

**ELABORACIÓN DE UNA BARRA DE CHOCOLATE CON LECHE REDUCIDA
EN AZÚCARES CON ADICIÓN DE *Lactobacillus rhamnosus* GG (LGG) Y TÉ
MATCHA (*Camellia sinensis*) PARA LA EMPRESA ALL GREAT**

LISSEN STEHICY GARCÍA OSORIO

**UNIVERSIDAD DE PAMPLONA
FACULTAD DE INGENIERÍAS Y ARQUITECTURA
PROGRAMA DE INGENIERÍA DE ALIMENTOS
VILLA DEL ROSARIO, NORTE DE SANTANDER
2022-2**

**ELABORACIÓN DE UNA BARRA DE CHOCOLATE CON LECHE REDUCIDA
EN AZÚCARES CON ADICIÓN DE *Lactobacillus rhamnosus* GG (LGG) Y TÉ
MATCHA (*Camellia sinensis*) PARA LA EMPRESA ALL GREAT**

LISSEN STEHICY GARCÍA OSORIO

**Trabajo de grado como requisito para obtención del título de INGENIERA DE
ALIMENTOS**

Directora:

MSc. ERIKA PAOLA SOTO TOLOZA

Codirectora:

MSc. LUZ ALBA CABALLERO PÉREZ

**UNIVERSIDAD DE PAMPLONA
FACULTAD DE INGENIERÍAS Y ARQUITECTURA
PROGRAMA DE INGENIERÍA DE ALIMENTOS
VILLA DEL ROSARIO, NORTE DE SANTANDER
2022-2**

CONTENIDO

	pág.
1. INTRODUCCIÓN.....	19
2. MARCO REFERENCIAL	22
2.1. ANTECEDENTES.....	22
2.2. MARCO CONTEXTUAL	27
2.3. MARCO TEÓRICO	30
2.3.1. Alimentos funcionales	31
2.3.1.1. Componentes bioactivos	31
2.3.2. Probióticos	32
2.3.2.1. Beneficios de los probióticos	33
2.3.3. Bacterias del ácido láctico	34
2.3.3.1. Clasificación.....	35
2.3.4. <i>Lactobacillus</i>	36
2.3.4.1. Especies de <i>Lactobacillus</i>	36
2.3.4.2. Clasificación de las especies de <i>Lactobacillus</i>	38
2.3.4.3. <i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG.....	40
2.3.4.4. Ácido gamma-aminobutírico (GABA).....	40
2.3.5. Té matcha	42
2.3.5.1. Características sensoriales del té matcha	43
2.3.5.2. Componentes bioactivos del té matcha	43

2.3.5.3.	Beneficios del té matcha.....	45
2.3.5.4.	Composición nutricional del té matcha	46
2.3.6.	Chocolate	47
2.3.6.1.	Beneficios del chocolate	47
2.3.7.	Chocolate con leche.....	48
2.3.7.1.	Etapas para la elaboración de chocolate con leche.....	48
2.3.7.2.	Composición	51
2.3.8.	Licor de cacao	52
2.3.8.1.	Composición nutricional del licor de cacao	52
2.3.8.2.	Características sensoriales del licor de cacao	53
2.3.9.	Manteca de cacao	55
2.3.9.1.	Composición nutricional de la manteca de cacao	55
2.3.9.2.	Características sensoriales de la manteca de cacao	56
2.3.10.	Azúcar	57
2.3.10.1.	Composición nutricional de la azúcar	57
2.3.10.2.	Sustitutos de azúcar	58
2.3.10.3.	Edulcorantes artificiales	58
2.3.11.	Maltitol.....	58
2.3.11.1.	Composición nutricional del maltitol.....	59
2.3.11.2.	Características sensoriales del maltitol.....	60
2.3.12.	Leche entera en polvo.....	60
2.3.12.1.	Características sensoriales de la leche entera en polvo	60

2.3.12.2.	Composición nutricional de la leche entera en polvo	61
2.3.13.	Emulsificantes	62
2.3.13.1.	Lecitina de soja.....	62
2.3.13.2.	Composición nutricional de la lecitina de soja	63
2.3.14.	Esencia de vainilla.....	64
2.3.14.1.	Composición nutricional de la esencia de vainilla.....	64
2.3.14.2.	Características sensoriales de la esencia de vainilla.....	65
2.3.15.	Confitería funcional	65
2.3.15.1.	Chocolates con probióticos.....	66
2.3.16.	Antioxidantes.....	66
2.3.16.1.	Antioxidantes en el chocolate con leche	67
2.3.16.2.	Antioxidantes en el té matcha.....	67
2.3.17.	Evaluación sensorial	68
2.3.17.1.	Pruebas afectivas	68
2.3.17.2.	Pruebas descriptivas	69
2.3.17.3.	Atributos sensoriales del chocolate	69
3.	OBJETIVOS.....	71
3.1.	OBJETIVO GENERAL	71
3.2.	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	71
4.	METODOLOGÍA.....	72
4.1.	MATERIA PRIMA	73
4.2.	FORMULACIONES	77

4.3.	ELABORACIÓN DE LAS BARRAS DE CHOCOLATE	78
4.4.	ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICO.....	82
4.4.1.	Humedad.....	82
4.4.2.	Cenizas	82
4.4.3.	pH.....	83
4.4.4.	Color.....	83
4.4.5.	Perfil de fusión	83
4.5.	ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO	84
4.5.1.	Determinación de la viabilidad del <i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG (LGG) 84	
4.5.2.	Análisis de viabilidad del <i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG (LGG) en las muestras de chocolate.....	84
4.5.3.	Calidad microbiológica de las muestras	85
4.6.	ANÁLISIS SENSORIAL	86
4.6.1.	Prueba afectiva	86
4.6.2.	Prueba descriptiva.....	87
4.7.	ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	98
4.8.	ELABORACIÓN DE LA TABLA NUTRICIONAL	98
4.9.	ELABORACIÓN DE LA ETIQUETA	98
4.10.	ELABORACIÓN DE LA FICHA TÉCNICA	99
5.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	100
5.1.	ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICO.....	100
5.1.1.	Humedad.....	100

5.1.2.	Cenizas	103
5.1.3.	pH.....	105
5.1.4.	Color.....	108
5.1.5.	Perfil de fusión	110
5.2.	ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO	112
5.2.1.	Viabilidad del <i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG antes y después de su adición al chocolate	112
5.2.2.	Calidad microbiológica de las muestras	113
5.3.	ANÁLISIS SENSORIAL	115
5.3.1.	Prueba afectiva	115
5.3.2.	Prueba descriptiva.....	117
5.3.2.1.	Apariencia.....	117
5.3.2.2.	Olor	118
5.3.2.3.	Sonido	119
5.3.2.4.	Textura	120
5.3.2.5.	Sabor	121
5.4.	ELABORACIÓN DE LA TABLA NUTRICIONAL Y LA ETIQUETA	122
5.5.	ELABORACIÓN DE LA FICHA TÉCNICA	125
6.	CONCLUSIONES	128
7.	RECOMENDACIONES.....	130
8.	REFERENTES BIBLIOGRÁFICOS	131

9. ANEXOS.....	153
----------------	-----

LISTA DE TABLAS

	pág.
Tabla 1. Principales especies de <i>Lactobacillus</i>	37
Tabla 2. Clasificación de las especies del género <i>Lactobacillus</i>	38
Tabla 3. Análisis químico de muestra de matcha.	44
Tabla 4. Composición nutricional del té matcha 100% puro.	46
Tabla 5. Proceso para la elaboración de barras de chocolate con leche.	49
Tabla 6. Composición nutricional del licor de cacao.	53
Tabla 7. Defectos en el licor de cacao.	54
Tabla 8. Composición nutricional de la manteca de cacao.	56
Tabla 9. Composición nutricional de la azúcar.	57
Tabla 10. Composición nutricional del maltitol.	59
Tabla 11. Composición nutricional de la leche entera en polvo.	61
Tabla 12. Composición nutricional de la lecitina de soja líquida.	63
Tabla 13. Composición nutricional de la esencia de vainilla.	64
Tabla 14. Materias primas que se emplearon para la elaboración del producto.	73
Tabla 15. Formulaciones del producto.	77
Tabla 16. Descripción del proceso de elaboración de las barras de chocolate con leche con adición de <i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG y té matcha.	80

Tabla 17. Requisitos microbiológicos para el chocolate y sus sucedáneos para consumo directo.....	85
Tabla 18. Evaluación de la prueba sensorial utilizando una escala hedónica de 9 puntos.	86
Tabla 19. Escala de evaluación para los atributos sensoriales en el chocolate con leche con adición de <i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG y té matcha.....	88
Tabla 20. Colores obtenidos en el análisis de color de la formulación control y las formulaciones elaboradas.	108
Tabla 21. Análisis de color de las diferentes formulaciones.	109
Tabla 22. Temperatura de fusión de las diferentes formulaciones.	111
Tabla 23. Viabilidad del <i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG en polvo y del <i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG adicionado en la muestra del chocolate.....	112
Tabla 24. Calidad microbiológica de las formulaciones.....	114
Tabla 25. Información nutricional del producto elaborado.	123

LISTA DE FIGURAS

	pág.
Figura 1. Ubicación de la empresa All Great.....	28
Figura 2. Logo de la empresa.	29
Figura 3. Presentación comercial pan integral y barras nutritivas.....	29
Figura 4. Usos e ingredientes funcionales de las bacterias ácido lácticas.....	34
Figura 5. Clasificación de las bacterias ácido lácticas.	36
Figura 6. Fotografías de Cultivo de plantas de té para matcha usando protectores solares (a) y polvo de matcha (b).....	42
Figura 7. Propiedades promotoras de la salud de los principales compuestos bioactivos del té matcha.	45
Figura 8. Composición típica del chocolate con leche con el porcentaje de los ingredientes.	52
Figura 9. Esquema de la investigación realizada.....	72
Figura 10. Licor de cacao.....	73
Figura 11. Manteca de cacao.....	74
Figura 12. Leche en polvo.....	74
Figura 13. <i>Lactobacillus rhamnosus</i> en polvo.	74
Figura 14. Té matcha en polvo.....	75
Figura 15. Azúcar.....	75
Figura 16. Maltitol.....	76
Figura 17. Lecitina de soja líquida.....	76
Figura 18. Esencia de vainilla.	76

Figura 19. Diagrama de flujo de la elaboración de las muestras de chocolate.	79
Figura 20. Ecuación porcentaje de cenizas.	83
Figura 21. Etiqueta del producto elaborado.	124
Figura 22. Ficha técnica del producto elaborado.	125

LISTA DE GRÁFICOS

pág.

Gráfico 1. Porcentaje de humedad de las diferentes formulaciones durante el día 1, 7, 14 y 30 de almacenamiento.	100
Gráfico 2. Porcentaje de cenizas de las diferentes formulaciones durante el día 1, 7, 14 y 30 de almacenamiento.	104
Gráfico 3. pH de las diferentes formulaciones durante el día 1, 7, 14 y 30 de almacenamiento.....	106
Gráfico 4. Gráfico de radar con los resultados de la prueba afectiva.....	115
Gráfico 5. Gráfico de radar con los resultados de la prueba descriptiva para los atributos de apariencia.....	117
Gráfico 6. Gráfico de radar con los resultados de la prueba descriptiva para los atributos de olor.	118
Gráfico 7. Gráfico de columnas con los resultados de la prueba descriptiva para el atributo de sonido crujiente.....	120
Gráfico 8. Gráfico de radar con los resultados de la prueba descriptiva para los atributos de textura.	121
Gráfico 9. Gráfico de radar con los resultados de la prueba descriptiva para los atributos de sabor.	122

LISTA DE ANEXOS

pág.

Anexo 1. Formato prueba afectiva.	153
Anexo 2. Formato prueba descriptiva.	154
Anexo 3. Curva de humedad de las formulaciones el día 1 de almacenamiento.	158
Anexo 4. Curva de humedad de las formulaciones el día 7 de almacenamiento.	158
Anexo 5. Curva de humedad de las formulaciones el día 14 de almacenamiento.	159
Anexo 6. Curva de humedad de las formulaciones el día 30 de almacenamiento.	159
Anexo 7. Resultados prueba de cenizas en las formulaciones el día 1 de almacenamiento.....	160
Anexo 8. Resultados prueba de cenizas en las formulaciones el día 7 de almacenamiento.....	161
Anexo 9. Resultados prueba de cenizas en las formulaciones el día 14 de almacenamiento.....	162
Anexo 10. Resultados prueba de cenizas en las formulaciones el día 30 de almacenamiento.....	164
Anexo 11. Reporte resultados ensayos microbiológicos.....	166

LISTA DE ABREVIATURAS

g:	Gramo
mg:	Miligramo
Kcal	Kilocaloría
UI:	Unidad Internacional
FC:	Formulación control
F1:	Formulación 1
F2:	Formulación 2
F3:	Formulación 3
BAL:	Bacterias ácido lácticas
GABA:	Ácido γ -aminobutírico
FAO:	La Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura
OMS:	Organización Mundial de la Salud
NTC:	Norma Técnica Colombiana
INCONTEC:	Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación
LGG:	La cepa Gorbach-Goldin de <i>Lactobacillus rhamnosus</i>
IEC:	Células epiteliales intestinales humanas

EGCG: Galato de epigallocatequina

EGC: Epigallocatequina

ECG: Galato de epicatequina

EC: Epicatequina

AOAC: Association of Official Analytical Chemists

RESUMEN

Actualmente ha ido en aumento la conciencia de las personas en su salud y dieta, lo que obliga a las empresas a producir alimentos saludables y con adición de componentes bioactivos. De este modo, aumentar la funcionalidad de un producto sin dañar las características de calidad es muy importante para cumplir con los requisitos del consumidor. Al considerar el hecho de que el chocolate es uno de los productos alimenticios ampliamente consumidos y populares entre personas de todas las edades en todo el mundo, el objetivo de esta investigación fue elaborar tres diferentes formulaciones de un chocolate con leche en barra con adición de té matcha a diferentes concentraciones (0,5%, 1,5% y 2,5%) y *Lactobacillus rhamnosus* GG (LGG), con sustitución parcial de sacarosa por maltitol. En las diferentes formulaciones se evaluaron las propiedades fisicoquímicas (humedad, cenizas y pH se evaluaron en el día 1, 7, 14 y 30, además se evaluó el color y el perfil de fusión) y microbiológicas (determinación de la viabilidad del *Lactobacillus rhamnosus* GG (LGG), análisis de la viabilidad del *Lactobacillus rhamnosus* GG (LGG) en las muestras de chocolate y calidad microbiológica de las muestras). Además, se realizó la prueba afectiva (dulzura, apariencia, color, olor, textura, sabor y aceptación general) y se identificó el perfil sensorial para cada una de las formulaciones. Los parámetros fisicoquímicos y sensoriales se compararon con una muestra de chocolate con leche regular comercial. Adicionalmente, se elaboró la tabla nutricional, la etiqueta y la ficha técnica para la muestra con mayor aceptación. En los resultados de los análisis fisicoquímicos se obtuvo que la humedad en las muestras en el día 1 era ligeramente alta (2,58% - 3,2%) y para el día 30 este contenido aumentó para F1 (3,98%) y F2 (4,76%), y disminuyó para FC (2,39%) y F3 (2,8%). En el contenido de cenizas no se encontró diferencias estadísticamente significativas entre F1, F2 y F3 (1,89% - 2,13%), presentándose en menor cantidad en FC (1,21%). El pH de todas las muestras en los días de análisis se encontró dentro de los rangos normales, siendo menor en F1, F2 y F3 (6,33 – 6,72), en

comparación con FC (6,55 - 7,07). En las formulaciones suplementadas con té matcha se afectó significativamente los parámetros de color CIE L*a*b* de los chocolates. En perfil de fusión no se encontraron diferencias estadísticamente significativas, encontrándose en un rango de 39-41°C para todas las muestras. En el análisis de calidad microbiológico se encontró que todas eran aptas para el consumo. De los análisis sensoriales se obtuvo que la formulación con mayor aceptación fue F1 (con adición de 0,5% de té matcha) y en el perfil descriptivo no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre las formulaciones para cada uno de los atributos evaluados. En el recuento de células viables de *Lactobacillus rhamnosus* GG (1×10^9 UFC/g), este disminuyó al ser adicionado al chocolate ($3,2 \times 10^7$ UFC/g).

Palabras clave: Chocolate con leche, té matcha, maltitol, componentes bioactivos, propiedades fisicoquímicas, evaluación sensorial.

1. INTRODUCCIÓN

En los últimos años se ha fomentado un estilo de vida saludable. Se manifiesta principalmente en el cuidado de la salud y la realización de actividad física para asegurar una vida más larga en buenas condiciones físicas y mentales. Una de las manifestaciones del cuidado de la salud es comer alimentos que no solo tengan el más alto valor nutricional, sino que también tengan propiedades específicas para promover la salud.

Sin embargo, el procesamiento de alimentos puede conducir a una reducción en la concentración o incluso a la pérdida total de muchos ingredientes bioactivos valiosos que influyen positivamente en la salud humana. De ahí el esfuerzo de los ingenieros de alimentos y, en consecuencia, de muchos productores de alimentos conscientes por diseñar productos alimenticios cuyo objetivo no es solo aportar todos los nutrientes, sino también influir positivamente en las funciones del organismo (Żyżelewicz *et al.*, 2021).

En general, el grano de cacao y sus productos derivados, como el chocolate, son una buena fuente de antioxidantes naturales, especialmente compuestos fenólicos (Cienfuegos Jovellanos *et al.*, 2009; Fernández Romero *et al.*, 2020; Ioannone *et al.*, 2015; Oracz *et al.*, 2015). Sin embargo, la producción de chocolate puede resultar en la pérdida de hasta el 80% de los compuestos fenólicos que se originan en los granos de cacao (da Silva Medeiros *et al.*, 2015).

Esto ha impulsado a la industria chocolatera a desarrollar nuevos productos que incluyan compuestos bioactivos, entre ellos, los probióticos, así como el uso de compuestos naturales derivados de plantas como los antioxidantes, además evaluar la viabilidad y biodisponibilidad de estos compuestos durante los procesos de producción. Por otro lado, el mercado de alimentos funcionales está en constante

crecimiento y no solo las pequeñas empresas con nicho de producción sino también los gigantes industriales están invirtiendo en él (Cienfuegos Jovellanos *et al.*, 2009; Oracz *et al.*, 2015).

De este modo, la solicitud de productos más saludables ha obligado a la industria alimentaria a reformular y ofrecer una gama más amplia de productos funcionales para satisfacer las demandas actuales del mercado, pero sin comprometer la calidad y el sabor de estos.

Por un lado, el chocolate podría utilizarse como vehículo ideal para entregar ingredientes bioactivos, principalmente debido a su alta aceptabilidad por parte de los consumidores, así como el efecto protector que ejerce sobre estos compuestos durante la digestión. Además, uno de los beneficios de usar chocolate como vehículo es que puede enmascarar sabores desagradables (Hwang *et al.*, 2012; Kemsawasd *et al.*, 2016; Konar, 2013; Silva *et al.*, 2017).

Asimismo, existen diversas investigaciones que han arrojado resultados prometedores respecto a la adición de probióticos y antioxidantes a este tipo de alimento. Possemiers *et al.*, (2010) indicaron que el recubrimiento de los probióticos en el chocolate es una excelente solución para protegerlos de las condiciones de estrés ambiental y para una entrega óptima. De igual modo, Coman *et al.*, (2012) señalaron que los chocolates son excelentes vehículos para brindar los efectos probióticos en la salud debido a la alta viabilidad de los probióticos durante la vida útil.

Igualmente, el chocolate y el té verde contienen antioxidantes que pueden utilizarse como agentes promotores de la salud. El té y los productos del té contienen principalmente polifenoles del té, que son antioxidantes naturales y muchos investigadores han demostrado que muestran propiedades antioxidantes,

anticancerígenas y antimicrobianas (McKay y Blumberg, 2002; Rietveld y Wiseman, 2003).

Por otra parte, en 2021, el mercado de la industria del chocolate generó unos ingresos de aproximadamente 0,99 billones de dólares estadounidenses en todo el mundo. Según estimaciones, se espera que los ingresos generados en este mercado aumenten en los próximos años alcanzando un valor de 1,33 billones de dólares en 2027. Estas cifras permiten dar una idea de la importancia de la industria de chocolates en todo el mundo. En cuanto a Colombia, en 2021, los ingresos del mercado de industria del chocolate aumentaron de 788 millones de dólares estadounidenses a 834 millones de dólares y se estima que este mercado va aumentar a alrededor de 929 millones de dólares estadounidenses en ingresos para 2026 (Statista Research Department, 2022).

La empresa All Great se dedica a la producción de productos alimenticios saludables e integrales tiene como principio la utilización de ingredientes e insumos naturales y nutritivos en todos sus productos. Buscando diversificar el mercado de la empresa All Great, así como de la industria de chocolates, este estudio tuvo como objetivo elaborar y caracterizar un chocolate con leche en barra reducido en azúcares con adición de *Lactobacillus rhamnosus* GG (LGG) y té matcha, con el fin de cumplir con las demandas actuales de los consumidores. Con la elaboración de este nuevo producto la empresa All great lograría acceder a un nuevo segmento de mercado, dando cumplimiento a los lineamientos descritos en su misión y visión, ofreciendo productos que puedan ser consumidos en cualquier momento, saludables y de excelente calidad, y así permitir que sus productos y empresa tengan reconocimiento a nivel departamental y nacional.

2. MARCO REFERENCIAL

2.1. ANTECEDENTES

Para el desarrollo del presente trabajo, se partió de diferentes trabajos previos realizados sobre la adición de microorganismos probióticos a diferentes tipos de chocolates, como matriz alimenticia para aportar beneficios a la salud de los consumidores. Además, acerca de la utilización de polvos vegetales como el té matcha, en chocolates, como aporte de antioxidantes.

En cuanto a la adición de probióticos a la matriz del chocolate, se encontraron diversos estudios, en donde diferentes tipos de chocolates han demostrado ser un vehículo adecuado para la entrega de diferentes cepas probióticas (*Lactobacillus* y *Bifidobacterium*). Por ejemplo, Zarić *et al.*, (2016) observaron que la formulación de un chocolate con leche al que se le agregaron cepas probióticas liofilizadas (*Lactobacillus acidophilus* NCFM, *Lactobacillus rhamnosus* HN001 y *Bifidobacterium lactis* HN019) demostró mantener 1×10^8 UFC por g de chocolate y >90 % de viabilidad después de seis meses de almacenamiento a 20 °C.

De igual manera, Faccinetto Beltrán *et al.*, (2021) desarrollaron una formulación de chocolate con leche para servir como vehículo de ácidos grasos poliinsaturados Omega-3 y probióticos (*L. plantarum* 299v y *L. rhamnosus* GG). Encontrando que el chocolate con leche y adición de probióticos no afectaron las propiedades fisicoquímicas y con buena aceptabilidad sensorial por parte de los consumidores, demostrando que el chocolate con leche es un vehículo adecuado para suministrar ácidos grasos poliinsaturados Omega-3 y probióticos que son esenciales para mejorar el desarrollo cognitivo de los niños.

Por otra parte, Ozer *et al.*, (2022) investigaron los niveles de viabilidad de diferentes bacterias del ácido láctico productoras de ácido gamma-aminobutírico (GABA) microencapsuladas y no microencapsuladas en chocolate con leche, encontraron que entre las cepas de LAB evaluadas, *L. rhamnosus* produjo la concentración de GABA más alta con casi 59000 mg/L a 37 °C durante 24 h. Las tasas de supervivencia de *L. rhamnosus* (microencapsulado y no microencapsulado) en muestras de chocolate fueron 83% y 79%, respectivamente a 4 °C durante 60 días de almacenamiento. Concluyeron que los productos de chocolate pueden ser un buen portador para proteger la viabilidad de las bacterias frente a condiciones de estrés y que *L. rhamnosus* puede proporcionar un aporte para pacientes con trastorno de ansiedad, ya que se cree que esta cepa tiene un efecto terapéutico.

De modo similar, Islam *et al.*, (2022) investigaron las propiedades fisicoquímicas, los atributos sensoriales y la viabilidad de los probióticos en los chocolates con leche durante el almacenamiento y la digestión gastrointestinal in vitro, observaron que la viscosidad del chocolate probiótico disminuyó constantemente a medida que avanzaba el tiempo de almacenamiento, con un ligero aumento de la actividad del agua y el pH no se vio afectado durante el almacenamiento refrigerado de hasta 90 días. Encontraron que la célula probiótica era viable hasta 90 días de almacenamiento a 4 °C ($>6 \log \text{CFU g}^{-1}$) y que por lo tanto era suficiente en número para proporcionar beneficios potenciales para la salud del consumidor, además que, como vehículo, la matriz de chocolate mostró un efecto protector frente a los nuevos probióticos en los entornos gastrointestinales en comparación con las células libres. En cuanto a los resultados sensoriales generales indicaron que la suplementación con probióticos no tuvo un efecto significativo en los atributos sensoriales.

Igualmente Kobus Cisowska *et al.*, (2019) evaluaron la influencia del tiempo de almacenamiento del chocolate probiótico con *B. coagulans* sobre el contenido de compuestos bioactivos y la calidad mediante parámetros fisicoquímicos y

sensoriales. Además, investigaron el mantenimiento de los recuentos bacterianos durante el período de almacenamiento y en el transcurso de la digestión en un modelo in vitro. Observaron que la adición de cepas probióticas al chocolate no afecta su calidad medida a partir de la actividad del agua, la acidez y el contenido de polifenoles, por lo que indicaron que el chocolate negro constituye una matriz adecuada para la bacteria probiótica *B. coagulans*, y las características sensoriales del chocolate probiótico son similares a las del producto tradicional. Además, la alta tasa de supervivencia de las bacterias contenidas en el chocolate después de pasar por las condiciones de digestión simulada del tracto gastrointestinal y durante el almacenamiento de un producto listo les permitió confirmar que el chocolate probiótico puede constituir una nueva alternativa como suplemento probiótico en la dieta, especialmente para los niños.

Por otro lado, Cielecka Piontek *et al.*, (2020) elaboraron un snack biofuncional que contiene un núcleo compuesto por liofilizado de frutos de frambuesa e inulina, así como una capa externa compuesta por chocolate negro y una de cinco especies de microorganismos probióticos. Observaron que la mayor concentración de polifenoles se obtuvo en los snacks sin aditivo de probióticos, así como aquellos con aditivo de bacterias *L. rhamnosus* y *B. animalis* y la concentración de estos compuestos aumentó en un 9,5% durante seis meses de almacenamiento. La adición de microorganismos probióticos no afectó negativamente las propiedades sensoriales. El número de microorganismos fue estable y comparativamente alto durante seis meses de almacenamiento a temperatura ambiente y en condiciones de refrigeración (10^8 UFC/g).

Con respecto a la adición de polvos vegetales, como el té matcha, a chocolates, igualmente se encontraron diversos estudios, entre los cuales se puede mencionar el realizado por Gültekin Özgüven *et al.*, (2020), en el cual diseñaron un chocolate negro enriquecido con té verde matcha (2%, 3%, 4%) para potenciar su actividad

antioxidante, como era de esperar, el aumento en el porcentaje de matcha en la formulación de chocolate resultó en un aumento de la actividad fenólica y antioxidante. Sin embargo, la adición de más del 3% de matcha a la formulación de chocolate redujo la aceptabilidad del consumidor. Concluyeron que el polvo de té verde matcha puede usarse como un ingrediente de valor agregado en el chocolate y observaron que agregar matcha en el paso de templado causa menos destrucción de fenoles, pero el matcha no se puede mezclar con chocolate de manera homogénea. Por lo tanto, prefirieron agregar matcha en la etapa de la mezcla.

De igual manera, Martini *et al.*, (2018) evaluaron el enriquecimiento del chocolate negro con hojas de té verde Sakura o polvo de cúrcuma, en donde observaron que influyó y modificó el perfil fenólico, lo que resultó en un aumento de la concentración fenólica. De esta forma, concluyeron que este chocolate funcional podría maximizar el efecto beneficioso del consumo de chocolate, combinando los efectos positivos para la salud del chocolate, de la cúrcuma y el té verde y, al mismo tiempo, reduciendo la cantidad de azúcares y calorías introducidas con el chocolate.

En esa misma línea, S. Aroyeun y Jayeola, (2016) desarrollaron un nuevo producto en el que incorporaron té verde en chocolate en diferentes proporciones: 10:90, 20:80, 30:70, 40:60 y 50:50 (w/w) del té verde en polvo al chocolate y elaboraron una muestra control de chocolate con leche sin té verde, determinaron que la sustitución de nibs de cacao por polvos de té verde de hasta un 20-50% perjudicó el sabor y el color del chocolate.

De modo similar, Poliński *et al.*, (2022) investigaron el efecto de la incorporación de hojas pulverizadas de té verde matcha (*Camellia sinensis* L.) (MGTP) y moringa (*Moringa oleífera*) (MOLP) en cuatro concentraciones diferentes en muestras de chocolate. Los resultados mostraron que los chocolates suplementados con MGTP se caracterizaron por tener mayores propiedades antioxidantes que aquellos con

MOLP. A su vez, MOLP incrementó significativamente el contenido de antioxidantes lipofílicos en chocolates, tocoferoles y carotenoides, que también exhiben efectos pro-salud. Confirmaron que los chocolates complementados con té verde matcha en polvo y hojas de moringa son productos con características sensoriales sofisticadas y propiedades positivas para la salud debido a concentraciones significativamente más altas de compuestos polifenólicos bioactivos que los que se encuentran en un chocolate blanco simple. Debido a la presencia de polvos vegetales, los chocolates innovadores pueden clasificarse como productos de confitería con altas propiedades antioxidantes.

De igual forma se puede mencionar lo realizado por Żyżelewicz *et al.*, (2021), en donde enriquecieron diferentes tipos de chocolate sustituyendo un parte del edulcorante con polvos liofilizados de arándanos (BLUB), frambuesas (RASB), moras (BLCB), orujo de granada (POME) y remolacha (BEET), los cuales se utilizaron como fuentes de compuestos fenólicos. Encontraron que la adición del 1% de polvos de frutas o vegetales a los chocolates aumentó el contenido de compuestos fenólicos totales (flavan-3-oles, ácidos fenólicos y antocianinas) de los chocolates oscuros y con leche enriquecidos en comparación con los de control dependientes del polvo utilizado. Además, los resultados del análisis fisicoquímico y sensorial indicaron que hasta el 1% de los polvos vegetales ricos en fenoles liofilizados probados se pueden agregar con éxito para producir chocolate con leche y chocolate negro con un mayor contenido de polifenoles y buenas propiedades sensoriales.

Acerca de la adición de sustitutos de la azúcar, en el caso del maltitol en el chocolate se encontró un estudio en donde Son *et al.*, (2018) analizaron las características de floración de chocolates que contienen maltitol y tagatosa como edulcorantes alternativos en términos de sus propiedades físicas y sensoriales para determinar el progreso de floración de cada chocolate y sus características típicas. Concluyeron

que el fenómeno de floración del chocolate podría ocurrir más fácilmente cuando se elabora con azúcar. En comparación, el grupo con maltitol añadido presentó mejores propiedades de resistencia a la floración en comparación con los grupos de chocolate con azúcar añadido. Por lo tanto, cuando se utilizan algunos edulcorantes alternativos como la tagatosa y el maltitol para hacer chocolates, los productos finales de chocolate podrían poseer una estabilidad de almacenamiento mejorada por efectos anti-floración y también podrían tener funciones saludables mejoradas como efectos no cancerígenos y mejorar la regulación de los síntomas de la diabetes tipo 2.

De igual manera Konar, (2013) evaluó los efectos de la sustitución del azúcar fino por isomalta y maltitol en muestras de chocolate con leche que contienen inulina (9,0 % p/p), que es una sustancia con actividad prebiótica, y el uso de temperaturas de conchado (CT) variables (50, 55 y 60 °C) en el proceso de preparación de muestras sobre sus propiedades físicas (color, dureza, actividad del agua) y reológicas. Informo que con el uso del maltitol se obtienen propiedades reológicas similares al chocolate preparado con sacarosa y, por lo tanto, se recomienda como un buen sustituto de la sacarosa en los productos de chocolate.

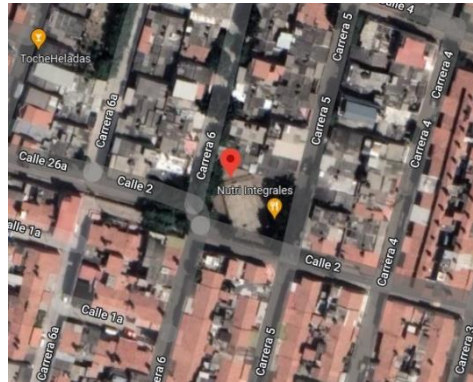
Lo anteriormente expuesto evidencia la viabilidad de emplear el chocolate con leche como vehículo para adicionar el *Lactobacillus rhamnosus*, así como té matcha, por lo que el objetivo del presente proyecto fue: Elaborar una barra de chocolate con leche con adición de *Lactobacillus rhamnosus* y té matcha.

