

EFFECTO DEL PROCESAMIENTO DE CACAO EN EL CONTENIDO Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE COMPUESTOS FENÓLICOS

EFFECT OF COCOA PROCESSING ON THE CONTENT AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF PHENOLIC COMPOUNDS

Stalin Gustavo Santacruz Terán, Wellington Alex Mantuano Morán

Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí, vía a San Mateo s/n, Manta, Ecuador

Email: stalin.santacruz@gmail.com

Información del artículo

Tipo de artículo:
Artículo científico

Recibido:
18/09/2020

Aceptado:
28/05/2021

Licencia:
CC BY-NC-SA 4.0

Revista:
ESPAMCIENCIA
12(1):41-45

DOI:
https://doi.org/10.51260/revista_espamciencia.v12i1.221

Resumen

El chocolate es un producto que tiene gran aceptación entre los consumidores. Se conoce que los compuestos fenólicos presentes en frutas y vegetales aportan beneficios a la salud, sin embargo, estos pueden ser afectados por agentes como la temperatura y el oxígeno. En el presente trabajo se investigó el efecto del procesamiento de cacao en el contenido y la actividad antioxidante de compuestos fenólicos. Se tomaron muestras de cinco etapas del proceso de una planta productora local de chocolate: semilla en baba, semilla seca, nibs de cacao, licor de cacao y chocolate. Las muestras fueron sometidas a un proceso de extracción alcohólica para la obtención de los compuestos fenólicos. Posteriormente, mediante los métodos de Folin-Ciocalteu y del radical ABTS•+ se cuantificó respectivamente el contenido de compuestos fenólicos y su actividad antioxidante. Los resultados mostraron variación en el contenido de compuestos fenólicos a lo largo del proceso. Las semillas en baba presentaron el menor contenido y el chocolate el mayor contenido de compuestos fenólicos. Con respecto a la actividad antioxidante esta fue menor para el chocolate conjuntamente con el licor y los nibs, mientras que fue mayor para las semillas en baba.

Palabras claves: Cacao, chocolate, nibs de cacao, semilla en baba, ABTS•+, Folin-Ciocalteu

Abstract

Chocolate is a product that has great acceptance among consumers. The presented phenolic compounds in fruits and vegetables are known to provide health benefits, however, these can be affected by agents such as temperature and oxygen. In the present work, the effect of cocoa processing on the content and antioxidant activity of phenolic compounds was investigated. Five process stages were sampled from a local chocolate producing plant: slime seed, dried seed, cocoa nibs, cocoa liquor, and chocolate. The samples were subjected to an alcoholic extraction process to obtain phenolic compounds. Subsequently, using the Folin-Ciocalteu and ABTS • + radical methods, the content of phenolic compounds and their antioxidant activity were quantified, respectively. The results showed variation in the content of phenolic compounds throughout the process. The slime seeds had the lowest content and the chocolate the highest content of phenolic compounds. Regarding antioxidant activity, this was lower for chocolate together with liquor and nibs, while it was higher for slime seeds.

Keywords: Cacao, chocolate, cocoa nibs, slime bean, ABTS • +, Folin-Ciocalteu.

INTRODUCCIÓN

El chocolate es un producto ampliamente consumido a nivel mundial, siendo el consumo anual por persona en los países europeos de alrededor de 8 kg, mientras que en el Ecuador es de solo 300 g (El Telégrafo, 2019).

El cacao (*Theobroma cacao* L.), materia prima para la elaboración del chocolate, es uno de los principales productos agrícolas de Ecuador (MAG, 2021) y su cultivo se realiza por parte de pequeños y medianos productores. Este cultivo constituye una alternativa económica y sostenible para la explotación agrícola ecuatoriana.

Durante los últimos años el cacao y el chocolate han sido objeto de investigaciones por su relativo alto contenido de compuestos fenólicos, siendo este entre el 12 y 18% de la masa seca de la semilla (Quiñones *et al.*, 2013).

