

Innovación tecnológica en cacao andino

Producto 7. Informe con la caracterización de extractos de flavonoides y pruebas de encapsulación realizadas

Olimpo José García Beltrán
Angélica Piedad Sandoval Aldana
Juan Guillermo Borja Fajardo

2021





Códigos JEL: Q16

FONTAGRO (Fondo Regional de Tecnología Agropecuaria) es un mecanismo único de cooperación técnica entre países de América Latina, el Caribe y España, que promueve la competitividad y la seguridad alimentaria. Las opiniones expresadas en esta publicación son de los autores y no necesariamente reflejan el punto de vista del Banco Interamericano de Desarrollo (BID), del Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA), FONTAGRO, de sus Directorios Ejecutivos ni de los países que representan.

El presente documento ha sido preparado por Olimpo Garcia PhD, Angélica Sandoval Aldana PhD., Juan Guillermo Borja

Copyright © 2021 Banco Interamericano de Desarrollo. Esta obra se encuentra sujeta a una licencia Creative Commons IGO 3.0 Reconocimiento-NoComercial- SinObrasDerivadas (CC-IGO 3.0 BY-NC-ND) (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/3.0/igo/legalcode>) y puede ser reproducida para cualquier uso no comercial otorgando el reconocimiento respectivo al BID. No se permiten obras derivadas. Cualquier disputa relacionada con el uso de las obras del BID que no pueda resolverse amistosamente se someterá a arbitraje de conformidad con las reglas de la CNUDMI (UNCITRAL). El uso del nombre del BID para cualquier fin distinto al reconocimiento respectivo y el uso del logotipo del BID no están autorizados por esta licencia CC-IGO y requieren de un acuerdo de licencia adicional. Note que el enlace URL incluye términos y condiciones adicionales de esta licencia.

Esta publicación puede solicitarse a:

FONTAGRO

Correo electrónico: fontagro@fontagro.org

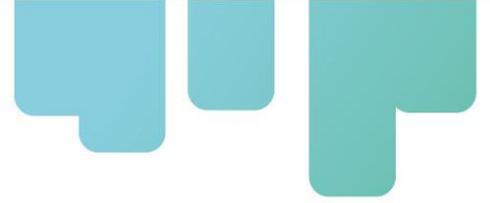
www.fontagro.org



Tabla de

CONTENIDO

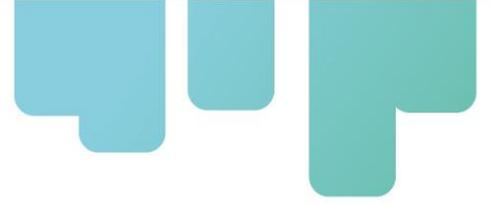
Abstract / Resumen.....	4
Introducción	6
1. Objetivos	7
2. Metodología	8
2.1. Material vegetal.....	8
2.2. Obtención de los extractos.....	8
2.3. Spray drying	9
2.4. Liofilización	10
2.5. Caracterización fisicoquímica	10
2.5.1. Polifenoles totales (PT)	10
2.5.2. Ferric reducing antioxidant power (FRAP).....	10
2.5.3. DPPH	11
2.5.4. Capacidad de absorción de radicales de oxígeno (ORAC)	11
2.5.5. Microscopio electrónico de barrido (SEM)	11
3. Resultados y discusión	11
3.1. Polifenoles totales	12
4. Conclusiones.....	16
Referencias Bibliográficas	19
Instituciones participantes	22



Abstract

Beans from cocoa (*Theobrom cacao* L.) and by-products are a interesting source of polyphenols, these compounds have received special attention by their role in the prevention or management in diseases that are believed caused by oxidative stress. However, these metabolites are susceptible to degradation under certain types of conditions, therefore they need a techonological process that give protection, stability and release control. Thus, the aim of this work was to develop by spray drying and lyophilization a microencapsulate rich in cocoa polyphenols. Maltodextrin and arabic gum at two different concentration (8% and 16%p/p) were used as wall material in both freeze dried and spray drying process. The inlet temperature of spray were 140°C and 160 °C. Powders obtained were evaluated for total polyphenols, FRAP, DPPH and ORAC assays. The encapsulation through freeze dried have higher values of total polyphenols and antioxidant capacity, however, the spray drying values still being interesting, taking into account the speed, lower energy consumption and the spherical morphology obtained by this method. The encapsulation of cocoa polyphenols is an innovative alternative that would allow entering new market niches with higher value-added products.

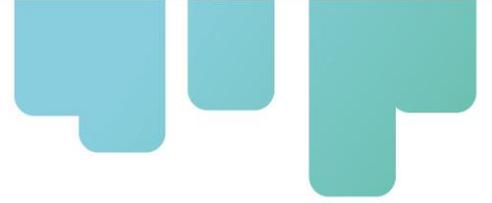
Palabras Clave: *Theobroma cacao* L, Antioxidant, spray drying, polyphenols, freeze-dried



Resumen

Los granos de cacao (*Theobroma cacao* L.) y sus subproductos son una fuente interesante de polifenoles, estos compuestos han tenido una especial atención por su rol en la prevención y manejo de enfermedades que se consideran causadas por estrés oxidativo. Sin embargo, estos metabolitos son susceptibles a la degradación bajo ciertas condiciones ambientales, por lo tanto, se requiere un proceso tecnológico para su protección, estabilidad y liberación controlada. Así, el objetivo de este trabajo fue desarrollar micro encapsulados de polifenoles de cacao utilizando secado por aspersión y liofilización. Se utilizaron como material encapsulante maltodextrina y goma arábica en dos concentraciones diferentes (8 y 16%) en los dos tipos de encapsulación. Se utilizaron dos temperaturas internas en el proceso de secado por aspersión 140 °C y 160°C. Los encapsulados obtenidos se evaluaron por polifenoles totales, FRAP, DDPH y ensayos de ORAC. La encapsulación a través de secado por aspersión tiene mayores valores de polifenoles y capacidad antioxidante. Sin embargo, el proceso de secado por aspersión es todavía interesante, considerando la velocidad, menor consumo de energía y la morfología esférica obtenida de este método. La encapsulación de polifenoles de cacao es una alternativa innovadora que puede permitir el ingreso a nuevos mercados de mayor valor agregado.

Palabras claves: *Theobroma cacao*, capacidad antioxidante, secado por aspersión, polifenoles, liofilización.



