y comprende las etapas de cosecha, fermentación y secado (Kyi, *et al.*, 2005). La cosecha involucra la separación de los frutos o mazorcas de los árboles. Dentro de las mazorcas se encuentran los granos, semillas

o almendras de cacao, las cuales se encuentran cubiertas de una pulpa blanca conocida como mucílago. Las semillas junto con el mucílago se remueven de las mazorcas y así finaliza la cosecha (Fowler y Coutel, 2017).

La fermentación que comprende entre 3 y 6 días, dependiendo de la variedad genética y se da en dos etapas, una anaeróbica y otra aeróbica; es una etapa clave de procesamiento, que provoca la muerte de la semilla y facilita la eliminación del mucílago. A lo largo de esta etapa se desarrollan el sabor y aroma del chocolate, y se presenta una reducción significativa en la astringencia y sabor amargo del grano. Durante la fermentación también ocurre la pérdida más significativa de polifenoles solubles (15 – 25 %), los cuales se eliminan mediante los líquidos de drenado o se oxidan por acción del polifenol oxidasa. Finalmente, el secado es un proceso que tarda entre 4 y 8 días; y tiene como finalidad disminuir la humedad interna de los granos y terminar de desarrollar los precursores del sabor y aroma. Esta etapa generalmente se realiza al sol, pero también se puede utilizar equipos de secado. Pero, durante el secado también juegan un rol muy importante la oxidación no enzimática de los polifenoles, que ayuda a disminuir la astringencia y el sabor amargo del chocolate (Nielsen *et al.*, 2008).

1.2.2. Proceso de preindustrialización del cacao.

La mayor parte de los granos de cacao destinados a la producción de chocolate, son sometidos en el lugar de cultivo a los primeros pasos para el procesamiento. Una vez que son cosechadas, las semillas de cacao son removidas y transferidas a cajas de madera donde es llevada a cabo la fermentación, durando de 2 a 3 días cuando se trata de granos de cacao (*Theobroma cacao* L.) Criollo, y de 5 a 7 días para cacao (*Theobroma cacao* L.) forastero (Fowler y Coutel, 2017). Específicamente los procesos de fermentación y secado al sol toman lugar en esta etapa del proceso de producción (preindustrialización), y son importantes para el desarrollo de aromas y/o precursores de aromas en el chocolate (Kyi *et al.*, 2005).

Luego, de que las mazorcas son cosechadas, durante el primer día de fermentación, el mucílago adherido a la semilla comienza a drenar líquidos con un aumento constante en la temperatura. Bajo condiciones anaerobias, los microorganismos producen ácido acético y etanol. Estos procesos inhiben la germinación de las semillas y contribuyen a cambios estructurales durante la fermentación de los granos tales como la remoción de enzimas y sustratos compartimentalizados.

Los líquidos celulares se mueven a través de la pared celular y se esparcen sobre el grano de cacao, esto ocurre generalmente entre las 24 y 48 horas de la fermentación. Al tercer día, la temperatura del grano aumenta generalmente hasta 45 °C, y alcanza los 50 °C cuando la fermentación ha terminado (Nielsen *et al.*, 2008).

De acuerdo con estudios realizados por Quintana *et al.*, (2018) donde determinaron la influencia del tiempo y temperatura en las características fisicoquímicas finales de clones de cacao regionales (FLE3, FTA2 y FSA12), encontrando índices de fermentación superiores al 60 % en 120 horas siendo el FTA2 el más alto de 60 % a 80 % en 120 horas, aseguraron que no haya sobre fermentación en los granos de cacao. Esto es importante por qué se puede tener un mayor control en los componentes de polifenoles presentes en el cacao, los cuales se pueden perder por tiempo y temperaturas inadecuadas en fermentación.

Durante la fermentación de los granos de cacao, los polifenoles transmiten desde los compartimientos celulares y generan una oxidación para producir taninos insolubles de alto peso molecular. Las reacciones de oxidación son catalizadas por la enzima polifenol oxidasa (POP), no obstante, esta enzima es fuertemente inactivada durante el primer día de fermentación, pasando de una actividad enzimática del 50 % al 6 % durante los días 1 y 2 la ocurrencia de reacciones de condensación es confirmada por la disminución drástica en el contenido de epicatequinas durante el segundo y tercer día de la fermentación (Sousa *et al.*, 2016).

Una vez terminado el proceso de fermentación, los granos son puestos en bandejas y secados al sol en las zonas de cultivo donde la cosecha coincide con una estación seca, mientras que en zonas lluviosas se utiliza secado artificial. El objetivo principal del secado es disminuir la humedad de los granos hasta un 5 – 7 %, para permitir su almacenamiento y transporte, ya que un contenido de humedad superior al 8 %, incrementa la probabilidad de contaminación fúngica (Gil, 2012)

Además, de la oxidación enzimática durante la fermentación, se ha propuesto que el incremento de temperatura durante el secado en campo es un factor importante vinculado a la pérdida de polifenoles. En general, se ha encontrado que el contenido de polifenoles disminuye drásticamente hasta cerca de un 80 % durante estas etapas del procesamiento. Es necesario enfatizar que estos procesos de preindustrialización no están estandarizados a nivel mundial, generando alta variación

en la concentración de catequinas de cacao provenientes de diferentes procedencias (Wollgast y Anklam, 2000).

Por otra parte, y en referencia a las propiedades antioxidantes del cacao, estas son afectadas por factores como: el genotipo, las condiciones agroclimáticas, el proceso de beneficio (fermentación y secado) y el proceso de industrialización (Payne *et al.*, 2010).

El “beneficio y la subsecuente etapa de tostado se registra una pérdida sustancial de los componentes polifenólicos presentes en el grano, disminuyendo por ende la capacidad antioxidante del mismo” (Pallares *et al.*, 2016).

1.2.3. Métodos de extracción y determinación de fenoles

A continuación, se describen los métodos empleados en la determinación de polifenoles:

a. Ensayo de Folin-Ciocalteu (FC).

El contenido de Polifenoles Totales (PT) de los extractos liofilizados y sin liofilizar se determinó siguiendo el procedimiento descrito por Wollgast (2004). El ensayo fue hecho por triplicado a cada muestra. Brevemente, 50 µl del extracto a valorar, 1,5 ml de reactivo de Folin-Ciocalteu (diluido 10 veces en agua destilada) y 1,5 ml de solución de Na₂CO₃ (7.5 % p/v) y se mezcló enérgicamente. La mezcla permaneció en reposo durante 60 min protegida de la luz. Luego, la absorbancia de las muestras se lee a 765 nm en un espectrofotómetro (GENESYS 20, Thermo Spectronic). El contenido de PT se expresa en mg equivalentes de Ácido Gálico (mgEAG) por gramo de muestra seca (g).

b. Determinación de la actividad antioxidante mediante el método ORAC (Capacidad de absorción de radicales de oxígeno).

El mecanismo de reacción se basa en la transferencia de un átomo de hidrogeno del antioxidante al radical libre, para ello se emplea un indicador que genera el radical piróxilo (ROO). En presencia de un compuesto antioxidante, el radical forma un enlace con un átomo de hidrogeno del compuesto antioxidante y se originan un hidroperóxido (ROOH) y un radical antioxidante estable. Este ensayo es en ejemplo del rompimiento de reacciones en cadena por transferencia de un átomo

de hidrogeno proveniente de un compuesto antioxidante y sirve para medir la degradación oxidativa de una molécula fluorescente (fluoresceína) (Ou *et al.*, 2001).

La fluoresceína reacciona con el AAPH (2,2-azo-bis (2-amidino-propano) dihidrocloruro) el cual es un azo derivado generador de radicales libre. El AAPH produce radicales piróxilos por calentamiento, que dañan la molécula fluorescente, la cual se oxida para neutralizar los radicales, resultando en pérdida de su fluorescencia. Los antioxidantes protegen la molécula fluorescente de la degeneración oxidativa y el grado de protección se cuantifica usando un espectrofluorimetro.

La velocidad en la disminución de la fluorescencia puede reducirse en presencia de un antioxidante, ya que este compite con el compuesto fluorescente para estabilizar el radical. La capacidad antioxidante se determina por la disminución en la fluorescencia y la cantidad de producto formado en función del tiempo. La protección del antioxidante se mide a partir del área bajo la curva de la muestra y del blanco de reacción. La diferencia de estos valores se extrapola en la curva de clibración de Trolox. Esta metodología puede ser adaptada para la detección de antioxidantes tanto hidrófilos como hidrofóbicos (Ou *et al.*, 2001).

c. Contenido de polifenoles totales.

El contenido de polifenoles totales de las muestras fue determinado por el método Folin-Ciocalteu descrito por Singleton (1999), es una técnica sencilla y precisa, sin embargo, la reacción debe hacerse a un pH básico específico. Los parámetros necesarios para la obtención de datos reales como el tiempo y la temperatura de reacción, la longitud de onda y el uso del ácido gálico como patrón estándar fueron desarrollados por Singleton y Rossi (1965). El uso del ácido gálico se ha cambiado en algunas investigaciones por el uso de sustancias similares como: ácido taninico, ácido vainillinico, ácido clorogénico, ácido felúrico, (-)-epicatequina y (+)- catequina (Prior *et al.*, 2005). El análisis cuantitativo se realizó por el método del estándar externo y para ello, se construyó una curva de calibración con ácido gálico (10.0 – 100, 0µg/mL) con el fin de expresar los resultados en términos de Equivalentes de Ácido Gálico (GAE).

1.2.4. Proceso de industrialización de cacao: efecto sobre el contenido de polifenoles.

Una vez los granos secados en campo llegan a la fábrica de producción de chocolates, el primer paso en el proceso de industrialización del cacao (*Theobroma cacao* L.) es la limpieza del grano mediante una serie de operaciones que incluyen la remoción de fibra procedente de los empaques, trozos de madera, metales e impurezas.

Según Minifie (2012) las semillas de cacaos fermentados y secas son sometidas a diferentes procesos de manufactura, sin embargo, se puede describir un proceso general que involucra: la limpieza, el tostado, la trituration, descascarillado y molienda de las nueces; así como el desengrasado, amasado, refinamiento, moldeo y almacenamiento del chocolate, las cuales se describen a continuación:

- **Limpieza de la nuez.** Envuelve la eliminación principalmente de contaminantes físicos como piedras, metales, residuos de madera y de granos pequeños y semillas sin madurar a las que comúnmente se les conoce como pasilla (Minifie, 2012).

- **Tostado de la nuez.** En esta etapa se dan las reacciones necesarias para la formación de los compuestos que finalmente determinan el aroma, sabor y color característico del grano de cacao. El tiempo de tostado puede variar de 5 a 120 min, y la temperatura entre 120 y 150 °C. Las temperaturas y tiempos de tostado dependerán de la humedad con la que ingrese el grano al tostador, esto se puede estimar por medio de una curva de tiempo de tostado, la cual indica el tiempo que se debe tostar con relación a la humedad inicial del cacao a una temperatura determinada usando aire caliente, vapor saturado y radiación infrarroja entre otros métodos Departamento Nacional de Planeación (DNP, 2004). El paso subsiguiente es la tosti3n del grano entero, lo cual es clave para el desarrollo de sabores, que ya deber3n existir en el grano, al menos en forma de precursores derivados de una correcta fermentaci3n y secado (Jinap *et al.*, 2004). Una tosti3n correcta es un proceso dependiente del tiempo y la temperatura, donde el tiempo puede variar entre 5 y 120 minutos y la temperatura entre 120 y 150 °C (Miller *et al.*, 2008).

Generalmente, temperaturas m3s bajas se usan para modificadores de leche y algunos chocolates oscuros. Existe un peque1o paso de pretostado en el que los granos pueden alcanzar temperaturas hasta de 100 °C, seguido por la tosti3n misma en donde la temperatura es aumentada

alrededor de 130 °C. Las propiedades de los granos tostados dependerán principalmente de las variedades, tiempos y temperaturas, así como de la concentración de compuestos volátiles, el sabor, acidez total y contenido de grasa (Krysiak, 2005).

- **Trituración y descascarillado.** En el proceso de trituración se busca disminuir el tamaño de la almendra de cacao, obteniéndose fracciones de almendra 10 separables entre sí por medios mecánicos. En esta etapa por diferencia de densidad y aplicando una corriente de aire se separa también la cascarilla (Alberca, 2018).

- **Molienda de la nuez.** La molienda se lleva a cabo usando rodillos estriados o molinos, hasta conseguir una masa fina y homogénea que se conoce como pasta o “licor” de cacao (DNP, 2004).

- **Desengrasado.** La separación de la manteca de cacao se realiza mediante un proceso de prensado y amasado (Camargo, 2002). Dicha manteca tiene un alto valor comercial ya que se utiliza en la industria cosmética y farmacéutica. Al separar la manteca de cacao se obtiene además la torta de cacao o sólidos de cacao. La torta de cacao separada en el paso descrito anteriormente, después de ser enfriada, se tritura para obtener el cacao en polvo o cocoa que se utiliza en la producción de materiales de recubrimiento, relleno, preparaciones prefabricadas de pastelería, polvos para bebidas o como producto final.

- **Amasado.** Es el proceso de mezclado y refinado de la pasta de cacao con otros ingredientes según la formulación deseada (DNP, 2004).

- **Refinamiento, conchado y atemperado.** Procesos a partir de los cuales se obtiene la textura y viscosidad necesarias para producir un chocolate con buenas características de fusión, dureza y adecuada sensación al paladar (DNP, 2004).

- **Moldeo.** Proceso en el cual el chocolate atemperado pasa a las salas de moldeo para generar los diferentes tipos de productos que son posteriormente liberados al mercado (DNP, 2004).

- **Almacenamiento.** La alcalinización de las semillas, licores o nueces con soluciones o suspensiones de álcalis se efectúan principalmente para cambiar el color de los productos, es un

paso adicional pero que no es indispensable en el proceso de manufactura del chocolate (Cadena y Herrera, 2008).

El siguiente paso en un procesamiento convencional de cacao (*Theobroma cacao* L.) involucra la molienda de las almendras, la cual se adelanta generalmente en dos etapas, una inicial para convertir la almendra en una pasta fluida y una final en donde se alcanza el tamaño de partícula deseado. Durante la molienda se genera un fluido café oscuro conocido como "licor" (Miller *et al.*, 2008), que debe su fluidez al rompimiento de la pared celular y posterior liberación de la grasa (Wollgast y Anklam, 2000), Un licor de cacao puede ser utilizado para la elaboración de chocolates especiales con algunas notas de sabores adquiridos o en la mezcla para obtener nuevos sabores con otros licores de cacao (Quintana *et al.*, 2018).

Adicionalmente, se separa la manteca de cacao del licor mediante prensas hidráulicas o mecánicas, siendo una fase importante puesto que este producto es adicionado en otras etapas del proceso o comercializado como materia prima para la industria cosmética o alimentaria (Adeyeye *et al.*, 2010).

Otras etapas pueden involucrar la alcalinización del grano, el licor o el polvo, con suspensiones de álcali, principalmente con el fin de cambiar el color y el sabor (Andres *et al.*, 2008). Sin embargo, existen dudas acerca de si este último parámetro realmente se afecta. En general, Wollgast y Anklam (2000) indica que la alcalinización no es una etapa indispensable en el proceso de manufactura del chocolate, pero es común para algunos productos como el polvo de cacao (*Theobroma cacao* L.) oscuro y productos para repostería. Los ingredientes básicos para la manufactura del chocolate son el licor de cacao, azúcar, leche y emulsificantes, estos ingredientes se mezclan generando una pasta de textura áspera y consistencia plástica, la cual es refinada para producir la textura suave deseada en los productos finales. Actualmente el proceso de refinado se lleva a cabo en sistemas de rodillos múltiples donde se controla la presión entre ellos y la temperatura de cada rodillo se mantiene entre 25 - 50 °C

La pasta refinada es almacenada durante 24 horas a 45 – 50 °C en un proceso conocido como maduración, el cual le da al producto una textura de masa, la cual puede usarse como chocolate de tasa; adicionalmente, un paso final conocido como conchado es esencial para generar chocolates finos; esta etapa es la última en el proceso de manufactura y es esencial para el desarrollo de la

textura y sabor final. Generalmente es un proceso de dos pasos en donde inicialmente se reduce la humedad, se eliminan las sustancias volátiles y se distribuye la grasa, de tal manera que las partículas queden distribuidas en una fase continua; en el segundo paso se adiciona la manteca de cacao y un emulsificante como lecitina para dar una pasta líquida homogenizada (Gil., 2012).

Las condiciones de temperatura y tiempo del conchado pueden variar dependiendo del tipo de chocolate, por ejemplo, para los chocolates en polvo se utiliza entre 10 y 16 horas a temperaturas entre 49 y 52 °C, mientras que para chocolates oscuros el conchado se lleva a cabo a temperaturas más altas, entre 70 – 82 °C (Wollgast y Anklam, 2000). Las condiciones del conchado podrían ser modificadas (acortadas) por pretratamiento del licor, por ejemplo, con tratamientos térmicos >100 °C.

Antes del servido en moldes, la pasta de chocolate se enfría hasta alcanzar 10 °C y se recalienta varias veces a temperaturas entre 29 – 31 °C para lograr una buena cristalización, lo cual garantiza las propiedades reológicas adecuadas en el producto final (Wollgast y Anklam, 2000).

Hasta el momento se conoce que las alteraciones en el contenido y composición de polifenoles, en el proceso de manufactura del chocolate y en general los productos derivados del cacao, pueden darse principalmente durante estos procedimientos (Andres *et al.*, 2008), pues los granos o productos intermedios son expuestos a gran variedad de procesos térmicos que generalmente involucran la presencia de oxígeno; gracias a esto y debido a la alta actividad redox de los polifenoles, es posible anticipar que estos procedimientos son puntos cruciales de los cuales depende la calidad de los productos finales en términos de contenido de compuestos con actividad biológica (Wollgast y Anklam, 2000).

No obstante, el conocimiento de estos cambios es limitado y en la actualidad solo un proceso patentado los ha estudiado en relación a los parámetros del proceso (Kealey, *et al.*, 2001), encontrando que generalmente temperaturas y tiempos de procesamiento prolongados reducen la cantidad de polifenoles disponibles, Los autores consideran necesario investigar los posibles efectos de las actividades de la fermentación, secado y transformación a chocolate a fin de asegurar que el contenido de antioxidantes presentes en las semillas, no se degrade afectándolo de manera negativa (Mesa *et al.*, 2017).

1.3. PRODUCTOS DE LA INDUSTRIA DEL CHOCOLATE

Los productos de la industria de chocolates son presentados en diferentes formas como: bloques, tabletas, barras, barritas, pastillas, croquetas, granulados, polvo y pueden ser ingredientes de otros productos como bombones rellenos de cremas, frutos, licores, entre otros, (DNP, 2004). Hace parte de estos productos el chocolate de mesa que es distribuido en forma de pastillas y que se puede encontrar en varias presentaciones como chocolate de amargo, chocolate de mesa con azúcar y/o con diferentes saborizantes como el clavo la canela y la vainilla. Según Beckett, (2000) entre los tipos de chocolates se destacan:

a. Chocolate negro: (llamado también chocolate fondant; amargo; bitter; puro): es el chocolate propiamente dicho, es decir, es el resultado de la mezcla de la pasta y manteca del cacao con azúcar, sin el añadido de ningún otro producto (exceptuando el aromatizante y el emulsionante). Las proporciones con que se elabora dependen del fabricante. No obstante, se entiende que un chocolate negro debe presentar una proporción de pasta de cacao superior, aproximadamente, al 50 % del producto, pues es a partir de esa cantidad cuando el amargor del cacao empieza a ser perceptible. En cualquier caso, existen en el mercado tabletas de chocolate negro con distintas proporciones de cacao, llegando incluso hasta el 99 % en composición de pasta de cacao (*Theobroma cacao* L.) en cobertura de chocolate (Yoma *et al.*, 2011).

b. Chocolate de cobertura. Es el chocolate que utilizan los chocolateros y los pasteleros como materia prima. Puede ser negro o con leche, pero en todo caso se trata de un chocolate con una proporción de manteca de cacao (*Theobroma cacao* L.) alrededor del 30 %, lo que supone el doble que en los otros tipos de chocolate. La cobertura se usa para conseguir brillo (Suazo, 2012).

c. Chocolate con leche. Es el derivado del cacao más popular. Se trata, básicamente, de un dulce, por lo que la proporción de pasta de cacao suele estar por debajo del 40 %. No obstante, gran parte de las importantes marcas producen tabletas de chocolate con leche con proporciones de cacao (*Theobroma cacao* L.) inusuales, por encima incluso del 50 %, dirigidas tanto al mercado gourmet como al negocio de la pastelería. El chocolate con leche, como su nombre indica, lleva leche condensada como relleno (Suazo, 2012).

d. Chocolate blanco. Estrictamente, no se trata de chocolate, pues carece en su composición de la pasta de cacao, que es la materia que aporta las propiedades del cacao. Se elabora con manteca de cacao (*Theobroma cacao* L.) Por lo menos, el 20 %, leche (en polvo o condensada) y azúcar (Hernández y Prieto, 2011). Es un producto extremadamente energético y dulce. Visualmente muy atractivo, es un elemento decorativo muy usado en la repostería.

El chocolate blanco contiene: Manteca de cacao (*Theobroma cacao* L.) desodorizada (35 %), Azúcar pulverizada (39 %), Leche entera polvo (14 %), Leche descremada en polvo (12 %), Lecitina de soya (0.4 %) y 0.1 % Ethil Vaniline (Suazo, 2012). Entre las propiedades nutricionales del chocolate blanco cabe destacar que tiene los siguientes nutrientes, (tabla 2).

Tabla 2. Componentes del chocolate blanco.

Componentes	Proporción
Proteínas	8 g
Fibra	0,8 g
Carbohidratos	58,8 g
Azúcar	58,8 g
Calorías	547 Kcal
Grasa	30,9 g
Purinas	0 mg
Colesterol	23 mg
Hierro	0,2 mg
Potasio	350 mg
Yodo	6 mg
Zinc	0,9 mg
Magnesio	26 mg
Sodio	110 mg
Vitamina B3	5,4 mg
Vitamina B6	0,07 mg
Vitamina C	12 mg
Vitamina E	1,14 mg
Fosforo	230 mg
Vitamina A	26Ug
Vitamina B5	0,59
Vitamina B7	2 Ug
Vitamina B9	10 Ug
Vitamina K	7,7 Ug

Fuente: Álvarez (2017).

De acuerdo con Álvarez (2017), las coberturas o chocolate blanco aportan: Calorías, Grasa, Colesterol, Sodio Carbohidratos, fibra, Azúcares, Proteína, Vitamina A, Vitamina B12 y Hierro., por cada porción de ella.

1.3.1. Calidad microbiológica de coberturas de chocolates

En la Tabla 3, se observa los requisitos microbiológicos que debe cumplir el chocolate de mesa, chocolates, coberturas y coberturas blancas para consumo directo.

Tabla 3. Requisitos microbiológicos para el chocolate de mesa, chocolates, coberturas y los sucedáneos para consumo directo.

Requisitos	n	m	M	c
Detección de Salmonella /50 g	5	0	0	0

Fuente: Ministerio de la Protección Social (2011)

Dónde, n - número de muestras por examinar, m - índice máximo permisible para identificar nivel de buena calidad, M - índice máximo permisible para identificar nivel aceptable de calidad y c - número máximo de muestras permisibles con resultados entre m y M.

El papel más importante de los microorganismos es el desarrollo de los precursores del sabor, sin la fermentación no se obtiene el sabor completo del chocolate. Por otra parte, los microorganismos también son esenciales para preparar el grano, ya que sin ellos no se eliminaría el mucilago y la ácidos del grano, causada por la presencia del citrato; sin la producción del ácido acético, el etanol y la temperatura alta no se produciría la reacción de Maillard, que trae consigo la producción de melanoidinas responsables del color oscuro en los granos de cacao y los compuestos aromáticos (Wacher, 2011).

No se conoce con detalle cuales son los compuestos que determinan el sabor a chocolate; sin embargo, Nielsen et al. (2008) encontraron que existía una correlación entre el aroma de un lote de cacao y el conjunto de microorganismos que lo fermentan.

Según Angell R, los problemas microbiológicos de la industria chocolatera son particulares y van ligados a tres condiciones principales, bajo contenido del agua (a_w), el porcentaje de grasa y

azúcar y el PH alrededor de 5,5. Estas características son ventajosas puesto que dificultan el crecimiento de las bacterias y los hongos, y sobre todo de las levaduras osmófilas y de los mohos xerófilos. Pero en contra, la viabilidad de las esporas de bacterias y de mohos no se ven afectadas por estas condiciones tan desfavorables, a la vez la baja (a_w) no permite tratamientos de temperatura/humedad en ciertos puntos del proceso para eliminar cualquier bacteria presente. El chocolate con leche suele tener lecitina (como emulgente) y lactosa (de la leche), estas dos sustancias son muy hidrófilas, capaces de capturar la humedad presente y evitar que quede disponible para la actividad microbiana.

En el chocolate el principal riesgo microbiológico conocido es la presencia de salmonella, no se menciona en la fermentación, porque no es propia del cacao, ni del medio donde se cultiva, sino que es de origen fecal y es introducida en algún momento del proceso, como en el desgranado de las mazorcas y el proceso de secado no tecnificado.

En los procesos de elaboración del chocolate la única etapa donde se puede destruir es en el proceso de tostión del grano, en los demás procesos deben tomarse todas las precauciones con el fin de minimizar el peligro de contaminación por salmonella.

1.3.2. Calidad sensorial de las coberturas de chocolate.

Las propiedades sensoriales en el chocolate son de gran importancia, la textura, el sabor y el aroma, así como un color característico definen la calidad sensorial del producto y hacen del chocolate la línea principal de producción del grano cacao (González *et al.*, 2012). Existen diferentes etapas desde el comienzo del árbol, continúa en la cosecha, el beneficio y las distintas fases de procesamiento involucradas en el desarrollo del mismo. Durante estas etapas actúan diferentes factores que inciden en su calidad sensorial, se generan durante los tratamientos postcosecha, al transformarse en notas deseables durante el proceso de manufactura. Además, complejas modificaciones bioquímicas de los constituyentes del grano se alteran debido a reacciones térmicas dadas durante el tostado, la alcalinización y el conchado.

En los procesos de manufactura, de los diferentes chocolates existen una serie de etapas desde la post cosecha hasta elaboración del producto final, que inciden directamente en el flavor de las coberturas, por ello es importante un control en las diferentes etapas de elaboración de productos finales, para ofrecer características en aroma, sabor, textura, crujencia. Por ello, los ingredientes son importantes el control de estos para dar notas dulces, suaves y alejadas del residual de grasas.

El sabor, el aroma, la textura y viscosidad son fundamentales para la aceptación del chocolate, los cuales están influenciados de una u otra forma por diversos factores, en el mezclado como son la temperatura de la masa, tiempo de refinado, tiempo de conchado. El tiempo, temperatura de calentamiento y atemperado, son fundamentales en el análisis de elaboración de coberturas de chocolate.