2.2. MARCO CONTEXTUAL

La empresa All Great es una empresa nortesantandereana con más de 10 años de experiencia en la producción y comercialización de productos alimenticios integrales

ofreciendo gran variedad de estos, se encuentra ubicada en la avenida 6 B #2-16 barrio Iscaligua, municipio de los Patios.

Figura 1. Ubicación de la empresa All Great.



Fuente: Google Maps, (2022).

All Great produce una gran variedad de productos nutricionales e integrales elaborados a partir de frutos secos, semillas, frutas deshidratadas, entre otros ingredientes, los cuales aportan energía y nutrientes al consumidor. Además, utiliza como sustituto de la azúcar, la miel y el melado de panela, de esta manera garantiza productos saludables y nutritivos a sus consumidores entre los que se encuentran: panes integrales, cereales para el desayuno, harinas, barras de cereal, granolas, galletas, turrone, mermeladas, frutos deshidratados y frutos secos, ofreciendo así productos que pueden ser ingeridos a cualquier hora del día garantizando calidad, inocuos, nutricionales y a buen precio.

La empresa se enfoca en producir productos de excelente calidad, alto contenido nutricional, manejando líneas como de panificación, cereales y barras funcionales elaboradas a partir de cereales, semillas, nueces. Los productos de la empresa se distribuyen en el departamento de Norte de Santander.

Figura 2. Logo de la empresa.



Fuente: Empresa All Great, (2022).

Esta empresa maneja diferentes programas de buenas prácticas de manufactura (BPM), revisados por el Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos [Invima], por consiguiente, la empresa All Great cumple con la normatividad vigente establecida por la normativa colombiana.

Figura 3. Presentación comercial pan integral y barras nutritivas.



Fuente: Empresa All Great, (2022).

La empresa All Great cuenta una estructura organizacional compuesta inicialmente por el gerente, seguido por el jefe de calidad y por último el operario siendo esta una manera de generar empleo y contribuir con el municipio. Además, cuenta con una misión y visión, las cuales se presentan a continuación:

- **Misión:** Ofrecer a nuestros consumidores productos saludables de excelente calidad y altamente nutritivos que puedan ser consumidos por cualquier persona y en cualquier ocasión.
- **Visión:** Abarcar todo el mercado a nivel departamental y nacional ofreciendo nuevos productos siempre caracterizándonos por una excelente calidad y atención al cliente.

2.3. MARCO TEÓRICO

Mediante este apartado se permite comprender los conceptos claves requeridos para el entendimiento del desarrollo del presente proyecto. En donde inicialmente se da la definición de alimentos funcionales, los componentes bioactivos que estos contienen, como lo son los probióticos, los beneficios a la salud que proporcionan, así como las bacterias del ácido láctico, en particular del género *Lactobacillus*, la especie *Lactobacillus rhamnosus*. Además, se da la definición de té matcha, se describen las características sensoriales de este, sus componentes bioactivos, sus beneficios y su composición nutricional. De igual forma para el chocolate se da su definición, beneficios, se detallan las etapas para la elaboración de este y los componentes que se emplean para la elaboración de este, los cuales son: el licor de cacao, manteca de cacao, azúcar (que en el caso de este proyecto se realizó una sustitución parcia de esta por maltitol), emulsificantes como la lecitina de soja, y la esencia de vainilla, de cada una de estas materias primas se encuentra su

definición, la composición nutricional y las características sensoriales. Se informa acerca de otro componente bioactivo empleado en los alimentos funcionales, los antioxidantes y la presencia de estos en el chocolate con leche y en el té matcha. Finalmente se define la confitería funcional y un tipo de esta, los chocolates con probióticos.

2.3.1. Alimentos funcionales

Donato Capel *et al.*, (2014) definen a los alimentos funcionales como elementos dietéticos que, además de proporcionar nutrientes y energía, modulan de manera beneficiosa una o más funciones específicas en el cuerpo, al mejorar una determinada respuesta fisiológica y/o al reducir el riesgo de enfermedad.

Los alimentos funcionales cubren una variedad de alimentos. Los alimentos integrales mínimamente procesados, junto con los alimentos fortificados, enriquecidos o mejorados, como, por ejemplo, los alimentos con adición de vitaminas, minerales, fibra, probióticos o antioxidantes. Los ingredientes ricos en nutrientes como frutas, verduras, nueces, semillas y granos a menudo también se consideran alimentos funcionales. Generalmente, estos alimentos tienen un efecto potencialmente beneficioso para la salud cuando se consumen de forma regular y en ciertos niveles (Ellis, 2022; Marengo, 2020).

2.3.1.1. Componentes bioactivos

Un compuesto bioactivo son componentes extra nutricionales que se encuentran en pequeñas cantidades en los alimentos y que tiene una actividad biológica, relacionada con su capacidad para modular uno o más procesos metabólicos, lo

que resulta en la promoción de mejores condiciones de salud más allá del valor nutricional básico del producto (Angiolillo *et al.*, 2015).

Hasta la fecha, se han descubierto numerosos compuestos bioactivos. Estos compuestos varían ampliamente en estructura y función química y se agrupan en consecuencia. Los compuestos bioactivos se pueden encontrar naturalmente en varios alimentos. La mayoría de los compuestos bioactivos tienen propiedades antioxidantes, anticancerígenas, antiinflamatorias y antimicrobianas (Hamzalıoğlu y Gökmen, 2016).

Actualmente, en los alimentos funcionales modificados, se suelen utilizar algunos componentes bioactivos, como los probióticos y polifenoles de té (Márquez Fernández y Márquez Fernández, 2019).

2.3.2. Probióticos

La Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura [FAO] y Organización Mundial de la Salud [OMS], (2006) definen a los probióticos como microorganismos vivos que, cuando se consumen en cantidades apropiadas como parte de un alimento, confieren al huésped un beneficio para la salud.

Para ejercer sus efectos sistémicos, necesitan sobrevivir a los diferentes pasos de procesamiento, condiciones de almacenamiento y durante el paso por el tracto gastrointestinal, y colonizar el intestino, aunque sea temporalmente. Para aplicaciones de salud o alimentos, los microorganismos probióticos deben estar bien caracterizados y deben tener una eficacia comprobada (Kumar y Salminen, 2016).

Para calificar como probiótico, los microorganismos deben cumplir con los siguientes criterios: identificados a nivel de género, especie y cepa; seguro para alimentos y uso clínico; capaz de sobrevivir al tránsito intestinal; capaz de adherirse a las superficies mucosas; capaz de colonizar el intestino o la vagina humanos; produce sustancias antimicrobianas; capaz de antagonizar bacterias patógenas; posee efectos sobre la salud clínicamente documentados y validados; y estable durante el procesamiento y almacenamiento. Los probióticos que cumplen con estos criterios son las especies de *Lactobacillus* y *Bifidobacterium*, *Lactococcus*, *Streptococcus* y *Enterococcus* especies y cepas no patógenas de *Escherichia coli*. Las especies *Lactobacillus* y *Bifidobacteria*, que se examinaron hace más de 150 años siguen siendo los probióticos más utilizados incluso hoy en día por sus beneficios para la salud (Kunes y Kvetina, 2016; Smolyansky, 2010).

Las bacterias de este grupo se pueden usar para fermentar alimentos o se agregan a los alimentos como suplementos dietéticos. Los alimentos para consumo humano que contienen estos organismos se suelen denominar alimentos funcionales (Gilliland, 2003).

2.3.2.1. Beneficios de los probióticos

El consumo de probióticos puede minimizar las alteraciones de la microbiota intestinal. Se sabe que los efectos sobre la salud de las cepas probióticas dependen de la cepa. Por lo tanto, es crucial seleccionar cepas probióticas por su tolerancia al ácido y las sales biliares y su capacidad para sobrevivir el tránsito a través del estómago y el intestino delgado para llegar al intestino grueso. Las especies *Lactobacillus* y *Bifidobacteria* son las principales cepas presentes en los productos probióticos comerciales (Roy, 2011).

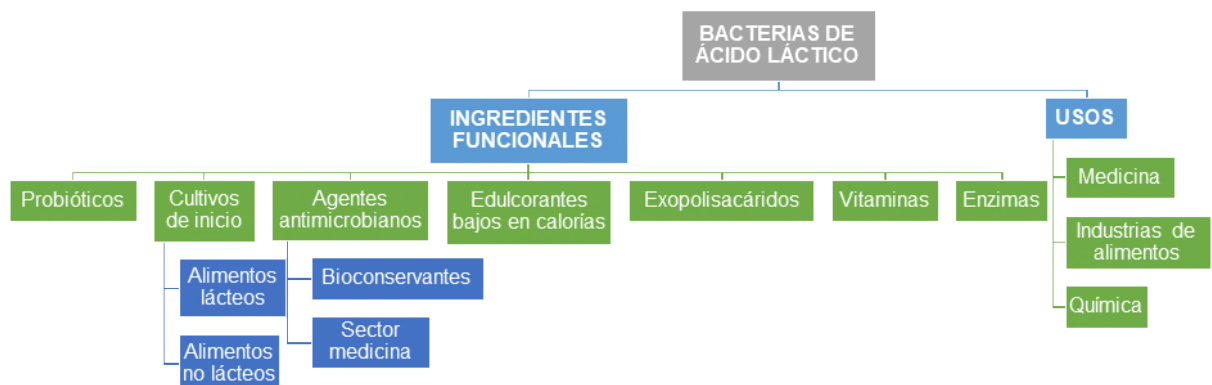
Los beneficios para la salud de los probióticos incluyen mejorar la salud intestinal, el sistema inmunológico y la función cerebral. Los estudios han demostrado que también pueden ayudar con el estreñimiento, la presión arterial, la salud de la piel y más (Jafarnejad *et al.*, 2016; Lamprecht *et al.*, 2012).

2.3.3. Bacterias del ácido láctico

Las bacterias del ácido láctico (BAL) son uno de los grupos más importantes de organismos probióticos, comúnmente utilizados en productos lácteos fermentados. Entre otros beneficios, estos microorganismos pueden mejorar la digestión de la lactosa, estimular el sistema inmunológico y prevenir y tratar la diarrea (Colombo *et al.*, 2018).

Sabatini, (2010) define las bacterias del ácido láctico como un grupo de bacterias Gram-positivas, cocos o bacilos que no respiran y no forman esporas, que producen ácido láctico como el principal producto final de la fermentación de carbohidratos.

Figura 4. Usos e ingredientes funcionales de las bacterias ácido lácticas.



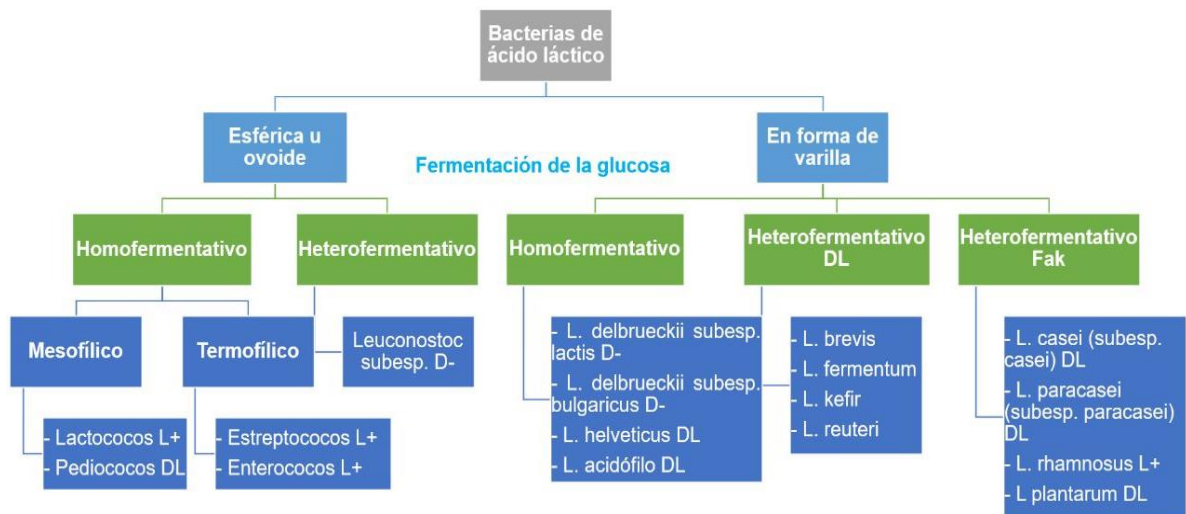
Fuente: Florou Paneri *et al.*, (2013).

Las BAL se pueden encontrar en cualquier entorno, como plantas, alimentos fermentados y las superficies mucosas de los seres humanos. Las BAL también forman parte de la microbiota o microflora normal del sistema gastrointestinal humano. Se utilizan como iniciadores, agentes de control biológico o probióticos en muchas aplicaciones alimentarias. Recientemente, también se han utilizado en la producción de alimentos funcionales porque actúan como vectores de nutraceuticos y sintetizan biomoléculas para la salud humana. Uno de los compuestos más apreciados producidos por BAL es el ácido γ -aminobutírico (GABA) (Laroute *et al.*, 2021).

2.3.3.1. Clasificación

Las BAL pertenecen al *Phylum firmicutes*, que comprende alrededor de 20 géneros; *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Aerococcus*, *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Oenococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus* y *Weissella* son los principales miembros de las BAL; el *Lactobacillus* es el más grande de estos géneros (Parra Huertas, 2010). En la Figura 5 se observa la clasificación de las bacterias del ácido láctico.

Figura 5. Clasificación de las bacterias ácido lácticas.



Fuente: Kashyap, (2019).

2.3.4. *Lactobacillus*

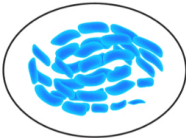
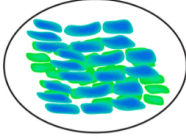
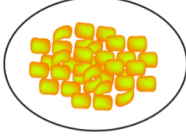
Los *Lactobacillus* son bacterias que se encuentran en una amplia variedad de entornos, incluido el suelo (más comúnmente asociado con la rizosfera), las plantas (particularmente el material vegetal en descomposición) y los animales (especialmente la cavidad oral, el tracto intestinal y la vagina). Se aíslan y/o se utilizan comercialmente en la fabricación de alimentos lácteos fermentados o se utilizan como probióticos, entre otros (Curry y Crow, 2002; De Angelis y Gobbetti, 2016).

2.3.4.1. Especies de *Lactobacillus*

El género *Lactobacillus*, incluye a más de 100 especies que han sido encontradas en diversos sustratos ricos en carbohidratos, estrechamente asociadas con

animales marinos y terrestres, con plantas, materiales de origen vegetal, estiércol y con alimentos lácteos. Asimismo, han sido aisladas de las cavidades de humanos y animales. Se ha descrito el aislamiento de 154 especies a partir de diferentes fuentes, casi la tercera parte ha sido aislada del tracto intestinal y las heces de humanos y animales; mientras que la segunda la constituyeron los vegetales y sus productos fermentados (Sánchez Dávila, 2019). En la Tabla 1 se observan las principales especies del género *Lactobacillus*.

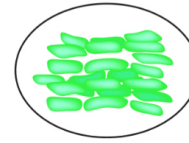
Tabla 1. Principales especies de *Lactobacillus*.

Especies de <i>Lactobacillus</i>	Ilustración
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	
<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	
<i>Lactobacillus lactis</i>	
<i>Lactobacillus plantarum</i>	

Lactobacillus casei



Lactobacillus paracasei



Fuente: Lee *et al.*, (2008).

2.3.4.2. Clasificación de las especies de *Lactobacillus*

Las especies de *Lactobacillus* se pueden dividir en tres grupos, según las vías de fermentación de carbohidratos, como se observa en la Tabla 2.

Tabla 2. Clasificación de las especies del género *Lactobacillus*.

Clasificación	Especies de <i>Lactobacillus</i>
Obligadamente homofermentativas (Grupo I)	Incluye <i>L. acidophilus</i> , <i>L. delbrueckii</i> , <i>L. helveticus</i> , <i>L. salivarius</i> . Los lactobacilos homofermentadores obligados fermentan las hexosas casi en su totalidad a ácido láctico; pentosas o gluconato no se fermentan.
Facultativamente heterofermentativa (Grupo II)	Incluye <i>L. casei</i> , <i>L. curvatus</i> , <i>L. plantarum</i> , <i>L. sakei</i> .

	Los lactobacilos heterofermentativos facultativos fermentan las hexosas casi en su totalidad a ácido láctico y, en condiciones limitantes de glucosa, fermentan las hexosas a ácido láctico, ácido acético, etanol y ácido fórmico; las pentosas se fermentan a ácido láctico y ácido acético. Incluye <i>L. casei</i>, <i>L. curvatus</i>, <i>L. plantarum</i>, <i>L. sakei</i>. Los lactobacilos heterofermentativos facultativos fermentan las hexosas casi en su totalidad a ácido láctico y, en condiciones limitantes de glucosa, fermentan las hexosas a ácido láctico, ácido acético, etanol y ácido fórmico; las pentosas se fermentan a ácido láctico y ácido acético. <i>Lb. brevis</i>, <i>Lactobacillus fermentum</i>, <i>Lb. buchneri</i>, <i>Lactobacillus kefir</i>, <i>Lactobacillus rhamnosus</i>, <i>Lactobacillus curvatus</i>, <i>Lb. reuteri</i>, <i>Lb. corineformis</i>, <i>Lb. hilgardii</i> y <i>Lb. sakei</i>.
Obligadamente heterofermentativa (Grupo III)	
Facultativamente y obligadamente heterofermentativas	

Fuente: de Angelis y Gobbetti, (2016); Ibrahim, (2016).

2.3.4.3. *Lactobacillus rhamnosus* GG

La cepa Gorbach-Goldin (GG) de *Lactobacillus rhamnosus* (LGG), fue aislada originalmente de muestras fecales de un adulto humano sano por Sherwood Gorbach y Barry Goldin; el GG se deriva de sus nombres. Fue descubierto en 1985 como parte de un intento de aislar una cepa de *Lactobacillus* que reuniría las siguientes características necesarias para un probiótico ideal : resistencia al ácido estomacal y la bilis para que pueda sobrevivir el tránsito hacia el tracto gastrointestinal inferior , capacidad para implantarse constantemente en células epiteliales intestinales humanas (IEC) y colonizar el intestino, producción de una sustancia antimicrobiana, tasa de crecimiento rápido y efectos beneficiosos para la salud (Gorbach *et al.*, 2017).

Lactobacillus rhamnosus es una bacteria grampositiva del ácido láctico que forma parte de la microflora intestinal normal de los seres humanos. En general, se considera seguro y se ha utilizado ampliamente en productos alimenticios y suplementos para la salud (León *et al.*, 2015).

Los efectos beneficiosos de LGG se han estudiado exhaustivamente en ensayos clínicos y estudios en humanos. Varios beneficios para la salud de *Lactobacillus rhamnosus* incluyen la prevención y el tratamiento de infecciones gastrointestinales y diarrea y ayuda en la estimulación de las respuestas del sistema inmunitario que promueven la vacunación o incluso previenen ciertos síntomas alérgicos (Muzaffar *et al.*, 2021).

2.3.4.4. Ácido gamma-aminobutírico (GABA)

Numerosos estudios demuestran que, durante el proceso de fermentación, las BAL también producen compuestos bioactivos benéficos a la salud. Un ejemplo de ello

es el ácido gamma-aminobutírico (γ -aminobutírico, o GABA, por sus siglas en inglés) que ha mostrado poseer efectos antihipertensivos, antidepresivos, hipoglucémicos y relajantes, entre otros (Santos Espinosa *et al.*, 2018). Su aplicación en fármacos y alimentos funcionales ha atraído gran atención.

GABA se considera un neurotransmisor inhibitorio porque bloquea ciertas señales cerebrales y disminuye la actividad en su sistema nervioso. La ausencia de receptores GABA y/o sus niveles más bajos de GABA pueden estar relacionados con la ansiedad en humanos. La relación entre la dieta y el trastorno psiquiátrico podría estar relacionada no solo por el riesgo de depresión sino también por el trastorno de ansiedad (Logan y Jacka, 2014). En este contexto, las BAL producen neuroquímicos y estos pueden ser efectivos en el trastorno de ansiedad (Lyte, 2011). GABA puede ser producido por síntesis química y producción microbiana. Aunque la síntesis química de GABA tiene una velocidad de reacción más rápida y un alto rendimiento del producto, los subproductos tóxicos de la reacción dificultan seriamente su aplicación a los alimentos debido a que el GABA sintetizado químicamente fue prohibido como aditivo alimentario (Luo *et al.*, 2021). De acuerdo a lo dicho anteriormente la producción de GABA por medio de microorganismos, en este caso las bacterias ácido lácticas, como lo es la especie *Lactobacillus rhamnosus* para este proyecto, es el método más seguro para la aplicación en alimentos.

Bravo *et al.*, (2011) indicaron que el consumo de *L. rhamnosus* podría disminuir el trastorno de ansiedad debido al efecto del neurotransmisor GABA en el sistema nervioso central. Además, en otro estudio, Ozer *et al.*, (2022) examinaron diferentes bacterias del ácido láctico (*L. helveticus*, *L. rhamnosus*, *L. delbrueckii subesp. bulgaricus*, *L. lactis subesp. Lactis*) para determinar su desempeño en la producción de GABA y encontraron que *L. rhamnosus* fue la cepa que obtuvo mayor producción.

2.3.5. Té matcha

El té Matcha es una forma finamente molida o en polvo fino de las hojas de la planta de té verde (*Camellia sinensis*) cultivadas en condiciones específicas con un 90 % de sombra, a diferencia del té verde, el matcha se cultiva evitando la luz solar directa, ya que la luz solar afecta la composición y la cantidad de catequinas en las hojas de té (Weiss y Anderton, 2003). En comparación con el té verde, un extracto de agua caliente de las hojas de té, el matcha se consume como un polvo de hojas enteras. Se informa que el polvo de Matcha tiene un mayor contenido de algunos componentes bioactivos como las catequinas, la teanina y la cafeína (Devkota *et al.*, 2021). El matcha por su composición química única y su preciado sabor, que lo diferencia de otras bebidas de té, es considerado el té de mayor calidad (Kochman *et al.*, 2021). El té es una de las bebidas más consumidas, solo superada por el agua, en muchas sociedades (Pastoriza *et al.*, 2017). Su sabor distintivo, aroma y efectos que promueven la salud son muy apreciados en todo el mundo.

Figura 6. Fotografías de Cultivo de plantas de té para matcha usando protectores solares (a) y polvo de matcha (b).



Fuente: Devkota *et al.*, (2021).

En los últimos años existe un crecimiento constante en el mercado y el consumo de matcha no solo como bebida sino como componente funcional en otras bebidas, snacks, chocolates, helados y muchos otros tanto en Japón como en el extranjero, principalmente por sus efectos beneficiosos/funcionales para la salud debido a su alto contenido de polifenoles (por ejemplo, catequinas y ácidos fenólicos), aminoácidos (por ejemplo, teanina, ácido gamma aminobutírico) y cafeína (Hodgson *et al.*, 2008; Kochman *et al.*, 2020; Kohlmeier *et al.*, 2009; Kurauchi *et al.*, 2019).

2.3.5.1. Características sensoriales del té matcha

El sabor del té matcha está determinado principalmente por los componentes químicos que contiene, como el polifenol del té con sabor amargo y astringente, el sabor amargo de la cafeína, el sabor umami y el sabor amargo de los aminoácidos, el sabor dulce de la azúcar y así sucesivamente, y estos componentes no volátiles se combinan para formar el sabor del té matcha (Phat *et al.*, 2016). Tang *et al.*, (2019) señala que el sabor umami y dulce de las infusiones de té es difícil de percibir, lo que indica que el sabor amargo y astringente son el principal sabor del té matcha.

Entre los sabores del té matcha podemos encontrar: astringente, herbal, tabaco, frondoso, alfalfa, mate, amaderado. En cuanto al aroma, encontramos: heno, mate, herbal, alfalfa, musgoso, fermentado, amaderado (Good Scents Company, 2006).

2.3.5.2. Componentes bioactivos del té matcha

El té matcha se caracteriza por su alto contenido en antioxidantes y sustancias antiinflamatorias, lo cual se le atribuye a la forma tradicional en la que se cultiva, basada en el sombreado de la planta durante el crecimiento, lo que mejora los

procesos de síntesis y acumulación de compuestos bioactivos como clorofila, cafeína, teanina y diversos tipos de catequinas.

Tabla 3. Análisis químico de muestra de matcha.

Compuestos	Cantidad (%)
Polifenoles	19,84 ± 0,67
Aminoácidos	4,19 ± 0,01
Azúcares totales	3,14 ± 0,15
Proteína	1,15 ± 0,10
GC	1,83 ± 0,18
EGC	1,15 ± 0,09
C	0,08 ± 0,11
EC	0,44 ± 0,02
EGCG	7,02 ± 0,93
GCG	1,27 ± 0,20
ECG	0,83 ± 0,13
CG	0,09 ± 0,02
Cafeína	6,58 ± 0,01

GC, (+)-galocatequina; CGE, (-)-epigalocatequina; C, (+)-catequina; CE, (-)-epicatequina; EGCG, (-)-epigalocatequinagalato; GCG, galato de (+)-galocatequina; ECG, (-)-galato de epicatequina; CG, (-)-galato de epigalocatequina.

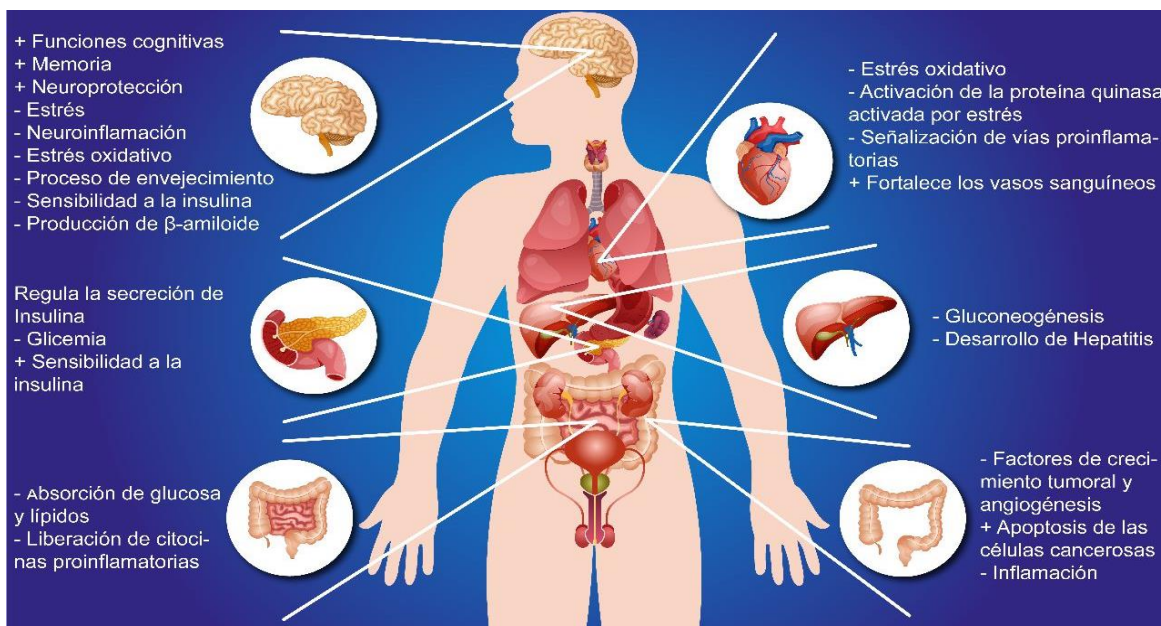
Fuente: Zhou *et al.*, (2021).

En la Tabla 3 se observa los principales componentes de una muestra de matcha evaluada. El té matcha está compuesto por cuatro catequinas principales, las cuales son el galato de epigallocatequina (EGCG), epigallocatequina (EGC), galato de epicatequina (ECG) y epicatequina (EC), siendo la primera la más abundante (González Londoño *et al.*, 2021).

2.3.5.3. Beneficios del té matcha

El té matcha tiene una amplia gama de beneficios potenciales para la salud debido a su composición única de compuestos bioactivos, estos se muestran en la Figura 7.

Figura 7. Propiedades promotoras de la salud de los principales compuestos bioactivos del té matcha.



Aumenta (+), reduce (-).

Fuente: Kochman *et al.*, (2021).

Sus propiedades promotoras de la salud se atribuyen al alto contenido en sustancias antioxidantes y antiinflamatorias. Los estudios que confirman el alto potencial antioxidante de las bebidas de té afirman que éste se origina por el considerable contenido de catequinas, un tipo de compuesto fenólico con efectos beneficiosos para la salud humana. Debido a su potencial para prevenir muchas enfermedades y apoyar la función cognitiva, el consumo regular de matcha puede tener un efecto positivo tanto en la salud física como mental.

2.3.5.4. Composición nutricional del té matcha

En la Tabla 4 se observa la composición nutricional del té matcha 100% puro por cada 100 g.

Tabla 4. Composición nutricional del té matcha 100% puro.

Nutriente	Té matcha
Energía (Kcal)	400
Hierro (mg)	15
Calcio (mg)	400
Potasio (mg)	2300

No es fuente significativa de:

Proteína, carbohidratos, grasa total, grasa saturada, grasa trans, colesterol, azúcares totales, azúcares añadidos, sodio, vitamina A, vitamina D, zinc.

Fuente: Departamento de agricultura de los estados unidos [USDA], (2019).

2.3.6. Chocolate

El chocolate tiene un aroma, sabor, estructura y compuestos bioactivos únicos como los polifenoles. Los ingredientes principales de los chocolates son la masa de cacao, la manteca de cacao y el azúcar (Ozer *et al.*, 2022).

El chocolate es un producto alimenticio que se consume en gran parte debido a su sabor, textura y placer al comer. Sus principales componentes provienen de granos de cacao fermentados, triturados y tostados, las semillas del árbol tropical *Theobroma Cacao L.* Principalmente, los chocolates se pueden clasificar en blanco, con leche y oscuro, dependiendo principalmente de las cantidades de masa de cacao, manteca de cacao y leche agregadas en el proceso de fabricación (Villa *et al.*, 2015).

2.3.6.1. Beneficios del chocolate

El chocolate tiene un aroma, sabor, estructura y compuestos bioactivos únicos como los polifenoles. Se ha planteado la hipótesis de que los componentes psicoactivos del chocolate, como los polifenoles, las metilxantinas y las aminas biogénicas, causan efectos positivos en el estado de ánimo (Fusar Poli *et al.*, 2021). También se ha indicado que el consumo de ciertas cantidades de chocolate podría ser beneficioso para prevenir trastornos psiquiátricos (Parker y Crawford, 2007). El chocolate puede interactuar con una variedad de sistemas de neurotransmisores que contribuyen a la regulación del apetito, la recompensa y el estado de ánimo (Parker *et al.*, 2006).

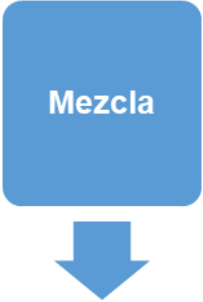
2.3.7. Chocolate con leche

El chocolate con leche es lo mismo que el chocolate negro, pero con sólidos de leche y grasa que reemplazan parte del licor de cacao (Beckett, 2009). El Codex Alimentarius, (2016) indica que chocolate con leche deberá contener, en relación con el extracto seco, no menos del 25% de extracto seco de cacao (incluido un mínimo del 2,5% de extracto seco magro de cacao) y un mínimo especificado de extracto seco de leche entre el 12% y el 14% (incluido un mínimo entre el 2,5% y el 3,5% de materia grasa de la leche). La autoridad competente aplicará el contenido mínimo de extracto seco de leche y de materia grasa de leche de acuerdo con la legislación aplicable. El extracto seco de leche se refiere a la adición de ingredientes lácteos en sus proporciones naturales, salvo que la grasa de leche podrá agregarse o eliminarse. Cuando la autoridad competente lo exija, se puede definir un contenido mínimo de manteca de cacao más materia grasa de leche.

2.3.7.1. Etapas para la elaboración de chocolate con leche

Los pasos del procesamiento del chocolate con leche consisten en mezclar, refinar, conchar, templar, moldeado y empacado. En la Tabla 5 se puede observar el diagrama de flujo para la elaboración de barras de chocolate con leche junto con la definición de cada una de las etapas.

Tabla 5. Proceso para la elaboración de barras de chocolate con leche.

