



# UNIVERSIDAD TÉCNICA ESTATAL DE QUEVEDO

## FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS

### CARRERA DE INGENIERÍA EN ALIMENTOS

Unidad Integradora Curricular  
previo a la obtención del título  
de Ingeniera en Alimentos

#### **Unidad Integradora Curricular:**

“INCORPORACIÓN DE COMPUESTOS BIOACTIVOS DE MUCÍLAGO DE CACAO (*Theobroma cacao* L.) Y PULPA DE MORTIÑO (*Vaccinium floribundum* Kunth.) EN EL DESARROLLO DE CHOCOLATE BLANCO CON PROPÓSITOS FUNCIONALES”

#### **Autora:**

Ariana Beatriz Hernández Pérez

#### **Directora de la Unidad Integradora Curricular:**

Ing. Wilma Maribel Llerena Silva, MSc. (UTEQ)

#### **Codirector de la Unidad Integradora Curricular:**

Dr. Iván Rodrigo Samaniego Maigua, MSc. (INIAP)

**Mocache – Los Ríos – Ecuador**

**2020**



## **DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y CESIÓN DE DERECHOS**

Yo, Hernández Pérez Ariana Beatriz, declaro que la investigación aquí descrita es de mi autoría; que no ha sido previamente presentada para ningún grado o calificación profesional; y, que he consultado las referencias bibliográficas que se incluyen en este documento.

La Universidad Técnica Estatal de Quevedo, puede hacer uso de los derechos correspondientes a este documento, según lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, por su Reglamento y por la normativa institucional vigente.

---

**Hernández Pérez Ariana Beatriz**

**C.I. 0928851237**



## **CERTIFICACIÓN DE CULMINACIÓN DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN**

Ing. Wilma Maribel Llerena Silva, MSc. Docente de la Facultad de Ciencias Pecuarias de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo y el Dr. Iván Samaniego Maigua, MSc., Investigador del Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIAP)

CERTIFICAN que la estudiante Hernández Pérez Ariana Beatriz, realizó la Unidad Integradora Curricular titulada “INCORPORACIÓN DE COMPUESTOS BIOACTIVOS DE MUCÍLAGO DE CACAO (*Theobroma cacao* L.) Y PULPA DE MORTIÑO (*Vaccinium floribundum* Kunth.) EN EL DESARROLLO DE CHOCOLATE BLANCO CON PROPÓSITOS FUNCIONALES”, previo a la obtención del título de Ingeniera en Alimentos, bajo nuestra dirección, habiendo cumplido con las disposiciones reglamentarias establecidas para el efecto.

---

Ing. Wilma Llerena Silva, MSc. (UTEQ)

**DIRECTORA**

---

Dr. Iván Samaniego Maigua, MSc. (INIAP)

**CODIRECTOR**

## CERTIFICACIÓN DEL URKUND EMITIDA POR LA DIRECTORA

Yo: **Ing. Wilma Llerena Silva, MSc.**, docente de la Facultad de Ciencias Pecuarias y el **Dr. Iván Samaniego Maigua, MSc.**, Investigador del Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIAP), en calidad de Auspiciantes Académicos de la Unidad de Integración Curricular certificamos que se ha usado la herramienta informática URKUND producto del análisis se obtuvo una similitud de un 1% la cual no indica en ningún momento la presencia de plagio o de falta de rigor en el documento, por consiguiente doy constancia que se ha revisado la Unidad de Integración Curricular titulada “**INCORPORACIÓN DE COMPUESTOS BIOACTIVOS DE MUCÍLAGO DE CACAO (*Theobroma cacao* L.) Y PULPA DE MORTIÑO (*Vaccinium floribundum* Kunth.) EN EL DESARROLLO DE CHOCOLATE BLANCO CON PROPÓSITOS FUNCIONALES**”, el mismo que ha sido elaborado y presentado por la estudiante **Ariana Beatriz Hernández Pérez**, por lo tanto, el presente trabajo cumple con los requisitos técnicos y legales de la institución.



### Document Information

---

Analyzed document	TFG_ARIANA HERNANDEZ_final.docx (D86403666)
Submitted	11/23/2020 11:59:00 PM
Submitted by	
Submitter email	ariana.hernandez2015@uteq.edu.ec
Similarity	1%
Analysis address	wllerenas.uteq@analysis.arkund.com

---

Ing. Wilma Llerena Silva, MSc. (UTEQ)

**DIRECTORA**

---

Dr. Iván Samaniego Maigua, MSc. (INIAP)

**CODIRECTOR**



**UNIVERSIDAD TÉCNICA ESTATAL DE QUEVEDO**

**FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS**

**INGENIERÍA EN ALIMENTOS**

**Título:**

**“INCORPORACIÓN DE COMPUESTOS BIOACTIVOS DE MUCÍLAGO DE CACAO (*Theobroma cacao* L.) Y PULPA DE MORTIÑO (*Vaccinium floribundum* Kunth.) EN EL DESARROLLO DE CHOCOLATE BLANCO CON PROPOSITOS FUNCIONALES”**

Presentado a la Comisión Académica como requisito previo a la obtención del título de Ingeniera en Alimentos.

Aprobado por:

---

Ing. Christian Vallejos Torres, MSc.

**PRESIDENTE DEL TRIBUNAL**

---

Ing. Carol Coello Loor, MSc.

**MIEMBRO DEL TRIBUNAL**

---

Ing. Jaime Vera Chang, MSc.

**MIEMBRO DEL TRIBUNAL**

Mocache - Los Ríos - Ecuador

2020

## AGRADECIMIENTO

A Dios por darme vida y ser mi fortaleza en todo este tiempo, por guiarme, cuidarme y permitirme llegar hasta aquí.

A mi familia... mi papi, mi mamá, mis hermanos, mi cuñado y mi sobrino, por su confianza, amor y apoyo incondicional, sus palabras de aliento, su compañía en todo tiempo, son mi razón de ser y el motivo de todo mi esfuerzo para cumplir esta meta, gracias por estar para mí.

A Ro por su total apoyo, por animarme todo el tiempo y ser mi soporte, acompañarme de principio a fin en este proceso y sobre todo por su inagotable paciencia. Porque sé que puedo contar contigo sin importar las circunstancias, gracias infinitas.

A la Ing. Wilma Llerena por darme la oportunidad de trabajar con ella, por su comprensión, confianza, generosidad y paciencia. La admiro y respeto, valoro su dedicación y esfuerzo para enseñarme y direccionarme en la realización de este proyecto.

A la Asociación “La Cruz”; Departamento de nutrición y calidad, Estación Experimental Santa Catalina (INIAP); Empresa ANDES KINKUNA; Chocolatería “La Nobleza” y a la Universidad Técnica Estatal de Quevedo a través del Proyecto del Fondo competitivo FOCICYT 2019-2020: VALORIZACIÓN DE RESIDUOS DE LA CADENA DE BENEFICIO DEL CACAO (*Theobroma cacao* L.) PARA LA OBTENCIÓN DE COMPUESTOS BIOACTIVOS CON PROPÓSITOS FUNCIONALES por su colaboración con gran parte de esta investigación.

A Stefania, Carlos, Alizon, Jorge y Cristhian, mis amigos incondicionales durante toda mi etapa universitaria, los voy a extrañar.

A mis compañeros y futuros colegas que son parte de este trabajo por su amistad y el apoyo mutuo.

## DEDICATORIA

A mis papás que son el pilar fundamental de mi vida y por quienes he llegado tan lejos gracias a su amor y enseñanza; espero recompensarles todo lo que han hecho por mí y llenarlos de mucho orgullo.

A mi hermano menor Samuel, espero ser un buen ejemplo para ti y que verme toda una profesional te inspire a lograr mucho más que yo.

A mi hermana Pamela, este logro también es tuyo... aplaudo tu decisión, estoy orgullosa de ti y feliz de incorporarme contigo.

A mi papi Germán y mi mami Monse, sé lo orgullosos que están de verme crecer y alcanzar mis metas.

Finalmente, a Rodolfo, me has ayudado a ser mejor y a crecer como persona... “usted no sabe cómo yo valoro su sencillo coraje de quererme”.

Con mucho cariño y entrega, los amo.

## RESUMEN EJECUTIVO Y PALABRAS CLAVES

Actualmente, existe un interés por la demanda de alimentos saludables que puedan tener un efecto beneficioso para la salud de los consumidores. La evidencia científica avala que el consumo de determinados compuestos presentes en los alimentos de forma natural, tiene una relación inversa con la disminución del riesgo de padecer enfermedades crónicas no transmisibles. Entre estos componentes presentes en alimentos de origen vegetal, los polifenoles y flavonoides son considerados potentes antioxidantes con numerosos efectos beneficiosos. El mortiño y productos derivados del cacao (mucílago), destacan por tener un alto contenido de compuestos bioactivos (antioxidantes). Sin embargo, se ha demostrado que en el proceso de beneficio del cacao se producen pérdidas de productos como el mucílago, de igual forma se desaprovecha el valor biológico de frutos exóticos no explotados como el mortiño. Por ello, es importante reducir el desaprovechamiento de estas fuentes de compuestos bioactivos mediante su valorización. Este trabajo consistió en la obtención de chocolate blanco con propiedades funcionales, mediante la incorporación de microencapsulados de mucílago de cacao y pulpa de mortiño en concentraciones:  $60 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ,  $80 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  y  $100 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ . Los resultados mostraron el efecto de los microencapsulados sobre la capacidad antioxidante del chocolate, obteniendo los valores más altos en los tratamientos VIMD ( $66 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  mortiño,  $94 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  mucílago) y VCMC ( $80 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  mortiño,  $80 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  mucílago). Se realizó la caracterización funcional de los mejores tratamientos en virtud de su capacidad antioxidante; VIMD alcanzó un contenido fenólico de  $190,02 \text{ mg AGE}\cdot 100\text{g}^{-1}$  en polifenoles totales y  $172,16 \text{ mg CE}\cdot 100\text{g}^{-1}$  en flavonoides, mientras que el tratamiento VCMC presentó un contenido fenólico de  $196,45 \text{ mg AGE}\cdot 100\text{g}^{-1}$  en polifenoles y  $158,06 \text{ mg CE}\cdot 100\text{g}^{-1}$  en flavonoides totales. El chocolate presenta superficie brillante y tendencia hacia el color rojo, además un alto índice de amarillez.

**Palabras claves:** Valorización, mucílago, mortiño, antioxidantes, microencapsulación, alimentos funcionales.

## ABSTRACT AND KEYWORDS

Currently, there is an interest in the demand for healthy foods that may have a beneficial effect on the health of consumers. Scientific evidence supports that the consumption of certain compounds naturally present in food has an inverse relationship with the decrease in the risk of suffering from chronic non-communicable diseases. Among these components present in foods of plant origin, polyphenols and flavonoids are considered powerful antioxidants with numerous beneficial effects. Mortiño and products derived from cocoa (mucilage) stand out for having a high content of bioactive compounds (antioxidants). However, it has been shown that losses of products such as mucilage occur in the process of benefitting cocoa, in the same way the biological value of unexploited exotic fruits such as mortiño is wasted. Therefore, it is important to reduce the waste of these sources of bioactive compounds through their recovery. This work consisted in obtaining white chocolate with functional properties, by incorporating microencapsulates of cocoa mucilage and mortiño pulp in concentrations: 60 mg • kg<sup>-1</sup>, 80 mg • kg<sup>-1</sup> and 100 mg • kg<sup>-1</sup>. The results showed the effect of the microencapsulates on the antioxidant capacity of chocolate, obtaining the highest values in the treatments VIMD (66 mg • kg<sup>-1</sup> mortiño, 94 mg • kg<sup>-1</sup> mucilage) and VCMC (80 mg • kg<sup>-1</sup> mortiño, 80 mg • kg<sup>-1</sup> mucilage). The functional characterization of the best treatments was carried out by virtue of their antioxidant capacity; VIMD reached a phenolic content of 190.02 mg AGE • 100g<sup>-1</sup> in total polyphenols and 172.16 mg CE • 100g<sup>-1</sup> in flavonoids, while the VCMC treatment presented a phenolic content of 196.45 mg AGE • 100g<sup>-1</sup> in polyphenols and 158.06 mg EC • 100g<sup>-1</sup> in total flavonoids. Chocolate has a shiny surface and a tendency towards red color, as well as a high yellowness index.

**Keywords:** Valorization, mucilage, mortiño, antioxidants, microencapsulation, functional foods.

# TABLA DE CONTENIDO

INTRODUCCIÓN.....	1
CAPÍTULO I.....	3
CONTEXTUALIZACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN .....	3
1.1. Problema de Investigación.....	4
1.1.1. Planteamiento del problema. ....	4
1.1.1.1. Diagnóstico.....	4
1.1.1.2. Pronóstico.....	5
1.1.2. Formulación del Problema.....	5
1.1.3. Sistematización del problema. ....	5
2.2. Objetivos.....	6
2.2.1. Objetivo General.....	6
2.2.2. Objetivos Específicos. ....	6
2.3. Justificación. ....	7
CAPÍTULO II.....	8
FUNAMENTACIÓN TEÓRICA DE LA INVESTIGACIÓN .....	8
2.1. Marco Conceptual.....	9
2.1.1. Chocolate.....	9
2.1.2. Sucedáneo del chocolate.....	9
2.1.3. Chocolate blanco. ....	9
2.1.4. Enfermedades crónicas no transmisibles (ECNT).....	9
2.1.5. Alimentos funcionales. ....	9
2.1.6. Microencapsulación.....	10
2.1.7. Compuestos bioactivos.....	10
2.1.8. Antioxidantes.....	10
2.1.9. Polifenoles. ....	10
2.1.10. Antocianinas. ....	11
2.1.11. Vitamina C.....	12
2.1.12. Radicales libres.....	12
2.2. Marco Teórico.....	13
2.2.1. Cacao, cultivo y variedades. ....	13
2.2.2. Producción de cacao en Ecuador. ....	15

2.2.3.	Industrialización del cacao.....	16
2.2.4.	Agro valorización.....	17
2.2.4.1.	Mucílago de cacao.....	17
2.2.4.2.	Mortiño.....	18
2.3.	Marco Referencial.....	19
CAPÍTULO III .....		22
METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN .....		22
3.1.	Localización.....	23
3.2.	Tipo de investigación.....	23
3.2.1.	Exploratoria.....	23
3.2.2.	Cuantitativa.....	24
3.3.	Métodos de Investigación.....	24
3.3.1.	Método inductivo – deductivo.....	24
3.3.2.	Métodos estadísticos.....	24
3.4.	Fuentes de recopilación de información.....	24
3.4.1.	Fuentes primarias.....	24
3.4.2.	Fuentes secundarias.....	25
3.5.	Diseño de la Investigación.....	25
3.5.1.	Esquema del ANDEVA.....	26
3.5.2.	Modelo matemático.....	26
3.6.	Procedimiento experimental.....	27
3.6.1.	Muestreo.....	27
3.6.2.	Fermentación del cacao.....	27
3.6.3.	Preparación de las muestras.....	28
3.6.3.1.	Obtención de extractos fenólicos.....	28
3.6.4.	Microencapsulación.....	28
3.6.5.	Desarrollo de la formulación del chocolate blanco.....	29
3.7.	Caracterización fisicoquímica.....	29
3.7.1.	Color.....	29
3.8.	Actividad Antioxidante.....	29
3.8.1.	Extracción de componentes bioactivos.....	29
3.8.2.	Actividad antioxidante ABTS.....	30
3.8.3.	Actividad antioxidante FRAP.....	30

3.9.	Análisis sensorial.....	30
3.10.	Propiedades funcionales chocolate blanco.....	31
3.10.1.	Antocianinas Totales.....	31
3.10.2.	Flavonoides Totales.....	31
3.10.3.	Vitamina C.....	32
3.10.4.	Polifenoles totales.....	32
3.11.	Estabilidad microbiológica.....	32
3.12.	Costo de Producción.....	32
3.13.	Recursos humanos y materiales.....	32
3.13.1.	Recursos humanos.....	32
3.13.2.	Materiales.....	33
Materia prima.....		33
Materiales de laboratorio.....		33
Equipos.....		34
Reactivos.....		34
CAPÍTULO IV .....		35
RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....		35
4.1.	Caracterización Fisicoquímica.....	36
4.1.1.	Color.....	36
4.2.	Actividad Antioxidante.....	40
4.2.1.	Actividad Antioxidante ABTS.....	41
4.2.2.	Actividad Antioxidante FRAP.....	44
4.3.	Análisis sensorial.....	47
4.3.1.	Prueba Hedónica.....	47
4.3.2.	Prueba Descriptiva.....	50
4.4.	Caracterización Funcional.....	52
4.4.1.	Contenido fenólico.....	52
4.5.	Análisis Microbiológico.....	54
4.6.	Costos de producción.....	54
CAPÍTULO V.....		55
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES .....		55
5.1.	Conclusiones.....	56
5.2.	Recomendaciones.....	57

CAPITULO VI .....	58
BIBLIOGRAFÍA .....	58
CAPITULO VII.....	65
ANEXOS .....	65

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Composición química del cacao ( <i>Theobroma cacao</i> L.).....	14
<b>Tabla 2.</b> Composición nutricional del mucílago de cacao.....	18
<b>Tabla 3.</b> Composición nutricional del mortiño .....	19
<b>Tabla 4.</b> Localización del trabajo de investigación .....	23
<b>Tabla 5.</b> Combinación de tratamientos, puntos axiales y centro del plan de experiencia para adición de microencapsulados de pulpa de mortiño y mucílago de cacao en chocolate blanco.....	25
<b>Tabla 6.</b> Esquema del ANDEVA.....	26
<b>Tabla 7.</b> Análisis de Varianza para COLOR - Suma de Cuadrados Tipo III.....	74
<b>Tabla 8.</b> Análisis de Varianza para OLOR - Suma de Cuadrados Tipo III .....	74
<b>Tabla 9.</b> Análisis de Varianza para SABOR - Suma de Cuadrados Tipo III.....	74
<b>Tabla 10.</b> Análisis de Varianza para TEXTURA - Suma de Cuadrados Tipo III .....	74
<b>Tabla 11.</b> Costos directos: Materia Prima.....	76
<b>Tabla 12.</b> Costos directos: Materiales directos .....	76
<b>Tabla 13.</b> Costo de Insumos.....	76
<b>Tabla 14.</b> Gastos administrativos.....	76
<b>Tabla 15.</b> Costos de reparación y mantenimiento.....	77
<b>Tabla 16.</b> Equipos y mobiliarios.....	77
<b>Tabla 17.</b> Depreciación de equipos y enseres .....	77
<b>Tabla 18.</b> Mano de Obra .....	78
<b>Tabla 19.</b> Costos totales.....	78

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Mecanismo de acción del antioxidante (20). .....	10
<b>Figura 2.</b> Estructura química de los principales grupos de polifenoles (21). .....	11
<b>Figura 3.</b> Estructura química de las antocianinas (23). .....	11
<b>Figura 4.</b> Estructura de la Vitamina C (26). .....	12
<b>Figura 5.</b> Estructura del radical libre (28). .....	12
<b>Figura 6.</b> Partes del fruto de cacao .....	13
<b>Figura 7.</b> Fruto del mortiño ( <i>Vaccinium floribundum</i> Kunth) (45).....	18
<b>Figura 8.</b> Representación cromática en el espacio de color CIELab de las muestras de chocolate blanco con adición de microencapsulado de mucílago de cacao y pulpa de mortiño. ....	36
<b>Figura 9.</b> Superficie de respuesta de la concentración de microencapsulados de mucílago de cacao y pulpa de mortiño sobre la capacidad antioxidante del chocolate blanco medida por ABTS.....	42
<b>Figura 10.</b> Superficie de respuesta de la concentración de microencapsulados de mucílago de cacao y pulpa de mortiño sobre la capacidad antioxidante del chocolate blanco medida por FRAP.....	45
<b>Figura 11.</b> Perfil Sensorial de las nueve formulaciones de sucedáneo de chocolate con propósitos funcionales. ....	51

## ÍNDICE DE GRÁFICAS

<b>Gráfica 1.</b> Evaluación del croma de las muestras de chocolate blanco con adición de microencapsulado de mucílago de cacao y pulpa de mortiño. ....	37
<b>Gráfica 2.</b> Evaluación del tono de las muestras de chocolate blanco con adición de microencapsulado de mucílago de cacao y pulpa de mortiño. ....	38
<b>Gráfica 3.</b> Evaluación del índice de blancura de las muestras de chocolate blanco con adición de microencapsulado de mucílago de cacao y pulpa de mortiño.....	39
<b>Gráfica 4.</b> Evaluación del índice de amarillez de las muestras de chocolate blanco con adición de microencapsulado de mucílago de cacao y pulpa de mortiño.....	40
<b>Gráfica 5.</b> Evaluación de la capacidad antioxidante por ABTS en muestras de chocolate blanco.....	41
<b>Gráfica 6.</b> Análisis de varianza de la concentración de microencapsulados de mucílago de cacao y pulpa de mortiño sobre la capacidad antioxidante del chocolate blanco medida por ABTS.....	43
<b>Gráfica 7.</b> Evaluación de la capacidad antioxidante por FRAP en muestras de chocolate blanco.....	44
<b>Gráfica 8.</b> Análisis de varianza de la concentración de microencapsulados de mucílago de cacao y pulpa de mortiño sobre la capacidad antioxidante del chocolate blanco medida por FRAP. ....	46
<b>Gráfica 9.</b> Medias del efecto de concentración de microencapsulado sobre COLOR. ....	47
<b>Gráfica 10.</b> Medias del efecto de concentración de microencapsulado sobre OLOR. ....	48
<b>Gráfica 11.</b> Medias del efecto de concentración de microencapsulado sobre SABOR.....	49
<b>Gráfica 12.</b> Medias del efecto de concentración de microencapsulado sobre TEXTURA.....	49
<b>Gráfica 13.</b> Contenido fenólico de chocolate con adición de mucílago de cacao y mortiño: VIMD (66 mg•kg <sup>-1</sup> mortiño, 94 mg•kg <sup>-1</sup> mucílago), VCMC (80 mg•kg <sup>-1</sup> mortiño, 80 mg•kg <sup>-1</sup> mucílago). ....	52
<b>Gráfica 14.</b> Contenido de Antocianinas totales y Vitamina C.....	53

## ÍNDICE DE ANEXOS

<b>Anexo 1.</b> Árbol de problemas.....	66
<b>Anexo 2.</b> Procedimiento experimental .....	67
<b>Anexo 3.</b> Desarrollo de los sucedáneos de chocolate.....	68
<b>Anexo 4.</b> Evaluación Sensorial del chocolate blanco con propiedades funcionales.....	68
<b>Anexo 5.</b> Análisis fisicoquímico y microbiológico.....	69
<b>Anexo 6.</b> Hojas de cata Prueba Hedónica .....	70
<b>Anexo 7.</b> Hojas de cata Prueba descriptiva .....	72
<b>Anexo 8.</b> Resultados de Evaluación Sensorial .....	74
<b>Anexo 9.</b> Análisis Microbiológico .....	75
<b>Anexo 10.</b> Costos de Producción .....	76