Introducción

En los últimos años se han presentado importantes avances en cuanto a la financiación del sector cacaoero, buscando mejorar la productividad y calidad, así como fomentar e impulsar la cacaocultura con un enfoque innovador involucrando procesos de transformación de la materia prima y el desarrollo de nuevos productos de mayor valor agregado que mejoren las condiciones económicas de los productores y permitan generar nuevos encadenamientos productivos en el sector.

El auge que tiene en la actualidad el cacao y los productos derivados reside en gran medida a los beneficios para la salud que se han logrado demostrar, por lo que el consumo de chocolate oscuro y otros productos derivados no solo se realiza por las características organolépticas sino también impulsado por los efectos positivos que han sido demostrados al consumo regular (Callebaut, 2009). Los compuestos responsables de los beneficios en la salud humana son los polifenoles, compuestos que poseen una elevada actividad antioxidante, protegiendo al organismo frente al daño ocasionado por radicales libres, los cuales al tener un electrón desapareado son altamente reactivos y causan daños a nivel celular (Wollgast & Anklam., 2000).

Al igual que otros compuestos bioactivos los polifenoles son susceptibles a degradarse fácilmente, un ejemplo de esto son las pérdidas y alteraciones que sufren los polifenoles de cacao durante cada etapa de procesamiento (Schinella et al., 2010). Sin embargo, estas etapas son de vital importancia para el adecuado desarrollo de los precursores de sabor y aroma, permitiendo que los granos sean utilizados en chocolatería y productos derivados. No obstante, si se pretende utilizar los granos de cacao y subproductos desde la perspectiva funcional es necesario recurrir a nuevas metodologías de procesamiento y transformación que permitan generar productos de mayor valor agregado.

Diferentes técnicas de encapsulación son empleadas en la actualidad con la finalidad de brindar protección y garantizar estabilidad por mayor tiempo a moléculas de interés, además de enmascarar sabores desagradables (Fang & Bhandari., 2010) Las características obtenidas de los encapsulados permiten que estos sean dirigidos a la industria de los productos funcionales, ya sea para consumo directo o para mejorar el perfil antioxidante de algún producto.

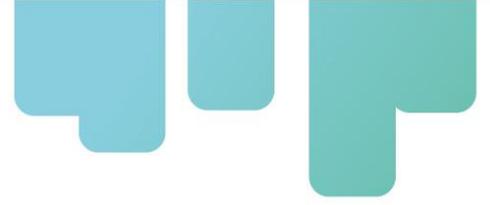
Teniendo en cuenta las dinámicas actuales y la necesidad de que países productores se mantengan a la vanguardia con nuevos productos de mayor valor agregado, este trabajo tiene el objetivo de desarrollar un prototipo de bioproducto funcional rico en polifenoles de *Theobroma cacao* L.



1. Objetivos

Desarrollar mediante secado por aspersión y liofilización un microencapsulado rico en polifenoles de cacao.

Determinar el contenido de polifenoles totales, capacidad antioxidante y morfología de los encapsulados obtenidos



2. Metodología

2.1. Material vegetal

Se emplearon granos de los clones TSH-505, ICS-1, ICS-95, IS60, e IMC67 y CCN51, las mazorcas de cacao fueron procesadas en el laboratorio de química aplicada de la Universidad de Ibagué, se extrajeron los granos y se les removió manualmente el mucílago, posterior a esto, los granos fueron liofilizados y almacenados a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ hasta el momento de su extracción.



Figura 1. A) Arbusto de cacao en cosecha; B) Mazorcas de cacao en el laboratorio

2.2. Obtención de los extractos

Los granos de cacao previamente liofilizados se trituraron y fueron depositados en recipientes ámbar para ser sometidos a extracción por maceración en frío empleando etanol acuoso (70:30) durante 3 días con agitación diaria, posteriormente, los extractos se filtraron al vacío y se concentraron a presión reducida en un rotaevaporador Heidoph Hei-VAP Advantage acoplado a una bomba de vacío Vacuubrand Pc3001 VARIO pro, utilizando como sistema de enfriamiento agua recirculada por un Rotachill-Heidolph, los extractos acuosos obtenidos fueron almacenados en recipientes de vidrio color ámbar a -20°C y empleados para los encapsulados de spray drying y freeze drying.



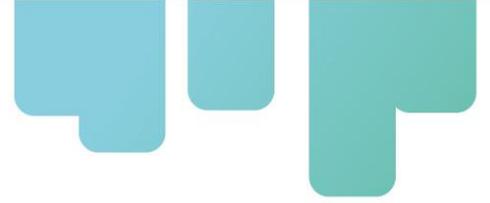
Figura 2. A) Extracción de polifenoles de cacao; B) Concentración de extractos de Cacao

2.3. Spray drying

El secado por aspersión se realizó en el equipo YM-015 Yuming Instrument Co. Ltd., Shanghai, China. Para esta metodología se empleó extracto del clon CCN51. La cantidad de encapsulante se calculó como %p/p en relación con el peso del extracto de cacao para los dos porcentajes trabajados 8g y 16 g de maltodextrina y goma arábiga por cada 100g de extracto concentrado. Los materiales de pared en polvo se dispersaron directamente en el extracto empleando agitación magnética, el líquido obtenido fue atomizado a dos temperaturas (140 y 160°C) mediante una bomba peristáltica a través de una boquilla de 1mm de diámetro, los polvos obtenidos fueron almacenados a -20°C.



Figura 3. Encapsulación por spay drying



2.4. Liofilización

Se realizó en el equipo biobase BK-FD18PT, los encapsulantes se dispersaron mediante agitación magnética en los extractos acuosos de los diferentes clones de cacao a dos concentraciones diferentes de cada encapsulante para un total de 4 tratamiento por clon, las emulsiones fueron vertidas en recipientes ámbar de 20 mL y enfriadas a $-60\text{ }^{\circ}\text{C}$, posteriormente fueron dispuestas en las bandejas del equipo para ser secadas con una temperatura de condensador de $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ y 10 Pa de presión.



Figura 4. Encapsulación por freeze drying.