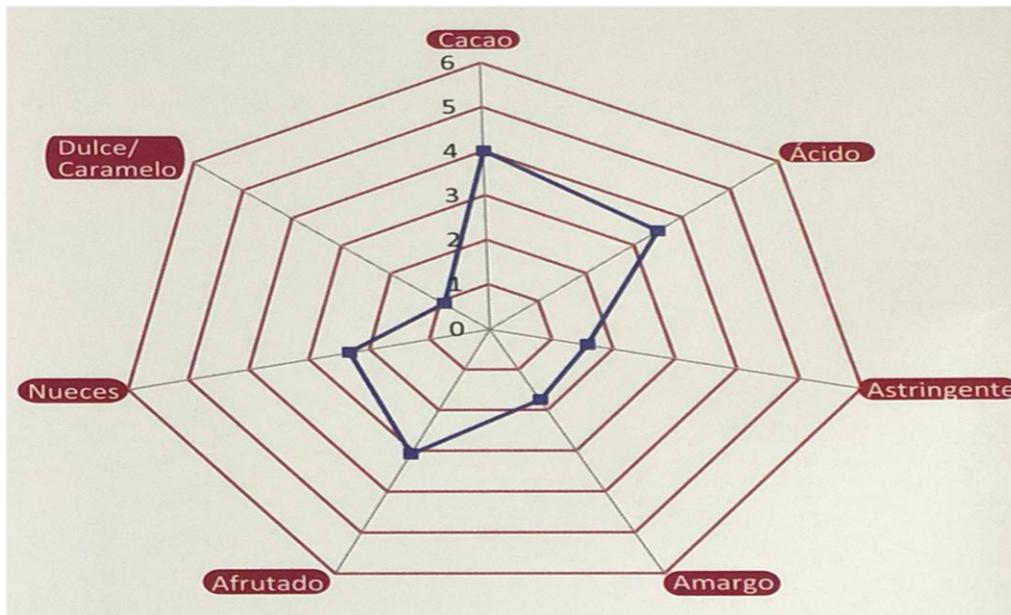


Figura 2. Perfil sensorial FSV 41. Fuente: Fedecacao-UIS (2013).

En el desarrollo de la presente investigación se empleara la variedad de cacao FSV 41 recolectada en la Sede SENA ubicada en el municipio El Playón, la cual presenta un perfil sensorial que se destaca por poseer un color café claro, sabor avinado, frutas maduras en proceso de fermentación un poco dulce suave y agradable (Figura 2).

1.4. CONTENIDO DE POLIFENOLES EN EL CHOCOLATE

Los polifenoles son un conjunto heterogéneo de moléculas que comparten la característica de poseer en su estructura varios grupos bencénicos sustituidos por funciones hidroxílicas (Hernández y Prieto, 2011). Aunque la mayor capacidad antioxidante de la dieta está en frutas y vegetales y se la proporcionan el contenido en vitaminas E, C y β -carotenos, también los polifenoles contribuyen de manera importante, (Delgado *et al.*, 2018) pues sus anillos aromáticos con sustituyentes hidroxilos les brindan una estructura especialmente adecuada para ejercer una acción antioxidante al poder actuar como donadores de hidrógenos o electrones o servir como atrapadores de radicales libres (Nakatani *et al.*, 2000).

Entre los polifenoles, los flavonoides constituyen el grupo más importante e incluye a más de 5.000 compuestos bien identificados (Harborne *et al.*, 2000). Todos poseen una estructura de 3 anillos consistentes en 2 centros aromáticos (anillos A y B) y un heterociclo oxigenado central (anillo C) y están típicamente conjugados a azúcares 9, clasificándose en 6 subgrupos: flavonoides, flavonas, flavanonas, isoflavonas, antocianinas y catequinas (Gee y Johnson, 2001).

El término «compuestos fenólicos» engloba a todas aquellas sustancias que poseen varias funciones fenol unidas a estructuras aromáticas o alifáticas. Estos compuestos actúan como fitoalexinas (las plantas heridas secretan fenoles para defenderse de posibles ataques fúngicos o bacterianos) y contribuyen a la pigmentación de muchas partes de la planta (Creus, *et al.*, 2004).

Los compuestos fenólicos constituyen uno de los grupos de sustancias más numerosas y ampliamente distribuidas en el reino vegetal, con más de 8000 estructuras ampliamente conocidas y pueden ser divididos en al menos 10 clases diferentes dependiendo de su estructura básica, estas clases son: fenoles simples, benzoquinonas, ácidos fenólicos, acetofenonas, ácidos fenilacéticos, ácidos hidroxiamínicos, fenilpropanos, cumarinas e isocumarinas, antraquinonas y los flavonoides (Wollgast *et al.*, 2000). Los flavonoides constituyen el grupo más importante de los polifenoles y se pueden dividir en 13 clases con más de 5000 compuestos descritos para el año 1990 (Wollgast y Anklam, 2000).

De acuerdo con el estudio realizado (Viluzca *et al.*, 2012) los chocolates blancos presentaron actividad antioxidante inferior al resto de los chocolates analizados a pesar de que los mismos no

contienen cacao en su formulación; se ha reportado que la manteca de cacao con el resto de los ingredientes durante la manufactura pudo contribuir a la actividad antioxidante en este tipo de chocolates.

Serafini et al., 2003, señala que la formación de los enlaces secundarios entre los flavonoides del chocolate y las proteínas (péptidos) de la leche en la elaboración del producto podrían ser una de las razones por la cual se puede presentar actividad antioxidante en el chocolate blanco.

1.4.1. Polifenol oxidasa (PPO)

Es una enzima involucrada en la oxidación de los polifenoles presentes en diferentes plantas y frutos. Cuando las células de los tejidos vegetales se encuentran sanas e intactas, la PPO y los sustratos (fenoles) se encuentran separados y ubicados en los cloroplastos y vacuolas respectivamente; pero cuando ocurre cualquier alteración, los fenoles y la PPO se juntan e inician las reacciones de oxidación (Badia *et al.*, 2004).

En los granos de cacao, la activación de la PPO es ocasionada por el incremento en la temperatura y por el cambio en las condiciones de pH que ocurren durante los procesos de fermentación y secado. Como consecuencia de la activación de la enzima, en presencia de oxígeno, ocurre la oxidación de los flavonoides, disminuyendo así la astringencia y el sabor amargo del cacao (Jinap *et al.*, 2004).

Pese a que la calidad sensorial del cacao aumenta después de los procesos de oxidación que ocurren en el beneficio, el contenido de polifenoles disminuye, afectando significativamente el valor funcional del cacao. Con el fin de obtener semillas de cacao (*Theobroma cacao* L.) con un elevado contenido de polifenoles y evitar los procesos de oxidación, se propuso la inactivación de la PPO en las semillas frescas, mediante un tratamiento térmico de escaldado. El grano obtenido mediante este tratamiento, aunque es amargo y astringente, se puede utilizar como materia prima en la industria farmacéutica y en la producción de suplementos dietarios y alimentos funcionales (Wollgast y Anklam, 2000).

1.4.2. Los polifenoles presentes en el cacao (*Theobroma cacao* L.) y almendra de cacao

Los flavonoides son los polifenoles más abundantes en el cacao. El chocolate es rico en flavonoides con la estructura de las catequinas y epicatequinas y sobre todo de los polímeros tipo procianidinas que se forman durante el procesamiento del grano de cacao (*Theobroma cacao* L.) por unión desde 2 a 10 monómeros de epicatequina debido a la acción en esas condiciones de la enzima polifenol oxidasa (Baba *et al.*, 2007).

Las procianidinas formadas por la unión de 2 a 6 monómeros de epicatequina son las más abundantes, mientras que las que contienen entre 2 y 5 monómeros son las formas más activas, probablemente debido a que la forma monomérica es metabolizada muy rápidamente y excretada, mientras las poliméricas mayores de 6 unidades pueden tener dificultades para penetrar las membranas celulares y son por tanto pobremente absorbidas (Weisburger *et al.*, 2001).

Las catequinas y procianidinas aisladas del cacao (*Theobroma cacao* L.) tienen fuertes propiedades antioxidantes *in vitro*, como lo demuestra al comparar las catequinas del chocolate con las del té, con respecto a las cuales muestran un efecto antioxidante 4 veces mayor, (Arts *et al.*, 1999). Siendo las catequinas y sus oligómeros unidos por enlace C4→C8 las de mayor efecto (Osakabe *et al.*, 2002). La cual podemos observar en la Tabla 4, contenido de polifenoles en semillas de cacao.

Tabla 4. Contenido polifenólico en semillas de cacao.

Catequinas	Antocianinas	Procianidinas	Flavonol Glicosidico
(-) – epicatequina	Cianidina -3- α -l-arabinosa	Procianidina B1	Quercetina -3- O- α -d-Arabinosa
(+)- Catequina	Cianidina -3- β -d-Galactosa	Procianidina B2	Quercetina -3-O- β -d-lucopiranososa
(+)- Galacatequina (-) – pigalocatequina	Procianidina B3 Procianidina B4 Procianidina B5 Procianidina B1	---	---

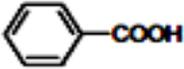
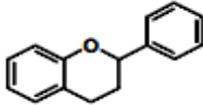
Fuente: Urbanski *et al.*, (1992).

1.4.3. Características de la estructura de los compuestos polifenólicos

Los compuestos fenólicos son el grupo más extenso de sustancias no energéticas presentes en los alimentos de origen vegetal. En la naturaleza existen una amplia variedad de compuestos que presentan una estructura molecular caracterizada por la presencia de uno o varios anillos fenólicos, estos compuestos podemos denominarlos polifenoles. Se originan principalmente en las plantas, que los sintetizan en gran cantidad, como productos de metabolitos secundario. Existen clases y subclase de polifenoles que se definen en función del número de anillos fenólicos que poseen y de los elementos estructurales que presentan estos anillos. Los principales grupos de polifenoles son: ácidos fenólicos (derivados del ácido hidro-xibenzoico o del ácido hidroxicinámico), estilbenos, lignanos, alcoholes fenólicos y flavonoides (Quiñones *et al.*, 2012).

En la Tabla 5, se ilustran las estructuras básicas de los compuestos polifenólicos más representativos (Bravo, 1998), de estos los flavonoides constituyen uno de los grupos más importantes y se agrupan en 13 clases con más de 5000 compuestos. Estas sustancias influyen en la calidad, aceptabilidad y estabilidad de los alimentos ya que actúan como colorantes, saborizantes y antioxidantes.

Tabla 5. Principales compuestos polifenólicos del cacao.

Clase	Esqueleto básico	Estructura básica
Ácido fenólico	$C_6 - C_1$	
Flavonoides	$C_6 - C_3 - C_6$	

Fuente: Bravo (1998).

A continuación, se hace una descripción de los compuestos fenólicos y su fuente:

- **Flavonoles.** Se caracterizan por poseer un grupo ceto en el carbono C_4 y una instauración entre los carbonos C_2 y C_3 . Poseen además un grupo hidroxilo adicional en el carbono C_3 .

Representan el grupo más ubicuo de polifenoles presente en los alimentos. La quercetina es el compuesto más representativo. Las principales fuentes de flavonoles son las verduras y las frutas. El té y el vino son también alimentos ricos en flavonoles. La biosíntesis de flavonoles es un proceso fotosintético. Por ello, estos compuestos se localizan principalmente en el tejido externo y aéreo de la planta. La distribución y la concentración de los flavonoles puede ser distinta incluso en frutas procedentes de la misma planta; esto se debe a que la localización de los frutos condiciona la exposición al sol. Poseen el anillo C saturado y un grupo hidroxilo en el carbono C. Pueden aparecer como monómeros o como polímeros con distintos grados de polimerización. A diferencia de otros grupos de flavonoides, sus combinaciones de tipo heterosídico (entre el grupo reductor del azúcar y un grupo tiol) son poco habituales. Los flavanoles más representativos en los alimentos son de tipo flavan-3-ol, y estos pueden aparecer como monómeros (catequinas), como dímeros condensados entre sí y como oligómeros (procianidinas), o bien pueden aparecer como polímeros (proantocianidinas o taninos condensados) (Quiñones *et al.*, 2012).

- **Epicatequina y catequina** son los compuestos mayoritarios en frutas. Las catequinas también se encuentran en el vino y en el chocolate, que son las fuentes mayoritarias. En cambio, galocatequina, epigalocatequina y epigalocatequina galato aparecen principalmente en el té. Los polifenoles que se conservan en los cotiledones son transformados mediante oxidación hacia quinonas, mediado por las Polifenol-Oxidasas (PPO), que como antes se dijo reduce el contenido de polifenoles (astringencia) y permite el desarrollo de color marrón (Vázquez *et al.*, 2016).

Es bastante complejo valorar el contenido de proantocianidinas en los alimentos, debido a que poseen un amplio rango estructural y pesos moleculares muy variables. Los datos mayoritarios disponibles, en cuanto a la caracterización de estos compuestos, hacen referencia principalmente a dímeros y trímeros de catequinas, que representan las formas mayoritarias. Aun así, en los últimos años, se están desarrollando nuevas técnicas de análisis, que conlleva a una mejor caracterización de todos estos compuestos (Quiñones *et al.*, 2012).

1.5. NORMATIVIDAD

A continuación, se relaciona la normatividad que se tuvo en cuenta para el desarrollo de la presente investigación:

- **Decreto 4003 de 2004.** Del Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural, por el cual se establece el procedimiento administrativo para la elaboración, adopción y aplicación de reglamentos técnicos, medidas sanitarias y fitosanitarias en el ámbito agroalimentario.

- **Decreto 4003 de 2004. Capítulo VI. Artículo N° 11, 12 y 13. Emisión de urgencia.** Cuando existan o amenacen existir problemas urgentes de protección sanitaria y fitosanitaria, se podrán omitir los trámites enumerados en los artículos precedentes y emitir reglamentos técnicos, medidas sanitarias o fitosanitarias de emergencia. Efectos del reglamento. Para aquellos reglamentos técnicos, medidas sanitarias o fitosanitarias de emergencia que afecten el comercio internacional, la notificación deberá surtirse a través del Punto de Contacto a la OMC, CAN, G3 y los demás países con los cuales Colombia suscriba tratados, dentro de los tres (3) días hábiles siguientes a la fecha de la publicación en el Diario Oficial, para medidas sanitarias y fitosanitarias y dentro de las veinticuatro (24) horas siguientes a la publicación en el Diario Oficial, para los reglamentos técnicos. Reglamento técnico que se establece con la presente resolución, fue notificado a la Organización Mundial del Comercio, OMC, mediante los documentos identificados con las signaturas G/SPS/N/COL/170/Add. 1 y G/TBT/N/COL/131/Add. 1 del 14 y 21 de julio de 2010, respectivamente.

- **Resolución 2674 del 2013.** Del Ministerio de Salud y Protección Social, por la cual se reglamenta el artículo 126 del Decreto-ley 019 de 2012 y se dictan otras disposiciones. Establece que los alimentos que se fabriquen, envasen o importen para su comercialización en el territorio nacional, requerirán de notificación sanitaria, permiso sanitario o registro sanitario, según el riesgo de estos productos en salud pública, de conformidad con la reglamentación que expida el Ministerio de Salud y Protección Social.

Que conforme con lo anterior, se hace necesario establecer los requisitos y condiciones bajo las cuales el Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos (Invima), como autoridad sanitaria del orden nacional, deberá expedir los registros, permisos o notificaciones sanitarias. Que

la presente resolución fue notificada a la Organización Mundial del Comercio (OMC), mediante los documentos identificados con las signaturas G/SPS/N/COL/249 y G/TBT/N/COL/191 del 19 y 20 de marzo de 2013.

- **Resolución 4124 de 1991.** Por lo cual se reglamenta el título V alimentos, de la ley 09 de 1979, en cuanto concierne a los antioxidantes que se pueden utilizar en alimentos. Ministerio de salud, Resolución número 4124 de 1991, (abril 15 de 1991). Por lo cual se reglamenta el Título V Alimentos, de la Ley 09 de 1979, en cuanto concierne a los ANTIOXIDANTES que se pueden utilizar en alimentos.

Tabla 6. Antioxidantes que se pueden utilizar en alimentos.

1. Ácido ascórbico y sus sales BPM	BPM
2. Ácido isoascórbico (eritórbico) y su sal de sodio hasta	500mg/kg
3. Ácido cítrico y su sal de sodio	BPM
4. Ter-butilhidroquinona TBHQ, sólo o en mezcla con BHA, BHT Y Galatos, pero estos no deben exceder de 100mg/kg	200mg/kg
5. Butilhidroxianisal BHA, sólo o en mezcla en TBHQ, BHT Y Galatos, pero éstos no deben exceder de 100 mg/kg	200mg/kg
6 Butilhidroxitolueno BHT, sólo o en mezcla con BHA, TBHQ o Galatos, pero éstos no deben exceder de 100mg/kg	200mg/kg
7. Citrato de isopropilo	100mg/kg
8. Citrato de monoglicerilo	100mg/kg
9. Estearato de ascorbilo, sólo o mezclado con Palmitato de ascorbilo	500mg/kg
10. Galatos de dodecilo, acrílico y propilo, solas o mezcladas con BHA, BHT o TBHQ	100mg/kg
11. Gomadeguayaco	BPM
12. Palmitato de ascorbilo, sólo o mezclado con Estearato de ascorbilo	500mg/kg
13. Tiodiopropianato de dilaurilo 14 Tocoferoles y alfatocoferoles	200mg/kg
14. Tocoferoles y alfatocoferoles	BPM

Fuente: Ministerio de Salud (1991).

- **Artículo 1.** Denomínense ANTIOXIDANTES las sustancias o mezclas de sustancias que retardan o impiden la aparición de alteraciones por oxidación de los alimentos.

Parágrafo. La anterior definición cubre igualmente aquellas sustancias reforzadoras de la acción antioxidante, denominadas Sinergistas de los antioxidantes.

- **Artículo 2.** Para efectos de la presente resolución, se permite la utilización de los siguientes Antioxidantes y Sinergistas de los antioxidantes, en las cantidades máximas determinadas para cada uno de ellos en el alimento listo para el consumo (tabla 6).

- **Resolución 1511 de 2011.** Por la cual se establece el reglamento técnico sobre los requisitos sanitarios que debe cumplir el chocolate y productos de chocolate para consumo humano, que se procese, envase, almacene, transporte, comercialice, expendan, importe o exporte en el territorio nacional. En la tabla 7, se pueden ver los requisitos fisicoquímicos que requiere para las formulaciones de chocolate blanco, estableciendo parámetros para manteca de cacao, grasa de la leche en polvo y azúcares, establecido en la Resolución 1511 del 2011.

Tabla 7. Requisitos fisicoquímicos para chocolate de consumo directo de chocolate blanco.

Constituyente y Producto	Manteca de cacao (<i>Theobroma cacao</i> L.) %	Sólidos de cacao (<i>Theobroma cacao</i> L.) desengrasado %	Total de sólidos de cacao (<i>Theobroma cacao</i> L.) %	Grasa de leche %	Sólidos no grasos de leche %	Sólidos Totales de leche %	Azúcares %
Chocolate y chocolate blanco.	> 20	-	-	= 3.5	-	= 14	-

Fuente: Ministerio de la Protección Social (2011)

- **NTC 792 (2008-04-09). Chocolate y sus sucedáneos para consumo directo.** Esta norma establece los requisitos fisicoquímicos y microbiológicos, y los métodos de ensayo que deben cumplir el chocolate y sus sucedáneos para consumo directo y las coberturas.

- **NTC 574 (2008-03-26).** Manteca de cacao; materia prima para productos de chocolatería; requisitos fisicoquímicos; requisitos microbiológicos. Esta norma establece los requisitos fisicoquímicos y microbiológicos que deben cumplir la manteca de cacao (*Theobroma cacao* L.) empleada como ingrediente en la fabricación de chocolate y productos de chocolate.

- **CODEX STAN 87-1981, Rev. 1-2003.** Norma para el chocolate y los productos del chocolate. La norma se aplicará al chocolate y los productos del chocolate destinados al consumo

humano y descrito en la sección 2. El chocolate y los productos de chocolate deben ser preparados a partir de cacao o derivados del cacao con azúcares y podrán contener edulcorantes, productos lácteos, sustancias aromatizantes y otros ingredientes alimentarios.

- **NTC 3929:2009. Análisis sensorial. Metodología. Métodos del perfil del sabor.** Esta norma describe una familia de métodos para descripción y valoración del sabor de productos alimenticios por evaluadores calificados y entrenados.

- **GTC 165:2014. Análisis sensorial. Metodología. Guía general.** Proporciona una guía general sobre el uso del análisis sensorial. Describe las pruebas para la evaluación de alimentos mediante el análisis sensorial e incluye información sobre las técnicas a utilizar si se requiere el análisis de los datos.

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto de la temperatura de exposición sobre el contenido de polifenoles totales en la elaboración del chocolate blanco, con el fin de ofrecer una alternativa de consumo.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Elaborar un chocolate blanco con polifenoles extraídos de la variedad de Cacao (*Theobroma cacao* L.) FSV 41.
- Evaluar las características de color, químicas y microbiológicas del chocolate blanco con polifenoles.
- Evaluar sensorialmente el chocolate blanco con polifenoles.
- Determinar el efecto de la temperatura y el tiempo de exposición en la elaboración del chocolate blanco con polifenoles.

3.

4. PLAN DE TRABAJO

Con el fin de alcanzar los objetivos planteados se llevaron a cabo cuatro fases.

Fase 1. Elaboración de un chocolate blanco con polifenoles.

Esta etapa se llevó a cabo en la Escuela Latinoamérica de Chocolatería en el municipio de Piedecuesta, bajo los conocimientos como instructor del área de chocolatería. La formulación de un chocolate blanco se desarrolló a partir del cumplimiento de los requisitos establecidos en la Resolución 1511 de 2011 y las diferentes formulaciones trabajadas en la Escuela Latinoamérica de Chocolatería (tabla 8 y Anexo A)

Tabla 8. Formulación patrón para elaborar un chocolate blanco con polifenoles.

Ingredientes	%	Gramos
Manteca de cacao desodorizada	35	1750
Azúcar pulverizada	38,59	1925
Leche entera en polvo	14	700
Leche descremada en polvo	12	600
Lecitina de soya	0,4	20
Ethil vainiline	0,01	5
Total de fórmula	100	5000

Fuente: Ministerio de la Protección Social (2011)

A nivel nacional no se conoce una norma que regule la cantidad de polifenoles que puede adicionarse a un chocolate blanco. Solo hay técnicas en el país para la determinación de la cantidad de polifenoles que contienen, por lo cual se parte de la Resolución 4124 de 1991 (tabla 6).

Se realizaron ensayos a nivel de laboratorio para determinar la cantidad de polifenoles totales presentes en tres chocolates líderes en el mercado nacional, como lo son los chocolates blancos de las marcas Monblanc, Hershey's y JET y una muestra de las tabletas de chocolate blanco

elaborados en la Escuela Latinoamérica de Chocolatería del SENA sede lo Piedecuesta. Este análisis se realizó en el laboratorio de alimentos CICTA de la Universidad Industrial de Santander. Además, se empleó como material vegetal, el clon regional FSV41, el cual es el segundo con mayor cantidad de polifenoles, según resultados de estudio y caracterización realizado por la Federación Nacional de Cacaoteros y la Universidad Industrial de Santander.

La extracción de polifenoles a partir de granos de cacao procedentes de la Finca del SENA sede Aguas Calientes ubicada en El Playón, Santander, se realizó en el Centro de Investigación en Ciencia y Tecnología de Alimentos – CICTA de la Universidad Industrial de Santander.

En la figura 3, se muestra el diagrama de flujo del proceso de elaboración de cobertura de chocolate

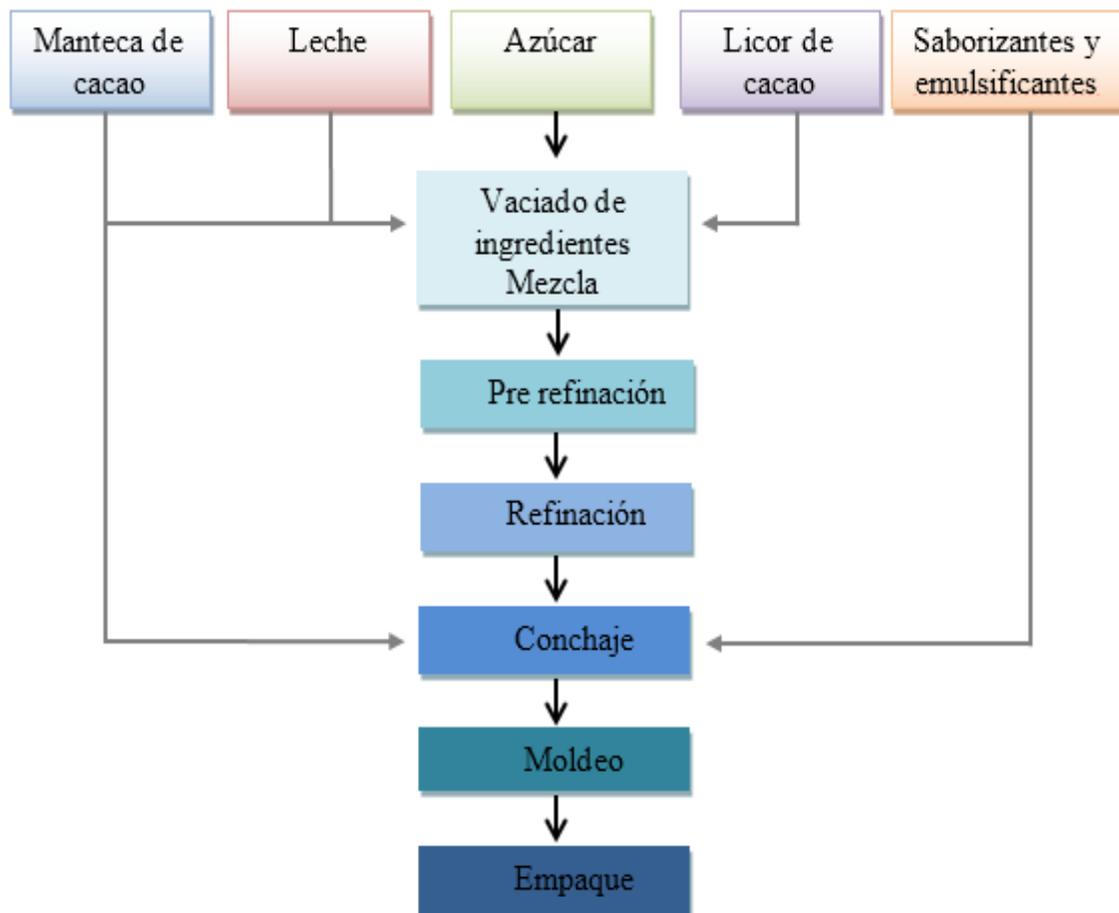


Figura 3. Flujograma del proceso de elaboración de cobertura de chocolate

Una vez establecida la matriz y las cantidades de polifenoles por añadir, se elaboraron cuatro coberturas de chocolate blanco con diferentes concentraciones de polifenoles para un total de 4 tratamientos (T). En el T1 no se agregaron polifenoles (patrón o blanco), en el T2 se agregaron un 0,1% de polifenoles, al T3 se agregaron una concentración de 0,3% y por último al T4 un 0,8% de polifenoles.

Fase 2. Evaluar el color, características químicas y microbiológicas de cada tratamiento.

Esta fase se divide en tres etapas:

- 1). Evaluación del color de cada tratamiento: determinación del color por colorimetría con el equipo lector de color CR-20, se realizaron nueve (9) mediciones a cada tratamiento, para un total de treinta y seis (36). Estas mediciones se llevaron a cabo en el laboratorio de análisis sensorial del Centro de Atención al Sector Agropecuario, del SENA sede Piedecuesta, Santander (Anexo C).

- 2). Determinación de las características químicas para cada tratamiento: contenido de humedad, cenizas, grasa, proteína, carbohidratos totales, calorías, azúcares reductores, cadmio, así como el contenido de teobromina, cafeína, catequina, epicatequina y polifenoles totales. Lo anterior se realizó en el laboratorio de alimentos CICTA de la Universidad Industrial de Santander.

- 3). Análisis microbiológico de cada tratamiento, dando cumplimiento a la NTC 792 de 2008 y la Resolución 1511 de 2011, mediante las pruebas de recuento de Aerobios Mesófilos, de Coliformes Totales, Coliformes Fecales, Detección de *Salmonella* spp/ 25 g y recuento de Mohos y Levaduras, los cuales se llevó el análisis en el laboratorio de alimentos y aguas INOCUALAB S.A.S.

Fase 3. Evaluación sensorial de los tratamientos.

Se realizaron pruebas, *discriminativas* por medio de la encuesta denominada prueba de umbral de detección, *descriptivas* mediante la prueba de evaluación de análisis cuantitativo y de perfil del sabor y las pruebas *afectivas*, con la encuesta de escala hedónica verbal. NTC 3929 de 2009.