## CÓDIGO DUBLIN

<b>Título:</b>	“INCORPORACIÓN DE COMPUESTOS BIOACTIVOS DE MUCÍLAGO DE CACAO ( <i>Theobroma cacao</i> L.) Y PULPA DE MORTIÑO ( <i>Vaccinium floribundum</i> Kunth.) EN EL DESARROLLO DE CHOCOLATE BLANCO CON PROPÓSITOS FUNCIONALES”
<b>Autor:</b>	Ariana Beatriz Hernández Pérez
<b>Palabras claves:</b>	Valorización, mucílago, mortiño, antioxidantes, microencapsulación, alimentos funcionales.
<b>Fecha de publicación:</b>	
<b>Editorial:</b>	Quevedo. UTEQ, 2020
<b>Resumen:</b>	<p>Actualmente, existe un interés por la demanda de alimentos saludables que puedan tener un efecto beneficioso para la salud de los consumidores. La evidencia científica avala que el consumo de determinados compuestos presentes en los alimentos de forma natural, tiene una relación inversa con la disminución del riesgo de padecer enfermedades crónicas no transmisibles. Entre estos componentes presentes en alimentos de origen vegetal, los polifenoles y flavonoides son considerados potentes antioxidantes con numerosos efectos beneficiosos. El mortiño y productos derivados del cacao (mucílago), destacan por tener un alto contenido de compuestos bioactivos (antioxidantes). Sin embargo, se ha demostrado que en el proceso de beneficio del cacao se producen pérdidas de productos como el mucílago, de igual forma se desaprovecha el valor biológico de frutos exóticos no explotados como el mortiño. Por ello, es importante reducir el desaprovechamiento de estas fuentes de compuestos bioactivos mediante su valorización. Este trabajo consistió en la obtención de chocolate blanco con propiedades funcionales, mediante la incorporación de microencapsulados de mucílago de cacao y pulpa de mortiño en concentraciones: 60 mg•kg<sup>-1</sup>, 80 mg•kg<sup>-1</sup> y 100 mg•kg<sup>-1</sup>. Los resultados mostraron el efecto de los microencapsulados sobre la capacidad antioxidante del chocolate, obteniendo los valores más altos en los tratamientos VIMD (66 mg•kg<sup>-1</sup> mortiño, 94 mg•kg<sup>-1</sup> mucílago) y VCMC (80 mg•kg<sup>-1</sup> mortiño, 80 mg•kg<sup>-1</sup> mucílago). Se realizó la caracterización funcional de los mejores tratamientos en virtud de su capacidad antioxidante; VIMD alcanzó un contenido fenólico de 190,02 mg AGE•100g<sup>-1</sup> en polifenoles totales y 172,16 mg CE•100g<sup>-1</sup> en flavonoides, mientras que el tratamiento</p>

	VCMC presentó un contenido fenólico de 196,45 mg AGE•100g-1 en polifenoles y 158,06 mg CE•100g-1 en flavonoides totales. El chocolate presenta superficie brillante y tendencia hacia el color rojo, además un alto índice de amarillez.
<b>Descripción:</b>	95 hojas A4s, 21 x 29,7 cm + CD-ROM
<b>URL:</b>	

## INTRODUCCIÓN

Ecuador es un país tradicionalmente agrícola, gran parte de su desarrollo proviene de la producción de cacao; la cual genera significativas fuentes de ingresos económicos y brinda trabajo a miles de personas. Es considerado el octavo productor de cacao y el primer productor mundial de cacao fino y de aroma debido a su calidad única en el mundo, aportando el 50% de la oferta de este segmento del mercado (1,2).

Sin embargo, en la explotación cacaotera sólo se aprovecha económicamente la semilla, desperdiciando toneladas de materias que pueden servir para el desarrollo de productos novedosos y con gran valor nutricional. Los subproductos resultantes de esta actividad están asociados a la generación de grandes cantidades de desechos orgánicos (mucílago, cáscara, cascarilla y placenta), actualmente etiquetados como biomasa residual (3,4).

La biomasa residual se caracteriza especialmente por ser barata, renovable y abundante, lo que la convierte en un material interesante en diversos procesos industriales. En el sector cacaotero se pueden establecer dos grandes residuales; residuo industrial: cascarilla y residuo agrícola; cáscara y mucílago. Estudios previos, les atribuyen a estas materias una significativa capacidad antioxidante, proteínas, pectina y componentes de fibra dietética, así como otros compuestos de interés que revalorizan su uso (3,4).

En Ecuador, la producción frutícola es diversa gracias a que su ubicación geográfica presenta una variedad de condiciones climáticas idóneas para la producción de diversos productos todo el año, entre estos el mortiño. El mortiño es una fruta con alto contenido de compuestos polifenólicos que se expresan a través de una alta capacidad antioxidante. Esta baya aporta agua (80%), proteína (0.7%), grasa (1%), carbohidratos totales (16.9-18.1%), cenizas (0.4%) y fibra (7.6%). Sin embargo, no es aprovechado por la industria alimentaria ya que es considerado una planta silvestre; tradicionalmente se usa solo por temporada en la elaboración de colada morada (5,6).

Basándose en los antecedentes investigativos, este estudio propuso el desarrollo de chocolate blanco con adición de mucílago de cacao y pulpa de mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth.) con la finalidad de aprovechar los compuestos bioactivos presentes en estos alimentos, mejorando así la funcionalidad del sucedáneo de chocolate. En la actualidad, el desarrollo de alimentos funcionales en productos de confitería como el chocolate blanco es muy limitado. La falta de interés en este producto se debe a la naturaleza de su composición,

porque se elabora a partir de azúcar, sólidos lácteos y grasas hidrogenadas. Además, no contiene partículas de cacao oscuro siendo carente de antioxidantes (7).

Para la incorporación de antioxidantes en la matriz alimentaria del chocolate blanco, el residuo de cacao (mucílago) y pulpa de mortiño fueron previamente sometidos a una técnica conocida como microencapsulación. Esta técnica se aplica para conservar el color, sabor y valor nutritivo de diferentes productos; consiste en la encapsulación de sustancias bioactivas (enzimas, sabores, vitaminas o aceites esenciales) en gomas (agar, alginato, carragenina), celulosas (etilcelulosa, metilcelulosa, acetilcelulosa) y otros agentes encapsulantes (8). El resultado de este estudio presenta una alternativa para la industria alimentaria en el desarrollo de alimentos funcionales mediante la agro valorización.

## **CAPÍTULO I**

# **CONTEXTUALIZACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN**

## **1.1. Problema de Investigación.**

### **1.1.1. Planteamiento del problema.**

En la actualidad el alto nivel de desarrollo de la industria, el perfeccionamiento e implementación de nuevas técnicas de procesamiento conlleva a la generación de residuos; siendo la industria de alimentos una de las grandes productoras de desperdicios. En Ecuador, las empresas cacaoteras son la base de la economía de los productores de la región costera y amazónica, por lo tanto, se genera gran cantidad de residuos del cacao. Según los expertos en producción de cacao, en esta explotación solo se aprovecha un 10% del peso del fruto fresco, siendo el 90 % productos de desecho principalmente en la etapa de postcosecha e industrialización del cacao, entre mucilago, cáscara y cascarilla (9).

Según el estudio realizado por Arteaga-Estrella (2013), el mucílago de cacao es un recurso saludable para la alimentación y el desarrollo de nuevos productos por su contenido de nutrientes, sin embargo, existen diversos factores por los que agricultores ecuatorianos desechan el mucílago, siendo más común la carencia de conocimientos acerca de las propiedades nutricionales que posee (72%), desinterés de los agricultores (22%) y la falta de innovación (6%). A esto se suma que en el país no existen tecnologías o estudios que permitan realizar la aplicación industrial de los residuos del cacao, por lo que, normalmente se desperdicia este material mucilaginoso en la postcosecha (10).

Además de los residuos de la industria existe una serie de frutos exóticos que presentan propiedades nutricionales y beneficios para la salud. El mortiño, es un fruto rico en sustancias antioxidantes como los polifenoles, sin embargo, su utilización en la industria alimentaria es limitada. Lamentablemente a esta planta se le ha dado mayor uso con fines ornamentales en floristerías como accesorio de silletas (11).

Es preciso disminuir el desperdicio indiscriminado de alimentos y residuos ricos en compuestos bioactivos, con excelentes propiedades nutricionales y considerarlos en innovadoras propuestas como su utilización en el desarrollo de productos funcionales.

#### **1.1.1.1. Diagnóstico.**

La explotación del cacao, genera un volumen de residuos desaprovechados por la industria que a gran escala resulta contaminante para el medio ambiente por la generación de malos

olores y presencia de plagas. El mucílago es esencialmente un producto de desecho, escasamente utilizado en la industria alimentaria. Mientras que, el mortiño es un fruto silvestre que no se ha explotado comercialmente. Por este motivo existen insuficientes estudios acerca de las propiedades nutricionales y los beneficios que aporta a la salud; esto ocasiona el desaprovechamiento de sus compuestos bioactivos, limitando su uso como alternativa para la industria alimentaria.

#### **1.1.1.2. Pronóstico.**

La innovación y calidad nutricional de los alimentos constituyen unos de los temas de mayor dinamismo en la industria alimentaria. Hoy en día, el enfoque es mejorar la composición de ciertos productos, yendo más allá de satisfacer las exigencias organolépticas del consumidor (gustos). La no ejecución de la presente investigación contribuirá a la continua acumulación de residuos generados por la industria agroalimentaria y el desaprovechamiento de los compuestos bioactivos de “desechos” y frutos exóticos. Por lo que, se desperdiciarán recursos de fuentes vegetales ricas en polifenoles (mucílago de cacao y mortiño). La extracción de dichas sustancias y su utilización en el campo de alimentos fortificados dejarían de ser una alternativa para el desarrollo de productos de confitería con propósitos funcionales; continuando con la producción de un chocolate blanco de baja calidad nutricional, cuyo consumo genera enfermedades cardiovasculares, diabetes, sobrepeso y obesidad.

#### **1.1.2. Formulación del Problema.**

¿La incorporación de compuestos bioactivos extraídos de residuos de la industria cacaotera (mucílago) y frutales exóticos (mortiño) mejoran la calidad del chocolate blanco?

#### **1.1.3. Sistematización del problema.**

- ✓ ¿La utilización de mucílago de cacao como portador de compuestos bioactivos enriquece nutricionalmente el chocolate blanco?
- ✓ ¿Es la microencapsulación una técnica eficaz para conservar los antioxidantes?
- ✓ ¿Qué efecto tiene la incorporación de compuestos bioactivos extraídos de mucílago de cacao y mortiño en el chocolate blanco?
- ✓ ¿Qué efecto tiene la utilización de mortiño en la aceptabilidad del chocolate blanco?

## **2.2 Objetivos.**

### **2.2.1. Objetivo General.**

Incorporar compuestos bioactivos de mucílago de cacao y pulpa de mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth.) en el desarrollo de chocolate blanco con propósitos funcionales.

### **2.2.2. Objetivos Específicos.**

- ✓ Valorizar los residuos de la industria cacaotera mediante la extracción de los compuestos bioactivos presentes en el mucílago de cacao.
- ✓ Determinar la concentración de microencapsulado del mucílago de cacao y pulpa de mortiño sin afectar el proceso tecnológico del chocolate blanco.
- ✓ Evaluar la actividad antioxidante del chocolate blanco por efecto de la incorporación de compuestos bioactivos microencapsulados.
- ✓ Determinar el efecto de la incorporación de compuestos bioactivos microencapsulados de mucílago de cacao y pulpa de mortiño en las propiedades fisicoquímicas y sensoriales de las formulaciones desarrolladas.
- ✓ Evaluar la estabilidad microbiológica del mejor tratamiento y costo de producción a nivel de laboratorio.

### **2.3. Justificación.**

En el campo de la industria alimentaria, existe un interés muy especial por explorar el área de los alimentos funcionales, dado que cada día se busca encaminar la producción hacia una alimentación sana que aporte mayores beneficios nutricionales. En este contexto, la industria se ha visto obligada a innovar, mejorando su capacidad de adaptación con el objetivo de ofertar productos de calidad. Para esto se ha considerado la inclusión de sustancias de origen natural extraídas de una fuente vegetal en el desarrollo de nuevos productos, puesto que los fitonutrientes contribuyen a la salud y el buen funcionamiento del organismo (6,12).

El mortiño es una planta endémica del Ecuador comúnmente utilizada para la preparación de productos tradicionales como la colada morada, vinos, dulces y mermeladas. Este fruto de la sierra ecuatoriana contiene sustancias fenólicas que, como se conoce son capaces de inhibir la acción de los radicales libres, por lo tanto, se puede aprovechar por la industria en el desarrollo de alimentos funcionales (6).

Recientemente, se ha dado mayor interés al uso de residuos del cacao en el desarrollo de diversos productos de valor agregado a escala industrial como: alimentos fortificados, complementos para nutrición animal, fertilizantes, entre otros. Para Vásquez y colaboradores (2019), estos productos también pueden ser aprovechados con un enfoque biotecnológico empleando moléculas constituyentes de los residuos del cacao, conocidos como compuestos bioactivos (4).

Esta investigación se planteó con la finalidad de valorizar los residuos de la industria cacaotera y frutos exóticos de poco consumo considerándolos como una alternativa para el desarrollo de alimentos funcionales. Para esto se elaboró un chocolate blanco con la incorporación de compuestos bioactivos microencapsulados (polifenoles, flavonoides) extraídos de mucílago de cacao y pulpa de mortiño, enriqueciendo la calidad del chocolate blanco de tal forma que su consumo produzca un estado de bienestar, mejorando la salud o reduciendo el riesgo de enfermedades.

## **CAPÍTULO II**

# **FUNAMENTACIÓN TEÓRICA DE LA INVESTIGACIÓN**

## **2.1. Marco Conceptual.**

### **2.1.1. Chocolate.**

Alimento elaborado a partir de pasta de cacao en polvo y azúcar pulverizada, considerado nutricionalmente completo por su contenido de grasa, proteína, carbohidratos, humedad, vitaminas y minerales, finalmente, está asociado a productos con efecto benéfico por el poder antioxidante de sus componentes (13).

### **2.1.2. Sucedáneo del chocolate.**

Producto artificial sin valor nutricional que contiene manteca de cacao, leche en polvo y azúcar. En su elaboración, cumplen con los requisitos establecidos en la normativa técnico-sanitaria. Pero por lo general, son considerados de baja calidad porque presenta sustitución parcial o total de la manteca de cacao, por otras grasas vegetales comestibles enmascarando su sabor con caramelo o saborizante artificial (14).

### **2.1.3. Chocolate blanco.**

El chocolate blanco es un derivado o subproducto del chocolate, no contiene sólidos de cacao y por lo tanto carece de todas las propiedades beneficiosas que éste provee al cuerpo. Según la USDA (2019), cada 100g de chocolate blanco está compuesto por proteína (7,5g), lípidos (40g), carbohidratos (50g), azúcares (50g). De la composición total de lípidos, 25g corresponden a ácidos grasos saturados. El consumo de este producto implica un aporte energético de 575 kcal (15).

### **2.1.4. Enfermedades crónicas no transmisibles (ECNT).**

Las enfermedades crónicas también conocidas como ECNT, tienden a ser de larga duración y su incidencia en la salud, se asocia a la combinación de factores genéticos, fisiológicos, ambientales y conductuales. Dentro de este grupo de patologías, se destacan las enfermedades cardiovasculares, problemas respiratorios crónicos, cáncer y diabetes (16).

### **2.1.5. Alimentos funcionales.**

Como concepto general estos son alimentos o componentes alimenticios cuyo consumo además de una nutrición básica, genera beneficios para la salud y/o reduce el riesgo de

enfermedad. Se considera funcional, un alimento en su estado natural, o un alimento al cual se han adicionado, removido o modificado uno o más de sus componentes (17).

#### 2.1.6. Microencapsulación.

Técnica utilizada por las diferentes industrias para mejorar la apariencia, color, sabor y valor nutritivo de diferentes productos (8). La microencapsulación consiste en la introducción de sustancias bioactivas y de bajo peso molecular (enzimas, sabores, vitaminas o aceites esenciales) en una membrana, barrera o película polimérica porosa que permita mantener su estabilidad y viabilidad (8,18).

#### 2.1.7. Compuestos bioactivos.

Los compuestos bioactivos son sustancias químicas esenciales y no esenciales que se encuentran en pequeñas cantidades en los alimentos y su consumo aporta beneficios para la salud humana. De acuerdo a diferentes estudios, estos componentes tienen un efecto antiinflamatorio y propiedades protectoras contra enfermedades cardiovasculares, entre estos encontramos los polifenoles (4).

#### 2.1.8. Antioxidantes.

Los antioxidantes son sustancias químicas capaces de neutralizar la oxidación de diversas sustancias, principalmente; de los ácidos grasos, cuyas reacciones se producen tanto en los alimentos como en el organismo humano. Estos provocan alteraciones fisiológicas desencadenantes de diversas enfermedades. Se los cono como antioxidantes porque facilitan el uso fisiológico del oxígeno y reducen los efectos del estrés oxidativo (19).

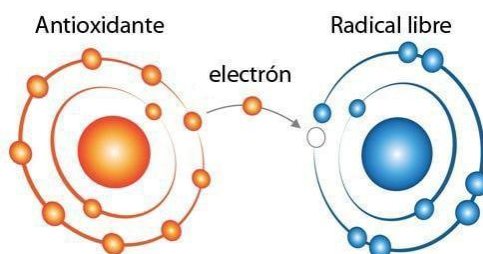
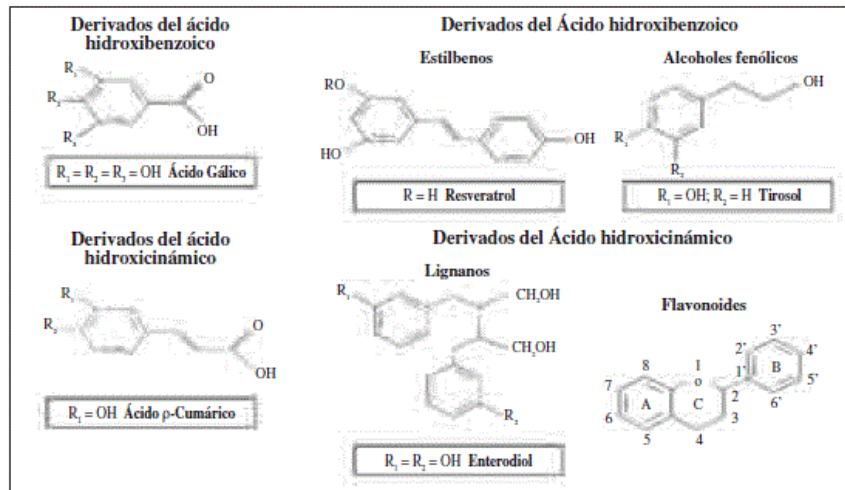


Figura 1. Mecanismo de acción del antioxidante (20).

#### 2.1.9. Polifenoles.

Conjunto heterogéneo de moléculas que comparten la característica de poseer en su estructura varios grupos bencénicos. Constituyen el grupo más importante de compuestos de

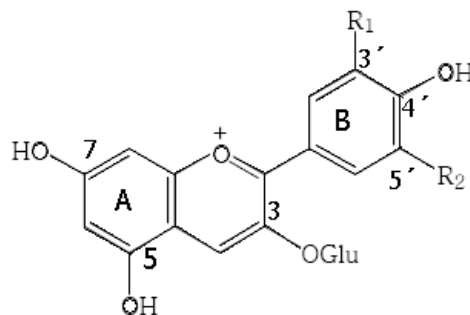
bajo peso molecular y se encuentran mayoritariamente como glucósidos flavonoides (hesperidina, naringina, antocianos, entre otros). Los principales grupos de polifenoles son: ácidos fenólicos, estilbenos, lignanos, alcoholes fenólicos y flavonoides; los compuestos polifenólicos son el grupo más grande de sustancias no energéticas presentes en alimentos de origen vegetal (21,22).



**Figura 2.** Estructura química de los principales grupos de polifenoles (21).

### 2.1.10. Antocianinas.

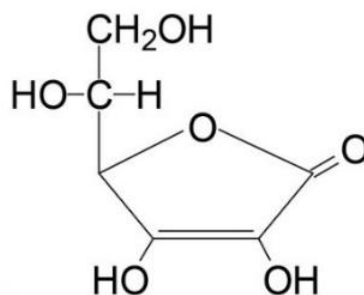
Son compuestos hidrosolubles y constituyen uno de los grupos más importantes de pigmentos vegetales, proporcionan el color malva, rosa, violeta y azulado a numerosas flores y frutos. Las antocianinas están ampliamente distribuidas en la dieta humana, se pueden encontrar en ciertas variedades de cereales, en el vino tinto, aunque aparecen mayormente en las frutas (21,22).



**Figura 3.** Estructura química de las antocianinas (23).

### 2.1.11. Vitamina C.

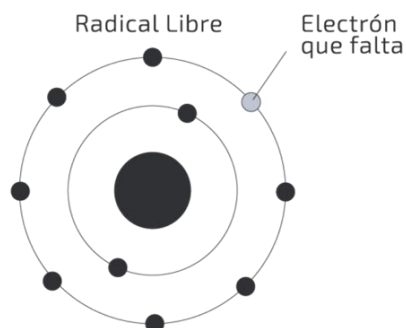
El ácido ascórbico o Vitamina C es una sustancia orgánica, hidrosoluble con propiedades ácidas y fuertemente reductoras, se sintetiza químicamente a partir de la glucosa mediante una serie de reacciones enzimáticas. A nivel fisiológico se lo considera como un agente antioxidante necesario para la formación y mantenimiento adecuado del material intercelular. Puesto que, ayuda a proteger las células contra los daños causados por los radicales libres reduciendo su acción perjudicial y coadyuva al mejoramiento de la absorción del hierro no hemínico (24,25).



**Figura 4.** Estructura de la Vitamina C (26).

### 2.1.12. Radicales libres.

Los radicales libres son átomos o grupo de átomos que tienen un electrón desapareado o libre, por lo que, son muy reactivos. Estos tienden a captar un electrón de moléculas estables con el fin de alcanzar su estabilidad electroquímica, iniciando una reacción en cadena que destruye las células del cuerpo humano (27).



**Figura 5.** Estructura del radical libre (28).

## 2.2. Marco Teórico.

### 2.2.1. Cacao, cultivo y variedades.

El cacao (*Theobroma cacao* L.), es una especie del género *Theobroma* de la familia de las Malvaceae, nativo de las regiones tropicales húmedas de América del Sur. El cacao es un cultivo perenne que requiere condiciones climáticas adecuadas de temperatura, humedad y precipitaciones para obtener buenos rendimientos de producción (29).

El fruto del cacao es conocido como mazorca, pesa aproximadamente 450g cuando alcanza la madurez fisiológica. Las dimensiones de esta baya varían de 15 a 30cm de longitud por 7 a 12cm de ancho. En el interior contiene una pulpa blanca viscosa, dulce y comestible, que envuelve 30 a 50 granos con forma de judías (dicotiledóneas), acomodados en filas en el enrejado que forma la pulpa alrededor de la placenta (30).