Los compuestos fenólicos son un amplio grupo de sustancias químicas que se encuentran presentes en frutas y vegetales desempeñando diferentes actividades metabólicas. La Organización Mundial de la Salud recomienda incorporar el consumo regular de frutas y vegetales, ricos en compuestos fenólicos, para reducir el riesgo de algunas enfermedades no transmisibles, como las cardiopatías y determinados tipos de cáncer (Corti *et al.*, 2009).

Un chocolate con alto contenido de antioxidantes naturales procede de una semilla de calidad. Son diversos los factores que influyen en la composición y desarrollo de los compuestos fenólicos, entre ellos están el suelo, el clima, la radiación solar, la temperatura y las condiciones de su procesamiento luego de la cosecha (Natsume *et al.*, 2014).

El chocolate con alto contenido de cacao debería ser rico en polifenoles (Ibric y Cavar., 2017). Se sabe sin embargo que los polifenoles se degradan con el procesamiento (Perea-Villamil *et al.*, 2009), por lo que un chocolate con alto contenido de cacao no garantiza un elevado contenido de polifenoles. Un adecuado conocimiento del efecto de cada etapa de procesamiento del cacao sobre el contenido de los compuestos fenólicos, podría permitir hacer cambios en el procesamiento dirigidos a conservar los compuestos fenólicos, así como su actividad antioxidante.

Con base en lo expuesto anteriormente, el objetivo del presente trabajo fue estudiar el efecto del procesamiento de cacao, en la elaboración de chocolate, sobre el contenido de compuestos fenólicos y su actividad antioxidante.

MATERIALES Y MÉTODOS

Las muestras de chocolate fueron tomadas de la empresa Fortaleza del Valle, Calceta, Manabí. Se tomaron muestras de cinco etapas del proceso: semillas en baba, semillas previamente sometidas a fermentación y secado, nibs de cacao luego del tostado, licor de cacao y finalmente el chocolate negro. Las semillas en baba se secaron previamente durante 24 h a 40°C en una estufa y fueron molidas, así como las otras muestras sólidas, hasta un tamaño de partícula aproximado a 170 μm .

Extracción y cuantificación de compuestos fenólicos

La extracción se llevó a cabo de acuerdo con el método propuesto por Santacruz *et al.* (2020). Cinco gramos de muestra se disolvieron en 50 ml de etanol (95% v/v) y se mantuvieron en agitación, sin presencia de luz, durante 24

h a 20 °C y 130 r.p.m. Pasadas las 24 h, la muestra se centrifugó (centrífuga SIGMA 2-16P, Alemania) por 10 min a 1792 x g, y el sobrenadante se filtró al vacío. El líquido extraído (10 mL) se mezcló con 5 mL de etanol (95% v/v) y agua destilada para obtener un volumen total de 100 mL de solución madre. 0.1 mL de la solución madre se mezclaron con 0.5 mL de reactivo de Folin-Ciocalteu y la mezcla se dejó en reposo durante 5 minutos. Posteriormente, se añadió 1 mL de una solución de carbonato de sodio al 5% y se aforó a 25 mL con agua destilada. La solución resultante se dejó en reposo en la oscuridad durante 1 h previo a la medida de su absorbancia a 760 nm (espectrofotómetro JENWAY 6320D, CHINA). La cuantificación de los compuestos fenólicos totales se realizó usando una curva de calibración utilizando ácido gálico como estándar (2 g de ácido gálico en 100 mL de agua destilada). Todos los tratamientos se realizaron por triplicado y los resultados se expresaron en mg de GAE (equivalente de ácido gálico)/g muestra. 10 mL de la solución de ácido gálico se mezclaron con 5 mL de etanol y se aforó a 100 mL con agua destilada (solución madre). El proceso continúa como el descrito anteriormente de tal forma que las soluciones sometidas a lecturas espectrofotométricas tengan concentraciones de 0; 0,005; 0,01 y 0,02 mg GAE/mL.