Participaron quince (15) panelistas, integrantes del panel entrenado en catación de licor de cacao y coberturas de chocolate del Centro de Atención al Sector Agropecuario, del SENA sede Piedecuesta, Santander.

Fase 4. Determinación del efecto de la temperatura y tiempo exposición en el desarrollo de un chocolate blanco con polifenoles.

Se analizaron los datos obtenidos mediante el software estadístico SPSS v. 22, con un análisis de varianza a un nivel de significancia del 0,05. Lo anterior, con el fin de determinar el efecto de la temperatura, tiempo de exposición y su interacción sobre el contenido de polifenoles en un chocolate blanco. Para esto, se realizaron para cada tratamiento tres (3) replicas, denominadas prueba 1, 2 y 3.

5. MATERIALES Y MÉTODOS

La parte experimental del trabajo se desarrolló en las instalaciones de la planta de chocolate del SENA, ubicado en Guatiguara, Piedecuesta, Santander.

Los análisis de polifenoles se llevaron a cabo en los laboratorios de la Universidad Industrial de Santander (UIS), Centro de Investigación en Ciencias y Tecnología de Alimentos (CICTA).

Los análisis microbiológicos se realizaron en el laboratorio INOQUALAB, análisis de alimentos y aguas.

Las pruebas de color y sensoriales se realizaron en el laboratorio de análisis sensorial del Centro de Atención al Sector Agropecuario SENA Piedecuesta, Santander, el cual cuenta con las condiciones ambientales requeridas (6 cubículos, buena iluminación y aireación) y un panel entrenado en catación de licor de cacao y coberturas de chocolate, siguiendo los parámetros definidos en la GTC 165.

5.1. MATERIAS PRIMAS

Para la elaboración de un chocolate blanco con adición de polifenoles, se utilizaron las siguientes materias primas; manteca de cacao desodorizada de CasaLuker, azúcar blanca, leche en polvo entera y descremada de Colanta, lecitina de soya para disminuir la viscosidad, vainillina para dar sabor de empresa Silesia y polifenoles de cacao FSV41.

- **Material vegetal FSV 41:** clon de Cacao (*Theobroma cacao* L.) proveniente del municipio El Playón, desarrollados en la Sede Aguas Calientes del SENA.
- **Polifenoles:** El proceso de obtención de polifenoles se realizó en el Centro de Investigación en Ciencia y Tecnología de Alimentos laboratorio CICTA de la Universidad Industrial de Santander UIS, con el método de extracción con dilapidación, determinación del perfil de ácidos grasos, extracción sin deslipidación y liofilización.

- **Chocolate blanco:** Se partió de una formulación patrón establecida por la escuela de chocolatería compuesta por:
- **Manteca de cacao desodorizada:** obtenida por presión de la pasta de cacao, sometida posteriormente a procesos de refinación y desodorización, producto desodorizado libre de olores y sabores, Parámetros Físicoquímicos:- Humedad: 0,4% máx., acidez (expresada como ácido oleico): min 0,5 % - máx. 1,75 %, Punto de Fusión: 32 °C – 34 °C, Ácidos Grasos Trans: 0, ácidos Grasos Saturados: 60,5 %, Ácidos Grasos Monoinsaturados: 35,5 %, Ácidos Grasos Poliinsaturados: 4,0 %, Color: amarillo claro, Sabor: característico a manteca de cacao.
- **Azúcar Pulverizada:** Refinada, alta pureza, sólido cristalizado constituido esencialmente por sacarosa, con una humedad del 0,07 %, fundamental esta variable en el proceso de elaboración de chocolate blanco.
- **Leche Entera en Polvo:** composición de la leche marca comercial Colanta con un contenido de grasa total 11 %, grasa saturada 20 %, colesterol (15 mg) 5 %, sodio (105 mg) 4 %, carbohidratos totales (10 g) 3 %, proteína (6 g)12 % vitamina A y D 20 % y Calcio 25 %, los porcentajes diarios en dieta de 2000 calorías.
- **Leche Descremada en polvo:** marca comercial Colanta colesterol (5 mg) 2 %, Carbohidratos (13 g) 4 %, proteína (9 g) 18 % vitamina A y D 20 % y Calcio 30 %, los porcentajes diarios en dieta de 2000 calorías.
- **Lecitina de soya:** contiene por cada 100 g: 41,8 %, carbohidratos 2.6%, fibra 73.3 % grasa 99.7 % y vitamina E 9,21 mg

5.2. MATERIALES

- Utensilios

Los utensilios utilizados para las diferentes pruebas realizadas en la elaboración de chocolate blanco fueron; termómetro marca CDN digital, micrómetro marca Mitutoyo digital, microondas

digital marca Samsung, balanza marca BBG de laboratorio, termohigrometro para control de temperatura y humedad relativa, espátulas de acero inoxidable cortas y largas, recipientes plásticos y espátulas de plásticas como mezcladores.

- **Equipos**

Los equipos necesarios en el desarrollo de un chocolate blanco fueron; Waffa ó molino refinador utilizado para mezclado refinado y homogenización de las materias primas, el siguiente equipo fue el Hiber, el cual se utiliza para refrigeración del chocolate, el cual tiene control de temperatura y control de humedad relativa, evitando el deterioro de los chocolates por absorción de humedad y el ultimo equipo utilizado fue el colorímetro el cual nos permite dar una aproximación de cambios de color de las diferentes pruebas de chocolate blanco, con adición de polifenoles de cacao (*Theobroma cacao* L.).

5.3. MÉTODOS

5.3.1. Elaboración de un chocolate blanco con polifenoles extraídos de la variedad de Cacao (*Theobroma cacao* L.) FSV 41.

1. **Obtención de extractos de polifenoles.** Este proceso se realizó en el Centro de Investigación en Ciencia y Tecnología de Alimentos laboratorio CICTA de la Universidad Industrial de Santander UIS, empleando la siguiente metodología:

- **Extracción con deslipidación.** Comprende las etapas de desengrasado y extracción de polifenoles, según lo propuesto por Cadena y Herrera (2008). Un gramo (1 g) de muestra será desengrasado con 10 ml de n-hexano en un baño ultrasónico (LC 30H, Elma Ultrasonics) por 15 min a 30 °C. Seguidamente, se centrifugó (equipo Heraeus Megafuge 16R, Thermo Fisher Scientific) a 3500 rpm durante 15 min a 25 °C. Este proceso se realizó tres veces. Para la extracción de polifenoles, la muestra desengrasada fue puesta en contacto con 20 ml de una solución etanol: agua (50:50, v/v) a 60 °C y agitación constante durante 15 min. Luego, se centrifugo (utilizando los mismos parámetros empleados en el desengrasado) y el sobrenadante se pasó a través de papel filtro (Filter Paper, Munktell), finalmente las fracciones filtradas

fueron concentradas mediante evaporación a 50 °C y 100 mbar (roto evaporador R-210, Büchi). Cada extracto fue aforado a un volumen de 25 ml con una solución etanol: agua (50:50, v/v) y almacenado a 4 °C hasta su uso. Se prepararon tres extractos por muestra recolectada.

- **Determinación del perfil de ácidos grasos.** La fracción hexanólica obtenida en la etapa anterior fue analizada mediante cromatografía gaseosa siguiendo la metodología ISO 5509/5508.

- **Extracción sin deslipidación.** se siguió el procedimiento estandarizado por el Laboratorio de Alimentos CICTA y que se encuentra en proceso de patente.

- **Liofilización.** Los extractos obtenidos en los numerales anteriores fueron sujetos a un proceso de liofilización, procedimiento estandarizado por el Laboratorio de Alimentos CICTA, se basa en el desecado de determinados materiales por medio de la sublimación del agua contenida en éstos. Se realiza congelando el producto y se remueve el hielo aplicando calor en condiciones de vacío, de esta forma el hielo sublima evitando el paso por la fase líquida.

- **Determinación del contenido de polifenoles totales de los extractos etanólicos:** Se determinó mediante el ensayo de Folin-Ciocalteu (F-C), siguiendo el procedimiento descrito por Wollgast. El contenido de polifenoles se expresa como equivalentes de ácido gálico (mg ÁG/g de muestra).

- **Determinación del contenido de polifenoles en las materias primas:** Se realizaron pruebas preliminares a las materias primas, obteniendo un contenido promedio de 0,57 gramos de ácido gálico/gramos de muestra, aportado por la leche en polvo entera y leche en polvo descremada marca Colanta.

2. **Elaboración de un chocolate blanco (matriz).** Para el desarrollo de un chocolate blanco se partió de la formulación patrón (Tabla 8), donde se observaron los ingredientes, porcentajes y cantidades:

Se desarrollaron las formulaciones de un chocolate blanco con polifenoles de granos de cacao (*Theobroma cacao* L.) extraídos de la variedad Fedacacao San Vicente (FSV 41), en las siguientes

concentraciones de: T1: 0 %, T2: 0.1 %, T3: 0.3 % y T4: 0.8 % de polifenoles, elaborando 4 baches partiendo de una base de cálculo de 5 kilos de masa, pesando los ingredientes de acuerdo a lo establecido en la Resolución 1511 de 2011.

Los ingredientes se mezclaron en el equipo refinador Waffa 20, de acuerdo a las cantidades presentadas en la tabla 8, siguiendo el flujograma de elaboración descrito para coberturas de chocolate blanco (figura 4), hasta obtener una mezcla homogénea de todos los ingredientes, alcanzando rangos de temperatura mínima de $40 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ y máxima de $50 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$, manteniéndola controlada durante 4 horas.

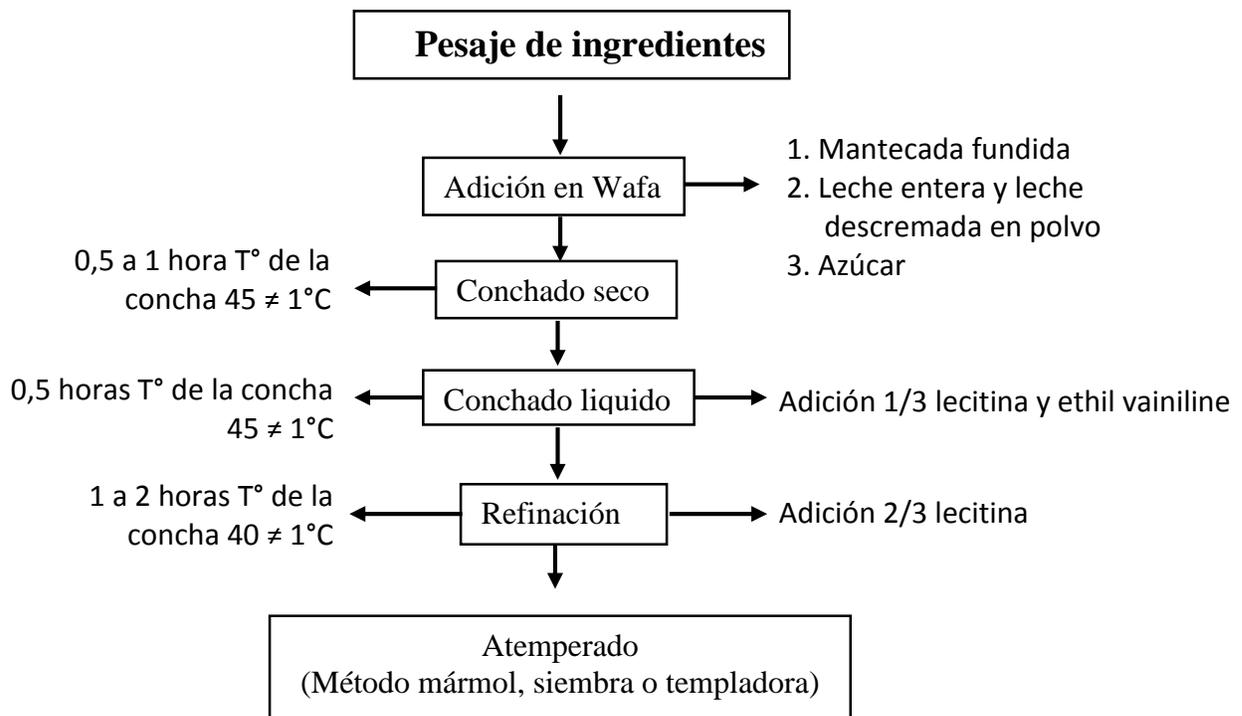


Figura 4. Flujograma de fabricación de chocolate blanco. Fuente: Fórmulas estandarizadas del SENA.

3. Polifenoles añadidos en la formulación (chocolate blanco). Se procedió a añadir los polifenoles extraídos (*Theobroma cacao* L.) de la variedad Fedacacao San Vicente (FSV 41). La dosis empleada de polifenoles se determinó según parámetros de la normatividad: Resolución 1511

de 2011 norma para el chocolate y los productos de chocolate CODEX STAN 87-1981, Rev. 1-2003 alimentario y Resolución 4124 de 1991, tomando como referencia la cantidad máxima utilizada con antioxidantes artificiales (BHT, BHA, BTHQ) cuya formulación está entre 100 - 200 mg/kg.

Se realizaron 3 repeticiones del proceso de elaboración de chocolate blanco, hasta estandarizar las cantidades por balance de materia de polifenoles utilizando las siguientes concentraciones T1: 0%, T2: 0.1%, T3: 0.3% y T4: 0.8% de polifenoles, para que el producto final estuviera acorde con los requerimientos específicos de antioxidantes bajo la Resolución 4124 de 1991. En esta etapa se midieron los polifenoles por el método Folin-Ciocalteu, Determinando cual fue la muestra con polifenoles con mejor estabilidad y cantidad de antioxidantes.

5.3.2. Evaluación del color, características químicas y microbiológicas del chocolate blanco.

- **Evaluación del color.** El análisis físico de medición del color se realizó con el equipo lector de color CR-20 con nueve (9) mediciones de acuerdo con el espacio de color $L^*a^*b^*$, también referido como CIELAB.

Tabla 9. Evaluación de color para chocolate blanco.

Parámetro	Método de referencia	Técnica
Color	Procedimiento SENA	Infrarrojo cercano

Fuente: Laboratorio análisis sensorial SENA.

- **Evaluación química.** Se midieron: humedad, cenizas, grasa, proteína, carbohidratos totales, calorías, azúcares reductores, cadmio, así como teobromina, cafeína, catequina, epicatequina y polifenoles totales, de acuerdo con lo establecido en la Resolución 1511 del 2011. Se tomaron 100 gramos de muestra de cada tratamiento (T1: 0%, T2: 0.1%, T3: 0.3% y T4: 0.8%), y se analizaron por triplicado.

Tabla 10. Evaluación de características químicas de chocolate blanco con polifenoles.

Parámetro	Método de referencia	Técnica
Humedad*	GOMESL.01	Gravimétrico – secado en estufa
Ceniza*	GOMECH.01	Gravimétrico – calcinación
Grasa*	GOMEGC.01	Gravimétrico – Soxhlet
Proteína	GOMEPL.01	Gravimétrico – Kjeldahl
Carbohidratos totales	Resolución 333 de 2011	Cálculo
Calorías	Resolución 333 de 2011	Cálculo
Azúcares Reductores	Procedimiento estandarizado UIS	Cromatografía de gases
Cadmio	AOAC 999.11	Absorción atómica

Fuente: Centro de Investigación en Ciencia y Tecnología de Alimentos laboratorio CICTA - UIS

- **Evaluación microbiológica.** Se tomaron muestras de cada tratamiento (T1: 0 %, T2: 0.1 %, T3: 0.3 % y T4: 0.8 %), y se analizaron por duplicado de acuerdo con la NTC 792 de 2008 y la resolución 1511 de 2011; mediante pruebas de recuento de Aerobios Mesófilos, de Coliformes Totales, Coliformes Fecales, detección de Salmonella sp /25 g (técnica ausencia presencia, método READYCUL, cantidad 25 g.) y recuento de mohos y levaduras.

Tabla 11. Evaluación de características microbiológicas de un chocolate blanco con polifenoles.

Parámetro	Método de referencia	Técnica
Recuento de Aerobios Mesófilos	NTC 4519	Recuento en placa
Recuento de Coliformes Totales	NTC 4458	Número más probable
Recuento Coliformes Fecales	NTC 4458	Número más probable
Detección de Salmonella sp/ 25g	NTC 4574	Detección
Recuento de Mohos y Levaduras	NTC 5698 - 2	Recuento en placa

Fuente: Laboratorio INOQUALAB análisis de alimentos y aguas

5.3.3. Evaluación sensorial del chocolate blanco, con adición de polifenoles de cacao (*Theobroma cacao* L.) FSV 41

A las muestras seleccionadas, se les realizaron tres tipos de pruebas:

Tabla 12. Evaluación de características sensoriales de un chocolate blanco con polifenoles.

Parámetro	Método de referencia	Técnica
Pruebas discriminativas	Umbral de detección	1
Pruebas descriptivas	Análisis cuantitativo Perfil del sabor	2
Prueba afectiva	Escala hedónica verbal	1

Fuente: Autor

1. Pruebas discriminativas: la prueba de sensibilidad determina la habilidad de cada uno de los panelistas para el reconocimiento y percepción de los cuatro sabores básicos, de acuerdo con la NTC 3929 del 2009 (Anexo D). Aplicada por medio de la encuesta denominada prueba de umbral de detección.

2. Pruebas descriptivas: los panelistas establecieron descriptores para las características sensoriales de un chocolate blanco con polifenoles, y seguidamente utilizan los descriptores para cuantificar las diferencias entre las formulaciones, se realizó mediante la aplicación de dos en pruebas, la primera la evaluación de análisis cuantitativo y la segunda de perfil del sabor (Anexo E y F).

3. Prueba afectiva: Se aplicó la encuesta prueba de escala hedónica verbal, con la finalidad que los consumidores evaluaran las cuatro muestras bajo la escala que inicia en me gusta muchísimo, me es diferente, y terminando me disgusta muchísimo, lo anterior de acuerdo con la norma ISO 11136: 2014 (Anexo G).

5.3.4. Análisis del efecto de la temperatura y el tiempo de exposición en el desarrollo de un chocolate blanco con polifenoles.

Se aplicó un análisis de componentes principales, permitió establecer similitud sin sesgar la muestra, identifica factores de análisis de muestras y su comportamiento en escala, donde se relacionaron las características obtenidas en un chocolate blanco desarrollado, analizado y su relación con la temperatura, tiempos de exposición, atributos de calidad sensorial de un chocolate blanco para cada tratamiento (T1: 0 %, T2: 0.1 %, T3: 0.3 % y T4: 0.8 %).

5.4. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE DATOS.

Los datos obtenidos fueron analizados mediante el software estadístico SPSS v. 22, aplicando un análisis de varianza con un nivel de significancia del 0.05, con el fin de determinar el efecto de las variables independientes temperatura y tiempo de exposición y sus interacciones sobre el contenido de polifenoles en un chocolate blanco, como no se presentó diferencias estadísticas significativas para los tiempos de 5 10 y 15 minutos no se aplicó la prueba Post Hoc de DMS y Tukey.

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1. CHOCOLATE BLANCO CON POLIFENOLES EXTRAÍDOS DE LA VARIEDAD DE CACAO (*THEOBROMA CACAO L.*) FSV 41.

6.1.1. Determinación del contenido de polifenoles totales de los extractos etanólicos de la variedad de cacao (*Theobroma cacao L.*) FSV 41

De acuerdo con los resultados reportados por el Laboratorio de Alimentos CICTA- UIS, los extractos etanólicos de la variedad de cacao (*Theobroma cacao L.*) FSV 41 presentaron un contenido de g ácido gálico/g muestra de cáscara de cacao, con un rendimiento de extracción del material vegetal del 3%.

Estos resultados coinciden con los reportados por Barragán y Villamizar (2014), quienes obtuvieron 0.58%. Otras investigaciones han encontrado que el contenido de polifenoles en la cáscara de cacao es 1,78 g ácido gálico /100 g muestra Ordoñez, *et al.*, (2019). Por otra parte, Sangrois *et al.*, (2014), Abdul (2014) obtuvieron mayor contenido de polifenoles en el extracto de la cáscara de cacao, mientras que Manzano (2017) reportó contenidos menores (6,04 mg ácido gálico/g de muestra).

6.1.2. Contenido de polifenoles en las materias primas

En la tabla 13 se presentan los resultados del contenido de polifenoles totales de las materias primas empleadas en la elaboración del chocolate blanco, determinando el aporte polifenoles de dichas materias primas.

Tabla 13. Resultado del contenido total de polifenoles en las materias primas y en los chocolates comerciales.

PRODUCTO	PARÁMETROS	UNIDAD	RESULTADO
Materias primas			
Leche entera Colanta	Polifenoles totales	mg ácido gálico/g muestra	0,57
Leche descremada Colanta	Polifenoles totales	mg ácido gálico/g muestra	0,58
Manteca sin desodorizar (Amarilla)	Polifenoles totales	mg ácido gálico/g muestra	n.d.
Manteca desodorizada (Blanca)	Polifenoles totales	mg ácido gálico/g muestra	n.d.
Muestras comerciales			
Chocolate blanco Montblanc	Polifenoles totales	ácido gálico/ g de muestra	0,30
Chocolate blanco Hershey's	Polifenoles totales	g ácido gálico/ g de muestra	1,23
Chocolate blanco Jet	Polifenoles totales	g ácido gálico/ g de muestra	1,47
Chocolate SENA	Polifenoles totales	g ácido gálico/ g de muestra	0,45

Fuente: Laboratorio de Alimentos CICTA- UIS, (Anexo H - I).

Como se observa en la tabla 13, la leche entera (0.57 mg ácido gálico/g muestra) y la leche descremada (0.58 mg ácido gálico/g muestra) fueron las materias primas que portaron 0,575 mg ácido gálico/g muestra en promedio. Mientras que el contenido de polifenoles en los chocolates blancos comerciales analizados oscila entre 0,30 a 1, 47 g ácido gálico/ g de muestra. Serafini *et al.*, 2003, señalan que la formación de enlaces secundarios entre los flavonoides del chocolate y las proteínas (péptidos) de la leche durante la elaboración del producto podría ser una de las razones por la cual se puede presentar actividad antioxidante en el chocolate blanco.

En la tabla 14, se muestra el contenido de polifenoles inicial y final, después del proceso de elaboración del chocolate blanco, evidenciándose un aporte de polifenoles por materia prima y adición de los extractos.

Tabla 14. Cantidad agregada de polifenoles en la matriz de chocolate blanco, por tratamiento.

Tratamiento	Cantidad adicionada (g)	Contenido de polifenoles iniciales (mg ácido gálico/g muestra)	Contenido de polifenoles finales (mg ácido gálico/g muestra)	Disminución de polifenoles) (mg ácido gálico/g muestra)
T 1	0	0,55	0,49	0,06
T 2	5	0,83	0,75	0,08
T 3	15	0,94	0,85	0,09
T 4	40	1,12	0,93	0,19

De acuerdo con el estudio realizado por Di Mattia *et al.*, (2014) quienes reportaron que la actividad antioxidante y la concentración de polifenoles del chocolate se reducen significativamente por el efecto de la temperatura en los procesos de conchado lo cual concuerda con los resultados obtenidos en el presente trabajo, en el proceso de mezclado y refinado donde alcanza temperaturas de 50°C los polifenoles añadidos se disminuyen en la cobertura de chocolate blanco, observando que la cantidad de polifenoles aportados por los extractos favorecen a los chocolates blancos elaborados en los tratamientos, de acuerdo al porcentaje de la formulación patrón.

6.1.3. Contenido de polifenoles totales en muestras de chocolate blanco con extractos etanólicos

En la tabla 15, se muestran los componentes de los grupos de polifenoles en las diferentes formulaciones. Según Cádiz, *et al.*, (2014), los componentes de los grupos de polifenoles más abundantes en cacao son metabolitos tipo flavonoide, especialmente tres grupos básicos con un núcleo común tipo flavan-3-ol: catequinas (37%), antocianinas (4%) y proantocianidinas (58%). indica que la principal catequina es la epicatequina que representa cerca del 30% del contenido de polifenoles.

Tabla 15. Resultado contenido de los componentes de los grupos de polifenoles en los 4 tratamientos.

Componentes de polifenoles analizados	T1: 0 %	T2: 0,1 %	T3: 0,3 %	T4: 0,8 %	Unidad	Norma
Teobromina	n.d.	0,06	0,17	0,42	1 mg/g	Resolución 3096 de 2007
Cafeína	n.d.	0,03	0,06	0,14	1 mg/g	
Catequina	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	1 mg/g	
Epicatequina	n.d.	0,1	0,23	0,62	1 mg/g	
Polifenoles totales	0,18	0,57	0,88	2,16	1 mg/g	

*n.d.= no detectado

En la presente investigación se determinó que los parámetros anteriormente mencionados presentaron un incremento en los valores de: Teobromina 0,42 (mg/g muestra), Cafeína 0,14 (mg/g muestra), y Epicatequina 0,62 (mg/g muestra) con respecto a la muestra patrón (T1) la cual no presento valores reportados en el análisis realizado. Estos resultados se corroboraron con lo encontrado por Cadena y Herrera (2008), quienes consideran que las diferencias en la composición y cantidad de polifenoles son influenciadas por la actividad antioxidante, así mismo, puede explicarse por las diferencias en los métodos de manufactura que puede causar alteraciones químicas en el contenido de polifenoles. En la elaboración del chocolate blanco se realizaron las operaciones de refinado, atemperado y calentamiento por microondas, los cuales tienen incidencia en la estabilidad de los polifenoles.

Al respecto la Resolución 3096 de 2007 del Ministerio de la Protección Social, establece el reglamento técnico sobre las condiciones y requisitos que deben cumplir los suplementos dietarios que declaren o no información nutricional, propiedades nutricionales, propiedades de salud o cuando su descripción produzca el mismo efecto de las declaraciones de propiedades nutricionales o de las declaraciones de propiedades en salud.

6.1.4. Resultados del balance de materia.

En general, el balance de polifenoles se realizó para determinar las pérdidas por calentamiento, considerando las mermas en las etapas de mezcla y refinado en elaboración de un chocolate blanco (figura 5).

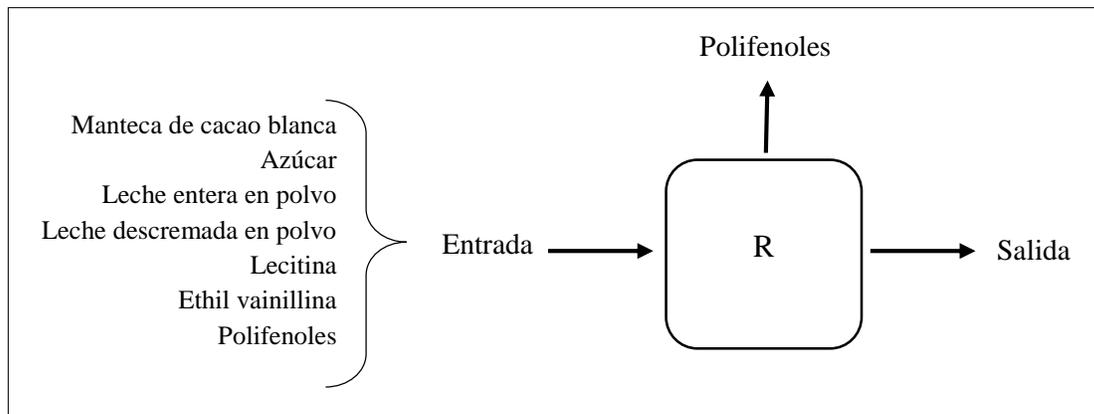


Figura 5. Proceso de refinado y mezclado para un chocolate blanco.

De acuerdo con los resultados del balance de materia realizados en la estandarización de las cantidades de polifenoles adicionados se determinó que, en la elaboración de chocolate blanco con polifenoles, se presentó una merma del contenido de polifenoles, por ejemplo, en el tratamiento 2 de un 42,52%. Por otra parte, se mostró una merma de 9,64% durante el proceso de calentamiento en la elaboración del chocolate blanco para una base cálculo de 100 Kg (Anexo K).