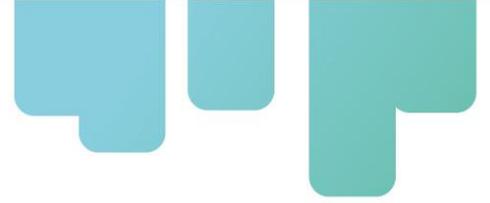
2.5. Caracterización fisicoquímica

2.5.1. Polifenoles totales (PT)

Se determinó a través del método Folin-Ciocalteu empleando ácido gálico como sustancia de referencia. Una alícuota de 0,25 mL de extracto se mezcla con 0,25 mL del reactivo de Folin-Ciocalteu y 2 mL de agua destilada. Posteriormente se adicionaron 0,25 mL de solución saturada de carbonato de sodio 20% p/v, la mezcla se llevó al baño de maría por 30 minutos a $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, finalmente la absorbancia fue leída a 760 nm. Los resultados son expresados en miligramos equivalentes de ácido gálico (mg EAG/g extracto) (Singleton et al.,1999)

2.5.2. Ferric reducing antioxidant power (FRAP)

El reactivo FRAP se preparó mezclando 300 mM de buffer acetato (pH 3.6), 10 mM de TPTZ (2,4,6-tripiridil-s-triazina), y 20 mM de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ en una relación de 10:1:1 a $37\text{ }^{\circ}\text{C}$. 2,5 mL del reactivo FRAP fueron agregados en tubos de ensayo. Un total de 100 μl de muestra se adicionaron a los tubos de ensayo, para posteriormente ser incubados a $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 4 minutos. La absorbancia se midió a 593 nm en un espectrofotómetro Agilent Cary 60 UV-Vis. (Benzie & Strain 1996). Se realizó una curva de calibración con diferentes concentraciones de Trolox, los resultados se expresan en mmol equivalentes de mmolTrolox/gramos de muestra mmolT/g.



2.5.3. DPPH

Se realizó empleando la metodología propuesta por (Brand-Williams, Cuvelier & Berset, 1995) con algunas modificaciones. Una alícuota de 250 μL de la muestra a evaluar se agregó a 2,5 mL de una solución metanólica de DPPH (0,5 mmol/L), esta se homogenizó con ayuda del vortex y después de 25 minutos a temperatura ambiente se midió la absorbancia a 517 nm en un espectrofotómetro Agilent Cary 60 UV-Vis. Se realizó una curva de calibración con diferentes concentraciones de Trolox, los resultados se expresan en mmol equivalentes de Trolox/g (mmolET/g).

2.5.4. Capacidad de absorción de radicales de oxígeno (ORAC)

Se realizará empleando la metodología propuesta por Ou et al. (2013) con algunas modificaciones. Los valores de ORAC se cuantificaron midiendo la fluorescencia de la fluoresceína sódica en presencia de AAPH, para esto, se prepara de una solución de 3 mL que contiene 21 μL de fluoresceína 10 μM , 2899 μL de buffer fosfato 75 mM (pH 7,4), 50 μL de AAPH 600 mM y 30 μL de extracto de cacao. La fluoresceína se registra cada 60 segundos a 37°C por 90 minutos usando un espectrofluorímetro Agilent a una longitud de excitación de 485 nm y una longitud de emisión de 520 nm. Los resultados se calculan empleando una curva de calibración con Trolox a diferentes concentraciones y se expresan en mmol equivalentes de Trolox/100g (mmolET/g).

2.5.5. Microscopio electrónico de barrido (SEM)

Se realizó en un microscopio electrónico de barrido Zeiss EVO HD 15, con una EHT (Electron High Tension) de 15 kV. Se utilizó el detector de electrones secundarios (en modo de presión variable) para apreciar en detalle la topografía de las muestras con una alta profundidad de campo. Las muestras fueron tratadas con el metalizador Q150 R ES Plus por bombardeo iónico en fase gaseosa en alto vacío (10^{-6} mbar) con metal no oxidante (oro). Se realizó el recubrimiento de las muestras con un espesor fino y uniforme.

3. Resultados y discusión

3.1 Rendimiento

Para el desarrollo de este proyecto se colectaron frutos (mazorcas) de los clones TSH-505, ICS-1, ICS-95, IS60, FSV-41, IMC67 y CCN51. Las semillas en fresco se les retiró el mucilago para liofilizarla y omitir el paso de fermentación debido a que durante este último proceso puede haber un grado de degradación de los compuestos polifenólicos. Por tanto las semillas en fresco fueron liofilizadas y posteriormente extraída con una mezcla de solventes agua:alcohol:ácido formico y las soluciones extraídas sufrieron primero un proceso de destilación a presión reducida y seguidamente una liofilización hasta obtener un polvo de color rojizo (Figura 6), con rendimientos variados (Tabla 1).

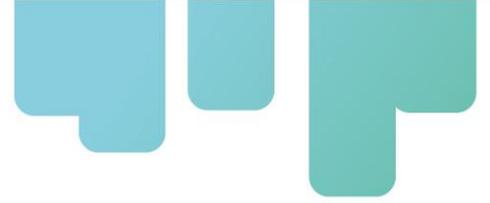


Tabla 1. Rendimiento de extractos polifenólicos obtenidos.

Material	Peso inicial	Peso final	% rendimiento
ICS-60	840,78	85,78	10,20
TSH505	789,98	79,45	10,06
ICS95	838,12	80,96	9,66
IMC67	920,78	89,75	9,75
ICSI-1	889,78	90,12	10,13
CCN51	789,75	75,84	9,60

3.1. Polifenoles totales

Los valores de polifenoles totales tuvieron valores entre 128,22 y 66,63 mgeAG/g para los encapsulados obtenidos mediante el liofilizador, mientras que los obtenidos por spray drying presentaron valores entre 35,24 y 18,05 mgeAG/g. Se encontraron diferencias significativas ($P < 0.05$) entre los clones empleados en la liofilización y en los tratamientos realizados en el secado por aspersión. Estos valores se encuentran dentro de los rangos reportados por Carrillo, Londoño & Gil (2014), Pedan et al. (2018) con excepción de los clones ICS-60, ICS-1 y CCN51 que presentaron valores superiores a los reportados por estos autores. Varios estudios han demostrado una alta variación en el contenido de PT, estas variaciones son atribuidas a la genética del árbol cultivado, condiciones edafoclimáticas, madurez de los granos y el tiempo de almacenamiento después de la cosecha (Elwers et al., 2009; Albertini et al., 2015; Oracz, Zyzelewicz y Nebesny 2015). Ya se ha reportado que durante el proceso de fermentación y secado ocurren pérdidas en el contenido de polifenoles, por lo que al secar los granos en el liofilizador obviando la fermentación se garantiza un mayor contenido de PT. En cuanto a los valores de PT obtenidos en el proceso de spray drying se encontró un efecto negativo de la temperatura sobre estos, siendo 160°C la temperatura a la que se encontró un menor contenido de estos, independiente del encapsulante empleado. Los tratamientos con mayor contenido de PT fueron M8-140 con $34,76 \pm 0,03$ y A16-140 con $35,24 \pm 11,31$ mgeAG/g respectivamente. Los valores de PT obtenidos en el liofilizador fueron superiores a los de spray drying, esto se explica por la ausencia de altas temperaturas en la primera metodología de encapsulación, permitiendo que durante el proceso no ocurran pérdidas considerables de polifenoles. Sin embargo, se debe tener en cuenta que el proceso de liofilización involucra un mayor tiempo de operación del equipo (hasta 72 horas), lo que puede elevar el costo del producto final, mientras que la encapsulación mediante spray drying requiere menos tiempo para producir la misma o mayor cantidad de producto.