**Figura 6.** Partes del fruto de cacao

Existen tres tipos de cacao (criollos, trinitarios y forasteros), de los cuales se desprenden variedades, híbridos y clones que hoy se siembran en el mundo, como se detalla a continuación:

El cacao “criollo” es cultivado principalmente en Centroamérica, se caracteriza por presentar un sabor refinado, suave y aroma afrutado. Los frutos de esta variedad son alargados, de punta pronunciada, doblada y aguda. La superficie del fruto es generalmente rugosa, delgada, de color verde con manchas que van desde el color rojo a púrpura oscuro. Las almendras son grandes y gruesas, ligeramente amargas y secas; cuya superficie está marcada por surcos profundos. A pesar que esta variedad es apreciada porque aporta chocolates de mayor calidad, su presencia como cultivo se ha visto reducida por ser susceptible a enfermedades y su baja productividad (29).

A partir de un proceso de cruzamiento espontáneo y natural, entre plantas del cacao Criollo y Forastero nace un híbrido conocido como “Trinitario”. Por lo que, combina las características gustativas y olfáticas de ambas variedades, alcanzando un amplio rango de sabores aromáticos y persistentes al paladar. Actualmente, se cultiva en América y algunos países de África con un 15% de la producción mundial. Los frutos de este híbrido son de color verde o pigmentado y las almendras van del violeta oscuro al rosa pálido. Son reconocidos en el mercado por la calidad del grano procesado (29).

El cacao “Forastero” es una variedad que domina la producción y el comercio mundial, siendo la más común y la más resistente a plagas y enfermedades. Los frutos son ovalados y cortos, de superficie lisa y corteza gruesa. El color varía según su etapa de madurez de verde a amarillo, cuando alcanza la madurez fisiológica. Los granos son pequeños y aplanados, cuyo color va de púrpura oscuro hasta el violeta pálido, de acuerdo al contenido de taninos (29).

La composición química del cacao es un determinante de la calidad de la almendra; factores como la variedad (genética), ambiente, técnicas de cultivo y el proceso de fermentación influyen en la composición de la almendra (31).

**Tabla 1.** *Composición química del cacao (Theobroma cacao L.)*

<b>Parámetro</b>	<b>Porcentaje (%)</b>
Grasa	53.05
Agua	3.65
Nitrógeno Total	2.28
Nitrógeno proteico	1.50
Teobromina	1.71
Cafeína	0.085
<b>Carbohidratos</b>	
Glucosa	0.30
Sacarosa	1.58
Almidón	6.10
Pectinas	2.25
Fibra	2.09
Polifenoles	7.54
<b>Ácidos</b>	
Acético libre	0.14
Oxálico	0.29

**FUENTE** (32).

### **2.2.2. Producción de cacao en Ecuador.**

El Ecuador ha basado su economía en el sector agropecuario, siendo uno de los principales rubros la producción de cacao, con fines de exportación. Este producto se lo vende a nivel mundial como granos o almendras, semielaborados y chocolate. En el país se cultivan mayoritariamente dos tipos de cacao: la variedad Sabor Arriba (Nacional o Fino de aroma) y el clon de la Colección Castro Naranjal, más conocido como CCN-51 (33).

Por las condiciones geográficas y la riqueza en recursos biológicos, el país se ha posicionado como el más competitivo de América Latina, en la producción de Cacao fino y de aroma. La excelencia de este producto emblemático se debe a las características distintivas de aromas y sabores frutales y florales que sólo se alcanzan en la geografía ecuatoriana. Por lo que, es ampliamente reconocido por la industria de confitería para la producción de chocolates refinados (33).

El clon CCN-51 fue creado en 1965 por el agrónomo ambateño Homero Castro Zurita, se caracteriza por su capacidad productiva y su resistencia a enfermedades. Los frutos de este clon poseen una coloración rojiza antes y después de alcanzar el estado de madurez fisiológica, además es reconocido por sus características de alto rendimiento para la extracción de semielaborados, ingredientes esenciales para la producción a escala de chocolates y otros productos (33).

A pesar de las características distintivas de aroma y sabor que posee el cacao fino de aroma, esta variedad no es la que mayormente se produce en el país. Según un informe derivado del levantamiento de información sobre rendimientos objetivos del cacao publicado por el Ministerio de Agricultura y Ganadería (2017), el cacao CCN-51 presenta mayor rendimiento (0.65t/ha) que el cacao Nacional (0.33 t/ha), esto se debe a la resistencia a enfermedades del CCN-51 y su alto rendimiento productivo (34).

El cacao se cultiva desde el nivel del mar hasta los 800 msnm; sin embargo, en Ecuador las plantaciones se desarrollan de manera normal en altitudes mayores: desde los 1000 hasta los 1400 msnm. Requiere suelos profundos, preferentemente planos, capaz de una buena retención de humedad, estructura granular, drenaje moderado, buena fertilidad, un porcentaje de materia orgánica de al menos 3% y el pH óptimo que se encuentra entre los 6,0 a 7,0 (35).

Este cultivo ha evolucionado adaptándose a ambientes cálido-húmedos, la mejor temperatura media anual para el cultivo comercial se ubica en 25°, mínimo 21°C; es una especie muy sensible a la falta de agua. Para el desarrollo del máximo potencial productivo del cacao, la estación seca no debe extenderse más de tres meses, en caso contrario se debe aplicar riego suplementario para estimular la floración del cacao; evitar encharcamiento y baja conductividad hidráulica (36).

### **2.2.3. Industrialización del cacao.**

El cacao no es un producto que puede ser consumido en su estado natural. Para mejorar las características sensoriales y la asimilación de este fruto se requiere de procesos de transformación de las almendras, en chocolate y sus derivados. Independientemente de la variedad utilizada para la producción de chocolate, las etapas de cosecha y postcosecha influyen en la calidad del grano (37).

La elaboración de un buen chocolate inicia en la cosecha, por lo que, la recolección de las mazorcas debe realizarse evitando dañar los cojines florales del árbol y cuando están maduras. Al momento de abrir el fruto no se deben provocar lesiones innecesarias o dañar los granos. De igual manera, la cosecha es una etapa crítica para lograr un buen proceso de fermentación, ya que de esta depende que se generen los cambios químicos necesarios responsables de la calidad de las almendras (38).

Durante la fermentación del grano de cacao se produce moléculas precursoras necesarias para el desarrollo adecuado del sabor del chocolate, si la fermentación excesiva, esta conduce a un mal desarrollo del sabor durante el tostado (39). Para obtener granos de calidad, se deben fermentar las almendras de tres a cinco días con un único volteo después de 24 a 36 horas. Sin embargo, las condiciones de aireación y la frecuencia de volteo va a depender de la variedad de cacao y la relación pulpa/grano (38).

La industrialización del cacao comprende una serie de etapas como la selección, limpieza del grano, tostado, separación de cascarilla y trituration. El secado debe iniciarse inmediatamente después del período de fermentación, hasta alcanzar un contenido de humedad entre 6% y 8%, lo que permite la inactivación de enzimas. A menudo, el secado se realiza bajo la luz natural directa del sol durante una o dos semanas garantizando que el contenido de humedad disminuya (39).

#### **2.2.4. Agro valorización.**

Según la Real Academia Española la palabra valorizar significa aumentar el valor de algo (40); en la industria, el concepto de valor agregado hace referencia a la transformación de materias primas en productos elaborados. Sin embargo, en economía circular este término está direccionado a minimizar el desperdicio, buscando transformar los productos que se encuentran al final de la cadena de producción en recursos para otros fines (41).

El objetivo de la valorización de residuos en la industria alimentaria es cerrar lazos en los ecosistemas industriales, a través de la reducción de desperdicios orgánicos, asociados a la contaminación ambiental. De acuerdo a la Directiva Marco de Residuos de la Unión Europea (2008), es prioridad la reducción de desechos orgánicos seguido por el reciclaje y reutilización, dejando como última opción la eliminación (42).

Actualmente, la mayoría de industrias en el mundo están obligadas a generar protocolos que disminuyan la producción de biomasa residual. Es así que en los últimos años el uso de residuos agroindustriales se ha convertido en un tema relevante a nivel mundial. En el proceso productivo de los alimentos, además del producto deseado y subproductos, se generan residuos que pueden ser aprovechados de diversas formas por el contenido de sustancias bioactivas que aportan beneficios para la salud humana y un valor de mercado (43).

En la cadena de beneficio de las frutas se generan subproductos que, debido a sus propiedades favorables, podrían ser fuentes prometedoras de compuestos bioactivos (polifenoles) con potencial industrial. Sin embargo, la mayoría de industrias no cuenta con un plan de manejo de residuos. Considerándose más económico la eliminación de desechos, que la reutilización. Existen básicamente tres alternativas para la valorización de residuos agroindustriales: valorización biológica y química (compostaje, lombricultura y extracción de sustancias), obtención de combustibles (subproducto del compostaje y pirolisis) y la valorización térmica (degradación de moléculas orgánicas por el calor) (44).

##### **2.2.4.1. Mucílago de cacao.**

El mucílago, pulpa o como se le conoce comúnmente “baba” de cacao es un subproducto del cacao, visualmente se caracteriza por ser una masa blanca que rodea los granos de cacao. Esta sustancia viscosa está compuesta por células esponjosas parenquimatosas, que contiene células de savia ricas en azúcares (10-13%), pentosas (2-3%), ácido cítrico (1-2%) y sales

(8-10%); es necesaria para la fermentación ya que provee el sustrato para varios microorganismos esenciales para el desarrollo de los precursores del sabor del chocolate (10).

Según estudio al mucílago de cacao de la variedad CCN-51, en una investigación realizada en el Laboratorio Santa Catalina de INIAP-Quito se presentan los siguientes resultados que certifican este subproducto del cacao como un recurso valioso y saludable para la alimentación diaria.

**Tabla 2.** Composición nutricional del mucílago de cacao

Parámetro	Cantidad
Humedad	77.34%
Cenizas	2.91%
Extracto eterio (E.E)	0.36%
Proteína	5.41%
Fibra	8.22%
Azúcares Totales	62.95%
Azúcares reductores	11,98%

#### 2.2.4.2. Mortiño.

El mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth.) es una planta silvestre endémica del Ecuador que pertenece a la familia de las Ericaceae, su fruto, una baya de 5 a 8mm de diámetro es de color azul y azul oscuro evidenciando la alta concentración de antocianinas, pero, naturalmente este fruto es consumido fresco por aves y animales autóctonos y tradicionalmente se utiliza para la elaboración de colada morada. Actualmente aunque no de forma común se la utiliza para la elaboración de postres, jugos, vinos, helados, frutos deshidratados, entre otros (6).



**Figura 7.** Fruto del mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth) (45).

Debido a las propiedades y cualidades nutricionales que presenta el mortiño como se detalla en la siguiente tabla, el consumo de esta baya se ha incrementado y la ha posicionado como un fruto rico en compuestos antioxidantes, polifenoles y antocianinas.

**Tabla 3.** *Composición nutricional del mortiño*

<b>Parámetro</b>	<b>Cantidad</b>
Humedad (g)	80,09 ± 0,16
Proteína (g)	0,76
Minerales (mg)	
Ca	15,54 ± 1,14
K	142,04 ± 1,88
Mg	21,22 ± 1,90
Cu	0,11 ± 0,00
Zn	0,21 ± 0,00
Fe	0,77 ± 0,00
Fibra dietética Total (g)	5,87
Azúcares (g)	
Fructosa	4,55 ± 0,08
Glucosa	2,96 ± 0,04
Sacarosa	ND
Ácido ascórbico (g)	14
B-carotenos (ug)	36
Tiamina (mg)	0,05
Rivoflavina (mg)	0,05
Niacina (mg)	0,18
Ácido patoténico (mg)	0,09

**FUENTE** (46).

### **2.3. Marco Referencial.**

La evolución de los hábitos nutricionales ha sido muy variable a través del tiempo, pero siempre soportada con el criterio básico de mantener la salud. Cada día las exigencias de los consumidores se dirigen más a la búsqueda de nuevos productos con propósitos funcionales. Se considera funcional, un alimento en su estado natural, o un alimento al cual se han adicionado, removido o modificado uno o más de sus componentes. Uno de los factores más importantes para el éxito de cualquier programa de incorporación de nutrientes a los alimentos lo constituye la elección del alimento portador (12,17).

En la actualidad, el desarrollo de alimentos funcionales en productos de confitería como el chocolate blanco es muy limitado. La falta de interés en este producto se debe a la naturaleza

de su composición, porque se elabora a partir de azúcar, sólidos lácteos y manteca de cacao. Además, no contiene partículas de cacao oscuro siendo carente de antioxidantes. A nivel sensorial, la aceptabilidad de este sucedáneo del chocolate se debe al mayor de sus componentes, la manteca de cacao (7).

Al revisar investigaciones previas que sirven de soporte para el presente trabajo, se pueden citar los siguientes estudios:

Tomás-Barberan (2015) y Quiñonez y colaboradores (2012), señalan en sus estudios la importancia de los alimentos de origen vegetal por su contenido de polifenoles y destacan los efectos beneficiosos de la ingesta de estos componentes bioactivos sobre la salud (47) (21).

Según estudio de Coba y colaboradores (2012), el mortiño es un alimento funcional que puede ser considerado como alternativa para la extracción de sustancias bioactivas y por medio de la tecnología alimentaria ser incorporadas a la matriz de un producto. El cual al ser consumido contribuya a la salud y al buen funcionamiento del organismo (6).

Tavares (2018), menciona que los compuestos de polifenoles procedentes de las bayas tienen efectos beneficiosos sobre la salud humana y reducen el riesgo de enfermedades crónicas no transmisibles. Basado en esto Lončarević y colaboradores (2018), proponen en su estudio el enriquecimiento del chocolate blanco con encapsulado de jugo de mora. Según su estudio se logró enriquecer un chocolate blanco con jugo de mora encapsulado en diferentes concentraciones. La adición de jugo de mora encapsulado al chocolate blanco, no sólo condujo a la creación de un nuevo tipo de chocolate, el contenido total de polifenoles incrementó de 40.75 a 75.06, 145.86 y 153.95 en chocolates con  $60\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ,  $80\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$  y  $100\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$  de encapsulado, respectivamente. Sin perjudicar las características sensoriales, se redujo la dulzura del chocolate blanco y contribuyó al agradable sabor afrutado del chocolate (48,49).

La bioactividad de los polifenoles depende de preservar la estabilidad, bioactividad y biodisponibilidad de los ingredientes activos, ya que los compuestos fenólicos naturales son fácilmente degradables durante el procesamiento y almacenamiento debido a su sensibilidad al calor, la luz, oxígeno y pH. Por esta razón, los compuestos polifenólicos son encapsulados por un biopolímero que los protege, mejora su estabilidad y cambia las soluciones líquidas a polvos facilitando su manipulación al mismo tiempo. Es por esto que Toker y

colaboradores (2018), concluyen en su estudio que el chocolate blanco a pesar de ser el tipo de chocolate menos funcional debido a la deficiencia de cacao en su formulación, puede ser portador de sustancias bioactivas sensibles a factores externos como temperatura, luz, oxígeno gracias a la utilización de encapsulado (7).

## **CAPÍTULO III**

# **METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN**

### 3.1. Localización.

El proyecto de investigación se realizó con la colaboración de diferentes instituciones, donde se desarrollaron actividades como análisis fisicoquímico y funcional del chocolate blanco con la incorporación de microencapsulados de mucílago de cacao y pulpa de mortiño, cuya localización se detalla a continuación:

**Tabla 4.** *Localización del trabajo de investigación*

INVESTIGACIÓN	LOCALIZACIÓN
<b>Preparación de la muestra</b>	Asociación “La Cruz”, Mocache, Los Ríos (Recolección, fermentación y secado)
<b>Microencapsulación</b>	Laboratorio de Análisis y Control de Alimentos (LACONAL), Ambato, Tungurahua
<b>Formulación del chocolate</b>	Laboratorio de investigación y desarrollo de nuevos productos, Chocolatería La Nobleza, Ambato, Tungurahua
<b>Análisis fisicoquímico y antioxidantes</b>	Laboratorio de Servicio de Análisis e Investigación en Alimentos (LSAIA) del Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIAP), Mejía, Pichincha
<b>Análisis sensorial</b>	
<b>Estabilidad microbiológica</b>	SEIDLABORATORY CIA. LTDA.

**Elaborado por:** Autor.

### 3.2. Tipo de investigación.

Para la ejecución del proyecto se aplicó investigación de tipo exploratoria y cuantitativa, puesto que no hay estudios sobre el desarrollo de productos de confitería (chocolate blanco) con propósitos funcionales mediante la incorporación de compuestos bioactivos de mucílago de cacao y pulpa de mortiño.

#### 3.2.1. Exploratoria.

La investigación de carácter exploratoria se efectúa con la finalidad de proporcionar una visión general sobre el objeto de estudio, de manera tentativa o aproximada (50).

### **3.2.2. Cuantitativa.**

La investigación cuantitativa permitió recopilar y analizar datos de forma estructurada mediante el uso de herramientas estadísticas e informáticas (50).

## **3.3. Métodos de Investigación.**

### **3.3.1. Método inductivo – deductivo.**

Para la ejecución del trabajo de investigación se aplicó el método inductivo-deductivo partiendo de un problema como es el desperdicio de residuos del cacao y frutos exóticos ricos en antioxidantes. Este método permitió trabajar en la búsqueda de soluciones para el aprovechamiento de compuestos bioactivos presentes en el mucílago de cacao y mortiño como alternativa para el desarrollo de un producto de confitería con propósitos funcionales. En relación a la idea anterior se buscó la concentración adecuada de microencapsulado que mejore la capacidad antioxidante del chocolate blanco brindando beneficios en la salud de los consumidores (51).

### **3.3.2. Métodos estadísticos.**

Para el análisis estadístico de los resultados se empleó un software libre, mediante el cual se realizó la comparación de los datos obtenidos en la investigación.

## **3.4. Fuentes de recopilación de información.**

Para el desarrollo de este trabajo de investigación se empleó fuentes de recopilación de la información de tipo primarias y secundarias como se detalla a continuación:

### **3.4.1. Fuentes primarias.**

Las fuentes primarias de la información que se emplearon en el desarrollo de este trabajo de investigación estuvieron compuestas por trabajo de campo y pruebas de laboratorios a través de:

- Elaboración de chocolate
- Caracterización fisicoquímica y funcional
- Evaluación Sensorial
- Análisis microbiológico

### 3.4.2. Fuentes secundarias.

Las fuentes secundarias de recopilación de la información empleadas en el marco teórico, conceptual y referencial, planteamiento del desarrollo metodológico y análisis e interpretación de resultados se extrajeron de diferentes fuentes bibliográficas como:

- Libros
- Artículos Científicos
- Revistas Científicas
- Tesis Doctorales
- Trabajos Fin de Master
- Tesis de Pre-Grado

### 3.5. Diseño de la Investigación.

La evaluación del efecto de la adición de microencapsulados de pulpa de mortiño y mucílago de cacao sobre las propiedades funcionales del chocolate blanco se determinó a través de un Diseño Compuesto Central (DCC) o de superficie de respuesta con dos factores de estudio A y B (49,52). El factor A comprende la concentración de microencapsulado de pulpa de mortiño y el factor B representa la concentración de microencapsulado mucílago de cacao, con dos niveles de concentración: baja ( $60 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) – alta ( $100 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ), obteniéndose nueve formulaciones, como se detalla en la Tabla 5.

**Tabla 5.** *Combinación de tratamientos, puntos axiales y centro del plan de experiencia para adición de microencapsulados de pulpa de mortiño y mucílago de cacao en chocolate blanco*

Tratamientos	Códigos	Simbología	A	B	Factor A	Factor B
					Mortiño ( $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ )	Mucílago ( $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ )
T1	VIMI	1	-1	-1	66	66
T2	VDMI	A	1	-1	94	66
T3	VIMD	B	-1	1	66	94
T4	VDMD	AB	1	1	94	94
T5	VCMC	Centro	0	0	80	80
T6	VBMC	$-\alpha A$	-1,4142	0	60	80
T7	VAMC	$+\alpha A$	1,4142	0	100	80
T8	VCMB	$-\alpha B$	0	-1,4142	80	60
T9	VCMA	$+\alpha A$	0	1,4142	80	100

**Elaborado por:** Autor.

Planteándose las siguientes hipótesis experimentales:

- **H<sub>0</sub>**: No existe un efecto de la adición de microencapsulados de pulpa de mortiño y mucílago de cacao sobre las propiedades funcionales del chocolate blanco.
- **H<sub>1</sub>**: Existe un efecto de la adición de microencapsulados de pulpa de mortiño y mucílago de cacao sobre las propiedades funcionales del chocolate blanco.

### 3.5.1. Esquema del ANDEVA

En la Tabla 6 se presenta el esquema del ANDEVA para el Diseño Compuesto Central aplicado en la presente investigación.

**Tabla 6.** Distribución de los grados de libertad en un experimento 3<sup>2</sup>.

Efectos medidos	Grados de libertad	Tipo de relación	Simbología utilizada
Principales	2	Lineal	A ; B
Principales	2	Cuadrática	A <sup>2</sup> ; B <sup>2</sup>
De interacción	1	Lineal	AB
De interacción	2	Lineal/cuadrática	AB <sup>2</sup> ; A <sup>2</sup> B
De interacción	1	Cuadrática	A <sup>2</sup> ; B <sup>2</sup>

**Elaborado por:** Autor.

### 3.5.2. Modelo matemático.

$$Y = b_0 + b_1X_1 + b_2X_2 + b_{11}X_1^2 + b_{12}X_1 X_2 + ERROR \quad \text{Ecuación 1}$$

**Donde:**

**b<sub>0</sub>** = Intersección

**b<sub>1</sub>, b<sub>2</sub>...** = Coeficientes del modelo de regresión

**X<sub>1</sub>** = Pulpa de mortiño en mg\*Kg<sup>-1</sup>

**X<sub>2</sub>** = Mucílago de cacao en mg\*Kg<sup>-1</sup>

Las concentraciones óptimas (mejor tratamiento) se determinaron mediante una superficie de respuesta donde se evaluó el efecto de los factores A y B a través de un modelamiento cuadrático en 3 dimensiones. De igual manera las regiones óptimas se identificaron sobre una superficie de respuesta de dos dimensiones al tratarse de una optimización que buscó

incrementar la capacidad antioxidante del producto desarrollado, escogiéndose los valores que se encuentren cerca de la parte superior de los ejes.

### **3.6. Procedimiento experimental.**

#### **3.6.1. Muestreo.**

La obtención del residuo empleado como material de estudio (mucílago) se realizó escogiendo de forma aleatoria árboles de las variedades Nacional y CCN-51 de la colección de la Asociación “La Cruz” ubicada en el cantón Mocache, Provincia de Los Ríos.

En el caso de las muestras de mortiño se trabajó con frutas adquiridas bajo pedido en una frutería de la Ciudad de Quevedo.