6.2. RESULTADOS DE LA EVALUACIÓN DEL COLOR, CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS Y MICROBIOLÓGICAS DE UN CHOCOLATE BLANCO.

6.2.1. Resultados de la evaluación del color de un chocolate blanco desarrollado.

El color para los cuatro tratamientos permitió determinar que la adición de polifenoles de cacao (*Theobroma cacao* L.) al chocolate blanco presenta una ligera variación en los valores L^* , a^* y b^* .

En la figura 6, se observa el cambio de color en un chocolate blanco según la concentración de T1, T2, T3 y T4.



Figura 6. Cambio de color incididos por la adición de los 4 tratamientos.

En la figura 7, se observa la variación en la luminosidad para los 4 tratamientos (T1: 0%, T2: 0.1%, T3: 0.3% y T4: 0.8%), evidenciando que la muestra patrón (T1: 0 %) presenta mayor luminosidad con un valor de 81,6 que los tratamientos con polifenoles, a mayor concentración menor luminosidad, siendo el tratamiento 4 el que presenta menor luminosidad con un valor de 63.

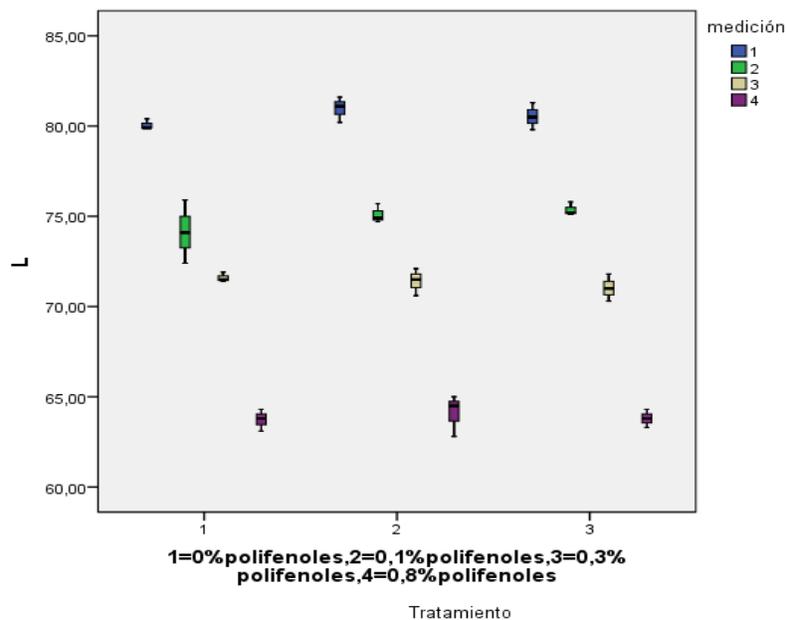


Figura 7. Resultados del diagrama de cajas y bigotes para el parámetro de luminosidad en los 4 tratamientos.

En la figura 8, se muestra que el tratamiento 4 presenta tonalidades rojas con valores más altos para $a^*(10,00)$ respecto a la muestra patrón T1 con valores de 0,48 evidenciando que los tratamientos con mayor concentración de polifenoles (T2, T3, T4), presentan mayor valor a^* oscilando entre 1,96; 3,04; 10,03 respectivamente.

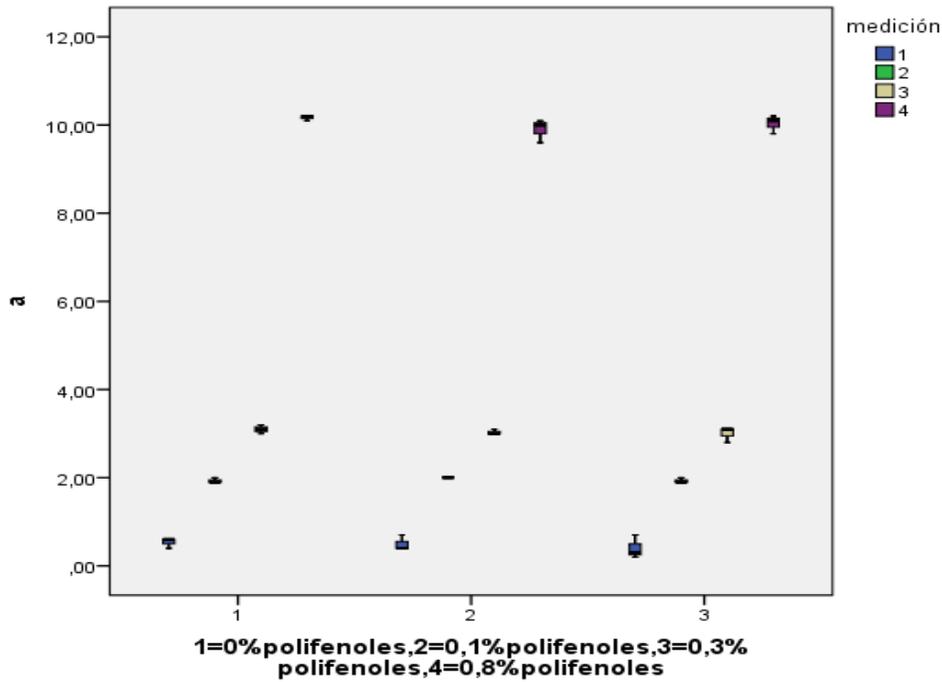


Figura 8. Resultados del diagrama de cajas y bigotes para el parámetro de $a^*=$ coordenadas rojo/verde en los 4 tratamientos. .

Para el caso del parámetro b^* en las cajas y bigotes del tratamiento 4, se observa una variabilidad en los valores $d + b^*$ con relación a los tratamientos 1, 2 y 3, indicando que existen cambios en las tonalidades de las muestras debido a las concentraciones de polifenoles de cacao (*Theobroma cacao* L.) adicionados en cada uno de los tratamientos (figura 9).

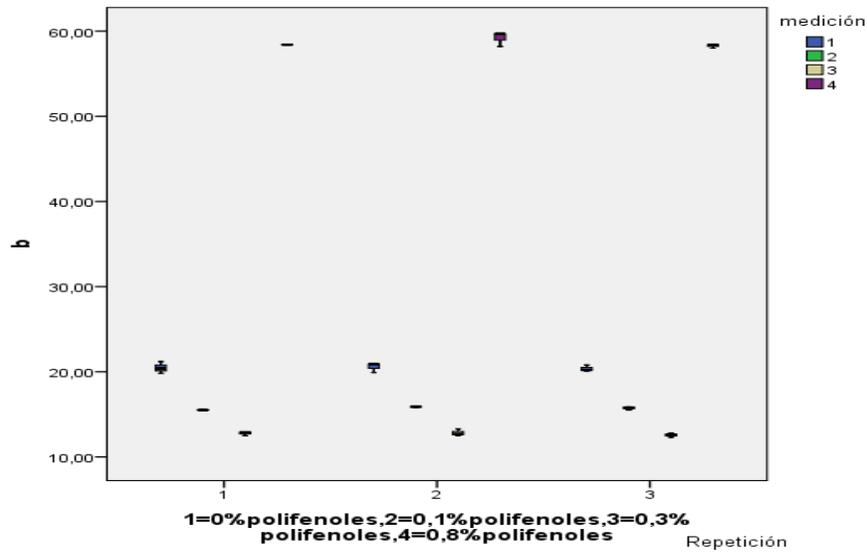


Figura 9. Resultados de *Caja de bigotes* b^* = coordenadas amarillo/azul en los 4 tratamientos

De acuerdo con la figura 10, se establece que el tratamiento 4 presenta tonalidades de color amarillo –rojo $+a^*$ con menor luminosidad mientras que los tratamientos 2 y 3 presentan tonalidades azul –verde $+b^*$ y mayor luminosidad con respecto al tratamiento T1 (patrón). Evidenciando que a mayor concentración de polifenoles adicionados al chocolate blanco menor luminosidad presentan.

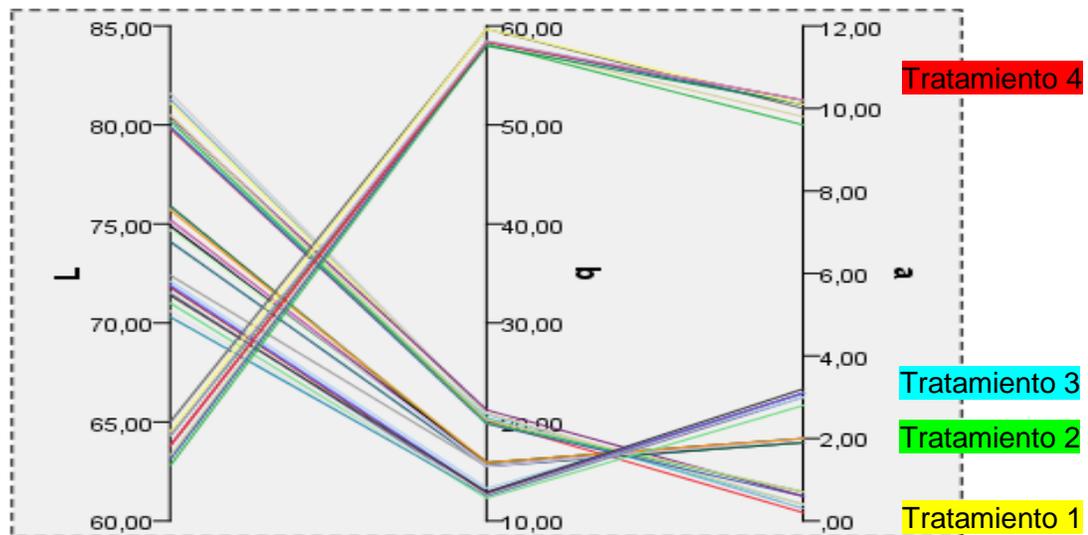


Figura 10. Representación gráfica del color de un chocolate blanco con polifenoles adicionados para los 4 tratamientos.

De acuerdo al color de los polifenoles (violeta), las antocianinas, son responsables de los colores rojo, azul, violeta, naranja y púrpura de muchos frutos por su notable actividad antioxidante y que, en cacao se ha demostrado el contenido de polifenoles o células de pigmentos de los cotiledones, en cacao van de color blanco a violeta oscuro, dependiendo de la cantidad de antocianinas presentes Hainly *et al.*, (2011), se pudo observar cambios significativos en las diferentes matrices adicionadas con antioxidantes, las muestras con mayor concentración de polifenoles reflejaron mediciones más altas de color en la dirección al eje de coordenada +a* (color rojo), lo cual indica que las muestras presentan una mayor tonalidad del color rojo en su composición debido al contenido de polifenoles quien es el que se los aporta.

6.2.2. Resultados de las características químicas de chocolates blancos

En la tabla 16, Se muestra la composición química en cada uno de los tratamientos, se presenta variación en los tratamientos 2, 3 y 4 en el porcentaje de humedad comparados con el tratamiento (T1).

Tabla 16. Composición química de las muestras de un chocolate blanco con adición de polifenoles.

Parámetros	Unidad	T1: 0 %	T2: 0,1 %	T3: 0,3 %	T4:0,8 %	Parámetro	Norma
Humedad*	g/100 g (%)	2,09	1,97	1,74	1,93	<3 %	Resolución 1511 de 2011
Ceniza*	g/100 g (%)	1,8	1,82	1,86	1,87	10% m/m	CODEX - PRODUCTOS DEL CACAO Y EL CHOCOLATE Berna, Suiza. 16-18 de noviembre de 1998
Grasa*	g/100 g	39,61	39,69	39,64	39,36	> 20	Resolución 1511 de 2011
Proteína	g/100 g (%)	7,16	7,33	7,32	7,29	---	n.d.
Carbohidratos totales	g/100 g (%)	49,34	49,19	49,44	49,55	---	n.d.
Calorías	kcal/100 g muestra	582,46	583,24	583,79	581,59	---	n.d.
Azúcares Reductores	g/100 g (%)	10,07	10,3	10,01	10,23	---	n.d.
Cadmio	mg/kg	0,33	0,33	0,33	0,33	0,60 mg/kg,	FAO/WHO CODEX - CONTAMINANTES DE ALIMENTOS 9 Reunión, Nueva Delhi, India, 16-20 de marzo de 2016

En la tabla 16, vemos una variación en los componentes de los chocolates con referencia a los polifenoles, en composición de ceniza es directamente proporcional con la cantidad de polifenoles adicionados, en el cuarto tratamiento tenemos una cantidad de 1,87 g/100 g (%). Para los parámetros de grasa, proteína, las variaciones de composición fueron estables de acuerdo con la formulación inicial aplicada en la elaboración de la cobertura.

En cuanto a las calorías totales, calorías y azúcares reductores, no se presentaron variaciones significativas para los tratamientos T1, T2, T3, y T4, por lo cual los polifenoles no afectan la composición proximal de las diferentes coberturas de chocolates blancos.

6.2.3. Resultados de los análisis microbiológicos de los tratamientos.

Los resultados del análisis microbiológico realizados (tabla 17) presentaron una excelente calidad microbiológica, que se evidencian en los recuentos en Aerobios Mesófilos (10 ufc/g), coliformes (<3 nmp/g), recuento de mohos y levaduras (<10 ufc/g), ausencia de Salmonella sp/25 g cumpliendo con la Resolución 1511 del 2011, y la NTC 792 del 2008.

Tabla 17. Resultados del análisis microbiológico del chocolate blanco con polifenoles.

Parámetro	T1: 0 % polifenoles	T2: 0,1% polifenoles	T3: 0,3% polifenoles	T4: 0,8% polifenoles	Límite permitido	Técnica
Recuento de Aerobios Mesófilos	<10 UFC/g	<10 UFC/g	<10 UFC/g	120 UFC/g	10,000-20,000 UFC/g	Recuento en placa
Recuento de Coliformes Totales	<3 NMP/g	<3 NMP/g	<3 NMP/g	<3 NMP/g	<3 NMP/g	Número más probable
Recuento Coliformes Fecales	<3 NMP/g	<3 NMP/g	<3 NMP/g	<3 NMP/g	<3 NMP/g	Número más probable
Detección de Salmonella sp/ 25g	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Detección
Recuento de Mohos y Levaduras	<10 UFC/g	<10 UFC/g	<10 UFC/g	<10 UFC/g	100-200 UFC/g	Recuento en placa

6.3. EVALUACIÓN SENSORIAL DEL CHOCOLATE BLANCO.

A continuación, se presentan los resultados de las diferentes pruebas de evaluación sensorial realizadas por el grupo de jueces entrenados en evaluación sensorial de Cacao adscritos al SENA, Guatiguara.

En la figura 11, se observa a los panelistas realizando la evaluación sensorial del producto y su participación en la aplicación de las diferentes pruebas



Figura 11. Análisis sensorial de los 4 tratamientos

6.3.1. Prueba de umbral de detección – discriminativa.

De acuerdo con Quintana, L. y Gómez, J, (2010), pruebas de sensibilidad se emplean para el entrenamiento de panelistas, en donde se determina la habilidad de cada uno de los panelistas para el reconocimiento y percepción de los cuatro sabores básicos. Se aplicó la prueba de umbral de detección.

Como umbral se conoce a la mínima cantidad percibida de un estímulo el cual puede ser de detección o reconocimiento. El objetivo de las pruebas de umbral es registrar las intensidades percibidas y apreciadas de un estímulo proporcionado. Se basa principalmente en la detección y reconocimiento del estímulo o del cambio de intensidad.

Casos en que se aplica: Los umbrales de detección y reconocimiento se emplean básicamente para selección de catadores o panelistas, entrenamiento de catadores o investigaciones.

La prueba de umbral de detección – discriminativa, permitió evaluar cuatro (4) muestras de cobertura de chocolate blanco y determinar las diferencias o similitudes de sabor en cada una de ellas.

Tabla 18. Determinación del umbral, panel entrenado en catación de licor de cacao y coberturas de chocolate.

Panel	Atributo	Tratamiento 1	Tratamiento 2	Tratamiento 3	Tratamiento 4
Catador 1	Dulce	x	x	x	x
	Salado				
	Amargo				
	Acido				
Catador 3	Dulce	x	x		x
	Salado				
	Amargo				
	Acido			x	
Catador 4	Dulce	x	x		x
	Salado				
	Amargo				
	Acido			x	

Catador 5	Dulce	x	x	x	
	Salado				
	Amargo				
	Acido				x
Catador 6	Dulce	x	x	x	x
	Salado				
	Amargo				
	Acido				
Catador 7	Dulce	x			
	Salado				
	Amargo			x	
	Acido		x		x
Catador 8	Dulce	x	x	x	x
	Salado				
	Amargo				
	Acido				
Catador 9	Dulce	x			
	Salado		x		
	Amargo			x	x
	Acido				
Catador 10	Dulce	x			
	Salado				
	Amargo		x	x	x
	Acido				
Catador 11	Dulce	x	x	x	x
	Salado				
	Amargo				
	Acido				
Catador 12	Dulce	x	x	x	x
	Salado				
	Amargo				
	Acido				
Catador 13	Dulce	x		x	
	Salado				
	Amargo		x		x
	Acido				
Catador 14	Dulce	x	x	x	
	Salado				
	Amargo				x
	Acido				
Catador 15	Dulce	x	x	x	x
	Salado				
	Amargo				
	Acido				

En la tabla 18 determinación del umbral, el sabor predominante dulce es una característica sensorial propia del chocolate blanco.

A continuación, se muestran los resultados obtenidos de la prueba umbral de detección – discriminativa:

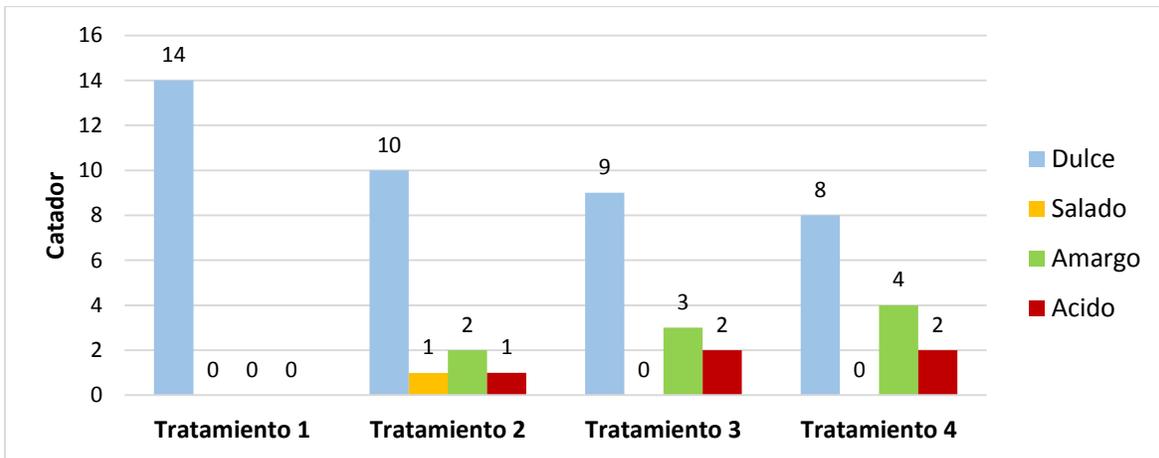


Figura 12. Resultado determinación de umbral del panel entrenado en catación de licor de cacao y coberturas de chocolate.

En todos los tratamientos se percibió la alta concentración de dulce, característica de sabor del chocolate blanco; en la medida que aumenta la concentración de polifenoles se acentúa el sabor amargo y ácido, generando disminución en la percepción de dulce.

6.3.2. Prueba de perfil de sabor – descriptiva.

Por medio del formato prueba de perfil de sabor - descriptiva se evaluaron los cuatro (4) tratamientos de cobertura de chocolate blanco, con el fin que fuera valorada la intensidad de cada sabor, siendo 0 (cero) baja/ausente y 5 (cinco) alta intensidad.

Se solicitó seleccionar con una X la casilla de 0 a 5, según la intensidad del atributo que percibieran los panelistas.

En las figuras 13, 14, 15 y 16 se aprecia el perfil de sabor para cada tratamiento.

El sabor dulce fue predominante en el tratamiento 1, donde se percibieron notas muy bajas de astringencia, afrutado y amargo, lo cual se debe al tipo de matriz utilizada en la elaboración de esta muestra, teniendo en cuenta que este tratamiento no tiene adición de polifenoles (Figura 13).

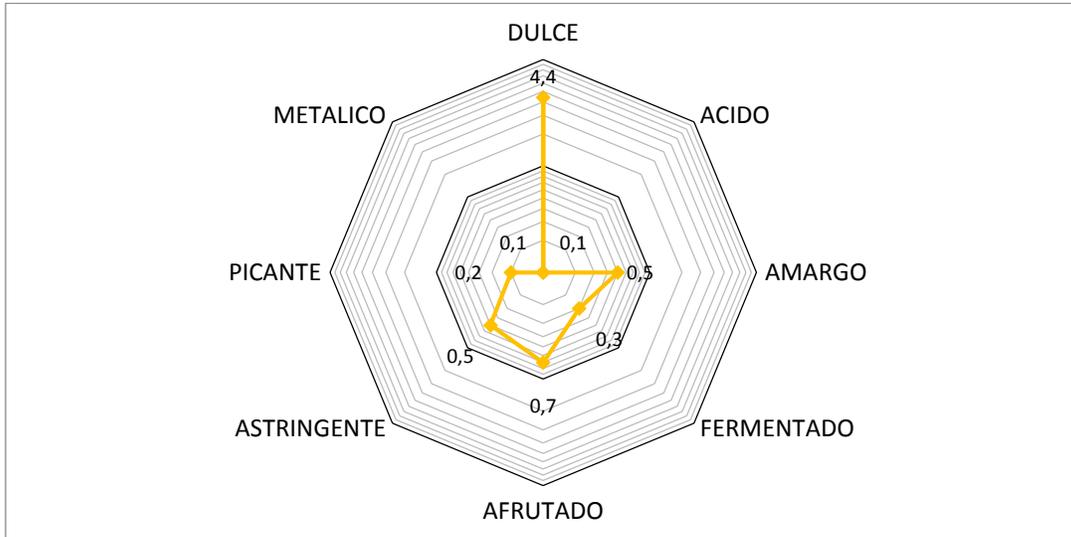


Figura 13. Resultados del perfil de sabor de un chocolate blanco sin adición de polifenoles (T 1).

El criterio de mayor intensidad de sabor en el tratamiento 2 de chocolate blanco, fue la intensidad del sabor dulce con un promedio de percepción de 4,1 en una escala de 5, donde 5 refiere alta intensidad; en el análisis del perfil se presentan notas secundarias para los sabores de afrutado, astringencia, amargo y fermentado y ausencia de sabor picante y metálico (Figura 14).

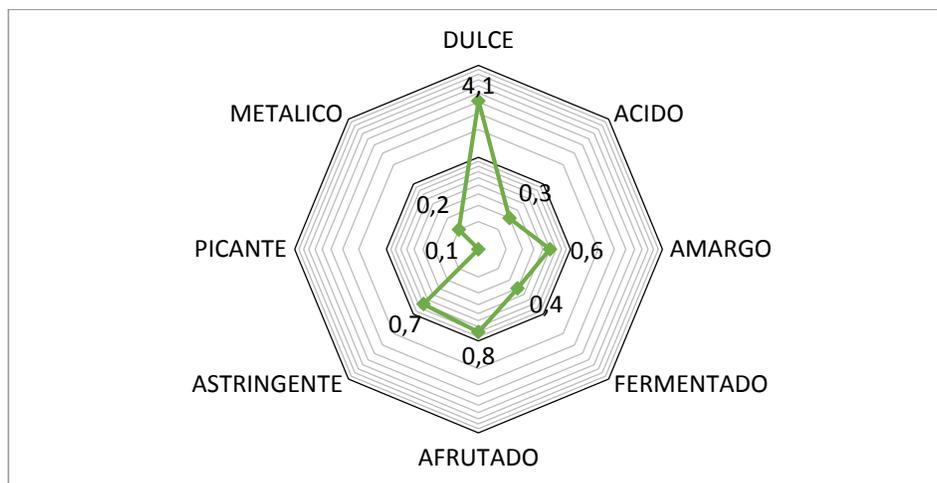


Figura 14. Resultados del perfil de sabor de un chocolate blanco sin adición de polifenoles (T 2).

Al analizar la tendencia de los sabores, aunque también fue altamente percibido el dulce a razón que es chocolate blanco; el tratamiento 3 contiene mayor concentración de polifenoles, por lo que se percibe una mayor escala sabores como acido, amargo y afrutado que no fueron tan representativos en el tratamiento 1 y 2 (Figura 15).

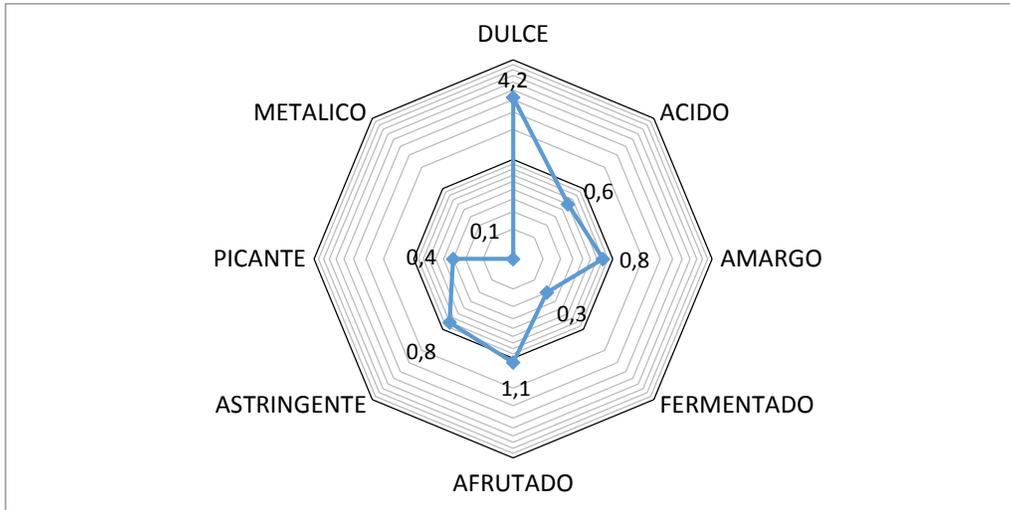


Figura 15. Resultados del perfil de sabor de un chocolate blanco sin adición de polifenoles (T 3).

En la evaluación del tratamiento 4, se percibió una alta intensidad del sabor dulce con un promedio de 4,1 y a diferencia de los tratamientos 1, 2 y 3 se perciben notas con intensidad más alta como afrutado con un promedio de 1,4, astringencia 1,3 y amargo con un promedio de 1,2 (Figura 16).

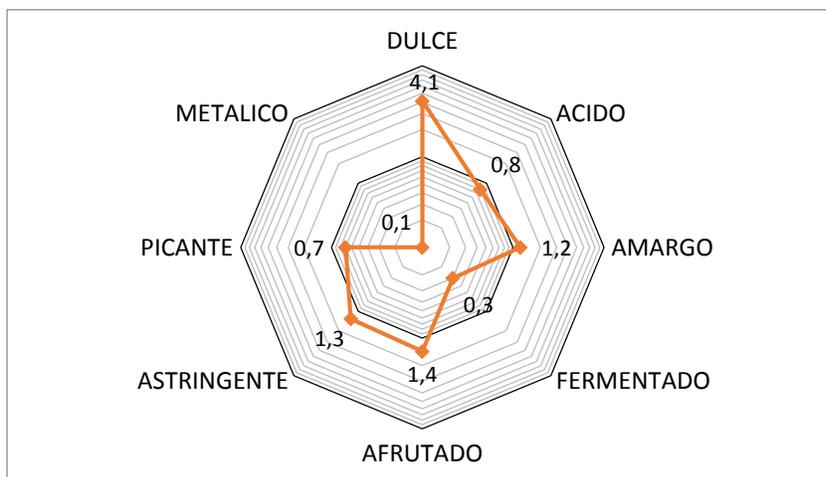


Figura 16. Resultados del perfil de sabor de un chocolate blanco sin adición de polifenoles (T 4).