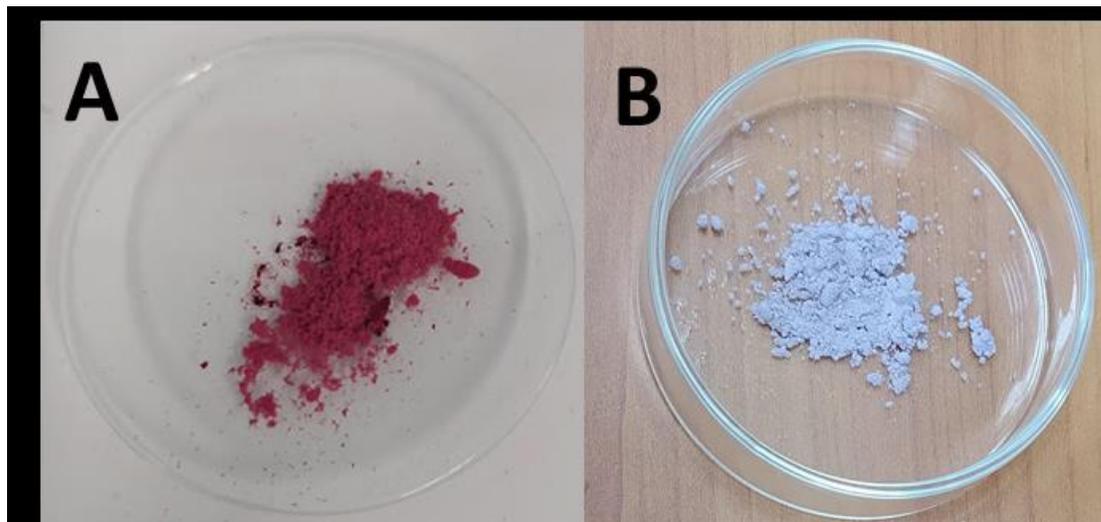


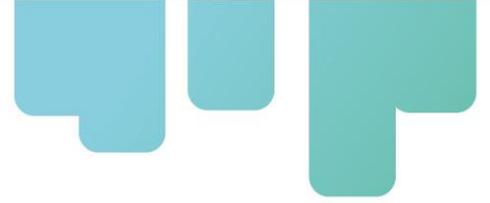
Figura 5. A) encapsulados obtenidos por freeze drying. B) encapsulados obtenidos por spray drying.

3.2. Capacidad antioxidante (CA)

Se encontraron diferencias significativas ($P < 0.05$) en las tres pruebas antioxidantes realizadas; tanto para los clones empleados en la encapsulación por liofilización como para los tratamientos realizados en el secado por aspersión. El poder reductor evaluado por la metodología FRAP tuvo valores entre $1673,19 \pm 14,04$ y $307,20 \pm 2,32$ ($\mu\text{molET/g}$) para los encapsulados obtenidos por liofilización; los clones de cacao con mayor CA en este método fueron ICS-1 y CCN51, mientras que para spray drying los valores estuvieron entre $536,95 \pm 21,50$ y $107,41 \pm 3,21$ ($\mu\text{molET/g}$), siendo el tratamiento A8-140 el que presentó el valor más alto para FRAP. Los resultados encontrados presentaron valores por encima de los reportados en la literatura para muestras de chocolate oscuro de diferentes orígenes y porcentajes de cacao. (Vertuani et al., 2014, Todorovic et al., 2015).

La actividad atrapadora del radical DPPH presentó valores entre $487,79 \pm 9,68$ y $289,48 \pm 4,37$ ($\mu\text{molET/g}$) para los encapsulados obtenidos por liofilización; los clones de cacao con mayor CA en este método fueron ICS-1 y CCN51, para spray drying se mantuvieron en un rango de $201,99 \pm 1,83$ a $101,93 \pm 2,43$, siendo M8-140 el tratamiento con el valor más alto. Valores dentro de los rangos encontrados han sido reportados en muestras de cacao colombiano, brasileño y de chocolates producidos en serbia (Bustamante, Tenorio & Rojano, 2013, Batista et al., 2016, Todorovic et al., 2015).

Los valores de CA evaluada por el método (ORAC) estuvieron entre $119937,34 \pm 2912$ y $38650,99 \pm 722$ $\mu\text{molET}/100\text{g}$ para los encapsulados obtenidos por liofilización; los clones con mayor CA en esta metodología fueron ICS-1 e ICS-60, para spray drying se mantuvieron en un rango de $73302,38 \pm 5284$ y $28306,12 \pm 1803$ $\mu\text{molET}/100\text{g}$ donde el tratamiento con mayor valor fue el M16-140. Los valores de ORAC encontrados en este trabajo son similares a los reportados por (Jean-Marie et al., 2021) para granos de cacao de la Guyana Francesa, a los de Carillo, Londoño



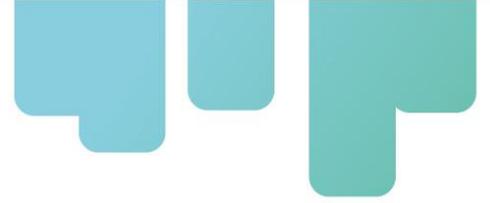
y Gil para almendras de cacao colombiano, a los encontrados por (Pallares et al.,2017) para el clon CCN51 y a los reportados en la base de datos ORAC del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (Nutrient Data Laboratory, 2010).