#### **3.6.2. Fermentación del cacao.**

El proceso postcosecha de los frutos recolectados se realizó en el Centro de fermentación y secado de la Asociación “La Cruz”, Cantón Mocache, Provincia de Los Ríos. En este lugar se extrajeron los granos de cada fruto obteniendo una masa de 45 kg por cada variedad de cacao, posteriormente fueron fermentados en cajas de madera de laurel (dimensiones 100 cm alto x 100 cm ancho x 95 cm profundidad) con capacidad de 150kg, dispuestas en forma de escalera de tres pisos.

El proceso de fermentación de la variedad de cacao Nacional se realizó durante cuatro días (96 horas) manteniéndose 2 días en el cajón superior, 1 día cajón intermedio y 1 día cajón inferior, mientras que, para cacao CCN-51 el proceso duró 6 días (144 horas) fermentándose 2 días en cada cajón. La remoción de los granos se realizó cada 24 horas con volteo de la masa cada 2 días (53).

Durante la fermentación se recolectó el mucílago exudado de las almendras por la base de cada caja, en recipientes herméticos (fundas ziploc) aislados de la luz y el oxígeno. Posteriormente, se procedió a la caracterización funcional de las muestras de mucílago de las dos variedades de cacao, escogiéndose para el estudio la muestra que presentó el mayor contenido fenólico y una alta capacidad antioxidante, tomando como referencia los trabajos realizados por Zhunio, 2020 y Reyes, 2020.

### **3.6.3. Preparación de las muestras.**

Para la obtención de la pulpa de mortiño, el fruto fue seleccionado y lavado con el fin de eliminar suciedad y cualquier material extraño; procesándose con todo y cáscara. Tanto las muestras de mucílago y la pulpa de mortiño fueron almacenadas y congeladas a -18°C en fundas de sellado hermético aisladas de la luz y el oxígeno, para su posterior utilización.

#### **3.6.3.1. Obtención de extractos fenólicos.**

Previo al proceso de extracción, las muestras fueron descongeladas a temperatura ambiente (18 °C) en ausencia de luz y oxígeno con la finalidad de evitar la oxidación de los compuestos fenólicos.

La obtención de los compuestos fenólicos del extracto bruto del mucílago de cacao se realizó mediante un proceso de centrifugado durante 15 minutos a 3000 rpm con la finalidad de separar los fitonutrientes de los azúcares y otros sólidos solubles presentes. El sobrenadante fue recolectado en un recipiente para su posterior proceso de microencapsulación.

Para la extracción de los compuestos fenólicos de pulpa de mortiño, la muestra fue sometida a un proceso de extracción en una solución etanólica 50/50 (V/V). Esta solución fue previamente acidificada con ácido acético para favorecer la extracción de los componentes presentes en la muestra. El extracto alcohólico fue filtrado y almacenado para su posterior proceso de microencapsulación (11).

#### **3.6.4. Microencapsulación.**

Para la preparación de soluciones de trabajo se incorporó maltodextrina (MD) a los extractos fenólicos obtenidos tanto para mucílago de cacao y como para pulpa de mortiño, en una relación 1:10 y se sometió a un proceso de agitación constante con la finalidad de alcanzar una completa solubilización de las muestras (11).

El proceso de microencapsulación tanto para mucílago de cacao y pulpa de mortiño se realizó mediante secado por aspersión (Spray dryer BÜCHI B-290; Alemania), las condiciones de trabajo fueron: temperatura de entrada de 140°C y de salida de 80°C (54).

### **3.6.5. Desarrollo de la formulación del chocolate blanco.**

Para la elaboración de las nueve formulaciones de chocolate blanco con propiedades funcionales se empleó la metodología planteada por Lončarević y colaboradores (2018), variando la concentración de microencapsulado de mucílago de cacao y pulpa de mortiño ( $60 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  -  $100 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ). El desarrollo de la base del sucedáneo de chocolate se realizó a partir de la formulación proporcionada por la empresa chocolatería “La Nobleza”, empleando cantidades fijas de azúcar ( $497.6 \text{ g kg}^{-1}$ ), grasa hidrogenada ( $348.4 \text{ g kg}^{-1}$ ), leche entera en polvo ( $149.3 \text{ g kg}^{-1}$ ), lecitina de soya ( $4,5 \text{ g kg}^{-1}$ ) y vainilla en polvo ( $0,2 \text{ g kg}^{-1}$ ) (49).

### **3.7. Caracterización fisicoquímica.**

#### **3.7.1. Color.**

La determinación de las características cromáticas de los diferentes tratamientos se evaluó en función de las coordenadas de color:  $L^*$  (luminosidad),  $a^*$  (rojo+, verde-) y  $b^*$  (amarillo+, azul-). La medición se realizó por lectura directa del color sobre la superficie anversa y reversa de las barras de chocolate utilizando un colorímetro portátil (Color Tec PCM-T), empleando un iluminante D65 y un observador de  $10^\circ$ . Los resultados fueron reportados por quintuplicado en base a parámetros como: tono, croma, índice de amarillez e índice de blancura (49).

### **3.8. Actividad Antioxidante.**

#### **3.8.1. Extracción de componentes bioactivos.**

Para la extracción de componentes bioactivos del chocolate se dejó reposar las muestras en congelación ( $-35^\circ\text{C}$ ) por un período de 24 horas. Posteriormente, las muestras fueron trituradas con ayuda de un molinillo de café hasta alcanzar un tamaño de partícula fina. Luego de esto las muestras fueron almacenadas nuevamente en congelación para su posterior análisis. Para la ejecución del proceso de desengrasado se pesó  $0,3\text{g}$  de sólidos de chocolate y se añadió  $5\text{ml}$  de hexano (GA 98% de pureza) llevando a cabo un proceso de extracción de la materia grasa durante dos ciclos combinados de agitación (5 minutos), inmersión en baño ultrasónico (5 minutos) y centrifugación (2 minutos).



Planteándose las siguientes hipótesis experimentales:

- **H<sub>0</sub>: $\mu_1=\mu_2$**  H<sub>0</sub>: No existe diferencia significativa en la aceptabilidad de los parámetros de color, olor, sabor y textura de las formulaciones de sucedáneos de chocolate con propiedades funcionales, todas las muestras gustan por igual.
- **H<sub>1</sub>: $\mu_1\neq\mu_2$**  H<sub>1</sub>: Existe diferencia significativa en la aceptabilidad de los parámetros de color, olor, sabor y textura de las formulaciones de sucedáneos de chocolate con propiedades funcionales, todas las muestras gustan por igual.

A través de pruebas descriptivas se determinó las características de las diferentes formulaciones de chocolate, empleando escalas estructuradas de 5 puntos. Mediante esta prueba sensorial se evaluaron parámetros como color, aspecto, olor, aroma, sabor, textura y palatabilidad, con estas características se desarrollaron los perfiles sensoriales de los nueve tratamientos (52).

### **3.10. Propiedades funcionales chocolate blanco.**

#### **3.10.1. Antocianinas Totales.**

El contenido de antocianinas totales (TAC) en el mejor tratamiento se determinó aplicando el método diferencial de pH. El proceso de extracción se realizó en soluciones buffer pH 1,0 (cloruro de potasio 0,2N/ ácido clorhídrico 0,2N; v/v) y buffer pH 4,5 (acetato de sodio 1M/ ácido clorhídrico 1N; v/v). La absorbancia se midió a 510nm y 700nm con ayuda de un espectrofotómetro (Shimadzu UV-VIS 2.600 Kyoto, Japón). Las concentraciones calculadas por este método se reportaron como cloruro de cianidina 3-glucósido en mg•100g<sup>-1</sup> de muestra seca (57).

#### **3.10.2. Flavonoides Totales.**

El contenido de flavonoides totales (TFC) en el mejor tratamiento se determinó mediante una reacción colorimétrica con nitrato de sodio, cloruro de aluminio e hidróxido de sodio. La absorbancia se midió a 490nm con ayuda de un espectrofotómetro (Shimadzu, Kyoto, Japón). Los resultados fueron interpolados en una curva de calibración realizada con catequina y se expresaron en mg CATE•100g<sup>-1</sup> (53).

### **3.10.3. Vitamina C.**

Para la determinación del contenido de Vitamina C del mejor tratamiento, se empleó un método reflectométrico con ayuda del Reflectoquant®. Las concentraciones calculadas por este método se reportaron en mg VitC•100g<sup>-1</sup> (5).

### **3.10.4. Polifenoles totales.**

Para la cuantificación del contenido polifenoles totales (TPC) en el mejor tratamiento, se tomó una alícuota de extracto metanólico y se mezcló con el reactivo Folin-Ciocalteu y Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> al 20%. La absorbancia se midió utilizando un espectrofotómetro (Shimadzu UV-VIS 2.600 Kyoto, Japón) a una longitud de onda de 760 nm. Se utilizó ácido gálico como estándar (0 a 100 ppm) por triplicado en tres días (n = 9). Se estableció la curva de calibración ( $y = 0.0117x + 0.0789$ ,  $R^2 = 0.9995$ ). El TPC se expresó en términos de mg de equivalentes de ácido gálico GAE / 100 g de muestra de peso seco (DW)(57).

### **3.11. Estabilidad microbiológica.**

Para la determinación de la estabilidad microbiológica, se realizaron recuentos microbianos en base a la Norma INEN 621:2010. Los ensayos se realizaron en SEIDLABORATORY (58).

### **3.12. Costo de Producción.**

En base a la formulación del mejor tratamiento experimental y sensorial se determinó el costo de producción del chocolate blanco con componentes bioactivos, considerándose la materia prima, insumos, equipamiento básico y mano de obra.

### **3.13. Recursos humanos y materiales.**

#### **3.13.1. Recursos humanos.**

Esta investigación se realizará con la orientación de la Ing. Wilma Llerena Silva como directora del proyecto de Investigación; Dr. Iván Samaniego Maigua, Cotutor del proyecto de Investigación; Ing. Jaime Vera Chang M.Sc. e Ing. Christian Vallejo Torres M. Sc., como académicos de apoyo.

### **3.13.2. Materiales.**

#### **Materia prima.**

- ✓ Mucilago de cacao Nacional
- ✓ Mucilago de cacao CCN-51
- ✓ Pulpa de mortiño
- ✓ Grasa hidrogenada
- ✓ Azúcar
- ✓ Leche en polvo
- ✓ Lecticina

#### **Materiales de laboratorio.**

- ✓ Vasos de precipitación de 50, 100, 250, 500 y 1000 mL
- ✓ Tubos de ensayo
- ✓ Balones de aforo de 25, 50, 100, 250 y 500 mL
- ✓ Probetas de 10, 250, 500 y 1000 mL
- ✓ Tubos de centrifuga de 15 y 50 mL
- ✓ Puntas para micropipeta 100-1000  $\mu$ L y 1-10 mL
- ✓ Pissetas
- ✓ Gradillas
- ✓ Frascos de vidrio color ámbar
- ✓ Papel filtro
- ✓ Bureta de 50 ml
- ✓ Pinzas para bureta
- ✓ Soporte universal
- ✓ Pipetas volumétricas de 10 ml
- ✓ Puntas de micropipeta 20-200  $\mu$ l
- ✓ Puntas de micropipeta 100-1000  $\mu$ l
- ✓ Puntas de micropipeta de 1-10 ml
- ✓ Tubos Eppendorf
- ✓ Guantes de nitrilo pack/50
- ✓ Mascarillas

- ✓ Frascos plásticos de 250 ml, para muestras.

### **Equipos.**

- ✓ Congelador
- ✓ Balanza analítica
- ✓ Baño ultrasónico
- ✓ Baño María
- ✓ Centrífuga
- ✓ Vortex
- ✓ Rotoevaporador
- ✓ Multimixer
- ✓ Espectrofotómetro UV-VIS
- ✓ pH-metro
- ✓ Placa agitadora
- ✓ Cronómetro
- ✓ Micropipeta Finnpipette 20-200  $\mu$ l
- ✓ Micropipeta Finnpipette 100-1000  $\mu$ L
- ✓ Micropipeta Labnet de 1-10 ml
- ✓ Micropipeta Finnpipette de 1-10 ml
- ✓ Micropipetas 100-1000  $\mu$ L y 1-10 mL
- ✓ Spray Dryer Buchi
- ✓ Refractómetro 0 a 30 °Brix.

### **Reactivos.**

- ✓ Ácido gálico (pureza 98 %)
- ✓ Metanol gradiente analítico (98 %).
- ✓ Acetato de potasio (pureza 99 %)
- ✓ Hidróxido de sodio (pureza 99 %)
- ✓ Cloruro de aluminio (ACS).
- ✓ Reactivo Folin-Ciocalteu
- ✓ Carbonato de sodio
- ✓ Nitrito de sodio

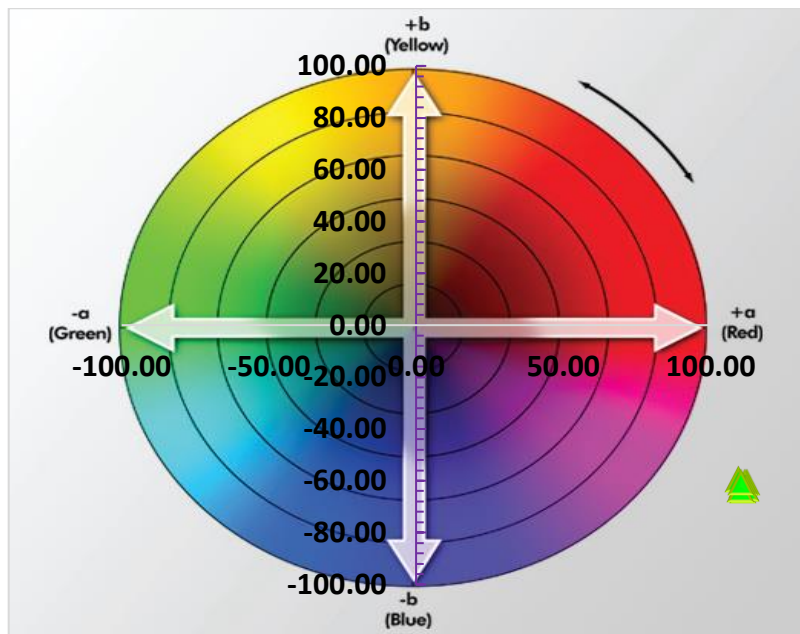
**CAPÍTULO IV**  
**RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

## 4.1. Caracterización Físicoquímica.

### 4.1.1. Color.

Las características cromáticas o parámetros de color se miden o representan en el espacio de color CIELab (Figura 10) en base a tres parámetros: Luminosidad ( $L^*$ ), parámetro  $a$  ( $a^*$ ) y parámetro  $b$  ( $b^*$ ). La luminosidad ( $L^*$ ) representa la sensación de claridad de una muestra y se mide en una escala positiva de 0 a 100; siendo 100 cercano a blanco y 0 cercano a negro. El parámetro ( $a^*$ ) representa la tendencia del color hacia rojo o verde, cuando el valor de la muestra es positivo su color tiende hacia rojo mientras que, en valores negativos el color tiende hacia verde. En el caso del parámetro ( $b^*$ ), este representa la tendencia de la muestra hacia el color azul ( $-b^*$ ) y amarillo ( $+b^*$ ).

La representación de las características cromáticas de las muestras de chocolate con adición de microencapsulado de mucílago de cacao y pulpa de mortiño en el espacio CIELab se muestra en la Figura 8.



**Figura 8.** Representación cromática en el espacio de color CIELab de las muestras de chocolate blanco con adición de microencapsulado de mucílago de cacao y pulpa de mortiño.

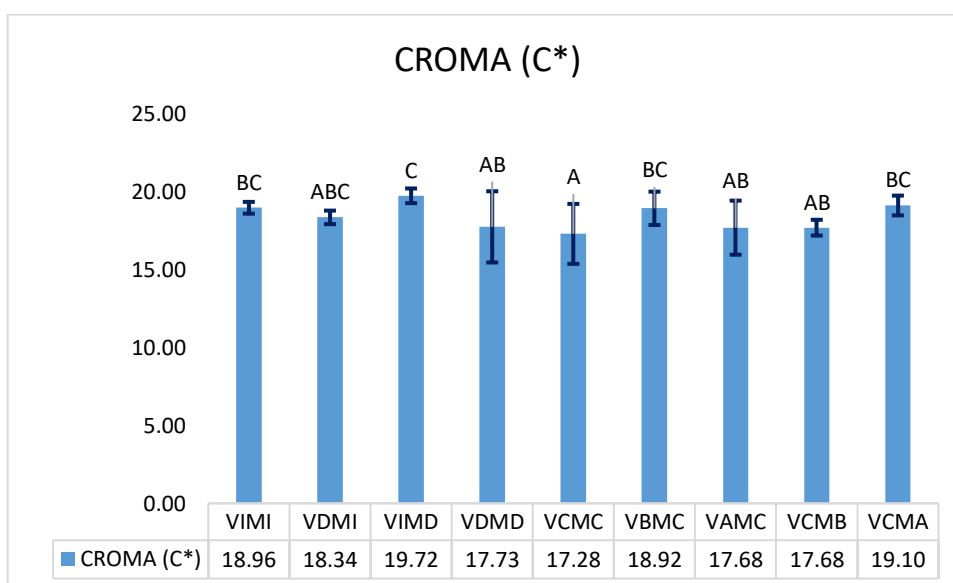
En las muestras de chocolate estudiadas los valores de luminosidad estuvieron en un rango de 73,98 a 77,66 indicando que presenta valores altos de luminosidad, lo que demostraría que la superficie de todos los tratamientos es brillante. En cuanto al parámetro ( $a^*$ ) se observó que las muestras presentan valores entre -1,44 a 0,16 indicando que las muestras tienden ligeramente hacia los colores rojo ( $+a^*$ ) y verde ( $-a^*$ ). De acuerdo a los resultados

obtenidos se puede decir que la variación hacia el color rojo y verde no está asociada a la concentración de pulpa de mortiño puesto que los tratamientos VIMI, VDMD, VAMC presentan una tendencia hacia el color rojo a pesar de presentar concentraciones altas y bajas de microencapsulado de pulpa de mortiño. Esta variación puede atribuirse a la distribución heterogénea de los encapsulados dentro de la base de sucedáneo de chocolate lo que pudo provocar que existan zonas con más presencia y menos presencia de encapsulado en las tabletas de chocolate. En el parámetro (b\*) las muestras tienden hacia el color amarillo con valores positivos de (b\*) entre 17,26 y 19,67. Esta tonalidad es propia de los ingredientes que se emplean en la formulación de chocolate blanco a nivel industrial.

Los resultados obtenidos en esta investigación son cercanos a los valores reportados por Lončarević y colaboradores (49), quienes presentaron una Luminosidad de  $74,6 \pm 0,82$  y una amarillez de  $20,31 \pm 0,03$ , manifestando también que la superficie de los chocolates es brillante, así como una alta proporción de un tono amarillo.

A partir de las características cromáticas L\*, a\* y b\*, se puede calcular el croma o saturación del color que representa el nivel de coloración de un alimento o muestra en estudio, indicando su nivel de intensidad. Los resultados de la evaluación de la saturación de color de las muestras de chocolate blanco se presentan en la Gráfica 1.

**Gráfica 1.** Evaluación del croma de las muestras de chocolate blanco con adición de microencapsulado de mucílago de cacao y pulpa de mortiño.



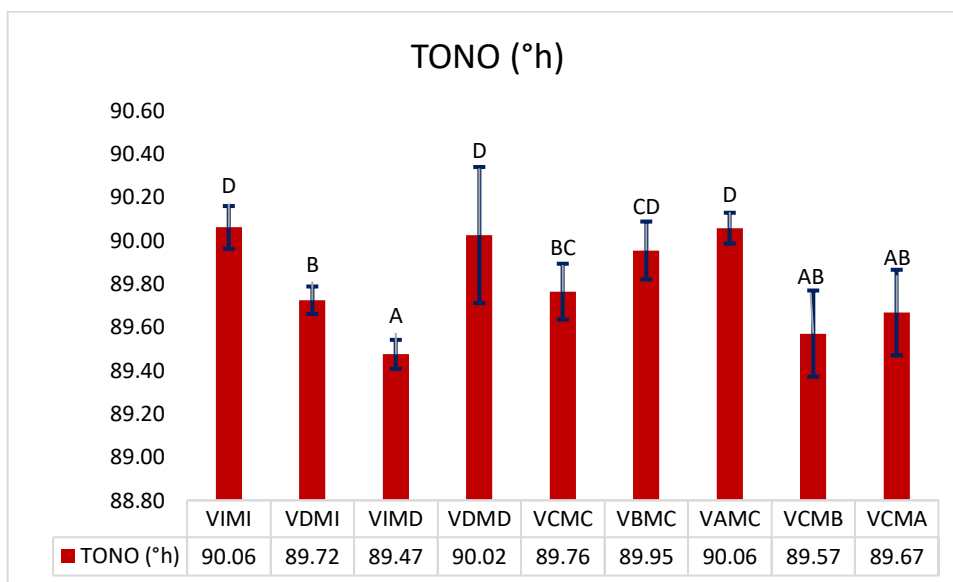
De acuerdo a los resultados presentados en la Gráfica 1, el croma de los nueve tratamientos de chocolate blanco no presenta diferencias significativas entre muestras (valor-p = 0.0521),

las formulaciones de chocolate que presentaron los valores más alto de cromaticidad son los tienen una menor saturación del color con valores de 19.72 (VIMD), 19.10 (VCMA) y 18.96 (VIMI).

Los resultados obtenidos en este estudio son inferiores a los reportados por Said y colaboradores (7), quienes presentaron valores de cromaticidad de 27,0 a 27,7. Sin embargo, estos autores mencionan que la adición de componentes ajenos a la formulación comercial de chocolate incrementan la saturación del color. Por lo que estos autores reportaron que las muestras que incluían fuentes de EPA/DHA fueron más oscuras que el tratamiento control.

El tono es el atributo por el cual podemos diferenciar el color de un alimento o muestra en estudio y determinar si es de rojo, verde, azul, etc.; está asociado con la proximidad que tiene un color con relación a otro que se halle próximo en el círculo cromático. Los resultados de la evaluación del tono de las muestras de chocolate blanco se presentan en la Gráfica 2.

**Gráfica 2.** Evaluación del tono de las muestras de chocolate blanco con adición de microencapsulado de mucílago de cacao y pulpa de mortiño.