Se pudo inferir que la astringencia de los chocolates se debe a las concentraciones altas de antioxidantes del cacao por sus características organolépticas, para los tratamientos 2 y 3 fue detectado el sabor astringente en una escala baja por poseer menos concentración de polifenoles en referencia al tratamiento 4.

6.3.3. Prueba análisis cuantitativo – descriptiva.

La prueba de análisis cuantitativo – descriptiva permitió evaluar para cada tratamiento los atributos sabor, textura y aroma para determinar la intensidad de acuerdo con la escala desde baja hasta alta intensidad, se presentaron cuatro (4) muestras de cobertura de chocolate blanco, una por cada tratamiento.

El análisis realizado a los cuatro tratamientos donde se valoraron los atributos de sabor dulce, astringente, ácido y amargo, marco una tendencia similar a la prueba de perfil de sabor - descriptiva expuesta anteriormente, donde predominó con una alta intensidad el sabor dulce con una valoración promedio de 4,0 la cual corresponde al tratamiento 1, y menos dulce el tratamiento 4 representado en 3,5.

Así mismo, se valoraron cuáles fueron las diferencias sensoriales existentes, de manera que, para la valoración del sabor astringente, la intensidad más alta fue en el tratamiento 4 y la más baja en el tratamiento 1, estando directamente relacionada con la concentración de polifenoles, existiendo una correlación para el sabor amargo. Para el atributo de sabor ácido la intensidad fue baja representada en un 0,9 en promedio para los cuatro tratamientos (Figura 17).

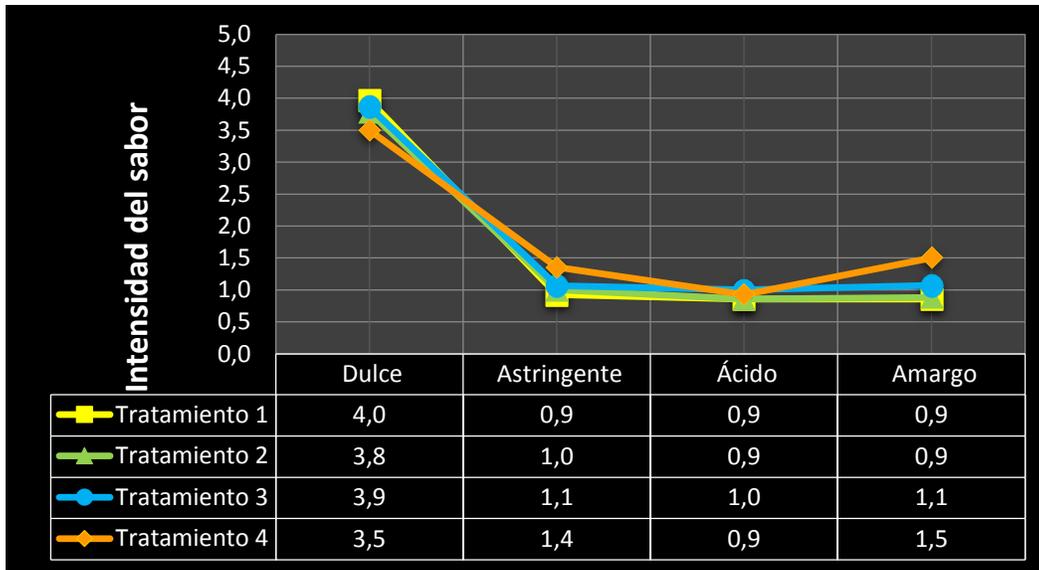


Figura 17. Atributo de sabor de un chocolate blanco con polifenoles para los 4 tratamientos.

Además, para los cuatro tratamientos se determinaron las características de textura arenosidad, suavidad, gomosidad, grasosidad y dureza, las cuales fueron percibidas para todos los tratamientos con una intensidad promedio superior al 1,1.

La estructura física de la fase grasa es la responsable del brillo, dureza, fracturabilidad, estabilidad al calor, sensación en la boca, liberación de aroma y en general de la satisfacción del consumidor (Jorge, 2011; Afoakwa *et al.*, 2007), para la matriz utilizada en la elaboración de un chocolate blanco se tiene una fase grasa, la cual representa el 35% de la formulación y el 65% restante constituye los sólidos solubles de la formulación, generando cambios proporcionales en los atributos de arenosidad y dureza del producto.

Se destaca en este análisis en el respectivo orden la característica de suavidad, grasosidad y dureza. Por el contrario, con la intensidad más baja de percepción la textura arenosa en el tratamiento 4 con una escala promedio de 1,1 (Figura 18).

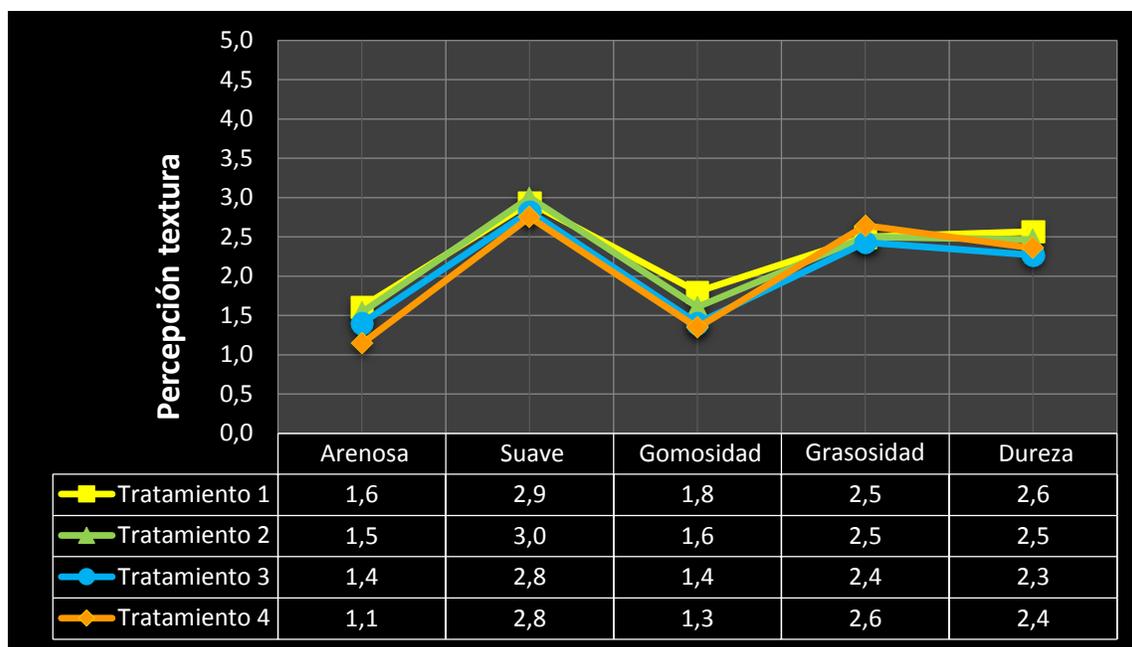


Figura 18. Atributo de textura de un chocolate blanco con polifenoles para los 4 tratamientos.

Para el caso del atributo de aroma en los 4 tratamientos se caracterizaron en láctico, caramelo, afrutado y vegetal verde, los cuales son propios de los diferentes perfiles de las coberturas de chocolate con leche y oscuros.

De la figura 18, se infiere que el sabor láctico fue el percibido con mayor intensidad, a razón que está presente en la matriz patrón de elaboración en un 26% incorporada por los ingredientes leche entera y descremada en polvo; de los cuatro tratamientos, en el tratamiento 1 se percibió la intensidad más alta con una medición promedio de 3,2 teniendo en cuenta que esta muestra no tuvo adición de polifenoles.

El siguiente atributo con una escala sensorial de percepción más alta por los catadores fue el caramelo, representado en promedio con una valoración 2,2. Por otra parte, el sabor afrutado tuvo una percepción promedio para los cuatro tratamientos de 1,6 y el sabor menos percibido fue el vegetal verde con un promedio de 1,1, puesto que no hay compuesto de grano de cacao que son los precursores de estos aromas en los procesos de fermentación (Figura 19).

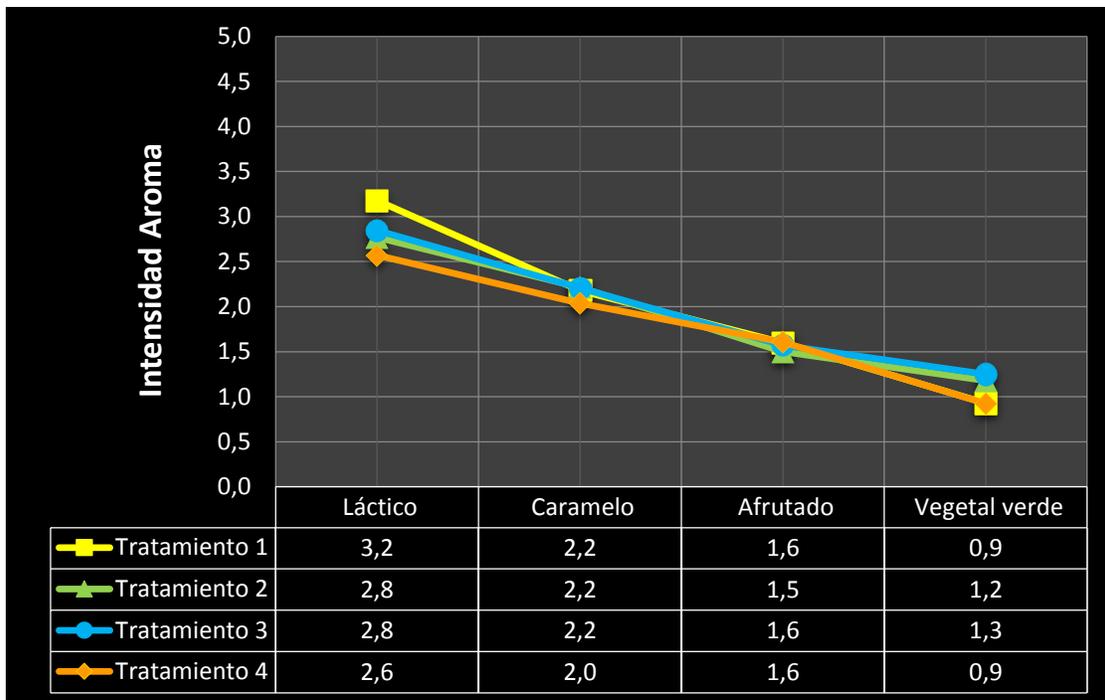


Figura 19. Atributo de Aroma de un chocolate blanco con polifenoles para los 4 tratamientos.

De acuerdo con Afoakwa, Paterso, Fowler, y Angela (2008), los péptidos y aminoácidos libres hidrofóbicos, específicamente la leucina, alanina, fenilalanina, y tirosina liberados durante la fermentación por la actividad de la proteinasa aspártica y la carboxipeptidasa, contribuyen al sabor y aroma mediante la reacción con fructosa y glucosa (presentes en los granos frescos) en la elaboración de un chocolate blanco por no contener licor de cacao, no es posible percibir los atributos de aroma propios del cacao por procesos de fermentación.

6.3.4. Prueba escala hedónica verbal – afectiva.

En la prueba escala hedónica verbal – afectiva al probar cada una de las muestras los consumidores seleccionaron con una X la frase que mejor describía su opinión sobre el producto probado, entre las siguientes opciones: me gusta muchísimo, me gusta mucho, me gusta moderadamente, me gusta un poco, me gusta muy poco, me es indiferente, me disgusta un poco, me disgusta moderadamente, me disgusta mucho y me disgusta muchísimo.

De acuerdo con la prueba hedónica verbal – afectiva la valoración de los cuatro tratamientos según la escala de medición, los tratamientos 3 y 4 fueron percibidos por los consumidores me gusta muchísimo, por el contrario, los tratamientos que menos gustaron fueron los números 1 y 2, teniendo valoraciones como me gusta muy poco, me es indiferente y me disgusta un poco (Figura 20).

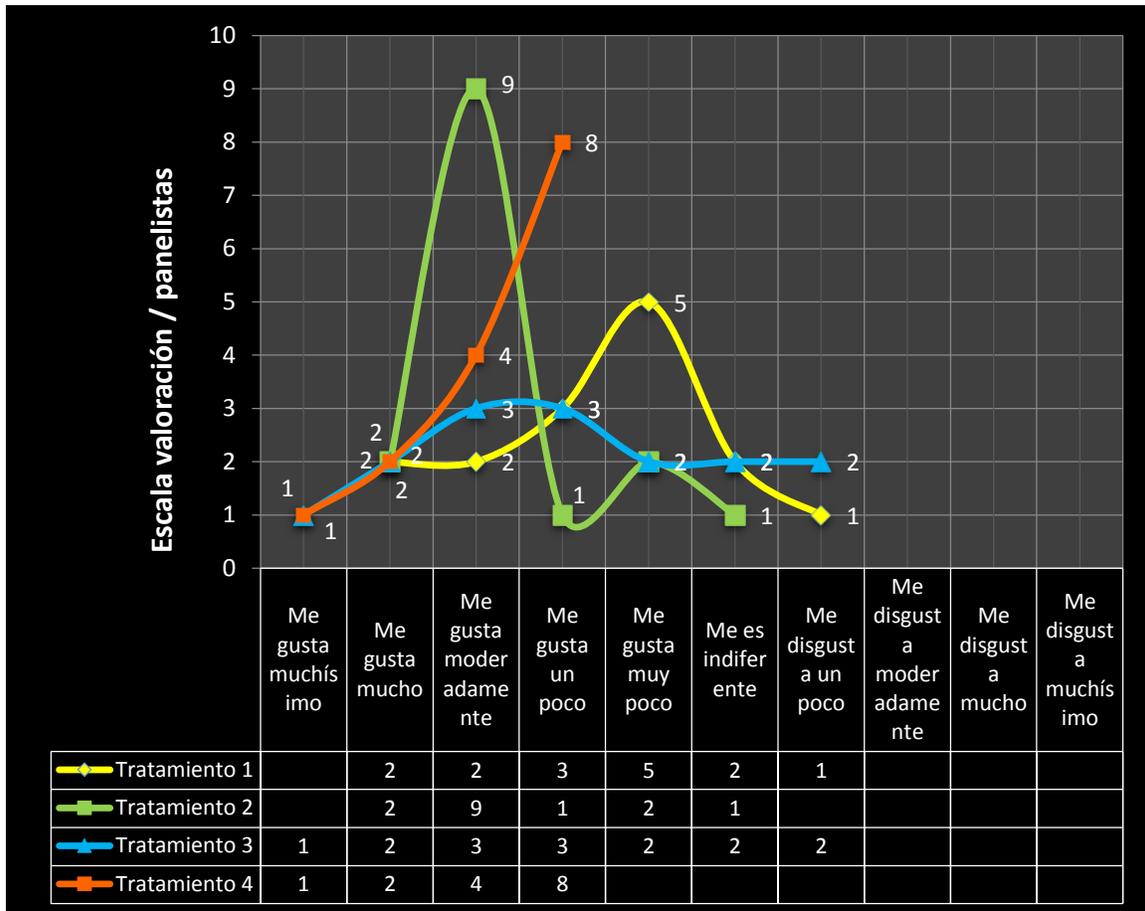


Figura 20. Resultados prueba escala hedónica verbal – afectiva de un chocolate blanco con polifenoles para los 4 tratamientos.

De acuerdo con Vázquez *et al.* (2016), los polifenoles confieren sensación de amargo y astringencia y contribuyen a los olores verde y afrutado.

La figura 20 permite inferir que los tratamientos con más concentración de polifenoles tuvieron mayor aceptación por parte de los panelistas, a diferencia de los otros tratamientos, el número 4 estuvo valorado únicamente entre la escala “me gusta muchísimo”, “me gusta mucho”, “me gusta

moderadamente”, “me gusta un poco”, en consecuencia, permite relacionar mayor aceptación para este tratamiento, que contiene el porcentaje más alto de polifenoles.

Sin embargo, es de resaltar que el porcentaje de azúcares es alto en la formulación del chocolate blanco y la cantidad de polifenoles adicionada alcanza un porcentaje máximo de 0,8%, por lo que la percepción de amargo es baja.

Ninguno de los tratamientos tuvo una percepción en la escala de “me disgusta moderadamente”, “me disgusta mucho” o “me disgusta muchísimo”.

6.4. EFECTO DE LA TEMPERATURA Y EL TIEMPO DE EXPOSICION SOBRE EL CONTENIDO DE POLIFENOLES ADICIONADOS.

En la figura 21, se puede observar una disminución del 69,23% (0,25 mg ácido gálico / g muestra) del contenido de polifenoles totales inicial 0,65 mg ácido gálico / g muestra contenido en el chocolate blanco (T 1), esta disminución se presenta en tiempos cortos de exposición de 5, 10 y 15 minutos a temperaturas entre 42 y 49 °C, quedando con una concentración final de 0,45 mg ácido gálico/g muestra.

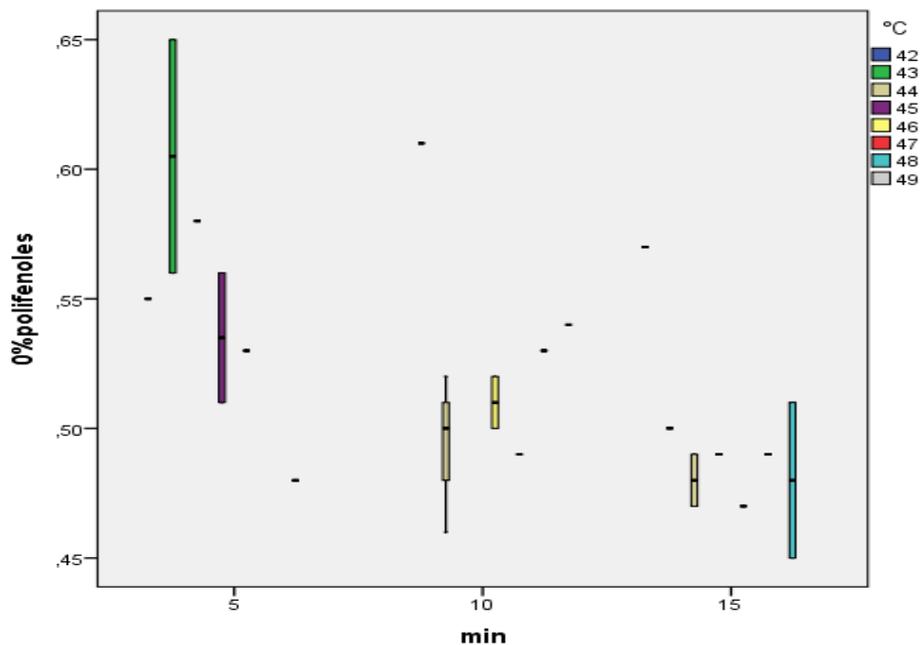


Figura 21. Efecto de la temperatura y el tiempo de exposición sobre el contenido de polifenoles en el tratamiento 1

En la figura 22 se observa una disminución del 0,10 mg ácido gálico / g muestra del contenido de polifenoles totales inicial 0,85 mg ácido gálico / g muestra contenido en el chocolate blanco con el 0.1% de polifenoles extraídos (T 2). Esta disminución se presenta en mayor proporción a medida que se incrementan los tiempos de exposición de 5, 10 y 15 minutos a temperaturas entre 42 y 49 °C, quedando con una concentración final de 0,75 mg ácido gálico/g muestra.

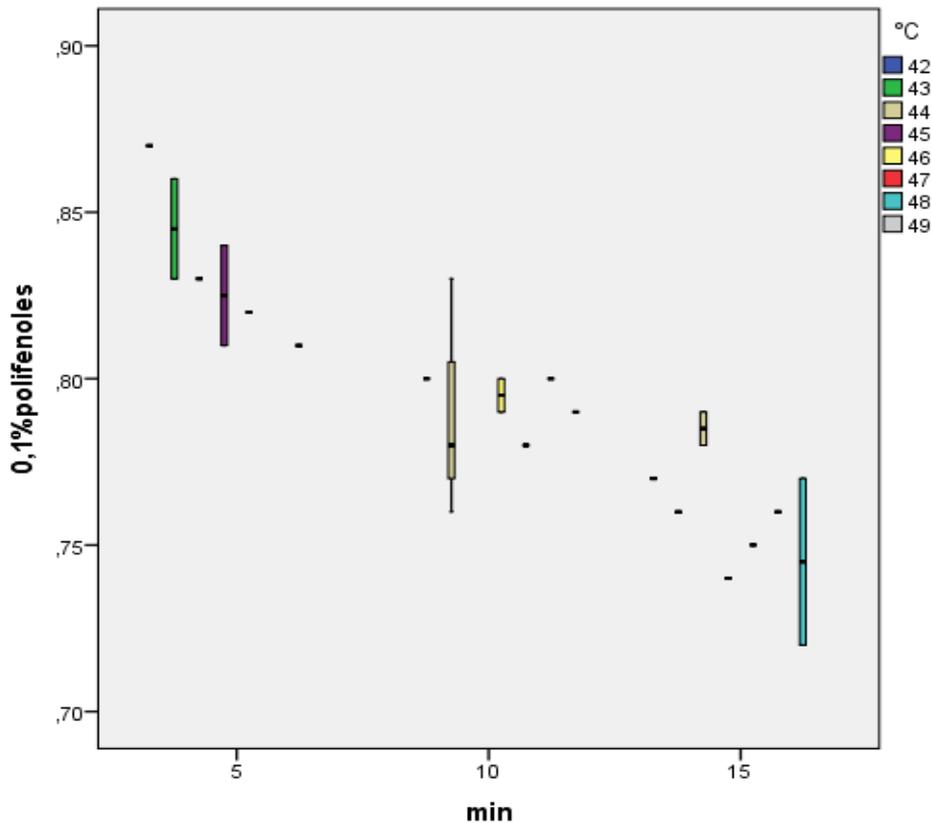


Figura 22. Efecto de la temperatura y el tiempo de exposición sobre el contenido de polifenoles en el tratamiento 2.

De los resultados expuestos en la figura 22, se infiere que existen cambios en la concentración de polifenoles en el tratamiento 2, por el efecto de la temperatura y el tiempo de exposición, coincidiendo con los resultados obtenidos en el estudio realizado por Di Mattia *et al.*, (2014) quien

reportó que la actividad antioxidante y la concentración de polifenoles del chocolate se reducen significativamente por el efecto de la temperatura en los procesos de conchado. Además, teniendo en cuenta que en estudios realizados por Ioannone *et al.*, (2015) quienes observaron que el tiempo y temperatura afectan la reducción de polifenoles, en tiempos cortos.

El chocolate blanco con el 0,3 % de extractos de polifenoles (T 3), alcanzo valores entre 0,948 a 0,865 mg ácido gálico / g muestra del contenido de polifenoles totales para los tiempos de exposición de 5, 10 y 15 minutos, en los rangos de temperatura de 42 a 49 °C respectivamente, observando una disminución de la concentración inicial 0,10 mg ácido gálico/g de muestra (figura 23).

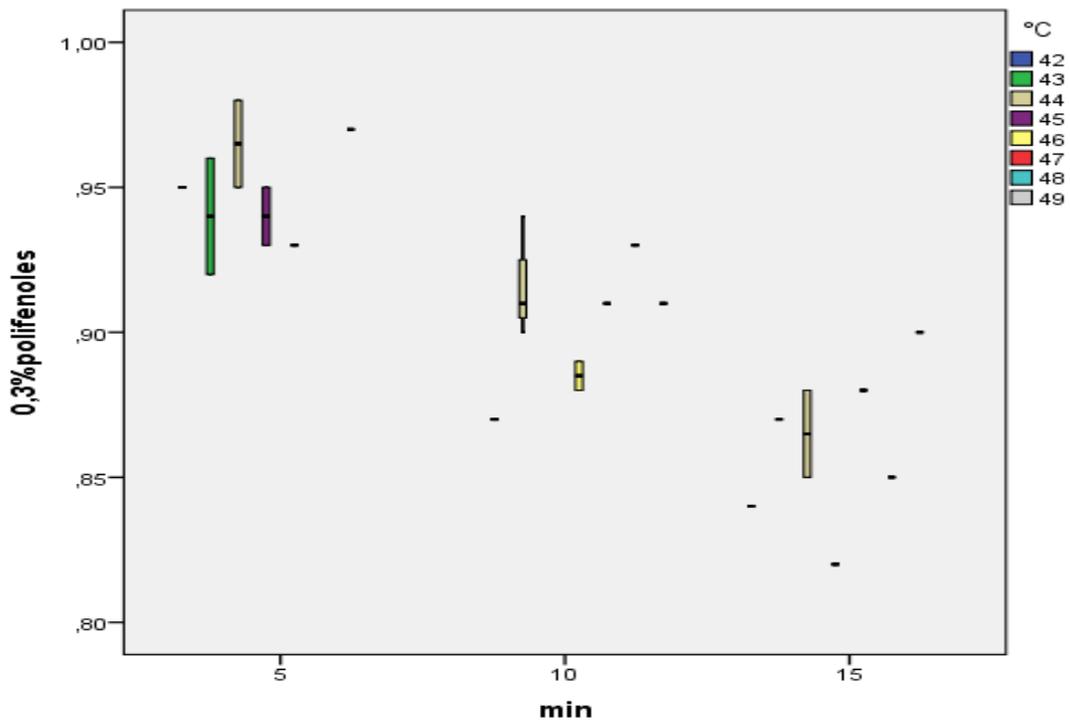


Figura 23. Efecto de la temperatura y el tiempo de exposición sobre el contenido de polifenoles en el tratamiento 3

En la figura 24, se infiere que existe un cambio en la concentración de polifenoles inicial en los primeros 5 minutos y a medida que aumenta el tiempo de exposición (15 minutos) y la temperatura,

quedando con 0,90 mg ácido gálico / g muestra del contenido de polifenoles totales en el chocolate blanco con extractos con una concentración de 0,8 %.

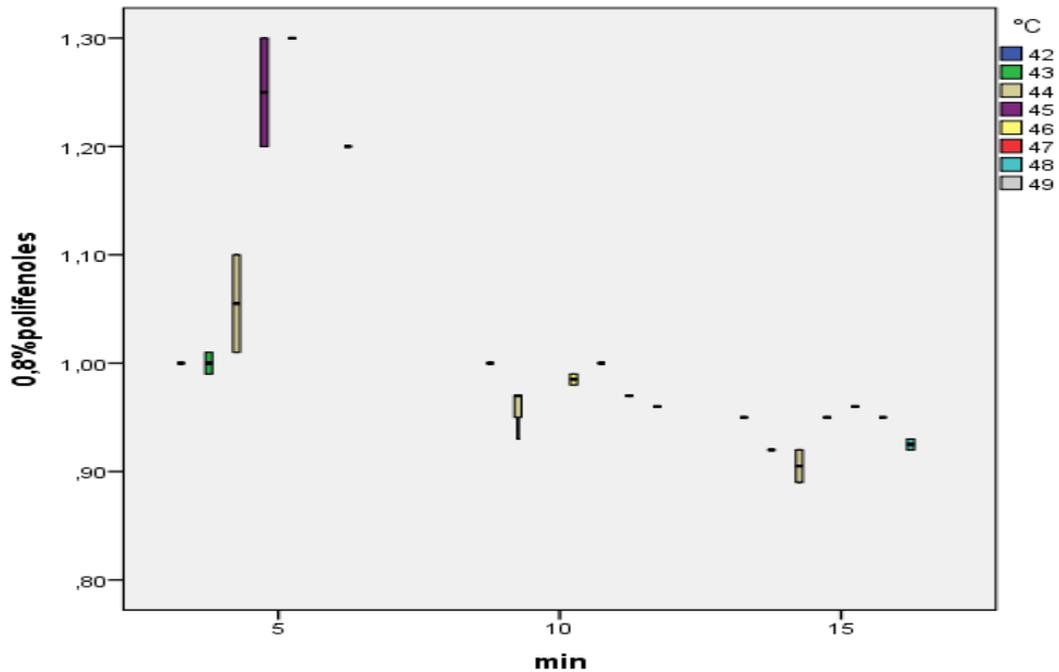


Figura 24. Efecto de la temperatura y el tiempo de exposición sobre el contenido de polifenoles en el tratamiento 4.

