

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA**  
**FACULTAD DE INGENIERÍA EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS**  
**DEPARTAMENTO ACADÉMICO DE CIENCIA, TECNOLOGÍA E INGENIERÍA**  
**DE LOS ALIMENTOS**



**“CONTENIDO DE POLIFENOLES TOTALES, CAPACIDAD ANTIOXIDANTE  
Y EVALUACION SENSORIAL DE CHOCOLATE BITTER CON PIEL DE  
CAMU CAMU, PIEL DE UVA MORADA Y CASCARILLA DE CACAO”**

**TESIS**

**Para optar el título de:**

**INGENIERO EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS**

**KATTY GRETA CASTILLO CORAL**

**PROMOCIÓN 2012 - II**

**Tingo María – Perú**

**2015**

## DEDICATORIA

A Dios por ser la base fundamental en mi vida, por conducirme por el camino correcto y brindarme fuerza para lograr mis objetivos.

A mis padres, Andrés Castillo y Lilia Coral por su apoyo y comprensión, por ser un modelo a seguir en mí vida con su paciencia, cariño, amor y bondad.

A mis Hermanos Leysi, Gino, Carlos y Kelly, por sus consejos, apoyo y compañía en años de estudio y las etapas de mi vida.

A mis familiares tíos, primos y sobrinos; al Ing. Manuel Soudre Zambrano por su motivación, y conocimientos brindados.

## **AGRADECIMIENTO**

- Primero agradecer a Dios por permitirme concluir esta etapa tan importante en mi vida y poder aplicar todo el conocimiento adquirido en la carrera profesional.
- A la Universidad Nacional Agraria de la Selva por permitirme seguir ampliando mis conocimientos para mi formación profesional.
- A mi familia por su apoyo incondicional, contribución en estos años de formación y motivación continua.
- A la Dra. Elizabeth Ordoñez Gómez, asesora del trabajo de tesis por el apoyo otorgado y participación en la elaboración del estudio realizado.
- A la Empresa Agroindustrias Makao Perú S.A.C. por facilitarme realizar parte importante de la tesis.
- Al Ingeniero Eduardo Cáceres Almenara por sus consejos, empatía y conocimiento a lo largo de la carrera universitaria.
- A los técnicos de laboratorio por brindarme su apoyo para el desarrollo de la tesis.
- A mis amigas y compañeros; Juanita, Yovana, Dánae, Noemí, Fabiola, porque con sus palabras de aliento me han acompañado siempre demostrándome el valor de una amistad sincera.

## INDICE GENERAL

	<b>Página</b>
I. INTRODUCCIÓN .....	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA .....	3
2.1. Aspectos generales del camu camu .....	3
2.1.1. Origen y distribución geográfica .....	3
2.1.2. Clasificación taxonómica .....	3
2.1.3. Partes del fruto.....	4
2.1.4. Compuesto fenólicos en pulpa y pieles de camu camu.....	5
2.2. Aspectos generales de la uva .....	7
2.2.1. Origen y distribución geográfica.....	7
2.2.2. Clasificación taxonómica de la uva.....	8
2.2.3. Partes del fruto.....	8
2.2.4. Compuestos fenólicos en la uva.....	9
2.2.5. Compuestos fenólicos en piel de uva .....	11
2.3. Aspectos generales del cacao.....	12
2.3.1. Origen y distribución geográfica .....	12
2.3.2. Clasificación taxonómica .....	12
2.3.3. Cascarilla de cacao.....	13
2.3.4. Polifenoles en la cascarilla de cacao.....	14
2.4. Generalidades del chocolate.....	14
2.4.1. Definición del chocolate.....	14
2.4.2. Compuestos fenólicos mayoritarios en el chocolate.....	15

2.4.3. Tipos de chocolate.....	15
2.4.4. Proceso para elaboración del chocolate.....	16
2.5. Generalidades de polifenoles.....	18
2.5.1. Cuantificación de polifenoles.....	18
2.6. Generalidad de capacidad antioxidante.....	19
2.6.1. Antioxidantes y radicales libres.....	19
2.6.2. Método DPPH.....	20
2.6.3. Método de ABTS.....	20
2.7. Evaluación sensorial.....	21
2.8. Atributos sensoriales.....	21
2.8.1. Aroma.....	21
2.8.2. Sabor.....	21
III.MATERIALES Y MÉTODOS.....	24
3.1. Lugar de ejecución.....	24
3.2. Materia prima.....	24
3.3. Materiales y equipos de laboratorio y/o proceso, reactivos y solventes.....	25
3.3.1. Materiales de laboratorio y/o proceso.....	25
3.3.2. Equipos de laboratorio y/o proceso.....	25
3.3.3. Reactivos y solventes.....	26
3.4. Métodos de análisis.....	27
3.5. Metodología experimental.....	27
3.5.1. Obtención de las pieles secas de camu camu y uva morada.....	27

3.5.2. Inclusión de piel de camu camu, piel de uva morada y cascarilla de cacao en el chocolate Bitter.....	28
3.5.3. Preparación del extracto hidroalcohólico.....	30
3.5.4. Contenido de polifenoles totales del chocolates Bitter con inclusión de piel de camu camu, piel de uva morada y cascarilla de cacao.....	32
3.5.4.1. Determinación de la curva estándar.....	32
3.5.4.2. Cuantificación del contenido de polifenoles totales.....	32
3.5.5. Determinación de la capacidad antioxidante del chocolate Bitter con inclusión de piel de camu camu, piel de uva morada y cascarilla de cacao.....	33
3.5.5.1. Capacidad de inhibir el radical libre 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH).....	33
3.5.5.2. Determinación de la capacidad de inhibir el radical 2,2-azinobis (3-etilbenzotiazolino -6- ácido sulfónico) (ABTS °+)......	36
3.5.6. Evaluación sensorial del chocolate Bitter con inclusión de piel de camu camu, piel de uva morada y cascarilla de cacao.....	39
IV. RESULTADOS Y DISCUSIONES.....	41
4.1. Contenido de polifenoles totales del chocolates Bitter con inclusión de piel de camu camu, piel de uva morada y cascarilla de cacao.....	41
4.1.1. Determinación de la curva patrón.....	41

4.1.2. Contenidos de polifenoles totales del chocolates Bitter con inclusión de piel de camu camu, piel de uva morada y cascarilla de cacao.....	42
4.1.3. Determinación de la capacidad antioxidante del chocolate Bitter con inclusión de piel de camu camu, piel de uva morada y cascarilla de cacao.....	47
4.1.4. Determinación del coeficiente de inhibición (IC <sub>50</sub> ) radical 1,1-diphenyl-2-picrilhydrazil (DPPH).....	47
4.1.5. Determinación del coeficiente de inhibición (IC <sub>50</sub> ) del radical 2,2-azinobis (3-etilbenzotiazolino-6-ácidosulfónico)(ABTS <sup>°+</sup> ).....	50
4.2. Evaluación sensorial del chocolate Bitter con piel de camu camu, piel de uva morada y cascarilla de cacao.....	54
V. CONCLUSIONES.....	70
VI. RECOMENDACIONES.....	71
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	72
VIII. ANEXOS.....	89

## ÍNDICE DE CUADROS

	<b>Página</b>
1. Contenido de compuesto fenólicos en frutos uvas tintas y blancas (mg/100g de fruta).....	10
2. Concentraciones de muestra para determinar IC <sub>50</sub> del chocolate bitter con inclusión de piel de camu camu, piel de uva morada y cascarilla de cacao.....	35
3. Volúmenes necesarios para la preparación de las diferentes concentraciones necesarias para determinar el IC <sub>50</sub> .....	36
4. Concentraciones de muestra para determinar IC <sub>50</sub> del chocolate bitter con piel de camu camu, piel de uva morada y cascarilla de cacao.....	38
5. Volúmenes necesarios para la preparación de las diferentes concentraciones necesarias para determinar el IC <sub>50</sub> .....	39
6. Resultados de las absorbancias para la curva estándar de polifenoles...42	42
7. Contenido de polifenoles totales del chocolate bitter con piel de camu camu, piel de uva morada y cascarilla de cacao.....	44
8. Resultados del IC <sub>50</sub> del radical DPPH del chocolate bitter con piel de camu camu, piel de uva morada y cascarilla de cacao.....	48
9. Resultados del IC <sub>50</sub> del radical ABTS del chocolate bitter con piel camu camu, piel de uva morada y cascarilla de cacao.....	51
10. Promedio del perfil sensorial de las muestras del chocolate bitter con piel de camu camu, piel de uva morada y cascarilla de cacao.....	57

## ÍNDICE DE FIGURAS

	<b>Página</b>
1. Frutos de camu camu.....	4
2. Cianidina (antocianina) y Delfinidina-3-glicósido (antocianidina).....	6
3. Algunos compuestos polifenólicos en el camu camu.....	7
4. Partes de fruto de la uva ( <i>Vitis vinífera</i> L.).....	9
5. Cascarilla de cacao.....	13
6. Flujoograma de obtención de piel de camu camu y piel de uva morada.....	28
7. Diagrama de inclusión de piel de camu camu, piel de uva morada y cascarilla de cacao en el chocolate bitter .....	30
8. Diagrama para la preparación del extracto hidroalcohólico del chocolate Bitter con inclusión de piel de camu camu, piel de uva morada y cascarilla de cacao.....	31
9. Comportamiento de la curva estándar de ácido gálico para la cuantificación de polifenoles totales.....	42
10. Contenido de polifenoles totales del chocolate Bitter con inclusión de piel de camu camu, piel de uva morada y cascarilla de cacao.....	44
11. Comportamiento del IC <sub>50</sub> con el radical DPPH del chocolate Bitter con piel de camu camu, piel de uva morada y cascarilla de cacao.....	49
12. Comportamiento del IC <sub>50</sub> con el radical ABTS de chocolate Bitter con inclusión de piel de camu camu, piel de uva morada y cascarilla de cacao.....	51

13. Perfil sensorial de las muestras de chocolate Bitter con piel de camu camu, piel de uva morada y cascarilla de cacao.....	58
14. Comportamiento del Biplot de la evaluación sensorial del chocolate Bitter con piel de camu camu, piel de uva morada y cascarilla de cacao.....	67
15. Presentación del análisis de conglomerados de las muestras del chocolate Bitter con piel de camu camu, piel de uva morada y cascarilla de cacao.....	69

## INDICE DE ANEXOS

	<b>Página</b>
I. Ficha de evaluación sensorial del chocolate Bitter de 60%.....	90
II. Análisis de varianza de contenido de polifenoles totales del chocolate Bitter con inclusión de piel de camu camu, piel de uva morada y cascarilla de cacao.....	91
III. Análisis de varianza de IC <sub>50</sub> del radical DPPH del chocolate Bitter con inclusión de piel de camu camu, piel de uva morada y cascarilla de cacao.....	91
IV. Análisis de varianza de IC <sub>50</sub> del radical ABTS <sup>0+</sup> del chocolate Bitter con inclusión de piel de camu camu, piel de uva morada y cascarilla de cacao.....	92
V. Análisis de componentes principales de los atributos de los chocolates- Correlaciones con las variables originales.....	92
VI. Auto valores del análisis multivariado.....	93
VII. Autovectores del análisis multivariado.....	94

## RESUMEN

La investigación se desarrolló en el laboratorio de Nutrición Animal y en el Centro de Investigación y Desarrollo Biotecnológico de la Amazonia (CIDBAM) de la Universidad Nacional Agraria de la Selva. Los objetivos fueron: Evaluar el contenido de polifenoles totales, la capacidad antioxidante mediante radicales libres (DPPH y ABTS) y realizar la evaluación sensorial de chocolate bitter con pieles de camu camu, uva morada y cascarilla de cacao. Se preparó un extracto hidroalcohólico para cada muestra (3 g en 30 mL de solución hidroalcohólica), macerada por 24 h (filtrado y centrifugado); la lectura se realizó por espectrofotometría UV/VIS. Se aplicó el diseño estadístico completamente al azar (DCA) y la prueba estadística de Tukey ( $p < 0,05$ ); para la evaluación sensorial se utilizó el análisis multivariado de componentes principales, con el programa estadístico InfoStat. El testigo y la muestra con piel de camu camu 1 %, presentaron el mayor contenido de polifenoles, (2,272 y 2,278 g EAG/100g respectivamente), y el menor contenido, la muestra con piel de uva morada y cascarilla de cacao (0,5 % 1,89 y 1,96 g EAG/100 g respectivamente). La mayor eficiencia frente al radical DPPH se presentó en chocolate Bitter con cascarilla de cacao 1 % ( $IC_{50}$  0,166 $\pm$ 0,001 mg/mL) y la menor eficiencia en chocolate Bitter con piel de uva morada (0,5 %  $IC_{50}$  0,207 $\pm$ 0,002 mg/mL); frente al radical ABTS<sup>o+</sup>, la piel de camu camu (0,5 %  $IC_{50}$  0,052 $\pm$ 0,002 mg/mL) fue mayor y el testigo ( $IC_{50}$  0,064 $\pm$ 0,001 mg/mL) el menor. En la evaluación sensorial el chocolate bitter testigo y el preparado con piel de uva morada 0,5 % y 1 %, presentaron los mejores atributos calificados con aroma y sabor a chocolate “intenso”.

## I. INTRODUCCIÓN

El chocolate es consumido en todo el mundo, investigaciones recientes han demostrado que productos de cacao y sus derivados contribuyen a la salud humana, constituyen una importante fuente de compuestos antioxidantes. En la actualidad, el chocolate ocupa el mayor sector de la confitería en el mercado europeo; generalmente los países desarrollados tienen niveles altos de consumo en comparación con los países en subdesarrollo.

La gran demanda del chocolate, ha enfocado desarrollar nuevos productos alimenticios funcionales, enriquecidos con inclusiones de subproductos agroindustriales que pueden aprovecharse; estudios han demostrado que las cáscaras o pieles de frutas son fuentes prometedoras de compuestos y propiedades favorables.

El material de desecho de la industria de la uva y el camu camu está constituido por piel, cáscara y semillas, estos son principales fuentes de antioxidantes naturales, variedad de ácidos hidroxicinámicos (HCA), flavan-3-oles (monoméricos y oligoméricos), flavonoles y sus conjugados, dihidroxichalconas y procianidinas, valiosas sustancias como azúcares, ácidos orgánicos, proteínas, compuestos fenólicos, fibra dietaria, vitaminas y minerales, que pueden ser de interés en la industria alimentaria. El material de desecho de la industria del cacao es la cascarilla, nutricionalmente aporta como todo

alimento con macronutrientes (proteínas, carbohidratos, lípidos) y micronutrientes (vitaminas y minerales), se considera como una fuente baja de energía, presenta fibra dietaria total e insoluble, flavonoides y una alta capacidad antioxidante. En este contexto la investigación se planteó los siguientes objetivos:

- Cuantificar el contenido de polifenoles totales del chocolate Bitter con inclusión de piel de camu camu, piel de uva morada y cascarilla de cacao.
- Determinar la capacidad antioxidante mediante los radicales libres DPPH y ABTS del chocolate Bitter con inclusión de piel de camu camu, piel de uva morada y cascarilla de cacao.
- Evaluar sensorialmente el chocolate Bitter con inclusión de piel de camu camu, piel de uva morada y cascarilla de cacao.

## II. REVISIÓN DE LITERATURA

### 2.1. Aspectos generales del camu camu

#### 2.1.1. Origen y distribución geográfica

El camu camu (*Myrciaria dubia* H.B.K. Mc Vaugh), es un frutal originario de la Amazonía peruana, pertenece a la familia Myrtaceae y se caracteriza por su alto contenido de ácido ascórbico, está extensamente distribuida en la cuenca de la Amazonía, principalmente en los márgenes de ríos y lagos en Perú, Colombia, Brasil y Venezuela (FABER y YUYAMA, 2015).

#### 2.1.2. Clasificación taxonómica

IMAN (2000), indica la siguiente clasificación taxonómica:

Tipo	: Fanerógamas
Sub tipo	: Angiospermas
Clase	: Dicotiledóneas
Orden	: Myrtales
Familia	: Myrtaceae
Género	: <i>Myrciaria</i>
Especie	: <i>Dubia</i> HBK Mc Vaugh.

### 2.1.3. Partes del fruto

El fruto es una baya esférica con un diámetro de 1 a 3 cm, comestible de sabor muy ácido resistente y facilita el transporte. La baya que tiene en el ápice una cicatriz hipantial redondeada, desarrolla en estado maduro un color café rojizo a violeta negruzco y una pulpa carnososa y suave (Figura 1) (DOSTERT *et al.*, 2009).

- **Piel o cáscara:** La piel es lisa y brillante con puntos glandulares. El color varía de rosado a negro púrpura ó rojiza hasta morado, es verde para aquellos que tienen menos del 25 % de coloración rojiza, verde pintón 25 - 50 %; pintón 50 - 75 % y maduro más de 75 % de coloración rojiza (IRANZO y MILAN, 2014).
- **Semillas:** Se encuentran de una a tres semillas alojadas en la pulpa, son uniformes, conspicuamente aplanadas de 8 a 5 mm de largo y 5,5 a 11 mm de ancho, cubiertas por una vellosidad blanca rala de menos de 1 mm de longitud, el peso de 1000 semillas secas esta entre 650 y 760 g (CHANG, 2013).

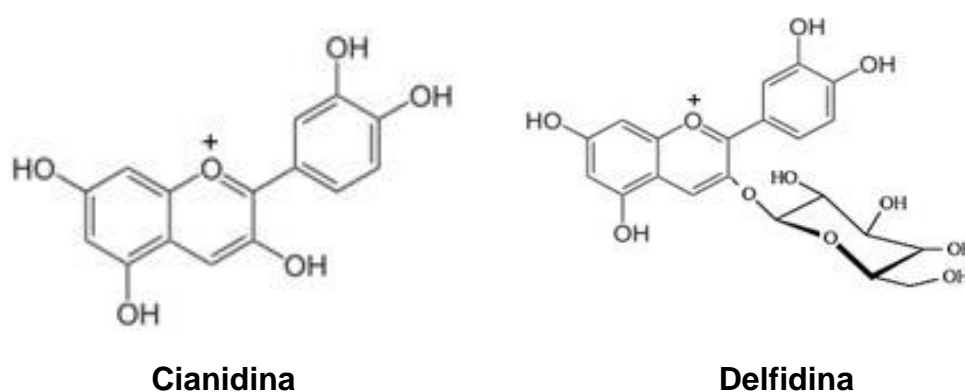


**Figura 1.** Partes del fruto de camu camu.

#### 2.1.4. Compuestos fenólicos en pulpa y pieles de camu camu

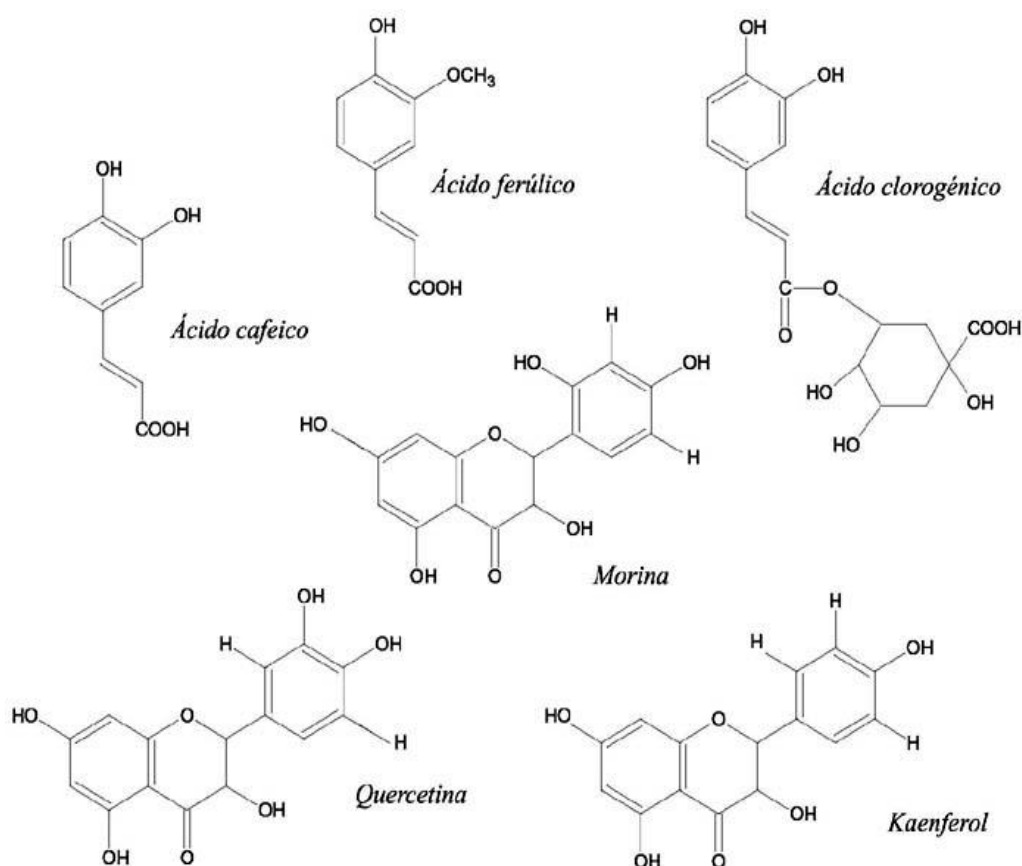
El camu camu tiene altas funcionalidades bioactivas, alto contenido de vitamina C y perfiles fenólicos ricos, como los flavonoides y elagitaninos. Los compuestos fenólicos que se encuentran en el camu camu son quercetina, cianidina-3-glucósido, ácido elágico y elagitaninos (FUJITA *et al.*, 2015). Los flavonoides presentes en el camu camu en mayor proporción son la quercetina y la rutina. Un factor que facilita la actividad antioxidante de los flavonoides es su capacidad de interactuar con las biomembranas, debido a su lipofilia (FERREIRA DE ARAUJO, 2012). Los principales compuestos fenólicos obtenidos en la pulpa y piel de camu camu, fueron el ácido clorogénico, catequina, epicatequina y rutina. La alta concentración de ácido clorogénico y epicatequina en la pulpa y de catequina en la cáscara, indica que están presentes los compuestos de los grupos de hidroxicinamatos y flavan 3-ols (SOTERO *et al.*, 2009).