Tabla 2. Valores de polifenoles totales, FRAP DPPH y ORAC de los clones de cacao y tratamientos obtenidos mediante liofilización

Clon	Tratamiento	Polifenoles Totales mgEAG/g	FRAP ($\mu\text{molET/g}$)	DPPH ($\mu\text{molET/g}$)	ORAC ($\mu\text{molET/100g}$)
IMC-67	M8	75,80 \pm 2,05 ^b	55,85 \pm 13,15 ^a	321,32 \pm 1,86 ^b	38650,99 \pm 722 ^a
IMC-67	M16	76,98 \pm 2,97 ^b	307,20 \pm 2,32 ^a	312,44 \pm 7,92 ^b	40062,38 \pm 556 ^a
IMC-67	A8	76,55 \pm 0,97 ^b	318,33 \pm 5,58 ^a	313,56 \pm 2,15 ^b	54908,95 \pm 1026 ^a
IMC-67	A16	74,74 \pm 3,58 ^b	308,24 \pm 6,08 ^a	308,82 \pm 0,16 ^b	54908,95 \pm 1026 ^a
ICS-95	M8	71,68 \pm 0,92 ^a	558,10 \pm 6,89 ^b	294,13 \pm 4,19 ^a	53361,11 \pm 1830 ^a
ICS-95	M16	66,63 \pm 1,31 ^a	575,85 \pm 3,71 ^b	291,61 \pm 7,32 ^a	53765,33 \pm 2129 ^a
ICS-95	A8	77,11 \pm 1,85 ^a	582,65 \pm 5,73 ^b	292,11 \pm 2,86 ^a	55533,33 \pm 1344 ^a
ICS-95	A16	68,41 \pm 2,49 ^a	436,76 \pm 5,96 ^b	289,48 \pm 4,37 ^a	51052,89 \pm 1832 ^a
TSH-505	M8	83,47 \pm 1,63 ^c	1034,88 \pm 26,10 ^c	334,39 \pm 3,60 ^c	73632,58 \pm 3148 ^b
TSH-505	M16	78,58 \pm 1,35 ^c	888,96 \pm 52,87 ^c	320,92 \pm 0,96 ^c	72075,76 \pm 2862 ^b
TSH-505	A8	85,06 \pm 1,58 ^c	812,68 \pm 3,81 ^c	338,09 \pm 0,10 ^c	65712,66 \pm 4779 ^b
TSH-505	A16	79,40 \pm 3,58 ^c	812,18 \pm 11,62 ^c	340,57 \pm 2,79 ^c	66436,85 \pm 3097 ^b
ICS-60	M8	95,31 \pm 2,65 ^d	953,58 \pm 37,30 ^c	421,43 \pm 2,82 ^d	110407,17 \pm 2552 ^c
ICS-60	M16	96,28 \pm 1,50 ^d	895,59 \pm 32,69 ^c	429,81 \pm 3,93 ^d	109587,84 \pm 3300 ^c
ICS-60	A8	98,29 \pm 1,20 ^d	854,94 \pm 19,33 ^c	431,26 \pm 4,19 ^d	96000,19 \pm 2746 ^c
ICS-60	A16	95,51 \pm 2,15 ^d	593,26 \pm 8,26 ^c	427,12 \pm 3,84 ^d	105764,84 \pm 3202 ^c
ICS-1	M8	117,08 \pm 2,65 ^e	1469,04 \pm 13,16 ^d	463,45 \pm 0,37 ^e	113920,24 \pm 3599 ^d
ICS-1	M16	112,60 \pm 4,32 ^e	933,22 \pm 1,26 ^d	471,09 \pm 4,14 ^e	99732,71 \pm 2561 ^d
ICS-1	A8	120,22 \pm 4,39 ^e	998,73 \pm 67,63 ^d	460,34 \pm 2,37 ^e	121819,13 \pm 4131 ^d
ICS-1	A16	128,22 \pm 6,70 ^e	1735,35 \pm 8,01 ^d	470,86 \pm 2,36 ^e	119937,34 \pm 2912 ^d
CCN51	M8	122,57 \pm 4,41 ^e	1162,46 \pm 37,14 ^d	487,63 \pm 4,78 ^f	45892,88 \pm 1791 ^a
CCN51	M16	119,68 \pm 5,83 ^e	1673,19 \pm 14,04 ^d	478,81 \pm 9,79 ^f	47788,24 \pm 1187 ^a
CCN51	A8	125,92 \pm 5,15 ^e	1309,79 \pm 3,26 ^d	482,39 \pm 8,90 ^f	48250,44 \pm 2238 ^a
CCN51	A16	118,76 \pm 2,38 ^e	1015,30 \pm 51,20 ^d	487,79 \pm 9,68 ^f	41877,26 \pm 1634 ^a

Datos expresados en medias \pm la desviación estándar, letras diferentes en la misma columna, son estadísticamente diferentes (Test Tukey a 5% de significancia).

Los valores de CA evaluados por las tres metodologías presentaron valores más altos para los encapsulados obtenidos mediante liofilización, mientras que los obtenidos mediante secado por aspersión perdieron parte de la CA, esto se explica por exposición a una temperatura alta a la se someten las gotas del extracto durante el proceso de secado. Los tratamientos con 160°C como



temperatura de secado presentaron una menor CA que los de 140°C, esto se explica por la degradación que sufren los polifenoles al ser expuestos a una mayor temperatura, por lo que 140°C es una temperatura que permite obtener microencapsulados con una CA alta con valor cercanos a los que se obtienen con el liofilizador.