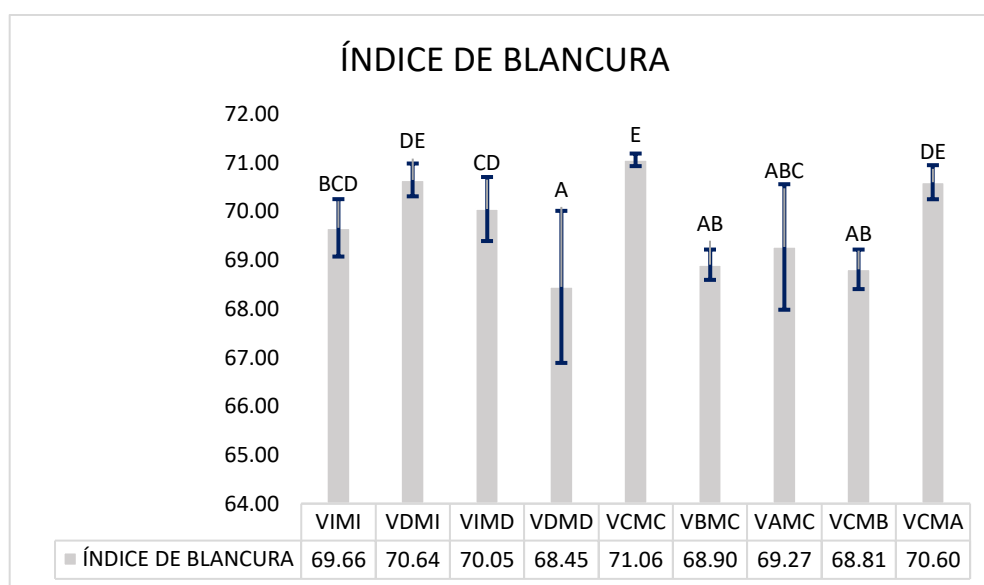


De acuerdo a los resultados de la evaluación del tono de los nueve tratamientos de chocolate blanco (Gráfica 2), existe diferencia significativa entre muestras (valor-p < 0.05), sin embargo, existe cierta homogeneidad entre tratamientos. A partir de los resultados se determina que las formulaciones de sucedáneos de chocolate tienen una tonalidad amarilla puesto que el valor expresado en grados sexagesimales recae en el eje b+(90°).

El tono obtenido en este estudio es el reportado por Said y colaboradores (7), quienes presentaron valores de tono(rojo) en un rango de 1,49 a 1,42. Además, mencionan que estos resultados están de acuerdo con las características de color de un chocolate convencional.

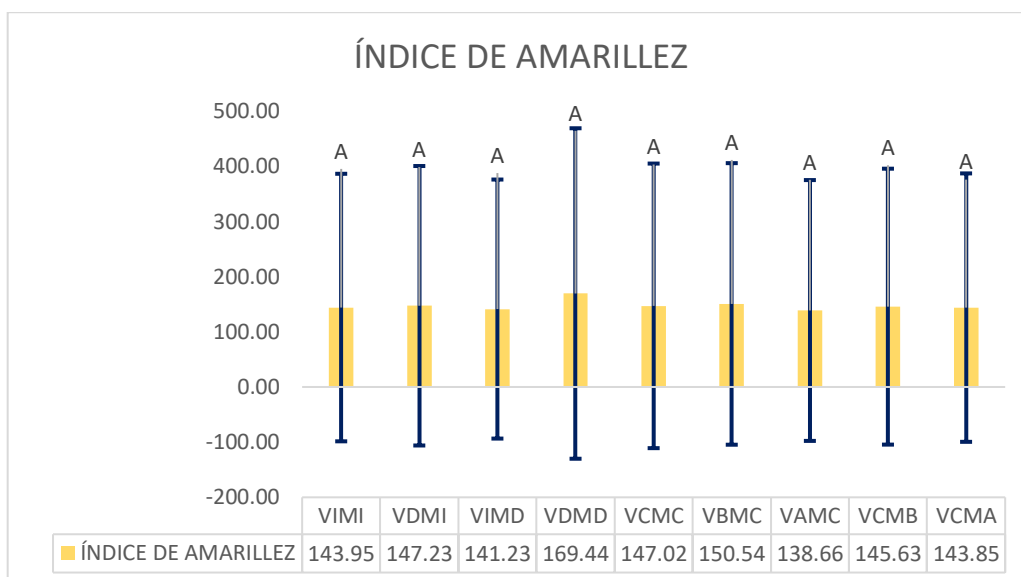
Con el fin de determinar la variación en el color del sucedáneo de chocolate blanco por efecto de la adición de mucílago de cacao y mortiño, se empleó el índice de color blanco y amarillo. Los resultados de la evaluación del índice de blancura (Gráfica 3) y amarillez (Gráfica 4) se detallan a continuación.

**Gráfica 3.** Evaluación del índice de blancura de las muestras de chocolate blanco con adición de microencapsulado de mucílago de cacao y pulpa de mortiño.



El índice de blancura presenta valores en un rango de 68,45 a 71,06, por lo tanto, las muestras de sucedáneo de chocolate son parcialmente de color blanco. Una superficie blanca ideal debe tener un índice de blancura (IB) igual a 100; cuando la diferencia entre el blanco ideal y la superficie que se evalúa se incrementa, entonces IB disminuye.

**Gráfica 4.** Evaluación del índice de amarillez de las muestras de chocolate blanco con adición de microencapsulado de mucílago de cacao y pulpa de mortiño.



De acuerdo a los resultados presentados en la Gráfica 4, los nueve tratamientos de chocolate blanco presentaron valores positivos de b comprendidos entre 138,66 y 169,44; es decir que tendieron al color amarillo.

Los resultados obtenidos en la evaluación del índice de blancura en este estudio son superiores a los reportados por Said y colaboradores (7), quienes presentaron valores de IB que oscilaron entre 33,5 y 34,9. Sin embargo, estos autores mencionan que la adición de componentes ajenos a la formulación comercial no jugó un papel importante en el índice de blancura de los chocolates. En cuando al índice de amarillez, los resultados obtenidos difieren significativamente con los reportados por Lončarević (49), puesto que menciona una disminución significativa del tono amarillo por la adición de jugo encapsulado; en el presente estudio el índice de amarillez de los tratamientos no difieren entre sí.

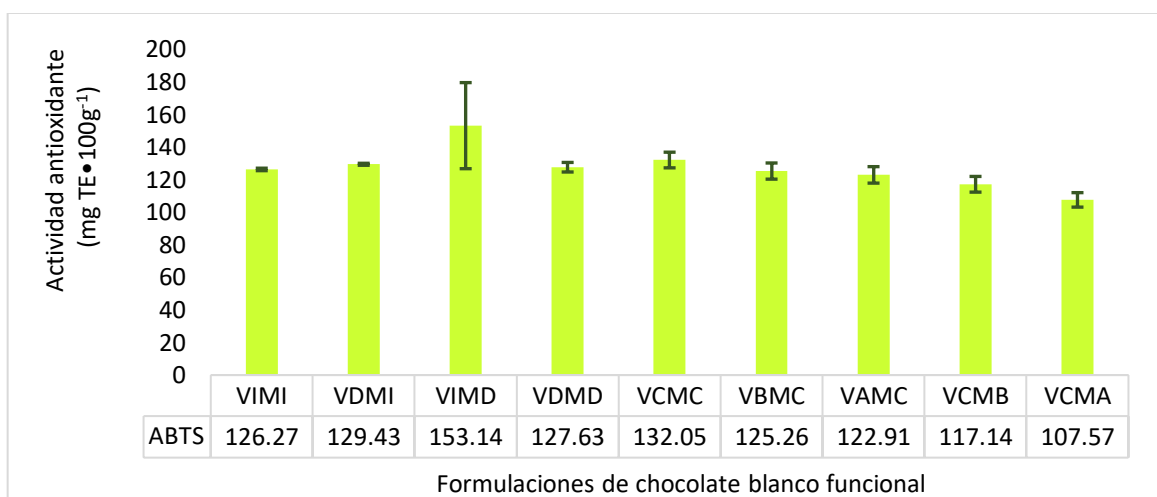
## 4.2. Actividad Antioxidante.

En virtud de escoger el mejor tratamiento, se evaluó la capacidad antioxidante por ABTS y FRAP de las nueve formulaciones de sucedáneo de chocolate desarrolladas. Los resultados obtenidos en la determinación de la actividad antioxidante por los métodos propuestos se detallan a continuación:

#### 4.2.1. Actividad Antioxidante ABTS.

Para la determinación de la actividad antioxidante por el método ABTS se emplearon los extractos metanólicos mencionados en el apartado 3.8.1.; expresando los resultados en equivalentes a Trolox, para los nueve tratamientos propuestos.

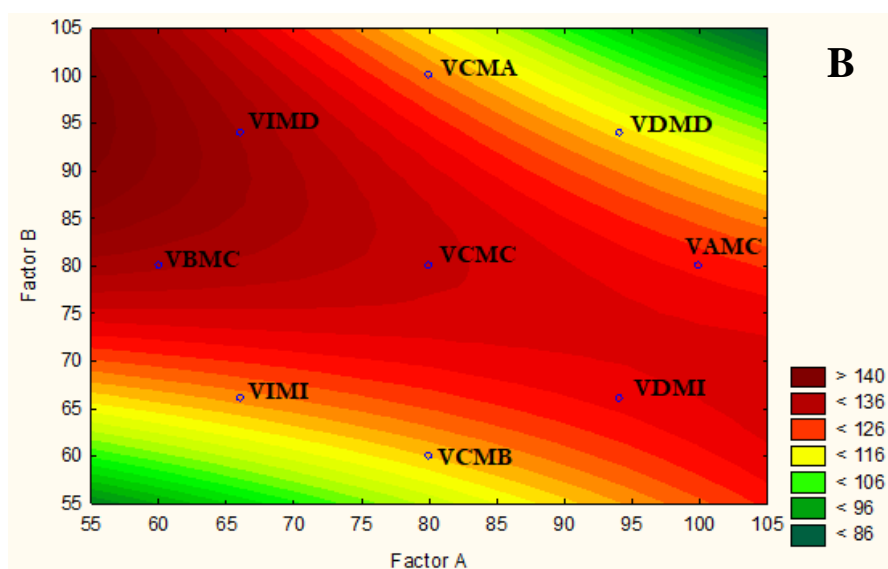
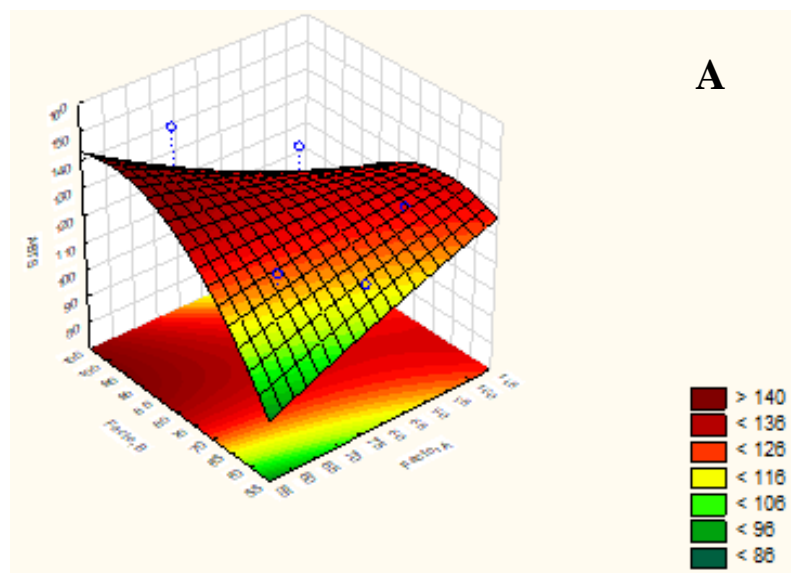
**Gráfica 5.** Evaluación de la capacidad antioxidante por ABTS en muestras de chocolate blanco.



VIMI (66 mg•kg<sup>-1</sup> mortiño, 66 mg•kg<sup>-1</sup> mucílago), VDMI (94 mg•kg<sup>-1</sup> mortiño, 66 mg•kg<sup>-1</sup> mucílago), VIMD (66 mg•kg<sup>-1</sup> mortiño, 94 mg•kg<sup>-1</sup> mucílago), VDMD (94 mg•kg<sup>-1</sup> mortiño, 94 mg•kg<sup>-1</sup> mucílago), VCMC (80 mg•kg<sup>-1</sup> mortiño, 80 mg•kg<sup>-1</sup> mucílago), VBMC (60 mg•kg<sup>-1</sup> mortiño, 80 mg•kg<sup>-1</sup> mucílago), VAMC (100 mg•kg<sup>-1</sup> mortiño, 80 mg•kg<sup>-1</sup> mucílago), VCMB (80 mg•kg<sup>-1</sup> mortiño, 60 mg•kg<sup>-1</sup> mucílago), VCMA (80 mg•kg<sup>-1</sup> mortiño, 100 mg•kg<sup>-1</sup> mucílago).

De acuerdo a los resultados presentados en la Gráfica 5, la capacidad antioxidante en las muestras estudiadas estuvo en un rango de 107,57 a 153,14 mg TE•100g<sup>-1</sup>; observándose una mayor actividad antioxidante en los tratamientos con 66 mg•kg<sup>-1</sup> mortiño; 94 mg•kg<sup>-1</sup> mucílago (VIMD), seguido por los tratamientos con 80 mg•kg<sup>-1</sup> mortiño; 80 mg•kg<sup>-1</sup> (VCMC) y 94 mg•kg<sup>-1</sup> mortiño; 66 mg•kg<sup>-1</sup> (VDMI). El resto de tratamientos presentaron una actividad antioxidante inferior (107,57-126,27 mg TE•100g<sup>-1</sup>), puesto que, se observa un efecto predominante de la adición de mucílago de cacao en las propiedades funcionales de las diferentes formulaciones de chocolate blanco.

Con la finalidad de conocer las concentraciones óptimas de mucílago de cacao y mortiño que permitan obtener una formulación de chocolate con la mayor capacidad antioxidante se aplicó un diseño de superficie de respuestas, como se muestra en la Figura 9 A. En base a los resultados obtenidos se puede establecer que existe un efecto individual de la adición de mucílago de cacao en la actividad antioxidante (ABTS) de las nueve formulaciones de sucedáneo de chocolate, por lo tanto, a medida que se incrementa la concentración de mucílago de cacao se eleva las propiedades funcionales de las muestras de chocolate estudiadas.



VIMI (66 mg•kg<sup>-1</sup> mortiño, 66 mg•kg<sup>-1</sup> mucílago), VDMI (94 mg•kg<sup>-1</sup> mortiño, 66 mg•kg<sup>-1</sup> mucílago), VIMD (66 mg•kg<sup>-1</sup> mortiño, 94 mg•kg<sup>-1</sup> mucílago), VDMD (94 mg•kg<sup>-1</sup> mortiño, 94 mg•kg<sup>-1</sup> mucílago), VCMC (80 mg•kg<sup>-1</sup> mortiño, 80 mg•kg<sup>-1</sup> mucílago), VBMC (60 mg•kg<sup>-1</sup> mortiño, 80 mg•kg<sup>-1</sup> mucílago), VAMC (100 mg•kg<sup>-1</sup> mortiño, 80 mg•kg<sup>-1</sup> mucílago), VCMB (80 mg•kg<sup>-1</sup> mortiño, 60 mg•kg<sup>-1</sup> mucílago), VCMA (80 mg•kg<sup>-1</sup> mortiño, 100 mg•kg<sup>-1</sup> mucílago).

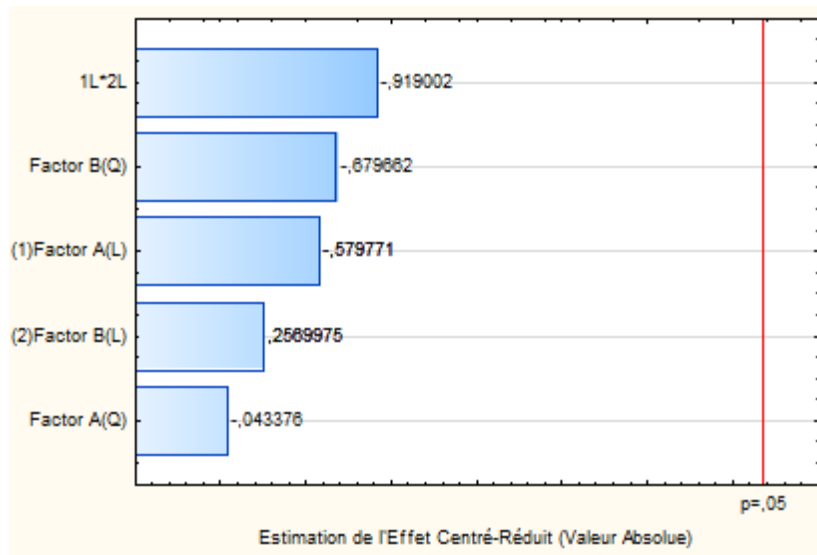
**Figura 9.** Superficie de respuesta de la concentración de microencapsulados de mucílago de cacao y pulpa de mortiño sobre la capacidad antioxidante del chocolate blanco medida por ABTS.

Al evaluar los resultados de la superficie de respuesta proyectados en dos dimensiones (gráfico de contorno), se evaluó la sensibilidad de la actividad antioxidante al cambio de concentraciones de mucílago de cacao o mortiño; confirmando que la adición de mucílago de cacao en mayor cantidad que el mortiño permite obtener los valores más altos de actividad antioxidante, por lo tanto, se evidencia la sensibilidad a los cambios de concentración.

En la Gráfica 6 se presentan los resultados del análisis de varianza presentados para determinar si existe un efecto significativo de la concentración de mucílago de cacao o mortiño en la actividad antioxidante de los tratamientos estudiados. Según el diagrama de

Pareto, no existe un efecto lineal, ni cuadrático (Factor B-L:  $p= 0,25$ ; Factor B-Q:  $p= 0,67$ ) de la adición de mucílago de cacao. En el caso del factor A se evidenció que no existe un efecto lineal de la adición de mortiño sobre la capacidad antioxidante del chocolate, sin embargo, existe un efecto cuadrático (Factor A-L:  $p= 0,13$ ; Factor A-Q:  $p=0,04$ ). Así también no existe una interacción lineal ( $1L*2L$ :  $p=0,91$ ) de estos dos factores sobre la capacidad antioxidante de las muestras estudiadas.

**Gráfica 6.** Análisis de varianza de la concentración de microencapsulados de mucílago de cacao y pulpa de mortiño sobre la capacidad antioxidante del chocolate blanco medida por ABTS.



A partir de la metodología de superficie de respuesta y mediante un análisis de regresión, se obtuvo el modelo matemático (Ecuación 2) que explica el efecto de la adición de mortiño (Factor A) y mucílago de cacao (Factor B) sobre la actividad antioxidante de chocolate blanco; presentando una correlación significativa entre las variables independientes ( $X_1$ : Mortiño;  $X_2$ : Mucílago) y la variable dependiente ( $Y=$  Actividad antioxidante ABTS); con un coeficiente de determinación ( $R^2$ ) de 0,39655.

$$y = B_0 + B_1X_1 + B_2X_2 + B_3X_1^2 + B_4X_2^2 + B_5X_1X_2 \quad \text{Ecuación 2}$$

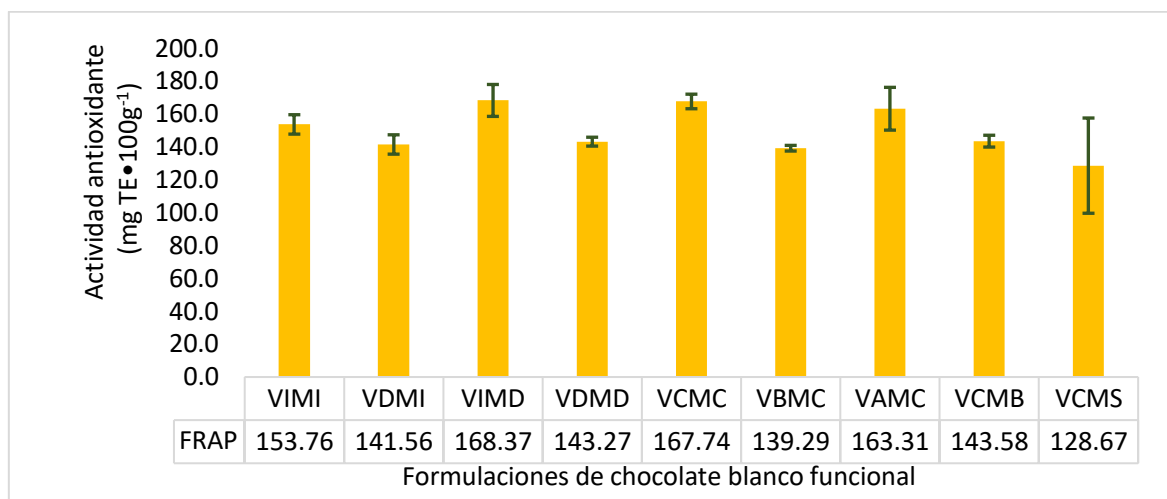
$$y = 132,68 - 6,3637X_1 + 2,8209X_2 - 0,7838X_1^2 - 12,2816X_2^2 - 14,3380X_1X_2$$

A partir de esta ecuación (Ecuación 2) se podría establecer las concentraciones óptimas de mucílago de cacao y mortiño que me permitan incrementar el poder antioxidante de las muestras de chocolate estudiadas; llegando a evidenciarse deferencias significativas entre estos tratamientos.

#### 4.2.2. Actividad Antioxidante FRAP.

Los resultados obtenidos en la determinación de la actividad antioxidante se han expresado en equivalente a Trolox, para las nueve muestras estudiadas.