- **Vitamina C:** El camu camu presenta un alto contenido de vitamina c, siendo aquéllos compuestos los principales responsables para el gran potencial del antioxidante que caracteriza la fruta. Además presenta valores altos de polifenoles más grande que acerola, jaborcaba y açai (FERREIRA DE ARAUJO, 2012).
- **Antocianinas:** Las antocianinas son polifenoles que pertenecen al grupo de flavonoides, las antocianinas consisten en dos o tres fracciones: una aglicona (antocianidina) una parte glicosídica y no pocas veces, un ácido orgánico. Las principales antocianinas presentes en el camu camu son Cianidina-3-glucósido y delphinidina-3-glucósido (Figura 2) (FERREIRA DE ARAUJO, 2012).



**Figura 2.** Cianidina (antocianina) y Delfinidina-3-glicósido (antocianidina).

- **El ácido eláxico:** Es un compuesto fenólico que pertenece al grupo de taninos hidrolizables que se forman a partir de la hidrólisis ácida o básica de elagitaninos, la eficiencia del ácido eláxico como un compuesto antioxidante depende principalmente en su estructura química. La presencia de múltiples grupos hidroxilo, indicarían fuerte capacidad de donar átomos de hidrógeno, la eficiencia antioxidante de estos compuestos está directamente relacionada con su grado de hidroxilación (FERREIRA DE ARAUJO, 2012). Además de la vitamina C, antocianinas, flavonoles, catequinas y carotenoides; todos ellos considerados como antioxidantes naturales; también contiene ácidos polifenólicos de reconocida actividad antioxidante: Acido eláxico, ácido clorogénico, ácido caféico y ácido ferúlico, flavonoles (rutina, quercetina, kaemferol y morina) y catequinas (Figura 3) (MUÑOZ *et al*, 2009).



**Figura 3.** Algunos compuestos polifenólicos en el camu camu.

## 2.2. Aspectos generales de la uva

### 2.2.1. Origen y distribución geográfica

La vid (*Vitis vinífera* L.) pertenece a la familia Vitaceae, comprende 17 géneros en su mayoría leñosos, de los cuales tan sólo el género *Vitis* produce frutos comestibles. Contiene alrededor de 60 especies dioicas que se distribuyen casi a partes iguales entre América y Asia. *Vitis vinífera* L. es la única especie originaria de Eurasia y se ha extendido por todo el mundo por el cultivo humano (AGUIRRE *et al.*, 2013).

### 2.2.2. Clasificación taxonómica de la uva

MARQUEZ (2011) indica la siguiente clasificación taxonómica:

Reino	: Plantae
División	: Magnoliophyta
Clase	: Magnoliopsida
Subclase	: Rosidae
Orden	: Rhamnales.
Familia	: Vitaceae
Género	: <i>Vitis</i>
Especie	: <i>Vitis vinifera</i> L.

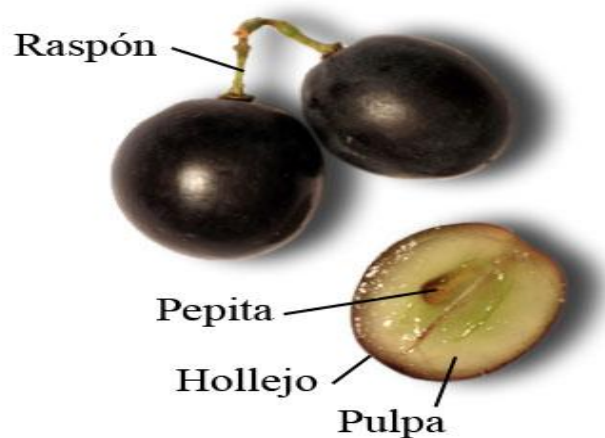
### 2.2.3. Partes del fruto

El fruto es una baya carnosa de color y forma variable, de acuerdo con la variedad, contiene de uno a cuatro semillas aunque hay variedades sin semillas (MENDEZ, 2015). Se distinguen tres partes (Figura 4):

- **Pulpa:** Es la parte más voluminosa del grano de la uva, representando un 75 a 85 % del peso de este, estando formado por un tejido parenquimatoso vegetal típico cuyo origen son las paredes del ovario (CONCILCO, 2014).
- **Hollejo o piel:** Es la parte exterior del grano de la uva, tiene por misión encerrar los tejidos vegetales así como proteger la semilla, está constituido por la cutícula que lo cubre llamada epidermis externa. Según el grupo de investigación en viticultura-UPM, es la parte más externa de la uva y como tal sirve de protección del fruto; lleva en su exterior una capa cerosa llamada pruina

(CONCILCO, 2014). La piel está cubierta de una capa de células cerosas llamadas pruina que protege al fruto de daños de insectos, pérdida de agua y le da buena apariencia. La piel contiene la mayor parte de constituyentes del color, aroma y sabor, las bayas son pequeñas esféricas, de piel seca y dura con profundo pigmento negro (MENDEZ, 2015).

- **Pepitas o semillas:** Se encuentran dentro de la pulpa en un número de uno o dos generalmente. Las pepitas son semillas rodeadas por una fina capa (endocarpio) que las protege, son ricas en aceites y taninos; a las baya sin semillas se le denomina baya apirena. Exteriormente se diferencian tres zonas pico, vientre y dorso, en su interior nos encontramos el albumen y embrión (CONCILCO, 2014).



**Figura 4.** Partes de fruto de la uva (*Vitis vinífera* L.).

#### 2.2.4. Compuestos fenólicos en la uva

Los compuestos fenólicos constituyen una compleja y muy diversa familia de metabolitos secundarios que están presentes en frutos de *Vitis vinífera*

L. Los compuestos fenólicos se clasifican en flavonoides y no flavonoides, los flavonoides son mayormente representada por flavonoles, antocianos y flavan-3-oles o proantocianidinas mientras que los no flavonoides comprenden ácidos fenólicos, ácidos cinámico y estilbenos (OBREQUE-SLIER *et al.*, 2013).

La uva es un fruto con capacidad antioxidante y con potenciales efectos en la salud. El 63 % de los fenoles totales de las vides de variedades tintas se encuentran en las semillas, el 34 % en las pieles (orujos) y el 3 % en el jugo. Asimismo los extractos obtenidos de las semillas o de la piel de uva como subproductos del vino, sidra y jugos industriales han sido considerados como ricas fuentes de antioxidantes naturales (CORNEJO, 2012). En el Cuadro 1 se presenta los compuestos fenólicos presentes en las uvas tintas y blancas.

**Cuadro 1.** Contenido de compuesto fenólicos en frutos de uvas tintas y blancas (mg/100 g de fruta).

<b>Compuesto</b>	<b>Tinto</b>	<b>Blanco</b>
Antocianinas	8 - 388	-
Flavonoles	1,85 - 9,75	0,81 - 8,19
Flaván - 3 – oles	2,5 - 16,7 (hollejo)	1,4 - 52,7 (hollejo)
Taninos	32,1 - 78,1 (hollejo)	17,2 (hollejo)
Derivados del ac. hidrogenoico	24,73 mg/100 g	0,4 mg/100 g
Derivados del ac. hidroxibenzoico	10 - 109 (hollejo)	1,33 - 86,55 (hollejo)
Compuestos fenólicos totales	900 - 950	350

Fuente: Mazza (2000).

### 2.2.5. Compuestos fenólicos en piel de uva

La piel de uva es una rica fuente de antocianinas, ácidos hidroxicinámicos, flavanoles y glucósidos de flavonol. Los flavanoles están principalmente presentes en las semillas; las antocianinas, catequinas, glucósidos de flavonoles, ácidos fenólico, alcoholes y estilbenos son los principales compuestos fenólicos de orujo de uva (KABIR *et al.*, 2013). Las proantocianidinas (taninos condensados) son polímeros formados por subunidades flavan-3-ol, están ubicados en pieles de uva y semillas, son responsables de la estabilización del color y las características sensoriales de los vinos debido a sus propiedades astringentes y amargas (KYRALEOU *et al.*, 2015).

La mayoría de los ácidos fenólicos en las uvas son ácidos hidroxibenzoico, ácidos hidroxicinámicos, y sus derivados tales como formas de éster, ellos se acumulan inicialmente antes de la cosecha, localizándose principalmente en las pieles y carne de bayas de uva, desempeñando papeles importantes como precursores en la síntesis de fenoles volátiles; la síntesis de hidroxibenzoico y ácidos hidroxicinámicos tiene el potencial para regular la biosíntesis de proantocianidinas en las bayas (ZHANG *et al.*, 2014). La piel de uva especialmente de la especie rojo y negro es rica en resveratrol, siendo un derivado del estilbeno; estudios han demostrado que el resveratrol es uno de los más fuertes y conocidos antioxidantes naturales que se encuentra en una gran cantidad en las uva negras, especialmente en el zumo, piel y la semilla. El resveratrol tiene un potencial antioxidante 50 veces más alto que vitamina C y E

juntos; esta sustancia impide la oxidación del colesterol LDL, disminuye los niveles de colesterol total, también demuestra una acción antibacteriana, reduce el riesgo de enfermedades cardiovasculares y puede prevenir el desarrollo del cáncer (JASSIM *et al.*, 2010).

## **2.3. Aspectos generales del cacao**

### **2.3.1. Origen y distribución geográfica**

Según RUIZ y SORIANO (2014), el cacao (*Theobroma cacao* L.) es una planta originaria de América tropical, perteneciente a la familia Sterculiaceae. De acuerdo con la clasificación botánica, pertenece al género *Theobroma*, especie cacao, que produce unas almendras y es el insumo básico para la industria del chocolate, farmacéutica, cosmética y otros.

### **2.3.2. Clasificación taxonómica**

**RAMIREZ (2011)** indica la siguiente clasificación taxonómica:

Reino : Plantae  
División : Magnoliophyta  
Clase : Magnoliopsida  
Subclase : Dilleniidae  
Orden : Malvales  
Familia : Malvaceae  
Género : *Theobroma*  
Especie : *T. cacao*

### 2.3.3. Cascarilla de cacao

Cascarilla de grano de cacao es un producto de desecho de la industria del chocolate y molienda de cacao, es la cáscara delgada que rodea el grano de cacao; tiene un alto valor nutritivo, pero es de uso limitado en la alimentación animal debido a su contenido en teobromina (OLUBAMIWA *et al.*, 2006). La cascarilla o testa es obtenida al descascarillar el grano de cacao, presenta color café y olor característico, representa un 6 – 16 % del peso de la almendra de grano. Este subproducto contiene 10 al 15 % de azúcar, 1% de pectinas y el 15 % de ácido cítrico (BUSTAMANTE, 2014). La cáscara de grano de cacao se genera en la última etapa del procesamiento del cacao, forma 10 – 12 % del peso del grano de cacao, es uno de los residuos industriales generados por empresas de procesamiento de cacao y más a menudo son desechadas en vertederos (Figura 5) (AWARIKABEY *et al.*, 2014).



**Figura 5.** Cascarilla de cacao.

### **2.3.4. Polifenoles en la cascarilla de cacao**

La cáscara de grano de cacao se caracteriza por contener proantocianidinas, catequina y epicatequina (GUGLIELMETTI, 2014), la cascarilla se dispone como residuo cada año como subproducto, llegando a ser fuente barata de compuestos polifenólicos para la fortificación de alimentos. El contenido de polifenoles (<5 %) junto con el bajo contenido de grasa del grano de cacao que no han sido separados y están adherido a la cáscara en el período de la separación. representa ventaja nutricional para estos subproductos; el contenido total de fibra dietética es muy alto, más del 60 % de la materia seca, implica que este producto podría ser de interés para la industria alimentaria, teniendo en cuenta su posible aplicación como ingrediente funcional en productos de confitería, panadería o en la preparación de alimentos bajo en grasa y alta en fibra como productos dietéticos (NSOR- ATINDANA *et al.*, 2012).

## **2.4. Generalidades del chocolate**

### **2.4.1. Definición del chocolate**

Los chocolates son suspensiones semisólidas de partículas sólidas finas de azúcar, cacao y leche (dependiendo del tipo), que constituyen el 70 % del total del productos (AFOAKWA, 2010). Se conoce como chocolate al producto homogéneo elaborado a partir de la mezcla de dos o más de los siguientes ingredientes: pasta de cacao, manteca de cacao, adicionado de azúcares u otros edulcorantes, así como de otros ingredientes opcionales (JASSO, 2014).

### 2.4.2. Compuestos fenólicos mayoritarios en el chocolate

Dentro de los compuestos fenólicos, los flavonoides son los más importantes, se encuentran en alta concentración en el cacao y por consiguiente en el chocolate; los flavanoles del cacao se presentan en dos formas estructurales, como entidades únicas o monómeros (-)-epicatequina y la (+)-catequina o como polímeros procianidinas (DIAZ, 2015).

### 2.4.3. Tipos de chocolate

Según el CODEX (2003) existen estos tipos de chocolates:

- **Chocolate bitter:** En Europa el chocolate amargo se caracteriza con buen sabor redondo a cacao acento a fondo afrutado, derivados de la mezcla cuidadosa de los cacaos de sabor, junto con las habas llamados de relleno o cacao a granel; en Norte América buen sabor a cacao, algo escaso de los acentos afrutados que se encuentra en los chocolates europeos, consecuencia de la utilización de las habas de América del sur y de diferentes técnicas de tostación (BECKETT, 1994). El chocolate bitter contiene una gran cantidad de licor de chocolate lo cual le da un sabor más amargo, comparado con el chocolate con leche que es suave y dulce, para este tipo de chocolate el mínimo exigido de cacao es de 60 %, de manera que el chocolate amargo de alta calidad se caracteriza por su bajo contenido de azúcar (CODEX, 2003).
- **Chocolate de cobertura:** El chocolate de cobertura debería contener, en extracto seco, no menos del 35 % de extracto seco total de cacao, del cual no

menos del 31 % será manteca de cacao y el 2,5 %, por lo menos, extracto seco magro de cacao (CODEX, 2003).

- **Chocolate blanco:** El chocolate blanco deberá contener, en extracto seco, no menos del 20 % de manteca de cacao y no menos del 14 % de extracto seco de leche (incluido un mínimo de grasa de leche entre el 2,5 % y el 3,5 % según lo aplique la autoridad competente de acuerdo con la legislación aplicable) (CODEX, 2003).

#### 2.4.4. Proceso para elaboración del chocolate

Según SANCHEZ (2010), el proceso para convertir el cacao en chocolate primero se extrae la pulpa, después se realizan los siguientes pasos:

- **Fermentación:** Se realiza en una tina, colocando la pulpa del fruto del cacao junto con las semillas. Este proceso se realiza para disminuir la astringencia de los granos frescos y para que éstos germinen, lo cual es importante para obtener el sabor del producto final, la fermentación dura aproximadamente de 5 a 7 días.
- **Secado:** Después de la fermentación las semillas se colocan en esterillas o bandejas para así secarlas al sol. Al secarse las semillas desarrollan su particular aroma y disminuyen el 50 % de su peso. Este paso dura aproximadamente de una a dos semanas, dependiendo del clima en que se encuentren.
- **Tostado:** Los granos de cacao previamente escogidos se tuestan para intensificar su aroma y sabor, esto se hace a temperaturas de 99 a 121 °C en un cilindro que contiene los granos o almendras y que va girando para que se

tuesten uniformemente, el tiempo de tostado es de aproximadamente 70 a 115 minutos dependiendo del cacao y el aroma requerido.

- **Descascarillado:** Es el proceso en el que se elimina la cáscara, la cual constituye la cubierta exterior de la semilla del cacao. Indiferentemente de los distintos fines que se persigan con los granos del cacao en la industria, todos deben someterse primero a un proceso de descascarillado antes de que se transformen en pasta o licor de cacao (BECKETT, 2002).
- **Conchado:** El conchado es uno de los procesos finales en la elaboración de chocolate, es un proceso esencial que contribuye al desarrollo de la viscosidad, textura final y sabor; se realiza agitando el chocolate a más de 50°C por algunas horas (AFOAKWA, 2010). El conchado se lleva a cabo normalmente con la agitación del chocolate a temperaturas superiores a 40-50°C durante unas cuantas horas (habitualmente >10-12 h), para proporcionar al chocolate la viscosidad deseable, puede añadirse manteca de cacao y lecitina, antes de la finalización de esta etapa (BECKETT, 2002).
- **Temperado:** Este paso es el responsable del brillo y la suave textura del chocolate, se realiza después del conchado cuando el chocolate está de 60° a 75 °C, esta mezcla se debe enfriar a 40 °C para estabilizar los cristales de la manteca de cacao (SANCHEZ, 2010).
- **Moldeado:** En este proceso se vierte la masa líquida de cacao en moldes, además es el momento de añadir los complementos que vaya a llevar. Los moldes pueden rellenarse a mano a una temperatura de 31 a 33 °C; en esta etapa el chocolate está espeso y pastoso, por esto, se somete a agitación o vibración vigorosa para asegurar que el chocolate esté en contacto total con

el molde y para expulsar las burbujas de aire que aparecen en la superficie (RUIZ y SORIANO, 2014).

- **Envasado:** Los productos finales son llevados por un transportador a las máquinas de embalaje y son envueltos en papel de aluminio, luego se realiza el envasado individual y se meten los productos en cajas (RUIZ y SORIANO, 2014).

## 2.5. Generalidades de polifenoles

Los polifenoles constituyen uno de los grupos de metabolitos secundarios más numerosos en la naturaleza, algunos alimentos sabemos que destacan por su alto contenido en polifenoles, entre ellos el té, el vino y el cacao, existen varias clases y subclases de polifenoles que se definen en función del número de anillos fenólicos; los principales grupos de polifenoles son: ácidos fenólicos, estilbenos, lignanos, alcoholes fenólicos y flavonoides (QUIÑONES *et al.*, 2012).

### 2.5.1. Cuantificación de polifenoles

El ensayo Folin-Ciocalteu fue diseñado para analizar compuestos fenólicos. El mecanismo básico de este se da por una reacción redox, la cual se utiliza comúnmente para cuantificar los compuestos fenólicos solubles totales en productos naturales utilizando ácido gálico como estándar. Esta reacción envuelve la reducción de los fenoles mediante el reactivo ácido tungstico fosfomolibdico. Los compuestos fenólicos se van oxidando en medio básico resultando en la formación del óxido superóxido, el cual reacciona con el molibdato para formar el óxido de molibdeno  $\text{MoO}_4^-$ . El óxido de molibdeno tiene

una absorbancia muy intensa 725 nm y los compuestos fenólicos totales se estiman por la reducción del reactivo de Folin-Ciocalteu. La reacción está compuesta por la muestra, agua destilada, reactivo de Folin-Ciocalteu, carbonato de sodio 2 - 40 %, se incuban a temperatura ambiente durante 40 minutos. La absorbancia se mide a 725 nm. La concentración de los compuestos fenólicos se calcula basada en los equivalentes de ácido gálico (GAE) (ZAPATA y CARDONA *et al.*, 2014).

## **2.6. Generalidad de capacidad antioxidante**

### **2.6.1. Antioxidantes y radicales libres**

Se denomina antioxidantes a los compuestos que tienen la capacidad de neutralizar o evitar la formación de las denominadas especies reactivas del oxígeno (EROs) tales como radicales libres, OH, peróxido de hidrógeno, O singulete, etc.; productos de nuestro metabolismo y capaces de causar daño celular, en tejidos y en órganos (CHANG, 2013).

Los antioxidantes pueden ser naturales o sintéticos y están ampliamente distribuidos en los alimentos frescos o procesados, siendo las mayores fuentes los alimentos de origen vegetal y sus productos, por presentar un alto contenido de vitamina E, C, carotenoides y compuestos fenólicos, específicamente flavonoides (ARRAZOLA *et al.*, 2013).

Los radicales libres (RL) son moléculas que se derivan del oxígeno, están en continua formación en las células del organismo y en pequeñas cantidades no producen efectos tóxicos. En situación normal, la producción de radicales libres es constante en una concentración determinada y son

neutralizados por las defensas antioxidantes, que pueden ser sustancias propias del organismo (las enzimas antioxidantes) o pueden ser sustancias presentes en algunos alimentos, como la vitamina C, vitamina E, el beta caroteno, flavonoides, entre otros (SANDOVAL *et al.*, 2008).

### **2.6.2. Método DPPH**

El ensayo DPPH conocido también como 1,1-difenil-2-picrilhidrazil es ampliamente utilizado en plantas para evaluar la capacidad antioxidante de los radicales libres, en muestras previamente preparadas; el radical nitrógeno orgánico enlazado a DPPH es muy estable, reacciona con compuestos que pueden donar átomos de hidrógeno y el cual tiene una absorbancia máxima UV-vis a 515 nm. El principio del poder antioxidante del DPPH se observa cuando al reducirse este reactivo se decolora pasando a violeta púrpura en solución metanólica, son indicios de una significativa capacidad antioxidante, cuando se observa esa decoloración (ZAPATA y CARDONA *et al.*, 2014).

### **2.6.3. Método de ABTS**

El ensayo de decoloración con el radical catiónico ABTS<sup>+</sup> se fundamenta en la cuantificación de la decoloración del radical ABTS<sup>+</sup>, debido a la interacción con especies donantes de hidrógeno o de electrones. El radical catiónico ABTS<sup>+</sup>, es un cromóforo que absorbe a una longitud de onda de 415 o 734 nm y se genera por una reacción de oxidación del ABTS (2,2'-azino-bis-(3-etil benzotiazolin -6- sulfonato de amonio) con persulfato de potasio (SOTELO *et al.*, 2015).