Determinación de la actividad antioxidante

La actividad antioxidante de los compuestos fenólicos presentes en las muestras se midió por medio del ensayo TEAC (por sus siglas en inglés: Trolox Equivalent Antioxidant Capacity) modificado, usando la decoloración por el radical catión ABTS (Santacruz *et al.*, 2020). El radical ABTS $\bullet+$ se prepara mediante la reacción acuosa de persulfato de potasio 2,45 mM y ABTS 7 mM. Se diluyen 0,0360234 g de ABTS en 10 mL de agua destilada y 0,06622889 g de persulfato de potasio en 100 mL, se mezclan en partes iguales y se dejan reposar en la oscuridad por 16 h a 20°C. La solución de ABTS $\bullet+$ obtenida es estable durante dos días y se diluirá con etanol (95%) hasta obtener una absorbancia de 0,70 (\pm 0,1) a 734 nm a 30 °C.

La curva de calibración se realiza con la preparación de soluciones de Trolox de diferente concentración. Para la solución madre se diluyen 0,01 g de Trolox en 5 mL de metanol y 5 mL de agua destilada. Se coloca en la celda del espectrofotómetro 2 mL de la solución de radical ABTS $\bullet+$, y se registran las absorbancias iniciales, luego se añade 20 μL de tres concentraciones (20 μM , 40 μM , y 60 μM) de soluciones del estándar Trolox, y se toman las absorbancias a 734 nm. Para la evaluación de la actividad antioxidante de los compuestos fenólicos de la muestra se reemplaza los 20 μL de la solución de Trolox por el extracto de cada tratamiento. La absorbancia será leída a los 6 min de haber incorporado los 20 μL de extracto. Utilizando la curva de calibración se obtienen las actividades

antioxidantes de la muestra expresadas en mg Trolox/g muestra.

Análisis estadísticos

Para el análisis de resultados se utilizó el paquete estadístico Infostat (versión 2017). Se hizo uso de un análisis de varianza y una prueba de medias de Tukey con un nivel de significancia del 5%.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados (Cuadro 1) muestran que existió diferencia estadística significativa en el contenido de compuestos fenólicos de las muestras tomadas de las cinco etapas del procesamiento. El chocolate negro tuvo el mayor contenido (112,39 mg GAE/g muestra seca), este resultado es superior a los encontrados por Genovese y Lannes (2009) para polvo de cacao (36,47 mg GAE/g) y polvo de chocolate (33,22 mg GAE/g). Las diferencias pueden deberse a factores genéticos, del medio ambiente o diferente metodología de cuantificación.

Cuadro 1. Contenido de compuestos fenólicos de muestras a lo largo del procesamiento de cacao a chocolate negro

Muestra	Contenido de compuestos fenólicos (mg GAE/g muestra b.s.)
Semilla en baba	52,88 ^A
Licor de cacao	79,81 ^B
Semilla seca y fermentada	83,99 ^{B, C}
Nibs de cacao	94,66 ^C
Chocolate	112,39 ^D

Valores con una letra superíndice igual no son significativamente diferentes ($p < 0,05$)

Por otro lado, la semilla en baba reportó el menor contenido de compuestos fenólicos (52,88 mg GAE/g muestra seca). Los nibs de cacao, resultantes de un proceso de tostado, tuvieron un contenido de compuestos fenólicos de 94,66, superior al de semilla en baba, 52,88 mg GAE/g muestra seca. Zapata *et al.* (2015) encontraron el mismo efecto del tostado sobre semillas de cacao. Los granos de cacao crudos sometidos al proceso de tostado mostraron contenidos de compuestos fenólicos que variaron en un intervalo de 21,69 – 38,64 mg/g en granos sin tratar, y 20,60 – 42,79 mg/g en granos tostados. Este efecto se atribuye a los tratamientos térmicos que producen compuestos derivados de las reacciones de Maillard entre azúcares reductores y aminoácidos. Estudios han demostrado que estas reacciones generan una variedad de productos, intermediarios y pigmentos marrones (melanoidinas); los cuales pueden ser detectados por el método de Folin-Ciocalteu, dando como resultado una sobreestimación del contenido de compuestos fenólicos (Summa *et al.*, 2006; Oliviero *et al.*, 2009). De acuerdo a Fabani *et al.* (2017) y Peinado *et al.* (2013) el contenido

de compuestos fenólicos incrementa con el proceso de secado, principalmente debido al efecto de concentración, pero además como consecuencia de la hidrólisis de compuestos fenólicos polimerizados.