Diagrama de flujo	Definición etapas
	La mezcla de ingredientes durante la fabricación del chocolate es una operación fundamental que se emplea mediante combinaciones de tiempo y temperatura en mezcladores continuos o por lotes para obtener una consistencia constante en la formulación. Se mezcla completamente los ingredientes del chocolate por lotes, el chocolate que contiene licor de cacao, azúcar, manteca de cacao, grasa láctea y leche en polvo (según la categoría del producto).
	La refinación del chocolate es importante para la producción de una textura suave que es deseable en la confitería de chocolate moderna. Las mezclas de azúcar y licor de cacao (y sólidos lácteos según el tipo de chocolate) con un contenido total de grasa del 8 al 24 % se refinan a un tamaño de partícula de menos de 30 μm normalmente utilizando una combinación de refinadores de dos y cinco rodillos. El tamaño de partícula final influye críticamente en las propiedades reológicas y sensoriales.
	El conchado es un proceso esencial que contribuye al desarrollo de la viscosidad, la textura final y el sabor. El conchado se realiza normalmente agitando el chocolate a más de 50°C durante unas horas. En las primeras etapas, la humedad se reduce con la eliminación de ciertos volátiles activos de sabor indeseables, como el ácido acético, y posteriormente se promueven las interacciones entre la fase dispersa y la continua. Además de la

eliminación de la humedad y los ácidos volátiles, el proceso de conchado promueve el desarrollo del sabor debido a la mezcla prolongada a temperaturas elevadas, dando un sabor parcialmente caramelizado en el chocolate sin miga de leche. El proceso también ayuda a la reducción de la viscosidad de las pastas refinadoras a lo largo del proceso, y la reducción del tamaño de las partículas y la eliminación de los bordes de las partículas.



Templado

El templado se da al final del proceso. La cristalización descontrolada de la manteca de cacao generalmente da como resultado cristales de diferentes tamaños, algunos o todos lo suficientemente grandes como para verse claramente a simple vista. Esto hace que la superficie del chocolate parezca moteada y mate, y hace que el chocolate se desmorone en lugar de romperse cuando se rompe. El brillo uniforme y la mordida crujiente del chocolate correctamente procesado son el resultado de cristales de manteca de cacao consistentemente pequeños producidos por el proceso de templado. Las grasas en la manteca de cacao pueden cristalizar en seis formas diferentes (cristalización polimorfa) El objetivo principal del templado es asegurar que solo esté presente la mejor forma (Reshi, 2018).



Moldeado

El moldeado se puede emplear para dar una presentación atractiva al chocolate y combinar sabores, se parte del chocolate temperado antes de enfriar. Siempre es importante manejar las temperaturas correctas al manipular el chocolate para no perder su temple. Los moldes pueden llenarse con manga o rebalsando y limpiando excesos con espátula.



Empacado

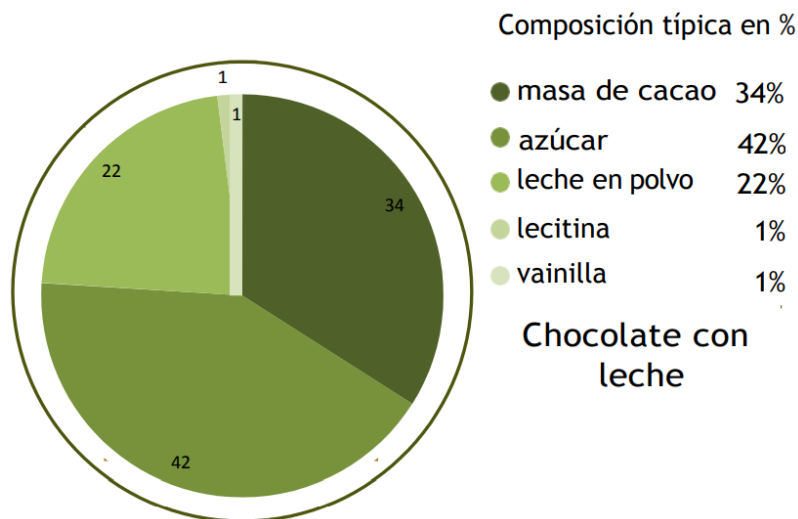
El empackado se emplea para conservar e identificar el chocolate y promocionar su venta, un empaque adecuado y llamativo es esencial. Se empacka en materiales que no absorban grasa, como: celofán, plástico, papel aluminio o similar. El chocolate debe mantenerse en refrigeración o puede guardarse a temperatura ambiente, dependiendo de su receta. Esto debe mencionarse en la viñeta, así como la fecha de vencimiento. El diseño del empaque es muy importante para el mercadeo, ya que es un medio de comunicación con el consumidor. Tiene que ser atractivo y despertar el deseo de probarlo. El tipo y costo del empaque tiene que reflejar la calidad y el costo del producto.

Fuente: Alvarado y Duville, (2020); Reshi, (2018).

2.3.7.2. Composición

En la Figura 8 se muestra la composición regular que presentan las barras de chocolate con leche, en donde se observa que estas están principalmente compuestas en orden descendente por masa de cacao o licor de cacao, azúcar, leche en polvo, lecitina y vainilla.

Figura 8. Composición típica del chocolate con leche con el porcentaje de los ingredientes.



Fuente: Alvarado y Duville, (2020).

2.3.8. Licor de cacao

El licor de cacao o la masa de cacao es un producto obtenido, mediante la molienda de semillas de cacao previamente descascaradas y tostadas, sin la adición de aditivos, la pasta obtenida puede servir para la producción de manteca de cacao y polvo de cacao, o bien para la fabricación de chocolates. El producto es elaborado a partir de semillas de cacao (*Theobroma cacao*, familia *Malvaceae Linnaeus*) (López, 2018).

2.3.8.1. Composición nutricional del licor de cacao

En la Tabla 6 se observa la composición nutricional del licor de cacao por cada 100 g.

Tabla 6. Composición nutricional del licor de cacao.

Componente	Licor de cacao
Energía (Kcal)	321
Proteína (g)	3,57
Grasa total (g)	28,6
Grasa saturada (g)	16,1
Carbohidratos totales (g)	28,6
Fibra, dietaria (g)	21,4
Calcio (mg)	36
Hierro (mg)	2,57
Sodio (mg)	18
No es fuente significativa de:	
Grasa trans, azúcares totales, azúcares añadidos, colesterol, vitamina A, vitamina D, zinc.	

Fuente: USDA, (2021).

2.3.8.2. Características sensoriales del licor de cacao

Los sabores básicos se clasifican como: dulce, salado, ácido y amargo. Además de los cuatro sabores básicos, existen otros que podemos percibir en las muestras de licor de cacao: ácido, frutal, acético, láctico y butírico. Amargo: positivo, negativo; y

la astringencia. Los sabores y aromas que podemos percibir en referencias básicas y específicas de licor de cacao son: ácido, amargo, astringencia, floral, frutal, nuez, especias y defectos (Vera Romero y Mantilla Pabón, 2020).

Los defectos más comunes que se presentan en el licor de cacao los podemos observar en la Tabla 7.

Tabla 7. Defectos en el licor de cacao.

Tipos	Defectos
Moho	– Guardado – Húmedo – Sótano
Tierra	– Lodo – Tierra mojada – Polvo – Arcilla
Crudo	– Verde – Vegetal – Corteza – Césped
Contaminantes	– Plástico – Químicos – Humo – Metal

	– Combustible
	– Jamón
	– Carne seca
Descomposición	– Rancio
	– Podrido
	– Compost

Fuente: Vera Romero y Mantilla Pabón, (2020).

2.3.9. Manteca de cacao

Es un producto proveniente del prensado del licor de cacao, de color amarillo pálido, la manteca al salir del prensado se encuentra líquida, luego es cristalizada y solidificada. En estado fundido, es un líquido oleoso, absolutamente limpio. El producto es elaborado a partir de semillas de cacao (*Theobroma cacao*, familia *Malvaceae* Linnaeus) (López, 2018).

2.3.9.1. Composición nutricional de la manteca de cacao

En la Tabla 8 se observa la composición nutricional de la manteca de cacao por cada 100 g.

Tabla 8. Composición nutricional de la manteca de cacao.

Componente	Manteca de cacao
Energía (Kcal)	857
Grasa total (g)	100
Grasa saturada (g)	57,1

No es fuente significativa de:

Proteína, grasa trans, carbohidratos totales, azúcares totales, azúcares añadidos, colesterol, fibra dietaria, sodio, vitamina A, vitamina D, hierro, zinc, calcio.

Fuente: USDA, (2022).

2.3.9.2. Características sensoriales de la manteca de cacao

Las características sensoriales de la manteca de cacao se asocian principalmente a el proceso de tostado, la manteca de cacao dispersa el aroma volátil generado simultáneamente por este proceso. Cuando hay un alto contenido de ácidos grasos libres, puede aumentar las notas rancias o el mal olor. La apariencia física de la mantequilla sobrecalentada muestra un color marrón amarillento y una disminución de su viscosidad real. Algunos de los productos químicos deseables que se generan parcialmente a partir del proceso de tostado son la dimetilpirazina y la trimetilpirazina, que se asocian con el olor a chocolate, avellana, maíz u horneado tostado. El aroma u olor no deseado que se forma durante el proceso de alto tueste proviene de la lipólisis y la oxidación a través de los ácidos grasos que exhiben

algunas sustancias de furano y pirrol con notas aparentes de cumarina o moho (Firmanto, 2018).

2.3.10. Azúcar

Es el edulcorante tradicional, el azúcar de mesa. Está presente en la mayoría de las frutas, algunos tubérculos, muchos árboles y pastos. Está más concentrado en la caña de azúcar (*Saccharum officinarum*) y la remolacha azucarera. Se utiliza para endulzar alimentos y bebidas (Yebra Biurrun, 2005).

2.3.10.1. Composición nutricional de la azúcar

En la Tabla 9 se observa la composición nutricional de la azúcar por cada 100 g.

Tabla 9. Composición nutricional de la azúcar.

Nutriente	Azúcar
Energía (Kcal)	375
Carbohidratos totales (g)	100
Azúcares totales (g)	100
No es fuente significativa de:	
Proteína, grasa total, grasa saturada, grasa trans, colesterol, fibra dietaria, sodio, vitamina A, vitamina D, hierro, zinc, calcio.	

Fuente: USDA, (2021).

2.3.10.2. Sustitutos de azúcar

Existe una tendencia en el mercado de alimentos para el desarrollo de productos alimenticios mediante la sustitución total o parcial del azúcar utilizando edulcorantes alternativos (Basu y Singha, 2022).

Los sustitutos del azúcar son edulcorantes que se utilizan en lugar del azúcar de mesa normal (sacarosa). Los edulcorantes artificiales son solo un tipo de sustituto del azúcar (Mayoclinic, 2021).

2.3.10.3. Edulcorantes artificiales

Los edulcorantes artificiales son sustitutos sintéticos del azúcar, pero pueden derivar de sustancias naturales, como hierbas o el azúcar mismo. Los edulcorantes artificiales pueden ser alternativas atractivas al azúcar porque prácticamente no añaden calorías a la dieta. Además, solo necesitas una fracción de edulcorante artificial en comparación con la cantidad de azúcar que normalmente usarías para endulzar (Mayoclinic, 2021).

2.3.11. Maltitol

El maltitol cristalino es el ingrediente más utilizado como sustituto de la sacarosa (azúcar) en la fabricación de productos de chocolate sin azúcar. El maltitol (hecho por reducción de maltosa) es aproximadamente un 80% tan dulce como la sacarosa y produce un aumento más lento de los niveles de azúcar e insulina en la sangre en comparación con la d-glucosa o la sacarosa (BeMiller, 2019).

Se puede utilizar como sustituto de la grasa, ya que les da una estructura cremosa a los alimentos. Se caracteriza por un alto punto de fusión, así como por una higroscopicidad media. Además, la respuesta de la insulina tras su consumo se reduce en comparación con la sacarosa. Se observó una disminución en la respuesta glucémica posprandial cuando se usó maltitol con fructooligosacáridos de cadena corta. Sus propiedades no cariogénicas permiten su aplicación en muchos alimentos sin azúcar, así como en una variedad de alimentos reducidos en calorías y grasas (Grembecka, 2019).

2.3.11.1. Composición nutricional del maltitol

En la Tabla 10 se observa la composición nutricional del maltitol por cada 100 g.

Tabla 10. Composición nutricional del maltitol.

Componente	Maltitol
Energía (Kcal)	240
Carbohidratos totales (g)	95
No es fuente significativa de:	
Proteína, grasa total, grasa saturada, grasa trans, azúcares totales, colesterol, fibra dietaria, sodio, vitamina A, vitamina D, hierro, zinc, calcio.	

Fuente: FanKal.

2.3.11.2. Características sensoriales del maltitol

Las propiedades sensoriales del maltitol, como la dulzura y el sabor, se asemejan a las del azúcar (Grembecka, 2019). Es un polvo cristalino de color blanco, con olor suave y con sabor fresco, y dulce (Gayoso, 2018). El maltitol también proporciona una textura cremosa en los productos alimenticios que se elaboran con este, produciendo cristales que no se perciben en la lengua (BeMiller, 2019).

2.3.12. Leche entera en polvo

La leche en polvo es un tipo de alimento concentrado que se obtiene cuando la leche natural líquida pasa por un proceso de deshidratación, en el que se reduce el peso de su agua hasta un 5%. En esta composición, el 95% restante del producto, corresponde a todos los nutrientes, minerales y vitaminas de la leche natural en forma de polvo. Al ser un producto concentrado, tiene la ventaja de conservar los mismos nutrientes de la leche líquida; es ideal para los niños y los ancianos por su alto contenido de calcio, vitaminas y proteínas. Además, la leche en polvo tiene la ventaja de poder almacenarse por un tiempo mayor y ser más económica que el tipo líquido (Aravena, 2020).

2.3.12.1. Características sensoriales de la leche entera en polvo

El sabor de la leche entera en polvo debe ser limpio, rico, dulce y agradable. Con frecuencia, la leche en polvo puede ser criticada indebidamente por tener un sabor a quemado. Entre los defectos de sabor comunes de la leche en polvo entera se encuentra oxidado/sebo, calcáreo, chamuscado, rancio y rancio. El producto debe fluir libremente hasta cierto punto sin grumos. La presencia de grumos duros es un defecto grave en la leche en polvo entera. El color de la leche en polvo entera

dependiendo de la fuente de grasa varía de blanco a amarillo intenso. Los defectos tales como partículas quemadas, oscurecimiento o falta de uniformidad deben estar ausentes (La Universidad Nacional Abierta Indira Gandhi [IGNOU], 2017).

2.3.12.2. Composición nutricional de la leche entera en polvo

En la Tabla 11 se observa la composición nutricional de la leche en polvo por cada 100 g.

Tabla 11. Composición nutricional de la leche entera en polvo.

Componente	Leche entera en polvo
Energía (Kcal)	500
Proteína (g)	26,7
Grasa total (g)	26,7
Grasa saturada (g)	20
Carbohidratos totales (g)	43,3
Azúcares totales (g)	43,3
Sodio (mg)	367
Hierro (mg)	10
Zinc (mg)	4,33
Calcio (mg)	1000

Potasio (mg)	800
Vitamina C (mg)	40
Colesterol (mg)	100

No es fuente significativa de:

Grasa trans, fibra dietaría, vitamina A, vitamina D.

Fuente: USDA, (2021).

2.3.13. Emulsificantes

Los emulsificantes o emulsionantes se utilizan en el chocolate para diluir el chocolate líquido. El chocolate líquido con un emulsionante agregado tiene una viscosidad más baja (la viscosidad describe el espesor y la capacidad de fluir de un líquido). Cuando se utilizan emulsionantes para diluir el chocolate líquido, se vuelve más fácil trabajar con el chocolate. Los emulsionantes también ayudan a mantener unidos los ingredientes del chocolate. Un emulsionante hace esto al reducir la fricción entre la manteca de cacao y otros ingredientes del chocolate, como el azúcar, los sólidos de cacao o la leche en polvo (Madore, s. f.).

2.3.13.1. Lecitina de soja

La lecitina de soja es un emulsionante que se agrega al chocolate para ayudar a unir los sólidos de cacao, el azúcar y la leche para que se adhieran a la manteca de cacao. Esto mejora la viscosidad ("fluidez") del chocolate cuando se derrite (Global Organics, 2016).

2.3.13.2. Composición nutricional de la lecitina de soja

En la Tabla 12 se observa la composición nutricional de la lecitina de soja líquida por cada 100 g.

Tabla 12. Composición nutricional de la lecitina de soja líquida.

Componente	Lecitina de soja
Energía (Kcal)	900
Grasa total (g)	94
Grasa saturada (g)	14
Carbohidratos totales (g)	5,5
Azúcares totales (g)	3
Sodio (mg)	75
No es fuente significativa de:	
Proteínas, grasa trans, colesterol, fibra dietaria, vitamina A, vitamina D, hierro, zinc, calcio.	

Fuente: Sosa, (2018).

2.3.13.3. Características sensoriales de la lecitina de soja

Es un líquido higroscópico de alta viscosidad, marrón anaranjado, de aroma y sabor característicos a nuez, mantecoso, ligeramente dulce y agradable (Escudero, 2020).

2.3.14. Esencia de vainilla

La esencia de vainilla también conocida como “vainilla de imitación” es un producto más procesado que se elabora con sabores y colores artificiales. Se realiza con agua, etanol, propilenglicol, emulsionantes, sabores y colores producidos químicamente (Hernández, 2020).

2.3.14.1. Composición nutricional de la esencia de vainilla

En la Tabla 13 se observa la composición nutricional de la esencia de vainilla por cada 100 g.

Tabla 13. Composición nutricional de la esencia de vainilla.

Componente	Esencia de vainilla
Energía (Kcal)	288
Carbohidratos totales (g)	12,7
Sodio (mg)	9
Hierro (mg)	0,1
Calcio (mg)	11
Fósforo (mg)	6
Potasio (mg)	148
No es fuente significativa de:	

Proteína, grasa total, grasa saturada, grasa trans, azúcares totales, colesterol, fibra dietaria, sodio, vitamina A, vitamina D, hierro, zinc, calcio.

Fuente: Vegaffinity, (s. f.).

2.3.14.2. Características sensoriales de la esencia de vainilla

Esencia líquida color café, con un suave y perfumado aroma característicos de vainilla, exento de olores atípicos, sabor fragante y dulce (Conservas Dani, 2018).

2.3.15. Confitería funcional

Pickford y Jardine, (2000) han definido confitería funcional como un artículo de confitería que se ha sometido a la adición, eliminación o sustitución de ingredientes de confitería estándar por un ingrediente que cumple una función fisiológica específica u ofrece un beneficio potencial para la salud.

La confitería funcional es un área de la tecnología de alimentos que surgió debido al cambio en el estilo de vida de los consumidores y su preocupación en cuanto a la dieta y la salud. Debido a esto se han creado diferentes productos que presentan algún beneficio a la salud, conteniendo ingredientes bioactivos, como por ejemplo chocolates enriquecidos con antioxidantes, probióticos, omega-3, calcio y magnesio, entre otros. A consecuencia, el consumidor aprecia positivamente las golosinas que le ayudan a mantenerse sano (Hablemos claro, 2018).

2.3.15.1. Chocolates con probióticos

Se ha encontrado que el chocolate puede ser una alternativa adicional para la incorporación de probióticos ya que tiene otras propiedades beneficiosas como su actividad antioxidante, donde los compuestos fenólicos son los responsables de esta, además que pueden jugar un papel importante en el retraso del estrés del probiótico, que es una de las principales causas de muerte de dichos microorganismos, por lo que probablemente permita tener una mayor viabilidad y vida útil de estos en el producto (Osorio Buitrago, 2018).

Vandenplas *et al.*, (2015) indicaron que los probióticos necesitan de una matriz óptima en donde se garantice la supervivencia de ellos, mencionaron que actualmente el chocolate se ha encontrado como una matriz adecuada para la supervivencia de las cepas probióticas.

Así mismo, los probióticos tienen una vida útil mayor en el chocolate que en los productos probióticos tradicionales, además presentan una mayor resistencia en el tránsito por el estómago, permitiendo una colonización más efectiva en el tracto intestinal debido al alto contenido de grasa (Konar *et al.*, 2016).

2.3.16. Antioxidantes

Gámiz, (2018) menciona que los antioxidantes son compuestos sintetizados por las plantas en sus diferentes partes (frutos, hojas, ramas, raíces, etc.) caracterizados por poseer grupos hidroxilos (OH) unidos entre sí por anillos bencénicos. Su presencia en los alimentos es fundamental no solo porque activan las propiedades organolépticas naturales, preservándolos, sino porque al ser ingeridos protegen de manera amplia y eficaz la salud del consumidor, previniendo el desarrollo de

enfermedades tan graves como el cáncer, el infarto de miocardio, el ictus, los procesos neurodegenerativos y el sistema inmunológico.

2.3.16.1. Antioxidantes en el chocolate con leche

Numerosos estudios y publicaciones confirman que el cacao en grano es una materia prima con una potente carga de antioxidantes, valorada en la dieta actual principalmente por sus propiedades antiaterogénicas, antirradicales y anticancerígenas (Montagna *et al.*, 2019; Mota Gutierrez *et al.*, 2019; Tsang *et al.*, 2019; Zimmermann y Ellinger, 2020). El chocolate negro igualmente contiene antioxidantes, en forma de sustancias químicas llamadas polifenoles, que se ha demostrado que reducen la presión arterial y previenen la progresión del cáncer. El problema es que esos compuestos saludables también le dan al chocolate amargo un sabor amargo. El chocolate con leche, con todo su azúcar y grasa añadidos, contiene pocos beneficios nutricionales, sin embargo, los consumidores generalmente encuentran más atractivo el chocolate con leche (Dean *et al.*, 2016). Debido al menor contenido de masa de cacao y componentes sin grasa del procesamiento del grano de cacao, los chocolates con leche se caracterizan por un potencial antioxidante mucho más bajo (da Silva Medeiros *et al.*, 2015).

2.3.16.2. Antioxidantes en el té matcha

Los antioxidantes como los polifenoles en el té matcha pueden neutralizar los radicales libres y pueden reducir o incluso ayudar a prevenir algunos de los daños que causan. Las propiedades saludables del té matcha se atribuyen en gran medida a los polifenoles, sustancias químicas con potentes propiedades antioxidantes. Los efectos antioxidantes de los polifenoles parecen ser mayores que los de la vitamina C. Los polifenoles contenidos en los té se clasifican como catequinas. El té matcha

contiene seis compuestos primarios de catequina: catequina, galaocatequina, epicatequina, epigallocatequina, galato de epicatequina (ECG) y galato de epigallocatequina (también conocido como EGCg). EGCg es el componente de polifenol más estudiado en el té matcha. La capacidad de eliminación de las moléculas de catequina y epicatequina depende de su capacidad de donación de hidrógeno (Emmadi *et al.*, 2012).

2.3.17. Evaluación sensorial

La evaluación sensorial es una ciencia que mide, analiza e interpreta las reacciones de las personas a los productos tal como los perciben los sentidos. Es un medio para determinar si se perciben diferencias de productos, la base de las diferencias y si un producto gusta más que otro (Stone, 2018).

Existen tres tipos de prueba, las afectivas, discriminatorias o discriminativas y descriptivas; en las que se busca conformar un panel de análisis sensorial. Estas pruebas pueden ser utilizadas para identificar la apreciación del catador sobre los alimentos, sustancias, o preparaciones que degusta (Cárdenas Mazón *et al.*, 2018).

2.3.17.1. Pruebas afectivas

Cárdenas Mazón *et al.*, (2018) indican que las pruebas afectivas son aquellas en las cuales el juez expresa su reacción subjetiva del producto, indicando si le gusta o si prefiere otro. Por lo general se realizan con paneles inexpertos o con solamente consumidores. Entre las pruebas afectivas están las de medición del grado de satisfacción y las de aceptación.

2.3.17.2. Pruebas descriptivas

Cárdenas Mazón *et al.*, (2018) indican que son aquellas pruebas donde el juez establece los descriptores que definen las características sensoriales de un producto y así cuantifican las diferencias existentes entre varios productos. Consiste en describir el color y el sabor integral de un producto, así como sus atributos individuales. A través de estas pruebas se define el orden de aparición de cada atributo, grado de intensidad de cada uno, sabor residual y amplitud o impresión general del sabor y el olor.

2.3.17.3. Atributos sensoriales del chocolate

Para realizar la evaluación sensorial de los atributos de sabor y aroma del chocolate, se toman en cuenta los descriptores del cacao, los cuales son: almendra, amargo, fruto seco, astringente, nuez, fermentado, ahumado, crudo verde, quemado, ácido, intenso, grasoso, frutal, floral, caramelo, vainilla, malta y mohoso, sin embargo, en algunas evaluaciones sensoriales son omitidos ciertos descriptores por presentar niveles bajos o nulos durante las catas. Asimismo, la aceptación del chocolate se evalúa en función de la apariencia, el color, el brillo y la uniformidad de la superficie del producto. Se incluye también la textura, sabor y nivel de sensación en la boca. Igualmente, en cuanto al sonido, este resulta fundamental, el crujido de una barra de chocolate al romperla significa que fue elaborada de forma correcta. Estas características únicas juegan un papel importante en el desarrollo de la industria del chocolate (Chocograin, s. f.; Ramli *et al.*, 2006).

Los perfiles de sabor más deseables en el cacao y el chocolate son aquellos que se caracterizan por cantidades equilibradas de astringencia y amargura (no dominante), tienen un agradable aroma de cacao y también tienen notas delicadas frutales, florales, picantes, herbales, de nuez, o caramelo / malta / endulzado. Lo

menos deseable son los que presentan defectos en las materias primas o procesamiento: jamón, mohoso / moho, amoníaco, putrefacto, rancio, sulfuroso / gomoso, artificial como vainillina, etc. La textura del chocolate no debe ser compleja o desagradable, pegajosa, lodosa, blanquecina o cerosa. El chocolate con mayor aceptación tiene propiedades cremosas y suaves que permiten una progresión gradual del sabor en la boca (Newton, 2017).

3. OBJETIVOS

3.1. OBJETIVO GENERAL

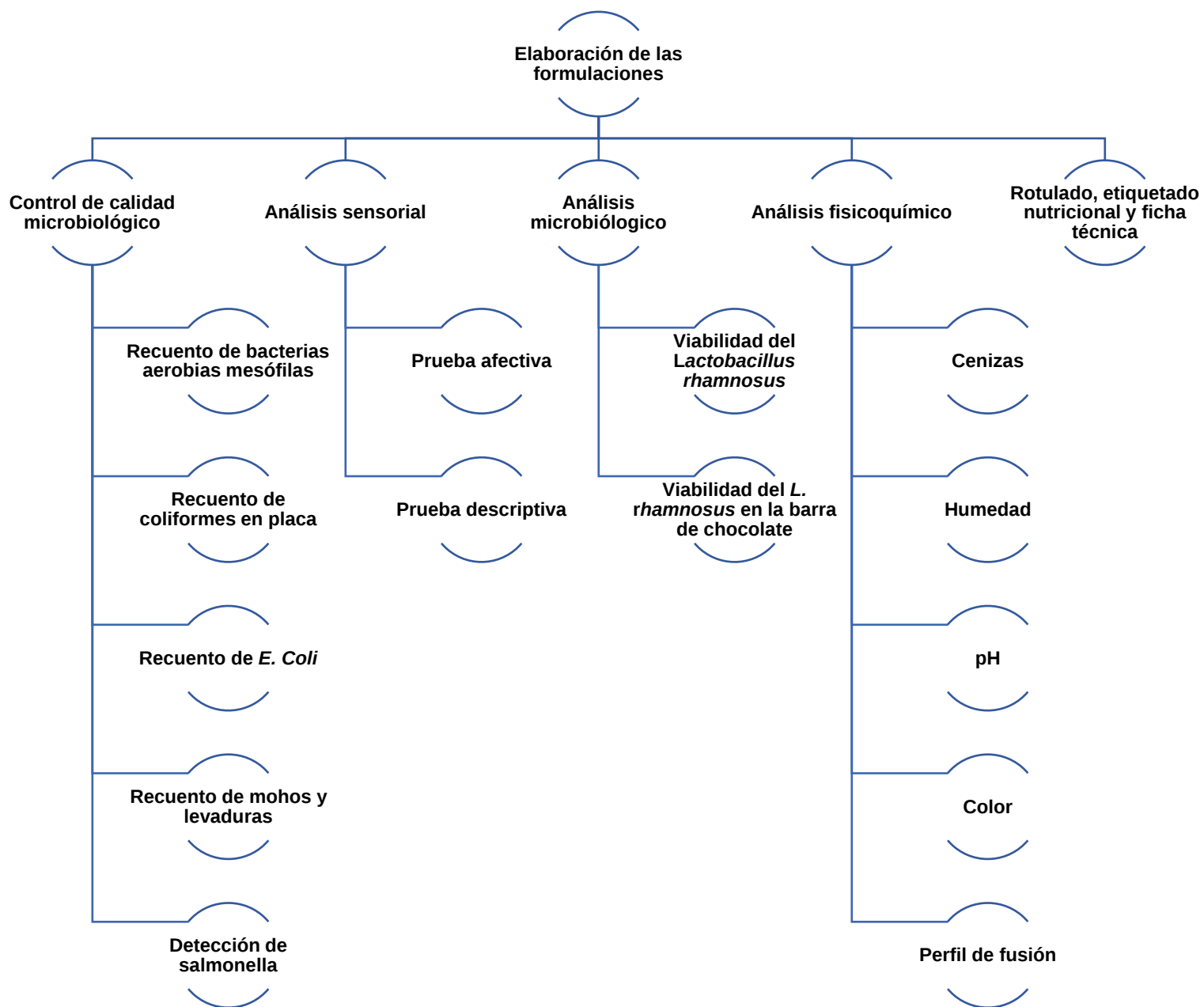
Elaborar una barra de chocolate con leche reducida en azúcares con adición de *Lactobacillus rhamnosus* GG (LGG) y té de matcha con el fin de ofrecer una nueva alternativa de consumo de un alimento saludable.

3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Elaborar las barras de chocolate con leche reducida en azúcares, a partir de las formulaciones definidas para la sustitución parcial de la azúcar por maltitol y la adición de *Lactobacillus rhamnosus* GG (LGG) y té matcha.
- Evaluar las características fisicoquímicas, microbiológicas y sensoriales de las formulaciones de una barra de chocolate con leche reducida en azúcares con adición de *Lactobacillus rhamnosus* GG (LGG) y té de matcha.
- Construir el rotulado y etiquetado nutricional de la formulación con mayor aceptación por el consumidor, bajo la Resolución 810 de 2021 y Resolución 5109 de 2005, y la ficha técnica según lo establecido por el Invima.

4. METODOLOGÍA

Figura 9. Esquema de la investigación realizada



Fuente: Elaboración propia.

4.1. MATERIA PRIMA

El licor de cacao y la manteca de cacao fueron adquiridos en la empresa Chocolate en Bola (Piedecuesta, S, Colombia), la leche entera en polvo, la azúcar y la esencia de vainilla fueron compradas en un supermercado local (Cúcuta, NS, Colombia), el maltitol se obtuvo de la empresa Brymar SAS (Bogotá, C, Colombia), la lecitina de soja líquida se adquirió en la empresa Colorisa (Medellín, A, Colombia), el té matcha en polvo se obtuvo de Laboratorios Funat SAS (Sabaneta, A, Colombia) y el *Lactobacillus rhamnosus* GG (LGG) en polvo se adquirió de la empresa Merck KGaA (Darmstadt, H, Alemania).

En la Tabla 14 se puede observar la materia prima que se empleó para la elaboración de las diferentes formulaciones de las barras de chocolate con leche reducida en azúcares con adición de *L. rhamnosus* GG (LGG) y té matcha junto con sus respectivas características.

Tabla 14. Materias primas que se emplearon para la elaboración del producto.

Materia prima	Características	Imagen
Licor de cacao	Licor de cacao sin edulcorantes. Elaborado de manera artesanal y orgánica amigable con el medio ambiente (Empresa Chocolate en Bola, 2022).	Figura 10. Licor de cacao.  Fuente: Empresa Chocolate en Bola.

Manteca de cacao

Es la grasa producida a partir del grano de cacao (*Theobroma cacao*) sin cascarilla ni germen, obtenida por un procedimiento mecánico (prensado en frío). La manteca de cacao tiene olor suave agradable semejante a la cocoa. Para la elaboración de chocolates, productos de repostería, entre otros (Empresa Chocolate en Bola, 2022).

Figura 11. Manteca de cacao.



Fuente: Empresa Chocolate en Bola.

Leche entera en polvo

La leche en polvo es, en esencia, leche deshidratada, es decir, leche líquida a la que se le elimina el agua. El resultado es un producto en forma de polvo de color blanco amarillento que conserva casi todas las propiedades naturales de la leche, pero es menos perecedero (Chavarrías, 2019).