## **2.7. Evaluación sensorial**

La evaluación sensorial es un método que utiliza un grupo de panelistas previamente entrenado para medir, analizar e interpretar reacciones de las características de los alimentos; estas son percibidas por los sentidos de la vista, olfato y gusto y se las realizan en una pasta de cacao preparada para la identificación de los sabores y aromas que van a determinar los perfiles organolépticos de una muestra, todo proceso que se le realice para obtenerla influirá en estos, negativa o positivamente (MERA y RUIZ, 2014).

## **2.8. Atributos sensoriales en el cacao**

### **2.8.1. Aroma**

El aroma es la sensación percibida por el órgano olfativo (la nariz) y estimulada por las sustancias volátiles que emana un producto por vía retro nasal y favorece la aireación de la lengua. Es necesario controlar que el cacao no llega a una sobre-fermentación, debido al aumento de los ácidos acéticos y lácticos que proveen al grano un olor ácido fuerte, desagradable que deteriora la calidad del producto final (MERA y RUIZ, 2014). La fracción volátil del aroma del cacao se origina a partir de los precursores formados durante la fermentación y secado de las almendras de cacao (ÁLVAREZ *et al.*, 2012).

### **2.8.2. Sabor**

Las propiedades de sabor tales como el amargor, la astringencia, acidez, azucarado, se dan en las almendras de cacao por la presencia de

compuestos no volátiles tales como: xantinas, alcaloides, polifenoles, purinas; no obstante la astringencia logra disminuir a medida que avanza la maduración de las almendras, probablemente por la condensación de los polifenoles (ÁLVAREZ *et al.*, 2012). Según MERA y RUIZ (2014), en el licor de cacao se pueden identificar tres tipos de sabores: básicos, específicos y adquiridos, se clasifican en:

#### 2.8.2.1. Sabores básicos

- **Acidez:** Describe licores con sabor ácido, debido a la presencia de ácidos volátiles y no volátiles, se percibe a los lados y centro de la lengua, como referencia: Frutas cítricas, vinagre.
- **Amargor:** Se describe como un sabor fuerte y amargo, generalmente por la falta de fermentación, se percibe en la parte posterior de la lengua o en la garganta, como referencia: café, cerveza, toronja.
- **Astringencia:** Este sabor fuerte es por la falta de fermentación, provoca sequedad en la boca, aumento de salivación, se percibe en toda la boca, lengua, garganta y hasta en los dientes, como referencia: cacao no fermentado, inicialmente se percibe un sabor floral pero luego es amargo, hojas de plátano y vino.
- **Dulce:** Se percibe en la punta de la lengua.
- **Cacao:** Describe el sabor típico a granos de cacao bien fermentados, secos, asados y libre de defectos Referencia: Barras de chocolates, caco fermentado y asado.

#### 2.8.2.2. Sabores específicos

- **Floral:** Presentan sabores a flores, casi perfumados posiblemente se perciba un olor como a químico Referencia: lilas, violetas, flores de cítricos.
- **Frutal:** Se caracteriza por licores con sabor a fruta madura. Esto describe una nota de aroma a dulce agradable. Como referencia: cualquier fruta seca madura, fruta cítrica madura y seca.
- **Nuez:** Se relaciona con el sabor de la almendra y nuez.

### 2.8.2.3. Sabores adquiridos

- **Moho:** Describe licores con sabor mohoso, debido a una sobre fermentación de las almendras o a un incorrecto secado, como referencia: Sabor a pan viejo, musgo, olor a bosque.
- **Químico:** Describe licores contaminados por combustible, plaguicidas, desinfectantes y otros productos químicos.
- **Verde/crudo:** Se describe así generalmente por la falta de fermentación o de tostado.
- **Humo:** Describe licores contaminados por humo de madera, usualmente debido al secado artificial. Referencia: humo de madera, notas fenólicas, jamón.

### III. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1. Lugar de ejecución

El presente trabajo se realizó en el Laboratorio de Nutrición Animal, Laboratorio de Carnes y Centro de Investigación y Desarrollo Biotecnológico de la Amazonia (CIDBAM), de la Universidad Nacional Agraria de la Selva (UNAS); ubicada en el distrito de Rupa Rupa, provincia de Leoncio Prado, Departamento de Huánuco; a una altitud de 660 m.s.n.m. a 09°17'08" de latitud Sur, a 75°59'52" de latitud Oeste, con clima tropical húmedo y con una humedad relativa media de 84 % y temperatura anual de 24 °C.

#### 3.2. Materia prima

- **Base bitter de 60 % y cascarilla de cacao:** Se utilizaron de la variedad amazónicas (criollos), provenientes de la Empresa Agroindustrias Makao Perú S.A.C., ubicada en el Jr. Cuzco 402 del distrito de Pucacaca, provincia de Picota, departamento de San Martín, ubicada a 58 Km de la ciudad de Tarapoto, el cual fue brindado por la Ing. Jenny Isabel Mandujano Paredes.
- **Piel de camu camu:** Se utilizaron piel de camu camu de la especie *Myrciaria dubia* en estado maduro, provenientes del Instituto de Investigación de la Amazonia Peruana que se encuentra ubicado en el km 12.400 de la carretera

Federico Basadre, a 35 minutos de la ciudad de Pucallpa, distrito Calleria, provincia de Coronel Portillo, departamento de Ucayali.

- **Piel de uva morada:** Se utilizaron piel de uva en estado maduro de la variedad morada, suministradas del mercado de la ciudad de Tingo María.

### **3.3. Materiales y equipos de laboratorio y/o proceso, reactivos y solventes**

#### **3.3.1. Materiales de laboratorio y/o proceso**

Vasos de precipitación de 50 mL; tubos de ensayo 10 mL; fioles (matraz aforado, contrastable) de 10, 25 y 50 mL; frascos ámbar de 100 mL; pizetas de polietileno de 120 mL; micropipetas 0 – 10, 10 – 100, 20 – 200 y 100 – 1000  $\mu$ L; cubetas de poliestireno de 1ml (1 x1 x4.5 cm); tips (1000 y 100  $\mu$ L); microtubos de polipropileno (1,5 – 2 mL) color natural; papel filtro semirápido con espesor de 0,21 mm (pliego de 45 x 45 cm); gradillas de alambre (4 x 12 cm) base tipo red para tubos de ensayo marca Poxigrid®; espátulas de acero inoxidable con mango de madera (8 cm), hoja (75 mm) altamente flexible; Modelo FER-EMM-10; moldes de policarbonato de grado alimentario (14 x 30 cm); mortero de porcelana tipo 55, con pistón tipo 56, con pico no vitrificado y papel aluminio en rollo (30,4 x 30,4 cm) marca Diamond.

#### **3.3.2. Equipos de laboratorio y/o proceso**

Espectrofotómetro UV/Vis modelo Genesys 6 (Thermo Electrón Corporation) SN 2M6G261002; Balanza analítica modelo ESJ-210-4 (Digital precisión), capacidad 200g y modelo Adventurer Pro AV114 (OHAUS) capacidad 110 g; Estufa modelo ODH6-9240A (TOMOS Heating Drying Oven);

Congelador FFV-2065FW -20 °C (Frigidaire, USA); Refrigerador Icebeam Door Cooling LG modelo GR-5392QLC (Corea); Homogenizador modelo VORTEX GENIE-2 (Scientific industries. SITM); Centrifuga modelo MIKRO 22R (Hettich); Termómetro digital infrarrojo con puntero laser tipo pistola -32 a 380 °C; Soxhlet aparato de extracción con serie de 6 plazas con frascos de 250 mL 230 VAC 50 – 60 Hz; mesa vibratoria de acero inoxidable (aproximadamente 0,75 × 1 × 0,90 m); dos mesas de acero inoxidable (aproximadamente 1,75 × 4 × 0,95 m) y (aproximadamente 4 × 2 × 0,90 m); cámara frigorífica de tres compuertas con dos sistemas de aire acondicionado en su interior, capacidad de 1000 tabletas; molino manual de disco, manubrio con mango de madera, mariposa reforzada, cuerpo estañado con tolva y disco moledor, marca Rey y cocina semiindustrial a gas de dos hornillas (146 x 71 x 51 cm) marca surge.

### 3.3.3. Reactivos y solventes

Ácido gálico ( $C_7H_6O_5$ ) al 98,1 % Sigma; solución fenol de ciocalteu (FOLIN) phenol reagent (2N, Sigma Aldrich); carbonato de Sodio ( $NaCO_3$ ) p.a. ISO. Scharlau; 1,1-Diphenyl-1-picril-hydrayl (DPPH, Sigma Aldrich, USA); 2,2-azinobis (3-etilbenzotiazolino-6-ácido sulfónico) diammonium salt (ABTS; Sigma Aldrich, USA); agua destilada desionizada ( $H_2O_{dd}$ ); persulfato de Potasio ( $K_2O_8S_2$ ) p.a. Sigma Chemical; etanol ( $C_2H_5OH$ ) al 96 % y n-hexano ( $CH_3(CH_2)_4CH_3$ ) al 96 % marca Merck Germany.

### 3.4. Métodos de análisis

**Cuantificación del contenido de polifenoles totales:** Se realizó por el método espectrofotómetro desarrollado por Folin Ciocalteu *et al.* (1927), modificado por SANDOVAL *et al.* (2001).

**Determinación de la capacidad antioxidante:**

- **Capacidad de inhibir radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH):** Se realizó por el método espectrofotómetro UV/Visible a 517 nm descrito por BRAND *et al.* (1995).
- **Capacidad de inhibir radical libre 2,2-azinobis (3-etilbenzotiazolino-6-ácido sulfónico) (ABTS):** Se realizó por el método descrito por RE *et al.* (1999).

**Evaluación sensorial:** Se realizó por el método de COCHRAN y COX (1955), BACELAR *et al.* (2013) y FRANCO e HIDALGO (2003).

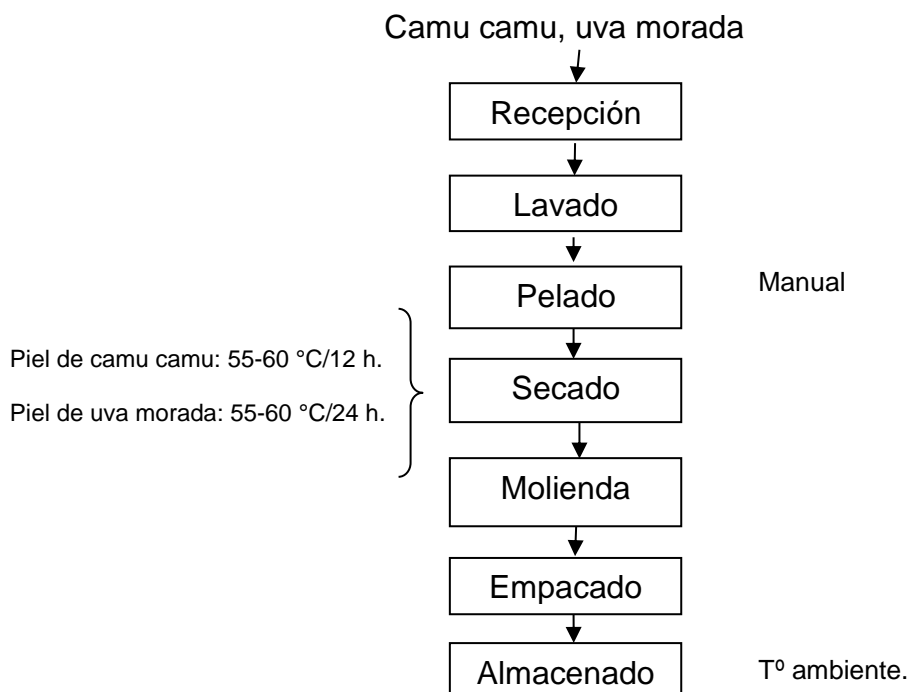
### 3.5. Metodología experimental

#### 3.5.1. Obtención de pieles secas de camu camu y uva morada

En la Figura 6 se describe el proceso para la obtención de piel de camu camu y piel de uva morada (MEJIA, 2013).

- **Recepción:** Los frutos se recibieron considerando que estén en buenas condiciones (libres de picadura de insectos, podridos u otros defectos).
- **Lavado:** Se lavó manualmente con agua que contenía 3 gotas de cloro/L.
- **Pelado:** Se realizó de manera manual con un cuchillo de acero inoxidable, con la finalidad de separar la piel de la pulpa.

- **Secado:** Las pieles se colocaron en recipientes de metal y se secaron en una estufa entre 55 – 60 °C/ 12 h para la piel de camu camu y 24 h para la piel de uva morada.
- **Molienda:** Se realizó hasta obtener la muestra completamente molida.
- **Empacado:** Las pieles molidas fueron embolsadas hasta su posterior uso.
- **Almacenado:** Se almaceno en lugar fresco.

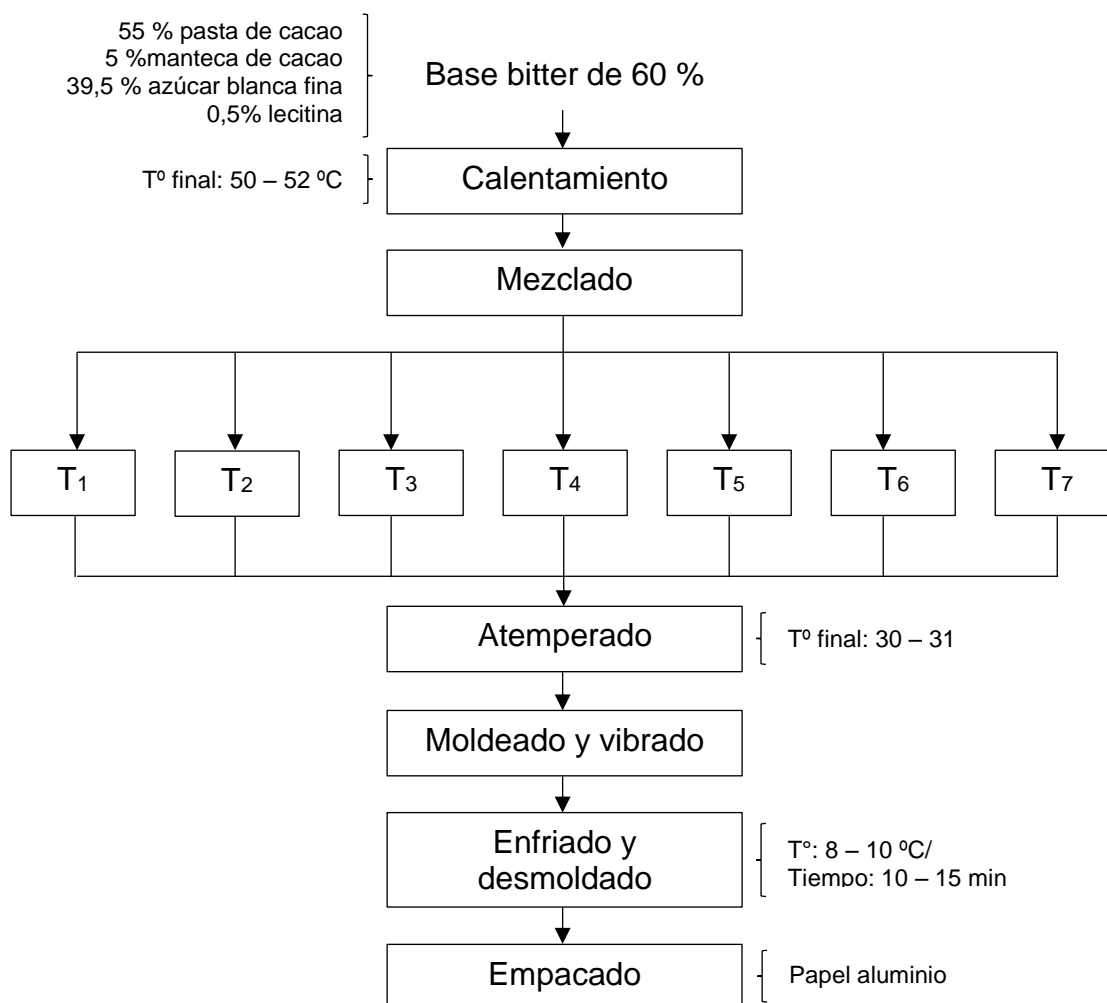


**Figura 6.** Flujograma de obtención de piel de camu camu y piel de uva morada.

### 3.5.2. Inclusión de piel de camu camu, piel de uva morada y cascarilla de cacao en el chocolate Bitter

En la Figura 7 se presenta el diagrama de inclusión de piel de camu camu, piel de uva morada y cascarilla de cacao en el chocolate Bitter, la cual se describe a continuación:

- **Base Bitter de 60 %:** La formulación fue 55 % de pasta de cacao; 5 % de manteca de cacao; 39,5 % de azúcar blanca fina y 0,5 % de lecitina.
- **Calentamiento:** Mediante un sistema de baño maría, se calentó la base Bitter en recipiente de acero inoxidable, hasta que torne fluida y alcance 50 – 52 °C.
- **Mezclado:** A la base Bitter se adicionó las pieles; los tratamientos fueron distribuidos de la siguiente manera: T1 = Sin piel ni cascarilla  
T2 = Con piel de camu camu 0,5 %.      T3 = Con piel de camu camu 1 %.  
T4 = Con piel de uva morada 0,5 %.      T5 = Con piel de uva morada 1%  
T6 = Con cascarilla de cacao 0,5 %.      T7 = Con cascarilla de cacao 1%.
- **Atemperado:** Con ayuda de espátulas de acero inoxidable se realizó el atemperado manualmente, en esta operación se logró bajar la temperatura de 50 - 52 °C a 30 - 31 °C.
- **Moldeado y vibrado:** Se colocó la mezcla en los moldes debidamente codificados y se llevó a la mesa vibratoria para eliminar las burbujas de aire que se pudieron formar en el interior del chocolate, de este modo evitar rupturas al momento de desmoldar.
- **Enfriado y desmoldado:** Seguidamente se colocaron los moldes en la cámara frigorífica a 8 – 10 °C/10 – 15 min o hasta que la parte inferior del molde se torne blanquecina y luego se desmoldaron.
- **Empacado:** Se dejó reposar los chocolates a temperatura ambiente 24 °C/5 min y posteriormente se empacó con papel aluminio.

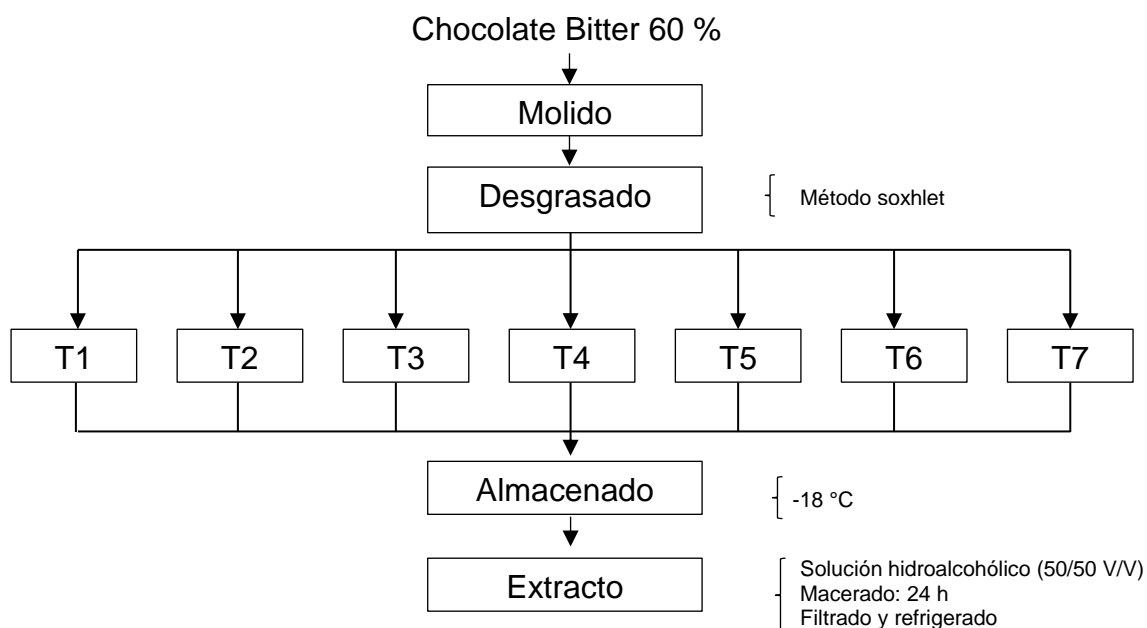


**Figura 7.** Diagrama de inclusión de piel de camu camu, piel de uva morada y cascarilla de cacao en el chocolate Bitter.

### 3.5.3. Preparación del extracto hidroalcohólico

La preparación del extracto se muestra en la Figura 8 y se describe a continuación:

- **Molido:** Las muestras fueron picadas y molidas con un cuchillo de acero inoxidable para reducir su tamaño.



**Figura 8.** Diagrama para la preparación del extracto hidroalcohólico del chocolate Bitter con inclusión de piel de camu camu, piel de uva morada y cascarilla de cacao.