En la Tabla 19 se observa que la variación en el contenido de polifenoles no fue estadísticamente significativo ($0,982 \geq 0,05$).

Tabla 19. Análisis de varianza de la Temperatura en los tratamientos aplicados.

ANOVA					
Fuente	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Media cuadrática	Fc	p-valor
Entre grupos	0,001	2	0,001	0,018	0,982
Dentro de grupos	4,030	105	0,038		
Total	4,031	107			

$\alpha = 0.05$

De la figura 25 se infiere que a mayor tiempo de exposición, se presenta una disminución de la concentración de polifenoles. Además, se observa que a una temperatura de 50 °C y en un tiempo de exposición de 15 minutos tiene un efecto sobre el contenido de polifenoles adicionados en el chocolate blanco con una concentración 0,8 % (T\$) disminuyendo 0.35 mg ácido galico/ g muestra. Mientras que los tratamientos 1,2 y 3 presentaron cambios mínimos a 5,10 y 15 minutos.

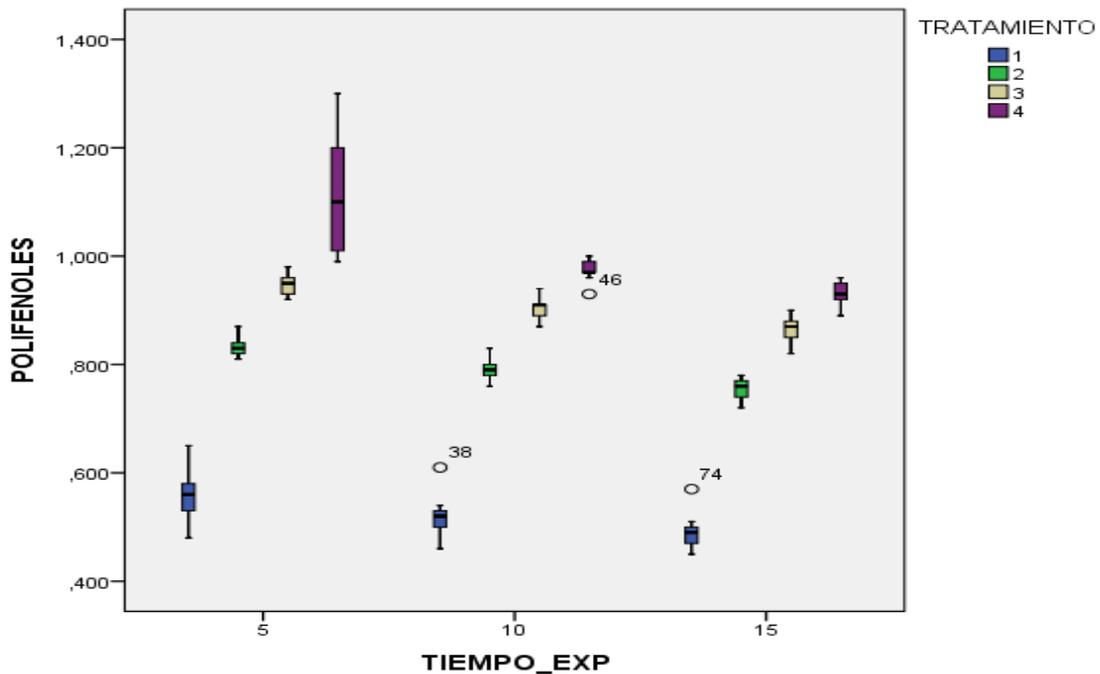


Figura 25. Efecto del tiempo de exposición sobre el contenido de polifenoles.

Los anteriores resultados son coherentes con los resultados obtenidos en las investigaciones de Acevedo *et al.*, (2017), quienes evidenciaron 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, en el proceso de refinado y mezclado para chocolate blanco las temperaturas varían desde 40 a 50 °C, donde no se apreciaron cambios significativos en los rangos de toma de muestras cada 5 minutos.

Estudios sobre la cuantificación de polifenoles realizados por Wang y Helliwell, (2000), Wollgast (2004) y Caligiani *et al.*, (2007), han demostrado que el contenido de catequina ha sido menor al contenido de Epicatequina, lo cual coincide con los resultados obtenidos en la presente investigaciones, donde se determinó que a 50 °C de temperatura y 15 minutos de exposición disminuye el contenido de polifenoles en proporción muy baja.

7. CONCLUSIONES

- Se evidencio en los análisis realizados que las materias primas utilizadas en la elaboración del chocolate blanco, aportan 0,57 mgEAG/g muestra de polifenoles totales.
- Al aplicar el tratamiento cuatro en la elaboración del chocolate blanco, se obtuvo un aumento en el contenido de antioxidantes en 0,75 mgEAG/g muestra y se presentó un incremento en el tamaño de la partícula y la viscosidad de la masa sin afectar las características de textura.
- El color del chocolate blanco cambio con el extracto de polifenoles de cacao (*Theobroma cacao* L.) FSV 41, presentando una mayor tonalidad del color rojo (+a*) y luminosidad L, a mayor cantidad de polifenoles adicionados mayor cambio de tonalidad de blanco a rojo.
- Se encontró que existe una relación entre la cantidad de ceniza y polifenoles adicionados, mientras que los parámetros de grasa, proteína, las calorías totales, calorías y azúcares reductores fueron estables.
- Se evidenció que las temperaturas entre los rangos de 40° C a 50 °C fueron eficientes para mantener el control de calidad, donde presentó recuentos microbiológicos dentro de los límites permitidos para el chocolate blanco con polifenoles de acuerdo con la normatividad.
- Se determinó que, a mayor cantidad de polifenoles adicionados, presenta mayor sabor amargo, astringente, ácido y una reducción en el atributo dulce del chocolate blanco, proporcionando unas características sensoriales propias del producto.
- El tratamiento con mayor concentración de polifenoles (T4) tuvo mayor aceptación por parte de los consumidores y ninguno tuvo una percepción en la escala de “me disgusta moderadamente”, “me disgusta mucho” o “me disgusta muchísimo”.
- Se determinó que a mayor temperatura y mayor tiempo de exposición, los antioxidantes en el chocolate blanco presentan una leve disminución, la cual no es estadísticamente significativa en el contenido de polifenoles
- Se concluyó que las temperaturas evaluadas (40 a 50 °C) y tiempo de exposición de 5, 10 y 15 minutos, no presenta un efecto estadísticamente significativo a un nivel de significancia del

0,05 sobre el contenido de polifenoles adicionados en el chocolate blanco con concentraciones del 0,1%, 0,3% y 0,8%.

8. RECOMENDACIONES

Es importante poder darle continuidad al proyecto por lo cual se recomienda:

- Desarrollar un chocolate blanco con extractos de polifenoles de cacao (*Theobroma cacao L.*) donde se evalúe como productos promisorios que puedan incorporarse en la línea de alimentos funcionales, generando nuevas alternativas de consumo.
- Realizar un estudio de vida útil del chocolate blanco con extracto de polifenoles de cacao (*Theobroma cacao L.*) a diferentes condiciones de almacenamiento, con rangos de temperatura de 12°C a 18 °C y humedades relativas de 40 a 46%.
- Investigar el tiempo de desnaturalización de los polifenoles de cacao (*Theobroma cacao L.*) FSV41 añadidos en un chocolate blanco, en los procesos de fundido y atemperado.
- Evaluar el impacto del microondas en la desnaturalización de los polifenoles de cacao (*Theobroma cacao L.*) añadidos en una cobertura blanca.
- Evaluar la posibilidad de realizar nano encapsulación de los extractos de polifenoles de cacao (*Theobroma cacao L.*) FSV 41 para incorporar en nuevas formulaciones de productos alimenticios.

9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abdul, K.; Azlan, A.; Ismail, A.; Hashim, P.; Abdullah, N. 2014. Antioxidant properties of cocoa pods and shells. *Malaysian Cocoa Journal* 8: 49-56.
- Acevedo, L., Mejía, D., Acosta, E., Valencia, W. y Penagos, L. (2017). Efecto de la temperatura del conchado sobre los polifenoles en un chocolate semi-amargo. *Revista Alimentos Hoy*, 25(41), 31-50.
- Adeyeye, E., Akinyeye, R., Ogunlade, I., Olaofe, O., y Boluwade, J. (2010). Effect of farm and industrial processing on the amino acid profile of cocoa beans. *Food Chemistry*, 118(2), 357-363.
- Adomako, B. y Adu, Y. (2003). Bean characteristics of progenies of upper Amazon cacao (*Theobroma cacao* L.) in Ghana. *Tropical agriculture*, 80(1), 41-47.
- Afoakwa, E. (2010). *Chocolate science and technology*. Willey-Blackwell. York, United Kindong.
- Afoakwa, E., Paterson, A. y Fowler, M. (2007). Factor influencing rheological and textural qualities in chocolate. *Trends in Food Science and Technology* 18(6): 290-298.
- Alañón, M., Castle, S., Siswanto, P., Cifuentes, T., Spence, J. (2016). Assessment of Flavanol Stereoisomers and Caffeine and Theobromine Content in Commercial Chocolates. *Food Chemistry*, 208, 177– 84.
- Alberca, Y. (2018). *Desarrollo de un té con cascarilla de almendra del cacao (Theobroma cacao L.) fino de aroma y CCN-51*. (Tesis de grado). Universidad de las Américas, Ecuador. Recuperado de: <http://dspace.udla.edu.ec/bitstream/33000/10374/1/UDLA-EC-TIAG-2018-50.pdf>
- Aldave, G. (2016). *Efecto de la temperatura y tiempo de tostado en los caracteres sensoriales y en las propiedades químicas de granos de cacao (Theobroma cacao L.) procedente de*

- Uchiza, San Martín – Perú para la obtención de NIBS.* (Tesis de Magíster). Universidad Nacional Mayor De San Marcos, Lima – Perú.
- Alean, J. (2011). *Modelado y simulación del secado de cacao con aire.* (Tesis de Maestría). Universidad Nacional de Colombia. Medellín. Recuperado de: http://www.bdigital.unal.edu.co/6183/1/124367703._2012.pdf
- Álvarez, J. (2017). Alimentos propiedades nutricionales que tienen los alimentos. Alimentos. Recuperado de: <https://alimentos.org.es/nutrientes-chocolate-blanco>
- Andres, C., Monagas, M., Khan, N., Izquierdo, M., Urpi, M., Permanyer, J., y Lamuela, R. (2008). Flavanol and flavonol contents of cocoa powder products: influence of the manufacturing process. *Journal of agricultural and food chemistry*, 56(9), pp. 3111-3117.
- Agell, R. (sin fecha). La seguridad alimentaria del chocolate. , , 1-18. Recuperado de <http://www.webs2002.uab.es/epsi/alimentaria/chocolate.pdf>.
- Arts, I., Hollman, P., y Kromhout, D. (1999). Chocolate as a source of tea flavonoids. *The Lancet*, 354 (9177), 488.
- Baba, S., Osakabe, N., Kato, Y., Natsume, M., Yasuda, A., Kido, T. y Kondo, K. (2007). Continuous intake of polyphenolic compounds containing cocoa powder reduces LDL oxidative susceptibility and has beneficial effects on plasma HDL-cholesterol concentrations in humans. *The American journal of clinical nutrition*, 85(3), pp. 709-717.
- Badía E, Sacanella E, Fernández-Solá J, Nicolás JM, Antúnez E, Rotilio D, de Gaetano G, Urbano-Márquez A, Estruch R. Decreased tumor necrosis factor-induced adhesion of human monocytes to endothelial cells after moderate alcohol consumption. *Am J Clin Nutr* 2004; 80: 225-230
- Beckett. Stephen. T. (2000). *The Science of Chocolate* Ed. The Royal Society of Chemistry Thomas Graham house Park, Milton Road, Cambridge CB4 0WF, UK. (Traducción española por: Dr. Antonio Vercet Tormo: La Ciencia del Chocolate). Editorial Acribia, S.A. Zaragoza (España).201 P.

- Bravo, L. (1998). Polyphenols: chemistry, dietary, sources, metabolism, and nutrition significance. *Nutrition*, 56, 317-333.
- Brcanović, J., Pavlović, A., Mitić, S., Stojanović, G., Manojlović, D., Kaličanin, B., Veljković, J. (2013). Cyclic voltammetric determination of antioxidant capacity of cocoa powder, dark chocolate and milk chocolate samples: Correlation with spectrophotometric assays and individual phenolic compounds. *Food Tech. and Biotech* 51(4): 460-470.
- Cadena, T. y Herrera, Y. (2008). *Evaluación del efecto del procesamiento del cacao sobre el contenido de polifenoles y su actividad antioxidante*. (Tesis de grado). Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga. Recuperado de: <http://infocafes.com/portal/wp-content/uploads/2017/01/128865.pdf>
- Cádiz, M., Lozano, J., Contreras, M., Legeai, L., Fernández, S., Segura, A. (2014). Isolation, comprehensive characterization and antioxidant activities of Theobroma cacao extract. *Journal of Functional Foods*, 10, 485-498.
- Camargo, J. M. (2002). Estudio del mercado mundial del cacao. *JE Austin Associates Arlington, Virginia, Corporación CEA. Bogotá DC, enero*.
- Caligiani, A., Cirlini, M., Palla, M., Ravaglia, R., Arlonio, M., GC-MS (2007). Detección of ciral Markers in cocoa Beans of Different Quality and Geographic Origin. En *Chilarity*. Vol 19; p.329-334
- Carrillo, L., Londoño, J. y Gil, A. (2013). Comparison of polyphenol, methylxanthines and antioxidant activity in Theobroma cacao beans from different cocoa-growing areas in Colombia. *Int. J. Food Sci. Technol*, 60, 1-8.
- CODEX STAN 87-1981, Rev. 1-2003. Norma para el chocolate y los productos del chocolate. La norma se aplicará al chocolate y los productos del chocolate destinados al consumo humano y descrito en la sección 2. El chocolate y los productos de chocolate deben ser preparados a partir de cacao o derivados del cacao con azúcares y podrán contener edulcorantes, productos lácteos, sustancias aromatizantes y otros ingredientes alimentarios.2003.

- Contexto ganadero. (18 de diciembre de 2014). *Presentan en sociedad 8 nuevos materiales de cacao*. Contexto ganadero. Recuperado de: <http://www.contextoganadero.com/agricultura/presentan-en-sociedad-8-nuevos-materiales-de-cacao>
- Creus, E. (2004). Compuestos fenólicos, un análisis de sus beneficios para la salud. *Ámbito farmacéutico*, 23, pp. 80-84.
- Crozier S, Preston A, Hurst J, Payne M, Mann J, Hainly L, et al. Cacao seeds are a “Super Fruit”: A comparative analysis of various fruit powders and products. *Chem Cent J*. 2011; 5:5.
- Decreto 4003 de 2004. Del Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural, por el cual se establece el procedimiento administrativo para la elaboración, adopción y aplicación de reglamentos técnicos, medidas sanitarias y fitosanitarias en el ámbito agroalimentario. Diciembre 01 de 2004.
- Delgado, J. D., Mandujano, J. I., Reátegui, D., y Ordoñez, E. S. (2018). Desarrollo de chocolate oscuro con nibs de cacao fermentado y no fermentado: polifenoles totales, antocianinas, capacidad antioxidante y evaluación sensorial. *Scientia Agropecuaria*, 9(4), 543–550. DOI <https://doi-org.bdigital.sena.edu.co/10.17268/sci.agropecu.2018.04.10>
- Departamento Nacional De Planeación – DNP. (2004). *Azúcar, confitería y chocolatería. Estudio sobre cadenas productivas: Estructura, comercio internacional y protección*. Departamento Nacional De Planeación. Bogotá D.C.
- Di Mattia, C., Martuscelli, M., Sacchetti, G., Beheydt, B. y Mastrocola, D. (2014). Effect of Different Conching Processes on Procyanidin Content and Antioxidant Properties of Chocolate. *Food Research International* 63, 367– 72.
- Dostert, N., Roque, J., Cano, A., Torre, M. I. L., y Weigend, M. (2011). *Theobroma cacao L. Hoja botánica: Cacao*. Perú

- Fedecacao (Federación Nacional de cacaoteros) (2017). Producción nacional registrada por departamentos 2002-2012. Fedecacao. Recuperado de: <https://www.fedecacao.com.co/site/index.php/8-cat-institucionales?start=63>
- Fowler, M. S., y Coutel, F. (2017). Cocoa beans: from tree to factory. *Beckett's Industrial Chocolate Manufacture and Use*, 9 - 49.
- Gee, J. y Johnson, I. (2001). Polyphenolic compounds: interactions with the gut and implications for human health. *Current medicinal chemistry*, 8(11), 1245-1255.
- Gil, J. (2012). *Estabilidad y actividad antioxidante de catequinas presentes en cacao colombiano durante los procesos de pre e industrialización*. (Tesis de Maestría). Universidad de Antioquia, Medellín. Recuperado de: <http://tesis.udea.edu.co/dspace/bitstream/10495/1621/1/TESIS%20Jorge%20Andres%20Gil%20FINAL.pdf>
- Godočiková, L., Ivanišová, E. y Kačániová, M. (2017). The influence of fortification of dark chocolate with sea buckthorn and mulberry on the content of biologically active substances. *Advanced Research in Life Sciences* 1(1): 26-31.
- González Muñoz, Y., Pérez Sira, E y Palomino Camargo, C (2012). Factores que inciden en la calidad sensorial del chocolate. Actualización en nutrición vol 13 - nº 4 – diciembre.
- GTC 165:2014. Análisis sensorial. Metodología. Guía general. Proporciona una guía general sobre el uso del análisis sensorial. Describe las pruebas para la evaluación de alimentos mediante el análisis sensorial e incluye información sobre las técnicas a utilizar si se requiere el análisis de los datos. Agosto 20 de 2014.
- Harborne, J. B., y Williams, C. A. (2000). Advances in flavonoid research since 1992. *Phytochemistry*, 55(6), 481-504.
- Hernández, A., y Prieto, G. (2011). Plantas que contienen polifenoles: Antioxidantes dentro del estilo de vida. *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas*, 18(1).

- Infocafes. (2014). Sistema de calificación y clasificación de estándares de calidad para cacao fino y de aroma de Colombia. Infocafes. Recuperado de: <http://infocafes.com/portal/wp-content/uploads/2017/04/Tercer-Entregable-Sistema-de-Calificaci%C3%B3n-y-Clasificaci%C3%B3n.pdf>
- Invima. (2016 -2017). Programa nacional de vigilancia y control de cadmio en productos derivados del cacao (licor de cacao, chocolate de mesa, cocoa en polvo y chocolatina de leche). Instituto Nacional de Vigilancia Medicamentos Alimentos. Recuperado de: https://paginaweb.invima.gov.co/images/pdf/inspeccion_y_vigilancia/direccion-alimentos/subsectoriales/Documento-tecnico-Cadmio-en-cacao.pdf
- Ioannone, F., Di Mattia, C., De Gregorio, M., Sergi, M., Serafini, M. y 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.
- Jinap, S., Jamilah, B., y Nazamid, S. (2004). Effect of polyphenol concentration on pyrazine formation during cocoa liquor roasting. *Food Chemistry*, 85(1), 73-80.
- Jonfia, W., West, G., Alderson, P. y Tucker, G. (2008). Phenolic Content and antioxidant capacity of hybrid variety cocoa. *Food Chemistry*, 108(3): 1155- 1159.
- Jorge, M. (2011). Incidencia de la tecnología wafa (sistema completo) en las características sensoriales del chocolate. Ciencia y Tecnología de Alimentos. *Instituto de Investigaciones para la Industria Alimentaria*, 21(1), 1-8.
- Kealey, K., Snyder, R., Romanczyk, L., Geyer, H., Myers, M., Whitacre, E. y Schmitz, H. (2001). *U.S. Patent No. 6,312,753*. Washington, DC: U.S. Patent and Trademark Office.
- Krysiak, W. (2005). Influence of roasting conditions on coloration of roasted cocoa beans. *Journal of food engineering*, 77, 449-453.

- Kyi, T., Daud, W., Mohammad, A., Wahid, M., Kadhum, A. y Talib, M. (2005). The kinetics of polyphenol degradation during the drying of Malaysian cocoa beans. *International journal of food science y technology*, 40(3), 323-331.
- Mesa, L., López, O., Ramírez, S., Espinosa, S., Hernández, A., y Rosales, M. (2017). características químicas y actividad antioxidante de pasta de clones de cacao (*Theobroma cacao* L.). *Agroproductividad*, 10(8), 72-77. Recuperado de: <http://search.ebscohost.com.bdigital.sena.edu.co/login.aspx?direct=true&db=fapyAN=125082828&lang=es&site=ehost-live>
- Michel, R., Izeta, A., Lira, F., Marín, S., Vázquez, J., Cerda, S. y Calderón, L. (2016). El chocolate obscuro y los polifenoles nuestros de cada día. *Rev Sanid Milit Mex*, 70, 17-22. Recuperado de: <https://www.medigraphic.com/pdfs/sanmil/sm-2016/sm161c.pdf>
- Miller, K. B., Hurst, W. J., Payne, M. J., Stuart, D. A., Apgar, J., Sweigart, D. S., y Ou, B. (2008). Impact of alkalization on the antioxidant and flavanol content of commercial cocoa powders. *Journal of agricultural and food chemistry*, 56(18), 8527-8533.
- Minifie, B. (2012). *Chocolate, cocoa and confectionery: science and technology*. Springer Science y Business Media.
- Nakatani, N. (2000). Phenolic antioxidants from herbs and spices. *Biofactors*, 13(1-4), 141-146.
- Nielsen, D. S., Snitkjaer, P., y Van den Berg, F. (2008). Investigating the fermentation of cocoa by correlating denaturing gradient gel electrophoresis profiles and near infrared spectra. *International journal of food microbiology*, 125(2), 133-140.
- NTC 792 (2008-04-09). Chocolate y sus sucedáneos para consumo directo. Esta norma establece los requisitos fisicoquímicos y microbiológicos, y los métodos de ensayo que deben cumplir el chocolate y sus sucedáneos para consumo directo y las coberturas. Marzo 26 de 2008.
- NTC 574 (2008-03-26). Manteca de cacao; materia prima para productos de chocolatería; requisitos fisicoquímicos; requisitos microbiológicos. Esta norma establece los requisitos

- fisicoquímicos y microbiológicos que deben cumplir la manteca de cacao (*Theobroma cacao* L.) empleada como ingrediente en la fabricación de chocolate y productos de chocolate. Marzo 26 de 2008.
- NTC 3929:2009. Análisis sensorial. Metodología. Métodos del perfil del sabor. Esta norma describe una familia de métodos para descripción y valoración del sabor de productos alimenticios por evaluadores calificados y entrenados. Abril 15 del 2009.
- Ordoñez, Elizabeth S, Leon-Arevalo, Aurelia, Rivera-Rojas, Humberto, & Vargas, Evil. (2019). Cuantificación de polifenoles totales y capacidad antioxidante en cáscara y semilla de cacao (*Theobroma cacao* L.), tuna (*Opuntia ficus indica* Mill), uva (*Vitis Vinífera*) y uvilla (*Pourouma cecropiifolia*). *Scientia Agropecuaria*, 10(2), 175-183. <https://dx.doi.org/10.17268/sci.agropecu.2019.02.02>
- Osakabe, N., Yasuda, A., Natsume, M., Sanbongi, C., Kato, Y., Osawa, T., y Yoshikawa, T. (2002). Rosmarinic acid, a major polyphenolic component of *Perilla frutescens*, reduces lipopolysaccharide (LPS)-induced liver injury in D-galactosamine (D-GalN)-sensitized mice. *Free Radical Biology and Medicine*, 33(6), 798-806.
- Ou, B., Hampsch, M. y Prior, R. (2001). Development and validation of an improved oxygen radical absorbance capacity assay using fluorescein as the fluorescent probe. *J Agric Food Chem* 49, 4619 – 4626.
- Pallares, A., Estupiñán, M., Perea, J. y López, L. (2016). Impact of fermentation and drying in polyphenol content and antioxidant capacity of cocoa variety CCN-51. *Revista ION*, 29(2), 7-21.
- Payne, M., Hurst, J., Miller, K., Rank, C., Stuart, D. (2010). Impact of fermentation, drying, roasting and dutch processing on epicatechin and catechin content of cacao (*Theobroma cacao* L.) beans and cocoa ingredients. *J Agric Food Chem*, 58 (19), 10518-27.
- Perea, A. (2013). *Características de calidad del cacao en Colombia*. Catálogo de 26 cultivares. (Fedecacao, Ed.) (1st ed.). Bucaramanga.

- Perea, J., Villamizar, A. y Ramírez, O. (2011). Caracterización fisicoquímica de materiales regionales de cacao colombiano. *Bioteología en el sector agropecuario y agroindustrial*, 9, 35 – 42.
- Pérez, E., Álvarez, C., y Lares, M. (2002). Caracterización Física y Química de Granos de Cacao Fermentados, Secos y Tostados de la Región del Chuao. *Agronomía Tropical*, 52(2), 161-172.
- Pimentel, F., Nitzke, J., Klipel, C., DE Jong, E. (2010). Chocolate and red wine. A comparison between flavonoids content. *Food chemistry*, 120, 109-112.
- Portillo, E. (2009). Formación del aroma del cacao Criollo (*Theobroma cacao* L.) en función del tratamiento poscosecha en Venezuela. *Rev UDO Agríc.*, 9(2), 458-467.
- Quiñones, M., Miguel, M., y Aleixandre, A. (2012). Los polifenoles, compuestos de origen natural con efectos saludables sobre el sistema cardiovascular. *Nutrición Hospitalaria*, 27(1), 76-89.
- Adeyeye, E., Akinyeye, R., Ogunlade, I., Olaofe, O., y Boluwade, J. (2010). Effect of farm and industrial processing on the amino acid profile of cocoa beans. *Food Chemistry*, 118(2), 357-363.
- Quintana, F., García, J y Moreno, M, (2018). Perfil sensorial de cuatro modelos de siembra de cacao en Colombia. *Entramado*, 14(2), 256-268. Recuperado de: <http://dx.doi.org/10.18041/1900-3803/entramado.2.4756>
- Quintana, L., Hernández, M., Rivera, M. y Moreno, E. (2018). Evaluation of the Fermentation Time on the Physical Characteristics of Cocoa (*Theobroma cacao* L), Clones Fedecacao Tame 2, Fedecacao Lebrija 3 and Fedecacao Saravena 12 in the Town of San Vicente de Chucuri. *Advance Journal of Food Science and Technology* 15(SPL): 184-190.
- Quintana, L. y Gómez, J, (2010). Contenido didactic del curso: 301118 – evaluación sensorial, 75-79.

Quintero, M. (2015). Productos básicos agrícolas y desarrollo: producción y comercialización del cacao en Venezuela. (Tesis doctoral). Universidad de la Laguna, Venezuela. Recuperado de:

http://www.saber.ula.ve/bitstream/handle/123456789/41852/td_liliana_q.pdf;jsessionid=ED1C0D019766A90CBEC8CB0FDF3D2384?sequence=1

Resolución 1511 de 2011. Ministerio de la Protección Social. (2011). Por la cual se establece el reglamento técnico sobre los requisitos sanitarios que debe cumplir el chocolate y productos de chocolate para consumo humano, que se procese, envase, almacene, transporte, comercialice, expendan, importe o exporte en el territorio nacional. Bogotá D.C. Recuperado de: Mayo 06 de 2011.

Resolución 2674 del 2013. Del Ministerio de Salud y Protección Social, por la cual se reglamenta el artículo 126 del Decreto-ley 019 de 2012 y se dictan otras disposiciones. Establece que los alimentos que se fabriquen, envasen o importen para su comercialización en el territorio nacional, requerirán de notificación sanitaria, permiso sanitario o registro sanitario, según el riesgo de estos productos en salud pública, de conformidad con la reglamentación que expida el Ministerio de Salud y Protección Social. Julio 22 de 2013.