Tabla 2. Valores de polifenoles totales, FRAP DPPH y ORAC de la encapsulación mediante secado por aspersión

Tratamiento	Polifenoles Totales mgEAG/g	FRAP ($\mu\text{molET/g}$)	DPPH ($\mu\text{molET/g}$)	ORAC ($\mu\text{molET/100g}$)
M8-140	34,76 \pm 0,03 ^c	459,55 \pm 7,68 ^e	201,99 \pm 1,83 ^h	68041,67 \pm 4800 ^{bc}
M8-160	24,22 \pm 0,65 ^{ab}	251,60 \pm 12,58 ^d	166,00 \pm 1,01 ^f	49102,07 \pm 3539 ^{ab}
M16-140	18,29 \pm 0,59 ^a	148,34 \pm 11,97 ^b	118,10 \pm 3,44 ^c	73302,38 \pm 5284 ^c
M16-160	22,13 \pm 2,39 ^{ab}	107,41 \pm 3,21 ^a	101,93 \pm 2,43 ^a	45350,65 \pm 907 ^a
A8-140	28,24 \pm 0,88 ^b	536,95 \pm 21,50 ^f	177,88 \pm 1,66 ^g	40450,85 \pm 1849 ^a
A8-160	23,33 \pm 0,50 ^{ab}	268,12 \pm 12,13 ^d	152,25 \pm 0,32 ^e	34446,54 \pm 1380 ^a
A16-140	35,24 \pm 11,31 ^c	255,90 \pm 1,75 ^d	144,91 \pm 1,09 ^d	49253,97 \pm 1935 ^{ab}
A16-160	18,05 \pm 1,17 ^a	187,38 \pm 4,12 ^c	109,08 \pm 0,42 ^b	28306,12 \pm 1803 ^a

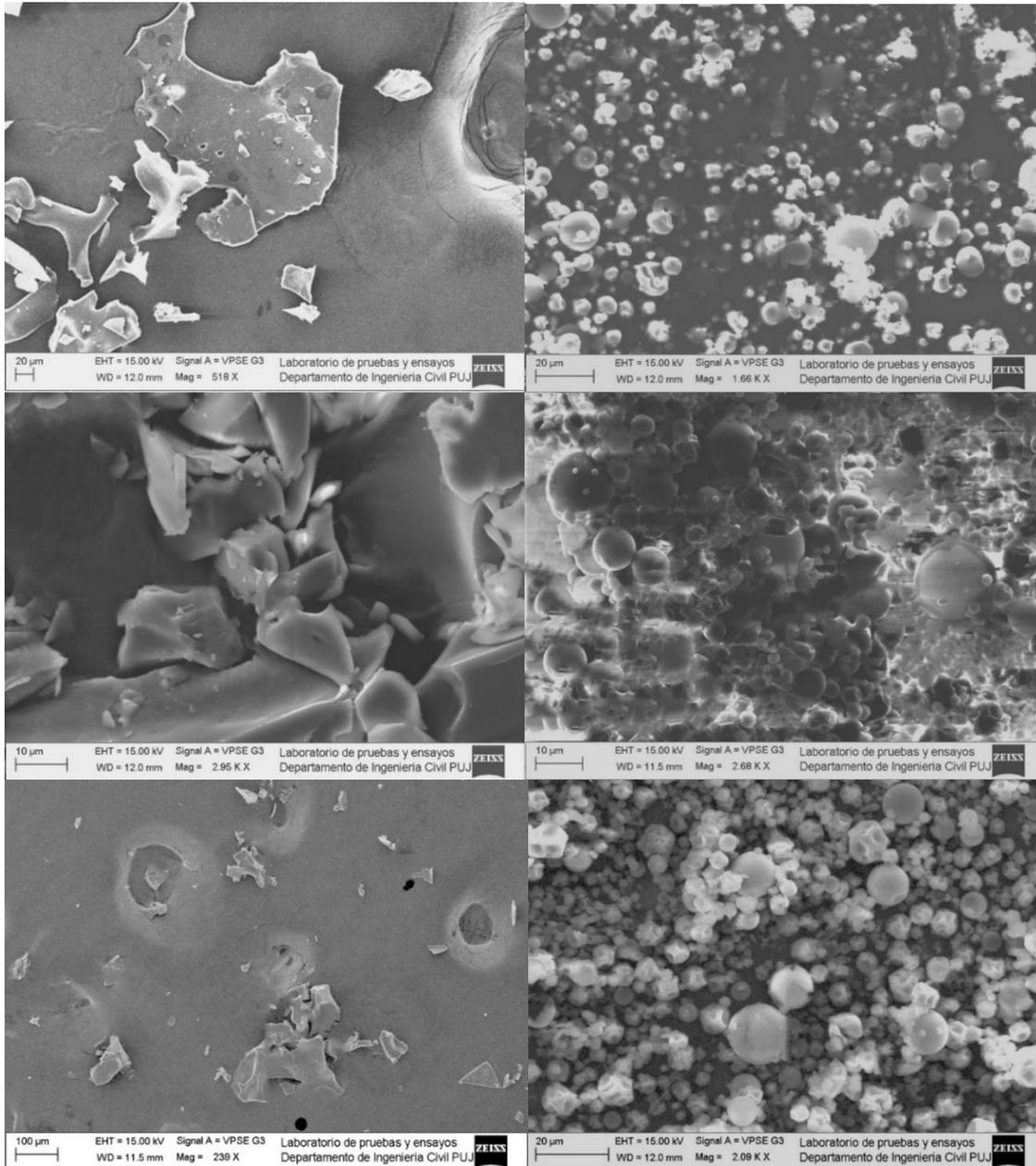
Datos expresados en medias \pm la desviación estándar, letras diferentes en la misma columna, son estadísticamente diferentes (Test Tukey a 5% de significancia).

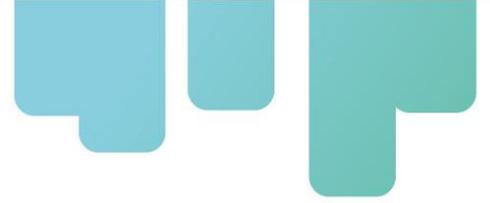
3.3. Caracterización morfológica

Las micrografías electrónicas de barrido obtenidas de los encapsulados con maltodextrina y goma arábica presentan una forma esférica irregular con algunas abolladuras en la superficie, no se encontraron diferencias en la morfológicas entre las dos temperaturas y las dos concentraciones de cada agente encapsulante utilizadas para el caso del spray drying (Figura 6). Diferentes autores han obtenido resultados similares con goma arábica y maltodextrina como materiales de pared en el secado por aspersión (Daza et al., 2016; Nogueira, Fakhouri & de Oliveira, 2019). Las abolladuras en la superficie de las esferas pueden ser causadas por la alta presión de vapor generada, lo que provoca una el rompimiento de la pared. Cuando se emplean temperaturas de secado más bajas la mayor parte del agua logra escapar a través de la corteza por difusión, evitando así la rotura de la corteza (Fang & Bhanadari, 2012). Los encapsulados obtenidos por liofilización presentan una geometría amorfa y porosa (Figuras 1,2 y 3), lo que representa una desventaja debido a que el área expuesta es mayor, provocando que la protección durante su almacenamiento y liberación sea menor en comparación con los obtenidos por secado por aspersión (Fyfe, 2011)