- **Desgrasado:** Se realizó por el método de soxhlet (SAVANTO *et al.*, 2015), que consistió en pesar 10 g de muestra (molida) en papel filtro, y se colocó dentro del tubo de extracción con el solvente (hexano), luego fue colocado en el sistema soxhlet, se realizó el desengrasado por 5 a 6 h, una vez terminada la extracción se retiró la muestra desengrasada, para luego ser secado en estufa a 45 °C/15 min para evaporar el solvente.
- **Almacenado:** Las muestras desgrasadas fueron almacenados a -18 °C.
- **Extracto:** Se pesó 3 g de muestra desengrasada, luego se transfirió a un frasco de vidrio color ámbar donde se adicionó 30 mL de solución hidroalcohólico (50 mL H<sub>2</sub>O desionizada/50 mL etanol V/V), tapado

herméticamente, por 24 h en agitación constante, finalmente se filtró y centrifugo 10000 rpm/ 10min a 4 °C para luego ser almacenado en congelación hasta su análisis.

### **3.5.4. Contenido de polifenoles totales del chocolate Bitter con inclusión de piel de camu camu, piel de uva morada y cascarilla de cacao**

#### **3.5.4.1. Determinación de la curva estándar**

La curva estándar se preparó a partir de una solución stock de 10 mL de ácido gálico a una concentración de 1 mg/mL a partir de ello se hicieron concentraciones de 0,8; 0,6; 0,4; 0,2 y 0,05 mg/mL, cada solución se preparó por triplicado. En cada tubo se agregó 1580 µL de agua desionizada y 20 µL de cada concentración y para el control se considera etanol al 96 %, se homogenizo ligeramente, luego se adicionó 100 µL de solución fenol ciocalteu, se incubo por 1 min a temperatura ambiente; se neutralizó la reacción agregando 300 µL de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> al 20 % y finalmente se incubó por 2 h a temperatura ambiente; se realizó la lectura en el espectrofotómetro UV/VIS a 710 nm, con los resultados obtenidos se graficó la concentración vs absorbancia, luego se procedió a determinar la ecuación.

#### **3.5.4.2. Cuantificación del contenido de polifenoles totales**

Para la cuantificación del contenido de polifenoles totales en las muestras de estudio, se partió del extracto hidroalcohólico (100 mg/mL), a partir de ella se realizó la concentración de trabajo 10 mg/mL para cada

tratamiento y por triplicado, la reacción se realizó adicionando en los tubos de ensayos para cada tratamiento 1580  $\mu\text{L}$  de agua desionizada, 20  $\mu\text{L}$  de la concentración de trabajo (10 mg/mL), 100  $\mu\text{L}$  de fenol folin ciocalteu y finalmente 300  $\mu\text{L}$  de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  al 20 % y se incubó por 2 h a temperatura ambiente y en oscuridad, la lectura se realizó en el espectrofotómetro UV/VIS a 710 nm. Las absorbancias obtenidas fueron reemplazadas en la ecuación de la curva estándar y los resultados fueron expresados en equivalente de ácido gálico (g EAG/100 g muestra).

Los resultados fueron analizados mediante el diseño completo al azar (DCA) y en los tratamientos donde hubo diferencia estadística se procedió a determinar la prueba de Tukey  $p < 0,05$  (WAYNE, 2004), para ello se utilizó el programa SAS versión 0,9 (español).

### **3.5.5. Determinación de la capacidad antioxidante del chocolate Bitter con inclusión de piel de camu camu, piel de uva morada y cascarilla de cacao**

#### **3.5.5.1. Capacidad de inhibir el radical libre 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH)**

La determinación del coeficiente de inhibición del radical DPPH se presenta a continuación. Para ello se preparó 10 mL de solución stock de DPPH a 1mM (0,0394 g de DPPH en 100 mL de etanol al 96 %) y se almacenó a 4 °C protegido de la luz. A partir de ésta solución stock se preparó 50 mL a 100  $\mu\text{M}$  de DPPH en etanol al 96 %. Para la inhibición del radical DPPH se partió del extracto hidroalcohólico 100 mg/mL, para cada muestra se prepararon seis

concentraciones de trabajo (Cuadro 2) la forma de preparar cada concentración se detalla en el Cuadro 3. En una cubeta de poliestireno se adicionó 25  $\mu\text{L}$  de cada concentración de trabajo y 975  $\mu\text{L}$  de solución DPPH a 100  $\mu\text{M}$ , la lectura se realizó en un espectrofotómetro de UV/VIS a 517 nm cada 30 s/ 8 min. Para determinar el porcentaje de inhibición se utilizó la siguiente ecuación:

$$\% \text{ Inhibición DPPH} = [(\text{Abs control} - \text{Abs muestra}) / \text{Abs control}] * 100$$

Dónde:

Abs Control: Absorbancia del control

Abs Muestra: Absorbancia de la muestra en 8 min.

A partir del porcentaje de inhibición se calculó  $\text{IC}_{50}$  (mg/mL) para ello se grafican los valores del porcentaje de inhibición en función a la concentración para cada extracto obteniendo así la ecuación de la gráfica, de la cual se obtendrá la concentración media efectiva ( $\text{IC}_{50}$ ).

Los resultados de la capacidad de inhibir ( $\text{IC}_{50}$ ) del radical DPPH fueron analizados mediante el diseño completo al azar (DCA) (WAYNE, 2004), en los tratamientos donde hubo diferencia estadística se procedió a determinar la prueba de Tukey  $p < 0,05$ , para ello se utilizó el programa SAS versión 0,9 (español).

**Cuadro 2.** Concentraciones de muestra para determinar IC<sub>50</sub> del chocolate Bitter con inclusión de piel de camu camu, piel uva morada y cascarilla de cacao.

<b>Muestras</b>	<b>Tratamiento</b>	<b>Concentraciones (mg/mL)</b>					
Sin piel ni cascarilla	T 1	0,05	0,1	0,15	0,225	0,25	0,275
Con piel de camu camu 0,5%	T2	0,05	0,1	0,2	0,25	0,3	0,35
Con piel de camu camu 1%	T3	0,075	0,15	0,175	0,25	0,3	0,35
Con piel de uva morada 0,5%	T4	0,075	0,125	0,15	0,225	0,275	0,325
Con piel de uva morada 1%	T5	0,075	0,1	0,15	0,025	0,275	0,325
Con cascarilla de cacao 0,5%	T6	0,05	0,1	0,15	0,2	0,25	0,3
Con cascarilla de cacao 1%	T7	0,075	0,125	0,15	0,175	0,2	0,25

**Cuadro 3.** Volúmenes necesarios para la preparación de las diferentes concentraciones necesarias para determinar el IC<sub>50</sub>.

<b>Concentraciones (mg/mL)</b>	<b>Extracto hidroalcohólico 100 mg/mL (<math>\mu</math>L)</b>	<b>Solución hidroalcohólico (<math>\mu</math>L)</b>	<b>Volumen final (<math>\mu</math>L)</b>
0,025	20	980	1000
0,075	30	970	1000
0,100	40	960	1000
0,125	50	950	1000
0,150	60	940	1000
0,175	70	930	1000
0,200	80	920	1000
0,225	90	910	1000
0,250	100	900	1000
0,275	110	890	1000
0,300	120	880	1000
0,325	130	870	1000
0,350	140	860	1000

### **3.5.5.2. Determinación de la capacidad de inhibir el radical 2,2-azinobis (3-etilbenzotiazolino -6- ácido sulfónico) (ABTS<sup>o+</sup>)**

Para el método ABTS se preparó 10 mL peroxodisulfato de potasio (K<sub>2</sub>O<sub>8</sub>S<sub>2</sub>) 122,5 mM y 10 mL de una solución de ABTS 7mM con agua

destilada desionizada y en esta solución preparada de ABTS, se agregó 200  $\mu\text{L}$  de solución peroxodisulfato de potasio. Así quedó preparada la solución ABTS 7 mM, luego de preparar la solución, se almaceno en oscuridad durante 16 horas, para obtener el radical  $\text{ABTS}^{\circ+}$ . Luego se tomó 1mL de solución  $\text{ABTS}^{\circ+}$  y se enrazó en una fiola de 50 mL con etanol al 96 % hasta obtener una absorbancia de  $(0,7 \pm 0,01)$  a 734 nm. Para la inhibición del radical  $\text{ABTS}^{\circ+}$  se partió del extracto hidroalcohólico 100 mg/mL, para cada muestra se prepararon seis concentraciones de trabajo (Cuadro 4) la forma de preparar cada concentración se detalla en el Cuadro 5. En una cubeta de poliestireno se adicionó 10  $\mu\text{L}$  de cada concentración de trabajo y 990  $\mu\text{L}$  de solución radical  $\text{ABTS}^{\circ+}$ , la lectura se realizó en un espectrofotómetro de UV/VIS a 734 nm cada 30 s/ 5 min. Para determinar el porcentaje de inhibición se utilizó la siguiente ecuación:

$$\% \text{ Inhibición } \text{ABTS}^{\circ+} = [(A_c - A_{m(t)}) / A_c] * 100$$

Dónde:  $A_c$ : Absorbancia de los controles

$A_m$ : Absorbancia de la muestra en función del tiempo (5 min).

A partir del porcentaje de inhibición se calculó  $\text{IC}_{50}$  (mg/mL) para ello se grafican los valores del porcentaje de inhibición en función a la concentración para cada extracto obteniendo así la ecuación de la gráfica, encontrado la concentración media efectiva ( $\text{IC}_{50}$ ). Los resultados de la capacidad de inhibir ( $\text{IC}_{50}$ ) del radical  $\text{ABTS}^{\circ+}$  fueron analizados mediante el diseño completo al azar (DCA) (WAYNE, 2004), en los tratamientos donde hubo diferencia estadística se procedió a determinar la prueba de Tukey  $p < 0,05$ , para ello se utilizó el programa SAS versión 0,9 (español).

**Cuadro 4.** Concentraciones de muestra para determinar IC<sub>50</sub> del chocolate Bitter con inclusión de piel de camu camu, piel de uva morada y cascarilla de cacao.

<b>Muestras</b>	<b>Tratamiento</b>	<b>Concentraciones (mg/mL)</b>					
Sin piel ni cascarilla	T1	0,02	0,04	0,05	0,06	0,09	0,11
Con piel de camu camu 0,5 %	T2	0,01	0,02	0,04	0,06	0,08	0,1
Con piel de camu camu 1 %	T3	0,02	0,03	0,06	0,07	0,09	0,1
Con piel de uva morada 0,5 %	T4	0,01	0,02	0,03	0,04	0,11	0,12
Con piel de uva morada 1 %	T5	0,01	0,02	0,03	0,04	0,05	0,07
Con cascarilla de cacao 0,5 %	T6	0,02	0,04	0,06	0,07	0,08	0,1
Con cascarilla de cacao 1 %	T7	0,01	0,04	0,05	0,07	0,08	0,1

**Cuadro 5.** Volúmenes necesarios para la preparación de las diferentes concentraciones necesarias para determinar el IC<sub>50</sub>.

<b>Concentraciones (mg/mL)</b>	<b>Extracto hidroalcohólico 100 mg/mL (<math>\mu</math>L)</b>	<b>Solución hidroalcohólico (<math>\mu</math>L)</b>	<b>Volumen final (<math>\mu</math>L)</b>
0,01	10	990	1000
0,02	20	980	1000
0,03	30	970	1000
0,04	40	960	1000
0,05	50	950	1000
0,06	60	940	1000
0,07	70	930	1000
0,08	80	920	1000
0,09	90	910	1000
0,10	100	900	1000
0,11	110	890	1000
0,12	120	880	1000

### **3.5.6. Evaluación sensorial del chocolate Bitter con inclusión de piel de camu camu, piel de uva morada y cascarilla de cacao**

Se evaluaron siete muestras de chocolates bitter de 60 % con inclusión de piel de camu camu, piel de uva morada y cascarilla de cacao y una muestra testigo (sin ninguna inclusión). Para la evaluación sensorial se utilizó una ficha (A-I), incluyéndose los atributos de color, brillo, aroma a chocolate,

aroma floral, aroma frutal, aroma a frutos secos, sabor a chocolate, acidez, acidez cítrica, amargar, astringencia, funde y rugosidad; los calificativos fueron en base a una escala hedónica de 5 puntos (1 = muy débil y 5 = intenso). Las evaluaciones se realizaron por la mañana, los tratamientos fueron codificados con tres dígitos al azar y se sirvieron en platos desechables (2 g de muestra) incluido un vaso con agua para la neutralización de sabores y resabios que pueden quedar de la muestra evaluada anteriormente. Para la distribución de las muestras y número de panelistas se aplicó el diseño bloque incompleto balanceado (tipo II) descrito por COCHRAN y COX (1995) la misma que considera los parámetros siguientes: Tratamientos ( $t = 7$ ), número de muestras que aparecen en cada bloque ( $k = 2$ ), número de repeticiones o jueces por tratamiento ( $r = 6$ ), número de bloques o jueces ( $b = 21$ ), número de veces que un par de muestras aparecen en el mismo bloque ( $\lambda = 1$ ) y error ( $E = 0,58$ ).

Con los resultados se procedió al cálculo de los promedios de cada atributo evaluado con la finalidad de desarrollar el análisis descriptivo cuantitativo (QDA), también se realizó la evaluación del ANOVA, un análisis multivariado de componentes principales (ACP), con el fin de describir la variación principal en los datos sensoriales y para obtener los perfiles descriptivos y graficar su respuesta en un Cluster (dendrograma) (BACELAR *et al.*, 2013); y un análisis de conglomerados (FRANCO E HIDALGO, 2003).

## IV. RESULTADOS Y DISCUSIONES

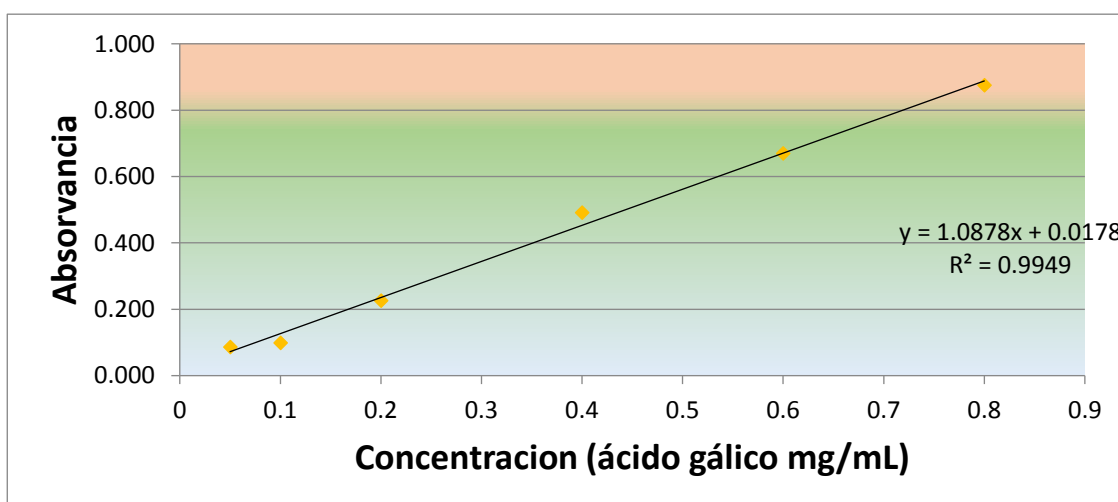
### 4.1. Contenido de polifenoles totales del chocolate Bitter con inclusión de piel de camu camu , piel de uva morada y cascarilla de cacao

#### 4.1.1. Determinación de la curva patrón

Para la cuantificación de polifenoles totales de los chocolates Bitter con inclusión de piel de camu camu, piel de uva morada y cascarilla de cacao, se estableció una curva patrón (Cuadro 6 y Figura 9) en base al ácido gálico, determinándose concentraciones de trabajo comprendidas entre 0,8 a 0,05 mg/mL; el procedimiento seguido concuerda con los reportes de FRANCO y SUAREZ (2014) quienes indican que para la cuantificación del contenido de polifenoles totales (CPT) utilizando el reactivo Folin-Ciocalteu y una curva de calibración de ácido gálico se expresa como equivalente de ácido gálico (GAE). Realizando la regresión entre la absorbancia y la concentración de ácido gálico, se encontró una correlación positiva fuerte con un  $R^2 = 0,994$ . Según LIND *et al.* (2012) indican una correlación positiva fuerte se encuentra entre una correlación positiva moderada y una correlación positiva perfecta que esta entre 0,5 -1, Lo cual concuerda con lo mencionado.

**Cuadro 6.** Resultados de las absorbancias para la curva estándar de polifenoles.

Concentraciones (mg EAG/mL)	Absorbancias (710 nm)			Promedio
	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	
0,80	0,890	0,996	0,819	0,875
0,60	0,709	0,766	0,532	0,669
0,40	0,525	0,506	0,442	0,491
0,20	0,241	0,213	0,224	0,226
0,10	0,112	0,103	0,080	0,098
0,05	0,079	0,094	0,085	0,086

**Figura 9.** Comportamiento de la curva estándar de ácido gálico para la cuantificación de polifenoles totales.

#### 4.1.2. Contenido de polifenoles totales del chocolate Bitter con inclusión de piel de camu camu, piel de uva morada y cascarilla de cacao

Los compuestos fenólicos o polifenoles constituyen un amplio grupo de sustancias químicas, considerados metabolitos secundarios de las plantas

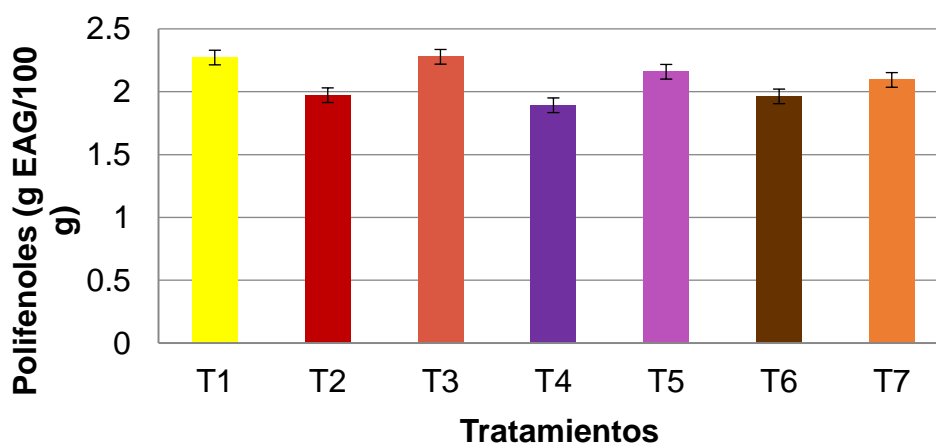
con diferentes estructuras químicas y actividad, en el Cuadro 7 y Figura 10 se presentan los resultados del contenido de polifenoles totales en los chocolates Bitter con inclusión de piel de camu camu, piel de uva morada y cascarilla de cacao, según el análisis estadístico (A-II) se encontró diferencia significativa, comparando los promedios mediante la prueba de Tukey ( $p \leq 0,05$ ) El mayor contenido de polifenoles totales se encontró en los tratamientos T3 (con piel de camu camu 1 %)  $2,278 \pm 0,110$  g EAG/100 g y T1 (sin piel ni cascarilla)  $2,272 \pm 0,090$  g EAG/100 g respectivamente; cabe resaltar que el T3 tuvo la mayor concentración de piel de camu camu utilizada, esto puede deberse a lo indicado por CHANG (2013), la piel de camu camu contiene antocianinas como también presenta otros flavonoides: flavonoles (rutina, quercetina, kaemferol y morina) y catequinas (CHANG, 2013).

El tratamiento T1 fue el chocolate sin inclusión de piel ni cascarilla, toda la formulación estuvo basado solo en licor de cacao razón por la cual el contenido de polifenoles fue alto. Según GUTIERREZ (2002) el chocolate está entre los alimentos concentrados en polifenoles, particularmente en flavonoides como procianidinas, catequinas y epicatequinas; QUIROZ-REYES *et al.* (2013) indican que el cacao contiene 3 grupos de polifenoles: catequinas o flavan-3-ols (37 %), antocianinas (4 %) y proantocianidinas (5,8 %) y la principal catequina es (-)-epicatequina el cual constituye aproximadamente 35 % del total de polifenoles contenidos en el cacao.

**Cuadro 7.** Contenido de polifenoles totales del chocolate Bitter con inclusión de piel de camu camu, piel de uva morada y cascarilla de cacao.

Muestras	Tratamientos	Polifenoles totales (g EAG/100 g)
Sin piel ni cascarilla (Testigo)	T1	2,272±0,090 <sup>a</sup>
Con piel de camu camu (0,5 %)	T2	1,972±0,053 <sup>ab</sup>
Con piel de camu camu (1 %)	T3	2,278±0,110 <sup>a</sup>
Con piel de uva morada (0,5 %)	T4	1,892±0,022 <sup>b</sup>
Con piel de uva morada (1 %)	T5	2,159±0,072 <sup>ab</sup>
Con cascarilla de cacao (0,5 %)	T6	1,963±0,101 <sup>b</sup>
Con cascarilla de cacao (1 %)	T7	2,094±0,067 <sup>ab</sup>

Los datos representan (promedio±error) del experimento (n=3) valores de una misma columna con superíndices diferentes son significativos ( $p \leq 0,05$ ).



**Figura 10.** Contenido de polifenoles totales del chocolate Bitter con inclusión de piel de camu camu, piel de uva morada y cascarilla de cacao.