**Gráfica 7.** Evaluación de la capacidad antioxidante por FRAP en muestras de chocolate blanco.

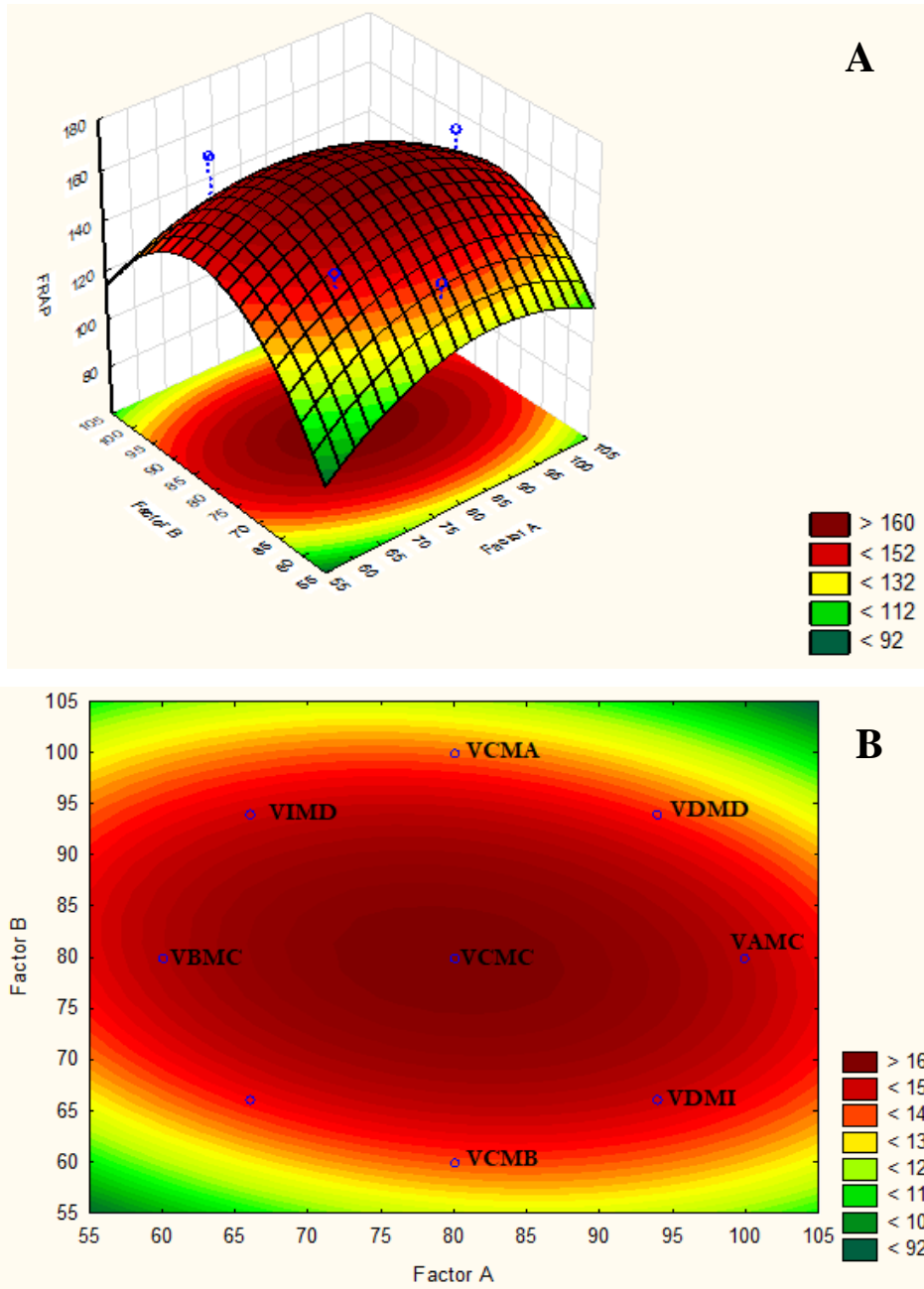


VIMI (66 mg•kg<sup>-1</sup> mortiño, 66 mg•kg<sup>-1</sup> mucílago), VDMI (94 mg•kg<sup>-1</sup> mortiño, 66 mg•kg<sup>-1</sup> mucílago), VIMD (66 mg•kg<sup>-1</sup> mortiño, 94 mg•kg<sup>-1</sup> mucílago), VDMD (94 mg•kg<sup>-1</sup> mortiño, 94 mg•kg<sup>-1</sup> mucílago), VCMC (80 mg•kg<sup>-1</sup> mortiño, 80 mg•kg<sup>-1</sup> mucílago), VBMC (60 mg•kg<sup>-1</sup> mortiño, 80 mg•kg<sup>-1</sup> mucílago), VAMC (100 mg•kg<sup>-1</sup> mortiño, 80 mg•kg<sup>-1</sup> mucílago), VCMB (80 mg•kg<sup>-1</sup> mortiño, 60 mg•kg<sup>-1</sup> mucílago), VCMA (80 mg•kg<sup>-1</sup> mortiño, 100 mg•kg<sup>-1</sup> mucílago).

De acuerdo a los resultados presentados en la Gráfica 7, la capacidad antioxidante en las muestras estudiadas estuvo en un rango de 128,67 a 168,37 mg TE•100g<sup>-1</sup>; observándose una mayor actividad antioxidante en los tratamientos con 66 mg•kg<sup>-1</sup> mortiño; 94 mg•kg<sup>-1</sup> mucílago (VIMD), seguido por los tratamientos con 80 mg•kg<sup>-1</sup> mortiño, 80 mg•kg<sup>-1</sup> (VCMC) y 100 mg•kg<sup>-1</sup> mortiño; 80 mg•kg<sup>-1</sup> (VAMC). El resto de tratamientos presentaron una actividad antioxidante inferior (153,76-128,67 mg TE•100g<sup>-1</sup>), sin embargo, no se observa un efecto predominante de la adición de mucílago de cacao o mortiño en las propiedades funcionales de las diferentes formulaciones de chocolate blanco.

Con la finalidad de conocer las concentraciones óptimas de mucílago de cacao y mortiño que permitan obtener una formulación de chocolate con la mayor capacidad antioxidante se aplicó un diseño de superficie de respuestas, como se muestra en la Figura 10. En base a los resultados obtenidos se puede establecer que no existe un efecto individual de la adición de mucílago de cacao o pulpa de mortiño en la actividad antioxidante de las nueve formulaciones de sucedáneo de chocolate, por lo tanto, las propiedades funcionales medidas por el método de FRAP vienen dadas por un efecto sinérgico de estos dos ingredientes bioactivos. Sin embargo, se puede establecer que la adición de estos dos componentes por

partes iguales (80 mg•kg<sup>-1</sup> mortiño, 80 mg•kg<sup>-1</sup> mucílago) permite obtener una actividad antioxidante (167,74 mg TE•100g<sup>-1</sup>) cercana al punto de respuesta máximo (Figura 10 A).



VIMI (66 mg•kg<sup>-1</sup> mortiño, 66 mg•kg<sup>-1</sup> mucílago), VDMI (94 mg•kg<sup>-1</sup> mortiño, 66 mg•kg<sup>-1</sup> mucílago), VIMD (66 mg•kg<sup>-1</sup> mortiño, 94 mg•kg<sup>-1</sup> mucílago), VDMD (94 mg•kg<sup>-1</sup> mortiño, 94 mg•kg<sup>-1</sup> mucílago), VCMC (80 mg•kg<sup>-1</sup> mortiño, 80 mg•kg<sup>-1</sup> mucílago), VBMC (60 mg•kg<sup>-1</sup> mortiño, 80 mg•kg<sup>-1</sup> mucílago), VAMC (100 mg•kg<sup>-1</sup> mortiño, 80 mg•kg<sup>-1</sup> mucílago), VCMB (80 mg•kg<sup>-1</sup> mortiño, 60 mg•kg<sup>-1</sup> mucílago), VCMA (80 mg•kg<sup>-1</sup> mortiño, 100 mg•kg<sup>-1</sup> mucílago).

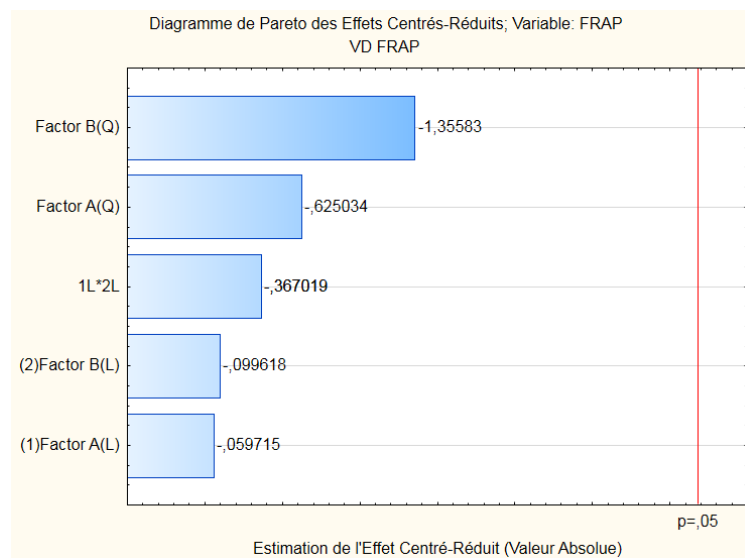
**Figura 10.** Superficie de respuesta de la concentración de microencapsulados de mucílago de cacao y pulpa de mortiño sobre la capacidad antioxidante del chocolate blanco medida por FRAP.

Al evaluar los resultados de la superficie de respuesta proyectados en dos dimensiones (Figura 10 B), se evaluó la sensibilidad de la actividad antioxidante al cambio de concentraciones de mucílago de cacao o pulpa de mortiño; confirmando que la combinación

de estos dos factores por partes iguales permite obtener los valores más altos de actividad antioxidante presentando muy poca sensibilidad a los cambios de concentración.

De acuerdo con los resultados del análisis de varianza presentados en la Gráfica 8, no existe un efecto significativo de la concentración de mucílago de cacao o mortiño en la actividad antioxidante de los tratamientos estudiados. Según los resultados presentados en el diagrama de Pareto, no existe un efecto lineal (Factor B-L=0,09), ni cuadrático (Factor B-Q=1,35) de la adición de mucílago de cacao y mortiño (Factor A-L= 0,05; Factor A-Q=0,62). Así también no existe una interacción lineal (1L\*2L=0,36) de estos dos factores sobre la capacidad antioxidante de las muestras estudiadas; presentando valores superiores al límite crítico (valor  $p > 0,05$ ) en todos los casos.

**Gráfica 8.** Análisis de varianza de la concentración de microencapsulados de mucílago de cacao y pulpa de mortiño sobre la capacidad antioxidante del chocolate blanco medida por FRAP.



Tomando como referencia la ecuación del apartado 4.2.1. (Ecuación 2) para el método de FRAP, se presenta una correlación significativa entre las variables independientes ( $X_1$ : Mortiño;  $X_2$ : Mucílago) y la variable dependiente ( $Y$ = Actividad antioxidante FRAP); con un coeficiente de determinación ( $R^2$ ) de 0,41049.

$$y = B_0 + B_1X_1 + B_2X_2 + B_3X_1^2 + B_4X_2^2 + B_5X_1X_2 \quad \text{Ecuación 2}$$

$$y = 168,47 - 0,7381X_1 - 1,2313X_2 - 12,7182X_1^2 - 27,5884X_2^2 - 6,4479X_1X_2$$

A partir de esta ecuación (Ecuación 2) se podría establecer las concentraciones óptimas de mucílago de cacao y mortiño que me permitan incrementar el poder antioxidante de las

muestras de chocolate estudiadas; llegando a evidenciarse deferencias significativas entre estos tratamientos.

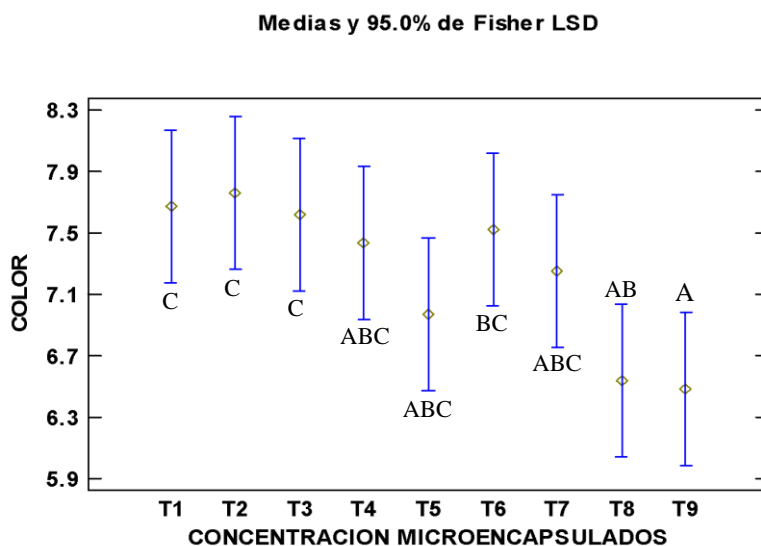
### 4.3. Análisis sensorial.

La evaluación de los parámetros instrumentales debe ir de la mano de la aceptación y percepción sensorial del producto, considerándose necesario evaluar las características organolépticas de las formulaciones desarrolladas en función de la puntuación de un panel de catadores.

#### 4.3.1. Prueba Hedónica.

La aceptabilidad es el atributo primordial de un producto, puesto que es el grado de aceptación que tiene cada uno de los tratamientos. Para su correspondiente valoración en base a parámetros de color, olor, sabor y textura, se empleó una escala hedónica no estructurada en un rango de opciones como: Me disgusta mucho (1) y Me gusta mucho (10). Los resultados obtenidos se detallan en las Tablas 6,7,8 y 9 (Anexo8).

**Gráfica 9.** Medias del efecto de concentración de microencapsulado sobre COLOR.

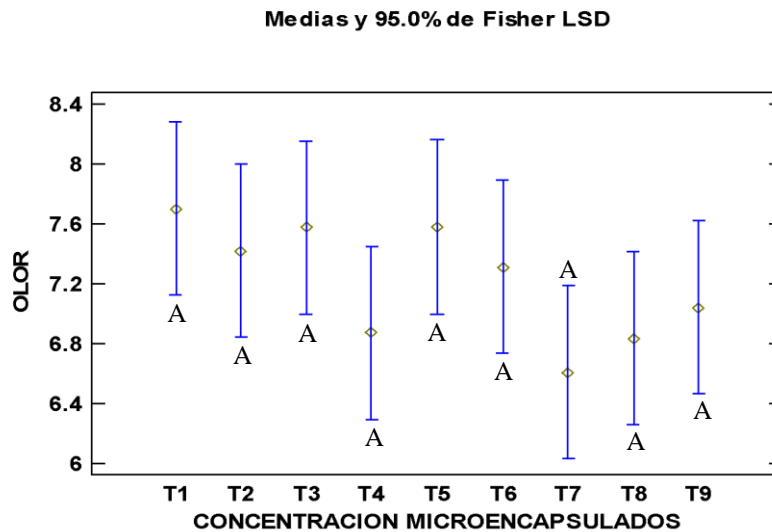


De acuerdo a los resultados presentados en la Gráfica 9 se identificaron tres grupos homogéneos de tratamientos, por lo tanto, no existe diferencia significativa en la aceptabilidad de color de las nueve formulaciones de sucedáneos de chocolate con propiedades funcionales, es decir que todas las muestras gustan por igual.

El análisis de varianza que muestra la Tabla 6, Anexo 8 descompone la variabilidad de color en contribuciones debidas a los factores A y B, siendo la concentración de

microencapsulados el factor A y los catadores o bloques el factor B. De acuerdo a los resultados, no existe diferencias en la aceptación del color por efecto de la concentración de microencapsulados incorporados al sucedáneo de chocolate, aceptándose la hipótesis nula planteada. Puesto que el valor -p del factor B es menor que 0.05, la aceptabilidad de los catadores tiene un efecto estadísticamente significativo sobre el color.

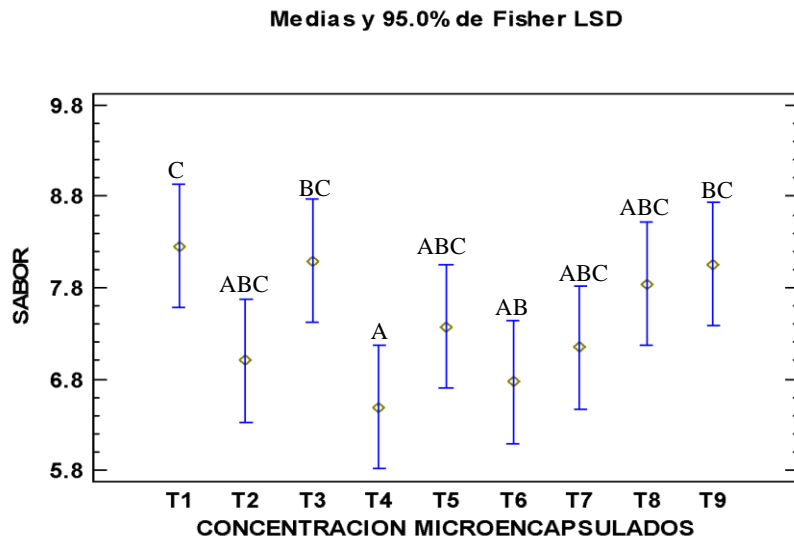
**Gráfica 10.** Medias del efecto de concentración de microencapsulado sobre OLOR.



De acuerdo a los resultados presentados en la Gráfica 10, se identifica homogeneidad de muestras, por lo tanto, no hay diferencia significativa entre cualquier par de medias con un nivel de 95.0% de confianza, es decir que todas las formulaciones de sucedáneos de chocolate con propiedades funcionales gustan independientemente de su olor; se acepta la hipótesis nula.

De acuerdo a los resultados que se muestran en la Tabla 7, Anexo 8 al igual que en el Análisis de varianza para color, el factor B tiene un efecto estadísticamente significativo sobre la aceptabilidad del olor. Sin embargo, el valor -p calculado para el factor A es mayor que 0.05, por lo tanto, no existe diferencias significativas en la aceptabilidad del parámetro de olor de las nueve formulaciones de sucedáneos de chocolate con propiedades funcionales.

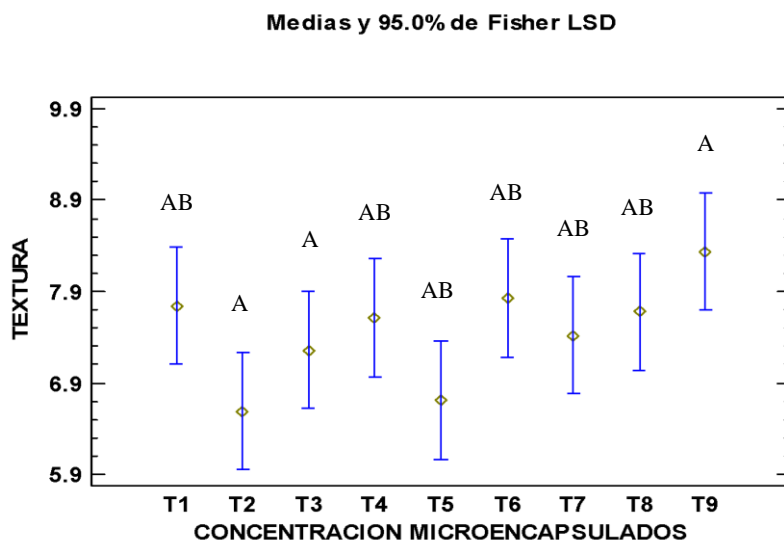
**Gráfica 11.** Medias del efecto de concentración de microencapsulado sobre SABOR.



De acuerdo a los resultados presentados en la Gráfica 11, no existe diferencias significativas en la aceptabilidad del sabor de las nueve formulaciones del sucedáneo de chocolate por efecto de la concentración de microencapsulados.

De acuerdo a los resultados expuestos en la Tabla 8, Anexo 8 se determina que la aceptabilidad de los catadores tiene un efecto estadísticamente significativo sobre el parámetro sabor puesto que el valor -p de este factor (B) es menor que 0.05. Sin embargo, se acepta la hipótesis nula dado que no existe diferencias significativas en la aceptabilidad del sabor de los nueve tratamientos por efecto del factor A; todas las muestras gustan por igual.

**Gráfica 12.** Medias del efecto de concentración de microencapsulado sobre TEXTURA.



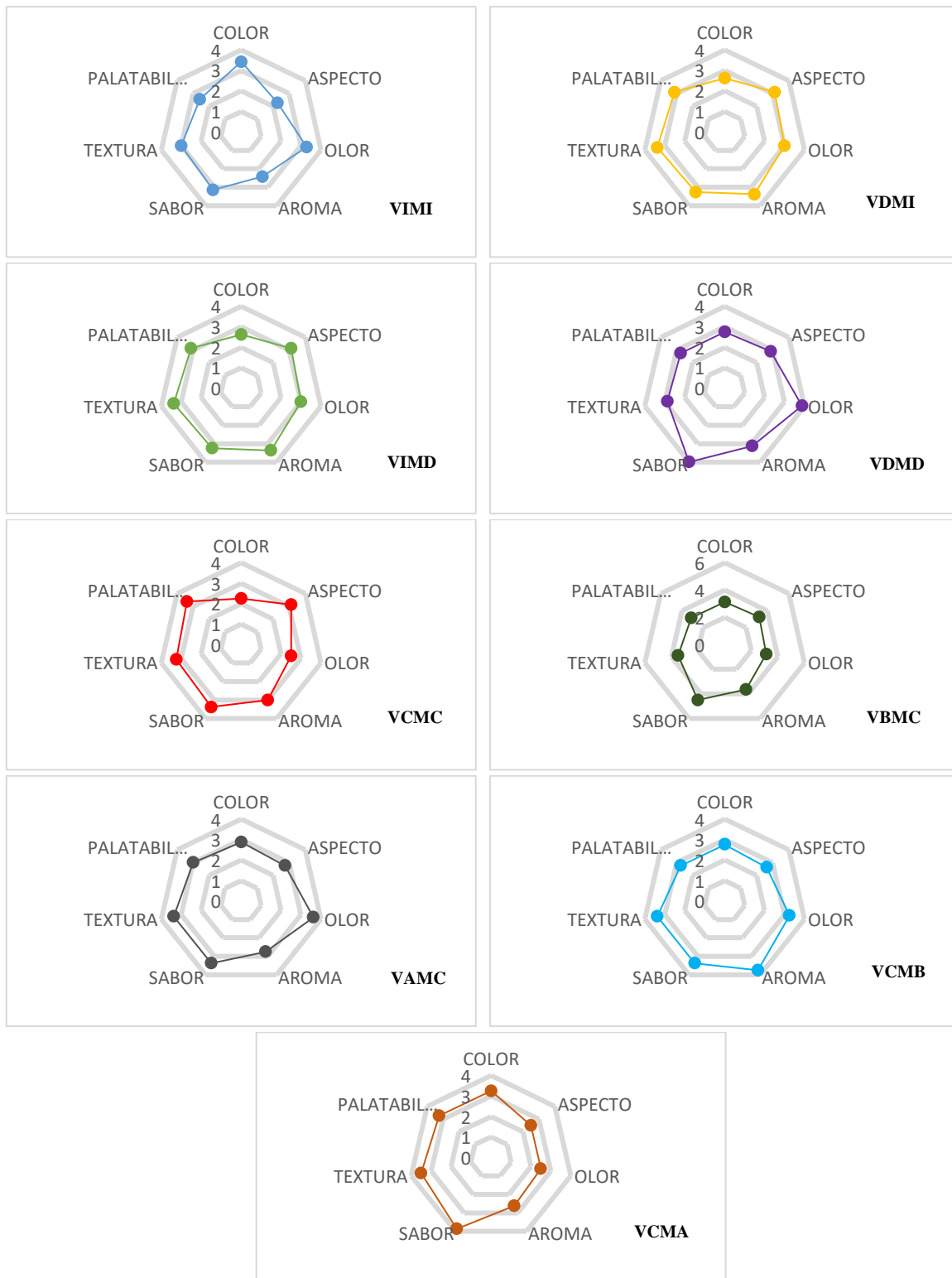
De acuerdo a los resultados presentados en la Gráfica 12, se ha identificado dos grupos homogéneos es decir no existe diferencia significativa en la aceptabilidad de textura de las nueve formulaciones del sucedáneo de chocolate, por lo tanto, todas las muestras gustan por igual.

El análisis de varianza que muestra la Tabla 9, Anexo 8 determina que no existe diferencias en la aceptación de las nueve formulaciones del sucedáneo de chocolate en el parámetro de textura por efecto de la concentración de microencapsulado, aceptándose la hipótesis nula planteada. Puesto que el valor  $-p$  del factor B es menor que 0.05, los catadores o bloques tienen un efecto estadísticamente significativo sobre la aceptabilidad de textura.