Figura 12. Leche en polvo.



Fuente: El cocinero, (s. f.).

***Lactobacillus rhamnosus* GG (LGG) en polvo**

Lactobacillus rhamnosus GG (LGG) cuenta con el aval de más de 90 estudios clínicos en eficacia y seguridad, convirtiéndolo en el probiótico más investigado a nivel global y está avalado mundialmente por

Figura 13. *Lactobacillus rhamnosus* en polvo.



Fuente: Amulyn, (s. f.).

la Sociedad Europea de Gastroenterología Pediátrica y la Organización Mundial de Gastroenterología. Su presentación es en polvo y no tiene sabor, por lo cual es ideal para mezclar en los alimentos. Tiene un mínimo de potencia de 5×10^9 UFC de *Lactobacillus rhamnosus* GG (LGG) por cada 2 g (Juaréz, 2020).

Té matcha en polvo

El té matcha es un polvo obtenido a partir de las hojas de té verde que son puestas a la sombra antes de ser cosechadas, mejorando así sus características sensoriales (Laboratorios Funat, 2019).

Figura 14. Té matcha en polvo.



Fuente: Vera, (2016).

Azúcar

Es el edulcorante tradicional, el azúcar de mesa. Es altamente soluble en agua y está presente en la mayoría de las frutas, algunos tubérculos, muchos árboles y pastos. Está más concentrado en la caña de azúcar (*Saccharum officinarum*) y la remolacha azucarera, esta última en zonas templadas, se

Figura 15. Azúcar.



Fuente: Empresas Iansa, (s. f.)

Maltitol	utiliza para endulzar alimentos y bebidas (Yebra Biurrun, 2005). El maltitol se produce a partir de almidones ricos en azúcar maltosa (un disacárido formado por dos moléculas de glucosa). Se utiliza en productos alimenticios como los chocolates (Sollid, 2020).	Figura 16. Maltitol.
		Fuente: Pérez, (2022).
Lecitina de soja líquida	La lecitina de soja es un emulsificante natural utilizado como agente humectante, ideal para recuperar el chocolate cuando ha perdido su consistencia y brillo por exceso de color y/o esencia, o cuando estuvo expuesto a vapor de agua (Panchis Cakes, 2021).	Figura 17. Lecitina de soja líquida.
		Fuente: Empresa Orquídea.
Esencia de vainilla	La esencia de vainilla se prepara de forma sintética y es un producto que imita el aroma y el sabor del fruto, pero no procede de forma directa de él (Vilarrasa, 2020).	Figura 18. Esencia de vainilla.
		Fuente: Vilarrasa, (2020).

Fuente: Elaboración propia.

4.2. FORMULACIONES

Para la elaboración de las barras de chocolate con leche reducida en azúcares, con adición de *L. rhamnosus* GG (LGG) y té matcha se emplearon tres formulaciones diferentes (F1, F2, F3) y una formulación control (FC), la cual era una marca comercial de chocolate con leche que no contenía maltitol, té matcha, *L. rhamnosus* GG en su composición.

Tabla 15. Formulaciones del producto.

Ingredientes	F1	F2	F3
Licor de cacao (%)	30	30	30
Manteca de cacao (%)	20,5	20,5	20,5
Leche entera en polvo (%)	14	14	14
Azúcar (%)	26,25	26,25	26,25
Maltitol (%)	8,75	8,75	8,75
Lecitina de soja (%)	0,4	0,4	0,4
Vainilla (%)	0,1	0,1	0,1
Té matcha (%)			
(A partir de la mezcla de los primeros ingredientes)	0,5%	1,5%	2,5%

Fuente: Adaptado de Aroyeun y Jayeola, (2016), y Gültekin *et al.*, (2020) y la NTC 792.

Las formulaciones que se elaboraron se observan en la Tabla 15, estas se realizaron usando como guía las formulaciones empleadas por Aroyeun y Jayeola, (2016), y Gültekin Özgüven *et al.*, (2020) y de acuerdo a la NTC (Norma Técnica Colombiana) 792 (Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación [ICONTEC], 2008).

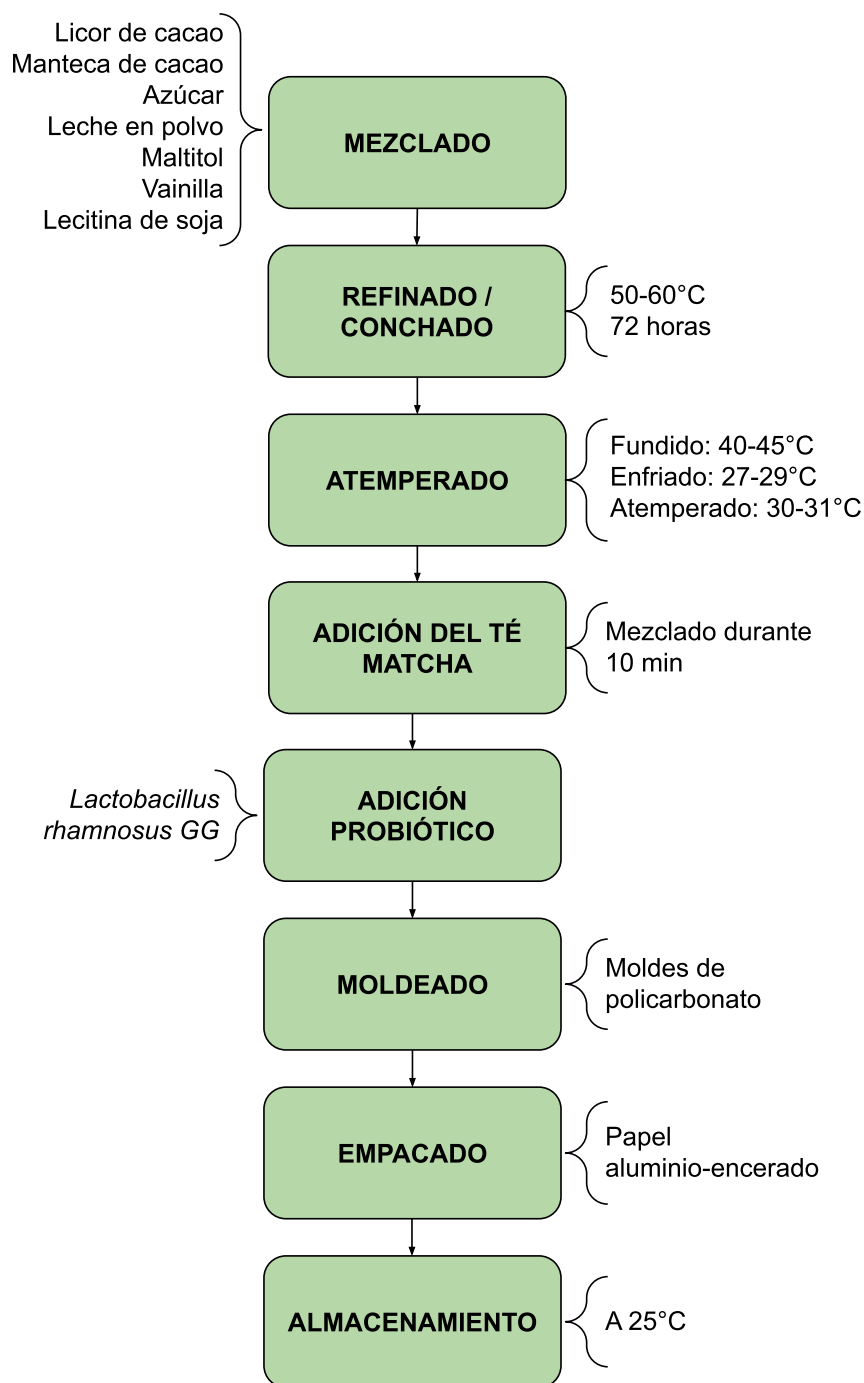
Para el *L. rhamnosus* GG se agregó la cantidad empleada por Ozer *et al.*, (2022), en donde se pesó la dosis de polvo de células y se diluyó 1:100 en chocolate. Se adicionó 4 g del probiótico en polvo para cada barra de chocolate, de modo que estas quedaran con mínimo una potencia de 1×10^6 UFC de *Lactobacillus rhamnosus* GG por cada gramo, para cumplir con lo indicado en la resolución 810 de 2021, en donde señalan que un alimento con adición de probióticos debe contener un número mayor o igual de bacterias viables de origen probiótico a 1×10^6 UFC/g en el producto terminado.

Para la sustitución parcial del azúcar por maltitol, se reemplazó el 25% de sacarosa por maltitol de acuerdo a lo realizado por Vidalón Pinto, (2017) para así no percibir diferencias significativas a nivel sensorial.

4.3. ELABORACIÓN DE LAS BARRAS DE CHOCOLATE

En la Figura 19 se describe el proceso que se siguió para la elaboración de las barras de chocolate con leche con adición de *Lactobacillus rhamnosus* GG (LGG) y té matcha, con sustitución parcial de la azúcar por maltitol.

Figura 19. Diagrama de flujo de la elaboración de las muestras de chocolate.



Adaptado de: Oliveras Sevilla, (2007), Klindt Toldam *et al.*, (2016), Gültekin Özgüven *et al.*, (2020), Faccinetto Beltrán, *et al.*, (2021) y Ozer *et al.*, (2022).

En la Tabla 16 se observa el proceso que se llevó a cabo para la elaboración de las diferentes formulaciones de las barras de chocolate con leche con adición de *Lactobacillus rhamnosus* GG y té matcha.

Tabla 16. Descripción del proceso de elaboración de las barras de chocolate con leche con adición de *Lactobacillus rhamnosus* GG y té matcha.

Etapa	Descripción
Mezclado	Se mezcló cada uno de los productos siguiendo el orden que se presenta a continuación: primero se adicionó el licor de cacao líquido, luego la manteca de cacao líquida mezclada con la azúcar, seguido del maltitol y la leche en polvo, finalmente se agregó la vainilla y la lecitina de soja.
Refinado / Conchado	Durante 72 horas, la masa de chocolate se refinó a una temperatura entre 50 y 60 °C durante este proceso se agitó y amasó la pasta a través de una serie de rodillos con el objetivo de obtener las propiedades deseadas (Oliveras Sevilla, 2007).
Atemperado	Se fundió el chocolate a baño maría a una temperatura de 40 – 45°C en un recipiente de acero inoxidable. Una vez totalmente fundido y homogeneizado, el chocolate se enfrió a 27 - 29°C en un baño maría inverso. A continuación, el chocolate se transfirió al recipiente de acero

	inoxidable y se volvió a colocar a baño maría para atemperar hasta alcanzar los 30 - 31°C (Faccinetto Beltrán <i>et al.</i> , 2021).
Adición del té matcha	Se adicionó el té matcha mezclándolo con el chocolate líquido durante 10 minutos. Se agregó en este paso de acuerdo a lo indicado por Poliński <i>et al.</i> , (2022) , para así obtener un efecto positivo sobre el contenido de polifenoles y carotenoides y la capacidad antioxidante del producto terminado.
Adición del <i>Lactobacillus rhamnosus</i>	Se agregó el <i>L. rhamnosus</i> GG antes del paso de moldeo, del mismo modo que lo realizó Ozer <i>et al.</i> , (2022), para que de este modo no se vea afectada la viabilidad de los microorganismos por condiciones de temperatura.
Moldeado	La mezcla de chocolate se vertió en moldes de policarbonato, con agitación constante para evitar burbujas y espacios vacíos.
Empacado	El chocolate listo se empacó en papel aluminio especialmente para su conservación.
Almacenamiento	Todas las muestras de chocolate se almacenaron a temperatura ambiente (25 °C).

Fuente: Elaboración propia.

4.4. ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICO

4.4.1. Humedad

El contenido de humedad del chocolate se determinó, inicialmente moliendo la muestra y colocando 2 g sobre el plato de una balanza de humedad (Dexter-200, Lexus), luego se expuso la muestra a los rayos infrarrojos a 110 °C hasta alcanzar el equilibrio de peso. La diferencia entre el peso inicial y el final correspondió al agua que fue eliminada. Esta prueba se realizó por triplicado a todas las formulaciones los días 1, 7, 14 y 30 de almacenamiento (Palma Rodríguez *et al.*, 2018).

4.4.2. Cenizas

El contenido de cenizas de las muestras de chocolate se determinó de acuerdo con Association of Official Analytical Chemists [AOAC], (1990), en donde primero se eliminó la humedad de los crisoles en la mufla durante 1 hora, luego se pesó 2 g de cada una de las muestras, se secaron previamente empleando un mechero de Bunsen hasta que dejaron de emitir humo y posteriormente se calcinaron en una mufla (Vulcan A-550) a una temperatura de 550 °C durante 4 horas, hasta que las cenizas quedaron completamente grises. Este procedimiento se realizó por triplicado los días 1, 7, 14 y 30 de almacenamiento.

El porcentaje de cenizas se calculó mediante la ecuación que se observa en la Figura 20.

Figura 20. Ecuación porcentaje de cenizas.

$$\% \text{ Cenizas} = \left[\frac{Pf - Pi}{M} \right] \times 100$$

En donde:

Pf = Peso del crisol + residuos después de mufla, en g.

Pi = Peso del crisol vacío, en g.

M = Peso de la muestra, en g.

Fuente: García Corrales, (2016).

4.4.3. pH

Los cambios de pH en el chocolate funcional se determinaron mediante un pH-metro (Hanna HI 99141), los datos se tomaron por triplicado a todas las formulaciones los días 1, 7, 14 y 30 de almacenamiento (Cielecka Piontek *et al.*, 2020).

4.4.4. Color

El color de todas las muestras de chocolate se midió por triplicado empleando la aplicación Color Lab, para determinar los valores L* (brillante), a* (verde a rojo) y b* (azul a amarillo) de las muestras de chocolate.

4.4.5. Perfil de fusión

El perfil de fusión se midió siguiendo la metodología empleada por Fatimah Ibrahim *et al.*, (2020), en donde se colocaron 20 g de muestra en un recipiente mediano de baño maría, en donde la muestra se dejó fundir lentamente. Para el análisis la temperatura se aumentó lentamente hasta que el chocolate comenzó a

derretirse. La temperatura se controló usando un termómetro digital y se registró una vez que el chocolate comenzó a derretirse.

4.5. ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

Los análisis microbiológicos fueron realizados en un laboratorio externo, en donde se determinó la viabilidad del *Lactobacillus rhamnosus* GG (LGG) en polvo y en la muestra de chocolate con mayor aceptación (F1). Además de la calidad microbiológica de todas las formulaciones.

4.5.1. Determinación de la viabilidad del *Lactobacillus rhamnosus* GG (LGG)

Se determinó la viabilidad del probiótico homogeneizando 1 g de polvo con 9 mL de agua peptonada (dilución 1:9). Se prepararon diluciones seriadas, se añadió 1 ml de las muestras diluidas a las placas de agar MRS por duplicado y se incubaron durante 24 h a 35 °C (Faccinetto Beltrán *et al.*, 2021).

4.5.2. Análisis de viabilidad del *Lactobacillus rhamnosus* GG (LGG) en la muestra de chocolate

La viabilidad de las bacterias se determinó en la muestra de chocolate con mayor aceptación (F1). El número de microorganismos se determinó utilizando el método de dilución en serie, se llevaron a cabo diluciones seriadas 1:9 en 1 g/L de agua peptonada. El número de células viables se expresó como unidades formadoras de colonias por gramo (UFC/g), se sembraron por duplicado utilizando agar MRS mediante el método de vertido en placa. Los números de células viables fueron enumerados después de 48 h de incubación a 35 °C en condiciones anaeróbicas.

El recuento se analizó utilizando la técnica de recuento en placa estándar (SPC). La enumeración se realizó en placas que contenían de 30 a 300 colonias (Champagne *et al.*, 2015; Cielecka Piontek *et al.*, 2020; Islam *et al.*, 2022; Ozer *et al.*, 2022).

4.5.3. Calidad microbiológica de las muestras

En la Tabla 17 se observan los ensayos microbiológicos que se llevaron a cabo para el control de calidad de cada una de las formulaciones de chocolate con leche de acuerdo a lo indicado en las normas técnicas colombianas (NTC) que se emplean para el recuento, determinación y/o detección de cada uno de los microorganismos.

Tabla 17. Requisitos microbiológicos para el chocolate y sus sucedáneos para consumo directo.

Requisitos	NTC
Recuento de bacterias aerobias mesófilas	4519
Recuento de coliformes en placa	4458
Recuento de E. Coli	4458
Recuento de mohos y levaduras	4132
Detección de Salmonella	4574

Fuente: NTC 792, (2008).

4.6. ANÁLISIS SENSORIAL

La percepción del consumidor de un producto alimenticio se considera como una estrategia clave en el desarrollo de productos alimenticios innovadores. Es por esta razón que se llevó a cabo un análisis sensorial, en donde se incluyeron pruebas afectivas y descriptivas para cada una de las formulaciones de barras de chocolate con leche con sustitución parcial de la azúcar por maltitol y con adición de *Lactobacillus rhamnosus* y té matcha en diferentes concentraciones.

4.6.1. Prueba afectiva

Para la prueba se utilizó una escala hedónica de 9 puntos (en donde, 1 es el más bajo y 9 es el más alto), la cual se observa en la Tabla 18.

Tabla 18. Evaluación de la prueba sensorial utilizando una escala hedónica de 9 puntos.

Valor	Descripción
1	Me disgusta extremadamente
2	Me disgusta mucho
3	Me disgusta moderadamente
4	Me disgusta un poco
5	Ni me gusta ni me disgusta
6	Me gusta levemente

7	Me gusta moderadamente
8	Me gusta mucho
9	Me gusta muchísimo

Fuente: Paucar Menacho *et al.*, (2016).

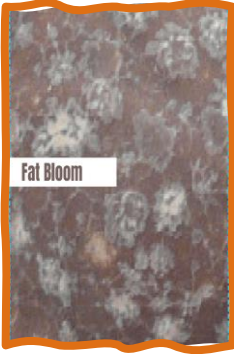
La prueba afectiva de las muestras de chocolate fue realizada por 30 jueces consumidores. Se pidió a los jueces que evaluaran las muestras de chocolate en cuanto a su apariencia, color, olor, textura, sabor, dulzura y aceptación general.

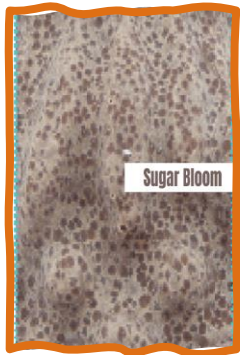
4.6.2. Prueba descriptiva

Para la prueba afectiva se trabajó con un equipo previamente capacitado de 10 jueces. Se utilizó un rango de puntuación del 0 a 5, en donde (0) indicó ausencia total, (1) casi imperceptible, (2) ligeramente perceptible, (3) moderadamente perceptible, (4) altamente perceptible y (5) extremadamente perceptible, como se observa en la Tabla 19.

Los atributos que se evaluaron para las muestras de chocolate son sabor/olor (dulce, ácido, amargo, cacao, lácteo, herbal, floral, frutal, vainilla, caramelo, nuez, fermentado, malta, quemado, rancio, astringencia, amargo residual, amaderado, moho, oxidado), apariencia (floración de grasa, floración de azúcar, brillo, color), textura (adhesividad, dureza, cremosidad, ductilidad, fragilidad) y sonido (crujiente).

Tabla 19. Escala de evaluación para los atributos sensoriales en el chocolate con leche con adición de *Lactobacillus rhamnosus* GG y té matcha.

Atributo	Valor						Técnica
	0 (Ausencia total)	1 (Casi imperceptible)	2 (Ligeramente perceptible)	3 (Moderadamente perceptible)	4 (Altamente perceptible)	5 (Extremadamente perceptible)	
Apariencia							Técnica
Floración de grasa	Ausencia de floración de grasa	Casi imperceptible la floración de grasa	Ligeramente perceptible la floración de grasa	Moderadamente perceptible la floración de grasa	Altamente perceptible la floración de grasa	Extremadamente perceptible la floración de grasa	Observación 
Floración de azúcar	Ausencia de floración de azúcar	Casi imperceptible la floración de azúcar	Ligeramente perceptible la floración de azúcar	Moderadamente perceptible la floración de azúcar	Altamente perceptible la floración de azúcar	Extremadamente perceptible la floración de azúcar	Observación

							
Brillo	Ausencia de brillo	Casi imperceptible el brillo	Ligeramente perceptible el brillo	Moderadamente perceptible el brillo	Altamente perceptible el brillo	Extremadamente perceptible el brillo	Observación
Color característico del chocolate	Ausencia del color característico del chocolate	Casi imperceptible el color característico del chocolate	Ligeramente perceptible el color característico del chocolate	Moderadamente perceptible el color característico del chocolate	Altamente perceptible el color característico del chocolate	Extremadamente perceptible el color característico del chocolate	Observación
Color verdoso	Ausencia del color verdoso	Casi imperceptible el color verdoso	Ligeramente perceptible el color verdoso	Moderadamente perceptible el color verdoso	Altamente perceptible el color verdoso	Extremadamente perceptible el color verdoso	Observación
Color uniforme	Ausencia de color uniforme	Casi imperceptible el color uniforme	Ligeramente perceptible el color uniforme	Moderadamente perceptible el color uniforme	Altamente perceptible el color uniforme	Extremadamente perceptible el color uniforme	Observación

Olor							Técnica
Olor a cacao	Ausencia del olor a cacao	Casi imperceptible el olor a cacao	Ligeramente perceptible el olor a cacao	Moderadamente perceptible el olor a cacao	Altamente perceptible el olor a cacao	Extremadamente perceptible el olor a cacao	Inhalación
Olor herbal	Ausencia del olor herbal	Casi imperceptible el olor herbal	Ligeramente perceptible el olor herbal	Moderadamente perceptible el olor herbal	Altamente perceptible el olor herbal	Extremadamente perceptible el olor herbal	Inhalación
Olor lácteo	Ausencia del olor lácteo	Casi imperceptible el olor lácteo	Ligeramente perceptible el olor lácteo	Moderadamente perceptible el olor lácteo	Altamente perceptible el olor lácteo	Extremadamente perceptible el olor lácteo	Inhalación
Olor floral	Ausencia del olor floral	Casi imperceptible el olor floral	Ligeramente perceptible el olor floral	Moderadamente perceptible el olor floral	Altamente perceptible el olor floral	Extremadamente perceptible el olor floral	Inhalación
Olor frutal	Ausencia del olor frutal	Casi imperceptible el olor frutal	Ligeramente perceptible el olor frutal	Moderadamente perceptible el olor frutal	Altamente perceptible el olor frutal	Extremadamente perceptible el olor frutal	Inhalación
Olor a nuez	Ausencia del olor a nuez	Casi imperceptible el olor a nuez	Ligeramente perceptible el olor a nuez	Moderadamente perceptible el olor a nuez	Altamente perceptible el olor a nuez	Extremadamente perceptible el olor a nuez	Inhalación
Olor amaderado	Ausencia del olor amaderado	Casi imperceptible el olor amaderado	Ligeramente perceptible el olor amaderado	Moderadamente perceptible el olor amaderado	Altamente perceptible el olor amaderado	Extremadamente perceptible el olor amaderado	Inhalación

Olor a vainilla	Ausencia del olor a vainilla	Casi imperceptible el olor a vainilla	Ligeramente perceptible el olor a vainilla	Moderadamente perceptible el olor a vainilla	Altamente perceptible el olor a vainilla	Extremadamente perceptible el olor a vainilla	Inhalación
Olor a caramelo	Ausencia del olor a caramelo	Casi imperceptible el olor a caramelo	Ligeramente perceptible el olor a caramelo	Moderadamente perceptible el olor a caramelo	Altamente perceptible el olor a caramelo	Extremadamente perceptible el olor a caramelo	Inhalación
Olor a malta	Ausencia del olor a malta	Casi imperceptible el olor a malta	Ligeramente perceptible el olor a malta	Moderadamente perceptible el olor a malta	Altamente perceptible el olor a malta	Extremadamente perceptible el olor a malta	Inhalación
Olor mohoso	Ausencia del olor mohoso	Casi imperceptible el olor mohoso	Ligeramente perceptible el olor mohoso	Moderadamente perceptible el olor mohoso	Altamente perceptible el olor mohoso	Extremadamente perceptible el olor mohoso	Inhalación Es el olor característico de las humedades es producido por los hongos y el moho que se alimentan de ellas.
Olor a quemado	Ausencia del olor a quemado	Casi imperceptible el olor a quemado	Ligeramente perceptible el olor a quemado	Moderadamente perceptible el olor a quemado	Altamente perceptible el olor a quemado	Extremadamente perceptible el olor a quemado	Inhalación

Olor a rancio	Ausencia del olor a rancio	Casi imperceptible el olor a rancio	Ligeramente perceptible el olor a rancio	Moderadamente perceptible el olor a rancio	Altamente perceptible el olor a rancio	Extremadamente perceptible el olor a rancio	Inhalación Los alimentos rancios pueden tener un olor desagradable o rancio, este olor puede variar e incluir aromas a cartón mojado, plastilina o barniz.
Olor a oxidado	Ausencia del olor a oxidado	Casi imperceptible el olor a oxidado	Ligeramente perceptible el olor a oxidado	Moderadamente perceptible el olor a oxidado	Altamente perceptible el olor a oxidado	Extremadamente perceptible el olor a oxidado	Inhalación
Sonido							Técnica
Sonido crujiente	Ausencia de sonido crujiente	Casi imperceptible el sonido crujiente	Ligeramente perceptible el sonido crujiente	Moderadamente perceptible el sonido crujiente	Altamente perceptible el sonido crujiente	Extremadamente perceptible el sonido crujiente	Audición Al romper la muestra, se espera que el sonido sea crujiente, duro pero quebradizo y con un “clac” característico al ser partido en dos.

Textura							Técnica
Fragilidad	Ausencia de fragilidad	Casi imperceptible la fragilidad	Ligeramente frágil	Moderadamente frágil	Altamente frágil	Extremadamente frágil	Analizar mediante el tacto y la vista si la muestra se desmigaja con facilidad o si es quebradiza.
Ductilidad	Ausencia de ductilidad	Casi imperceptible la ductilidad	Ligeramente dúctil	Moderadamente dúctil	Altamente dúctil	Extremadamente dúctil	Comprobamos la ductilidad del chocolate presionándolo con los dedos pulgar e índice para apreciar su capacidad de modelarse con el calor corporal.
Adhesividad	Ausencia de adhesividad	Casi imperceptible la adhesividad	Ligeramente adhesivo	Moderadamente adhesivo	Altamente adhesivo	Extremadamente adhesivo	Colocar la muestra en la lengua, presionarla contra el paladar y evaluar el trabajo necesario para despegar el alimento del paladar.

Dureza	Ausencia de dureza	Casi imperceptible la dureza	Ligeramente duro	Moderadamente duro	Altamente duro	Extremadamente duro	Comprobar la fuerza requerida para comprimir la muestra con los dientes molares o con la lengua y el paladar.
Creмосidad	Ausencia de cremosidad	Casi imperceptible la cremosidad	Ligeramente cremoso	Moderadamente cremoso	Altamente cremoso	Extremadamente cremoso	Comprobar la sensación que experimentamos cuando la muestra cubre el paladar de modo placentero y se funde en la boca ni muy rápido ni muy lento.
Sabor							Técnica
Sabor dulce	Ausencia del sabor dulce	Casi imperceptible el sabor dulce	Ligeramente perceptible el sabor dulce	Moderadamente perceptible el sabor dulce	Altamente perceptible el sabor dulce	Extremadamente perceptible el sabor dulce	Masticación
Sabor ácido	Ausencia del sabor ácido	Casi imperceptible el sabor ácido	Ligeramente perceptible el sabor ácido	Moderadamente perceptible el sabor ácido	Altamente perceptible el sabor ácido	Extremadamente perceptible el sabor ácido	Masticación

Sabor amargo	Ausencia del sabor amargo	Casi imperceptible el sabor amargo	Ligeramente perceptible el sabor amargo	Moderadamente perceptible el sabor amargo	Altamente perceptible el sabor amargo	Extremadamente perceptible el sabor amargo	Masticación
Sabor a cacao	Ausencia del sabor a cacao	Casi imperceptible el sabor a cacao	Ligeramente perceptible el sabor a cacao	Moderadamente perceptible el sabor a cacao	Altamente perceptible el sabor a cacao	Extremadamente perceptible el sabor a cacao	Masticación
Sabor herbal	Ausencia del sabor herbal	Casi imperceptible el sabor herbal	Ligeramente perceptible el sabor herbal	Moderadamente perceptible el sabor herbal	Altamente perceptible el sabor herbal	Extremadamente perceptible el sabor herbal	Masticación
Sabor a leche	Ausencia del sabor a leche	Casi imperceptible el sabor a leche	Ligeramente perceptible el sabor a leche	Moderadamente perceptible el sabor a leche	Altamente perceptible el sabor a leche	Extremadamente perceptible el sabor a leche	Masticación
Sabor frutal	Ausencia del sabor frutal	Casi imperceptible el sabor frutal	Ligeramente perceptible el sabor frutal	Moderadamente perceptible el sabor frutal	Altamente perceptible el sabor frutal	Extremadamente perceptible el sabor frutal	Masticación
Sabor a vainilla	Ausencia del sabor a vainilla	Casi imperceptible el sabor a vainilla	Ligeramente perceptible el sabor a vainilla	Moderadamente perceptible el sabor a vainilla	Altamente perceptible el sabor a vainilla	Extremadamente perceptible el sabor a vainilla	Masticación
Sabor a caramelo	Ausencia del sabor a caramelo	Casi imperceptible	Ligeramente perceptible el	Moderadamente perceptible el	Altamente perceptible el	Extremadamente perceptible el	Masticación

		el sabor a caramelo	sabor a caramelo	sabor a caramelo	sabor a caramelo	sabor a caramelo	
Sabor a nuez	Ausencia del sabor a nuez	Casi imperceptible el sabor a nuez	Ligeramente perceptible el sabor a nuez	Moderadamente perceptible el sabor a nuez	Altamente perceptible el sabor a nuez	Extremadamente perceptible el sabor a nuez	Masticación
Sabor a malta	Ausencia del sabor a malta	Casi imperceptible el sabor a malta	Ligeramente perceptible el sabor a malta	Moderadamente perceptible el sabor a malta	Altamente perceptible el sabor a malta	Extremadamente perceptible el sabor a malta	Masticación
Sabor a quemado	Ausencia del sabor a quemado	Casi imperceptible el sabor a quemado	Ligeramente perceptible el sabor a quemado	Moderadamente perceptible el sabor a quemado	Altamente perceptible el sabor a quemado	Extremadamente perceptible el sabor a quemado	Masticación
Sabor a rancio	Ausencia del sabor a rancio	Casi imperceptible el sabor a rancio	Ligeramente perceptible el sabor a rancio	Moderadamente perceptible el sabor a rancio	Altamente perceptible el sabor a rancio	Extremadamente perceptible el sabor a rancio	Masticación El crecimiento excesivo de la bacteria <i>Bacillus</i> formadora de esporas durante la fermentación del cacao, se asocia con compuestos que conducen a sabores rancios, como el del queso.

Sabor astringente	Ausencia del sabor astringente	Casi imperceptible el sabor astringente	Ligeramente perceptible el sabor astringente	Moderadamente perceptible el sabor astringente	Altamente perceptible el sabor astringente	Extremadamente perceptible el sabor astringente	Masticación El sabor astringente permite calificar a aquello que provoca en la lengua una sensación que combina la amargura y la sequedad.
Sabor amargo residual	Ausencia del sabor amargo residual	Casi imperceptible el sabor amargo residual	Ligeramente perceptible el sabor amargo residual	Moderadamente perceptible el sabor amargo residual	Altamente perceptible el sabor residual	Extremadamente perceptible el sabor residual	Comprobar si después de ingerir el alimento queda en la boca un sabor amargo residual.

Adaptado de: BeMiller, (2019); Chocograin, (s. f.); Conservas Dani, (2018); Escudero, (2020); Gayoso, (2018); Grembecka, (2019); Good Scents Company, (2006); IGNOU, (2017); Newton, (2017); Phat *et al.*, (2016); Ramli *et al.*, (2006); Gramza Michałowska *et al.*, (2021); Vera Romero y Mantilla Pabón, (2020).

4.7. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los resultados obtenidos en las pruebas fisicoquímicas y en el análisis sensorial se presentaron como media $\pm$ desviación estándar (DE) de mediciones por triplicado. El nivel de significación estadística entre las medias con un nivel de confianza del 95% se analizó mediante ANOVA de una vía seguido de la prueba de Tukey para determinar las diferencias significativas ($P < 0,05$) utilizando el programa IBM SPSS Statistics versión 21.