Los tratamientos que tuvieron un contenido de polifenoles similares fueron T2 (con piel de camu camu 0,5 %), T5 (con piel de uva morada 1 %) y T7 (con cascarilla de cacao 1 %)  $1,972\pm 0,053$ ;  $2,159\pm 0,072$  y  $2,094\pm 0,067$  g EAG/100 g respectivamente; dentro de este grupo encontramos los chocolates elaborados con piel de camu camu 0,5 %, cabe mencionar que el mayor contenido de polifenoles se encontró en los chocolates con piel de camu camu 1 %, esto puede deberse a los reportes de VILLANUEVA *et al.* (2010), quienes obtuvieron el mayor contenido de polifenoles totales en la cáscara seca del fruto pintón de camu camu 7,70 mg GAE/g muestra, con respecto a cáscara fresca. entre los principales antioxidantes naturales del camu camu se tiene los compuestos fenólicos, ácido ascórbico, tocoferol y los carotenoides (SOTERO *et al.*, 2009). Con respecto al T5 y T7 corresponden a los chocolates con inclusión de piel de uva morada 1 % y cascarilla de cacao 1 %, obteniendo resultados similares, esto concuerda con los reportes de ORDOÑEZ *et al.* (2014), quienes obtuvieron para la cascarilla de cacao  $3,97\pm 0,25$ g EAG/100g resultando similar a la piel de uva con  $3,55\pm 0,15$ g EAG/100g, cabe resaltar que la cascarilla de cacao es una buena fuente de polifenoles tal como indican BRUNA *et al.* (2009), la cantidad de cascarilla de cacao producido por la industria es muy alto obteniéndose del proceso de tostado del grano, por ende puede ser usado como fuente secundaria de teobromina y cafeína, además la cascarilla contiene fibra soluble y compuestos fenólicos. Por otro lado, la piel de uva es otra fuente muy importante de polifenoles especialmente la piel de uva negra (BGS) con un contenidos de polifenoles totales de 2,07g GAE/100g en peso seco (SAMAH, 2012). Los compuestos fenólicos presentes en la piel de uva se clasifican como

no flavonoides (ácidos benzoicos, ácidos cinámicos y estilbenos) y flavonoides (flavonoles, antocianos y flavanoles) (BUSSE, 2013).

Del mismo Cuadro 7 y Figura 10 podemos indicar que el menor contenido de polifenoles totales se encontró en los tratamientos T4 (con piel de uva morada 0,5 %) y T6 (con cascarilla de cacao 0,5 %) con  $1,892 \pm 0,022$  y  $1,963 \pm 0,101$  g EAG/100g respectivamente. Como podemos apreciar para ambos tratamientos fue la misma cantidad adicionada; la cascarilla de cacao, sub producto del procesamiento del grano de cacao es una buena fuente de polifenoles totales tal como indican (SANGRONIS *et al.*, 2014), los polifenoles en la cascarilla de cacao son de  $2,40 \pm 0,05$  (g AGE/100g muestra), además contiene compuestos bioactivos como los polifenoles caracterizándose por su actividad antioxidante y ARLORIO *et al.* (2005) reportaron el contenido de polifenoles totales en cáscara de  $18,2 \pm 8,4$  g/1000g. Por otro lado cabe indicar que la piel de uva es otra fuente importante de polifenoles totales, ROSS *et al.* (2011) indican que las semillas y las pieles (cáscara) de uvas han sido reconocidos por su alto contenido de compuestos fenólicos como el ácido gálico, compuestos monómeros fenólicos (catequina y epicatequina), dímeros, trímeros proantocianidinas tetramérica. LUTZ *et al.* (2011) indican que los compuestos fenólicos principales en las uvas son ácidos hidroxibenzoico (gálico), ácidos hidroxicinámicos (caféico), y derivados del estilbeno (el resveratrol), mientras que los flavonoides incluyen antocianinas, flavan-3-oles (catequina, procianidinas) y flavonoles (quercetina).

## **4.2. Determinación de la capacidad antioxidante del chocolate Bitter con inclusión de piel de camu camu, piel de uva morada y cascarilla de cacao**

### **4.2.1. Determinación del coeficiente de inhibición (IC<sub>50</sub>) radical 1,1-diphenyl-2-picrilhydrazil (DPPH)**

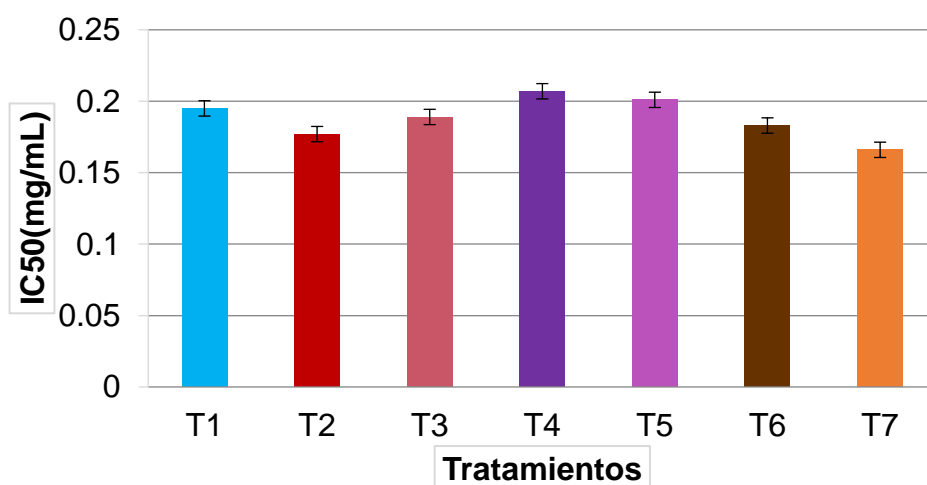
Los antioxidantes contribuyen al mantenimiento de la salud humana protegiendo al organismo del daño producido por agentes oxidantes, como los rayos ultravioletas, la polución ambiental y sustancias químicas presentes en los alimentos; la capacidad antioxidante en los tratamientos se evaluó utilizando el radical DPPH, los resultados se expresan en IC<sub>50</sub> siendo la cantidad de antioxidante necesario para decrecer la concentración inicial del DPPH hasta el 50 %. En el Cuadro 8 y Figura 11 se presentan los resultados del IC<sub>50</sub> del radical DPPH en chocolate Bitter con inclusión de piel de camu camu, piel de uva morada y cascarilla de cacao, según el análisis estadístico se determinó diferencia altamente significativa (A-III) entre los tratamientos, ordenando los promedios según la prueba de tukey, la mayor eficiencia para inhibir el radical lo presentó el T7 (con cascarilla de cacao 1 %) IC<sub>50</sub> 0,166±0,001 mg/mL, ORDOÑEZ *et al.* (2014) reportaron para la cascarilla de cacao buena eficiencia frente al radical DPPH que la semilla y piel de uva > semilla y piel de uva. Así mismo, QUIROZ-REYES *et al.* (2013) reportaron en cáscara de cacao macerada frente al radical DPPH IC<sub>50</sub> 53,3±0,002 µg/ml y cáscara sonicada IC<sub>50</sub> 48,6±0,001µg/ml; además el mismo autor reporta que la cáscara de cacao contiene significativa cantidad de compuestos fenólicos; ARLORIO *et al.* (2005) cita que la cáscara cacao contiene epicatequina y ácido p-hidrobenzoico.

Analizando el mismo Cuadro 8 y Figura 11 el segundo lugar lo ocupó el T2 y T3 (con piel de camu camu 0,5% y 1%)  $IC_{50}$   $0,177\pm 0,002$  y  $0,189\pm 0,001$  mg/mL respectivamente, esto puede ser debido a la alta capacidad antioxidante que presenta el camu camu, no sólo por su alto contenido de vitamina C, sino también por sus concentraciones considerables de compuestos fenólicos (DA SILVA *et al.*, 2012). MUÑOZ *et al.* (2009) reportaron un mayor secuestro de radicales DPPH con  $IC_{50}$   $3,22\pm 0,04$  mg/mL en cáscara de camu camu que cáscara de guinda, tomate de árbol y carambola. El mayor coeficiente de inhibición de la cáscara de camu camu seca se presentó en extracto acuoso del fruto pintón, con  $IC_{50}$  de  $46,20$   $\mu$ g/mL, maduro  $114,20$   $\mu$ g/mL y verde  $117,80$   $\mu$ g/mL, (VILLANUEVA, 2010).

**Cuadro.8.** Resultados del  $IC_{50}$  del radical DPPH en chocolate Bitter con inclusión de piel de camu camu, piel de uva morada y cascarilla de cacao.

Muestras	Tratamiento	$IC_{50}$ (mg/mL)
Sin piel ni cascarilla	T1	$0,195\pm 0,002$ <sup>ab</sup>
Con piel de camu camu (0,5 %)	T2	$0,177\pm 0,002$ <sup>cd</sup>
Con piel de camu camu (1 %)	T3	$0,189\pm 0,001$ <sup>cd</sup>
Con piel de uva morada (0,5 %)	T4	$0,207\pm 0,002$ <sup>a</sup>
Con piel de uva morada (1 %)	T5	$0,201\pm 0,003$ <sup>a</sup>
Con cascarilla de cacao (0,5 %)	T6	$0,183\pm 0,004$ <sup>bc</sup>
Con cascarilla de cacao (1 %)	T7	$0,166\pm 0,001$ <sup>d</sup>

Los datos representan (promedio±error estándar) del experimento (n=3) valores de una misma columna con superíndices diferentes son significativos ( $p\leq 0,05$ ).



**Figura 11.** Comportamiento del IC<sub>50</sub> con el radical DPPH en chocolate Bitter con inclusión de piel de camu camu, piel de uva morada y cascarilla de cacao.

El tercer lugar lo ocupó el T6 (con cascarilla de cacao 0,5 %), con  $0,183\pm 0,004$  mg/mL y fue estadísticamente igual al T1 (sin piel ni cascarilla) IC<sub>50</sub> de  $0,195\pm 0,002$  mg/mL, de los resultados podemos inferir que la inclusión de cascarilla de cacao 0,5 % fue similar al testigo, estudios encontraron que el chocolate presenta un IC<sub>50</sub> de 59 mg/L (KROYERS y MOLNARD, 2011).

La menor eficiencia lo presentó el T4 (con piel de uva morada 0,5 %) IC<sub>50</sub>  $0,207\pm 0,002$  mg/mL y T5 (con piel de uva morada 1 %) IC<sub>50</sub>  $0,201\pm 0,003$  mg/mL, la menor eficiencia frente al radical DPPH de las pieles de uva morada puede deberse a lo indicado por LARREA (2012) el 63 % de los fenoles totales de las vides de variedades tintas se encuentra en las semillas, el 34 % en las pieles y el 3 % en el jugo, generalmente las semillas poseen mayor actividad

antioxidante que las cáscaras. Las proantocianidinas son extraídas de las semillas de uva (*Vitis vinífera* L.), sus antioxidantes naturales accionan como secuestradores de radicales libres así como el resveratrol (RESV), fitoalexina natural con propiedades antioxidantes, (VÉLEZ *et al.*, 2012).

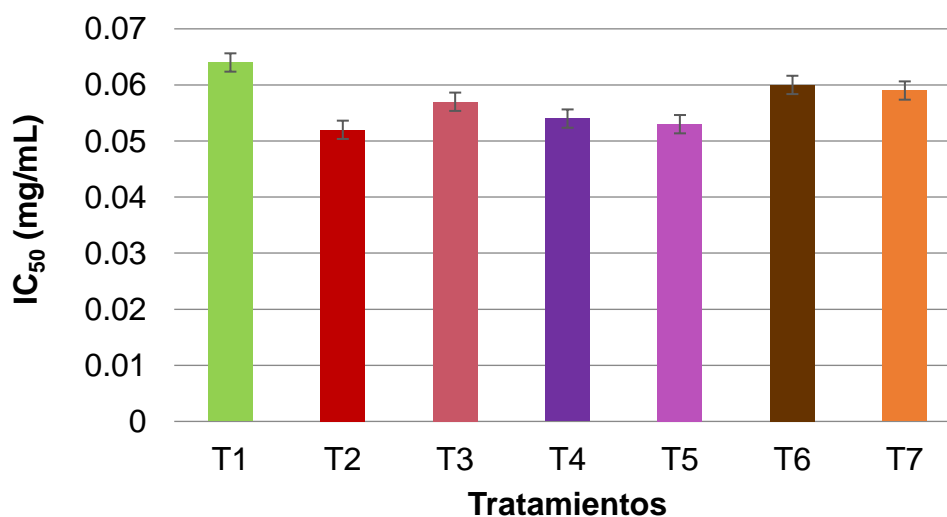
#### **4.2.2. Determinación del coeficiente de inhibición (IC<sub>50</sub>) del radical 2,2-azinobis (3-etilbenzotiazolino -6- ácido sulfónico) (ABTS <sup>o+</sup>)**

En el Cuadro 9 y Figura 12 se presentan los resultados del IC<sub>50</sub> del radical ABTS en chocolates Bitter con piel de camu camu, piel de uva morada y cascarilla de cacao, según el análisis estadístico se encontró diferencia altamente significativa (A-IV) entre los tratamientos; ordenando los promedios según la prueba de tukey, la mayor eficiencia para inhibir el radical lo presentó el T2 (con piel de camu camu 0,5 %) con IC<sub>50</sub> 0,052±0,001 mg/mL. Esto puede deberse que la cáscara de camu camu presenta una mayor eficiencia como antioxidante que se relaciona con el mayor contenido de polifenoles (MUÑOZ *et al.*, 2009). Investigaciones indican que la cáscara de camu camu presenta un mayor secuestro de los radicales ABTS que la cáscara de guinda, tomate de árbol y carambola. VILLANUEVA *et al.* (2010) de acuerdo con éste parámetro, bajos valores de IC<sub>50</sub> reflejan una alta actividad para inhibir radicales libres obteniéndose que el extracto acuoso de la cáscara seca de camu camu pintón presenta mayor porcentaje de inhibición. En la cáscara de los frutos pintones y maduros observan hasta dos tipos de antocianinas, la más abundante es cianidina-3-glucósido y la segunda antocianina otorgándole mayor capacidad (CASTRO *et al.*, 2013).

**Cuadro 9.** Resultados del IC<sub>50</sub> del radical ABTS del chocolate Bitter con inclusión de piel de camu camu, piel de uva morada y cascarilla de cacao.

Muestras	Tratamiento	IC <sub>50</sub> (mg/mL)
Sin piel ni cascarilla	T1	0,064±0,001 <sup>a</sup>
Con piel de camu camu (0,5 %)	T2	0,052±0,001 <sup>c</sup>
Con piel de camu camu (1 %)	T3	0,057±0,002 <sup>bc</sup>
Con piel de uva morada (0,5 %)	T4	0,054±0,001 <sup>bc</sup>
Con piel de uva morada (1 %)	T5	0,053±0,002 <sup>bc</sup>
Con cascarilla de cacao (0,5 %)	T6	0,060±0,001 <sup>ab</sup>
Con cascarilla de cacao (1 %)	T7	0,059±0,001 <sup>ab</sup>

Los datos representan (promedio±error estándar) del experimento (n=3) valores de una misma columna con superíndices diferentes son significativos (p≤0,05).



**Figura 12.** Comportamiento del IC<sub>50</sub> con el radical ABTS del chocolate Bitter con inclusión de piel de camu camu, piel de uva morada y cascarilla de cacao.

Analizando el mismo Cuadro 9 y Figura 12, El segundo lugar lo ocuparon el T3 (con piel de camu camu 1 %) y T4, T5 (con piel de uva morada 0,5 % y 1 %), con un  $IC_{50}$  de  $0,057\pm 0,002$ ;  $0,054\pm 0,001$  y  $0,053\pm 0,002$  mg/mL respectivamente. Estudios realizados por MUÑOZ *et al.* (2009) al evaluar la capacidad antioxidante en cáscaras de camu camu, guinda, tomate de árbol y carambola, concluyen que la capacidad antioxidante obtenida por el método ABTS está correlacionada con el contenido de compuestos fenólicos totales, siendo muy elevada para el camu camu, recomendando así el consumo de estos frutos para mejorar la calidad de vida. Por otra parte ORDÓÑEZ *et al.* (2014) reportaron para la piel de uva una mayor eficiencia con respecto a piel de tuna morada y tuna amarilla. El comportamiento de la piel de uva morada puede ser explicado por LUTZ *et al.* (2011) quienes reportan que las cantidades más altas de fenoles totales y capacidad antioxidante se observaron en las fracciones de la piel, especialmente de las uvas rojas. También se reportó que en extractos de cáscaras de uva, la clase principal de fotoquímicos presentes son las antocianinas ácido elágico, resveratrol y compuesto glucósidos como myricetina, quercetina y kaempferol, estos muestran actividad antioxidante que previene enfermedades cardiovasculares. (TORRICO, 2006). Por otra parte se encontraron un total del flavonoides (equivalente a catequina) para la cáscara de uvas rojas, la variedad Amaro de negro, las semillas y cáscara de la uva contienen flavonóides (catequina, epicatequina, procianidinas y antocianinas), ácido fenólicos y resveratrol que mostraron para tener las actividades funcionales (SOARES *et al.*, 2008). CHENG *et al.* (2010), reportan que las semillas de uva y las pieles (cáscaras), que son las partes no comestibles de la

fruta, contienen actividad antioxidante significativa como consecuencia de los flavonoides que se encuentran comúnmente en ellos.

El tercer lugar de eficiencia frente al radical ABTS lo presentaron los T6 y T7 (con cascarilla de cacao 0,5 % y 1 %)  $IC_{50}$   $0,060\pm 0,001$  mg/mL y  $0,059\pm 0,001$  mg/mL. Con respecto a la cascarilla de cacao esto puede deberse a estudios que indican que es un componente más fino que la cáscara y está más cercano al cotiledón, puede ser la razón de tener una alta eficiencia frente al radical ABTS, (ORDOÑEZ, 2014). La cascarilla de cacao podría acarrear efectos beneficiosos para la salud siendo fuente importante de antioxidantes naturales (SOTO, 2012).

La menor eficiencia lo presentó el T1 (sin piel ni cascarilla) con  $IC_{50}$   $0,064\pm 0,001$  mg/mL. Según PEREA *et al.* (2009), esto puede deberse a que el tostado, la molienda y la maduración disminuyen la actividad antioxidante en un 24 % y reporta pérdidas durante los procesos de pre tostado y tostado, atribuyendo esta tendencia al efecto de la temperatura y a la posible formación de otros compuestos en la reacción de Maillard. El proceso de fermentación no siempre es homogéneo a pesar de realizar el mismo proceso para todas las muestras; el contenido de polifenoles en las muestras fermentadas dependen de las reacciones bioquímicas que se producen durante el proceso de fermentación confirmando estudios realizados por otros autores donde se indica que este proceso se realiza en todo el mundo pero está lejos de ser un proceso estandarizado (YANZAPANTA, 2014).

#### **4.3. Evaluación sensorial del chocolate Bitter con inclusión de piel de camu camu, piel de uva morada y cascarilla de cacao**

La evaluación sensorial es entonces una técnica válida que permite adquirir información valiosa y de gran importancia comercial (satisfacción de las necesidades del cliente) y de producción (mejora en los procesos), temas que tienen relación directa con la producción y comercialización del chocolate. En el Cuadro 10 se presenta el promedio de las calificaciones realizadas por los panelistas y en la Figura 13 se presenta el QDA, con respecto al **color** del chocolate bitter con pieles de camu camu, uva y cascarilla de cacao. La muestra que obtuvo el mayor puntaje fue el T5 (con piel uva morada 1%) con un calificativo 3,5 “color intenso” esta característica desarrollada en el chocolate puede deberse al contenido de antocianinas que posee la piel de uva, tal como lo indica ETAIO *et al.* (2007) los antocianos pertenecientes también a la familia de los polifenoles, son sustancias colorantes presentes en los hollejos, siendo los principales responsables del color. Las antocianinas son compuestos del grupo de los flavonoides, son las responsables de conferir los colores rojo, azul y violeta en hojas, flores y frutos especialmente en arándano, uva (DEL VALLE *et al.*, 2005).

En el mismo cuadro podemos apreciar que todos los tratamientos restantes incluidos el T1 (sin piel ni cascarilla) tuvieron un calificativo con un rango 2,7 – 3,3 “color moderado”, esto puede deberse a lo indicado por RINCÓN *et al.* (2013) el color y la textura del producto final dependen de la forma polimórfica en la que haya cristalizado la manteca de cacao, la forma V es la

forma preferida porque confiere al producto un color marrón uniforme, brillo y una textura adecuada.

Con respecto al atributo **brillo** los tratamientos que tuvieron mayor puntaje fueron T1 (sin piel ni cascarilla), T3 (con piel camu camu 1 %), T4 (con piel uva morada 0,5 %) y T5 (con piel uva morada 1%) con un rango de calificativo entre 2,7 – 2,8 “brillo moderado”, este comportamiento indica que el chocolate sin piel fue similar a los chocolates con piel muy delgada, CHICA y OSORIO (2003) indican que el atemperado tiene como finalidad dar al chocolate, la estabilidad física y en particular la resistencia al calor y a la rotura; contribuye a impedir la formación de “escarcha de grasa” o “bloom”, y le da la capacidad de adquirir un brillo sedoso luego de moldeado. Para asegurar buen brillo, textura y excelente crack, es necesario templar el chocolate, esto implica cristalizar la manteca de cacao al enfriar el chocolate caliente, para lo cual se sigue una graduación de temperatura claramente definida (BELCODE, 2011).

Los tratamientos con menor calificativo fueron T2 (con piel camu camu 0,5 %), T6 (con cascarilla cacao 0,5 %) y T7 (con cascarilla cacao 1 %) con un rango de 2,2 – 2,3 “brillo débil”. La cascarilla tiene características de un material fibroso, seco, crujiente de color marron cuando es removida, la cascarilla puede contener 2 a 3 % del grano que no puede separarse (SOTO, 2012).