En base a los resultados obtenidos mediante el diseño de bloques incompletos a un nivel de significancia del 95% ( $\alpha=0,05$ ;  $p>0,05$ ) para cada parámetro, se estableció que, por la concentración de microencapsulado (Factor A) no existe diferencias significativas en la aceptabilidad de color, olor, sabor y textura de las nueve formulaciones de sucedáneos del chocolate con propiedades funcionales, todas las muestras gustan por igual. Se encontró diferencia significativa por efecto de los catadores debido a que no se contó con un panel previamente entrenado, por lo tanto, difiere la calificación de acuerdo a sus gustos. De acuerdo a las gráficas de medias de cada parámetro se pudo determinar el tratamiento con mayor aceptación basándose en la calificación de los catadores, el mejor puntuado tanto en olor y sabor fue T1(VIMI) siendo el segundo y tercer mejor calificado en los parámetros color y textura respectivamente. El Tratamiento VIMI posee las mismas concentraciones bajas tanto de pulpa de mortiño como de mucílago de cacao ( $66 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ). Sin embargo, también hubo tratamientos con baja puntuación en cada parámetro entre estos T4(VDMD), T7(VAMC) y T9(VCMA) siendo los que poseen las concentraciones más altas de mortiño y mucílago. T2(VDMI) fue el peor calificado para textura, pero el de mayor puntuación en color.

#### **4.3.2. Prueba Descriptiva.**

Para definir los atributos adecuados que caracterizan a las nueve formulaciones de sucedáneos de chocolate, se consideraron alternativas que evaluaran color, aspecto, olor, aroma, sabor, textura y palatabilidad como se detalla en la Figura 11.



VIMI (66 mg•kg<sup>-1</sup> mortiño, 66 mg•kg<sup>-1</sup> mucílago), VDMI (94 mg•kg<sup>-1</sup> mortiño, 66 mg•kg<sup>-1</sup> mucílago), VIMD (66 mg•kg<sup>-1</sup> mortiño, 94 mg•kg<sup>-1</sup> mucílago), VDMD (94 mg•kg<sup>-1</sup> mortiño, 94 mg•kg<sup>-1</sup> mucílago), VCMC (80 mg•kg<sup>-1</sup> mortiño, 80 mg•kg<sup>-1</sup> mucílago), VBMC (60 mg•kg<sup>-1</sup> mortiño, 80 mg•kg<sup>-1</sup> mucílago), VAMC (100 mg•kg<sup>-1</sup> mortiño, 80 mg•kg<sup>-1</sup> mucílago), VCMB (80 mg•kg<sup>-1</sup> mortiño, 60 mg•kg<sup>-1</sup> mucílago), VCMA (80 mg•kg<sup>-1</sup> mortiño, 100 mg•kg<sup>-1</sup> mucílago).

**Figura 11.** Perfil Sensorial de las nueve formulaciones de sucedáneo de chocolate con propósitos funcionales. De acuerdo al criterio del panel sensorial se estableció que todos los tratamientos estudiados evidencian patrones similares, aunque se presentaron diferencias en algunos atributos como

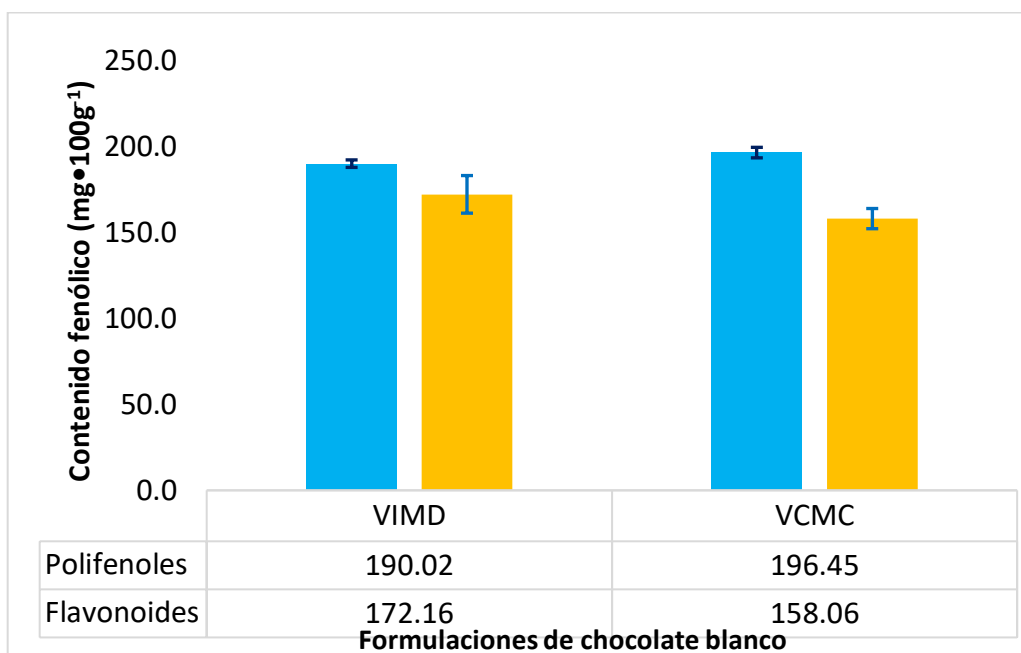
se reporta en las gráficas. Todas las formulaciones desarrolladas presentan la misma palatabilidad, ni áspero ni suave; son de aspecto satinado excepto VIMI que presenta un aspecto opaco. VCMC se diferencia de todas las muestras en cuanto al color, pues este presenta un color blanco amarillento; VBMC es el único que presenta un sabor afrutado. Existe gran similitud entre VIMD y VCMB, puesto que sus características son: amarillento (color), satinado (aspecto), complejo (olor), lácteo (sabor), granuloso (textura), ni áspero ni suave (palatabilidad), sin embargo, difieren en su aroma siendo floral para VIMI y Frutal en VCMB. De igual forma, VDMD y VAMC presentan similares características excepto por el sabor: especiado (VDMD) y lácteo (VAMC).

#### 4.4. Caracterización Funcional.

##### 4.4.1. Contenido fenólico

Una vez realizada la caracterización fisicoquímica, funcional y el análisis sensorial, se escogió el mejor tratamiento a partir de las nueve formulaciones de chocolate desarrolladas. De acuerdo con los resultados del análisis sensorial, los catadores no encontraron diferencias en las propiedades organolépticas y el perfil sensorial de las muestras evaluadas, por lo tanto, se escogió los tratamientos que presentaron la mayor capacidad antioxidante en los métodos ABTS y FRAP, escogiéndose los tratamientos VIMD y VCMC.

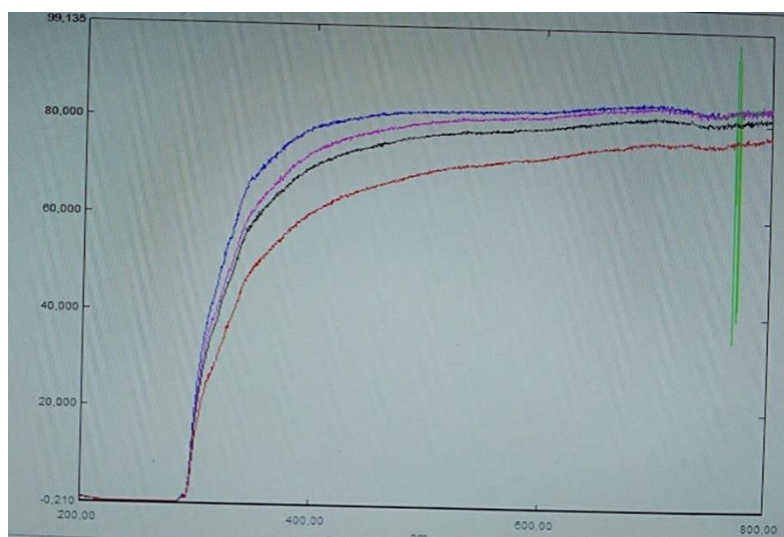
**Gráfica 13.** Contenido fenólico de chocolate con adición de mucílago de cacao y mortiño: VIMD (66 mg•kg<sup>-1</sup> mortiño, 94 mg•kg<sup>-1</sup> mucílago), VCMC (80 mg•kg<sup>-1</sup> mortiño, 80 mg•kg<sup>-1</sup> mucílago).



En los tratamientos que presentaron la mayor capacidad antioxidante se evaluaron parámetros como polifenoles, flavonoides totales, antocianinas totales y vitamina C; demostrándose que la adición de mucílago de cacao y mortiño puede incrementar el contenido de polifenoles y flavonoides de una formulación comercial de chocolate blanco. La muestra de chocolate VIMD que contenía  $66 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  mortiño y  $94 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  mucílago, alcanzó un contenido fenólico de  $190,02 \text{ mg AGE}\cdot 100\text{g}^{-1}$  en polifenoles totales y  $172,16 \text{ mg CE}\cdot 100\text{g}^{-1}$  en flavonoides, mientras que el tratamiento VCMC que contenía  $80 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  mortiño y  $80 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  mucílago, presentó un contenido fenólico de  $196,45 \text{ mg AGE}\cdot 100\text{g}^{-1}$  en polifenoles y  $158,06 \text{ mg CE}\cdot 100\text{g}^{-1}$  en flavonoides totales. Los resultados obtenidos en este estudio están dentro del rango reportado por Lončarević (49), quien obtuvo una concentración de polifenoles de  $75,06$  a  $153,95 \text{ mg AGE}\cdot 100\text{g}^{-1}$ .

Según Allgrove y Davison (59), el cacao y el chocolate son ricos en polifenoles y flavonoides por lo que se les considera una fuente abundante de catequina, epicatequina y sus isómeros. Sin embargo, los sucedáneos de chocolate carecen de dichos componentes bioactivos, por lo que, la incorporación de componentes bioactivos podría aportar propiedades funcionales al chocolate blanco. Existe una sólida y creciente evidencia que respalda los efectos positivos del consumo de polifenoles del cacao sobre el estrés oxidativo y los marcadores de salud, demostrando que ayuda en el sistema cardiovascular a través de una reducción en la oxidación de LDL, una mejora de la dilatación mediada por el flujo y una disminución de la presión arterial. Además, tiene un efecto sobre el estrés oxidativo en los trastornos relacionados con la función cognitiva, la diabetes y el cáncer.

**Gráfica 14.** *Contenido de Antocianinas totales y Vitamina C.*



De acuerdo con los resultados presentados en la Gráfica 14, se puede establecer que las muestras de sucedáneo de chocolate carecen de antocianinas totales y vitamina C en su composición, puesto que, los valores están por debajo del límite de detección de la técnica empleada para estos métodos(espectrofotometría).

#### **4.5. Análisis Microbiológico.**

Los resultados del análisis microbiológico realizado por SEIDLABORATORY al mejor tratamiento se presentan en el Anexo 9, llegando a determinarse la presencia de microorganismos en un número comprendido dentro de los límites permitidos y establecidos por las normas correspondientes impuestas por el INEN 621:2010 para recuento total referentes al chocolate.

#### **4.6. Costos de producción.**

En base a la formulación del mejor tratamiento experimental se determinaron los rubros indispensables para la elaboración del chocolate funcional con microencapsulados de mucílago de cacao y pulpa de mortiño.

Para la determinación del costo de producción se consideró materia prima, equipamiento básico utilizado y mano de obra como se detalla en el Anexo 10; determinándose que cada barra de chocolate con propiedades funcionales se puede comercializar en \$ 0,90.

## **CAPÍTULO V**

### **CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES**

## 5.1. Conclusiones.

En base a los objetivos planteados en el proyecto de investigación se establecen las siguientes conclusiones:

- La adición de compuestos bioactivos presentes en el mucílago de cacao incrementó la capacidad antioxidante del sucedáneo mejorando las propiedades funcionales de este producto carente de valor biológico.
- El mucílago de cacao y pulpa de mortiño son excelentes fuentes de compuestos bioactivos, su incorporación en el desarrollo de productos de confitería como el sucedáneo de chocolate, puede aportarle un alto valor biológico con la finalidad de disminuir el impacto negativo del consumo de alimentos con alto contenido de grasa y azúcares como el chocolate blanco.
- Los valores de actividad antioxidante de las muestras de chocolate blanco con adición de mucílago de cacao y mortiño estuvieron en un rango de 107,57 a 153,14 mg TE•100g<sup>-1</sup> por ABTS y 128,67 a 168,37 mg TE•100g<sup>-1</sup> por FRAP; demostrándose que la adición de compuestos bioactivos permite mejorar las propiedades funcionales de productos de confitería carentes de valor biológico.
- A nivel estadístico no se observó un efecto individual de la adición de mucílago de cacao y mortiño en la actividad antioxidante medida por el método de FRAP ( $p > 0,05$ ). Sin embargo, en el método de ABTS se observó un efecto de la adición de mucílago de cacao sobre los valores de actividad antioxidante de chocolate blanco, puesto que a medida que se incrementa la concentración de este ingrediente funcional aumenta la capacidad antioxidante.
- A partir del análisis sensorial de los chocolates enriquecidos se determinó que la incorporación de mucílago de cacao y pulpa de mortiño no afecta las características organolépticas del producto. Además, contribuye al agradable aroma floral y el aspecto satinado del mismo, teniendo una gran aceptabilidad de los catadores.
- El chocolate con propiedades funcionales desarrollado cumple con los requisitos microbiológicos establecidos por la norma INEN 621:2010.

## **5.2. Recomendaciones.**

- En base al efecto de los cambios de concentración de mucílago de cacao sobre la capacidad antioxidante del sucedáneo de chocolate medida por ATBS, se recomienda probar el desarrollo de chocolate blanco con adición única de este ingrediente funcional con la finalidad de evidenciar su aporte de compuestos bioactivos a este producto carente de antioxidantes.
- Al aplicar la técnica de secado por aspersión en muestras de mucílago de cacao, el microencapsulado resultante se torna chicloso dificultando el proceso de homogenización de la formulación de chocolate, por lo tanto, se recomienda extraer el contenido de azúcar previo a la microencapsulación de este producto.

**CAPITULO VI**  
**BIBLIOGRAFÍA**

1. Tapia A. Cascarilla de cacao (*Theobroma cacao* L.) Variedad arriba y ccn51 para la elaboración de una infusión [Internet]. Facultad de Ingeniería, Carrera Alimentos. Universidad Técnica de Ambato; 2015. Available from: [http://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/11981/1/AL\\_574.pdf](http://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/11981/1/AL_574.pdf)
2. Morales Intriago FL, Carrillo Zenteno MD, Ferreira Neto JA, Peña Galeas MM, Briones Caicedo WR, Albán Moyano MN. Cadena de comercialización del cacao nacional en la provincia de Los Ríos, Ecuador. *Cienc y Tecnol.* 2018;11(1):58–64.
3. Parra N, Henriquez M, Villanueva S. Utilización De Los Subproductos Del Cultivo Y Procesamiento Del Cacao. In Caracas: Gerencia de Proyectos de Investigación, Desarrollo e Innovación; 2018. Available from: <http://www.ing.ucv.ve>
4. Vásquez ZS, de Carvalho Neto DP, Pereira GVM, Vandenberghe LPS, de Oliveira PZ, Tiburcio PB, et al. Biotechnological approaches for cocoa waste management: A review. *Waste Manag.* 2019;90:72–83.
5. Llerena Silva WM. Estudio de la relación entre el color y el contenido de antioxidantes de seis frutas tropicales y andinas: Arazá (*Eugenia stipitata*), Mora (*Rubus glaucus*) variedad Iniap Andimora 2013, Mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth), Naranjilla (*Solanum quitoense*). Universidad Técnica de Ambato; 2014.
6. Coba P, Coronel D, Verdugo K, Paredes MF. Estudio etnobotánico del mortiño (*Vaccinium floribundum*) como alimento ancestral y potencial alimento funcional. *LA GRANJA Rev Ciencias la Vida.* 2012;16(2):5–13.
7. Toker OS, Konar N, Pirouzian HR, Oba S, Polat DG, Palabiyik İ, et al. Developing functional white chocolate by incorporating different forms of EPA and DHA - Effects on product quality. *LWT - Food Sci Technol.* 2018;177–85.
8. Hernández CDJ, Iliana A, Ventura J, Belmares R, Contreras JC, Michelena G, et al. La microencapsulación de bioactivos para su aplicación en la industria. *ICIDCA Sobre los Deriv la Caña Azúcar.* 2016;50(1):12–9.
9. Chafla AL, Rodríguez Z, Boucourt R, Torres V. Caracterización bromatológica de la cáscara de cacao (*Theobroma cacao*), procedente de siete cantones de la Amazonia, Ecuador. *Cuba J Agric Sci.* 2016;50(2):245–52.

10. Arteaga Estrella Y. Estudio del desperdicio del mucilago de cacao en el cantón Naranjal (Provincia del Guayas). *ECA Sinerg*. 2013;4(1):49–59.
11. Ortiz-Moncayo J. Obtención de un extracto rico en polifenoles a partir del residuo de la pulpa de mortiño ( *Vaccinium meridionale*). Universidad Técnica de Ambato Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos; 2018.
12. Cortés M, Chiralt A, Puente L. Alimentos funcionales: una historia con mucho presente y futuro. *Vitae*. 2005;12(1):5–14.
13. Valenzuela B. A. Chocolate, a healthy pleasure. *Rev Chil Nutr*. 2007;34(3).
14. Salas J, Hernández LY. Cacao, una aportación de México al mundo. *SAE Tech Pap*. 2015;2:33–9.
15. USDA. Servicio de Investigación Agrícola del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos [Internet]. Composición Nutricional del Chocolate Blanco. 2019. Available from: <https://fdc.nal.usda.gov/fdc-app.html#/food-details/470448/nutrients>
16. Organización Mundial de la Salud. Organización Mundial de la Salud [Internet]. Enfermedades no transmisibles. 2018. Available from: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/noncommunicable-diseases>
17. Rubiano L. Alimentos funcionales, una nueva alternativa de alimentación. *Rev ORINOQUIA-Universidad los Llanos*. 2006;10:16–23.
18. Parra R. Microencapsulación de Alimentos. *Rev Fac Nac Agron*. 2010;63(2):5669–84.
19. Zamora S. JD. Antioxidantes: Micronutrientes en lucha por la salud. *Rev Chil Nutr*. 2007;34(1).
20. Dolz Sotomayor E. El Regional [Internet]. Radicales libres versus antioxidantes. 2017. Available from: <http://www.elregionalpr.com/radicales-libres-versus-antioxidantes/>
21. Quiñones M, Miguel M, Aleixandre A. Los polifenoles, compuestos de origen natural con efectos saludables sobre el sistema cardiovascular. *Nutr Hosp*. 2012;27(1):76–89.
22. Cartaya, O; Reynaldo I. Flavonoides : características químicas y aplicaciones. *Cultiv*

- Trop. 2001;22(2):5–14.
23. Lozada J. ResearchGate [Internet]. Scientific Figure on ResearchGate. Available from: [https://www.researchgate.net/figure/Figura-1-Estructura-de-las-Antocianinas-1-Los-sustituyentes-en-el-anillo-A-y-B\\_fig1\\_279645094](https://www.researchgate.net/figure/Figura-1-Estructura-de-las-Antocianinas-1-Los-sustituyentes-en-el-anillo-A-y-B_fig1_279645094) [accessed 12 Jan, 2020]
  24. Serra, Horacio Marcelo; Cafaro TA. Ácido ascórbico: desde la química hasta su crucial función protectora en ojo. *Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana*. 2007;41(4):525–32.
  25. Bastías Montes JM, Cepero B. Y. La vitamina C como un eficaz micronutriente en la fortificación de alimentos. *Rev Chil Nutr*. 2016;43(1):81–6.
  26. King MW. The medical biochemistry page [Internet]. Los Valores RDA de Vitaminas y Minerales. 2016 [cited 2016 Jun 16]. Available from: <https://themedicalbiochemistrypage.org/es/vitamins-sp.php>
  27. Avello M, Suwalsky M. Radicales libres, antioxidantes naturales y mecanismos de protección. *Atenea*. 2006;(494):161–72.
  28. Be Water [Internet]. Available from: <https://bewater.es/enemigo/>
  29. Arvelo MA, Delgado T, Maroto S, Rivera J, Higuera I, Navarro A. Estado Actual Sobre La Producción Y El Comercio Del Cacao En América. Mexico; 2016.
  30. Carrasco AO. Obtención de harina baja en glútem a partir de la cascarilla de cacao de las variedades CCN-51 y Nacional. Universidad Técnica de Machala; 2015.
  31. Hernández C. Análisis de la composición química del cacao, extracción y estudio de compuestos antioxidantes en genotipos del Banco de germoplasma de México. Universidad de Sevilla, Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agrícola; 2018.
  32. Morales J de J, García A, Mendez E. ¿Qué sabe usted acerca de... Cefalea? *Rev Mex Ciencias Farm*. 2012;43(4):79–81.
  33. Asociación Nacional de Exportadores de Cacao. Anecacao [Internet]. Cacao Nacional un producto emblemático del Ecuador. Available from: <http://www.anecacao.com/es/quienes-somos/cacao-nacional.html>
  34. Coordinación General del Sistema de Información Nacional - CGSIN. *Fliphtml5*

- [Internet]. Rendimientos de cacao almendra seca en el Ecuador 2017. 2018. Available from: <http://fliphtml5.com/ijia/zmnj/basic>
35. Torres LA. Manual de producción de cacao fino de aroma a través de manejo ecológico. Universidad De Cuenca. Universidad de Cuenca; 2012.
  36. Agrocalidad. Buenas practicas agrícolas para cacao resolución técnica N°0183. 2012.
  37. Ramírez P. Estructura y dinamica de la cadena de cacao en el Ecuador: Sistematización de información y procesos en marcha. Quito, Ecuador; 2006.
  38. Caobisco/Eca/Fcc cocoa beans: chocolate and cocoa industry quality requeriments. Cacao en grano: Requisitos de calidad de la industria del chocolate y del cacao. 2015.
  39. Hartel RW, von Elbe JH, Hofberger R. Confectionery Science and Technology. Confectionery Science and Technology. 2018.
  40. Española RA. Diccionario de la lengua española [Internet]. Available from: <https://dle.rae.es/valorar>
  41. Champredonde, Marcelo; Gonzalez J. ¿Agregado de Valor o Valorización? Reflexiones a partir de Denominaciones de Origen en América Latina. Rev Iberoam Vitic Agroind y Rural. 2016;3(9):147–72.
  42. Directiva Marco de Residuos de la Unión Europea. Diario Oficial de la Directiva 2008/98/CE del parlamento europeo y del consejo. Parlamento Europeo. Parlamento europeo; 2008.
  43. Grillo G, Boffa L, Binello A, Mantegna S, Cravotto G, Chemat F, et al. Cocoa bean shell waste valorisation; extraction from lab to pilot-scale cavitation reactors. Food Res Int. 2019;115(August 2018):200–8.
  44. Yepes S, Montoya L, Orozco F. Valorizacion de residuos Agroindustriales-frutas-en Medellin y el sur del Valle Aburrá, Colombia. Rev Fac Nac Agron Medellin. 2008;61(1):4422–31.
  45. Vasco C, Riihinen K, Ruales J, Kamal-Eldin A. Chemical composition and phenolic compound profile of mortiño (*Vaccinium floribundum* kunth). J Agric Food Chem. 2009;57(18):8274–81.