Figura 6: Imágenes de microscopía electrónica de barrido 1. ICS-1 M16-140, 2. M16140
3. TSH565 M8 4.M8-140 5.ICS-95 A8 7. A8-140





Desarrollo final del bioproducto rico en polifenoles

Desde la antigüedad el chocolate era consumido de manera exclusiva por placer, sin embargo, con el transcurrir de los tiempos y con el estudio realizado en su composición y beneficios que pueden presentar, investigadores han concluido que productos desarrollados en base a cacao muestran efectos favorables a la salud humana (Latif 2013; Smith 2013). Esto ha permitido que se proyecten y realicen numerables estudios clínicos y epidemiológicos, que han concluido que al consumir de manera regular productos derivados del cacao se puede tener efectos que prevengan la expresión de enfermedades crónicas como; enfermedades cardiometabólicas, cánceres, cardiovasculares y enfermedades neurodegenerativas (Beg et al. 2017; Castell, Yuan et al., 2017), además, tienen una elevada actividad antioxidante y de la inhibición de ciertas enzimas incluidas las que participan en el desarrollo de procesos inflamatorios (Latif 2013; Tomas-Barberan et al. 2007), que se relacionan con la disminución del riesgo de eventos cardiovasculares al disminuyendo la presión arterial, ejerciendo efectos metabólicos y antiateroscleróticos, así como mejorando la función endotelial (Aprotosoai et al. 2016; De Araujo et al. 2016). Estos compuestos bioactivos presente en los granos de cacao y otras partes del vegetal permiten pensar en el desarrollo y fabricación de alimentos funcionales y nutraceuticos (Figura 7).

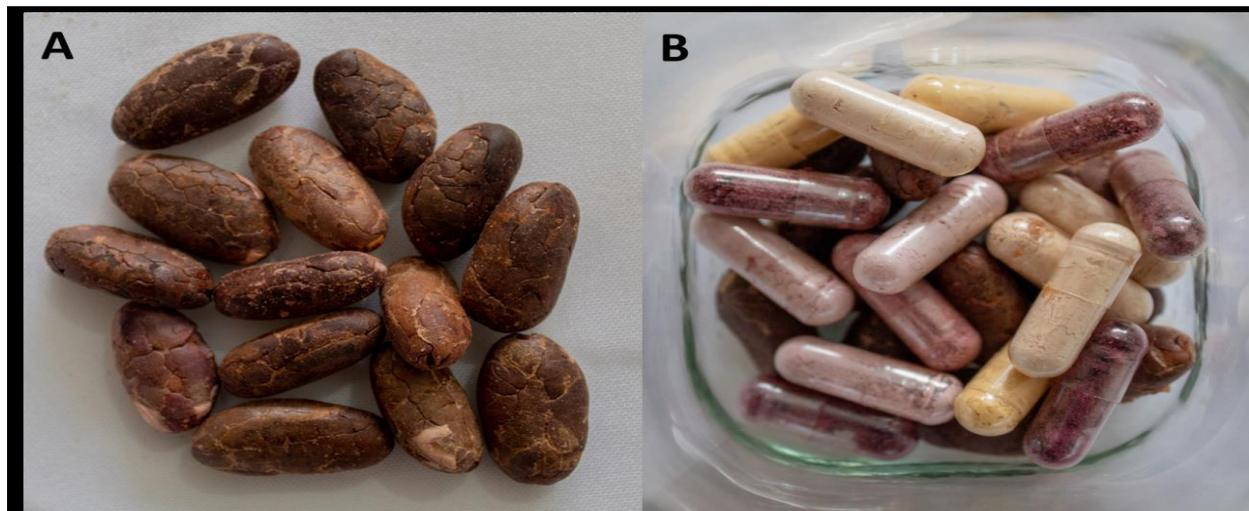
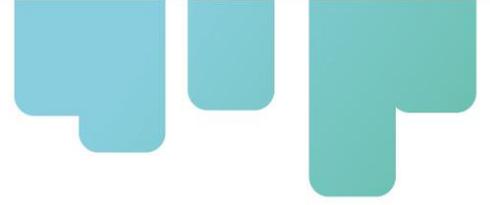


Figura 7. A) granos frescos de cacao liofilizados. B) Bioproducto con polifenoles encapsulados



4. Conclusiones

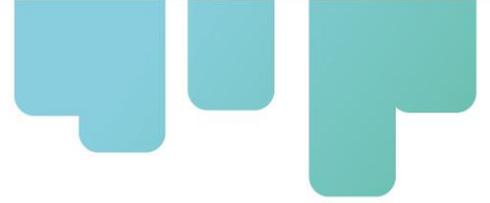
La encapsulación de polifenoles de cacao es una alternativa innovadora que permitiría incursionar en nuevos nichos de mercado de mayor valor agregado, con un producto que garantiza un elevado contenido de compuestos bioactivos, ya sea para consumo directo o para el enriquecimiento antioxidante de matrices alimentarias. Todos los polvos obtenidos presentaron una elevada CA de acuerdo con los valores ORAC, a pesar de que se presentó un efecto negativo de la temperatura sobre la CA en el secado por aspersión, por lo que se recomienda emplear 140°C como temperatura de secado.

Al comparar los valores de PT y CA de liofilización y secado por aspersión, la primera metodología tuvo valores superiores para las cuatro variables evaluadas en comparación a la segunda, sin embargo, se debe considerar el tiempo y el consumo energético necesario para obtener el producto, siendo el secado por aspersión una técnica más rápida y menos costosa en estos dos aspectos, además de que permite obtener micro encapsulados con geometría esférica, la cual garantiza una mayor protección en el encapsulado en especial si se desea incorporar en productos agroalimentarios.