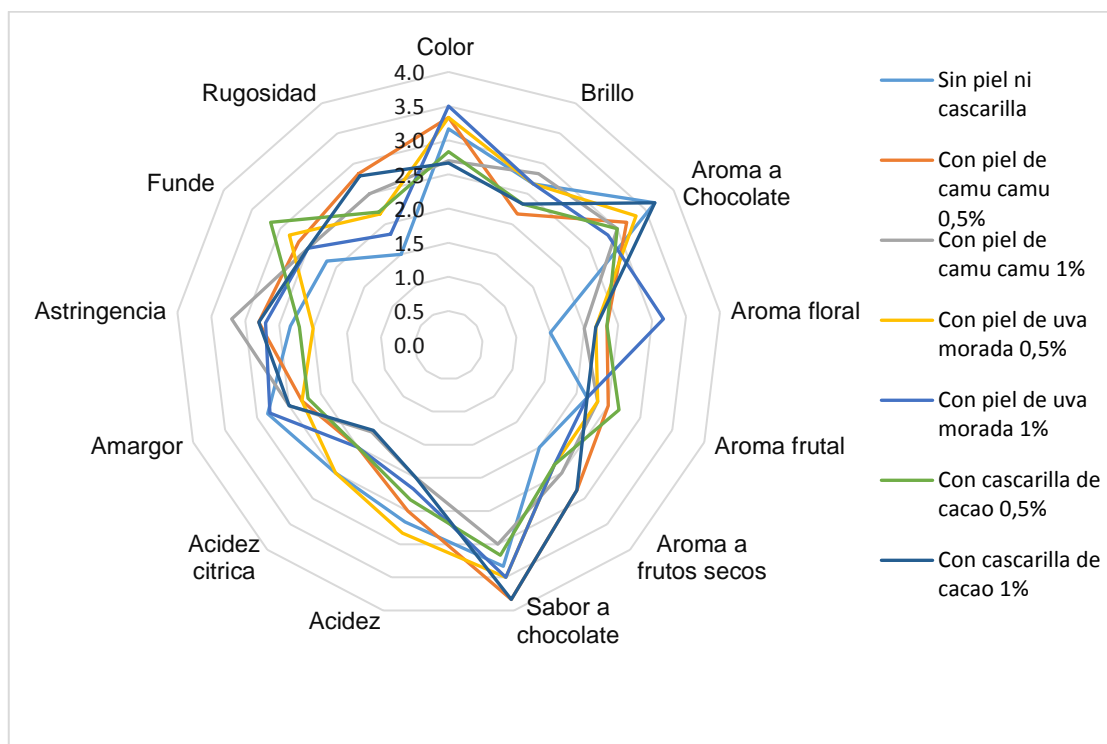
Del atributo **aroma a chocolate** los tratamientos con mayor puntaje fueron T1 (sin piel ni cascarilla) y T7 (con cascarilla cacao 1 %) con un calificativo 3,7 “intenso aroma a chocolate”, puede ser debido a lo citado por BAENA y GARCÍA (2012) la cascarilla es obtenida al descascarillar el grano de cacao tostado, es de color café oscuro y tiene olor característico a cacao. La cascarilla

de la semilla de cacao representa un 12 % en peso de la semilla y con olor similar al chocolate (SOTO, 2012). Los clásicos aromas a chocolate y a nueces en el cacao son producidos principalmente por los aldehídos y pirazinas, respectivamente (PORTILLO *et al.*, 2014). Los demás tratamientos que contenían piel de uva morada y camu camu lograron un menor calificativo entre 2,8 – 3,3 “moderado aroma a chocolate” como sabemos la piel de uva tiene aromas diferentes al chocolate como lo indica CONDE (2010) los precursores de aroma están presentes en las uvas como glicosídicos, ácidos fenólicos, ácidos grasos y en menor medida compuestos volátiles unidos a la cisteína. Entre los aromas típicos de la uva son los terpenos, las pirazinas responsable del aroma a pimiento verde (CATANIA y AVANIGNA, 2007). En la cáscara del camu camu se encontraron ácido clorogénico, catequinas, epicatequina y rutina, destacando las catequinas (SOTERO *et al.*, 2009). Además el fruto del camu camu puede enmascarar su sabor si se mezcla con otras frutas (FLORES, 2010).

**Cuadro 10.** Promedio del perfil sensorial de las muestras del chocolate Bitter con inclusión de piel de camu camu, piel de uva morada y cascarilla de cacao.

<b>Chocolate bitter</b>	<b>Tratamientos</b>	<b>Color</b>	<b>Brillo</b>	<b>Aroma a chocolate</b>	<b>Aroma floral</b>	<b>Aroma frutal</b>	<b>Aroma a frutos secos</b>	<b>Sabor a chocolate</b>	<b>Acidez</b>	<b>Acidez cítrica</b>	<b>Amargor</b>	<b>Astringencia</b>	<b>Funde</b>	<b>Rugosidad</b>
Sin piel ni cascarilla	T1	3,2	2,7	3,7	1,5	2,2	2,0	3,3	2,7	2,5	2,8	2,3	2,2	1,5
Con piel camu camu 0,5 %	T2	3,3	2,2	3,2	2,3	2,5	2,8	3,8	2,5	2,0	2,3	2,8	2,7	2,8
Con piel camu camu 1 %	T3	2,7	2,8	3,0	2,0	2,3	2,5	3,0	2,0	1,7	2,5	3,2	2,5	2,5
Con piel uva morada 0,5 %	T4	3,3	2,7	3,3	2,2	2,3	2,3	3,5	2,8	2,5	2,3	2,0	2,8	2,2
Con piel uva morada 1 %	T5	3,5	2,7	2,8	3,2	2,2	2,3	3,5	2,2	2,0	2,8	2,7	2,5	1,8
Con cascarilla cacao 0,5 %	T6	2,8	2,3	3,0	2,3	2,7	2,3	3,2	2,3	2,0	2,2	2,2	3,2	2,2
Con cascarilla cacao 1 %	T7	2,7	2,3	3,7	2,2	2,2	2,8	3,8	2,0	1,7	2,5	2,8	2,5	2,8

Fuente: Elaboración propia.



**Figura 13.** Perfil sensorial de las muestras del chocolate Bitter con inclusión de piel de camu camu, piel de uva morada y cascarilla de cacao.

El mismo Cuadro 10 y Figura 13 con respecto al atributo **aroma floral** en los chocolates el que tuvo mayor puntaje fue T5 (con piel uva morada 1%) con un calificativo 3,2 “moderado aroma floral”, como sabemos las uvas desarrollan bien este aroma, tal como lo indica ETAIO *et al.* (2007) los olores florales que se pueden encontrar en uvas son rosa, jazmín, lilas, violeta, entre los compuestos químicos responsables destacan aldehídos (aldehído fenilético, aldehído fenilpropiónico), alcoholes (2-fenil-etanol), terpenos (geraniol, citronellol, nerol, linalol) y cetonas ( $\beta$ -ionona,  $\beta$ -damascenona, undecanona). Con respecto a este mismo atributo los demás tratamientos incluso el T1 (sin piel ni cascarilla) tuvieron un menor calificativo entre 1,5 – 2,3 “débil aroma floral”; con respecto a este atributo se puede indicar que en el cacao uno de los compuestos

químicos con olores florales que se encuentran es el linalol, un terpeno presente de forma natural en muchas flores y frutos (GONZALES *et al.*, 2012). Cabe resaltar que el aroma floral en el cacao no se desarrolla en todas las razas y variedades tal como indica VENTURA *et al.* (2014), el perfil sensorial en licor de cacao tipo trinitario se caracterizó por la alta intensidad aromática global, presenta sabor frutal y agradable acidez persistente en la boca; en cambio, los cacao tipo forastero presentan un sabor astringente; amargo y baja intensidad aromática en la boca. Por otro lado, con respecto a los tratamientos con inclusión de piel de camu camu esto puede ser debido a estudios realizados donde encontraron más componentes volátiles en hojas y frutos del camu camu y mayoritariamente son alfa pineno y limoneno (CHANG, 2013).

Del atributo **aroma frutal** los tratamientos con mayor puntaje fueron T2 (con piel camu camu 0,5 %) y T6 (con cascarilla cacao 0,5 %) con calificativo entre 2,5 – 2,7 “moderado aroma frutal”, de los resultados podemos indicar que la cascarilla de cacao aportó al chocolate el aroma a frutal. La fracción aromática está en función de la variedad de cacao, el tratamiento pos cosecha (días de fermentación), el tostado ya que en esta etapa se desarrollan las pirazinas (SUAZO, 2012). El proceso de secado en las pieles es una etapa preliminar previa recomendable para facilitar la extracción de sus componentes (SALGADO *et al.*, 2012).

El T1 (sin piel ni cascarilla) y los demás tratamientos chocolates con piel de uva tuvieron un menor calificativo 2,2 – 2,3 “débil aroma frutal”, para el caso del chocolate sin piel el aroma a frutal podría estar relacionado con el origen del grano y el proceso de elaboración. Según VENTURA *et al.* (2014) la calidad

aromática de un chocolate está relacionada con el origen de las almendras, la fermentación, el secado y el tostado. En el conchado se produce una aireación del producto con lo cual se refina su aroma, se evaporan la humedad y los ácidos volátiles, y se homogeniza su textura (ÁLVAREZ *et al.*, 2012). Los chocolates que tuvieron piel de uva morada también tuvieron el calificativo de débil aroma frutal, según ETAIO *et al.* (2007) los principales compuestos responsables del olor frutal en uva son una amplia diversidad de ésteres. También la uva sobremadura pierde aromas frutales frescos, debido a la degradación de los antocianos (JARA, 2014).

Del Cuadro 10 y Figura 13 con respecto al atributo **aroma a frutos secos** tuvieron el mayor puntaje T2 (con piel camu camu 0,5 %), T3 (con piel camu camu 1 %) y T7 (con cascarilla cacao 1 %) con calificativo entre 2,5 – 2,8 “moderado aroma a frutos secos”; con respecto al chocolate con cascarilla de cacao que desarrollo el aroma fruto secos puede deberse a lo citado por YEOUP *et al.* (2003) la cáscara de cacao contiene polisacáridos (celulosa y hemicelulosa) y lignina y pequeñas cantidades de compuestos fenólicos, taninos, purinas, alcaloides y grasa. El sabor a nuez es característico del cacao tipo criollos y trinitarios (PORTILLO *et al.*, 2014).

Los demás tratamientos incluyendo el T1 (sin piel ni cascarilla) tuvieron un menor puntaje con un calificativo entre 2,0 – 2,3 “débil aroma a frutos secos”, este aroma en el cacao se debe posiblemente a lo indicado por SALVADOR (2008) el sabor a nuez y malta se deben principalmente al complejo polipéptidos-fenoles y pirazinas. El cacao criollo presenta un delicado aroma de chocolate acompañado por un sabor de nuez suave (MORILLO, 2005). La uva

posee un potencial aromático complejo en el que participan precursores de aroma que se manifiestan a lo largo de la maduración, la liberación de aromas o la transformación de los precursores ocurren a través de reacciones complejas, varias sustancias pueden jugar el papel importante entre ellas monoterpenoles, ácidos grasos, carotenoides (GRAF, 2012).

Respecto al atributo **sabor a chocolate** los tratamientos con mayor puntaje fueron T2 (con piel camu camu 0,5 %), T4 (con piel uva morada 0,5 %), T5 (con piel uva morada 1 %) y T7 (con cascarilla cacao 1 %) con un calificativo entre 3,5 – 3,8 “intenso sabor a chocolate”, como podemos apreciar los tratamientos que tuvieron la inclusión de piel de uva morada, camu camu y cascarilla de cacao tuvieron mejor sabor a chocolate que el testigo, esto posiblemente se debe a lo indicado por KOMES *et al.* (2013), la aplicación de varias frutas secas proporcionaría adicionalmente el sabor del chocolate, enmascarando el sabor adverso y amargo de chocolates y CAÑAS *et al.* (2011) el color y el sabor de la cascarilla que contiene la fibra dietaria de cacao son aspectos ventajosos cuando se adiciona a otros alimentos. Los tratamientos T1 (sin piel ni cascarilla), T3 (con piel camu camu 1 %) y T6 (con cascarilla cacao 0,5 %) tuvieron un menor calificativo entre 3,0 – 3,3 “moderado sabor a chocolate”, al respecto DÍAZ y PINARGOTE (2012) el aroma característico a chocolate se ven formados a partir de aminoácidos libres, L-serina y L-treonina, potenciando con temperaturas mayores a los 120°C. RAMOS *et al.*, (2002) menciona que el sabor a cacao es típico de los cacaos tipo Forasteros y Trinitarios. La variedad CCN-51 tiene un buen nivel de sabor a cacao

(SANCHEZ, 2007). GONZÁLEZ *et al.* (2012) granos inmaduros y sin fermentar desarrollan poco sabor y aroma a chocolate luego del tostado.

Con respecto al atributo **acidez** los tratamientos T1 (sin piel ni cascarilla), T2 (con piel camu camu 0,5 %), T3 (con piel camu camu 1 %) y T4 (con piel uva morada 0,5 %) tuvieron mayor calificativo 2,0– 3,2 “acidez moderada”, de los resultados podemos inferir que el chocolate sin piel tiene la acidez moderada debido al contenido de ácidos orgánicos son compuestos que aportan a la acidez del perfil sensorial del cacao, varía entre el 1,2 % y 1,6 %, entre ellos el acético, cítrico y oxálico que se forman durante la fermentación (DIAZ y PINOARGOTE, 2012). MAR *et al.* (2005) la reducción de la acidez y la astringencia son debido a la oxidación de los polifenoles a taninos insolubles. Dentro de este grupo encontramos también chocolates con piel de uva morada al respecto ISMAIL (2012) reporta que la piel de la uva roja existe pirogalol, ácido cinámico, ácido vanílico y en uva negra ácido cinámico, ácido salicílico, ácido benzoico y ácido vanílico. Los tratamientos con menor puntaje fueron T5 (con piel uva 1 %), T6 (con cascarilla cacao 0,5 %) y T7 (con cascarilla cacao 1 %) con un calificativo entre 2,0 – 2,3 “acidez débil” con respecto a la cascarilla ARLORIO *et al.* (2005) citan que son fuente secundaria de teobromina, cafeína, y lípidos.

Del atributo **acidez cítrica** los tratamientos T1 (sin piel ni cascarilla), T3 (con piel camu camu 1 %), T5 (con piel uva morada 1 %) y T4 (con piel uva morada 0,5 %) tuvieron un mayor calificativo entre 2,5 – 2,8 “moderada acidez cítrica”. La acidez moderada en el chocolate sin piel puede deberse a que durante el tostado no sólo se generan nuevos compuestos volátiles sino que

disminuye o desaparecen el ácido acético, cítrico o succínico (TORRES, 2012). La inclusión de piel de camu camu en el chocolate también moderó la acidez al respecto PINEDO *et al.* (2001) el camu camu está considerado como un cultivo con gran potencial, especialmente por el alto contenido de ácido ascórbico. Así mismo, los ácidos de la uva disminuyen en la maduración, los más importantes son el tartárico y málico, este último es el responsable de la disminución de la acidez (CATANIA y AVANIGNA, 2007).

Los tratamientos con cascarilla de cacao tuvieron un menor puntaje con un calificativo entre 1,7 – 2,0 “débil acidez cítrica”, según DIAZ y PINARGOTE (2012) los granos de cacao al tostarse suceden numerosos cambios físicos y químicos dando lugar a pérdidas de ácidos volátiles y otras sustancias que contribuyen a la acidez y amargor en el cacao.

Con respecto atributo **amargor** los que tuvieron mayor puntaje fueron T1 (sin piel ni cascarilla), T3 (con piel camu camu 1 %), T5 (con piel uva morada 1 %) y T7 (con cascarilla cacao 1 %) con un calificativo entre 2,5 – 2,8 “moderado amargor”, los demás tratamientos tuvieron un calificativo entre 2,2 – 2,3 “débil amargor”, el amargor en el chocolate sin piel posiblemente se debe a los flavonoides que son los principales compuestos responsables del amargor, siendo las catequinas (monómeros tánicos) más amargas que sus polímeros (moléculas de mayor tamaño), las procianidinas y algunos glicósidos, terpenos y alcaloides también pueden proporcionar amargor en el grano de cacao RAMIREZ (2011). el amargor y la astringencia, que están dados en las almendras de cacao, principalmente por la presencia de xantinas, alcaloides y polifenoles (MORILLO, 2005). ELWERS *et al.*, (2009) indican que la amargura

se puede atribuir en parte a purinas. El camu-camu es una fruta que presenta una concentración alta de fenólicos y pueden relacionarse con las características sensoriales de amargor (NOBOYUKI y SOUZA, 2003) por otra parte el amargor de la uva se debe a la composición de los taninos de las pieles (GÁLVEZ, 2007).

Respecto atributo **astringencia** los de mayor puntaje fueron, T2 (con piel camu camu 1 %), T4 (con piel uva morada 1 %) y T7 (con cascarilla cacao 1 %) con calificativo entre 2,7 – 3,2 “astringencia moderada”; esto puede deberse a las altas concentraciones de polifenoles que conducen a que un chocolate tenga un sabor muy astringente (GONZALES *et al.*, 2012). Por otra parte ETAIO *et al.* (2007) menciona que en la uva existen compuestos que proporcionan amargor provocando simultáneamente una sensación de astringencia.

Los demás tratamientos de la evaluación obtuvieron un calificativo menor entre 2,0 – 2,3 “astringencia débil” incluyendo al T1 (sin piel ni cascarilla). SANCHEZ (2007) refiere que el grado de astringencia del chocolate, está determinado por los compuestos polifenólicos y el amargor por las purinas (cafeína y teobromina). ELWERS *et al.* (2009) indican que la amargura y la astringencia son componentes importantes del sabor de cacao. Los chocolates amargos tienen un alto contenido de cacao que fluctúan entre 50-75 % lo que lo hacen menos apetecibles para el paladar (ZAMBRANO, 2010). Por otra parte la composición de los taninos de las pieles condiciona la evolución de la astringencia, la cual disminuye a medida que la uva madura, probablemente debido a que aumenta su combinación con los antocianos y una mayor presencia de polisacáridos (ZAMORA, 2014).

Del atributo **funde** el T1 (sin piel ni cascarilla) tuvo un calificativo menor 2,2 “funde débilmente”. En este chocolate al no tener ninguna adición, la textura mantiene la calidad del producto. Al respecto (MORENO, 2009) indica que la textura de un chocolate depende exclusivamente del contenido de grasa que exista; la presencia de ingredientes completamente ajenos a la matriz podrían causar un desorden en las partículas; la matriz de chocolate es muy compleja y la solidez radica en la fase lipídica y temperatura a la que este expuesta. GUERRERO *et al.* (2012) menciona que los compuestos altamente volátiles y los ácidos grasos con bajo punto de ebullición se reducen en un 30%, lo que permite que otras notas de sabor se vuelvan más pronunciadas y por lo tanto se obtiene un chocolate más suave después del conchado.

Mientras que los demás tratamientos tuvieron un mayor calificativo entre 2,5 – 3,2 “funde moderadamente”. Las características texturales del chocolate definen el producto y su durabilidad y en esencia, cualquier cambio de materia prima, condiciones de procesamiento, almacenamiento etc., lleva implícito necesariamente la evaluación de la textura (ALVIS *et al.*, 2011).

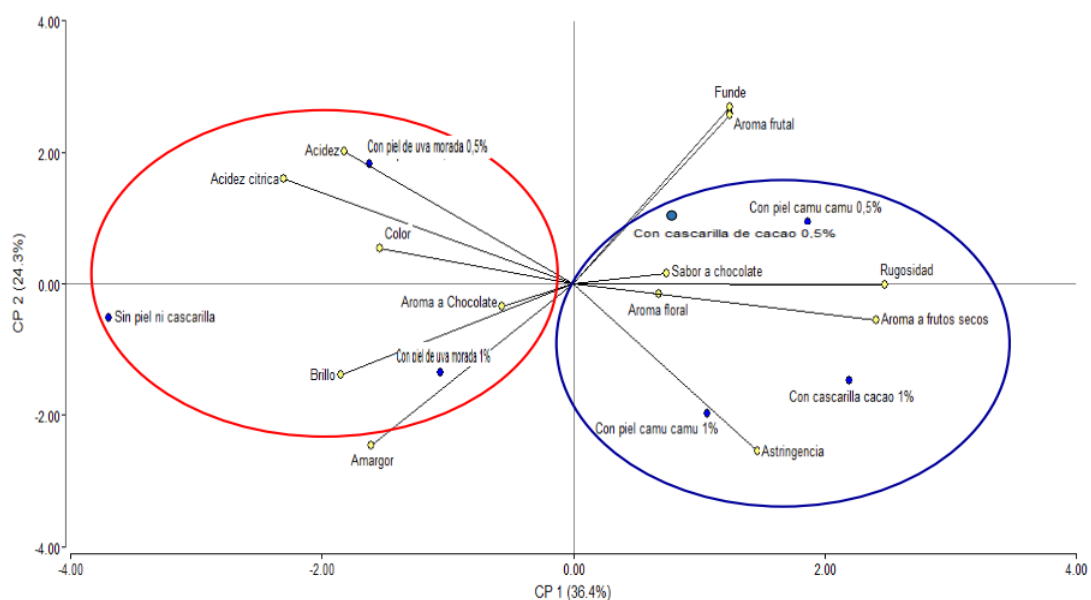
Con respecto al atributo **rugosidad** el mayor calificativo fueron para T2 y T3 (con piel camu camu 0,5 % y 1 %) y T7 (con cascarilla cacao 1 %) con un valor entre 2,5 – 2,8 “rugosidad moderado”, este valor indica que el chocolate tuvo una presentación áspera, rugosa y con poca brillantes; esto puede deberse a que el camu camu presenta una piel gruesa y alto contenido vitamina C (VILLANUEVA *et al.*, 2010). Así mismo, la cascarilla contiene un 67,11% de fibra insoluble y 8,66% de fibra soluble según la caracterización química esta contiene celulosa, hemicelulosa y lignina de 17,39 %, 6,38 % y 32,40 % respectivamente,

(BAENA y GARCIA, 2012). Los demás tratamientos incluyendo al T1 (sin piel ni cascarilla) y piel de uva morada tuvieron un puntaje menor con un calificativo entre 1,5 – 2,2 “rugosidad débil”, como sabemos la piel de uva contiene pectinas y gomas; el polisacárido más importante corresponde a la pectina, la cual está presente en las paredes celulares de pieles (VILLAROEL, 2013).