46. Guerra-Vaca C. Caracterización y microencapsulación de compuestos bioactivos del Mortiño (*Vaccinium floribundum*, Kunth). Universidad de las Americas Facultad de Ingeniería y Ciencias Agropecuarias; 2017.
47. F. A. Tomás-Barberan. Los polifenoles de los alimentos y la salud. *Aliment Nutr y salud*. 2015;10(2):41–53.
48. Tavares L, Figueira I, MacEdo D, McDougall GJ, Leitão MC, Vieira HLA, et al. Neuroprotective effect of blackberry (*Rubus* sp.) polyphenols is potentiated after simulated gastrointestinal digestion. *Food Chem*. 2012;131(4):1443–52.
49. Lončarević I, Pajin B, Fišteš A, Tumbas Šaponjac V, Petrović J, Jovanović P, et al. Enrichment of white chocolate with blackberry juice encapsulate: Impact on physical properties, sensory characteristics and polyphenol content. *LWT - Food Sci Technol*. 2018;458–64.
50. Martínez Lanz P. Manual básico de investigación científica. Segunda. Moderno EM, editor. Vol. 6. Martínez Moreno, Martín; 2018.
51. Jiménez R, Jacinto P, Omar A. Métodos científicos de indagación y de construcción del conocimiento. *Rev Esc Adm Negocios [Internet]*. 2017;82:1–26. Available from: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=20652069006%0ACómo>
52. Saltos S HA. Sensometría. Análisis en el desarrollo de alimentos procesados. Primera. Freire EP, editor. Ambato, Ecuador; 2011.
53. Espín, S; Samaniego I. Manual para el análisis de parámetros químicos asociados a la calidad del cacao. Quito, Ecuador; 2016.
54. Quinaluisa DC. Microencapsulación de componentes bioactivos de pulpa de arazá (*Eugenia spicata*) mediante secado por aspersión. Universidad Técnica de Ambato, Carrera de Ingeniería en Alimentos; 2018.
55. Llerena W, Samaniego I, Navarro M, Ortíz J, Angós I, Carrillo W. Effect of modified atmosphere packaging (MAP) in the antioxidant capacity of arazá (*Eugenia stipitata* McVaugh), naranjilla (*Solanum quitoense* Lam.), and tree tomato (*Solanum betaceum* Cav.) fruits from Ecuador. *J Food Process Preserv*. 2020;(May):1–11.
56. Benzie I. The ferric reducing ability of Plasma (FRAP) as a measure of “Antioxidant

- Powder.” *Anal Biochem.* 1996;239:70–6.
57. Llerena W, Ang I, Brito B, Ortiz B. Biocompounds Content Prediction in Ecuadorian Foods. 2019;8(284):1–16.
  58. INEN. Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 621:2010 Chocolates. Requisitos [Internet]. Inen, 621:2010 Ecuador: INSTITUTO ECUATORIANO DE NORMALIZACION; 2010 p. 1–7. Available from: <http://apps.normalizacion.gob.ec/descarga/index.php/buscar>
  59. Allgrove J, Davison G. Dark Chocolate/Cocoa Polyphenols and Oxidative Stress [Internet]. Vol. 1, Polyphenols in Human Health and Disease. Elsevier Inc.; 2013. 241–251 p. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-398456-2.00019-0>

## **CAPITULO VII**

### **ANEXOS**

**Anexo 1. Árbol de problemas**

E  
F  
E  
C  
T  
O  
S

Desperdicio de recursos naturales ricos en compuestos bioactivos (polifenoles, flavonoides) como alternativa en la industria alimentaria

Contaminación ambiental por generación de residuos a gran escala (exudado del cacao)

Desaprovechamiento de los compuestos bioactivos presente en frutas exóticas y residuos orgánicos como alternativa para el desarrollo de productos funcionales

P  
R  
O  
B  
L  
E  
M  
A

**Desaprovechamiento de residuos de la Industria cacaotera (exudado) y frutales exóticos (mortiño)**

Desperdicio del exudado del cacao en el proceso de industrialización

Escaso conocimiento de las propiedades nutricionales y funcionales del mortiño y exudado del cacao

C  
A  
U  
S  
A  
S

Uso limitado del mortiño y exudado de cacao en la industria de alimentos

## Anexo 2. Procedimiento experimental



Muestreo



Obtención del grano y mucílago de cacao



Fermentación



Muestras de mucílago



Preparación de muestras

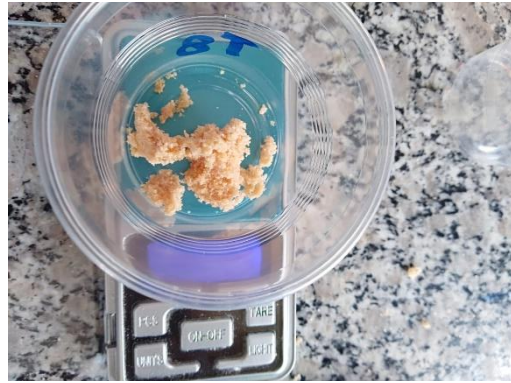


Obtención de extractos fenólicos



Obtención de microencapsulados

### Anexo 3. Desarrollo de los sucedáneos de chocolate



Microencapsulados de pulpa de mrtiño y mucílago de cacao



Formulación base del chocolate blanco



Incorporación de microencapsulados



Moldeado de las barras (50g)



Refrigeración

### Anexo 4. Evaluación Sensorial del chocolate blanco con propiedades funcionales



Codificación de muestras



Catadores

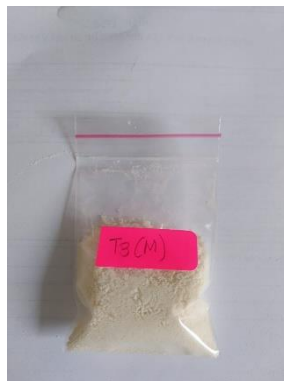
## Anexo 5. Análisis fisicoquímico y microbiológico



Medición de color de las barras de chocolate



Evaluación de capacidad antioxidante



Muestra para análisis microbiológico (T3)

Anexo 6. Hojas de cata Prueba Hedónica



UNIVERSIDAD TÉCNICA ESTATAL DE  
QUEVEDO  
FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS  
INGENIERIA EN ALIMENTOS

**ANÁLISIS SENSORIAL DE CHOCOLATE BLANCO**

Nombre: \_\_\_\_\_ Edad: \_\_\_\_\_

**Instrucciones:**

- Para la evaluación por favor, colocar el código de la muestra en los casilleros.
- Tome agua antes y entre cada muestra, durante la evaluación sensorial.
- Frente a usted tiene 4 muestras de chocolate blanco, por favor, pruebe las muestras de izquierda a derecha
- De acuerdo a su nivel de preferencia, trace una línea perpendicular a la recta dentro del siguiente intervalo:

**COLOR**

<input type="text"/>	←----- -----→
	Me disgusta Me gusta
	mucho Ni me gusta Ni me disgusta mucho
<input type="text"/>	←----- -----→
	Me disgusta Me gusta
	mucho Ni me gusta Ni me disgusta mucho
<input type="text"/>	←----- -----→
	Me disgusta Me gusta
	mucho Ni me gusta Ni me disgusta mucho

**OLOR**

<input type="text"/>	←----- -----→
	Me disgusta Me gusta
	mucho Ni me gusta Ni me disgusta mucho
<input type="text"/>	←----- -----→
	Me disgusta Me gusta
	mucho Ni me gusta Ni me disgusta mucho
<input type="text"/>	←----- -----→
	Me disgusta Me gusta
	mucho Ni me gusta Ni me disgusta mucho

SABOR

<input type="text"/>	←----- -----→		
	Me disgusta mucho	Ni me gusta Ni me disgusta	Me gusta mucho
<input type="text"/>	←----- -----→		
	Me disgusta mucho	Ni me gusta Ni me disgusta	Me gusta mucho
<input type="text"/>	←----- -----→		
	Me disgusta mucho	Ni me gusta Ni me disgusta	Me gusta mucho

TEXTURA

<input type="text"/>	←----- -----→		
	Me disgusta mucho	Ni me gusta Ni me disgusta	Me gusta mucho
<input type="text"/>	←----- -----→		
	Me disgusta mucho	Ni me gusta Ni me disgusta	Me gusta mucho
<input type="text"/>	←----- -----→		
	Me disgusta mucho	Ni me gusta Ni me disgusta	Me gusta mucho

Observaciones:

---

---

---

GRACIAS POR SU COLABORACIÓN.

## Anexo 7. Hojas de cata Prueba descriptiva

### PERFIL SENSORIAL DEL CHOCOLATE BLANCO

Nombre: \_\_\_\_\_ Edad: \_\_\_\_\_

#### Instrucciones:

- Para la evaluación por favor, colocar el código de cada muestra en los casilleros.
- Evalúe las muestras de izquierda a derecha y marque con una X la característica que describe mejor los atributos de cada muestra.
- Para evaluar el sabor, tome agua antes y entre cada muestra.



ATRIBUTO	ALTERNATIVAS	CÓDIGO			
Color	1. Blanco				
	2. Blanco amarillento				
	3. Amarillento				
	4. Amarillo oscuro				
	5. Marrón/ Pardo				



ATRIBUTO	ALTERNATIVAS	CÓDIGO			
Aspecto	1. Muy opaco				
	2. Opaco				
	3. Satinado				
	4. Brillante				
	5. Muy brillante				

ATRIBUTO	ALTERNATIVAS		CÓDIGO			
Olor	1.	Simple				
	2.	Ligero				
	3.	Complejo				
	4.	Equilibrado				
	5.	Delicado				
Aroma	1.	Vegetal				
	2.	Lácteo				
	3.	Floral				
	4.	Frutal				
	5.	Matices				
Sabor	1.	Muy ácido				
	2.	Ligeramente ácido				
	3.	Lácteo				
	4.	Especiado				
	5.	Afrutado				
Textura	1.	Grasiento				
	2.	Pegajoso				
	3.	Granuloso				
	4.	Arenoso				
	5.	Homogéneo				
Palatabilidad	1.	Áspero				
	2.	Ligeramente áspero				
	3.	Ni áspero ni suave				
	4.	Muy suave				
	5.	Fundente				

Observaciones:

**Anexo 8. Resultados de Evaluación Sensorial**

**Tabla 7. Análisis de Varianza para COLOR - Suma de Cuadrados Tipo III**

<b>Fuente</b>	<b>Suma de Cuadrados</b>	<b>Gl</b>	<b>Cuadrado Medio</b>	<b>Razón-F</b>	<b>Valor-p</b>
Efectos principales					
A: Concentración microencapsulados	12.4741	8	1.55926	1.86	0.0894
B: Catadores	96.8553	17	5.69737	6.81	0.0000
Residuos	38.4984	46	0.836922		
Total (corregido)	152.54	71			

**Tabla 8. Análisis de Varianza para OLOR - Suma de Cuadrados Tipo III**

<b>Fuente</b>	<b>Suma de Cuadrados</b>	<b>Gl</b>	<b>Cuadrado Medio</b>	<b>Razón-F</b>	<b>Valor-p</b>
Efectos principales					
A: Concentración microencapsulados	8.17019	8	1.02127	0.90	0.5279
B: Catadores	116.275	17	6.83972	6.00	0.0000
Residuos	52.4448	46	1.1401		
Total (corregido)	182.96	71			

**Tabla 9. Análisis de Varianza para SABOR - Suma de Cuadrados Tipo III**

<b>Fuente</b>	<b>Suma de Cuadrados</b>	<b>Gl</b>	<b>Cuadrado Medio</b>	<b>Razón-F</b>	<b>Valor-p</b>
Efectos principales					
A: Concentración microencapsulados	22.0293	8	2.75366	1.77	0.1087
B: Catadores	81.5705	17	4.79827	3.08	0.0012
Residuos	71.7232	46	1.5592		
Total (corregido)	182.24	71			

**Tabla 10. Análisis de Varianza para TEXTURA - Suma de Cuadrados Tipo III**

<b>Fuente</b>	<b>Suma de cuadrados</b>	<b>Gl</b>	<b>Cuadrado medio</b>	<b>Razón-f</b>	<b>Valor-p</b>
Efectos principales					
A: Concentración microencapsulados	16.2619	8	2.03273	1.46	0.1976
B: Catadores	103.244	17	6.0732	4.37	0.0000
Residuos	63.9831	46	1.39094		
Total (corregido)	204.846	71			

## Anexo 9. Análisis Microbiológico



**SEIDLaboratory CÍA. LTDA.**

SERVICIO INTEGRAL DE LABORATORIO

www.seidlaboratory.com.ec



Certificados N° 2102-01/02



Servicio de  
**Acreditación**  
Ecuatoriano

Acreditación N° OAE LE 1C 05-001  
LABORATORIO DE ENSAYOS  
LABORATORIO ACREDITADO BAJO NORMA ISO/IEC 17025

### INFORME DE ENSAYO NR.215965

INFORMACIÓN PROPORCIONADA POR EL CLIENTE			
Cliente:	WILMA MARIBEL LLERENA SILVIA		
Dirección:	AMBATO		
Nombre Producto :	CHOCOLATE BLANCO M/M		
Fecha de Elaboración:	ND	Fecha de Caducidad:	ND
Lote:	ND	Contenido Declarado:	ND
Material Envase:	FUNDA PLÁSTICA ANUDADA	Forma de Conservación:	Ambiente
INFORMACIÓN DE LA MUESTRA			
Código Laboratorio :	215965-1	Contenido Encontrado:	193.6 Gramos
Fecha Recepción:	2020/11/13	Fecha Inicio Ensayo:	2020/11/13
Condiciones Ambientales de llegada de la muestra:	22 °C	Muestreo:	Es responsabilidad del cliente y, los resultados aplican a la muestra entregada por el cliente tal como se recibió

ENSAYOS MICROB	MÉTODO	UNIDAD	RESULTADO	ESPECIFICACIONES	
				m	M
AEROBIOS	SEM-RT INEN 1529-5	UFC/g	<10	2,0 x 10 <sup>4</sup>	3,0 x 10 <sup>4</sup>
COLIFORMES TOTALES	SEM-CT AOAC 991.14	UFC/g	<10	0	1,0 x 10 <sup>2</sup>
MOHOS Y LEVADURAS	SEM-ML INEN 1529-10	UPM/g	<10	1,0 x 10 <sup>2</sup>	1,0 x 10 <sup>3</sup>
SALMONELLA 25 G	SEM-SS (AOAC 967 25,26,27)	N/A	Ausencia	0	---

INCERTIDUMBRE	
PARAMETRO	INCERTIDUMBRE
AEROBIOS	U <sub>ex</sub> = 0,13; A= (log C±U <sub>ex</sub> ); U= Potencia(10;A)
COLIFORMES TOTALES	U <sub>ex</sub> = 0,12; A= (log C±U <sub>ex</sub> ); U= Potencia(10;A) U <sub>ex</sub> = 0,32; A= (log C±U <sub>ex</sub> ); U= Potencia(10;A)
MOHOS Y LEVADURAS	U <sub>ex</sub> = 0,13; A=(log C±U <sub>ex</sub> ); U= Potencia(10;A) U <sub>ex</sub> = 0,39; A=(log C±U <sub>ex</sub> ); U= Potencia(10;A)

La incertidumbre expandida reportada esta basada en una incertidumbre tipica multiplicada por un factor de cobertura K=2, proporcionando un nivel de confianza de un 95%.

NS: No solicita el cliente/ ND: No declara.

ESPECIFICACIONES SEGÚN NORMA INEN 621:2010

m= Nivel de aceptación

M=Nivel de rechazo

"Las observaciones que se indican a continuación están FUERA del alcance de acreditación del SAE y A2LA"

OBSERVACIONES TECNICAS: El producto Cumple con las especificaciones indicadas.

Los resultados expresados arriba tienen validez solo para la muestra analizada en condiciones específicas no siendo extensivo a cualquier lote

El laboratorio no se responsabiliza por la representabilidad de la muestra respecto a su origen y sitio del cual fue tomado

Este informe no será reproducido, excepto en su totalidad con la aprobación del Director Técnico

- Tiempo de almacenamiento de informes: Cinco años a partir de la fecha de ingreso de la muestra

Atentamente.

20/11/19  
FECHA EMISIÓN

Firmado digitalmente por: SOFIA  
MARGARITA TOAPANTA CAGUANA  
Fecha y hora: 2020-11-19 11:32:46

Muestra 215965-1 de 215965-1

Pg 1 / 1

#### Confidencialidad e Imparcialidad

Seidlaboratory Cía. Ltda. asume la responsabilidad legal sobre la gestión de la información obtenida o creada durante la realización de actividades del laboratorio a partir de la(s) muestra(s) ensayada(s), información considerada como confidencial y de propiedad del cliente. Seidlaboratory Cía. Ltda. se compromete a usar dicha información únicamente de la manera y para los propósitos acordados por las partes; en caso de controversias, las partes se someterán al Centro de Mediación de la Cámara de Comercio de Quito.

### Anexo 10. Costos de Producción

**Tabla 11. Costos directos: Materia Prima**

Concepto	Unidad	Cantidad	Precio Unitario	Total
Azúcar	Kg	48.02	0.65	31.22
Grasa hidrogenada	Kg	37.10	15.00	556.48
Leche entera en polvo	Kg	14.41	9.00	129.68
Lecitina de soya	Kg	0.43	18.00	7.82
Vainilla en polvo	Kg	0.02	13.20	0.25
Microencapsulado mortiño	Kg	0.01	37.20	0.30
Microencapsulado mucílago	kg	0.01	43.87	0.35
<b>COSTO TOTAL</b>				<b>726.09</b>

**Elaborado por:** Autor.

**Tabla 12. Costos directos: Materiales directos**

Concepto	Cantidad	Precio Unitario (USD)	Total (USD)
Cajas de cartón 50 g	2000	0.05	100.00
Papel aluminio	2000	0.09	180.00
Cajas de cartón	40.00022335	1	40.00
<b>COSTO TOTAL</b>			<b>320.00</b>

**Elaborado por:** Autor.

**Tabla 13. Costo de Insumos**

Concepto	Unidad	Consumo/ día	Precio Unitario (USD)	Costo/mes (USD)	Costo/ día (USD)
Agua potable	m3	100	0.35	35.00	1.75
Luz eléctrica	kW·hor	200	0.11	21.0	1.1
Material de limpieza	Kit	1	30.00	30.0	1.5
<b>TOTAL</b>				<b>86.0</b>	<b>4.3</b>

**Elaborado por:** Autor.

**Tabla 14. Gastos administrativos**

Concepto	Costo (USD)	Cantidad	Costo/año (USD)	Costo/ día (USD)
Arriendo	200.00	12	2400.00	10.00
Permisos de funcionamiento	1200.00	1	240.00	1.00
Análisis de laboratorio	150.00	2	300.00	1.25
<b>TOTAL</b>			<b>2940.00</b>	<b>12.25</b>

**Elaborado por:** Autor.

**Tabla 15. Costos de reparación y mantenimiento**

Concepto	Porcentaje (%)	Costo equipos	Costo/año (USD)	Costo/ día (USD)
Equipamiento	2.00	2297.00	45.94	<b>0.19</b>

**Elaborado por:** Autor.

**Tabla 16. Equipos y mobiliarios**

Concepto	Cantidad	Precio Unitario (USD)	Costo/año (USD)	Costo/ día (USD)
Balanza	1	39.00	39.00	0.16
Balanza analítica	1	400.00	400.00	1.67
Refinadora/ conchadora	1	960.00	960.00	4.00
Refrigeradoras	2	449.00	898.00	3.74
<b>SUBTOTAL 1</b>			<b>2297.00</b>	<b>9.57</b>
<b>Mobiliario</b>				
Mesas de acero inoxidable	3	120	360.00	1.50
Vitrina mostrador	1	200	200.00	0.83
<b>SUBTOTAL 2</b>			<b>560.00</b>	<b>2.33</b>
<b>Utensilios y menaje</b>				
Moldes (50 g)	100	4.00	400.00	1.67
Utensilios	1	100.00	100.00	0.42
Menaje	1	100.00	100.00	0.42
<b>SUBTOTAL 3</b>			<b>600.00</b>	<b>2.50</b>
			<b>TOTAL</b>	<b>14.40</b>

**Elaborado por:** Autor.

**Tabla 17. Depreciación de equipos y enseres**

Concepto	Costo	Depreciación (%)	Costo/año (USD)	Costo/ día (USD)
<b>Equipos</b>				
Balanza	39.00	10	3.90	0.02
Balanza analítica	400.00	10	40.00	0.17
Refinadora/conchadora	960.00	10	96.00	0.40
Refrigeradoras	898.00	10	89.80	0.37
<b>Mobiliario</b>				
Mesas de acero inoxidable	360.00	10	36.00	0.15
Vitrina mostrador	200.00	10	20.00	0.08
<b>Utensilios y menaje</b>				
Moldes (50 g)	400.00	20	80.00	0.33
Utensilios	100.00	20	20.00	0.08
Menaje	100.00	20	20.00	0.08
<b>TOTAL</b>			<b>120.00</b>	<b>1.69</b>

**Elaborado por:** Autor.

**Tabla 18. Mano de Obra**

<b>Concepto</b>	<b>Costo (USD)</b>	<b>Cantidad</b>	<b>Costo/año (USD)</b>	<b>Costo/ día (USD)</b>
<b>Mano de obra</b>				
Obrero (2)	400.00	2	9600.00	40.00
Técnico (Ing. en Alimentos)	800.00	1	9600.00	40.00
Contador (Consultoría CPA)	60.00	12	720.00	3.00
<b>TOTAL</b>			<b>19920.00</b>	<b>83.00</b>

**Elaborado por:** Autor.

**Tabla 19. Costos totales**

<b>Costo de funcionamiento</b>		
	<b>Fijos</b>	<b>Costos Variables</b>
Materiales directos		726.09
Materiales indirectos		320.00
Mano de Obra		83.00
Insumos	4.30	
Reparación y Mantenimiento	0.19	
Equipos (Amortización)	14.40	
Depreciación de equipos, muebles y enseres	1.69	
Costos fijos + Costos variables	20.59	1129.10
<b>Subtotal Costo de producción (CF+ CV)</b>		1149.68
Gastos Administrativos		12.25
<b>Total de Costo de Producción</b>		<b>1161.93</b>
Participación trabajadores (15%)		174.29
Impuesto a la renta (25%)		290.48
<b>Total de costo de Funcionamiento/ día</b>		<b>1614.46</b>
Total de unidades producidas/ día (ideal)		2000
Total de unidades producidas/ día (real)		1800
<b>Costo unitario/ 50 g</b>		<b>0.90</b>

**Elaborado por:** Autor.