Sangronis, E.; Soto, M.J.; Valero, Y.; Buscema, I. 2014. Cascarilla de cacao venezolano como materia prima de infusiones. Archivos latinoamericanos de nutrición 64(2): 123-130 Sira, E. (Ed.). (2015). Chocolate: Cocoa Byproducts Technology, Rheology, Styling, and Nutrition. New York: Nova Publisher.

Serafini M, Bugianesi R, Maiani G, Valtuena S, De Santis S, Croizer A. Plasma antioxidants from chocolate. *Nature*. 2003; 424: 1013

Singleton, V. & Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of Total Phenolics With Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. *Am. J. Enol. Vitic.* 16, 144-158.

Singleton, V., Orthofer, R. & Lamuela-Raventós, R. (1999). Analysis of Total Phenols and Other Oxidation substrates and Antioxidants by Means of Folin-Ciocalteu Reagent. *Methods in Enzymology* 299, 152-179

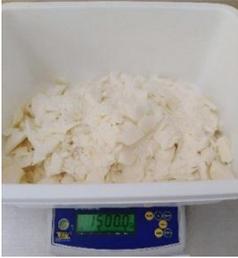
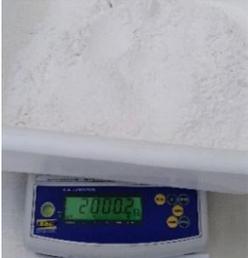
- Sousa, L., Rocha, F., Silveira, P., Bispo, E. y Soares, S. (2016). Enzymatic activity of proteases and its isoenzymes in fermentation process in cultivars of cocoa (*Theobroma cacao* L.) produced in southern Bahia, Brazil. *Food Science and Technology*, 1-8. Recuperado de: <http://www.scielo.br/pdf/cta/2016nahead/0101-2061-cta-1678-457X10916.pdf>
- Suazo, Y. (2012). *Efecto de la fermentación y el tostado sobre la concentración polifenólica y actividad antioxidante de cacao (Theobroma cacao L.) Nicaragüense*. (Tesis de Máster). Universidad Pública de Navarra, Pamplona.
- Todorovic, V., Radojicic, I., Todorovic, Z., Jankovic, G., Dodevska, M., Sobajic, S. (2015). Polifenoles, metilxantinas y capacidad antioxidante de los chocolates producido en Serbia. *Journal of Food Composition and Analysis, (Serbia)*, 41, 137-143.
- Trognitz, B., Scheldeman, X., Hansel-Hohl, K., Kuant, A., Grebe, H., y Hermann, M. (2011). Genetic population structure of cacao (*Theobroma cacao* L.) plantings within a young production area in Nicaragua. *PloS one*, 6(1), e1 6056.
- Urbanski, J. J. (1992). Chocolate Flavor/Origins and Descriptions-The Effects of Process and Bean Source. *Manufacturing Confectioner*, 72, 69-69.
- Vázquez, A., Ovando, I., Adriano, L., Betancur, D., y Salvador, M. (2016). Alcaloides y polifenoles del cacao, mecanismos que regulan su biosíntesis y sus implicaciones en el sabor y aroma. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 66(3), 239–255. Recuperado de: <http://search.ebscohost.com.bdigital.sena.edu.co/login.aspx?direct=true&db=lthyAN=117971808&lang=es&site=ehost-live>
- Viluzca, Fernández, y Yee, Amén, y Sulbarán, Betzabé, y Berradre, María N. (2012). ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE CHOCOLATES COMERCIALES VENEZOLANOS. *Vitae*, 19 (1), S448-S450. ISSN: 0121-4004. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=1698/169823914141>
- Wacher Rodarte, M. D. C. (2011). Microorganismos y chocolate. *Revista Digital Universitaria*, 12 (4), 1-9. Recuperado de <http://www.revista.unam.mx/vol.12/num4/art42/art42.pdf>.

- Wang, H., y Helliwell, K. (2000). Epimerisation of catechins in green tea infusions. *Food Chemistry*, 70(3), 337-344.
- Weisburger, J. (2001). Chemopreventive effects of cocoa polyphenols on chronic diseases. *Experimental Biology and Medicine*, 226(10), 891-897.
- Wollgast, J. y Anklam, E. (2000). Review on polyphenols in Theobroma cacao: changes in composition during the manufacture of chocolate methodology for identification and quantification. *Food Res Int*, 33, 423-447.
- Wollgast, J. (2004). *The contents and effects of polyphenols in chocolate, Qualitative and quantitative analyses of polyphenols in chocolate and chocolate raw products as well as evaluation of potential implications of chocolate in human health. Alemania.* (Trabajo de doctorado). Universidad de Gießen, Alemania.

10. ANEXOS

Anexo A. Proceso de elaboración del chocolate blanco

La elaboración de un chocolate blanco con polifenoles inició con el pesaje de las materias primas, como se observa en la siguiente figura:

		
Manteca de cacao	Polifenoles	Leche en polvo entera
		
Leche polvo descremada	Azúcar pulverizada	Vainilina
		
Lecitina de soya		

Seguido a esto, se dio inicio al proceso de elaboración con la adición de los diferentes ingredientes al molino refinador (wafa).

<p>1. Fundir y añadir la manteca de cacao desodorizada a la wafa, encender recirculación y agitación de la misma.</p>	<p>2. Adición lentamente de la leche entera a la wafa</p>
	
<p>3. Adición de la leche en polvo descremada</p>	<p>4. Adición de la azúcar</p>
	
<p>5. Control de temperatura de la masa</p>	<p>6. Adición de 1/3 de la lecitina para darle fluidez a la mezcla</p>
	
<p>7. Control de micraje del Chocolate Blanco</p>	<p>8. Adición de la vainilina</p>
	

9. Adicción de polifenoles al chocolate blanco	10. Moldeado de la cobertura enriquecida
	
11. Desmoldado de la cobertura	12. Empaque y almacenamiento de las muestras de cobertura
	

Control de variable temperatura en elaboración del chocolate blanco:

Durante el proceso en el control de variable de temperatura y humedad relativa se realizaron durante todos los tratamientos para poder observar los cambios que presentara los polifenoles en CHOCOLATE BLANCO, para ello se verifico en el controlador de la temperatura del agua del equipo wafa (molino refinador), y control de la masa por control por termómetro digital y el control de humedad relativa del ambiente del área de trabajo en el análisis y elaboración de los 4 tratamientos.

En los resultados obtenidos al agregar los polifenoles en la matriz (chocolate blanco), se observaron cambios en la coloración del chocolate blanco, así como en las características de elasticidad, textura, crujiente, fusión, reología y características químicas y la tipología para atemperado del chocolate, entre otras.

Anexo B. Procedimiento de elaboración del chocolate blanco

Siguiendo los pasos del Flujograma de fabricación de un chocolate blanco, se inició con el encendido del equipo en este caso la Waffa 20, con los parámetros indicados como es temperatura del equipo de 45 °C y temperatura requerida de la masa de 45 °C, y se espera que el equipo alcance la temperatura, para iniciar a adicionar los ingredientes previamente pesados para una formulación de 5 kilos; se inicia con la manteca de cacao fundida a una temperatura de 40 °C, se adiciona en el tanque de la concha, y se da inicio a la recirculación del equipo y agitación del mismo, el cual cuenta con unos balines de diámetros de 3 y 4 milímetros, que hacen el trabajo de refinar las partículas y hacer una mezcla homogénea de los ingredientes, siguiendo con el proceso se va adicionando poco a poco la leche entera y leche descremada. Seguido, se adiciona azúcar previamente pulverizado, procediendo a adicionar 1/3 parte de lecitina para ayudar a la fluidez de la mezcla, y se mantiene un control de temperatura de la mezcla y la chaqueta del equipo, cuando alcanzo el micraje de 30 μ la mezcla, se adiciono las 2/3 partes de lecitina, posterior trascurrido un tiempo de 30 minutos se adiciono la vainillina.

Una vez se han añadido todos los ingredientes a la mezcla de acuerdo la matriz, se agregaron los polifenoles, diferenciado las concentraciones para cada tratamiento (T) T1: 0%, T2: 0.1%, T3: 0.3% y T4: 0.8% de polifenoles de cacao (*Theobroma cacao* L.), controlando tiempos y temperaturas de cada uno de los cuatro (4) tratamientos, y tomando muestras de 100 gramos a los 5, 10 y 15 minutos, para realizar los respectivos análisis de cambios o pérdida de antioxidantes adicionados en la matriz.

Anexo C. Medición del color

Toma de colorimetría a las cuatro (4) tratamientos



Toma de colorimetría al tratamiento 1: 0 % polifenoles



Toma de colorimetría al tratamiento 2: 0,1% polifenoles



Toma de colorimetría al tratamiento 3: 0,3% polifenoles



Toma de colorimetría al tratamiento 4: 0,8% polifenoles



Anexo D. Prueba de umbral de detección – discriminativa

PROYECTO: EFECTO DE LA TEMPERATURA SOBRE EL CONTENIDO DE ANTIOXIDANTES EN EL DESARROLLO DE UN CHOCOLATE BLANCO CON POLIFENOLES

UNIVERSIDAD DE PAMPLONA – SENA CASA

PRUEBA DE UMBRAL DE DETECCIÓN – DISCRIMINATIVA

NOMBRE: _____ **FECHA:** _____

CABINA N°: _____

Frente a usted hay 4 muestras de chocolate blanco. Pruébelas de izquierda a derecha y escriba para cada caso que sabor detecta. Enjuáguese la boca entre muestra y muestra.

MUESTRA	SABOR DETECTADO

COMENTARIOS: _____

AGRADECEMOS SU VALIOSA COLABORACIÓN

Anexo E. Formato perfil de sabor – descriptiva

**PROYECTO: EFECTO DE LA TEMPERATURA SOBRE EL CONTENIDO DE
ANTIOXIDANTES EN EL DESARROLLO DE UN CHOCOLATE BLANCO CON
POLIFENOLES
UNIVERSIDAD DE PAMPLONA – SENA CASA**

FORMATO PERFIL DE SABOR – DESCRIPTIVA

NOMBRE: _____ **FECHA:** _____
CABINA N°: _____

Frente a usted hay 4 muestras de chocolate blanco, debe probar cada una describiendo la intensidad de cada sabor que esté presente en la muestra, siendo 0 (cero) baja ausente y 5 (cinco) alta intensidad. Marque con una X sobre la casilla de 0 a 5, según la intensidad del atributo que perciba por cada muestra.

ATRIBUTO	MUESTRA	0	1	2	3	4	5
Dulce							
Acido							
Amargo							
Fermentado							
Afrutado							
Astringente							
Picante							
Metálico							

COMENTARIOS: _____

AGRADECEMOS SU VALIOSA COLABORACIÓN

Anexo F. Prueba de análisis cuantitativo - descriptiva

PROYECTO: EFECTO DE LA TEMPERATURA SOBRE EL CONTENIDO DE ANTIOXIDANTES EN EL DESARROLLO DE UNA COBERTURA DE CHOCOLATE BLANCO ENRIQUECIDA CON POLIFENOLES
UNIVERSIDAD DE PAMPLONA – SENA CASA

PRUEBA DE ANALISIS CUANTITATIVO - DESCRIPTIVA

NOMBRE: _____ FECHA: _____

CABINA N°: _____ MUESTRA N°: _____

Frente a usted hay una muestra de cobertura de chocolate blanco, usted debe probarla y evaluarla de acuerdo a cada uno de los atributos mencionados. Coloque sobre línea horizontal el valor que indique el grado de intensidad del producto. Siendo 0 (cero) baja intensidad y 5 (cinco) alta intensidad.

SABOR

Dulce	0		_____		_____		5
			BAJO		MODERADO		ALTO
Astringente	0		_____		_____		5
			BAJO		MODERADO		ALTO
Acido	0		_____		_____		5
			BAJO		MODERADO		ALTO
Amargo	0		_____		_____		5
			BAJO		MODERADO		ALTO

TEXTURA

Arenosa	0		_____		_____		5
			BAJO		MODERADO		ALTO
Suave	0		_____		_____		5
			BAJO		MODERADO		ALTO
Gomosidad	0		_____		_____		5
			BAJO		MODERADO		ALTO
Grasosidad	0		_____		_____		5
			BAJO		MODERADO		ALTO
Dureza	0		_____		_____		5
			BAJO		MODERADO		ALTO

AROMA

Láctico	0		_____		_____		5
			BAJO		MODERADO		ALTO
Caramelo	0		_____		_____		5
			BAJO		MODERADO		ALTO
afrutado	0		_____		_____		5
			BAJO		MODERADO		ALTO
Vegetal verde	0		_____		_____		5
			BAJO		MODERADO		ALTO

COMENTARIOS: _____

AGRADECEMOS SU VALIOSA COLABORACION

Anexo G. Prueba escala hedónica verbal – afectiva

**PROYECTO: EFECTO DE LA TEMPERATURA SOBRE EL CONTENIDO DE
ANTIOXIDANTES EN EL DESARROLLO DE UN CHOCOLATE BLANCO CON
POLIFENOLES
UNIVERSIDAD DE PAMPLONA – SENA CASA**

PRUEBA ESCALA HEDÓNICA VERBAL – AFECTIVA

NOMBRE: _____ **FECHA:** _____

CABINA N°: _____

Frente a usted hay 4 muestras codificadas de chocolate blanco, las cuales deben probar una a la vez y marque con una X la frase que mejor describe su opinión sobre el producto que acaba de probar.

ESCALA	MUESTRAS			
Me gusta muchísimo				
Me gusta mucho				
Me gusta moderadamente				
Me gusta un poco				
Me gusta muy poco				
Me es indiferente				
Me disgusta un poco				
Me disgusta moderadamente				
Me disgusta mucho				
Me disgusta muchísimo				

COMENTARIOS:

AGRADECEMOS SU VALIOSA COLABORACIÓN

**Anexo H. Resultados análisis a las marcas comerciales – Laboratorio de Alimentos
CICTA- UIS**

FOITIE.01	LABORATORIO DE ALIMENTOS -CICTA-	INFORME DE ENSAYO	
Versión: 04			
Página 1 de 1			

INFORME DE ENSAYO

Número: 451-17

FECHA: 2017-06-16
NOMBRE/EMPRESA: SENA-CASA PIEDECUESTA
DIRECCIÓN: Km 2 vía palogordo vereda guatiguará
TELÉFONO: 6561718

CÓDIGO DE LA MUESTRA: M452-17
PRODUCTO: Chocolate blanco tabletas SENA-CASA

FECHA DE RECEPCIÓN: 2017-05-23
REALIZACIÓN DEL ANÁLISIS: 2017-06-12 a 2017-06-16.

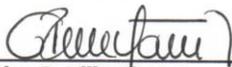
DESCRIPCIÓN DEL ANÁLISIS:

1. La determinación de polifenoles totales se realizó siguiendo el método colorimétrico FOLIN-CIOCALTEU. La cuantificación se realizó por comparación con la curva de calibración de ácido gálico.

TABLA 1. RESULTADOS DE ANÁLISIS M452-17

PARÁMETRO	UNIDAD	RESULTADO	MÉTODO DE ANÁLISIS
Polifenoles totales	mg ácido gálico/ g muestra	0,45	Folin-Ciocalteu

REVISÓ


Arley R. Villamizar J.
Químico PQ2839
 Coordinador de Calidad

APROBÓ


Luis Javier López Giraldo
PhD. Qca. Bioquímica y Ciencia de Alimentos
 Director

NOTA: ESTE INFORME DE RESULTADOS CORRESPONDE ÚNICAMENTE A LA MUESTRA ANALIZADA, NO PUEDE SER NI PARCIAL NI TOTALMENTE REPRODUCIDO SIN LA APROBACIÓN DEL LABORATORIO

FIN DEL INFORME

FOITIE.01	LABORATORIO DE ALIMENTOS -CICTA-	INFORME DE ENSAYO	
Versión: 04			
Página 1 de 1			

INFORME DE ENSAYO

Número: 452-17

FECHA: 2017-06-16
 NOMBRE/EMPRESA: SENA-CASA PIEDECUESTA
 DIRECCIÓN: Km 2 vía palogordo vereda guatiguará
 TELÉFONO: 6561718

CÓDIGO DE LA MUESTRA: M453-17
 PRODUCTO: Chocolate Blanco Montblanc

FECHA DE RECEPCIÓN: 2017-05-23
 REALIZACIÓN DEL ANÁLISIS: 2017-06-12 a 2017-06-16.

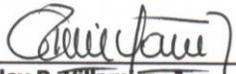
DESCRIPCIÓN DEL ANÁLISIS:

1. La determinación de polifenoles totales se realizó siguiendo el método colorimétrico FOLIN-CIOCALTEU. La cuantificación se realizó por comparación con la curva de calibración de ácido gálico.

TABLA 1. RESULTADOS DE ANÁLISIS M453-17

PARÁMETRO	UNIDAD	RESULTADO	MÉTODO DE ANÁLISIS
Polifenoles totales	mg ácido gálico/ g muestra	0,30	Folin-Ciocalteu

REVISÓ


Arley R. Villamizar J.
 Químico PQ2839
 Coordinador de Calidad

APROBÓ


Luis Javier López Giraldo
 PhD. Qca. Bioquímica y Ciencia de Alimentos
 Director

NOTA: ESTE INFORME DE RESULTADOS CORRESPONDE ÚNICAMENTE A LA MUESTRA ANALIZADA, NO PUEDE SER NI PARCIAL NI TOTALMENTE REPRODUCIDO SIN LA APROBACIÓN DEL LABORATORIO

FIN DEL INFORME

CICTA - Laboratorio de Alimentos
 Km. 2 Vía al Refugio, Sede UIS Guatiguará, Piedecuesta - Santander
 Telefax (7) 6 55 08 04
cicta@uis.edu.co



FOITIE.01	LABORATORIO DE ALIMENTOS -CICTA-	INFORME DE ENSAYO	
Versión: 04			
Página 1 de 1			

INFORME DE ENSAYO

Número: 453-17

FECHA: 2017-06-16
NOMBRE/EMPRESA: SENA-CASA PIEDECUESTA
DIRECCIÓN: Km 2 vía palogordo vereda guatiguará
TELÉFONO: 6561718

CÓDIGO DE LA MUESTRA: M454-17
PRODUCTO: Chocolate blanco Hershey's

FECHA DE RECEPCIÓN: 2017-05-23
REALIZACIÓN DEL ANÁLISIS: 2017-06-12 a 2017-06-16.

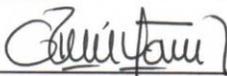
DESCRIPCIÓN DEL ANÁLISIS:

1. La determinación de polifenoles totales se realizó siguiendo el método colorimétrico FOLIN-CIOCALTEU. La cuantificación se realizó por comparación con la curva de calibración de ácido gálico.

TABLA 1. RESULTADOS DE ANÁLISIS M454-17

PARÁMETRO	UNIDAD	RESULTADO	MÉTODO DE ANÁLISIS
Polifenoles totales	mg ácido gálico/ g muestra	1,23	Folin-Ciocalteu

REVISÓ


Arley R. Villamizar J.
Químico PQ2839
 Coordinador de Calidad

APROBÓ


Luis Javier López Giraldo
PhD. Qca. Bioquímica y Ciencia de Alimentos
 Director

NOTA: ESTE INFORME DE RESULTADOS CORRESPONDE ÚNICAMENTE A LA MUESTRA ANALIZADA, NO PUEDE SER NI PARCIAL NI TOTALMENTE REPRODUCIDO SIN LA APROBACIÓN DEL LABORATORIO

FIN DEL INFORME

FOITIE.01	LABORATORIO DE ALIMENTOS -CICTA-	INFORME DE ENSAYO	
Versión: 04			
Página 1 de 1			

INFORME DE ENSAYO

Número: 454-17

FECHA: 2017-06-16
NOMBRE/EMPRESA: SENA-CASA PIEDECUESTA
DIRECCIÓN: Km 2 vía palogordo vereda guatiguará
TELÉFONO: 6561718

CÓDIGO DE LA MUESTRA: M455-17
PRODUCTO: Chocolate Blanco Jet

FECHA DE RECEPCIÓN: 2017-05-23
REALIZACIÓN DEL ANÁLISIS: 2017-06-12 a 2017-06-16.

DESCRIPCIÓN DEL ANÁLISIS:

1. La determinación de polifenoles totales se realizó siguiendo el método colorimétrico FOLIN-CIOCALTEU. La cuantificación se realizó por comparación con la curva de calibración de ácido gálico.

TABLA 1. RESULTADOS DE ANÁLISIS M455-17

PARÁMETRO	UNIDAD	RESULTADO	MÉTODO DE ANÁLISIS
Polifenoles totales	mg ácido gálico/ g muestra	1,47	Folin-Ciocalteu

REVISÓ


Arley R. Villamizar J.
 Químico PQ2839
 Coordinador de Calidad

APROBÓ


Luis Javier López Giraldo
 Ph.D. Qca. Bioquímica y Ciencia de Alimentos
 Director

NOTA: ESTE INFORME DE RESULTADOS CORRESPONDE ÚNICAMENTE A LA MUESTRA ANALIZADA, NO PUEDE SER NI PARCIAL NI TOTALMENTE REPRODUCIDO SIN LA APROBACIÓN DEL LABORATORIO

FIN DEL INFORME

CICTA - Laboratorio de Alimentos
 Km. 2 Vía al Refugio, Sede UIS Guatiguará, Piedecuesta - Santander
 Telefax (7) 6 55 08 04
cicta@uis.edu.co



Anexo I. Resultados análisis de materia prima – Laboratorio de Alimentos CICTA- UIS

	LABORATORIO DE ALIMENTOS -CICTA-	INFORME DE ENSAYO	FOITIE.01
		Número: 572-18	Versión: 05 Página 1 de 1

INFORME DE ENSAYO

FECHA: 2018-09-21
NOMBRE/EMPRESA: SENA C.A.S.A. Regional Santander
DIRECCIÓN: Km 2 Vía Palogordo - Vereda Guatiguará
TÉLFONO: (7) 6561718
CÓDIGO DE LA MUESTRA: M572-18
PRODUCTO: L.E. Muestra 1
FECHA DE RECEPCIÓN: 2018-09-14
REALIZACIÓN DEL ANÁLISIS: 2018-09-19

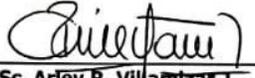
DESCRIPCIÓN DEL ANÁLISIS:

1. La determinación de polifenoles totales se realizó siguiendo el método colorimétrico FOLIN-CIOCALTEU. La cuantificación se realizó por comparación con la curva de calibración de ácido gálico.

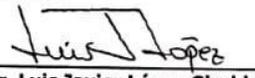
TABLA 1. RESULTADOS ANÁLISIS DE LABORATORIO M572-18

PARÁMETROS	UNIDAD	RESULTADO	MÉTODO DE ANÁLISIS
Polifenoles totales	mg ácido gálico/g muestra	0,57	-Folin-Ciocalteu-

REVISÓ


MSc. Arfey R. Villamizar J.
 Químico PQ2839
 Coordinador de Calidad

APROBÓ


Dr. Luis Javier López Giraldo
 Ph D Qca. Bioquímica y Ciencia de Alimentos
 Director

NOTA: ESTE INFORME DE RESULTADOS CORRESPONDE ÚNICAMENTE A LA MUESTRA ANALIZADA, NO PUEDE SER NI PARCIAL NI TOTALMENTE REPRODUCIDO SIN LA APROBACIÓN DEL LABORATORIO

FIN DEL INFORME

CICTA - Laboratorio de Alimentos
 Km. 2 Vía al Refugio, Sede UIS Guatiguará, Piedecuesta - Santander
 Telefax (7) 6 55 08 04
 cicta@uis.edu.co



	LABORATORIO DE ALIMENTOS -CICTA-	INFORME DE ENSAYO	FOITIE.01
			Versión: 05
		Número: 573-18	Página 1 de 1

INFORME DE ENSAYO

FECHA: 2018-09-21
NOMBRE/EMPRESA: SENA C.A.S.A. Regional Santander
DIRECCIÓN: Km 2 Vía Palogordo - Vereda Guatiguará
TELÉFONO: (7) 6561718
CÓDIGO DE LA MUESTRA: M573-18
PRODUCTO: L.D. Muestra 2
FECHA DE RECEPCIÓN: 2018-09-14
REALIZACIÓN DEL ANÁLISIS: 2018-09-19

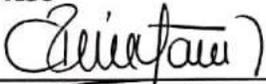
DESCRIPCIÓN DEL ANÁLISIS:

1. La determinación de polifenoles totales se realizó siguiendo el método colorimétrico FOLIN-CIOCALTEU. La cuantificación se realizó por comparación con la curva de calibración de ácido gálico.

TABLA 1. RESULTADOS ANÁLISIS DE LABORATORIO M573-18

PARÁMETROS	UNIDAD	RESULTADO	MÉTODO DE ANÁLISIS
Polifenoles totales	mg ácido gálico/g muestra	0,58	-Folin-Ciocalteu-

REVISÓ


MSc. Arley R. Villamizar J.
 Químico PQ2839
 Coordinador de Calidad

APROBÓ


Dr. Luis Javier López Giraldo
 Ph D Qca. Bioquímica y Ciencia de Alimentos
 Director

NOTA: ESTE INFORME DE RESULTADOS CORRESPONDE ÚNICAMENTE A LA MUESTRA ANALIZADA, NO PUEDE SER NI PARCIAL NI TOTALMENTE REPRODUCIDO SIN LA APROBACIÓN DEL LABORATORIO

FIN DEL INFORME

CICTA - Laboratorio de Alimentos
 Km. 2 Vía al Refugio, Sede UIS Guatiguará, Piedecuesta - Santander
 Telefax (7) 6 55 08 04
cicta@uis.edu.co



	LABORATORIO DE ALIMENTOS -CICTA-	INFORME DE ENSAYO	FOITTE.01
		Número: 574-18	Versión: 05 Página 1 de 1

INFORME DE ENSAYO

FECHA: 2018-09-21
NOMBRE/EMPRESA: SENA C.A.S.A. Regional Santander
DIRECCIÓN: Km 2 Vía Palogordo - Vereda Guatiguará
TELÉFONO: (7) 6561718
CÓDIGO DE LA MUESTRA: M574-18
PRODUCTO: M.A. Muestra 3
FECHA DE RECEPCIÓN: 2018-09-14
REALIZACIÓN DEL ANÁLISIS: 2018-09-19

DESCRIPCIÓN DEL ANÁLISIS:

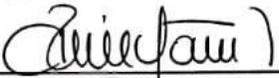
- La determinación de polifenoles totales se realizó siguiendo el método colorimétrico FOLIN-CIOCALTEU. La cuantificación se realizó por comparación con la curva de calibración de ácido gálico.

TABLA 1. RESULTADOS ANÁLISIS DE LABORATORIO M574-18

PARÁMETROS	UNIDAD	RESULTADO	MÉTODO DE ANÁLISIS
Polifenoles totales	mg ácido gálico/g muestra	n.d.	-Folin-Ciocalteu-

n.d.: no detectado

REVISÓ


MSc. Arley R. Villamizar J.
 Químico PQ2839
 Coordinador de Calidad

APROBÓ


Dr. Luis Javier López Giraldo
 Ph D Qca, Bioquímica y Ciencia de Alimentos
 Director

NOTA: ESTE INFORME DE RESULTADOS CORRESPONDE ÚNICAMENTE A LA MUESTRA ANALIZADA, NO PUEDE SER NI PARCIAL NI TOTALMENTE REPRODUCIDO SIN LA APROBACIÓN DEL LABORATORIO

FIN DEL INFORME

CICTA - Laboratorio de Alimentos
 Km. 2 Vía al Refugio, Sede UIS Guatiguará, Piedecuesta - Santander
 Telefax (7) 6 55 08 04
 cicta@uis.edu.co



	LABORATORIO DE ALIMENTOS -CICTA-	INFORME DE ENSAYO	FOITIE.01
		Número: 575-18	Versión: 05 Página 1 de 1

INFORME DE ENSAYO

FECHA: 2018-09-21
NOMBRE/EMPRESA: SENA C.A.S.A. Regional Santander
DIRECCIÓN: Km 2 Vía Palogordo - Vereda Guatiguará
TELÉFONO: (7) 6561718
CÓDIGO DE LA MUESTRA: M575-18
PRODUCTO: M.B. Muestra 4
FECHA DE RECEPCIÓN: 2018-09-14
REALIZACIÓN DEL ANÁLISIS: 2018-09-19

DESCRIPCIÓN DEL ANÁLISIS:

1. La determinación de polifenoles totales se realizó siguiendo el método colorimétrico FOLIN-CIOCALTEU. La cuantificación se realizó por comparación con la curva de calibración de ácido gálico.