4.8. ELABORACIÓN DE LA TABLA NUTRICIONAL

Para la elaboración de la tabla nutricional se realizaron balances de materia para obtener la composición. Además, se tuvieron en cuenta los lineamientos descritos en la Resolución 810 de 2021 del Ministerio de Salud y Protección Social, esta tabla nutricional se realizó para la formulación con mayor aceptación sensorial (F1).

4.9. ELABORACIÓN DE LA ETIQUETA

Para la elaboración de la etiqueta igualmente se elaboró para la formulación con mayor aceptación sensorial (F1) y se realizó siguiendo los lineamientos descritos en la Resolución 810 de 2021 y en la Resolución 5109 de 2005 del Ministerio de Salud y Protección Social.

4.10. ELABORACIÓN DE LA FICHA TÉCNICA

Se elaboró la ficha técnica de la formulación con mayor aceptación sensorial (F1) según lo establecido por el Invima en el Formato único de alimentos registros sanitarios o permiso sanitario o notificación sanitaria y tramites asociados (resolución 2674 de 2013, resolución 3168 de 2015).

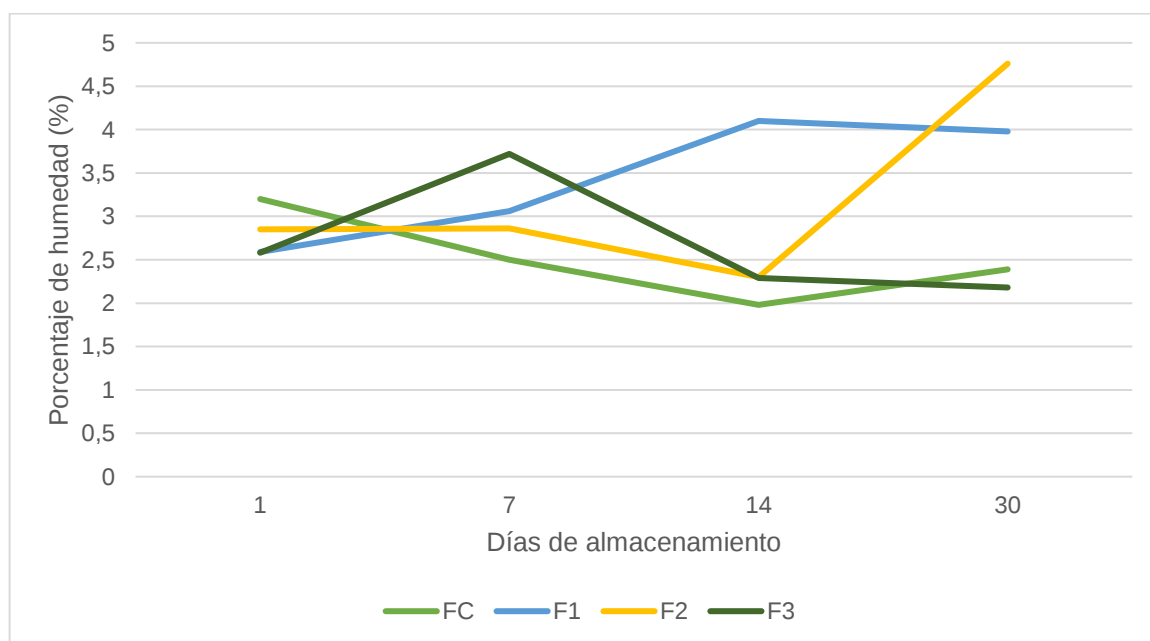
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1. ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICO

5.1.1. Humedad

El contenido de humedad es un criterio importante para los productos de chocolate debido a que cuando se aumenta la humedad, se aumenta la viscosidad al afectarse la aglomeración y la estructura de las partículas del azúcar. En el Gráfico 1 se observa el contenido de humedad en cada una de las muestras durante los días de almacenamiento.

Gráfico 1. Porcentaje de humedad de las diferentes formulaciones durante el día 1, 7, 14 y 30 de almacenamiento.



Fuente: Elaboración propia.

El contenido de agua es uno de los parámetros de calidad del chocolate que afecta las propiedades de este producto. El aumento del contenido de agua provoca el deterioro de las propiedades reológicas del chocolate. Esto influye, entre otras cosas, en un aumento del consumo de energía de los dispositivos durante la producción, problemas de bombeo de la masa de chocolate, recubrimiento de núcleos, formación de barras o figuras del producto y peores percepciones sensoriales durante su consumo, como una alta adhesividad (el chocolate se pega a los dientes), es por ello que el contenido de agua de los chocolates debe ser lo más bajo posible (Konar, 2013).

El contenido de humedad para las muestras FC, F1 y F3 fue significativamente diferente durante todos los días de almacenamiento ($P < 0,05$). En la muestra F2 en los días 1 y 7 de almacenamiento no se observó diferencia estadísticamente significativa ($P < 0,05$), obteniéndose un porcentaje de humedad de 2,85% y 2,86% respectivamente. La muestra para el día 30 de análisis aumentó a 4,76%, siendo la muestra que llegó al porcentaje de humedad más alto al finalizar los 30 días de almacenamiento. En el caso de F3 este en el día 1 de análisis tuvo un contenido de humedad de 2,58% y para el día 30 fue de 2,18%, siendo el menor porcentaje de humedad al iniciar y finalizar el análisis.

Bolenz y Glöde (2021) indican que el contenido de humedad en los chocolates debería ser inferior al 0,6%, pero esto es difícil de lograr, especialmente en el caso de chocolates blancos o con leche debido al mayor contenido de agua en la leche en polvo que en otras materias primas utilizadas en la producción de chocolate.

Los problemas para lograr un valor tan bajo de este parámetro también pueden ocurrir en la producción de chocolates sin azúcar o con sustitución parcial de la azúcar. Los sustitutos de la sacarosa se caracterizan a menudo por un contenido

de agua más alto que el azúcar (sacarosa), de ahí el contenido de humedad generalmente más alto de este tipo de producto (Żyżelewicz *et al.*, 2021).

Palomo Calvo, (2016) indica que la humedad del chocolate aumenta al sustituir el azúcar por otros edulcorantes, como el maltitol, debido a su carácter higroscópico, que podría dificultar la eliminación de la humedad durante la etapa de conchado, y favorecer su absorción. En el caso de este estudio se observa que en el día 1 el contenido de agua de los chocolates con sustitución parcial de la azúcar por maltitol (F1, F2 y F3) fue menor (2,58%-2,85%) que el de la muestra control (3,2%), la cual contenía únicamente azúcar. Sin embargo, se puede observar que al finalizar los 30 días de almacenamiento algunos de los chocolates con sustitución parcial de la azúcar por maltitol (F1 y F2) absorbieron mayor contenido de humedad que el de control, lo cual puede deberse a la capacidad que tiene el maltitol de absorber la humedad del medio.

Los chocolates de buena calidad y microbiológicamente estables se caracterizan por un bajo contenido de humedad (Toker *et al.*, 2017). Curiosamente, se puede observar que las formulaciones elaboradas enriquecidas con té verde (F1, F2 y F3) obtuvieron un contenido de humedad más bajo que el de la muestra control en el primer día de análisis. Estas diferencias en el contenido de agua podrían explicarse con los cambios en la composición química del chocolate control y de los suplementados.

El porcentaje de humedad de un chocolate también se puede ver afectado por la calidad y/o composición de las materias primas, así como también por el proceso (Beckett, 2009). Teóricamente, durante el proceso de conchado se disminuye la humedad del chocolate, por lo que a mayores tiempos de conchado se esperaría obtener un producto con menor humedad. Afoakwa (2010) menciona que generalmente el chocolate presenta contenidos de humedad entre 0,5 % -1,5 %

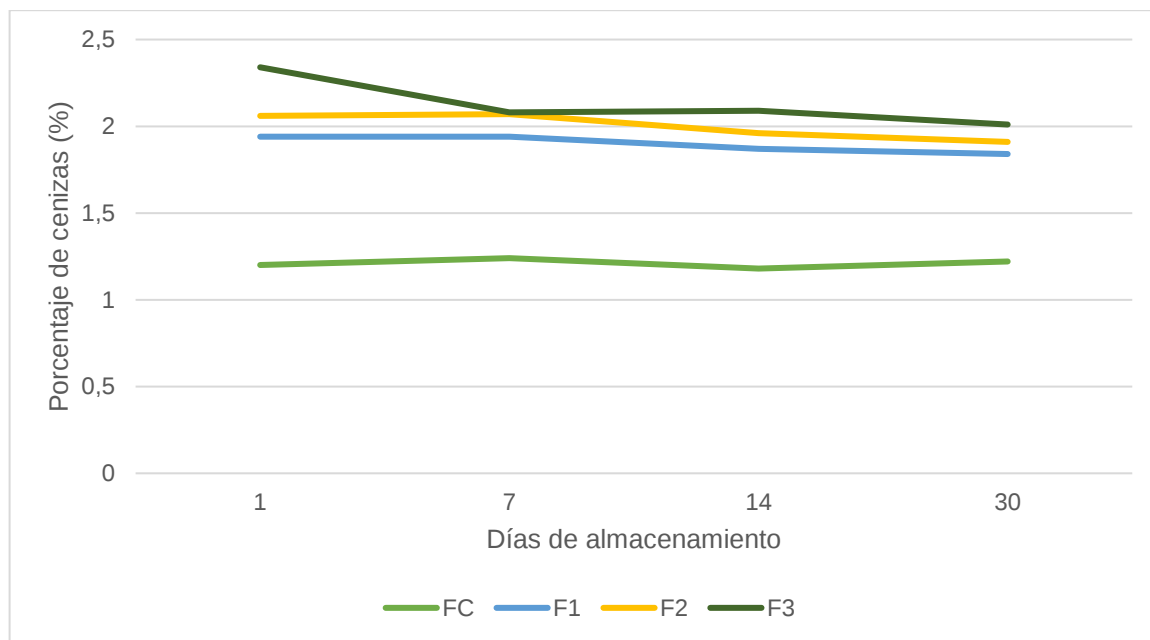
posterior al conchado. Porcentajes mayores a estos (entre 3 % - 4 %) pueden generar aglomeración del azúcar y sensación de arenosidad en el producto final. Además, puede aumentar la viscosidad aparente, obteniendo productos con una calidad sensorial menor. Como se mencionó anteriormente, en el caso de este estudio en el primer día de análisis para los chocolates elaborados (F1, F2 y F3) se obtuvieron valores del contenido de humedad entre 2,58% y 2,85%, este ligeramente alto contenido de humedad no pudo haberse debido al tiempo de conchado ya que para la elaboración se empleó un tiempo de 72 horas, así que como se mencionó anteriormente puede deberse principalmente por la composición de las materias primas (la adición de maltitol).

El contenido de humedad es fundamental durante el procesamiento del chocolate en lo que respecta a la cristalización, la textura, la reología y la vida útil. La humedad puede afectar negativamente las características de flujo del chocolate. El agua puede estar ligada o libre. Cuando se combina, no representa mayor problema con estas propiedades porque queda atrapada entre los ingredientes. Sin embargo, el agua libre puede interactuar con los ingredientes y causar polvos pegajosos o la cristalización del azúcar, lo cual hace que las partículas se aglomeren o formen cristales grandes, lo que aumenta la viscosidad y la elasticidad aparente, dificultando el procesamiento del chocolate (Quirós Martínez, 2016).

5.1.2. Cenizas

El contenido de cenizas permite dar un indicador de los minerales presentes en el chocolate. En el Gráfico 2 se observa el porcentaje de cenizas que se obtuvo de las diferentes formulaciones durante los días de almacenamiento.

Gráfico 2. Porcentaje de cenizas de las diferentes formulaciones durante el día 1, 7, 14 y 30 de almacenamiento.



Fuente: Elaboración propia.

Se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre el contenido de cenizas de las formulaciones elaboradas (F1, F2 y F3) y la formulación control durante todos los días de almacenamiento ($P < 0,05$). En el Gráfico 2 se observa que todas las formulaciones elaboradas presentaron mayor contenido de cenizas que la formulación control durante todos los días de análisis, en donde la formulación control presentó en promedio $1,21\% \pm 0,02$. Por otro lado, en las formulaciones elaboradas se observó que no hubo diferencias estadísticamente significativas entre el contenido de cenizas de estas en ninguno de los días de análisis ($P < 0,05$). De acuerdo al Gráfico 2 se puede observar que el contenido de cenizas aumentó a medida que los niveles de té matcha aumentaron, siendo la muestra F3 la que mayor contenido de cenizas obtuvo (en promedio $2,13\% \pm 0,13$ durante los días de análisis), la cual fue la formulación que mayor adición de té

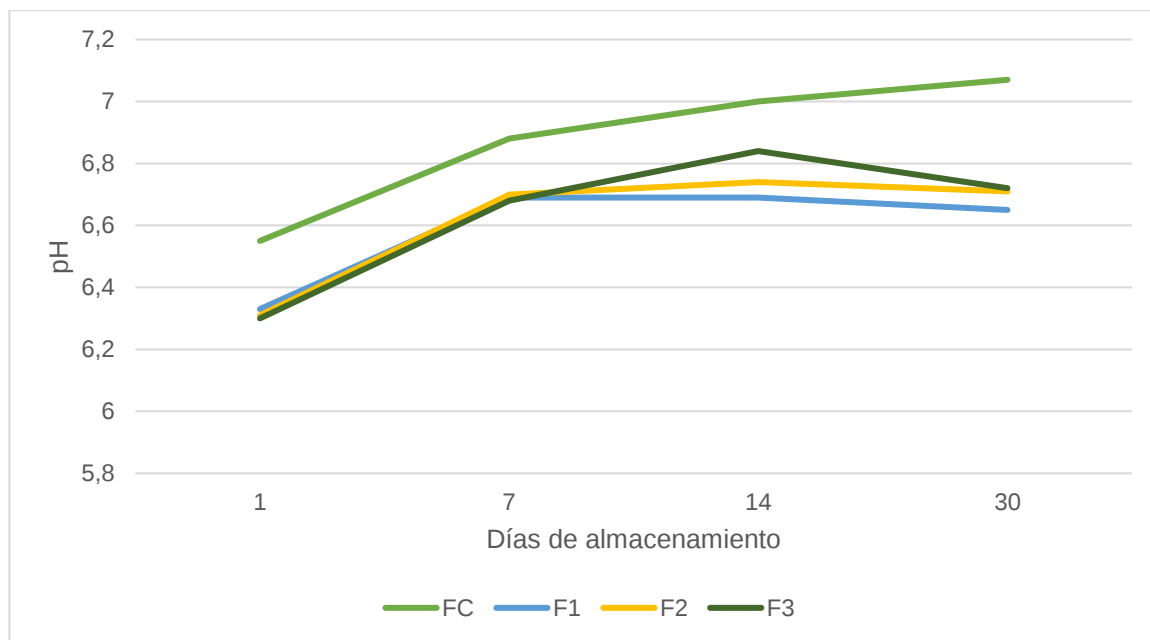
matcha tuvo (2,5%), seguida de la muestra F2 con 1,5% de adición de té matcha (en promedio $2\% \pm 0,07$ durante los días de análisis) y finalmente la muestra F1 con 0,5% de adición de té matcha (en promedio $1,89\% \pm 0,04$ durante los días de análisis).

Se obtuvieron resultados similares a los reportados por Aroyeun y Jayeola (2016), en donde el contenido total de cenizas del chocolate control fue de 2,43% y aumentó significativa y consistentemente desde 2,28% con una adición de té matcha del 10% hasta 2,55% con una adición de 50%.

5.1.3. pH

El pH nos indica que tan ácido o básico son las muestras de chocolate, cuanto más bajo sea el pH más acidez hay presente y cuanto mayor sea el pH, mayor será la alcalinidad presente. En la el Gráfico 3 se observa el pH que se obtuvo para las diferentes formulaciones durante los días de almacenamiento.

Gráfico 3. pH de las diferentes formulaciones durante el día 1, 7, 14 y 30 de almacenamiento.



Fuente: Elaboración propia.

En el Gráfico 3 se observa que el pH de todas las formulaciones aumento progresivamente en el transcurso de los 30 días de almacenamiento, en el caso de la muestra FC inicialmente tuvo un pH de $6,55 \pm 0,01$ y al finalizar $7,07 \pm 0,03$. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre el pH de FC del día 14 y del día 30. Por otro lado, el pH de la formulación control tiene diferencias estadísticamente significativas entre el valor de pH de las demás formulaciones (F1, F2 y F3) durante todos los días de análisis ($P < 0,05$).

Con respecto a las formulaciones elaboradas (F1, F2 y F3) para los días 1 y 7 no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los valores de pH de cada una de estas, siendo en promedio de $6,31 \pm 0,01$ para el día 1 y de $6,69 \pm 0,01$ para el día 7.

En cuanto al pH de la muestra F1 este inicialmente era de $6,33 \pm 0,02$ y al finalizar los 30 días de almacenamiento este fue de $6,65 \pm 0,02$. En la muestra F2 el pH inicial fue de $6,31 \pm 0,01$ y al finalizar obtuvo $6,71 \pm 0,01$, para la muestra F3 este pH paso de $6,30 \pm 0,01$ a $6,72 \pm 0,03$. El pH obtenido los días 14 y 30 en las formulaciones F1 y F2 no tuvo cambios estadísticamente significativos ($P < 0,05$).

El chocolate tiene un pH entre seis y siete, comparando se observa que las formulaciones se encuentran dentro de estos rangos (D, 2022). Estos rangos obtenidos favorecen un pH neutro que de hecho es el adecuado para el crecimiento de probióticos. En otros estudios se encontraron resultados similares a los obtenido en esta investigación, se puede mencionar el realizado por Islam *et al.*, (2022), en donde registraron al igual que en este estudio un pH relativamente más alto en el chocolate con leche de control en comparación con el probiótico en los días de almacenamiento.

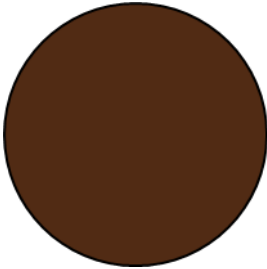
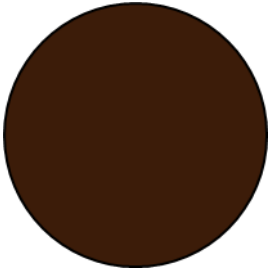
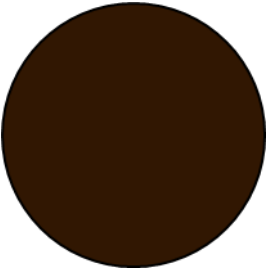
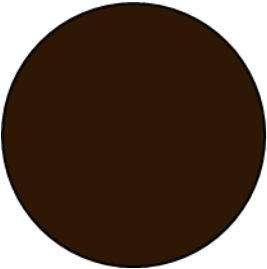
Esto está en línea con los hallazgos obtenidos por Nebesny *et al.*, (2004), quien observó que independientemente del ácido láctico fácilmente disponible en el yogur, la acidez del chocolate con leche que contiene yogur probiótico es mayor que la de sus homólogos sin yogur.

Igualmente se puede mencionar los resultados obtenidos por Cielecka Piontek *et al.*, (2020), en donde señaló que el pH de todas las muestras de snacks simbióticos (con probióticos y prebióticos) de chocolate amargo con contenido de frambuesa fue similar (entre 4,43 y 4,75) y aumentó después del período de almacenamiento.

5.1.4. Color

En la Tabla 20 se puede observar los colores que se presentaron en mayor proporción en el análisis de color para cada una de las formulaciones.

Tabla 20. Colores obtenidos en el análisis de color de la formulación control y las formulaciones elaboradas.

Formulación control (FC)	Formulación 1 (F1)	Formulación 2 (F2)	Formulación 3 (F3)
			

Fuente: Elaboración propia.

En la Tabla 21 se observan los resultados obtenidos en el análisis de color en la escala colorimétrica CIELAB, para cada uno de las formulaciones, en donde L*= luminosidad de negro a blanco, a*: coordenadas rojo/ verde (valores negativos indican verde mientras valores positivos indican rojo) y b*: coordenadas amarillo/ azul (valores negativos indican azul mientras valores positivos indican amarillo) (Gutiérrez Santander, 2021).

Tabla 21. Análisis de color de las diferentes formulaciones.

Formulación	Parámetros de color CIE L*a*b*		
	L*	a*	b*
FC	22,07 ± 0,50	15,23 ± 0,31	21,47 ± 0,63
F1	13,60 ± 0,90	13,70 ± 0,53	17,47 ± 0,61
F2	11,53 ± 1,35	13,43 ± 0,40	16,70 ± 1,50
F3	13,80 ± 0,36	10,33 ± 0,58	17,93 ± 0,75

Fuente: Elaboración propia.

El color, junto al característico aroma y sabor del chocolate, es uno de los atributos básicos que influyen en la calidad de los productos de chocolate. Estos parámetros dependen del tipo de chocolate. En el caso de esta investigación estuvo influenciado por factores como el contenido de licor de cacao, el contenido del edulcorante (maltitol), la presencia de té matcha, del *Lactobacillus rhamnosus*, así como la presencia de leche en polvo en los chocolates con leche.

Como puede verse en la Tabla 21, el tipo de chocolate afectó significativamente los parámetros de color CIE L*a*b* de los chocolates ($P < 0,05$). El brillo (L*) de la superficie de los chocolates elaborados (F1, F2 y F3) osciló entre $13,60 \pm 0,90$ y $11,53 \pm 1,35$, mientras que el enrojecimiento (a*) y el amarilleo (b*) fueron de $10,33 \pm 0,58$ a $13,70 \pm 0,53$ y de $16,70 \pm 1,50$ a $17,93 \pm 0,75$, respectivamente.

Los resultados sugirieron que el chocolate de control difería ($P < 0,05$) de los chocolates suplementados en cuanto a los valores de los parámetros L^* , a^* y b^* . En cuanto las formulaciones elaboradas los valores de L^* fueron inferiores ($13,60 \pm 0,90$ - $11,53 \pm 1,35$) en comparación con la formulación control ($22,07 \pm 0,50$). Además, se encontraron diferencias estadísticamente significativas para el valor de L^* entre la formulación F2 y F3. En el caso del valor de a^* no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre las muestras F1 y F2. Para el valor de b^* en los chocolates suplementados los resultados se mantuvieron más similares, es decir no se presentaron diferencias estadísticamente significativas ($P < 0,05$).

Resultados similares fueron presentados por Aroyeun y Jayeola (2016), en donde evidenciaron que el valor L^* se redujo significativamente del 10 % al 50 % de inclusión de polvo de té verde en el orden $> 10\% > 20\% > 30\% > 40\% > 50\%$ que representa 58,54%, 57,77%, 52,4%, 51,0% 48,9% y 42,32% en valores. Observaron una tendencia diferente en el valor a^* y para los valores b^* ninguna diferencia significativa.

Un valor L^* más bajo indica una oscuridad creciente y un valor b^* más bajo sugiere una amarillez decreciente. Estos resultados estuvieron de acuerdo con los obtenidos por McKay y Blumberg (2002), quien indicó que la adición de extracto de té verde al pan de soya aumentó la oscuridad de las migajas y el pan se desvaneció de amarillo brillante a marrón medio.

5.1.5. Perfil de fusión

Un aspecto fundamental de la calidad del chocolate es su correcto comportamiento de fusión, de forma que el producto sea sólido a temperatura ambiente y se funda cuando lo ingerimos por disolución oral en la saliva (Quiñones Muñoz *et al.*, 2011).

En la Tabla 22 se observa la temperatura de fusión que se obtuvo para cada una de las formulaciones.

Tabla 22. Temperatura de fusión de las diferentes formulaciones.

Formulaciones	Temperatura de fusión (°C)
FC	41 ± 1,00
F1	39,17 ± 0,29
F2	39,33 ± 0,58
F3	39,50 ± 0,50

Fuente: Elaboración propia.

De la Tabla 22 se puede observar que el perfil de fusión en las formulaciones elaboradas de chocolate con leche con sustitución parcial de la azúcar por maltitol y con adición de *Lactobacillus rhamnosus* GG presentaron menor temperatura (39,17 - 39,50 °C) de perfil de fusión que la formulación control (41°C), sin embargo, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas.

Esta ligera diferencia puede deberse a diferentes factores, por ejemplo, de cómo se llevó a cabo el proceso de elaboración del producto, ya que durante la fabricación de chocolate se determina el tamaño de partícula, la consistencia de la suspensión y la viscosidad, para producir calidades de textura y sensoriales específicas. También influye las materias primas empleadas y la cantidad, en particular la grasa y el contenido de lecitina influyen significativamente en las propiedades texturales y reológicas y en las características de fusión (Afoakwa *et al.*, 2008).

La composición de lípidos, además de ser importante para la viscosidad, es fundamental para el carácter sensorial, puesto que influye en las propiedades de sensación en la boca y de fusión. Los chocolates son sólidos a temperatura ambiente (20-25°C) y se funden en la boca (37°C) durante el consumo dando lugar a una suspensión uniforme de partículas sólidas dispersas en la manteca de cacao y la grasa de la leche (Palomo Calvo, 2016).

5.2. ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

5.2.1. Viabilidad del *Lactobacillus rhamnosus* GG antes y después de su adición al chocolate

En Tabla 23 se observan los resultados obtenidos del recuento del *Lactobacillus rhamnosus* GG en polvo y una vez adicionado a la muestra de chocolate.

Tabla 23. Viabilidad del *Lactobacillus rhamnosus* GG en polvo y del *Lactobacillus rhamnosus* GG adicionado en la muestra del chocolate.

Viabilidad	UFC/g
<i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG en polvo	1×10^9
<i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG en muestra de chocolate	$3,2 \times 10^7$

Fuente: Elaboración propia.

Como se observa en la Tabla 23, en el recuento del polvo del *Lactobacillus rhamnosus* se obtuvo 1×10^9 , mientras que en la formulación de chocolate los recuentos iniciales del *L. rhamnosus* GG fue de 1×10^7 UFC/g debido al efecto de la dilución. Este mismo resultado se compara con el obtenido por otros autores en estudios anteriores, en donde informaron una disminución en los recuentos de células inmediatamente después de la producción de chocolate (Erginkaya *et al.*, 2019; Laličić Petronijević *et al.*, 2017; Ozer *et al.*, 2022).

Por otra parte, investigaciones anteriores demostraron que el chocolate tiene propiedades protectoras para las bacterias probióticas debido a su fracción lipídica localizada en la manteca de cacao y a su alto contenido fenólico, el cual conlleva a la reducción del estrés oxidativo. De acuerdo a lo anterior, la estructura del chocolate puede representar un buen medio para transportar bacterias probióticas (Burgain *et al.*, 2011; Lahtinen *et al.*, 2007; Pedroso *et al.*, 2013; Yonejima *et al.*, 2015).

5.2.2. Calidad microbiológica de las muestras

En la Tabla 24, se muestran los límites máximos permitidos de contenido microbiano para barras de chocolate de acuerdo a la NTC 792 para que el chocolate se identifique como de buena calidad. Igualmente se encuentran los resultados obtenidos en el análisis microbiológico realizado con el fin de determinar la calidad de cada una de las formulaciones.

Tabla 24. Calidad microbiológica de las formulaciones

Requisitos	Índice máximo	Valor obtenido en las formulaciones			
		FC	F1	F2	F3
Bacterias aerobias mesófilas	20 000 UFC/g	300 UFC / g	300 UFC / g	330 UFC / g	1000 UFC / g
Coliformes	<10 UFC/g	Menor de 10 UFC / g	Menor de 10 UFC / g	Menor de 10 UFC / g	Menor de 10 UFC / g
<i>E. Coli</i> ,	<10 UFC/g	Menor de 10 UFC / g	Menor de 10 UFC / g	Menor de 10 UFC / g	Menor de 10 UFC / g
Mohos y levaduras	100 UFC/g	0 UFC / g	100 UFC / g	0 UFC / g	0 UFC / g
Salmonella	0 spp/50 g	Ausencia en 50 gramos	Ausencia en 50 gramos	Ausencia en 50 gramos	Ausencia en 50 gramos

Fuente: Elaboración propia.

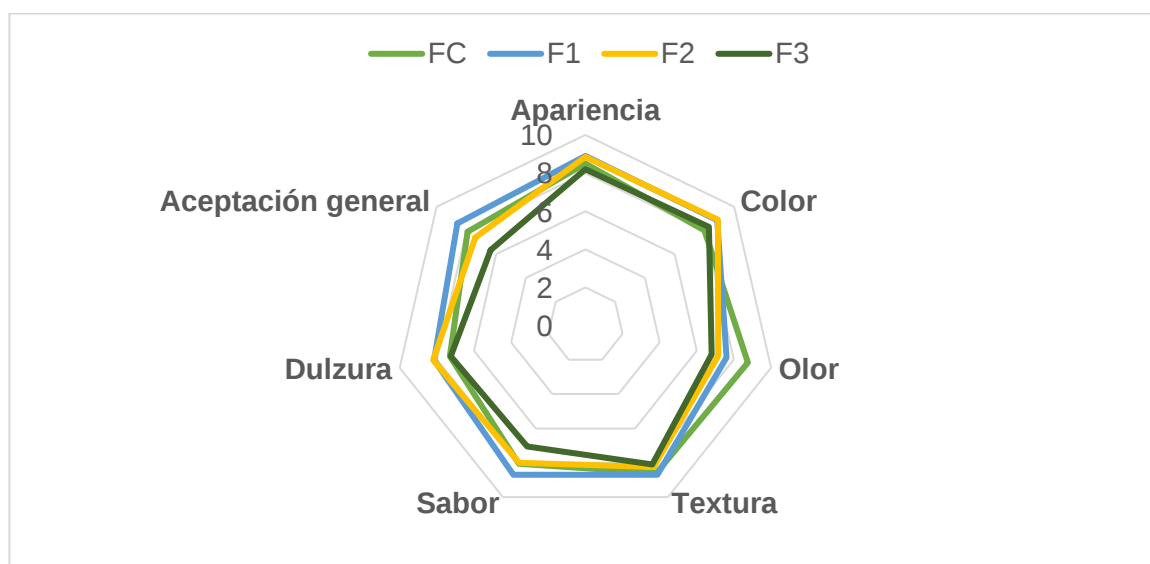
El análisis de la calidad microbiológica se llevó a cabo con el fin de garantizar muestras inocuas para el momento de realizar el análisis sensorial, de acuerdo a la Tabla 24 se observa que en ninguna de las muestras se encontró contaminación, es decir que no superaban el límite máximo indicado en la NTC 792, por lo cual las muestras se encontraron que eran inocuas y aptas para su consumo, y posteriores análisis sensoriales.

5.3. ANÁLISIS SENSORIAL

5.3.1. Prueba afectiva

Los resultados obtenidos en la prueba afectiva en los atributos de dulzura, apariencia, color, olor, textura, sabor y aceptación general, calificados por jueces consumidores en una escala de 1 a 9 se observan en el Gráfico 4.

Gráfico 4. Gráfico de radar con los resultados de la prueba afectiva.



Fuente: Elaboración propia.

La calificación más alta se caracterizó por la muestra de chocolate F1 (con sustitución parcial de la azúcar por maltitol y con adición de *Lactobacillus rhamnosus* GG y té matcha al 0,5%), siendo la mejor calificada en apariencia ($8,90 \pm 0,31$), textura ($8,70 \pm 0,47$), sabor ($8,70 \pm 0,47$) y aceptación general ($8,60 \pm 0,68$), lo cual indica que “les gustó muchísimo” estos atributos. Mientras que la muestra F3 fue la

que menor calificación obtuvo en apariencia ($8,20 \pm 0,41$), olor ($6,80 \pm 1,5$), textura ($8,10 \pm 0,55$), sabor ($7,05 \pm 0,51$), dulzura ($7,25 \pm 0,97$) y aceptación general ($6,35 \pm 0,75$), presentando diferencias estadísticamente significativas entre las demás muestras en los atributos de sabor y aceptación general ($P < 0,05$). Para el atributo de sabor podemos observar en el Gráfico 4 como disminuye la puntuación a medida que aumentó la concentración de té matcha en las muestras $F1 < F2 < F3$, presentándose diferencias estadísticamente significativas entre ellas ($P < 0,05$).

Los resultados obtenidos se asemejan a los presentados Gramza Michałowska *et al.*, (2021) en donde en la evaluación sensorial que realizaron, obtuvieron la calificación más alta en el chocolate con 0,2% de adición de extracto de té amarillo (la menor concentración), mientras que la más baja con 2,0% (m/m) (la concentración más alta).

De manera similar, Gültekin Özgüven *et al.*, (2020) obtuvieron que para el atributo de sabor aceptable del matcha, hubo una diferencia significativa entre los chocolates con 2 % de matcha y los chocolates con 3 % y 4 % de matcha. Indicaron que la adición máxima de 3 % de matcha era aceptable para el consumidor, pero agregar más de 3 % de matcha en los chocolates oscuros reduce la aceptabilidad del consumidor.