El cuadro 2 muestra que la actividad antioxidante disminuyó a lo largo del proceso de 35,34 a 1,19 mg Trolox/g muestra seca, siendo la semilla en baba la que presentó la mayor actividad antioxidante de las cinco etapas del proceso analizadas. Al parecer el tratamiento térmico y alcalino influyó en la disminución de la actividad antioxidante. Esta disminución también se reporta por Cadena y Herrera (2008), donde la capacidad antioxidante de los granos de cacao disminuyó de 350 mmol Trolox/g muestra a 129 mmol Trolox/g muestra. Pérdidas de la actividad antioxidante en el proceso de tostado han sido reportadas por otros autores con valores entre 32,6% y 54,7% (Arlorio *et al.*, 2007), 23% (Perea-Villamil *et al.*, 2009). La disminución de la actividad antioxidante se puede atribuir al efecto de la temperatura y a la posible formación de otros compuestos en la reacción de Maillard de menor actividad antioxidante. Resultados aparentemente contradictorios se han encontrado por otros autores donde el tratamiento térmico de tostado dio como resultado un incremento de la actividad antioxidante (Suazo, 2012; Coaquira, 2018). El efecto del proceso de tostado sobre los clones de cacao no tuvo un comportamiento definido, se observan cambios positivos como negativos en la actividad antioxidante de los granos de cacao dependiendo de la variedad (Zapata *et al.*, 2015).

La actividad antioxidante de la semilla en baba es superior a la del vino tinto (Lee *et al.*, 2003; Samoticha *et al.*, 2017), lo que permite considerar al cacao como buena fuente de antioxidantes. Sin embargo de que el chocolate negro posee una menor actividad antioxidante a la de la semilla sin tratar, esta es comparable a la de frutos como el tomate (1,1 mg Trolox/g b.s.) (Vasco *et al.*, 2008) y maracuyá (2,1 mg Trolox/g b.s.) (Molina-Hernández *et al.*, 2019). Este resultado es de valiosa importancia ya que permite considerar al chocolate como una alternativa más saludable que los productos de confitería.

Cuadro 2. Actividad antioxidante de compuestos fenólicos de muestras a lo largo del procesamiento de cacao a chocolate negro

Muestra	Actividad antioxidante (mg Trolox/g cacao b.s.)
Nibs de cacao	1,19 ^A
Licor de cacao	1,19 ^A
Chocolate	1,19 ^A
Semilla seca y fermentada	7,59 ^A
Semilla en baba	35,34 ^A

Valores con una letra superíndice igual no son significativamente diferentes ($p < 0,05$)

CONCLUSIONES

El proceso para la obtención del chocolate negro produce un aparente incremento del contenido de compuestos fenólicos mediante la formación de compuestos que son detectados mediante la técnica Folin-Ciocalteu. La actividad antioxidante, disminuye por efecto del tratamiento térmico, sin embargo, el chocolate negro tiene actividades equivalentes a frutas como el tomate y maracuyá.

LITERATURA CITADA

Arlorio, M., Locatelli, M., Travaglia, F., Coisson, J., Grosso, E. and Appendino, G. 2007. Roasting impact on the contents of clovamide (N-caffeoyl-L-DOPA) and the Antioxidant Activity of cocoa beans. *Food Chemistry* 106: 967-975

Cadena, T. y Herrera, Y. 2008. Evaluación del efecto del procesamiento del cacao sobre el contenido de fenoles y su actividad antioxidante. Tesis. Universidad Industrial de Santander. Bucaramanga.

Coaquira, J. 2018. Estudio de la cinética de degradación de la actividad antioxidante y fenoles en el tostado de cacao (*Theobroma cacao* L) variedad chuncho. Tesis. Universidad Peruana Unión. Lima.

Corti, R., Flammer, A., Hollenberg, N. and Luscher, T. 2009. Cocoa and Cardiovascular Health. *Circulation* 119:1433-1441

El Telégrafo. 2019. <https://www.eltelegrafo.com.ec/noticias/economia/4/consumol-chocolate-bajo-ecuador>.