Los resultados de la evaluación sensorial referido al perfil de atributos realizados a las muestras de chocolate bitter de 60 % con piel de camu camu, uva morada y cascarilla de cacao, fueron analizados mediante componente principales (A-V) y (A-VI), según los resultados estadísticos podemos concluir que en el biplot de variables del primer componente (**CP1**) separa el atributo **acidez cítrica** de las demás variables, el cual representa el 36,4 % de la variabilidad total del perfil sensorial de los atributos del chocolate (Figura 14). Así mismo, el atributo **funde** del chocolate bitter representa el 24,3 % de la variabilidad del segundo componente (**CP2**) y en general ambos componentes representan el 60,7 % de la variabilidad total. De los resultados podemos indicar que el atributo acidez cítrica permitió determinar en qué medida se logró diferenciar los chocolates con inclusión de pieles y con cascarilla, las muestras que tuvieron más acidez cítrica fueron los chocolates (sin piel ni cascarilla) y chocolate con piel de uva morada (1 %). En el chocolate la acidez está relacionada sobre todo con el contenido de ácido acético, el cual se origina en la fermentación, además de los ácidos oleico y esteárico, que producen aromas agradables. Al asociar la acidez volátil con la fracción aromática es probable un cambio de los sabores básicos típicos del cacao (acidez,

astringencia, amargor, entre otros) a sabores específicos como (cítrico, floral, etc.) (RIVERA *et al.*, 2012).

El CP2 fue representado por el atributo **funde** cuya variabilidad represento el 24,3 % permitiendo diferenciar todos los chocolates del chocolate (sin pieles ni cascarilla). El atributo funde permite evaluar la dureza y fracturabilidad de un chocolate la ausencia de este atributo disminuye la calidad del producto, al respecto (ALVIS *et al.*, 2011) indica que la estructura física de la fase grasa, es la responsable de la dureza, fracturabilidad y estabilidad al calor.



**Figura 14.** Comportamiento del Biplot de la evaluación sensorial del chocolate bitter con inclusión de piel de camu camu, piel de uva morada y cascarilla de cacao.

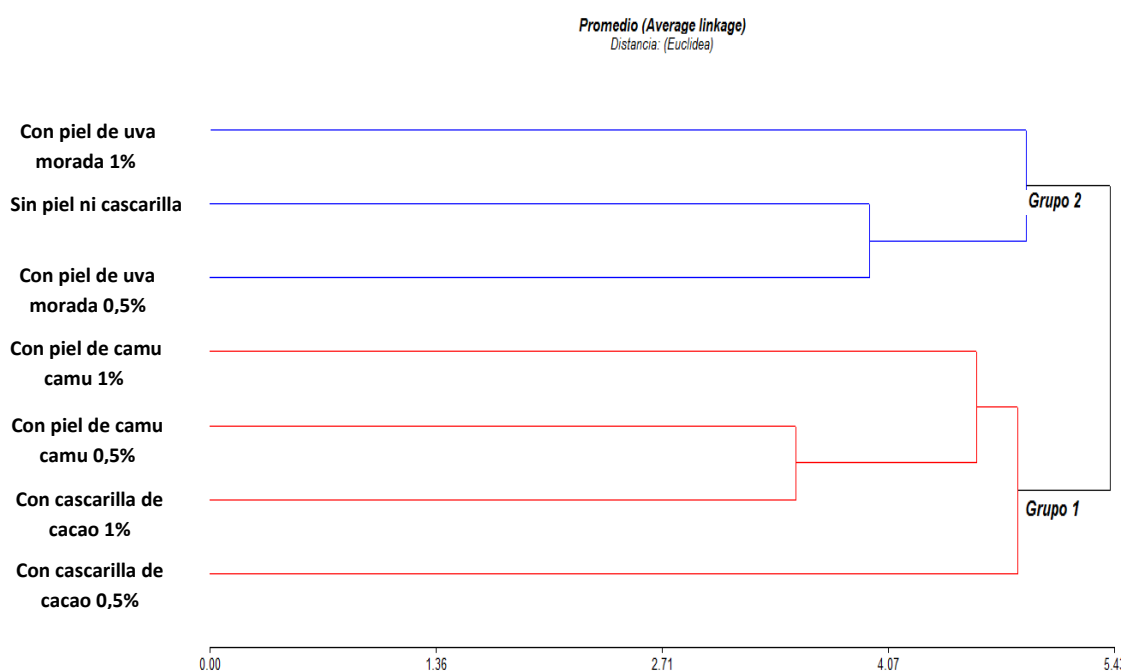
Realizando el análisis estadístico mediante conglomerados de los tratamientos evaluados podemos diferenciar dos grupos (Figura 15); el primer grupo representa el 57,1 % (con piel camu camu 0,5 % y 1 %, con cascarilla

cacao 1% y 0,5 %) y el segundo grupo representa el 42,9 % (con piel uva morada 1 % y 0,5 % y sin piel ni cascarilla).

El **primer grupo** esta conformado por los tratamientos que incluyeron piel de camu camu 0,5 % y 1 % y cascarilla cacao 0,5 % y 1 %, según los calificativos estos tratamientos tuvieron los valores mas altos en los atributos de sabor “intenso chocolate”, color, aroma a chocolate, aroma fruto seco, astrigencia, rugosidad y funde “moderado”, aroma frutal, amargor, brillo, acidez, acidez citrica y aroma floral “debil”. El desarrollo del sabor intenso a chocolate que demostraron estos tratamientos posiblemente se debe a que la cascarilla de cacao intensifique el sabor a chocolate .La cascarilla de cacao, es fibroso con color marron y sabor a chocolate (SOTO, 2012). Así mismo, los fruto del camu camu tiene los compuestos fenólicos, el ácido ascórbico, el tocoferol y los carotenoides, la piel presenta alta concentración de ácido ascórbico (SOTERO *et al*, 2009). Por otro lado estos tratamientos tuvieron una rugosidad moderada lo que afecta la calidad final del chocolate. La sensación arenosa o percibida como partículas gruesas tiene una influencia fundamental en la calidad sensorial global del chocolate (ESCOTO, 2014).

El **segundo grupo** esta conformado por los tratamientos sin piel ni cascara y con piel de uva 0,5 % y 1 % en estos tratamientos se resaltó aroma y sabor a chocolate “intenso”; color, brillo, acidez, acidez citrica, amargor, funde “moderado” y aroma floral, aroma frutal, aroma frutos secos y rugosidad “debil”. De los resultados podemos indicar que el chocolate control y los chocolates con inclusion de piel de uva tuvieron un buen aroma y sabor a chocolate y rugosidad debil, un chocolate con sabor intenso se puede deber a que la piel de uva morada

tiene sabores con característica naturales y contiene varios compuestos bioactivos, (CHENG *et al.*, 2010). Estos tratamientos presentaron como atributo funde moderado. Se ha mostrado que las partículas finas hacen al chocolate más espeso porque reducen la cantidad de grasa presente permite que las partículas pasen unas junto a las otras (AULESTIA, 2013). Estos tratamientos obtuvieron rugosidad débil debido a que no se afectó a la estructura del chocolate. Esto puede ser debido a la textura de la piel de uva, pasa de ser dura a ser fácilmente triturable, llegando a formarse una pasta homogénea (MELÉNDEZ *et al.*, 2010).



**Figura 15.** Presentación del análisis de conglomerados de las muestras del chocolate Bitter con inclusión de piel de camu camu, piel de uva morada y cascarilla de cacao.

## V. CONCLUSIONES

- El mayor contenido de polifenoles totales se encontró en el chocolate Bitter sin piel de camu camu, sin piel de uva morada ni cascarilla con 2,272 g EAG/100 g y en el chocolate bitter con piel de camu camu al 1%, 2,278 g EAG/100 g.
- La mayor eficiencia frente al radical DPPH lo presentó el T7 (con cascarilla de cacao 1%)  $IC_{50}$   $0,166\pm 0,001$  mg/mL y la menor eficiencia lo presento el T4 (con piel de uva morada 0,5%)  $IC_{50}$   $0,207\pm 0,002$  mg/mL.
- La mayor eficiencia frente al radical ABTS lo presentó T2 (con piel de camu camu 0,5%)  $IC_{50}$   $0,052\pm 0,002$  mg/mL y la menor eficiencia lo presento el T1 (sin piel ni cascarilla)  $IC_{50}$   $0,064\pm 0,001$  mg/mL.
- Los chocolates bitter elaborados sin piel ni cascarilla y los que tuvieron piel de uva morada 0,5% y 1%, tuvieron los mejores atributos resaltando el aroma y sabor a chocolate “intenso”.

## **VI. RECOMENDACIONES**

- Realizar más estudios sobre el valor nutricional que contienen la piel o cáscara de camu camu y cascarilla de cacao.
- Realizar estudios sobre caracterización de subproductos como fuente de fibra dietética y compuestos fenólicos.
- Realizar estudios sobre el desarrollo y análisis sensorial del chocolate con pulpa de camu camu y uva morada.
- Realizar estudios para aumentar la vida útil y brillo en el chocolate Bitter con inclusión de piel de camu camu, piel de uva morada y cascarilla de cacao.
- Para un chocolate con mejores atributos que resalten el sabor se recomienda utilizar piel de uva morada.
- Aprovechar los residuos agroindustriales para la producción de alimentos funcionales.

"CONTENT OF TOTAL POLYPHENOLS, ANTIOXIDANT CAPACITY AND SENSORY EVALUATION OF BITTER CHOCOLATE WITH STANDIG CAMU CAMU, PURPLE GRAPE SKIN AND COCOA HUSK"

**ABSTRACT**

The research was conducted in the laboratory of Animal Nutrition and the Center for Research and Development Biotechnology of the Amazon (CIDBAM) of the National Agrarian University of the Jungle. The objectives were to evaluate the content of total polyphenols, antioxidant capacity by free radicals (DPPH and ABTS) and perform sensory evaluation of bitter chocolate with skins camu camu, purple grape and cocoa husks. a hydroalcoholic extract for each sample (3 g in 30 mL of hydroalcoholic solution), macerated for 24 h (filtering and centrifuging) was prepared; reading was performed by UV/VIS. Statistical completely randomized design (DCA) and Tukey statistical test ( $p < 0.05$ ) was applied; for sensory evaluation multivariate analysis of main components, with the InfoStat statistical program was used. The witness and the sample with skin camu camu 1 %, had the highest polyphenol content (2,272 and 2,278 g EAG/100g respectively), and the lowest content, the sample with skin purple grape and cocoa husk (0,5 % 1,89 g and 1,96 EAG/100 g respectively). The greater efficiency against DPPH radical was presented in Bitter chocolate with cocoa husks 1% ( $IC_{50} 0,166 \pm 0,001$  mg/mL) and the lowest efficiency Bitter chocolate with purple grape skin (0,5 %  $IC_{50} 0,207 \pm 0,002$  mg/mL); Against the radical  $ABTS^{o+}$ , the skin of camu camu (0,5%  $IC_{50} 0,052 \pm 0,002$  mg / mL) was higher and the control ( $IC_{50} 0,064 \pm 0,001$  mg/mL) lower. In the sensory evaluation the witness and bitter chocolate prepared with purple grape skin 0,5 % and 1 %, presented the best qualified aroma and taste of "intense" chocolate attributes.

## VII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- AFOAKWA, E. 2010. Chocolate science and technology. New Dheli, India, Wiley-Blackwell. 296 p.
- AGUIRRE, R., ARANA, F., MONTEZA, R., PATIÑO, C., REQUE, L., VERA, L. 2013. Diseño de la línea de producción de jugo concentrado de uva de mesa. Universidad de Piura. Piura (Perú). Monografía. 117 p.
- ÁLVAREZ, C., PÉREZ, E., BOULANGER, R., LARES, M., SSEMAT, A., DAVRIEUX, F., CROS, E. 2012. Identificación de los compuestos aromáticos en el cacao criollo de Venezuela usando micro extracción en fase sólida y cromatografía de gases. Vitae, Colombia. 19(1): 370–372.
- ALVIS, A., PÉREZ, L., ARRAZOLA, G. 2011. Determinación de las propiedades de textura de tabletas de chocolate mediante técnicas instrumentales. Información Tecnológica, Colombia. 22(3):11–18.
- ARLORIO, M., COISSON, J., TRAVALLIA, F., VARSALDI, F., MIGLIO, G., LOMBARDIA, G.; MARTELLI, A. 2005. Antioxidant and biological activity of phenolic pigments from *Theobroma cacao* L: hulls extracted with supercritical CO<sub>2</sub>. Food Research Internacional, Italy. 38: 1009–1014.
- ARRAZOLA, G., ROJANO, B., DÍAZ, D. 2013. Capacidad antioxidante de cinco cultivares de mango (*Mangifera indica* L.) y evaluación de su

- comportamiento en una matriz alimentaria. Revista colombiana de ciencias hortícolas, Colombia. 7(2):161-172.
- AULESTIA, C. 2013. Desarrollo de una formulación de cobertura de chocolate con esencia de naranja para helado soft. Tesis Ing. Químico de alimentos. Quito, Ecuador. Universidad central del ecuador. 117 p.
- AWARIKABEY, E., AMPONSAH, I., WOODE, M. 2014. The value of the cocoa bean shell (hull) and the effect of various processing methods on the phyto-constituents and antioxidant activity of the nib and Shell. J. Nat. Prod. Plant. Resour., Kumasi. 4(3):58-64.
- BACELAR, P., DA SILVA, E., RADOMILLE, L. 2013. Sensory profiles of chocolates produced from cocoa cultivars resistant to *Moniliophthora Perniciosa*. Revista Brasileira Fruticultura, Jaboticabal. 35(2):594–602.
- BAENA, O., GARCIA, N. 2012. Obtención y caracterización de fibra dietaría a partir de cascarilla de las semillas tostadas de *Theobroma cacao* L. de una industria chocolatera colombiana. Tesis. Ing. Químico industrial. Pereira, Colombia. Universidad Tecnológica de Pereira. 78 p.
- BECKETT, S. 1994. Fabricación y utilización industrial del chocolate. Zaragoza, España, Acribia. 440 p.
- BECKETT, S. 2002. La ciencia del chocolate. Zaragoza, España, Acribia. 216 p.
- BELCOLADE. 2011. Chocolate real de Bélgica: Para profesionales. [En línea]: ([www.belcolade.com](http://www.belcolade.com), documento, 24 Jul. 2015).
- BRAND, W., CUVELIER, M., BERSSET, C. 1995. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. Lebensmittel Wissenschaft and Technologie, Canada. 28(1): 25–30.

- BRUNA, C., EICHHOLZ, S., ROHN, S., KROH, L., HUYSKENS-KEIL, S. 2009. Bioactive compounds and antioxidant activity of cocoa hull (*Theobroma cacao* L.) from different origins. *Journal of applied botany and food quality*. 83: 9-13.
- BUSSE, N. 2013. Proantocianidinas de uvas y vinos de las variedades monastrell, cabernet sauvignon y syrah. Tesis Doctoral. Campus de espinarcio, Murcia. Universidad de Murcia. 206 p.
- BUSTAMANTE, K. 2014. Determinación de compuestos antioxidantes en subproductos de cacao "testa". Tesis Ing. Químico. Loja, Ecuador. Universidad Técnica Particular de Loja. 76 p.
- CAÑAS, Z., RESTREPO, D., CORTÉS, M. 2011. Revisión: Productos vegetales como fuente de fibra dietaria en la industria alimentaria. *Rev. Fac. Nal. Agro., Medellin*. 64(1):6023–6035.
- CASTRO, J., ARAUJO, A., GUTIERREZ, F., IMAN, S. 2013. L-Galactosa deshidrogenasa y L-Gulono-1,4-lactona deshidrogenasa influyen en la biosíntesis de vitamina C en (*Myrciaria dubia* (H.B.K.) Mc Vaugh). *Revista ECI Perú, San roque*. 9(2):77-83.
- CATANIA, C., AVAGNINA, S. 2007. Curso superior de degustación de vinos. Mendoza, Argentina, Inta.10 p.
- CHANG, A. 2013. El camu camu: Aspectos químicos, farmacológicos y tecnológicos. Universidad Nacional San Luis Gonzaga. Ica (Perú). *Revista*. 97 p.

- CHENG, V., BEKHIT, A., SEDCOLE, R., HAMID, N. 2010. The impact of grape skin bioactive functionality information on the acceptability of tea infusions made from wine by-products. *J. food sci.* 75(4):167–172.
- CHICA, B., OSORIO, S. 2003. Determinación de la vida de anaquel del chocolate de mesa sin azúcar en una película de polipropileno vi orientado. Tesis Ing. Químico. Manizales, Colombia. Universidad Nacional de Colombia. 89 p.
- COCHRAN, W., COX, G. 1955. Diseños experimentales. 2 Ed. D.F., México, Trillas. 661 p.
- CODEX STAN 87-191. 2003. Norma para el chocolate y los productos del chocolate.  
<http://www.ipffsaph.org/cdsupload%5Ckopopdata%5Ccodex0%5Cescxs1415.pdf>, documento, 18 May. 2014).
- CONCILCO, A. 2014. Efecto de diferentes densidades y distancias de plantación sobre la producción y calidad de la uva en la variedad shiraz (*Vitis vinífera* L.). Tesis Ing. Agrónomo. Torreón, México. Universidad autónoma agraria Antonio narro unidad laguna. 45 p.
- CONDE, J.; RODRIGUEZ, J., CABRERA, H., PEREZ, S., PEREZ, J., FERREIRA, V., CACHO, J. 2010. Determinación de precursores de aroma en uvas de las variedades blancas Gual, Malvasía y Verdello. Jornadas técnicas vinícolas. Zaragoza (España). Trabajo de investigación. 13 p.
- CORNEJO, D. 2012. Recuperación de compuestos fenólicos de bagazo de uva roja (*Vitis vinífera* L.) por microondas y métodos convencionales. Tesis M.Sc. Querétaro, México. Universidad autónoma de Querétaro. 97 p.

- DA SILVA, V., PONTIS, J., FLACH, A., BARCELAR, C., ALVES, E., CAMARGO, L. 2012. Composicao quantitativa de pigmentos durante o desenvolvimento de frutos camu camu (*Myrciaria dubia* (H.B.K.) Mc Vaugh). Congresso brasileiro de fruticultura. [En línea]: ([http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/77246/1/Vanuza-1\\_composicao-de-pigmentos-camucamu.pdf](http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/77246/1/Vanuza-1_composicao-de-pigmentos-camucamu.pdf), documento, 01 junio, 2013).
- DEL VALLE, G., GONZÁLEZ, A., BÁEZ, R. 2005. Antocianinas en uva (*Vitis vinífera* L.) y su relación con el color. Rev. Fitotec. Mex., Chapingo. 28(4):359–368.
- DIAZ, F. 2015. Estudio del valor nutricional de un nuevo producto elaborado a base de fruta deshidratada y chocolate. Tesis Ing. Veterinario. Zaragoza, España. Universidad de Zaragoza. 39p.
- DÍAZ, S., PINOARGOTE, M. 2012. Análisis de las características organolépticas del chocolate a partir de cacao CCN51 tratado enzimáticamente y tostado a diferentes temperaturas. Tesis Ing. en Alimentos. Guayaquil, Ecuador. Escuela Superior Politécnico del Litoral. 145 p.
- DOSTERT, N.; ROQUE, J.; BROKAMP, G.; CANO, A.; LA TORRE, M. WEIGEND, M. 2009. Datos botánicas de camu camu. Lima (Perú). Boletín Técnico n° 38. 9 p.
- 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.). Eur Food Res Technol., Hamburg. 229(1):937–948.

- ESCOTO, M. 2014. Desarrollo de una barra de chocolate oscuro evaluando dos edulcorantes en tres concentraciones. Tesis Ing. Agroindustrias Alimentarias. Universidad de Zamorano. Zamorano, Honduras. 24 p.
- ETAIO, I., PÉREZ, F., ALBISU, M., SALMERÓN, J., OJEDA, M., GASTÓN, E. 2007. Guía para la evaluación sensorial de la calidad de los vinos tintos de Rioja Alavesa: Vinos jóvenes y vinos con crianza en barrica. Vasco, España, Vitoria-Gasteiz. 124 p.
- FABER, M., YUYAMA, L. 2015. Nectar mix functional based on amazonian fruits. J. Cell Sci Ther., Manaus. 6(1):2-7.
- FERREIRA DE ARAUJO, P. 2012. Compostos bioativos de camu camu (*Myrciaria dubia* (H.B.K.) Mc Vaugh) em funcao do ambiente de cultivo e do estadio de muracao. Tesis Doctoral. Minas gerai, Brasil. Universidade federal de vicoso. 128p.
- FLORES, D. 2010. Uso Histórico: (*Myrciaria dubia* (H.B.K.) Mc Vaugh). Amazonas (Perú). Proyecto perubiodiverso. 25 p.
- FRANCO, T., HIDALGO, R. 2003. Análisis estadístico de datos de caracterización morfológica de recursos fitogenéticos. Instituto Internacional de recursos fitogenéticos. Cali (Colombia). Boletín Técnico nº 8. 94 p.
- FRANCO, G., SUAREZ, K. 2014. Determinación del contenido de polifenoles y actividad antioxidante de una bebida láctea elaborada a base de residuos agroindustriales de cacao, café y naranja. Tesis Ing. Alimentos. Escuela Superior Politécnica del Litoral. Guayaquil, Ecuador. 118 p.