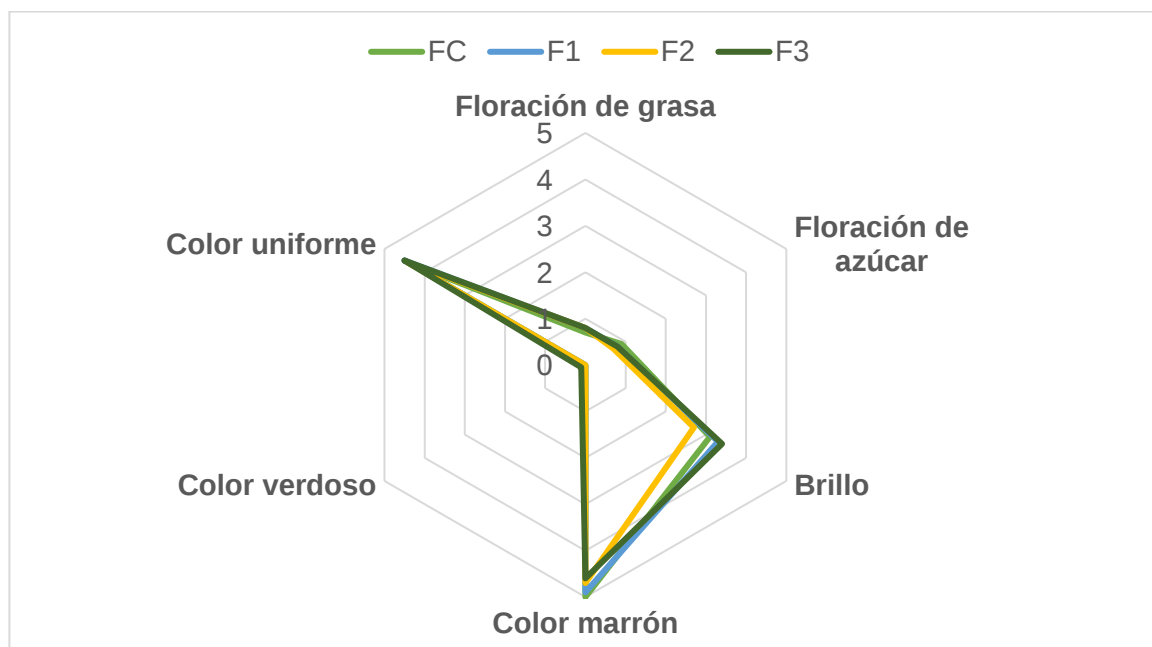
Así mismo, Aroyeun y Jayeola, (2016) mencionaron que, con el aumento de los niveles de té verde en la formulación, las puntuaciones sensoriales de color, sabor, dulzura, sabor y aceptabilidad general del chocolate disminuyeron drásticamente. La sustitución de las semillas de cacao por polvos de té verde hasta en un 20-50 % perjudicó el sabor del chocolate. Las muestras de control obtuvieron las puntuaciones más altas de 7,68 en sabor, que disminuyó significativamente de 7,45 a 4,10 debido al sabor amargo del té verde.

5.3.2. Prueba descriptiva

5.3.2.1. Apariencia

En el Gráfico 5 se observan los resultados obtenidos en la prueba descriptiva para los atributos de apariencia para cada una de las formulaciones (FC, F1, F2 y F3).

Gráfico 5. Gráfico de radar con los resultados de la prueba descriptiva para los atributos de apariencia.



Fuente: Elaboración propia.

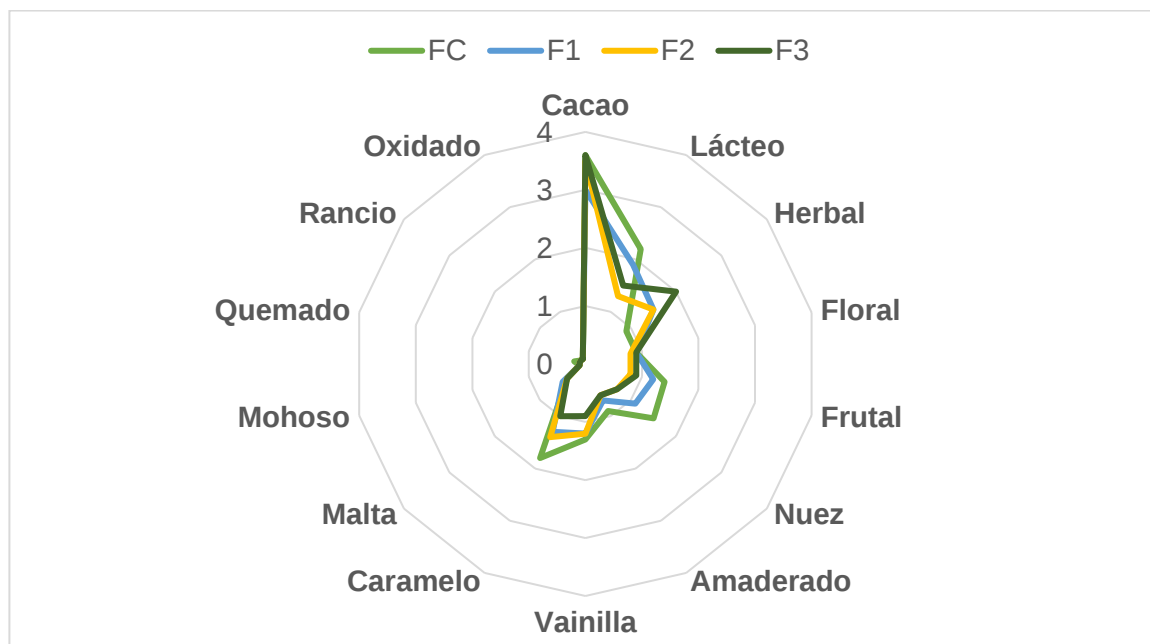
De acuerdo a los resultados se observa que, para los atributos de floración de grasa y floración de azúcar, se encontró que este era casi imperceptible para todas las formulaciones. Para todas las formulaciones se obtuvo que el atributo de brillo era

moderadamente perceptible, en el atributo de color marrón (característico del chocolate) fue extremadamente perceptible y no hubo presencia del color verdoso en ninguna de las formulaciones. Las muestras FC y F2 presentaron un color altamente uniforme, y las muestras F1 y F3 presentaron un color extremadamente uniforme. Además, no se encontró diferencia estadísticamente significativa entre las muestras ($P > 0,05$).

5.3.2.2. Olor

En el Gráfico 6 se observan los resultados obtenidos en la prueba descriptiva para los atributos de olor para cada una de las formulaciones (FC, F1, F2 y F3).

Gráfico 6. Gráfico de radar con los resultados de la prueba descriptiva para los atributos de olor.



Fuente: Elaboración propia.

Los resultados muestran que no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre las muestras en ninguno de los atributos de olor ($P > 0,05$). Observándose que en las muestras F1 el olor a cacao era moderadamente perceptible y en las muestras FC, F2 y F3 altamente perceptible. Por otro lado, el olor a lácteo en las muestras FC, F1 y F3 era ligeramente perceptible, y en F2 casi imperceptible.

El olor herbal en la muestra FC era casi imperceptible, mientras que para las muestras F1, F2 y F3 era ligeramente perceptible. En el olor a nuez y a caramelo se obtuvo que para las muestras F1, F2 y F3 este era casi imperceptible, en cuanto a la muestra FC este era ligeramente perceptible.

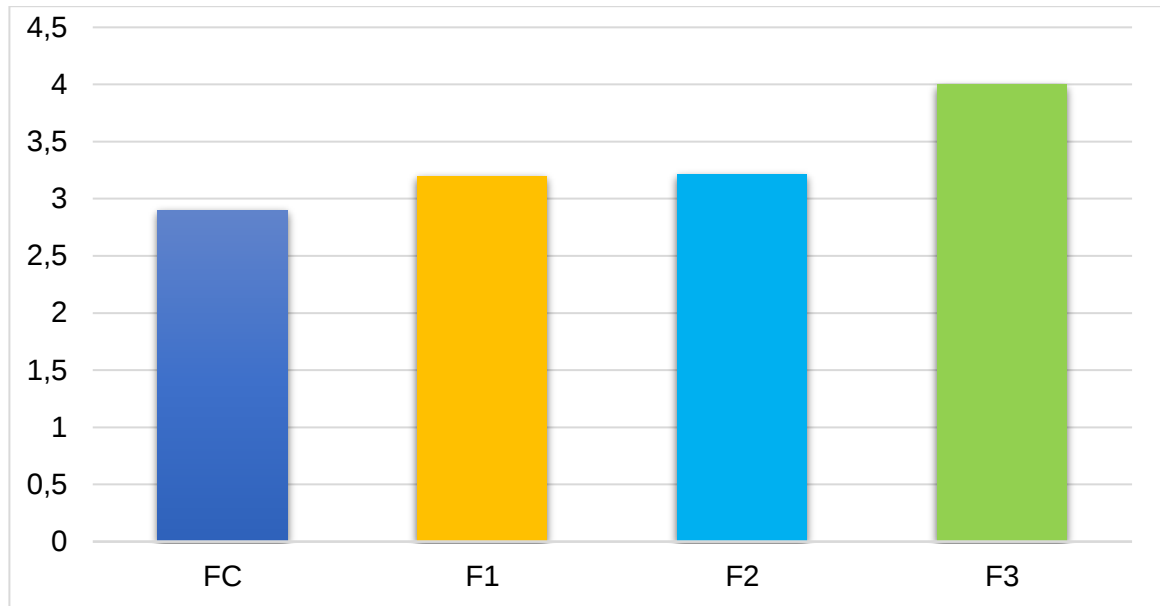
Por otra parte, el olor a malta en las muestras FC, F2 y F3 no estaba presente, y en la muestra F1 era casi imperceptible. En el caso de los olores floral, frutal, amaderado, vainilla se obtuvo que para todas las muestras era casi imperceptible. Por otro lado, había ausencia total de olores a mohoso, quemado, rancio y oxidado en todas las muestras.

5.3.2.3. Sonido

En el Gráfico 7 se observan los resultados obtenidos en la prueba descriptiva para el atributo de sonido crujiente para cada una de las formulaciones (FC, F1, F2 y F3).

En el atributo de crujidez para las muestras se observa que fue mayor en la formulación 3 ($3,70 \pm 1,34$) y menor en la formulación control ($2,90 \pm 1,37$), indicando que el sonido crujiente en las muestras estuvo entre ligera y moderadamente perceptible. Sin embargo, no se observaron diferencias estadísticamente significativas ($P > 0,05$).

Gráfico 7. Gráfico de columnas con los resultados de la prueba descriptiva para el atributo de sonido crujiente.



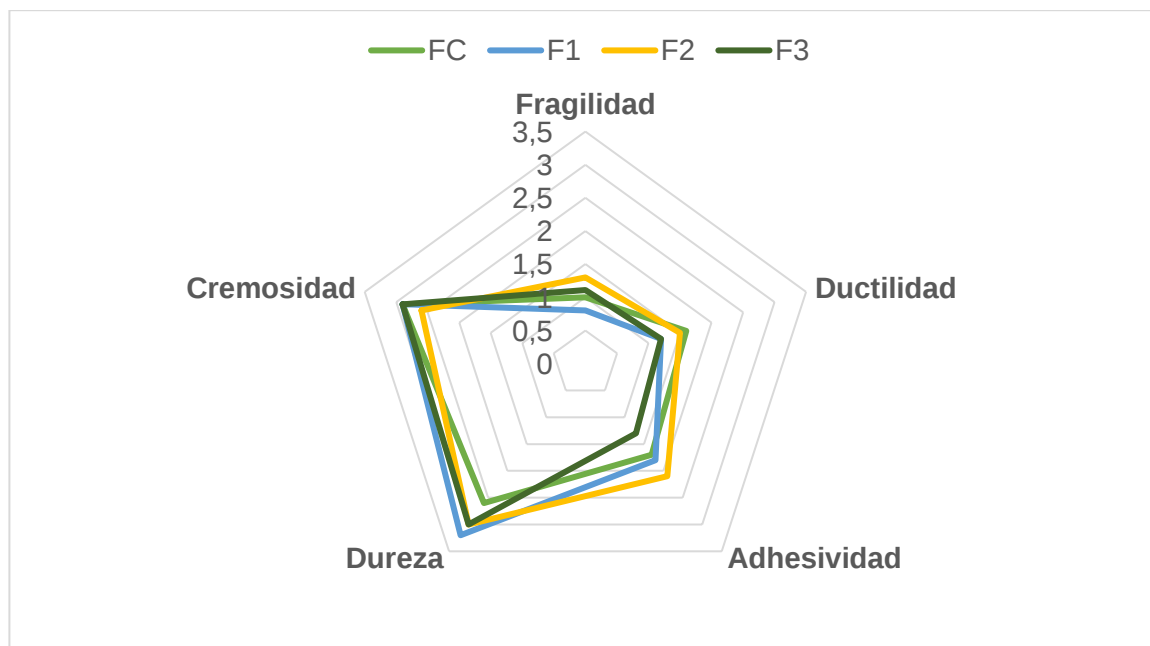
Fuente: Elaboración propia.

5.3.2.4. Textura

En el Gráfico 8 se observan los resultados obtenidos en la prueba descriptiva para los atributos de textura para cada una de las formulaciones (FC, F1, F2 y F3).

Para el atributo de fragilidad se obtuvo que para todas las muestras este fue casi imperceptible. Para los atributos de dureza y cremosidad en todas las muestras de chocolate fueron moderadamente perceptibles. Por otro lado, en la ductilidad en la muestra F2 y F3 fue casi imperceptible, y en FC y F2 fue ligeramente perceptible. No obstante, no se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas ($P > 0,05$).

Gráfico 8. Gráfico de radar con los resultados de la prueba descriptiva para los atributos de textura.



Fuente: Elaboración propia.

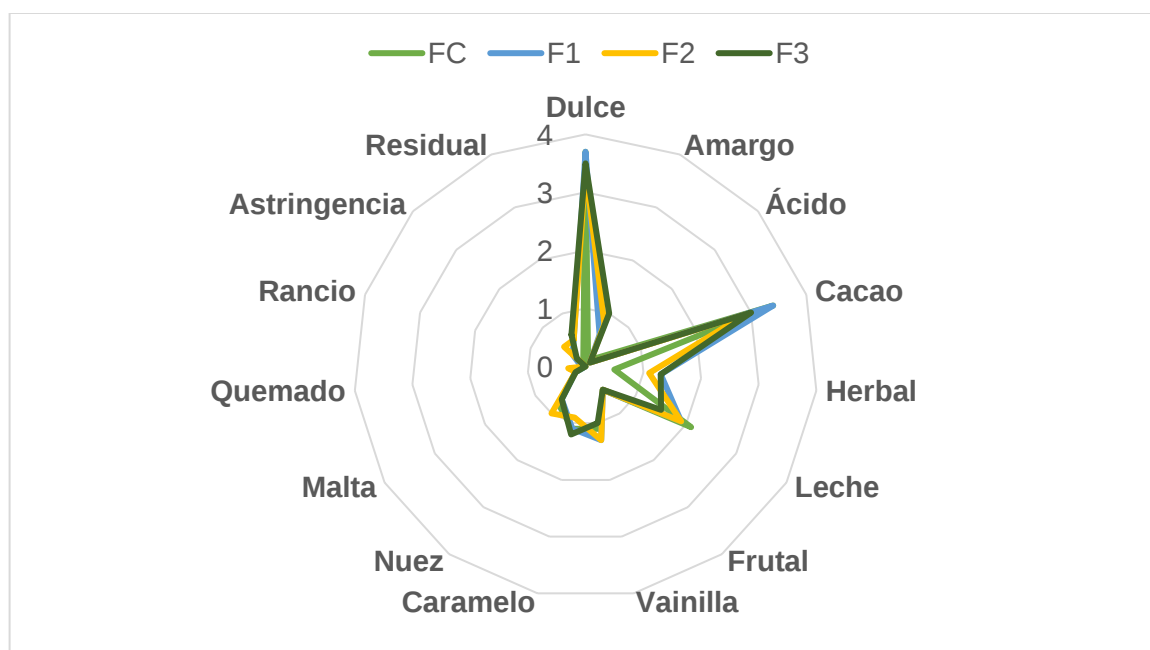
5.3.2.5. Sabor

En el Gráfico 9 se observan los resultados obtenidos en la prueba descriptiva para los atributos de sabor para cada una de las formulaciones (FC, F1, F2 y F3).

Para los atributos de sabor de acuerdo al Gráfico 9 se observa que los sabores más perceptibles en las muestras fueron el sabor dulce, con un valor máximo de 3,7 para la muestra FC y F1, indicando que este era altamente perceptible. Seguido del sabor a cacao con un valor máximo de 3,4 igualmente para la muestra FC y F1, indicando que era moderadamente perceptible. Finalmente, el sabor a leche con un valor de 2,1 para la muestra FC, indicando que era ligeramente perceptible. Para los demás atributos de sabor se obtuvo que para todas las muestras que eran casi

imperceptibles o que había ausencia total de estos. Del análisis ANOVA se obtuvo que no había diferencias estadísticamente significativas entre las muestras en el atributo de sabor ($P > 0,05$).

Gráfico 9. Gráfico de radar con los resultados de la prueba descriptiva para los atributos de sabor.



Fuente: Elaboración propia.

5.4. ELABORACIÓN DE LA TABLA NUTRICIONAL

En la Tabla 25 se observa la tabla nutricional que se realizó para el producto elaborado, teniendo en cuenta la formulación con mayor aceptación (F1), la cual era una barra de chocolate con sustitución parcial de la azúcar por maltitol y con adición de *Lactobacillus rhamnosus* GG y té matcha al 0,5%.

Tabla 25. Información nutricional del producto elaborado.

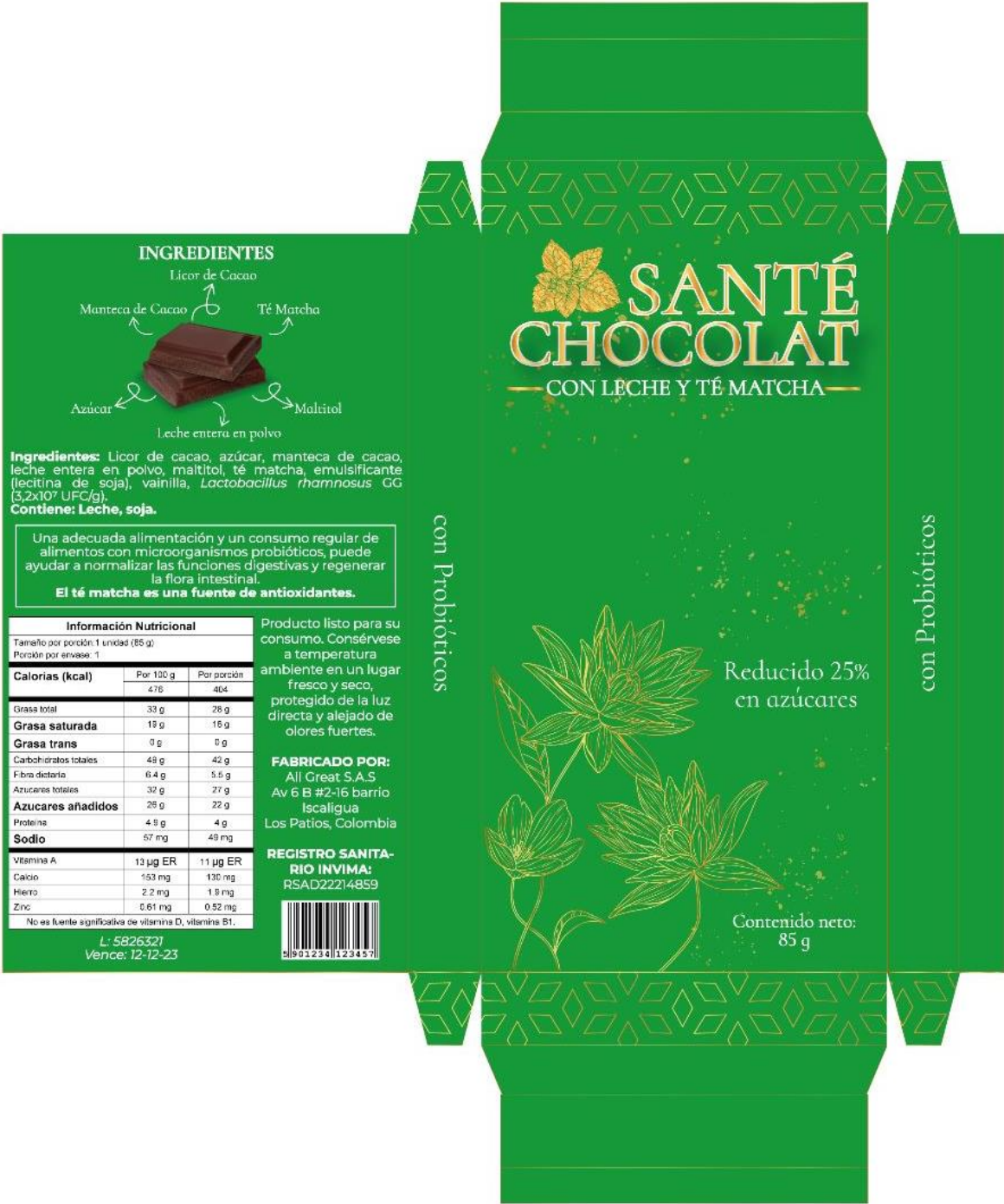
Información Nutricional		
Tamaño por porción: 1 unidad (85 g)		
Porción por envase: 1		
Calorías (kcal)	Por 100 g	Por porción
	476	404
Grasa total	33 g	28 g
Grasa saturada	19 g	16 g
Grasa trans	0 g	0 g
Carbohidratos totales	49 g	42 g
Fibra dietaria	6.4 g	5.5 g
Azúcares totales	32 g	27 g
Azúcares añadidos	26 g	22 g
Proteína	4.9 g	4 g
Sodio	57 mg	49 mg
Vitamina A	13 µg ER	11 µg ER
Calcio	153 mg	130 mg
Hierro	2.2 mg	1.9 mg
Zinc	0.61 mg	0.52 mg
No es fuente significativa de vitamina D, vitamina B1.		

Fuente: Elaboración propia.

5.5. ELABORACIÓN DE LA ETIQUETA

En la Figura 21 se observa la etiqueta que se realizó para el producto elaborado, teniendo en cuenta la formulación con mayor aceptación (F1), la cual era una barra de chocolate con sustitución parcial de la azúcar por maltitol y con adición de *Lactobacillus rhamnosus* GG y té matcha al 0,5%.

Figura 21. Etiqueta del producto elaborado.



Fuente: Elaboración propia.

5.6. ELABORACIÓN DE LA FICHA TÉCNICA

En la Figura 22 se observa la ficha técnica del producto elaborado con la mayor aceptación (F1), teniendo en cuenta los lineamientos descritos por el INVIMA.

Figura 22. Ficha técnica del producto elaborado.

	ASEGURAMIENTO SANITARIO		REGISTROS SANITARIOS Y TRAMITES ASOCIADOS
	FORMATO ÚNICO DE ALIMENTOS REGISTROS SANITARIOS o PERMISO SANITARIO o NOTIFICACIÓN SANITARIA Y TRAMITES ASOCIADOS (Resolución 2674 de 2013, Resolución 3168 de 2015)		
	Código: ASS-RSA-FM099	Versión: 01	Fecha de emisión: 14/11/2022

FICHA TECNICA DEL PRODUCTO
A. NOMBRE DEL PRODUCTO:
Santé Chocolat (Barra de chocolate con leche con adición de té matcha y <i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG).
B. COMPOSICION DEL PRODUCTO EN ORDEN DECRECIENTE:
Ver numeral (7) del Instructivo de Trámites, tenga en cuenta informar el DMU (Dosis Máxima de Uso) de los aditivos alimentarios si el producto los contiene.
Ingredientes: Licor de cacao, azúcar, manteca de cacao, leche entera en polvo, maltitol, té matcha, emulsificante (lecitina de soja), vainilla, sal, <i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG (3,2x10 ⁷ UFC/g). Contiene leche, soja.
C. PRESENTACIONES COMERCIALES:
Barras de 85 g para consumo directo.
D. TIPO DE ENVASE:
Caja de cartón conteniendo el producto envuelto en aluminio.

E. MATERIAL DE ENVASE:	
Papel de aluminio en la parte exterior y en la parte posterior interior encerado.	
F. CONDICIONES DE CONSERVACION:	
Manténgase en un lugar limpio, seco y consérvese en temperatura de refrigeración de 0 a 4°C, si es prolongado. También almacenar a temperatura ambiente si este no supera los 25°C.	
G. TIPO DE TRATAMIENTO (PROCESO DE ELABORACION):	
<pre> graph TD A[MEZCLADO] --> B[REFINADO / CONCHADO] B --> C[ATEMPERADO] C --> D[ADICIÓN DEL TÉ MATCHA] D --> E[ADICIÓN PROBIÓTICO] E --> F[MOLDEADO] F --> G[EMPACADO] G --> H[ALMACENAMIENTO] </pre> Ingredients for MEZCLADO: Licor de cacao, Manteca de cacao, Azúcar, Leche en polvo, Maltitol, Vainilla, Lecitina de soja. Conditions for REFINADO / CONCHADO: 50-60°C, 72 horas. Conditions for ATEMPERADO: Fundido: 40-45°C, Enfriado: 27-29°C, Atemperado: 30-31°C. Conditions for ADICIÓN DEL TÉ MATCHA: Mezclado durante 10 min. Probiotic: <i>Lactobacillus rhamnosus GG</i>. Conditions for MOLDEADO: Moldes de policarbonato. Conditions for EMPACADO: Papel aluminio-encerado. Conditions for ALMACENAMIENTO: A 25°C.	
H. VIDA UTIL ESTIMADA:	
Consumir preferentemente antes de 12 meses después de su fabricación.	
I. PORCION RECOMENDADA:	
85 g.	
J. GRUPO POBLACIONAL:	
Toda la población en general, excepto alérgicos a la soja y lactosa.	

I. FIRMA DE FICHA TÉCNICA ver numeral (27) del Instructivo de trámites			
Firma del responsable del producto:		Jefe de producción	
Nombre responsable del producto	del	Lissen Stehicy Garcia Osorio	Firma: Lissen Garcia
* Declaro que conozco y acato los reglamentos sanitarios vigentes que regulan las condiciones sanitarias de las fábricas de alimentos y del producto para el cual se solicitó el registro / permiso /notificación sanitaria.			

Fuente: Elaboración propia.

6. CONCLUSIONES

- Se logró elaborar las formulaciones de una barra de chocolate con leche reducida 25% en azúcares (debió a la sustitución parcial de la azúcar por maltitol) con adición de *Lactobacillus rhamnosus* GG (LGG) y de té de matcha a diferentes concentraciones (F1=0,5%, F2=1,5% y F3=2,5%).
- En las pruebas fisicoquímicas se observó que en el análisis de humedad en el día 1 la muestra con mayor contenido de humedad fue FC (3,20%), mientras que la de menor contenido fue F3 (2,58%). Sin embargo, para el día 30 de análisis el porcentaje de humedad más alto se presentó en F2 (4,76%) y el menor en F3 (2,18 %). En el caso, del contenido de cenizas en las formulaciones, se encontró que había diferencias estadísticamente significativas entre el contenido de cenizas de las formulaciones elaboradas (F1, F2 y F3) y la formulación control durante todos los días de almacenamiento ($P < 0,05$), y que este contenido de cenizas se mantuvo significativamente igual durante los días de análisis para las formulaciones elaboradas. En los valores de pH en las formulaciones se observó que este tuvo una tendencia a aumentar durante el almacenamiento en todas las formulaciones, siendo mayor en la formulación control (inicialmente de $6,55 \pm 0,01$ y al finalizar $7,07 \pm 0,03$). En el análisis de color en la escala en la escala colorimétrica CIELAB, los resultados indicaron que el chocolate de control difería ($P < 0,05$) de los chocolates suplementados en cuanto a los valores de los parámetros L^* , a^* y b^* . En el perfil de fusión no se encontraron diferencias estadísticamente significativas, encontrándose en un rango de $39,17 - 41^{\circ}\text{C}$.
- En el análisis microbiológico se obtuvo que la cantidad de células viables de *Lactobacillus rhamnosus* GG (1×10^9 UFC/g) disminuyó al ser adicionado al

chocolate ($3,2 \times 10^7$ UFC/g). Por otro lado, en el análisis de la calidad microbiológica en cada una de las formulaciones, se encontró que todas eran aptas para el consumo.

- En el análisis sensorial, en la prueba afectiva se obtuvo que la formulación 1 (que tenía una adición de 0,5% de té matcha) fue la muestra con mayor aceptación ($8,60 \pm 0,68$), por lo cual fue la formulación que se empleó para el análisis microbiológico de la viabilidad del *Lactobacillus rhamnosus* GG y además para la elaboración de la tabla nutricional, la etiqueta y la ficha técnica. En la valoración del perfil descriptivo para cada una de las formulaciones, en los resultados no se presentaron diferencias estadísticamente significativas para cada uno de los atributos evaluados ($P < 0,05$), obteniéndose que en general todas las formulaciones presentaban un brillo moderado, extremadamente perceptible el color marrón (característico del chocolate), un color altamente uniforme, un olor a cacao entre moderada y altamente perceptible, un ligero olor a lácteo, un ligero olor a herbal en las muestras suplementadas con té matcha (F1, F2, F3), un ligero olor a nuez y a caramelo en FC. El sonido crujiente en las muestras estuvo entre ligera y moderadamente perceptible, la dureza y cremosidad moderadamente perceptibles. Adicionalmente los sabores más perceptibles fueron el sabor dulce, a cacao y a lácteo.
- Se logró construir el rotulado y etiquetado nutricional para la formulación 1 bajo la Resolución 810 de 2021 y Resolución 5109 de 2005, y la ficha técnica según lo establecido por el Invima.

7. RECOMENDACIONES

- Evaluar la viabilidad del *Lactobacillus rhamnosus* GG en las muestras de chocolate a temperatura de refrigeración (4°C), y observar si se presentan cambios en la cantidad de células probióticas viables.
- Evaluar la viabilidad del *Lactobacillus rhamnosus* GG durante el almacenamiento.
- Evaluar la tasa de supervivencia del *Lactobacillus rhamnosus* GG en un tracto gastrointestinal in vitro simulado.
- Emplear métodos de encapsulación para el *Lactobacillus rhamnosus* GG, para mantener la viabilidad y la funcionalidad del probiótico en el sistema intestinal, con el fin de proporcionar la preservación de las células y la viabilidad a largo plazo de los microorganismos vivos.
- Evaluar la contribución del té matcha en polvo a las propiedades antioxidantes de las diferentes formulaciones y comparar los resultados con las propiedades antioxidantes de un chocolate con leche regular.