Fabani, M., Baroni, M., Luna, L., Lingua, M., Monferran, M., Paños, H., Tapia, A., Wunderlin, D. and Feresin G. 2017. Changes in the phenolic profile of Argentinean fresh grapes during production of sun-dried raisins. *Journal of Food Composition and Analysis* 58: 23-32

Genovese, M. and Lannes, S. 2009. Comparison of total phenolic content and antiradical capacity of powders and “chocolates” from cocoa and cupuassu. *Ciência e Tecnologia de Alimentos* 29: 810-814

Ibric, A and Cava S. 2017. Phenolic Compounds and Antioxidant Activity of Cocoa and Chocolate Products. *Bulletin of the Chemists and Technologists of Bosnia and Herzegovina* 42: 37-40

Lee, K., Kim, Y., Lee, H. and Lee, C. 2003. Cocoa has more phenolic phytochemicals and a higher antioxidant capacity than teas and red wine. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 51:7292-5

Ministerio de Agricultura y Ganadería. 2021. Boletín Panorama Agroestadístico. <http://sipa.agricultura.gob.ec>

Molina-Hernández, J., Martínez-Correa, H. y Andrade-Mahecha, M. 2019. Potencial Agroindustrial del Epicarpio de Maracuyá como Ingrediente Alimenticio Activo. *Información Tecnológica* 30: 245-256

Natsume, M., Osakabe, N., Yamagishi, M., Takizawa, T., Nakamura, T., Miyatake, H., Hatano, T. and Yoshida, T. 2014. Analyses of Polyphenols in Cacao Liquor, Cocoa, and Chocolate by Normal-Phase and Reversed-Phase HPLC. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry* 64: 2581-2587

Oliviero, T., Capuano, E., Cammerer, B. and Fogliano, V. 2009. Influence of roasting on the antioxidant activity and HMF formation of a cocoa bean model systems. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 57: 147- 152.

Peinado, J., López de Lermac, N., Peralbo-Molina, A., Feliciano Priego-Capote, F., Castro, C. and McDonagh, B. 2013. Sunlight exposure increases the phenolic content in postharvested white grapes. An evaluation of their antioxidant activity in *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of Functional Foods* 5: 1566-1575.

Perea-Villamil, J., Cadena-Cala, T. y Herrera-Ardila, J. 2009. El cacao y sus productos como fuente de antioxidantes: Efecto del procesamiento. *Revista de la Universidad Industrial de Santander* 41: 128-134

Quiñones, J., Reinaldo, C., Capdesuñer, Y., Quirós, Y. y Hernández C. 2013. Potencial de actividad antioxidante de extractos fenólicos de *Theobroma cacao* L. (cacao). *Revista Cubana de Plantas medicinales* 18(2)

Samoticha, J., Wojdyło, A., Chmielewska, J. and Oszmianski J. 2017. The effects of flash release conditions on the phenolic compounds and antioxidant activity of Pinot noir red wine. *Eur Food Res Technol* 243: 999-1007

Santacruz, S., Cárdenas G y Mero V. 2020. Compuestos fenólicos y aceite de semillas de naranja y maracuyá. *Revista de la Facultad de Agronomía de La Universidad del Zulia* 37: 51-68

Suazo, Y. 2012. Efecto de la fermentación y el tostado sobre la concentración polifenólica y actividad antioxidante de cacao Nicaragüense. Tesis. Universidad Pública de Navarra. Pamplona.

Summa, C., Cordeiro Raposo, F., McCourt, J., Lo Scalzo, R., Wagner, K., Elmadfa, I. and Anklam, E. 2006. Effect of roasting on the radical scavenging activity of cocoa beans. *Journal European Food Research and Technology* 222: 368–375.

Vasco, C. 2009. Phenolic Compounds in Ecuadorian Fruits. Thesis. Swedish University of Agricultural Sciences. Uppsala.

Zapata, S., Tamayo, A. y Rojano, B. 2015. Efecto del Tostado Sobre los Metabolitos Secundarios y la Actividad Antioxidante de Clones de Cacao Colombiano. *Revista Facultad Nacional de Agronomía - Medellín* 68: 7497-7507