TABLA 1. RESULTADOS ANÁLISIS DE LABORATORIO M575-18

PARÁMETROS	UNIDAD	RESULTADO	MÉTODO DE ANÁLISIS
Polifenoles totales	mg ácido gálico/g muestra	n.d.	-Folin-Ciocalteu-

n.d.: no detectado

REVISÓ



MSc. Arley R. Villamizar J.
 Químico PQ2839
 Coordinador de Calidad

APROBÓ



Dr. Luis Javier López Giraldo
 Ph D Qca. Bioquímica y Ciencia de Alimentos
 Director

NOTA: ESTE INFORME DE RESULTADOS CORRESPONDE ÚNICAMENTE A LA MUESTRA ANALIZADA, NO PUEDE SER NI PARCIAL NI TOTALMENTE REPRODUCIDO SIN LA APROBACIÓN DEL LABORATORIO

FIN DEL INFORME

CICTA - Laboratorio de Alimentos
 Km. 2 Vía al Refugio, Sede UIS Guatiguará, Piedecuesta - Santander
 Telefax (7) 6 55 08 04
 cicta@uis.edu.co



Anexo J. Resultados pruebas químicas a los tratamientos – Laboratorio de Alimentos

CICTA- UIS

 	LABORATORIO DE ALIMENTOS -CICTA-	INFORME DE ENSAYO	FOITIE.01
		Número: 999-18	Versión: 05 Página 1 de 2

INFORME DE ENSAYO

FECHA: 2018-12-13
NOMBRE/EMPRESA: SENA C.A.S.A. Regional Santander
DIRECCIÓN: Km 2 vía Palogordo, Vereda Guatiguará – Piedecuesta
TELÉFONO: (7) 656 1806 – 656 1718

CÓDIGO DE LA MUESTRA: M999-18
PRODUCTO: Muestra sin polifenoles 500g - 30 micras
FECHA DE RECEPCIÓN: 2018-11-23
REALIZACIÓN DEL ANÁLISIS: 2018-11-23 a 2018-12-05

DESCRIPCIÓN DEL ANÁLISIS:

1. La humedad se determinó por medio de secado en estufa siguiendo la metodología GOMESL.01 *análisis de humedad en alimentos.*
2. La determinación de cenizas se realizó por calcinación siguiendo la metodología GOMECH.01 *análisis de ceniza en alimentos.*
3. La proteína fue analizada por el método de Kjeldahl, procedimiento interno validado GOMEPL.01 *análisis de proteína en alimentos.*
4. La determinación de grasa se realizó por extracción con solvente en equipo Soxhlet siguiendo la metodología GOMEGC.01 *análisis de grasa en alimentos.*
5. Los carbohidratos totales y calorías fueron calculados matemáticamente según la resolución 333 del 2011 del Ministerio de Protección Social.
6. Los Azúcares Reductores se determinaron por método validado en el laboratorio HPLC-RI.
7. El Cadmio fue determinado en el remanente de las cenizas y cuantificados por espectrometría de absorción atómica siguiendo la norma internacional AOAC 999.11 20th Edición.
8. La cuantificación de cafeína, teobromina, Catequina y Epicatequina se realizó por HPLC Dionex Ultimate 3000 controlado por el software Chromeleon 7.2, equipado con columna (Agilent Eclipse XDB-C18 150mm×2.1mm×5µm). La teobromina y cafeína fueron cuantificadas utilizando un detector UV a 273 nm.
9. La determinación de polifenoles totales se realizó siguiendo el método colorimétrico FOLIN-CIOCALTEU. La cuantificación se realizó por comparación con la curva de calibración de ácido gálico.

CICTA - Laboratorio de Alimentos
Km. 2 Vía al Refugio, Sede UIS Guatiguará, Piedecuesta - Santander
Telefax (7) 6 55 08 04
cicta@uis.edu.co



 ACREDITADO ONAC <small>ORGANISMO NACIONAL DE Acreditación de COLOMBIA</small> <small>ISO/IEC 17025:2005</small> <small>11-LAB-005</small>	 <small>Universidad Nacional de Colombia</small>	LABORATORIO DE ALIMENTOS -CICTA-	INFORME DE ENSAYO	FOITIE.01
			Número: 999-18	Versión: 05 Página 2 de 2

TABLA 1. RESULTADOS ANÁLISIS M999-18

PARÁMETROS	UNIDAD	RESULTADO	MÉTODO DE ANÁLISIS
Humedad*	g/100 g (%)	2,09	-GOMESL.01- Gravimétrico
Ceniza*	g/100 g (%)	1,80	-GOMECH.01-Gravimétrico
Grasa*	g/100 g (%)	39,61	-GOMEGC.01-Gravimétrico
Proteína	g/100 g (%)	7,16	-GOMEPL.01-Método Kjeldahl
Carbohidratos totales	g/100 g (%)	49,34	--
Calorías	kcal/100 g muestra	582,46	--
Azúcares Reductores	g/100 g (%)	10,07	HPLC/RI
Cadmio	mg/kg	0,33	AOAC 999.11 20th Edición Absorción atómica

*Parámetro incluido en el alcance de acreditación ONAC Código 11-LAB-005

TABLA 2. RESULTADOS ANÁLISIS DE LABORATORIO M999-18

PARÁMETROS	UNIDAD	RESULTADO	MÉTODO DE ANÁLISIS
Teobromina	mg/g muestra	n.d.	-HPLC-UV-Vis-
Cafeína	mg/g muestra	n.d.	
Catequina	mg/g muestra	n.d.	-HPLC-UV-Vis-
Epicatequina	mg/g muestra	n.d.	
Polifenoles totales	mg ácido gálico/g muestra	0,18	-Folin-Ciocalteu-

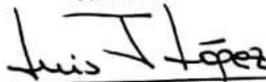
n.d.= no detectado

REVISÓ



MSc. Arley R. Vilamizar J.
 Químico PQ2839
 Coordinador de Calidad

APROBÓ



Dr. Luis Javier López Giraldo
 PhD Qca. Bioquímica y Ciencia de Alimentos
 Director

NOTA: ESTE INFORME DE RESULTADOS CORRESPONDE ÚNICAMENTE A LA MUESTRA ANALIZADA, NO PUEDE SER NI PARCIAL NI TOTALMENTE REPRODUCIDO SIN LA APROBACIÓN DEL LABORATORIO

FIN DEL INFORME

 ACREDITADO ONAC <small>ORGANISMO NACIONAL DE AUTORIZACIÓN DE COLOMBIA</small> ISO/IEC 17025:2005 11-LAB-005	 <small>Universidad Industrial de Santander</small>	LABORATORIO DE ALIMENTOS -CICTA-	INFORME DE ENSAYO	FOITIE.01
			Número: 1000-18	Versión: 05 Página 1 de 2

INFORME DE ENSAYO

FECHA: 2018-12-13
NOMBRE/EMPRESA: SENA C.A.S.A. Regional Santander
DIRECCIÓN: Km 2 vía Palogordo, Vereda Guatiguará – Piedecuesta
TELÉFONO: (7) 656 1806 – 656 1718

CÓDIGO DE LA MUESTRA: M1000-18
PRODUCTO: Muestra 0,1% de polifenoles
FECHA DE RECEPCIÓN: 2018-11-23
REALIZACIÓN DEL ANÁLISIS: 2018-11-23 a 2018-12-05

DESCRIPCIÓN DEL ANÁLISIS:

1. La humedad se determinó por medio de secado en estufa siguiendo la metodología GOMESL.01 *análisis de humedad en alimentos.*
2. La determinación de cenizas se realizó por calcinación siguiendo la metodología GOMECH.01 *análisis de ceniza en alimentos.*
3. La proteína fue analizada por el método de Kjeldahl, procedimiento interno validado GOMEPL.01 *análisis de proteína en alimentos.*
4. La determinación de grasa se realizó por extracción con solvente en equipo Soxhlet siguiendo la metodología GOMEGC.01 *análisis de grasa en alimentos.*
5. Los carbohidratos totales y calorías fueron calculados matemáticamente según la resolución 333 del 2011 del Ministerio de Protección Social.
6. Los Azúcares Reductores se determinaron por método validado en el laboratorio HPLC-RI.
7. El Cadmio fue determinado en el remanente de las cenizas y cuantificados por espectrometría de absorción atómica siguiendo la norma internacional AOAC 999.11 20th Edición.
8. La cuantificación de cafeína, teobromina, Catequina y Epicatequina se realizó por HPLC Dionex Ultimate 3000 controlado por el software Chromeleon 7.2, equipado con columna (Agilent Eclipse XDB-C18 150mm×2.1mm×5µm). La teobromina y cafeína fueron cuantificadas utilizando un detector UV a 273 nm.
9. La determinación de polifenoles totales se realizó siguiendo el método colorimétrico FOLIN-CIOCALTEU. La cuantificación se realizó por comparación con la curva de calibración de ácido gálico.

CICTA - Laboratorio de Alimentos
 Km. 2 Vía al Refugio, Sede UIS Guatiguará, Piedecuesta - Santander
 Telefax (7) 6 55 08 04
 cicta@uis.edu.co



 ACREDITADO ONAC <small>ORGANISMO NACIONAL DE ACREDITACIÓN DE COLOMBIA</small> ISO/IEC 17025:2005 11-LAB-005	 Universidad Industrial de Santander	LABORATORIO DE ALIMENTOS -CICTA-	INFORME DE ENSAYO	FOITIE.01
			Número: 1000-18	Versión: 05 Página 2 de 2

TABLA 1. RESULTADOS ANÁLISIS M1000-18

PARÁMETROS	UNIDAD	RESULTADO	MÉTODO DE ANÁLISIS
Humedad*	g/100 g (%)	1,97	-GOMESL.01- Gravimétrico
Ceniza*	g/100 g (%)	1,82	-GOMECH.01-Gravimétrico
Grasa*	g/100 g (%)	39,69	-GOMEGC.01-Gravimétrico
Proteína	g/100 g (%)	7,33	-GOMEPL.01-Método Kjeldahl
Carbohidratos totales	g/100 g (%)	49,19	-
Calorías	kcal/100 g muestra	583,24	-
Azúcares Reductores	g/100 g (%)	10,3	HPLC/RI
Cadmio	mg/kg	0,33	AOAC 999.11 20th Edición Absorción atómica

*Parámetro incluido en el alcance de acreditación ONAC Código 11-LAB-005

TABLA 2. RESULTADOS ANÁLISIS DE LABORATORIO M1000-18

PARÁMETROS	UNIDAD	RESULTADO	MÉTODO DE ANÁLISIS
Teobromina	mg/g muestra	0,06	-HPLC-UV-Vis-
Cafeína	mg/g muestra	0,03	
Catequina	mg/g muestra	n.d.	-HPLC-UV-Vis-
Epicatequina	mg/g muestra	0,10	
Polifenoles totales	mg ácido gálico/g muestra	0,57	-Folin-Ciocalteu-

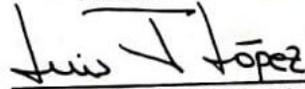
n.d.= no detectado

REVISÓ



MSc. Arley R. Villamizar J.
Químico PQ2839
Coordinador de Calidad

APROBÓ



Dr. Luis Javier López Giraldo
PhD Qca. Bioquímica y Ciencia de Alimentos
Director

NOTA: ESTE INFORME DE RESULTADOS CORRESPONDE ÚNICAMENTE A LA MUESTRA ANALIZADA, NO PUEDE SER NI PARCIAL NI TOTALMENTE REPRODUCIDO SIN LA APROBACIÓN DEL LABORATORIO

FIN DEL INFORME

 	LABORATORIO DE ALIMENTOS -CICTA-	INFORME DE ENSAYO	FOITIE.01
		Número: 1001-18	Versión: 05 Página 1 de 2

INFORME DE ENSAYO

FECHA: 2018-12-13
NOMBRE/EMPRESA: SENA C.A.S.A. Regional Santander
DIRECCIÓN: Km 2 vía Palogordo, Vereda Guatiguará – Piedecuesta
TELÉFONO: (7) 656 1806 – 656 1718

CÓDIGO DE LA MUESTRA: M1001-18
PRODUCTO: Muestra 0,3% de polifenoles
FECHA DE RECEPCIÓN: 2018-11-23
REALIZACIÓN DEL ANÁLISIS: 2018-11-23 a 2018-12-05

DESCRIPCIÓN DEL ANÁLISIS:

1. La humedad se determinó por medio de secado en estufa siguiendo la metodología GOMESL.01 *análisis de humedad en alimentos.*
2. La determinación de cenizas se realizó por calcinación siguiendo la metodología GOMECH.01 *análisis de ceniza en alimentos.*
3. La proteína fue analizada por el método de Kjeldahl, procedimiento interno validado GOMEPL.01 *análisis de proteína en alimentos.*
4. La determinación de grasa se realizó por extracción con solvente en equipo Soxhlet siguiendo la metodología GOMEGC.01 *análisis de grasa en alimentos.*
5. Los carbohidratos totales y calorías fueron calculados matemáticamente según la resolución 333 del 2011 del Ministerio de Protección Social.
6. Los Azúcares Reductores se determinaron por método validado en el laboratorio HPLC-RI.
7. El Cadmio fue determinado en el remanente de las cenizas y cuantificados por espectrometría de absorción atómica siguiendo la norma internacional AOAC 999.11 20th Edición.
8. La cuantificación de cafeína, teobromina, Catequina y Epicatequina se realizó por HPLC Dionex Ultimate 3000 controlado por el software Chromeleon 7.2, equipado con columna (Agilent Eclipse XDB-C18 150mm×2.1mm×5µm). La teobromina y cafeína fueron cuantificadas utilizando un detector UV a 273 nm.
9. La determinación de polifenoles totales se realizó siguiendo el método colorimétrico FOLIN-CIOCALTEU. La cuantificación se realizó por comparación con la curva de calibración de ácido gálico.

CICTA - Laboratorio de Alimentos
 Km. 2 Vía al Refugio, Sede UIS Guatiguará, Piedecuesta - Santander
 Telefax (7) 6 55 08 04
cicta@uis.edu.co



 ACREDITADO ONAC <small>ORGANISMO NACIONAL DE ACREDITACIÓN</small> ISO/IEC 17025:2005 11-LAB-005	 <small>Universidad Nacional de Ciénega</small>	LABORATORIO DE ALIMENTOS -CICTA-	INFORME DE ENSAYO	FOITIE.01
			Número: 1001-18	Versión: 05 Página 2 de 2

TABLA 1. RESULTADOS ANÁLISIS M1001-18

PARÁMETROS	UNIDAD	RESULTADO	MÉTODO DE ANÁLISIS
Humedad*	g/100 g (%)	1,74	-GOMESL.01- Gravimétrico
Ceniza*	g/100 g (%)	1,86	-GOMECH.01-Gravimétrico
Grasa*	g/100 g (%)	39,64	-GOMEGC.01-Gravimétrico
Proteína	g/100 g (%)	7,32	-GOMEPL.01-Método Kjeldahl
Carbohidratos totales	g/100 g (%)	49,44	--
Calorías	kcal/100 g muestra	583,79	--
Azúcares Reductores	g/100 g (%)	10,01	HPLC/RI
Cadmio	mg/kg	0,33	AOAC 999.11 20th Edición Absorción atómica

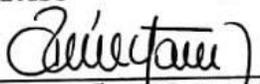
*Parámetro incluido en el alcance de acreditación ONAC Código 11-LAB-005

TABLA 2. RESULTADOS ANÁLISIS DE LABORATORIO M1001-18

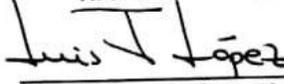
PARÁMETROS	UNIDAD	RESULTADO	MÉTODO DE ANÁLISIS
Teobromina	mg/g muestra	0,17	-HPLC-UV-Vis-
Cafeína	mg/g muestra	0,06	
Catequina	mg/g muestra	n.d.	-HPLC-UV-Vis-
Epicatequina	mg/g muestra	0,23	
Polifenoles totales	mg ácido gálico/g muestra	0,88	-Folin-Ciocalteu-

n.d.= no detectado

REVISÓ


MSc. Arfey R. Villamizar J.
 Químico PQ2839
 Coordinador de Calidad

APROBÓ


Dr. Luis Javier López Giraldo
 PhD Qca. Bioquímica y Ciencia de Alimentos
 Director

NOTA: ESTE INFORME DE RESULTADOS CORRESPONDE ÚNICAMENTE A LA MUESTRA ANALIZADA, NO PUEDE SER NI PARCIAL NI TOTALMENTE REPRODUCIDO SIN LA APROBACIÓN DEL LABORATORIO

FIN DEL INFORME

 ACREDITADO ONAC ORGANISMO NACIONAL DE ACREDITACIÓN DE COLOMBIA ISO/IEC 17025:2005 11-LAB-005	 Universidad Industrial de Santander	LABORATORIO DE ALIMENTOS -CICTA-	INFORME DE ENSAYO	FOITIE.01
			Número: 1002-18	Versión: 05 Página 1 de 2

INFORME DE ENSAYO

FECHA: 2018-12-13
NOMBRE/EMPRESA: SENA C.A.S.A. Regional Santander
DIRECCIÓN: Km 2 vía Palogordo, Vereda Guatiguará – Piedecuesta
TELÉFONO: (7) 656 1806 – 656 1718

CÓDIGO DE LA MUESTRA: M1002-18
PRODUCTO: Muestra 0,9 % de polifenoles
FECHA DE RECEPCIÓN: 2018-11-23
REALIZACIÓN DEL ANÁLISIS: 2018-11-23 a 2018-12-06

DESCRIPCIÓN DEL ANÁLISIS:

1. La humedad se determinó por medio de secado en estufa siguiendo la metodología GOMESL.01 *análisis de humedad en alimentos*.
2. La determinación de cenizas se realizó por calcinación siguiendo la metodología GOMECH.01 *análisis de ceniza en alimentos*.
3. La proteína fue analizada por el método de Kjeldahl, procedimiento interno validado GOMEPL.01 *análisis de proteína en alimentos*.
4. La determinación de grasa se realizó por extracción con solvente en equipo Soxhlet siguiendo la metodología GOMEGC.01 *análisis de grasa en alimentos*.
5. Los carbohidratos totales y calorías fueron calculados matemáticamente según la resolución 333 del 2011 del Ministerio de Protección Social.
6. Los Azúcares Reductores se determinaron por método validado en el laboratorio HPLC-RI.
7. El Cadmio fue determinado en el remanente de las cenizas y cuantificados por espectrometría de absorción atómica siguiendo la norma internacional AOAC 999.11 20th Edición.
8. La cuantificación de cafeína, teobromina, Catequina y Epicatequina se realizó por HPLC Dionex Ultimate 3000 controlado por el software Chromeleon 7.2, equipado con columna (Agilent Eclipse XDB-C18 150mm×2.1mm×5µm). La teobromina y cafeína fueron cuantificadas utilizando un detector UV a 273 nm.
9. La determinación de polifenoles totales se realizó siguiendo el método colorimétrico FOLIN-CIOCALTEU. La cuantificación se realizó por comparación con la curva de calibración de ácido gálico.

CICTA - Laboratorio de Alimentos
 Km. 2 Vía al Refugio, Sede UIS Guatiguará, Piedecuesta - Santander
 Telefax (7) 6 55 08 04
 cicta@uis.edu.co



 ACREDITADO ONAC <small>ORGANISMO NACIONAL DE NORMALIZACIÓN Y CONTROL DE CALIDAD</small> ISO/IEC 17025:2005 11-LAB-005	 Universidad Industrial de Santander	LABORATORIO DE ALIMENTOS -CICTA-	INFORME DE ENSAYO	FOITIE.01
			Número: 1002-18	Versión: 05 Página 2 de 2

TABLA 1. RESULTADOS ANÁLISIS M1002-18

PARÁMETROS	UNIDAD	RESULTADO	MÉTODO DE ANÁLISIS
Humedad*	g/100 g (%)	1,93	-GOMESL.01- Gravimétrico
Ceniza*	g/100 g (%)	1,87	-GOMECH.01-Gravimétrico
Grasa*	g/100 g (%)	39,36	-GOMEGC.01-Gravimétrico
Proteína	g/100 g (%)	7,29	-GOMEPL.01-Método Kjeldahl
Carbohidratos totales	g/100 g (%)	49,55	--
Calorías	kcal/100 g muestra	581,59	--
Azúcares Reductores	g/100 g (%)	10,23	HPLC/RI
Cadmio	mg/kg	0,33	AOAC 999.11 20th Edición Absorción atómica

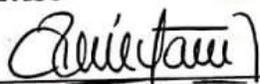
*Parámetro incluido en el alcance de acreditación ONAC Código 11-LAB-005

TABLA 2. RESULTADOS ANÁLISIS DE LABORATORIO M1002-18

PARÁMETROS	UNIDAD	RESULTADO	MÉTODO DE ANÁLISIS
Teobromina	mg/g muestra	0,42	-HPLC-UV-Vis-
Cafeína	mg/g muestra	0,14	
Catequina	mg/g muestra	n.d.	-HPLC-UV-Vis-
Epicatequina	mg/g muestra	0,62	
Polifenoles totales	mg ácido gálico/g muestra	2,16	-Folin-Ciocalteu-

n.d.= no detectado

REVISÓ


MSc. Arley R. Villamizar J.
 Químico PQ2839
 Coordinador de Calidad

APROBÓ

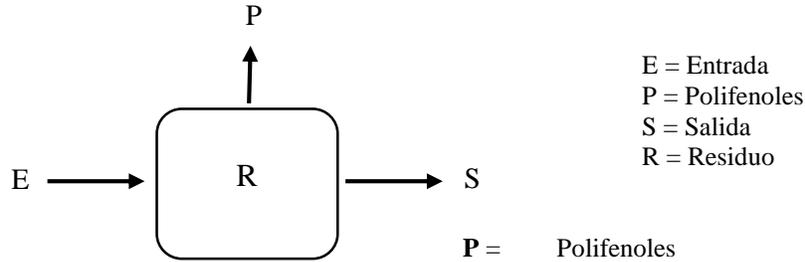

Dr. Luis Javier López Giraldo
 PhD Qca. Bioquímica y Ciencia de Alimentos
 Director

NOTA: ESTE INFORME DE RESULTADOS CORRESPONDE ÚNICAMENTE A LA MUESTRA ANALIZADA, NO PUEDE SER NI PARCIAL NI TOTALMENTE REPRODUCIDO SIN LA APROBACIÓN DEL LABORATORIO

FIN DEL INFORME

Anexo K. Balance materia de la elaboración de un chocolate blanco

A. BALANCE DE MATERIA GENERAL



M = Manteca de cacao blanca
A = Azúcar
LE = Leche entera en polvo
LD = Leche descremada en polvo
L = Lecitina
EV = Ethil vainillina

E = P + S + R
E = M + A + LE + LD + L + EV + P
P = 0,1% (M + A + LE + LD + L + EV)
P = 0,001 (M + A + LE + LD + L + EV)
P + R = 0,12 E

Base de cálculo: 100 Kg

M =	35 Kg
A =	38,59 Kg
LE =	14 Kg
LD =	12 Kg
EV =	0,01 Kg
L =	0,4 Kg
	100 Kg
P =	0,1 Kg
E =	100,1 Kg

$$P = 0,001 * 100 \text{ Kg}$$

P = 0,1 Kg

$$R = 0,12 * 100,1 \text{ Kg}$$

R = 12,012 Kg

P + R = 12,112 Kg

La unidad de polifenoles está dada por: mg de ácido gálico / gramo muestra

$$\text{Polifenoles totales} = \frac{\text{mg de ácido gálico}}{\text{gramo muestra}}$$

- Rendimiento = $\frac{P_f}{P_i} * 100$

$$\text{Rendimiento} = \frac{0,75}{0,83} * 100$$

Rendimiento = 90,36

- Merma = $\frac{P_i - P_f}{P_i} * 100$

$$\text{Merma} = \frac{0,83 - 0,75}{0,83} * 100$$

Merma = 9,64

Esta merma corresponde a la pérdida de polifenoles durante el proceso de calentamiento.

- **BALANCE PARCIAL DE POLIFENOLES**

Este balance de polifenoles se realizó para determinar las pérdidas por calentamiento, más las mermas en proceso de mezcla y refinado en elaboración de un chocolate blanco

$$M + A + LE + LD + L + EV + P = P + S + R$$

- **MATERIAS PRIMAS QUE APORTAN POLIFENOLES**

$$\cancel{M} + \cancel{A} + LE + LD + L + \cancel{EV} + \cancel{P} = P + S + R$$

$$LE + LD + P = P + R + S$$

- LE = 14 Kg = 14.000 g

$$\text{Resultado de laboratorio} = \frac{0,57 \text{ mg de ácido gálico}}{\text{gramo muestra}}$$

$$\begin{array}{l} 1 \text{ g} \quad \longrightarrow \quad 0,57 \text{ mg ácido gálico} \\ 14.000 \text{ g} \quad \longrightarrow \quad x \end{array}$$

$$x = 7.980 \text{ mg} = 7,98 \text{ g ácido gálico}$$

$$\mathbf{LE = 7,98 \text{ g ácido gálico}}$$

- LD = 12 Kg = 12.000 g

$$\text{Resultado de laboratorio} = \frac{0,58 \text{ mg de ácido gálico}}{\text{gramo muestra}}$$

$$\begin{array}{l} 1 \text{ g} \quad \longrightarrow \quad 0,58 \text{ mg ácido gálico} \\ 12.000 \text{ g} \quad \longrightarrow \quad x \end{array}$$

$$x = 6.960 \text{ mg} = 6,96 \text{ g ácido gálico}$$

$$\mathbf{LD = 6,96 \text{ g ácido gálico}}$$

- P = 100 g

$$\text{Total ácido gálico} = LE + LD + P$$

$$\text{Total ácido gálico} = 7,98 \text{ g ácido gálico} + 6,96 \text{ g ácido gálico} + 100 \text{ g adicionados}$$

$$\mathbf{\text{TOTAL ÁCIDO GÁLICO} = 114,94 \text{ g ÁCIDO GÁLICO}}$$

- **RESULTADO DE PRODUCTO PARA EL TRATAMIENTO 2**

$$\text{Resultado de laboratorio} = \frac{0,75 \text{ mg de ácido gálico}}{\text{gramo muestra}}$$

$$E = P + R + S$$

$$100,1 \text{ Kg} = 12,112 \text{ Kg} + S$$

$$\begin{aligned}
 S &= 100,1 - 12,112 \\
 S &= 87,988 \text{ kg} = 87.988 \text{ g} \\
 1 \text{ g} &\xrightarrow{0,75} \text{mg ácido gálico} \\
 87.988 \text{ g} &\xrightarrow{x}
 \end{aligned}$$

$$x = 65.991 \text{ mg} = 65,991 \text{ g ácido gálico}$$

- Diferencia entre la cantidad de entrada de ácido gálico respecto a la salida

$$114,94 \text{ g ácido gálico (Entrada)} - 65,991 \text{ g ácido gálico (Salida)} = 48,949 \text{ g ácido gálico}$$

$$P + R = 48,949 \text{ g ácido gálico}$$

- Merma = $\frac{P_i - P_f}{P_i} * 100$

$$\text{Merma} = \frac{48,874 \text{ g ácido gálico}}{114,94 \text{ g ácido gálico}} * 100$$

$$\text{MERMA polifenoles} = 42,52\%$$