8. REFERENTES BIBLIOGRÁFICOS

- Afoakwa, E. O. (2010). Industrial Chocolate Manufacture- Processes and Factors Influencing Quality. *Chocolate Science and Technology*, 35-57. <https://doi.org/10.1002/9781444319880.CH3>
- Alvarado, M., y Duville, K. (2020). *Guía técnica para la elaboración de chocolate*.
- Amulyn. (s. f.). *Probióticos en polvo Lactobacillus Rhamnosus*. Recuperado 5 de octubre de 2022, a partir de <https://es.amulyn-bio.com/probiotics-powder-1759745/>
- Angiolillo, L., del Nobile, M. A., y Conte, A. (2015). The extraction of bioactive compounds from food residues using microwaves. *Current Opinion in Food Science*, 5, 93-98. <https://doi.org/10.1016/J.COFS.2015.10.001>
- Aravena, V. (2020). *Leche en polvo: ¿Cuál es la mejor del 2022?* <https://www.reviewbox.com.mx/leche-en-polvo/>
- Aroyeun, S., y Jayeola, C. (2016). Effects of Green Tea Extracts on the Caffeine, Tannin, Total Polyphenolic Contents and Organoleptic Properties of Milk Chocolate. *Journal of Food Processing y Technology*, 07(04). <https://doi.org/10.4172/2157-7110.1000579>
- Association of Official Analytical Chemists [AOAC]. (1990). Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists. En *Official Methods of Analysis* (15th ed., 1990.). The Association.
- Basu, S., y Singha, S. (2022). Influence of sugar substitutes in rheology of fruit gel. *Advances in Food Rheology and Its Applications*, 385-411. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-823983-4.00017-0>

- Beckett, S. (2009). Chocolate manufacture. *Science and Technology of Enrobed and Filled Chocolate, Confectionery and Bakery Products*, 11-28. <https://doi.org/10.1533/9781845696436.1.11>
- BeMiller, J. N. (2019). Carbohydrate and Noncarbohydrate Sweeteners. *Carbohydrate Chemistry for Food Scientists*, 371-399. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-812069-9.00019-4>
- Bolenz, S., y Glöde, L. (2021). Technological and nutritional aspects of milk chocolate enriched with grape pomace products. *European Food Research and Technology*, 247(3), 623-636. <https://doi.org/10.1007/S00217-020-03651-4>
- Bravo, J. A., Forsythe, P., Chew, M. v., Escaravage, E., Savignac, H. M., Dinan, T. G., Bienenstock, J., y Cryan, J. F. (2011). Ingestion of Lactobacillus strain regulates emotional behavior and central GABA receptor expression in a mouse via the vagus nerve. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 108(38), 16050-16055. https://doi.org/10.1073/PNAS.1102999108/SUPPL_FILE/PNAS.201102999SI.PDF
- Burgain, J., Gaiani, C., Linder, M., y Scher, J. (2011). Encapsulation of probiotic living cells: From laboratory scale to industrial applications. *Journal of Food Engineering*, 104(4), 467-483. <https://doi.org/10.1016/J.JFOODENG.2010.12.031>
- Cárdenas Mazón, N., Cevallos Hermida, C., Salazar Yacelga, J., Romero Machado, E., Gallegos Murillo, P., y Cáceres Mena, M. (2018). *Uso de pruebas afectivas, discriminatorias y descriptivas de evaluación sensorial en el campo*.
- Champagne, C. P., Raymond, Y., Guertin, N., y Bélanger, G. (2015). Effects of storage conditions, microencapsulation and inclusion in chocolate particles on

- the stability of probiotic bacteria in ice cream. *International Dairy Journal*, 47, 109-117. <https://doi.org/10.1016/J.IDAIRYJ.2015.03.003>
- Chavarrías, M. (2019). *Leche en polvo: ¿cuál es su uso como aditivo?* https://www.eldiario.es/consumoclaro/comer/anade-leche-polvo-lacteos_1_1306060.html
- Chocograin. (s. f.). *Análisis sensorial aplicado al chocolate*. Recuperado 30 de septiembre de 2022, a partir de <https://chocograin.es/catas-analisis-sensorial-aplicado-al-chocolate/>
- Cielecka Piontek, J., Dziedziński, M., Szczepaniak, O., Kobus Cisowska, J., Telichowska, A., y Szymanowska, D. (2020). Survival of commercial probiotic strains and their effect on dark chocolate synbiotic snack with raspberry content during the storage and after simulated digestion. *Electronic Journal of Biotechnology*, 48, 62-71. <https://doi.org/10.1016/J.EJBT.2020.09.005>
- Cienfuegos Jovellanos, E., del Mar Quiñones, M., Muguerza, B., Moulay, L., Miguel, M., y Aleixandre, A. (2009). Antihypertensive Effect of a Polyphenol-Rich Cocoa Powder Industrially Processed To Preserve the Original Flavonoids of the Cocoa Beans. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(14), 6156-6162. <https://doi.org/10.1021/JF804045B>
- Codex Alimentarius. (2016). *Norma para el chocolate y los productos del chocolate*.
- Colombo, M., Castilho, N. P. A., Todorov, S. D., y Nero, L. A. (2018). Beneficial properties of lactic acid bacteria naturally present in dairy production 06 Biological Sciences 0605 Microbiology. *BMC Microbiology*, 18(1), 1-12. <https://doi.org/10.1186/S12866-018-1356-8/TABLES/3>
- Coman, M. M., Cecchini, C., Verdenelli, M. C., Silvi, S., Orpianesi, C., y Cresci, A. (2012). Functional foods as carriers for SYN BIO®, a probiotic bacteria

combination. *International Journal of Food Microbiology*, 157(3), 346-352.
<https://doi.org/10.1016/J.IJFOODMICRO.2012.06.003>

Conservas Dani. (2018). *Ficha técnica vainilla*.
<https://www.dani.es/sites/default/files/2019-01/Vainilla%20rama.pdf>

Curry, B., y Crow, V. (2002). LACTOBACILLUS spp. | General Characteristics. *Encyclopedia of Dairy Sciences*, 1479-1484. <https://doi.org/10.1016/B0-12-227235-8/00238-8>

D, C. (2022). *¿El chocolate es ácido o alcalino?* <https://trishdeseine.com/is-chocolate-acid-or-alkaline/>

da Silva Medeiros, N., Marder, R. K., Farias Wohlenberg, M., Funchal, C., y Dani, C. (2015). Total Phenolic Content and Antioxidant Activity of Different Types of Chocolate, Milk, Semisweet, Dark, and Soy, in Cerebral Cortex, Hippocampus, and Cerebellum of Wistar Rats. *Biochemistry Research International*, 2015. <https://doi.org/10.1155/2015/294659>

de Angelis, M., y Gobbetti, M. (2016). Lactobacillus SPP.: General Characteristics. *Reference Module in Food Science*. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100596-5.00851-9>

Dean, L. L., Klevorn, C. M., y Hess, B. J. (2016). Minimizing the Negative Flavor Attributes and Evaluating Consumer Acceptance of Chocolate Fortified with Peanut Skin Extracts. *Journal of Food Science*, 81(11), S2824-S2830. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.13533/FULL>

Devkota, H. P., Gaire, B. P., Hori, K., Subedi, L., Adhikari-Devkota, A., Belwal, T., Paudel, K. R., Jha, N. K., Singh, S. K., Chellappan, D. K., Hansbro, P. M., Dua, K., y Kurauchi, Y. (2021). The science of matcha: Bioactive compounds,

analytical techniques and biological properties. *Trends in Food Science y Technology*, 118, 735-743. <https://doi.org/10.1016/J.TIFS.2021.10.021>

Donato Capel, L., Garcia Rodenas, C. L., Pouteau, E., Lehmann, U., Srichuwong, S., Erkner, A., Kolodziejczyk, E., Hughes, E., Wooster, T. J., y Sagalowicz, L. (2014). Technological Means to Modulate Food Digestion and Physiological Response. *Food Structures, Digestion and Health*, 389-422. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-404610-8.00014-1>

el cocinero. (s. f.). *Leche en polvo como ingrediente*. Recuperado 5 de octubre de 2022, a partir de <https://www.elcocinero.com/ingrediente/leche-en-polvo>

Ellis, E. (2022). *Alimentos funcionales*. <https://www.eatright.org/food/nutrition/healthy-eating/functional-foods>

Emmadi, P., Krishna, P., Namasi, A., y Nugala, B. (2012). Role of green tea as an antioxidant in periodontal disease: The Asian paradox. *Journal of Indian Society of Periodontology*, 16(3), 313. <https://doi.org/10.4103/0972-124X.100902>

Empresas Iansa. (s. f.). *Azúcar Consciente: ¿Qué es azúcar?* Recuperado 5 de octubre de 2022, a partir de <https://empresasiansa.cl/azucar-consciente/que-es-azucar/>

Erginkaya, Z., Sarıkodal, E., Tülin Özkütük, S., Konuray, G., Ünal Turhan, E., Üniversitesi, Ç., Fakültesi, Z., Mühendisliği Bölümü, G., Korkut Ata Üniversitesi, O., Uygulamalı Bilimler Yüksekokulu, K., Teknolojisi Bölümü, G., y Geliş, T. (2019). *Probiyotik bitter çikolata üretiminde mikrokapsüle Lactobacillus Rhamnosus kullanımı*. 44(2), 238-247. <https://doi.org/10.15237/gida.GD19021>

Escudero, E. (2020). *Lecitina de soya: el emulsionante versátil*. <https://thefoodtech.com/nutricion-y-salud/lecitina-de-soya-el-emulsionante-versatil/>

- Faccinetto Beltrán, P., Gómez Fernández, A. R., Orozco Sánchez, N. E., Pérez Carrillo, E., Marín Obispo, L. M., Hernández Brenes, C., Santacruz, A., y Jacobo Velázquez, D. A. (2021). Physicochemical Properties and Sensory Acceptability of a Next-Generation Functional Chocolate Added with Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acids and Probiotics. *Foods* 2021, Vol. 10, Page 333, 10(2), 333. <https://doi.org/10.3390/FOODS10020333>
- Fatimah Ibrahim, S., Ezzati Dalek, N. M., Firdaus Raffie, Q. M., y Faridatul Ain, M. (2020). *Quantification of physicochemical and microstructure properties of dark chocolate incorporated with palm sugar and dates as alternative sweetener*. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2020.06.235>
- Fernández Romero, E., Chavez Quintana, S. G., Siche, R., Castro Alayo, E. M., y Cardenas Toro, F. P. (2020). The Kinetics of Total Phenolic Content and Monomeric Flavan-3-ols during the Roasting Process of Criollo Cocoa. *Antioxidants* 2020, Vol. 9, Page 146, 9(2), 146. <https://doi.org/10.3390/ANTIOX9020146>
- Firmanto, H. (2018). Cocoa Butter Characteristic on Different Roasting Temperature and Its Final Sensory Profiles. *Pelita Perkebunan (a Coffee and Cocoa Research Journal)*, 34(3), 175-182. <https://doi.org/10.22302/ICCRI.JUR.PELITAPERKEBUNAN.V34I3.312>
- Florou Paneri, P., Christaki, E., y Bonos, E. (2013). Lactic Acid Bacteria as Source of Functional Ingredients. *Lactic Acid Bacteria - R y D for Food, Health and Livestock Purposes*. <https://doi.org/10.5772/47766>
- Fusar Poli, L., Gabbiadini, A., Ciancio, A., Vozza, L., Signorelli, M. S., y Aguglia, E. (2021). The effect of cocoa-rich products on depression, anxiety, and mood: A systematic review and meta-analysis.

<https://doi.org/10.1080/10408398.2021.1920570>.

<https://doi.org/10.1080/10408398.2021.1920570>

Gámiz, P. (2018). *Antioxidantes, ¿qué son y para qué sirven?*

<https://fundaciondelcorazon.com/blog-impulso-vital/3250-antioxidantes-ique-son-y-para-que-sirven.html>

García Corrales, C. (2016). Caracterización de parámetros de calidad de salchichas tipo frankfurt adicionadas con Compuestos funcionales a partir de la cáscara de piña (ananás comosus var. Esmeralda). *Exploraciones, Intercambios y Relaciones Entre El Diseño y La Tecnología*, 57-79.

<https://doi.org/10.16/CSS/JQUERY.DATATABLES.MIN.CSS>

Gayoso, E. (2018). *Ficha técnica del maltitol*.

<https://www.delitebe.com/doc/FichasTecnicas/7778990062.pdf>

Gilliland, S. E. (2003). PROBIOTICS. *Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition*, 4792-4798. <https://doi.org/10.1016/B0-12-227055-X/00974-3>

Global Organics. (2016). *Common Chocolate Questions*. <https://www.global-organics.com/post.php?s=2016-02-08-3-common-chocolate-questions-answered>

Good Scents Company. (2006). *Odor Descriptors for tea green tea*.

<http://www.thegoodscentscompany.com/data/ex1068751.html>

Gorbach, S., Doron, S., y Magro, F. (2017). Lactobacillus rhamnosus GG. *The Microbiota in Gastrointestinal Pathophysiology: Implications for Human Health, Prebiotics, Probiotics, and Dysbiosis*, 79-88. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-804024-9.00007-0>

Gramza Michałowska, A., Kulczyński, B., Skopiec, M., Kobus Cisowska, J., y Brzozowska, A. (2021). The effect of yellow tea leaves camellia sinensis on the

- quality of stored chocolate confectionery. *Applied Sciences (Switzerland)*, 11(9).
<https://doi.org/10.3390/app11094123>
- Grembecka, M. (2019). Sugar Alcohols. *Encyclopedia of Food Chemistry*, 265-275.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100596-5.21625-9>
- Gültekin Özgüven, M., Berktaş, I., Gönül, Ö., y Özçelik, B. (2020). *Development of dark chocolate enriched with matcha green tea (Camellia sinensis)*. 5, 850-860.
<https://doi.org/10.15237/gida.GD20034>
- Gutiérrez Santander, M. C. (2021). *Sustitución parcial de harina de trigo por pure de auyama (cucúrbita moschata) y harinas de: garbanzo (cicer arietinum) y quinoa (chenopodium quinoa) en la elaboración de un producto esponjoso (cupcake)*.
- Hablemos claro. (2018). *Confitería funcional*. <https://hablemosclaro.org/confiteria-funcional/>
- Hamzalıoğlu, A., y Gökmen, V. (2016). Interaction between Bioactive Carbonyl Compounds and Asparagine and Impact on Acrylamide. *Acrylamide in Food: Analysis, Content and Potential Health Effects*, 355-376.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802832-2.00018-8>
- Hernández, A. (2020). *Diferencia entre esencia y extracto de vainilla, ¿cuál es natural y cuál es sintética?* . <https://eldiariiony.com/2020/10/10/diferencia-entre-esencia-y-extracto-de-vainilla-cual-es-natural-y-cual-es-sintetica/>
- Hodgson, J., medicine, K. C.-M. aspects of, y 2010, undefined. (2008). Tea flavonoids and cardiovascular health. *Elsevier*, 17(S1), 288-290.
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0098299710000737>
- Hwang, M.-H., Jeon, H.-L., Kim, H.-D., Lee, S.-W., y Kim, M.-R. (2012). Quality Characteristics and Antioxidant Activities of Chocolate Added with Mulberry

- Pomace. *Korean Journal of Food and Cookery Science*, 28(4), 479-487.
<https://doi.org/10.9724/KFCS.2012.28.4.479>
- Ibrahim, S. A. (2016). Lactic Acid Bacteria: *Lactobacillus* spp.: Other Species. *Reference Module in Food Science*. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100596-5.00857-X>
- IGNOU. (2017). *Judging of Milk and Milk Products*.
<http://egyankosh.ac.in/handle/123456789/9637>
- Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación [ICONTEC]. (2008). *NTC 792*.
- Ioannone, F., di Mattia, C. D., 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, 256-262.
<https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2014.11.019>
- Islam, M. Z., Masum, A. K. M., y Harun-ur-Rashid, M. (2022a). Milk chocolate matrix as a carrier of novel *Lactobacillus acidophilus* LDMB-01: Physicochemical analysis, probiotic storage stability and in vitro gastrointestinal digestion. *Journal of Agriculture and Food Research*, 7, 100263.
<https://doi.org/10.1016/J.JAFR.2021.100263>
- Islam, M. Z., Masum, A. K. M., y Harun-ur-Rashid, M. (2022b). Milk chocolate matrix as a carrier of novel *Lactobacillus acidophilus* LDMB-01: Physicochemical analysis, probiotic storage stability and in vitro gastrointestinal digestion. *Journal of Agriculture and Food Research*, 7, 100263.
<https://doi.org/10.1016/J.JAFR.2021.100263>

- Jafarnejad, S., Shab-Bidar, S., Speakman, J. R., Parastui, K., Daneshi-Maskooni, M., y Djafarian, K. (2016). Probiotics Reduce the Risk of Antibiotic-Associated Diarrhea in Adults (18-64 Years) but Not the Elderly (>65 Years). *Nutrition in Clinical Practice*, 31(4), 502-513. <https://doi.org/10.1177/0884533616639399>
- Juaréz, C. (2020). *Vivera, nuevo probiótico para el malestar estomacal*. <https://thefoodtech.com/desarrollo-de-nuevos-productos/vivera-nuevo-probiotico-para-el-malestar-estomacal/>
- Kashyap, B. (2019). *Classification of Lactic acid bacteria*. https://www.slideshare.net/BishalKashyap1/classification-of-lactic-acid-bacteria?from_action=save
- Kemsawasd, V., Chaikham, P., y Rattanasena, P. (2016). Survival of immobilized probiotics in chocolate during storage and with an in vitro gastrointestinal model. *Food Bioscience*, 16, 37-43. <https://doi.org/10.1016/J.FBIO.2016.09.001>
- Kobus Cisowska, J., Szymanowska, D., Maciejewska, P., Szczepaniak, O., Kmiecik, D., Gramza Michałowska, A., Kulczyński, B., y Cielecka Piontek, J. (2019). Enriching novel dark chocolate with *Bacillus coagulans* as a way to provide beneficial nutrients. *Food and Function*, 10(2), 997-1006. <https://doi.org/10.1039/C8FO02099J>
- Kochman, J., Jakubczyk, K., Antoniewicz, J., Mruk, H., y Janda, K. (2020). Health Benefits and Chemical Composition of Matcha Green Tea: A Review. *Molecules* 2021, Vol. 26, Page 85, 26(1), 85. <https://doi.org/10.3390/MOLECULES26010085>
- Kochman, J., Jakubczyk, K., Antoniewicz, J., Mruk, H., y Janda, K. (2021). Health Benefits and Chemical Composition of Matcha Green Tea: A Review. *Molecules*, 26(1). <https://doi.org/10.3390/MOLECULES26010085>

- Kohlmeier, L., Weterings, K. G. C., Steck, S., y Kok, F. J. (2009). Tea and cancer prevention: An evaluation of the epidemiologic literature. *Http://Dx.Doi.Org/10.1080/01635589709514494*, 27(1), 1-13. <https://doi.org/10.1080/01635589709514494>
- Konar, N. (2013). Influence of conching temperature and some bulk sweeteners on physical and rheological properties of prebiotic milk chocolate containing inulin. *European Food Research and Technology*, 236(1), 135-143. <https://doi.org/10.1007/S00217-012-1873-X>
- Konar, N., Said Toker, O., Oba, S., y Sagdic, O. (2016). *Improving functionality of chocolate: A review on probiotic, prebiotic, and/or synbiotic characteristics*. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.01.002>
- Kumar, H., y Salminen, S. (2016). Probiotics. *Encyclopedia of Food and Health*, 510-515. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384947-2.00570-5>
- Kunes, M., y Kvetina, J. (2016). Probiotics: Preclinical Testing for Verification of Their Gastrointestinal Effectiveness. *Nutraceuticals: Efficacy, Safety and Toxicity*, 799-810. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802147-7.00056-5>
- Kurauchi, Y., Devkota, H. P., Hori, K., Nishihara, Y., Hisatsune, A., Seki, T., y Katsuki, H. (2019). Anxiolytic activities of Matcha tea powder, extracts, and fractions in mice: Contribution of dopamine D1 receptor- and serotonin 5-HT1A receptor-mediated mechanisms. *Journal of Functional Foods*, 59, 301-308. <https://doi.org/10.1016/J.JFF.2019.05.046>
- la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura [FAO], y Organización Mundial de la Salud [OMS]. (2006). *Probióticos en los alimentos*.
- Laboratorios Funat. (2019). *Té Matcha*. <https://funat.co/producto/te-matcha-100-g-2/>

- Lahtinen, S. J., Ouwehand, A. C., Salminen, S. J., Forssell, P., y Myllärinen, P. (2007). Effect of starch- and lipid-based encapsulation on the culturability of two *Bifidobacterium longum* strains. *Letters in Applied Microbiology*, 44(5), 500-505. <https://doi.org/10.1111/J.1472-765X.2007.02110.X>
- Laličić Petronijević, J., Popov Raljić, J., Lazić, V., Pezo, L., y Nedović, V. (2017). Synergistic effect of three encapsulated strains of probiotic bacteria on quality parameters of chocolates with different composition. *Journal of Functional Foods*, 38, 329-337. <https://doi.org/10.1016/J.JFF.2017.09.041>
- Lamprecht, M., Bogner, S., Schippinger, G., Steinbauer, K., Fankhauser, F., Hallstroem, S., Schuetz, B., y Greilberger, J. F. (2012). Probiotic supplementation affects markers of intestinal barrier, oxidation, and inflammation in trained men; a randomized, double-blinded, placebo-controlled trial. *Journal of the International Society of Sports Nutrition*, 9. <https://doi.org/10.1186/1550-2783-9-45>
- Laroute, V., Mazzoli, R., Loubière, P., Pessione, E., y Coccagn-Bousquet, M. (2021). Environmental conditions affecting gaba production in *Lactococcus lactis* ncd02118. *Microorganisms*, 9(1), 1-12. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9010122>
- Lee, D. K., Jang, S., Kim, M. J., Kim, J. H., Chung, M. J., Kim, K. J., y Ha, N. J. (2008). Anti-proliferative effects of *Bifidobacterium adolescentis* SPM0212 extract on human colon cancer cell lines. *BMC Cancer*, 8. <https://doi.org/10.1186/1471-2407-8-310>
- Logan, A. C., y Jacka, F. N. (2014). *Nutritional psychiatry research: an emerging discipline and its intersection with global urbanization, environmental challenges and the evolutionary mismatch*. <https://doi.org/10.1186/1880-6805-33-22>
- López, E. (2018a). *Licor de cacao natural*.

López, E. (2018b). *Manteca de cacao*.

Luo, H., Liu, Z., Xie, F., Bilal, M., Liu, L., Yang, R., y Wang, Z. (2021). Microbial production of gamma-aminobutyric acid: applications, state-of-the-art achievements, and future perspectives. *Https://Doi.Org/10.1080/07388551.2020.1869688*, 41(4), 491-512. <https://doi.org/10.1080/07388551.2020.1869688>

Lyte, M. (2011). Probiotics function mechanistically as delivery vehicles for neuroactive compounds: Microbial endocrinology in the design and use of probiotics. *BioEssays*, 33(8), 574-581. <https://doi.org/10.1002/BIES.201100024>

Madore, J. D. (s. f.). *¿Por qué se utilizan emulsionantes en el chocolate?* Recuperado 2 de noviembre de 2022, a partir de <https://toptierchocolate.com/why-are-emulsifiers-used-in-chocolate/>

Marengo, K. (2020). *Alimentos funcionales: definición, beneficios y usos*. <https://www.healthline.com/nutrition/functional-foods>

Márquez Fernández, P. M., y Márquez Fernández, D. M. (2019). FUNCTIONAL FOODS: CURRENT ISSUES AND TRENDS. *Vitae*, 26(1), 6-7. <https://doi.org/10.17533/UDEA.VITAE.V26N1A01>

Martini, S., Conte, A., y Tagliazucchi, D. (2018). Comprehensive evaluation of phenolic profile in dark chocolate and dark chocolate enriched with Sakura green tea leaves or turmeric powder. *Food Research International*, 112, 1-16. <https://doi.org/10.1016/J.FOODRES.2018.06.020>

Mayoclinic. (2021). *Edulcorantes artificiales y otros sustitutos del azúcar*. <https://www.mayoclinic.org/es-es/healthy-lifestyle/nutrition-and-healthy-eating/in-depth/artificial-sweeteners/art-20046936>

- McKay, D. L., y Blumberg, J. B. (2002). The role of tea in human health: an update. *Journal of the American College of Nutrition*, 21(1), 1-13. <https://doi.org/10.1080/07315724.2002.10719187>
- Ministerio de Salud y Protección Social. (2021). *Resolución 810 de 2021*. https://minsalud.gov.co/Normatividad_Nuevo/Resoluci%C3%B3n%20No.%20810de%202021.pdf
- Montagna, M. T., Diella, G., Triggiano, F., Caponio, G. R., de Giglio, O., Caggiano, G., di Ciaula, A., y Portincasa, P. (2019). Chocolate, “Food of the Gods”: History, Science, and Human Health. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 2019, Vol. 16, Page 4960, 16(24), 4960. <https://doi.org/10.3390/IJERPH16244960>
- Mota Gutierrez, J., Barbosa Pereira, L., Ferrocino, I., y Cocolin, L. (2019). Traceability of Functional Volatile Compounds Generated on Inoculated Cocoa Fermentation and Its Potential Health Benefits. *Nutrients* 2019, Vol. 11, Page 884, 11(4), 884. <https://doi.org/10.3390/NU11040884>
- Muzaffar, K., Jan, R., Ahmad Bhat, N., Gani, A., y Ahmed Shagoo, M. (2021). Commercially Available Probiotics and Prebiotics Used in Human and Animal Nutrition. *Advances in Probiotics*, 417-435. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-822909-5.00025-3>
- Nebesny, E., Żyżelewicz, D., Motyl, I., y Libudzisz, Z. (2004). Properties of sucrose-free chocolates enriched with viable lactic acid bacteria. *European Food Research and Technology* 2004 220:3, 220(3), 358-362. <https://doi.org/10.1007/S00217-004-1069-0>
- Newton, T. (2017). *Guía de los Perfiles de Sabor del Cacao y Chocolate*. <https://perfectdailygrind.com/es/2017/09/12/guia-de-los-perfiles-de-sabor-del-cacao-chocolate-para-principiantes/>

- NTC. (2008). *Norma técnica Colombiana [NTC] 792: Chocolate y sus sucedáneos para consumo directos.*
- Oliveras Sevilla, J. M. (2007). *La elaboración del chocolate, una técnica dulce y ecológica.* <https://www.studocu.com/co/document/unidad-central-del-valle-del-cauca/resistencia-de-materiales/chocolate-ejemplo-de-la-materia-procesos-industriales/11675218>
- Oracz, J., Zyzelewicz, D., y Nebesny, E. (2015). The Content of Polyphenolic Compounds in Cocoa Beans (*Theobroma cacao* L.), Depending on Variety, Growing Region, and Processing Operations: A Review. *Https://Doi.Org/10.1080/10408398.2012.686934*, 55(9), 1176-1192. <https://doi.org/10.1080/10408398.2012.686934>
- Orquídea. (s. f.). *Lecitina de soya.* Recuperado 5 de octubre de 2022, a partir de <https://www.orquidea.com.co/lecitina-de-soya-60g>
- Osorio Buitrago, L. N. (2018). *Probióticos y prebióticos aplicables en un producto a base de chocote.* http://repository.unilasallista.edu.co/dspace/bitstream/10567/2262/1/Probioticos_s_prebioticos_aplicables_producto_chocolate.pdf
- Ozer, M., Ozturk, B., Hayaloglu, A. A., y Tellioglu Harsa, S. (2022). Development of a functional chocolate using gamma-amino butyric acid producer *Lacticaseibacillus rhamnosus* NRRL B-442. *Food Bioscience*, 47, 101678. <https://doi.org/10.1016/J.FBIO.2022.101678>
- Palma Rodríguez, M. T., Soledispa Alcívar, G. L., y Matute Zeas, M. E. (2018). *Efecto de la harina de papa oca en diferentes niveles en la capacidad higroscópica en una galleta dulce.*

- Palomo Calvo, A. (2016). *Estudio de la viscosidad de distintos tipos de chocolate durante la etapa de conchado líquido*.
<https://uvadoc.uva.es/handle/10324/20845>
- Panchis Cakes. (2021). *Lecitina de soya*.
<https://panchiscakes.com/productos/comestibles/lecitina-de-soya/>
- Parker, G., y Crawford, J. (2007). Chocolate craving when depressed: a personality marker. *The British Journal of Psychiatry*, 191(4), 351-352.
<https://doi.org/10.1192/BJP.BP.106.033746>
- Parker, G., Parker, I., y Brotchie, H. (2006). Mood state effects of chocolate. *Journal of Affective Disorders*, 92(2-3), 149-159.
<https://doi.org/10.1016/J.JAD.2006.02.007>
- Parra Huertas, R. A. (2010). Bacterias ácido lácticas: papel funcional en los alimentos. *Biotecnología En El Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 8(1), 93-105.
http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1692-35612010000100012&lng=en&nm=isoyt&lng=es
- Pastoriza, S., Mesías, M., Cabrera, C., y Rufián-Henares, J. A. (2017). Healthy properties of green and white teas: an update. *Food y Function*, 8(8), 2650-2662. <https://doi.org/10.1039/C7FO00611J>
- Paucar Menacho, L. M., Salvador Reyes, R., Guillén Sánchez, J., y Mori Arismendi, S. (2016). Efecto de la sustitución parcial de la harina de trigo por harina de soya en las características tecnológicas y sensoriales de cupcakes destinados a niños en edad escolar. *Scientia Agropecuaria*, 7(2), 121-132.
<https://doi.org/10.17268/SCI.AGROPECU.2016.02.05>
- Pedroso, D. L., Dogenski, M., Thomazini, M., Heinemann, R. J. B., y Favaro-Trindade, C. S. (2013). Microencapsulation of *Bifidobacterium animalis* subsp.

- lactis and *Lactobacillus acidophilus* in cocoa butter using spray chilling technology. *Brazilian Journal of Microbiology*, 44(3), 777-783. <https://doi.org/10.1590/S1517-83822013000300017>
- Pérez, P. (2022). *Más sustitutos del azúcar, ¿Qué es el maltitol?* <https://www.mentta.com/blog/que-es-el-maltitol/>
- Phat, C., Moon, B., y Lee, C. (2016). Evaluation of umami taste in mushroom extracts by chemical analysis, sensory evaluation, and an electronic tongue system. *Food Chemistry*, 192, 1068-1077. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2015.07.113>
- Pickford, E. F., y Jardine, N. J. (2000). Functional confectionery. *Functional Foods*, 259-286. <https://doi.org/10.1533/9781855736436.3.259>
- Poliński, S., Topka, P., Tańska, M., Kowalska, S., Czaplicki, S., y Szydłowska-Czerniak, A. (2022). Impact of Bioactive Compounds of Plant Leaf Powders in White Chocolate Production: Changes in Antioxidant Properties during the Technological Processes. *Antioxidants* 2022, Vol. 11, Page 752, 11(4), 752. <https://doi.org/10.3390/ANTIOX11040752>
- Possemiers, S., Marzorati, M., Verstraete, W., y van de Wiele, T. (2010). Bacteria and chocolate: A successful combination for probiotic delivery. *International Journal of Food Microbiology*, 141(1-2), 97-103. <https://doi.org/10.1016/J.IJFOODMICRO.2010.03.008>
- Quiñones Muñoz, T., Gallegos Infante, J. A., Rocha Guzmán, N. E., Ochoa Martinez, L. A., Morales Castro, J., González Laredo, R. F., y Medina Torres, L. (2011). Mixing and tempering effect on the rheological and particle size properties of dark chocolate coatings. *CYTA - Journal of Food*, 9(2), 109-113. https://doi.org/10.1080/19476337.2010.482748/SUPPL_FILE/TCYT_A_482748_SUP_19121886.PDF

- Quirós Martínez, M. C. (2016). *Factibilidad técnica de la elaboración de un chocolate con leche de cabra y evaluación de sus características físico-químicas y sensoriales*.
- Ramli, N., Zaw, N. Z., Kasim, Z. M., y Idris, N. A. (2006). Sensory Evaluation and Physical Characteristics of Chocolate Using Goat's Milk. *International Journal of Dairy Science*, 1(2), 146-154. <https://doi.org/10.3923/IJDS.2006.146.154>
- Reshi, M. (2018). *Chocolate processing*. <https://www.researchgate.net/publication/330171165>
- Rietveld, A., y Wiseman, S. (2003). Antioxidant effects of tea: evidence from human clinical trials. *The Journal of Nutrition*, 133(10). <https://doi.org/10.1093/JN/133.10.3285S>
- Roy, D. (2011). Probiotics. *Comprehensive Biotechnology, Second Edition*, 4, 591-602. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-088504-9.00317-2>
- Sabatini, N. (2010). A Comparison of the Volatile Compounds, in Spanish-style, Greek-style and Castelvetro-style Green Olives of the Nocellara del Belice Cultivar:: Alcohols, Aldehydes, Ketones, Esters and Acids. *Olives and Olive Oil in Health and Disease Prevention*, 219-231. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374420-3.00024-3>
- Sánchez Dávila, J. F. (2019). *Caracterización molecular de bacterias ácido lácticas aisladas de frutos procedentes de la Región Loreto*. https://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12672/10767/Sanchez_dj.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Santos Espinosa, A., Manzanarez Quin, C. G., Reyes Díaz, R., Hernández Mendoza, A., Vallejo Córdoba, B., y González Córdoba, A. F. (2018). *Ácido gamma-aminobutírico (GABA) producido por bacterias ácido lácticas en*

alimentos

fermentados.