Referencias Bibliográficas

- Albertini, B., Schoubben, A., Guarnaccia, D., Pinelli, F., Della Vecchia, M., Ricci, M., Blasi, P. (2015). Effect of fermentation and drying on cocoa polyphenols. *J Agric Food Chem*, 63(45), 9948-9953. doi: 10.1021/acs.jafc.5b01062
- Batista, N. N., de Andrade, D. P., Ramos, C. L., Dias, D. R., & Schwan, R. F. (2016). Antioxidant capacity of cocoa beans and chocolate assessed by FTIR. *Food Res Int*, 90, 313-319. doi: 10.1016/j.foodres.2016.10.028.
- Benzie, I. F., & Strain, J. J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. *Analytical biochemistry*, 239(1), 70-76.
- Benzie, I. F., & Strain, J. J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. *Analytical biochemistry*, 239(1), 70-76.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. L. W. T. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food science and Technology*, 28(1), 25-30.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. L. W. T. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food science and Technology*, 28(1), 25-30.
- Bustamante, S. Z., Tenorio, A. T., & Rojano, B. A. (2013). Effect of fermentation on the antioxidant activity of different Colombian cocoa clones. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 18(3), 391-404.
- Callebaut, B. (2009). Beauty from within-Chocolate manufacturer Barry Callebaut suggests that ACTICOA® can counter skin ageing. *Food science & technology today*, 23(4), 54.
- Carrillo, L. C., Londoño-Londoño, J., & Gil, A. (2014). Comparison of polyphenol, methylxanthines and antioxidant activity in Theobroma cacao beans from different cocoa-growing areas in Colombia. *Food Research International*, 60, 273-280. doi: 10.1016/j.foodres.2013.06.019
- Elwers, S., Zambrano, A., Rohsius, C., & Lieberei, R. (2009). Differences between the content of phenolic compounds in Criollo, Forastero and Trinitario cocoa seed (Theobroma cacao L.). *European Food Research and Technology*, 229(6), 937-948. doi:10.1007/s00217-009-1132-y
- Fang, Z., & Bhandari, B. (2010). Encapsulation of polyphenols – a review. *Trends in Food Science & Technology*, 21(10), 510-523. doi: 10.1016/j.tifs.2010.08.003.
- Jean-Marie, E., Bereau, D., Poucheret, P., Guzman, C., Boudard, F., & Robinson, J. C. (2021). Antioxidative and Immunomodulatory Potential of the Endemic French Guiana Wild Cocoa "Guiana". *Foods*, 10(3). doi:10.3390/foods10030522.
- Nutrient Data Laboratory, U. S. D. A. (2010). Database for the Oxygen Radical Absorbance Capacity



(ORAC) of selected foods, 2. (pp. 39).

Oracz, J., Zyzelewicz, D., & Nebesny, E. (2015). The content of polyphenolic compounds in cocoa beans (*Theobroma cacao* L.), depending on variety, growing region, and processing operations: a review. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 55(9), 1176-1192. doi:10.1080/10408398.2012.686934

Ou, B., Chang, T., Huang, D., & Prior, R. L. (2013). Determination of total antioxidant capacity by oxygen radical absorbance capacity (ORAC) using fluorescein as the fluorescence probe: First Action 2012.23. *Journal of AOAC International*, 96(6), 1372-1376.

Ou, B., Chang, T., Huang, D., & Prior, R. L. (2013). Determination of total antioxidant capacity by oxygen radical absorbance capacity (ORAC) using fluorescein as the fluorescence probe: First Action 2012.23. *Journal of AOAC International*, 96(6), 1372-1376.

Pallares Pallares, A., Estupiñán A, M. R., Perea Villamil, J. A., & López Giraldo, L. J. (2017). Impacto de la fermentación y secado sobre el contenido de polifenoles y capacidad antioxidante del clon de cacao CCN-51. *Revista ION*, 29(2), 7-21. doi:10.18273/revion.v29n2-2016001.

Schinella, G., Mosca, S., Cienfuegos-Jovellanos, E., Pasamar, M. Á., Muguerza, B., Ramón, D., & Ríos, J. L. (2010). Antioxidant properties of polyphenol-rich cocoa products industrially processed. *Food Research International*, 43(6), 1614-1623.

Singleton, V.L., Orthofer, R., Lamuela-Raventos, R.M., 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods Enzymol.* 299, 152–178.

Singleton, V.L., Orthofer, R., Lamuela-Raventos, R.M., 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods Enzymol.* 299, 152–178.

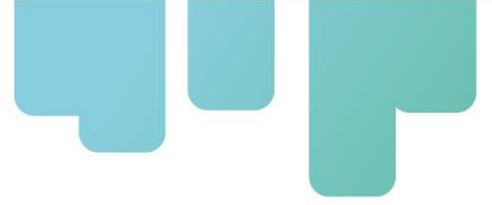
Todorovic, V., Redovnikovic, I. R., Todorovic, Z., Jankovic, G., Dodevska, M., & Sobajic, S. (2015). Polyphenols, methylxanthines, and antioxidant capacity of chocolates produced in Serbia. *Journal of Food Composition and Analysis*, 41, 137-143. doi: 10.1016/j.jfca.2015.01.018.

Vertuani, S., Scalambra, E., Vittorio, T., Bino, A., Malisardi, G., Baldisserotto, A., & Manfredini, S. (2014). Evaluation of antiradical activity of different cocoa and chocolate products: relation with lipid and protein composition. *J Med Food*, 17(4), 512-516. doi:10.1089/jmf.2013.0110.

Wollgast, J. and Anklam, E. (2000). Review on polyphenols in *Theobroma cacao*: Changes in composition during the manufacture of chocolate and methodology for identification and quantification. *Food Res. Int.*33:423–447.

Daza, L. D., Fujita, A., Fávaro-Trindade, C. S., Rodrigues-Ract, J. N., Granato, D., & Genovese, M. I. (2016). Effect of spray drying conditions on the physical properties of Cagaita (*Eugenia dysenterica* DC.) fruit extracts. *Food and Bioproducts Processing*, 97, 20-29. doi: 10.1016/j.fbp.2015.10.001.

Ferreira Nogueira, G., Matta Fakhouri, F., & de Oliveira, R. A. (2019). Incorporation of spray dried



and freeze-dried blackberry particles in edible films: Morphology, stability to pH, sterilization and biodegradation. *Food Packaging and Shelf Life*, 20. doi: 10.1016/j.fpsl.2019.100313.

Fang, Z., & Bhandari, B. (2012). Spray drying, freeze drying and related processes for food ingredient and nutraceutical encapsulation. In *Encapsulation Technologies and Delivery Systems for Food Ingredients and Nutraceuticals* (pp. 73-109).

Fyfe k (2011), 'Surface characterisation of dairy powder particles', PhD Thesis. The University of Queensland, Brisbane, Australia.



Instituciones participantes



Secretaría Técnica Administrativa



Con el apoyo de:



www.fontagro.org

Correo electrónico: fontagro@fontagro.org