<https://www.redalyc.org/journal/339/33957185004/html/>

Silva, M. P., Tulini, F. L., Marinho, J. F. U., Mazzocato, M. C., de Martinis, E. C. P., Luccas, V., y Favaro-Trindade, C. S. (2017). Semisweet chocolate as a vehicle for the probiotics *Lactobacillus acidophilus* LA3 and *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BLC1: Evaluation of chocolate stability and probiotic survival under in vitro simulated gastrointestinal conditions. *LWT*, 75, 640-647. <https://doi.org/10.1016/J.LWT.2016.10.025>

Smolyansky, J. (2010). Probiotics: A Historical Perspective. *Bioactive Foods in Promoting Health: Probiotics and Prebiotics*, 43-45. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374938-3.00003-7>

Sollid, K. (2020). *¿Qué es el maltitol?* <https://foodinsight.org/what-is-maltitol/>

Son, Y. J., Choi, S. Y., Yoo, K. M., Lee, K. W., Lee, S. M., Hwang, I. K., y Kim, S. (2018). Anti-blooming effect of maltitol and tagatose as sugar substitutes for chocolate making. *LWT*, 88, 87-94. <https://doi.org/10.1016/J.LWT.2017.09.018>

Sosa. (2018). *Ficha técnica lecitina de soja líquida.*

Statista Research Department. (2022a). *Colombia: ingresos por confitería de chocolate.* <https://www.statista.com/forecasts/1287535/chocolate-confectionery-market-revenue-in-colombia>

Statista Research Department. (2022b). *Tamaño del mercado de dulces de chocolate a nivel mundial de 2016 a 2027(en billones de dólares estadounidenses).* <https://www.statista.com/forecasts/983554/global-chocolate-confectionery-market-size>

- Stone, H. (2018). Example food: What are its sensory properties and why is that important? *Npj Science of Food* 2:1, 2(1), 1-3. <https://doi.org/10.1038/s41538-018-0019-3>
- Tang, Y., Yu, X., Zhang, Y., Lu, X., Li, Q., Jia, Y., y He, C. (2019). *Sensory descriptive analysis of green tea: correlation with chemical components*. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/461/1/012013>
- Toker, O. S., Zorlucan, F. T., Konar, N., Dağlıoğlu, O., Sagdic, O., y Şener, D. (2017). Investigating the effect of production process of ball mill refiner on some physical quality parameters of compound chocolate: response surface methodology approach. *International Journal of Food Science y Technology*, 52(3), 788-799. <https://doi.org/10.1111/IJFS.13336>
- Tsang, C., Hodgson, L., Bussu, A., Farhat, G., y Al-Dujaili, E. (2019). Effect of Polyphenol-Rich Dark Chocolate on Salivary Cortisol and Mood in Adults. *Antioxidants* 2019, Vol. 8, Page 149, 8(6), 149. <https://doi.org/10.3390/ANTIOX8060149>
- USDA. (2019). *Información nutricional del té verde matcha en polvo*. <https://fdc.nal.usda.gov/fdc-app.html#/food-details/1962398/nutrients>
- USDA. (2021a). *Información nutricional de la azúcar*. <https://fdc.nal.usda.gov/fdc-app.html#/food-details/2021609/nutrients>
- USDA. (2021b). *Información nutricional de la leche entera en polvo*. <https://fdc.nal.usda.gov/fdc-app.html#/food-details/1911462/nutrients>
- USDA. (2021c). *Información nutricional de la pasta de cacao 100% orgánica*. <https://fdc.nal.usda.gov/fdc-app.html#/food-details/1997377/nutrients>
- USDA. (2022). *Información nutricional de la manteca de cacao*. <https://fdc.nal.usda.gov/fdc-app.html#/food-details/2270065/nutrients>

- Vandenplas, Y., Huys, G., y Daube, G. (2015). Probiotics: an update. *Jornal de Pediatria*, 91(1), 6-21. <https://doi.org/10.1016/J.JPED.2014.08.005>
- Vegaffinity. (s. f.). *Información nutricional de la esencia de vainilla*. Recuperado 5 de noviembre de 2022, a partir de <https://www.vegaffinity.com/comunidad/alimento/esencia-de-vainilla-beneficios-informacion-nutricional--f1208>
- Vera, G. (2016). *Saludable té matcha: magia en polvo*. <https://www.cocinayvino.com/vinos-bebidas/cafe-te/saludable-te-matcha-magia-en-polvo/>
- Vera Romero, J. M., y Mantilla Pabón, Y. T. (2020). Características sensoriales de granos y licor de cacao por un panel de jueces en entrenamiento. *Revista Sennova: Revista Del Sistema de Ciencia, Tecnología e Innovación*, 5(1), 27-42. <https://doi.org/10.23850/23899573.3232>
- Vidalón Pinto, S. G. (2017). *Efecto de sustitución parcial de azúcar por maltitol sobre las características sensoriales y fisicoquímicas de una galleta dulce*.
- Vilarrasa, A. (2020). *Esencia y extracto de vainilla: ¿cuáles son sus diferencias?* . <https://mejorconsalud.as.com/esencia-extracto-vainilla-diferencias/>
- Villa, J. E. L., Pereira, C. D., y Cadore, S. (2015). *A novel, rapid and simple acid extraction for multielemental determination in chocolate bars*. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2015.03.008>
- Weiss, D. J., y Anderton, C. R. (2003). Determination of catechins in matcha green tea by micellar electrokinetic chromatography. *Journal of Chromatography. A*, 1011(1-2), 173-180. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(03\)01133-6](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(03)01133-6)
- Yebra Biurrun, M. C. (2005). Edulcorantes. *Encyclopedia of Analytical Science: Second Edition*, 562-572. <https://doi.org/10.1016/B0-12-369397-7/00610-5>

- Yonejima, Y., Hisa, K., Kawaguchi, M., Ashitani, H., Koyama, T., Usamikrank, Y., Kishida, N., Kishino, S., y Ogawa, J. (2015). Lactic acid bacteria-containing chocolate as a practical probiotic product with increased acid tolerance. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 4(4), 773-777. <https://doi.org/10.1016/J.BCAB.2015.09.001>
- Zarić, D. B., Bulatović, M. L., Rakin, M. B., Krunić, T., Lončarević, I. S., y Pajin, B. S. (2016). Functional, rheological and sensory properties of probiotic milk chocolate produced in a ball mill. *RSC Advances*, 6(17), 13934-13941. <https://doi.org/10.1039/C5RA21363K>
- Zhou, J., Yu, Y., Ding, L., Xu, P., y Wang, Y. (2021). Matcha green tea alleviates non-alcoholic fatty liver disease in high-fat diet-induced obese mice by regulating lipid metabolism and inflammatory responses. *Nutrients*, 13(6). <https://doi.org/10.3390/nu13061950>
- Zimmermann, B. F., y Ellinger, S. (2020). Cocoa, Chocolate, and Human Health. *Nutrients* 2020, Vol. 12, Page 698, 12(3), 698. <https://doi.org/10.3390/NU12030698>
- Żyżelewicz, D., Oracz, J., Bilicka, M., Kulbat-Warycha, K., y Klewicka, E. (2021). Influence of Freeze-Dried Phenolic-Rich Plant Powders on the Bioactive Compounds Profile, Antioxidant Activity and Aroma of Different Types of Chocolates. *Molecules* 2021, Vol. 26, Page 7058, 26(22), 7058. <https://doi.org/10.3390/MOLECULES26227058>

9. ANEXOS

Anexo 1. Formato prueba afectiva.

PRUEBA AFECTIVA																					
Nombre:																					
Fecha:																					
Frente a usted se presentan tres muestras de barras de chocolate con leche con sustitución parcial de la azúcar por maltitol, con adición de <i>Lactobacillus rhamnosus</i> y té matcha, además de una muestra comercial de una barra de chocolate con leche identificada con la letra R. Por favor observe y pruebe la muestra R, luego indique el grado en que le gusta o le disgusta cada atributo, escribiendo el número correspondiente del 1 al 9 según la tabla de escala hedónica. A continuación, observe y pruebe las demás muestras y asígneles un valor que guarde siempre proporción con la muestra R. Nota: Recuerde tomar agua entre cada muestra. <table border="1" style="margin-left: auto; margin-right: auto; border-collapse: collapse; text-align: center;"><thead><tr><th style="width: 15%;">VALOR</th><th style="width: 85%;">DESCRIPCIÓN</th></tr></thead><tbody><tr><td>1</td><td>Me disgusta extremadamente</td></tr><tr><td>2</td><td>Me disgusta mucho</td></tr><tr><td>3</td><td>Me disgusta moderadamente</td></tr><tr><td>4</td><td>Me disgusta un poco</td></tr><tr><td>5</td><td>Ni me gusta ni me disgusta</td></tr><tr><td>6</td><td>Me gusta levemente</td></tr><tr><td>7</td><td>Me gusta moderadamente</td></tr><tr><td>8</td><td>Me gusta mucho</td></tr><tr><td>9</td><td>Me gusta muchísimo</td></tr></tbody></table>		VALOR	DESCRIPCIÓN	1	Me disgusta extremadamente	2	Me disgusta mucho	3	Me disgusta moderadamente	4	Me disgusta un poco	5	Ni me gusta ni me disgusta	6	Me gusta levemente	7	Me gusta moderadamente	8	Me gusta mucho	9	Me gusta muchísimo
VALOR	DESCRIPCIÓN																				
1	Me disgusta extremadamente																				
2	Me disgusta mucho																				
3	Me disgusta moderadamente																				
4	Me disgusta un poco																				
5	Ni me gusta ni me disgusta																				
6	Me gusta levemente																				
7	Me gusta moderadamente																				
8	Me gusta mucho																				
9	Me gusta muchísimo																				

ATRIBUTOS	CÓDIGOS			
	R	705	452	812
Apariencia				
Color				
Olor				
Textura				
Sabor				
Dulzura				
Aceptación general				
¡MUCHAS GRACIAS POR SU PARTICIPACIÓN!				

Anexo 2. Formato prueba descriptiva.

PRUEBA DESCRIPTIVA	
Nombre:	
Fecha:	
Frente a usted se encuentran muestras de una barra de chocolate con leche con sustitución parcial de la azúcar por maltitol, con adición de té matcha y un probiótico (<i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG), además de una muestra patrón de una barra de chocolate con leche regular.	

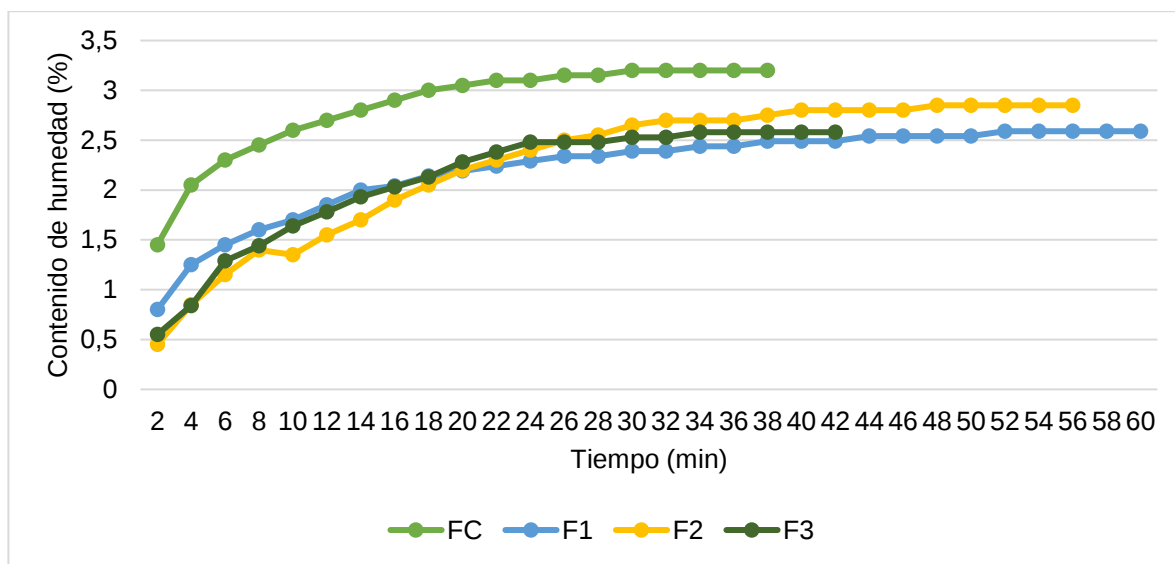
Evalúe cada uno de los atributos mencionados dando un rango de puntuación del 0 a 5, en donde (0) indicará ausencia total, (1) casi imperceptible, (2) ligeramente perceptible, (3) moderadamente perceptible, (4) altamente perceptible y (5) extremadamente perceptible.

ATRIBUTOS	MUESTRAS			
	347	759	647	291
1. APARIENCIA				
Floración de grasa				
Floración de azúcar				
Brillo				
Color característico del chocolate				
Color verdoso				
Color uniforme				
2. OLOR				
Cacao				
Herbal				
Lácteo				
Floral				
Frutal				
Nuez				

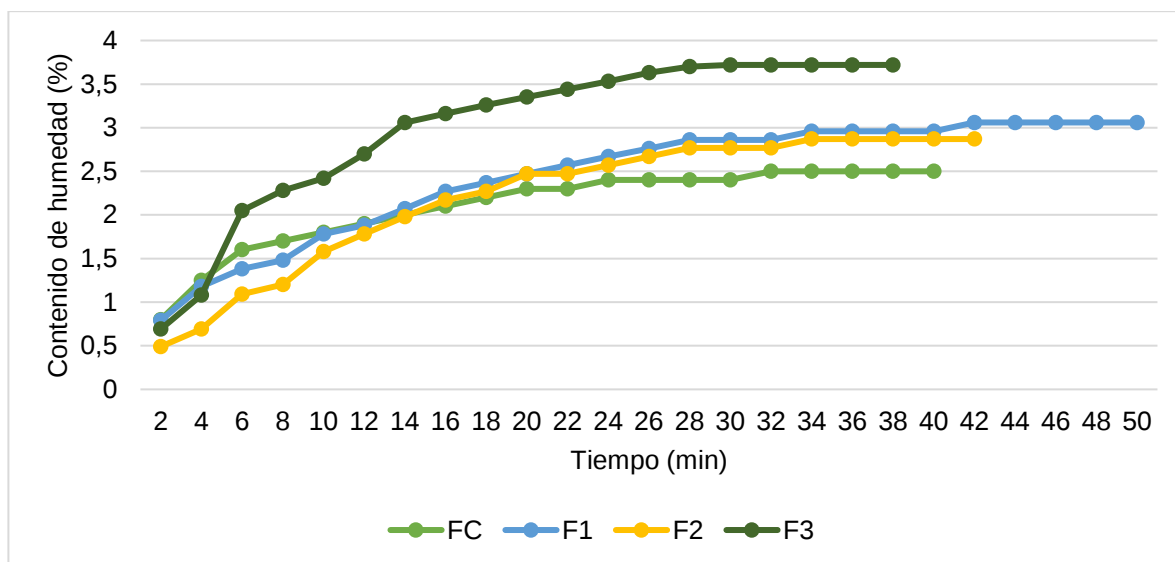
Amaderado				
Vainilla				
Caramelo				
Malta				
Mohoso				
Quemado				
Rancio				
Oxidado				
3. SONIDO				
Crujiente				
4. TEXTURA				
Fragilidad				
Ductilidad				
Adhesividad				
Dureza				
Cremosidad				
5. SABOR				
Dulce				
Ácido				
Amargo				
Cacao				
Herbal				

Leche				
Frutal				
Vainilla				
Caramelo				
Nuez				
Malta				
Quemado				
Rancio				
Astringencia				
Amargo residual				
¡MUCHAS GRACIAS POR SU PARTICIPACIÓN!				

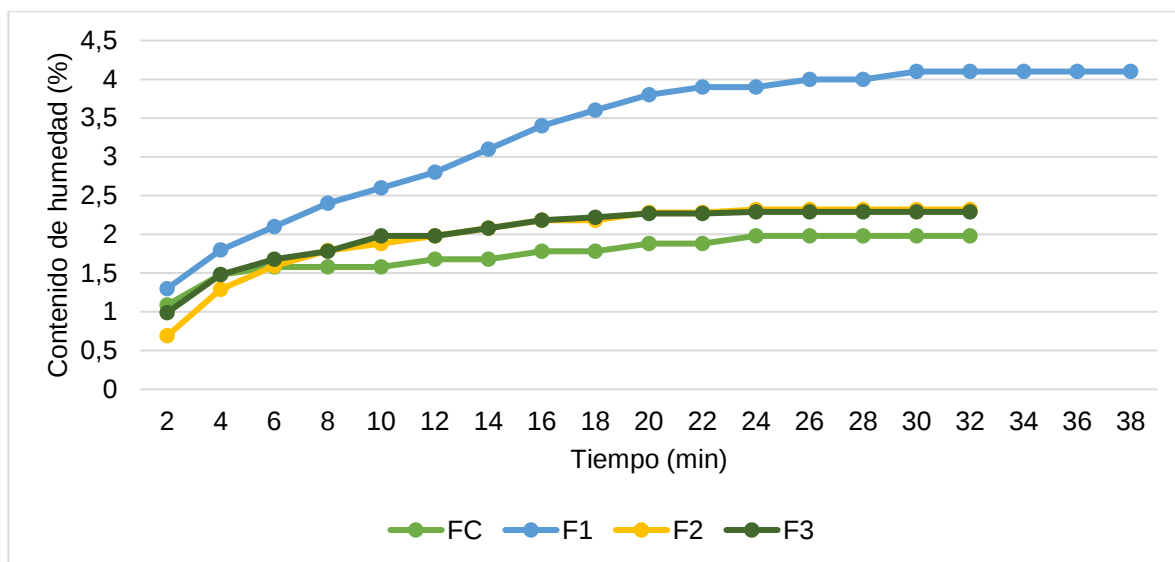
Anexo 3. Curva de humedad de las formulaciones el día 1 de almacenamiento.



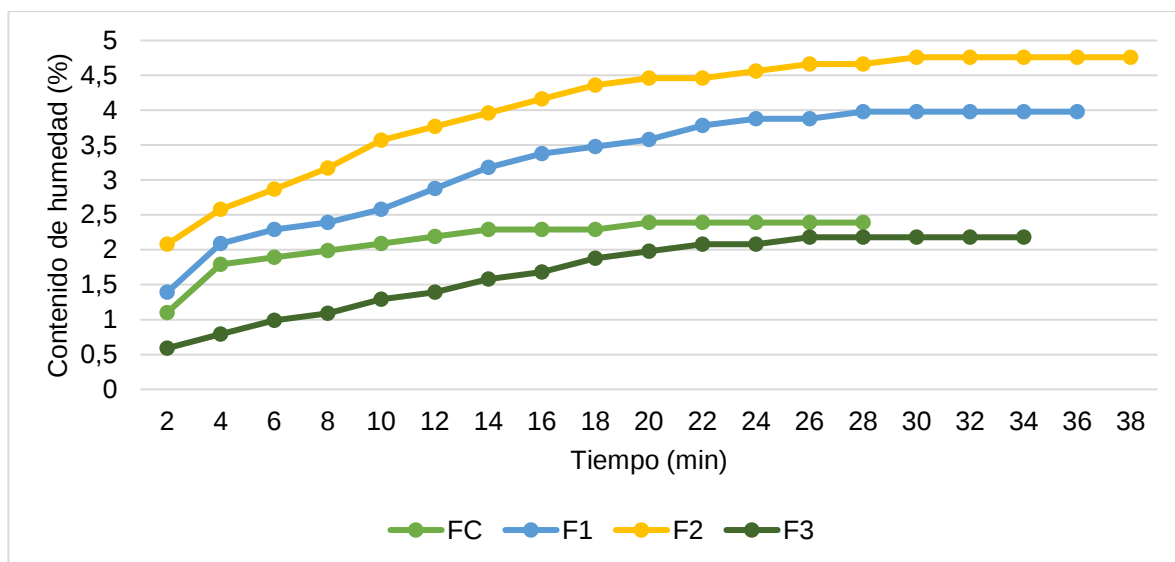
Anexo 4. Curva de humedad de las formulaciones el día 7 de almacenamiento.



Anexo 5. Curva de humedad de las formulaciones el día 14 de almacenamiento.



Anexo 6. Curva de humedad de las formulaciones el día 30 de almacenamiento.



Anexo 7. Resultados prueba de cenizas en las formulaciones el día 1 de almacenamiento.

Formulaciones	Rep.	Peso del crisol vacío (g)	Peso de la muestra (g)	Peso del crisol + residuos después de mufla (g)	Porcentaje de Cenizas (%)
FC	1	41,003	2,098	41,028	1,192
	2	38,747	2,056	38,771	1,167
	3	43,569	2,081	43,595	1,249
F1	1	33,222	2,196	33,268	2,095
	2	37,268	2,079	37,313	2,165
	3	34,305	2,160	34,339	1,574
F2	1	44,538	2,201	44,580	1,908
	2	38,179	2,330	38,232	2,275
	3	30,488	2,096	30,530	2,004
F3	1	39,524	2,288	39,587	2,753
	2	39,749	2,243	39,849	2,274
	3	34,041	2,302	34,087	1,998

Formulaciones	Porcentaje de cenizas promedio (%)
FC	1,20 ± 0,04
F1	1,94 ± 0,32
F2	2,06 ± 0,19
F3	2,34 ± 0,38

Anexo 8. Resultados prueba de cenizas en las formulaciones el día 7 de almacenamiento.

Formulaciones	Rep.	Peso del crisol vacío (g)	Peso de la muestra (g)	Peso del crisol + residuos después de mufla (g)	Porcentaje de Cenizas (%)
FC	1	35,603	2,187	35,630	1,235
	2	33,684	2,167	33,712	1,292
	3	39,522	2,009	39,546	1,195
F1	1	30,491	2,089	30,532	1,963
	2	37,270	2,125	37,307	1,741
	3	34,293	2,079	34,337	2,116

F2	1	38,908	2,173	38,952	2,025
	2	39,749	2,113	39,795	2,177
	3	34,042	2,237	34,087	2,012
F3	1	33,223	2,134	33,268	2,109
	2	44,537	2,060	44,579	2,039
	3	41,019	2,340	41,068	2,094

Formulaciones		Porcentaje de cenizas promedio (%)
FC		1,24 ± 0,05
F1		1,94 ± 0,04
F2		2,07 ± 0,09
F3		2,08 ± 0,04

Anexo 9. Resultados prueba de cenizas en las formulaciones el día 14 de almacenamiento.

Formulaciones	Rep.	Peso del crisol vacío (g)	Peso de la muestra (g)	Peso del crisol + residuos después de mufla (g)	Porcentaje de Cenizas (%)
---------------	------	---------------------------	------------------------	---	---------------------------

FC	1	41,001	2,053	41,024	1,120
	2	38,744	2,049	38,772	1,367
	3	43,574	2,287	43,598	1,049
F1	1	30,491	2,041	30,532	2,009
	2	37,273	2,003	37,311	1,897
	3	34,297	2,118	34,333	1,700
F2	1	33,223	2,346	33,269	1,961
	2	33,032	2,118	33,073	1,936
	3	41,017	2,014	41,057	1,986
F3	1	35,601	2,103	35,641	1,902
	2	39,744	2,007	39,789	2,242
	3	33,682	2,152	33,728	2,138
Formulaciones		Porcentaje de cenizas promedio (%)			
FC		1,18 ± 0,17			
F1		1,87 ± 0,16			
F2		1,96 ± 0,03			
F3		2,09 ± 0,17			

Anexo 10. Resultados prueba de cenizas en las formulaciones el día 30 de almacenamiento.

Formulaciones	Rep.	Peso del crisol vacío (g)	Peso de la muestra (g)	Peso del crisol + residuos después de mufla (g)	Porcentaje de Cenizas (%)
FC	1	41,001	2,024	41,025	1,186
	2	40,572	2,174	40,599	1,242
	3	43,567	2,026	43,592	1,234
F1	1	33,222	2,110	33,262	1,896
	2	33,030	2,017	33,067	1,834
	3	39,748	2,053	39,785	1,802
F2	1	38,912	2,167	38,950	1,754
	2	33,684	2,055	33,727	2,092
	3	34,041	2,184	34,082	1,877
F3	1	35,603	2,337	35,652	2,097
	2	37,268	2,038	37,309	2,012
	3	34,295	2,346	34,340	1,918

Formulaciones	Porcentaje de cenizas promedio (%)
FC	1,22 ± 0,03
F1	1,84 ± 0,05
F2	1,91 ± 0,17
F3	2,01 ± 0,09

Anexo 11. Reporte resultados ensayos microbiológicos.

	REPORTE DE ENSAYOS
--	---------------------------

INFORME DE RESULTADOS No FE-1549-7093

EMPRESA	Lissen García Osorio
MUESTRA	Barra de chocolate - Formulación 1
NUMERO DE LA MUESTRA	7093
FECHA DE TOMA DE MUESTRA	Noviembre 21 de 2022
HORA DE TOMA DE MUESTRA	Noviembre 21 de 2022
FECHA DE RECEPCION DE LA MUESTRA	Noviembre 21 de 2022
FECHA DE ANALISIS DE LA MUESTRA	Noviembre 21 de 2022
LUGAR DE TOMA DE MUESTRA	Producción
EMPAQUE	Papel aluminio
PRESENTACIÓN:	PAQUETE INDIVIDUAL
ANALISIS A REALIZAR	MICROBIOLOGICO (x)
FECHA DE EMISION DEL REPORTE	Diciembre 2 de 2022

ANALISIS MICROBIOLOGICOS

PARAMETROS EVALUADOS	RESULTADOS	PARAMETROS ADMISIBLES
RECuento DE AEROBIOS MESOFILOS NTC 4519	300 UFC / g	HASTA 1.000 UFC/ g
Recuento de coliformes en placa NTC 4458	Menor de 10 ufc / g	Menor de 10 ufc / g
Recuento de E. coli NTC 4458	Menor de 10 ufc / g	Menor de 10 ufc / g
MOHOS Y LEVADURAS NTC 4132	100 UFC / g	DE 100 A 300 UFC/g
Identificación de Salmonella spp NTC 4574	Ausencia en 25 gramos	Ausencia en 25 gramos

OBSERVACIONES GENERALES: Esta muestra se encuentra dentro de los parámetros permitidos según lo dispuesto por el Ministerio de la Protección Social, de acuerdo a parámetros de la resolución 1407 de 2022

Revisó y aprobó:

Dra. Erika Flórez Ruiz
Microbióloga E.A.

FE-02 FECHA APROBACION JULIO 1 DE 2022 VERSION 1

NOTA: La persona en mención es quien asumió la toma de muestra y transporte al laboratorio "POR LO TANTO SE HACE UN DESCARGO DE RESPONSABILIDADES A LA EMPRESA EN MENCIÓN".

Dirección: Calle 7N # 26-26 Ceiba II Cúcuta - Colombia
Celular: 310 783 4565 / 312 478 6469 / 310 305 5417

microlabdelnorte@yahoo.com.co
laboratorioanalisismicrobio@gmail.com

NIT. 60374063-3
Teléfono: 5920139



REPORTE DE ENSAYOS

INFORME DE RESULTADOS No FE-1549-7094

EMPRESA	Lissen García Osorio
MUESTRA	Barra de chocolate - Formulaci3n 2
NUMERO DE LA MUESTRA	7094
FECHA DE TOMA DE MUESTRA	Noviembre 21 de 2022
HORA DE TOMA DE MUESTRA	Noviembre 21 de 2022
FECHA DE RECEPCION DE LA MUESTRA	Noviembre 21 de 2022
FECHA DE ANALISIS DE LA MUESTRA	Noviembre 21 de 2022
LUGAR DE TOMA DE MUESTRA	Producci3n
EMPAQUE	Papel aluminio
PRESENTACI3N:	PAQUETE INDIVIDUAL
ANALISIS A REALIZAR	MICROBIOLOGICO (x)
FECHA DE EMISION DEL REPORTE	Diciembre 2 de 2022

ANALISIS MICROBIOLOGICOS

PARAMETROS EVALUADOS	RESULTADOS	PARAMETROS ADMISIBLES
RECuento DE AEROBIOS MESOFILOS NTC 4519	330 UFC / g	HASTA 1.000 UFC/ g
Recuento de coliformes en placa NTC 4458	Menor de 10 ufc / g	Menor de 10 ufc / g
Recuento de E. coli NTC 4458	Menor de 10 ufc / g	Menor de 10 ufc / g
MOHOS Y LEVADURAS NTC 4132	0 UFC / g	DE 100 A 300 UFC/g
Identificaci3n de Salmonella spp NTC 4574	Ausencia en 25 gramos	Ausencia en 25 gramos

OBSERVACIONES GENERALES: Esta muestra se encuentra dentro de los parámetros permitidos seg3n lo dispuesto por el Ministerio de la Protecci3n Social, de acuerdo a parámetros de la resoluci3n 1407 de 2022

Revis3 y aprob3:

Dra. Erika Fl3rez Ruiz
Microbi3loga E.A.

FIR-02 FECHA APROBACION JULIO 1 DE 2022 VERSION 1

NOTA: La persona en menc3n es quien asegur3 la toma de muestra y transporte al laboratorio "POR LO TANTO SE HACE UN DESCARGO DE RESPONSABILIDADES A LA EMPRESA EN MENCI3N"

Direcci3n: Calle 7N # 25-26 Ceiba E C3cuta - Colombia
Celular: 310 783 4565 / 312 478 6469 / @310 305 5417

microlabdelnorte@yahoo.com.co
laboratorioanalisismicrobio@gmail.com

NIT. 60374053-3
Tel3fono: 5920139



REPORTE DE ENSAYOS

INFORME DE RESULTADOS No FE-1549-7095

EMPRESA	Lissen García Osorio
MUESTRA	Barra de chocolate - Formulación 3
NUMERO DE LA MUESTRA	7095
FECHA DE TOMA DE MUESTRA	Noviembre 21 de 2022
HORA DE TOMA DE MUESTRA	Noviembre 21 de 2022
FECHA DE RECEPCION DE LA MUESTRA	Noviembre 21 de 2022
FECHA DE ANALISIS DE LA MUESTRA	Noviembre 21 de 2022
LUGAR DE TOMA DE MUESTRA	Producción
EMPAQUE	Papel aluminio
PRESENTACIÓN:	PAQUETE INDIVIDUAL
ANALISIS A REALIZAR	MICROBIOLOGICO (x)
FECHA DE EMISION DEL REPORTE	Diciembre 2 de 2022

ANALISIS MICROBIOLOGICOS

PARAMETROS EVALUADOS	RESULTADOS	PARAMETROS ADMISIBLES
RECuento DE AEROBIOS MESOFILOS NTC 4519	1000 UFC / g	HASTA 1.000 UFC/ g
Recuento de coliformes en placa NTC 4458	Menor de 10 ufc / g	Menor de 10 ufc / g
Recuento de E. coli NTC 4458	Menor de 10 ufc / g	Menor de 10 ufc / g
MOHOS Y LEVADURAS NTC 4132	0 UFC / g	DE 100 A 300 UFC/g
Identificación de Salmonella spp NTC 4574	Ausencia en 25 gramos	Ausencia en 25 gramos

OBSERVACIONES GENERALES: Esta muestra se encuentra dentro de los parámetros permitidos según lo dispuesto por el Ministerio de la Protección Social, de acuerdo a parámetros de la resolución 1407 de 2022

Revisó y aprobó:

Dra. Erika Flórez Ruiz
Microbióloga E.A.

FIR-02 FECHA APROBACION JULIO 1 DE 2022 VERSION 1

NOTA: La persona en mención es quien asumió la toma de muestra y transporte al laboratorio "POR LO TANTO SE HACE UN DESCARGO DE RESPONSABILIDADES A LA EMPRESA EN MENCIÓN".

Dirección: Calle 7N # 25-26 Ceiba II Cúcuta - Colombia
Celular: 310 783 4565 / 312 478 6469 / 310 305 5417

microlabdelnorte@yahoo.com.co
laboratorioanalismicrobio@gmail.com

NIT. 60374053-3
Teléfono: 5920139

Anexo 12. Proceso de elaboración de las barras de chocolate.



PESAJE DE LA AZÚCAR



**MEZCLA DE LA AZÚCAR CON
LA MANTECA DE CACAO**



**PESAJE DEL MALTITOL Y
LECHE EN POLVO**



ADICIÓN EN EL REFINADOR



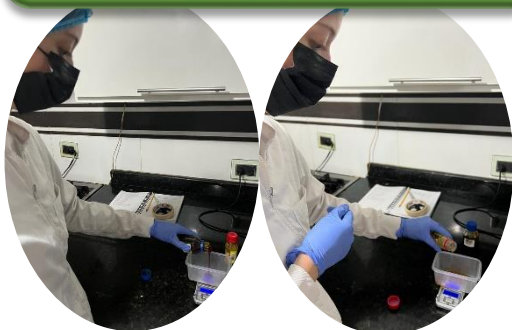
ADICIÓN EN EL REFINADOR



**REFINADO/CONCHADO DE LA
MEZCLA POR 72 HORAS**



PESAJE DE LA LECITINA DE SOJA Y LA VAINILLA



ADICIÓN Y REFINACIÓN DURANTE 30 MINUTOS MÁS



PESAJE DEL TÉ MATCHA



DISTRIBUCIÓN DEL CHOCOLATE PRODUCIDO PARA LA ELABORACIÓN DE LAS FORMULACIONES (F1, F2 Y F3)



MEZCLADO DEL TÉ MATCHA CON EL CHOCOLATE



ATEMPERADO

**PESAJE Y ADICIÓN DEL
*LACTOBACILLUS RHAMNOSUS***



MOLDEADO



DESMOLDADO



REFRIGERACIÓN



EMPACADO



ALMACENAMIENTO