- FUJITA, A., SARKAR, D., WU S., KENNELLY, E., SHETTY, K., GENOVESE, M. 2015. Evaluation of phenolic linked bioactives of camu camu (*Myrciaria dubia* Mc. Vaugh) for antihyperglycemia antihypertension, antimicrobial properties and celular rejuvenation. Food Research Internacional. 77(2):194-203.
- GALVES, S. 2007. Determinación de taninos en vinos tintos de mayor consumo en el Salvador, procedentes de Chile y España. Lic. en Química y Farmacia. El salvador, Centro américa. Universidad de el salvador. 89 p.
- GONZÁLES, Y.; PÉREZ, E.; PALOMINO, C. 2012. Factores que inciden en la calidad sensorial del chocolate. Actualización en nutrición, Venezuela. 13(4):314–331.
- GRAF, M. 2012. Caracterización del perfil de aromas de vinos jóvenes y su relación con la calidad sensorial del producto. Post grado sartenejas, Venezuela .Universidad simón bolívar. 92 p.
- GUERRERO, D., GIRÓN, C., MADRID, A., MOGOLLON, C., QUIROZ, C., VILLENA, D., 2012. Diseño de la línea de producción del chocolate orgánico. Universidad de Piura. Piura (Perú). Monografía. 111 p.
- GUGLIELMETTI, A. 2014. Characterization of phenolic compounds in vegetable by-products: in vitro evaluation of biological activity and their possible application in novel foods. Food Science Technology and Biotechnology. 19<sup>th</sup> Workshop. Turi-Italy. 24-26.
- GUTIÉRREZ, A. 2002. Chocolate, polifenoles y protección a la salud. Acta farm. Bonaerense, Cuba. 21(2):149-152.

- IMAN, S. 2000. Cultivo de camu camu camu (*Myrciaria dubia* (H.B.K.) Mc Vaugh) en la región Loreto. Instituto Nacional de Investigación Agraria, Lima (Perú). Manual n° 01. 11p.
- IRANZO, G., MILAN, S. 2014. Composiciones antioxidantes de un producto obtenido del fruto de camu camu. España. Proyecto n° ES2445492A1. 28 p.
- ISMAIL, A. 2012. Antioxidative effects of extracts of cocoa Shell, roselle seeds and a combination of both extracts on the susceptibility of cooked beef to lipid oxidation. Journal of Food Technology. Malasia. 4(1):10-15.
- JARA, V. 2014. El estrés como aliado: Qué funciones cumplen los fenoles en el vino y qué prácticas afectan su presencia en la uva. [En línea]: Enoi21, (<http://enoi21.com/documento>, 2 febrero. 2014).
- JASSIM, R., MIHELE, D., DOGARU, H. 2010. Study regarding the influence of *Vitis vinifera* fruit (muscat of hamburg species) on some biochemical parameters. Hamburgo. 58(3):332-340.
- JASSO, R. 2014. Desarrollo de un nuevo producto "paleta helada a base de yogur y aloe vera con cubierta de chocolate". Tesis Lic. Químico en alimentos. Toluca, México. Universidad autónoma del estado de México. 97p.
- KABIR, F., SHAHIN, M., KURNIANTA, H. 2013. Antimicrobial activities of grape (*Vitis vinifera* L.) pomace polyphenols as a source of naturally occurring bioactive components. Afr. J. Biotechnol., Japan. 14(26): 2157-2161.
- KOMES, D., BELSCAK, A., SKRABAL, S., VOJVODIC, A., BUSIC A. 2013. The influence of dried fruits enrichment on sensory properties of bitter and

- milk chocolates and bioactive content of their extracts affected by different solvents. *Food Science and Technology, Croatia*. 53: 360–369.
- KROYER, G., MOLNAR T. 2011. Evaluation of polyphenols and antioxidative activity of cocoa and chocolate products. *Polish Journal of Food and Nutrition Science*. 61(1):1230-0322.
- KYRALEOU, M., KOUNDOURAS, S., CHIRA, K., HAROUTOUNIAN, S., SPINTHIROPOULOU, H., KOTSERIDIS, Y. 2015. Effect of vine training system on the phenolic composition of red grapes (*Vitis vinifera* L. cv. xinomavro). *J. Int. Sci. Vigne Vin., Francia*. 49:71-84
- LARREA, J. 2012. Obtención de extractos polifenólicos a partir de uva para uso alimentario. Tesis Mg. de tecnología y calidad en las industrias agroalimentarias. Universidad pública de Navarra. 99 p.
- LIND, D., MARCHAL, W., WATHEN, S. 2012. Estadística Aplicada a los Negocios y la Economía. México, McGraw-Hill. 200 p.
- LUTZ, M., JORQUERA, K., CANCINO, B., RUBY, R., HENRIQUEZ, C. 2011. Phenolics and antioxidant capacity of table grape (*Vitis vinifera* L.) cultivars grown in Chile. *J. food sci.* 76(7):1088-1093.
- MAR, K., WAN, D., BAKAR, M., WAHID, S., HASSAN, K., MEOR, T. 2005. The kinetics of polyphenol degradation during the drying of Malaysian cocoa beans. *International Journal of Food Science and Technology*. 40(1): 323–331.
- MARQUEZ, G. 2011. Capacidad antioxidante y caracterización estructural de las antocianinas de los frutos rojos de *Prunus domestica* L., *Ficus carica* L. y *Vitis vinifera* L. c.v."red globe" cultivados en Perú. Tesis Mgs. en

- Recursos Vegetales y Terapéuticos. Lima, Perú. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. 90 p.
- MAZZA, G. 2000. Alimentos funcionales; aspectos bioquímicas y de procesado. Trad. por Héctor J. Quiñones. Ed. Acribia. Zaragoza, España. p. 141-157.
- MEJÍA, F. 2013. Efectos de la piel y semilla de uva (*Vitis vinífera L.*) y piel de camu camu (*myrciaria dubia mcvaugh h.b.k.*) en la actividad oxidativa, sensorial y microbiológica de chuletas molidas de cerdo. Tesis Ing. en Industrias Alimentarias. Tingo María, Perú. Universidad Nacional Agraria de la Selva. 117 p.
- MELÉNDEZ, E., ÍÑIGUEZ M., PURAS, P., ORTIZ, M., SARAVIA, L., DULAU, L. 2010. Las uvas también se catan. Laffort. Rioja, España. Informe. 6 p.
- MENDEZ, L. 2015. Efecto del porta injerto, en cuatro años de evaluación sobre la producción y calidad de la uva en la variedad cabernet sauvignon (*Vitis vinífera L.*). Tesis. Ing. Agrónomo en horticultura. Coahuila. Universidad autónoma agraria Antonio narro unidad laguna. 53 p.
- MERA, O., RUIZ, M. 2014. Evaluación física, sensorial y bromatológica del licor de cacao en variedades clónales EET-19, EET- 48, EET-62, EET-95, EET-103 en espam. Tesis. Ing. Agroindustrial. Calceta. Escuela superior politécnica agropecuaria de Manabí. Manabí. 60p
- MORENO, S. 2009. Desarrollo y evaluación de un chocolate funcional incorporando dos tipos de extracto a dos concentraciones de dulcamara (*solanum dulcamara L.*). Tesis. Ing. Agroindustria Alimentaria. Honduras. Universidad de zamorano. 53 p.

- MORILLO, M. 2005. Alternativas de industrialización de cacao (*Theobroma cacao* L.) nacional fino o de aroma en el cantón Pangua provincia de Cotopaxi. Tesis ing. industrialización de alimentos. Quito, Ecuador. Universidad tecnológica equinoccial. 103 p.
- MUÑOZ, A.; RAMOS, F.; ORTIZ, C.; CASTAÑEDA, B.; LIZARASO, F. 2009. Evaluación de compuestos con actividad biológica en cáscara de camu camu (*Myrciaria dubia*), guinda (*Prunus serotina*), tomate de árbol (*Cyphomandra betacea*) y carambola (*Averrhoa carambola* L.) cultivadas en Perú. Rev. Soc. Quím., Perú. 75(4):431-438.
- NOBUYUKI, R., SOUZA, J. 2003. Aproveitamento do camu camu (*Myrciaria dubia* (H.B.K.) Mc Vaugh) para produção de bebida alcoólica fermentada. Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia. Brazil- Manaus. 33(3):489–498.
- NSOR-ATINDANA, J., ZHONG, F., MOTHIBE, K., BANGOURA M., LAGNIKA, C. 2012. Quantification of total polyphenolic content and antimicrobial activity of cocoa (*Theobroma cacao* L.) bean shells. Pakistan Journal of Nutrition, Wuxi. 11(7): 574-579.
- OBREQUE-SLIER E., PEÑA, A., LOPEZ, R., CACERES, A., TOLEDO, H., LOPEZ, A. 2013. Phenolic composition of skins from four Carmenet grape varieties (*Vitis vinifera* L.) during ripening. LWT. Food Science and Technology. 54:404-413.
- OLUBAMIWA, O., IKYO, S., ADEBOWALE, B., OMOJOLA, A., HAMZAT, R. 2006. Effect of Boiling Time on the Utilization of Cocoa Bean Shell in

- Laying Hen Feeds. *International Journal of Poultry Science*. Nigeria. 5(12):1137-1139.
- ORDOÑEZ, E., VARGAS, E., LEON A. 2014. Cuantificación de polifenoles totales, capacidad antioxidante (DPPH y ABTS) en cascara y semilla de cacao (*Theobroma cacao* L.), TUNAS (*Opuntia ficus indica* Mill), UVA (*Vitis vinífera* L.) Y UVILLA (*Pourouma cecropiifolia*). Universidad Nacional Agraria de la Selva. Tingo María (Perú). Informe. 29p.
- PEREA-VILLAMIL, J., CADENA-CALA, T., HERRERA-ARDILA, J. 2009. El cacao y sus productos como fuente de antioxidantes: Efecto del procesamiento. *Salud UI, Santander*. 41(1):128-134.
- PINEDO, M., RIVA, R., RENGIFO, E., DELGADO, C., VILLACRÉS, J., GONZALES, A., INGA, H., LÓPEZ, A., FARROÑAY, R., VEGA, R., LINARES, C., 2001. Sistema de producción del camu camu en restinga. Manual Técnico IIAP. Iquitos-Perú. 141 p.
- PORTILLO, E., VILLASMIL, R., PORTILLO, A., GRAZZIANI, L., CROS, E., ASSEMAT, S., DAVRIEUX, F., BOULANGER, R. 2014. Características sensoriales del cacao criollo (*Theobroma cacao* L.) de Venezuela en función del tratamiento poscosecha. *Rev. Fac. Agron. Venezuela*. 1(1):742–755.
- QUIÑONES, M., MIGUEL, M., ALEIXANDRE, A. 2012. Los polifenoles, compuestos de origen natural con efectos saludables sobre el sistema cardiovascular. *Nutrición Hospitalaria, Madrid*. 27(1):76–89.
- QUIROZ-REYES, C., AGUILAR, M., RAMIREZ, E., RONQUILLO, E. 2013. Comparative study of ultrasound and maceration techniques for the

- extraction of polyphenols from cocoa beans (*Theobroma cacao* L.).  
Revista mexicana de ingeniería química. 12(1):11-18.
- RAMIREZ, E. 2011. Reingeniería del proceso productivo de chocolate en barra en una industria alimentaria. Universidad de San Carlos. Tesis Ing. Químico. Guatemala. 170 p.
- RAMOS, Z., GARCIA, L., PINEDA, M., SOUZA, R. 2002. Evaluación de factores de procesamiento y conservación de pulpa de (*Myrciaria dubia* (H.B.K.) Mc Vaugh) que reducen el contenido de vitamina c (ácido ascórbico). Revista Amazónica de Investigación Alimentaria, Perú. 2(2):89–99.
- RE, R.; PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A.; YANG, M.; RICE, C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. Free Radical Biology and Medicine, United Kingdom. 26(9/10):1231–1237.
- RINCON, J., HERRERA, M. 2013. Chocolate. Ciencia e Investigación. Buenos Aires, 63(2): 55- 62.
- RIVERA, R., MECÍAS, F., GUZMÁN, Á., PEÑA, M., MEDINA, H., CASANOVA, L., BARRERA, A., NIVELA, P. 2012. Efecto del tipo y tiempo de fermentación en la calidad física y química del cacao (*Theobroma cacao* L.) tipo nacional. Ciencia y tecnología, Ecuador. 5(1):7-12.
- ROSS, C., HOYE, C., FERNANDEZ, CH. 2011. Influence of heating on the polyphenolic content and antioxidant activity of grape seed flour. J. food sci. 76(6):884-890.

- RUIZ, D., SORIANO, J. 2014. Efecto de la proporción de pasta de cacao (*Theobroma cacao* L.) y harina de plátano (*Musa paradisiaca* AAB) en la aceptabilidad general de una mezcla alimenticia. Cientifi-k. 2(2):33-43.
- SALGADO, N., RAMIREZ, M., ROJAS, S., BELTRAN, Y., ORREGO., C. 2012. Polifenoles en tres accesiones de camu camu (*Myrciaria dubia* (H.B.K.) Mc Vaugh). Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal. Medellín, Colombia. 19(1):360 – 362.
- SALVADOR, N. 2008. Consultoría origen del cacao de Piura: Caracterización y distribución del cacao blanco en la subcuenca del rio bigote. PDRS-GORE PIURA. Piura (Perú) .Informe.13p.
- SAMAH, I., SAHAR, S., KHALED, S., HODA, A. 2012. Phenolic compounds and antioxidant activity of White, red, black grape skin and White grape seeds. J Life Sci., Fayum. 9(4):1-11.
- SÁNCHEZ, A. 2007. Caracterización organoléptica del cacao (*Theobroma cacao* L.) para la selección de árboles con perfiles de sabor comercial. Tesis. Ing. Agrónomo. Ecuador. Universidad técnica estatal de Quevedo. 82p.
- SANCHEZ, C. 2010. El chocolate amargo en la cocina cuencana actual, nuevas recetas. Tesis Lic. Gastronomía y Servicio de Alimentos y Bebidas. Cuenca, Ecuador. Universidad de Cuenca. 185 p.
- SANDOVAL, M., LAZARTE, K., ARNAO, I. 2008. Hepatoprotección antioxidante de la cáscara y semilla de *Vitis vinifera* L. (uva). An Fac. med., Perú. 69(4):250-259.
- SANDOVAL, M.; OKUHAMA, N. y ÁNGELES, F. 2001. Técnicas de investigación para determinar la actividad antioxidante y anti – inflamatoria de plantas

medicinales de la Amazonía. 1st international workshop. Iquitos – Perú.25p

SANGRONIS, E., SOTO, M., VALERO, Y., BUSCEMA, I. 2014. Cascarilla de cacao venezolano como materia prima de infusiones. Archivos latinoamericanos de nutrición. 64(2):123-130.

SAVANTO, S., YOSHIMITSUL, S., CARVALHO, A., LEITE, H., MARCATTI, G. 2015. Prediction of oil content in the mesocarp of fruit from the macaubapalm using spectrometry. Rev. Ciênc. Agron. 46(1):21-28.

SOARES, M., WELTER L., KUSKOSKI, E., GONZACA, L., FETT, R. 2008. Compostos fenólicos e atividade antioxidante da casca de uvas niágara e Isabel. Rev. Bras. Frutic. 30(1):059-064.

SOTELO, L., ALVIS, A., ARRAZOLA, G. 2015. Evaluación de epicatequina, teobromina y cafeína en cáscaras de cacao (*Theobroma cacao* L.), determinación de su capacidad antioxidante. Revista Colombiana de Ciencia y Horticultura., Monteria. 9(1):124-134.

SOTERO, V., SILVA, L., GARCÍA, D., IMÁN, S. 2009. Evaluación de la actividad antioxidante de la pulpa, cáscara, semilla del fruto del camu camu (*Myrciaria dubia* (H.B.K.) Mc Vaugh). Rev. Soc. Quím., Perú. 75(3):293-299.

SOTO, M. 2012. Desarrollo del proyecto de producción de cascarilla de semilla de cacao en polvo destinada al consumo humano. Tesis Ing. Químico. Sartenejas, Venezuela. Universidad Simón Bolívar. 69p.

SUAZO, Y. 2012. Efecto de la fermentación y el tostado sobre la concentración polifenólica y actividad antioxidante de cacao nicaragüense. Mg

- Tecnología y calidad en las industrias agroalimentarias. Pamplona, Nicaragua. Universidad Pública de Navarra. 64p.
- TORRES, M. 2012. Influencia de las características y procesado del grano de cacao en la composición físico-química y propiedades sensoriales del chocolate negro. Tesis Doctoral. Tarragona, España. Universitat Rovira I Virgili. 246 p.
- TORRICO, D. 2006. Análisis de compuestos fenólicos y estabilidad del color en el jugo de cáscaras de uvas Muscadinas (*Vitis rotundifolia*). Tesis Ing. Agroindustrial. Zamorano, Honduras. Universidad Zamorano. 34p.
- VELEZ, M., URIBE, L., LENZ, M. 2012. Papel del resveratrol de uva como antioxidante. Rev. Lu. A., Manizales. 34: 240-256.
- VENTURA, M., MARÍA, A., GONZÁLEZ, J., RODRÍGUEZ, O., ALMONTE, J. 2014. Caracterización de los atributos de calidad del cacao (*Theobroma cacao* L.) del municipio de Castillo. Rev. Agro. Forest., República Dominicana. 3(1):55-60.
- VILLANUEVA, J., CONDEZO, L., RAMIREZ., E. 2010. Antocianinas, ácido ascórbico, polifenoles totales y actividad antioxidante en la cáscara de camu camu. (*Myrciaria dubia* (H.B.K.) Mc Vaugh). Cienc. Technol. Aliment., Campinas. 30(1):151–160.
- VILLARROEL, J. 2013. Factores que inciden en las rutas biosintéticas de compuestos responsables de aromas en frutos de (*Vitis vinífera* L.). Tesis Ing. Agrónomo. Santiago, Chile. Universidad de Chile. 60 p.
- WAYNE, D. 2004. Bioestadística; Bases para el análisis de la ciencia de la salud. 4 ed. D.F, México, Nimusa wiley. 455 p.

- YANZAPANTA, G. 2014. Estudio de la variación de los contenidos de polifenoles totales, alcaloides y grasa en almendras de cacao fino de aroma en tres diferentes zonas de producción de la Amazonía ecuatoriana. Tesis de Ing en alimentos. Ambato, Ecuador. Universidad Técnica de Ambato. 100 p.
- YEOUP, B., IYAMA, K., WAN, K. 2003. Compositional Characterization of Cacao (*Theobroma cacao* L.) Hull. *Agric. Chem. Biotechnol, Japan.* 46(1):12-16.
- ZAMORA, M., HERMOSIN, I., GARCIA, E., CASTILLO, M. 2014. Factores que condicionan la astringencia y el sabor amargo de los vinos tintos; Influencia de la madurez de la uva y de las técnicas de crianza. Ministerio de ciencia e innovación. La mancha (España). Proyecto n° AGL 2011-29708-CO2-O2. 12 p.
- ZAMBRANO, J. 2010. Adición de carboximetilcelulosa en dos tipos de chocolate como cobertura en confite de papaya (*Carica papaya*). Mg, en procesos agroindustriales. Mg. Procesos industriales. Manabí, Ecuador. Escuela superior politécnica agropecuaria de Manabí Manuel Félix López. 66 p.
- ZAPATA, C., CARDONA, M. 2014. Estudio de la biodisponibilidad de los antioxidantes hidrosolubles tipo flavonoides para su utilización en la industria de las bebidas. Tesis Ing. Especialista en Alimentación y Nutrición. Caldas, Antioquia. Corporación Universitaria Lasallista. 44p.
- ZHANG, M., LIU, C., NAN, H., LI, Z. 2014. Phenolic compound profiles in skins of white wine and table grape cultivars grown in the national grape Germplasm Resource Nursery of China. *M. S. Afr. J. Enol. Vitic.* 36(1):155-164.

## **VIII. ANEXOS**

**A-I:** Ficha de evaluación sensorial del chocolate Bitter de 60%.

### FICHA DE EVALUACIÓN SENSORIAL

**Nombre:**.....**Fecha:**.....

Estimado panelista: Usted ha sido invitado a participar en la evaluación sensorial del chocolate Bitter con inclusión de piel de camu camu, piel de uva morada y cascarilla de cacao, a continuación se le presentan muestras codificadas y una escala de evaluación.

Señor panelista de acuerdo a su preferencia marque el número que corresponde a cada muestra.

1	Muy débil
2	Débil
3	Moderado
4	Pronunciado
5	Intenso

Atributos sensoriales	Código	
Color		
Brillo		
Aroma a chocolate		
Aroma floral		
Aroma frutal		
Aroma a frutos Secos		
Sabor a chocolate		
Acidez		
Acidez cítrica		
Amargor		
Astringencia		
Funde		
Rugosidad		

COMENTARIOS:

.....  
 .....

*Gracias por su colaboración*

**A-II:** Análisis de varianza de contenido de polifenoles totales del chocolate bitter con inclusión de piel de camu camu, piel de uva morada y cascarilla de cacao.

<b>F.V.</b>	<b>G.L.</b>	<b>S.C.</b>	<b>C.M.</b>	<b>F cal.</b>	<b>P<sub>valor</sub></b>	<b>Sig.</b>
Tratamientos	6	0,4280	0,0713	3,78	<0,0189	*
Error experimental	14	0,2641	0,0188			
<b>Total</b>	<b>20</b>	<b>0,6922</b>				

$R^2 = 0,6183$     C.V. = 6.5714    M.S.E. = 0,1373    Media = 2,0903

**A-III:** Análisis de varianza de IC<sub>50</sub> del radical DPPH del chocolate bitter con inclusión de piel de camu camu, piel de uva morada y cascarilla de cacao.

<b>F.V.</b>	<b>G.L.</b>	<b>S.C.</b>	<b>C.M.</b>	<b>F cal.</b>	<b>P<sub>valor</sub></b>	<b>Sig.</b>
Tratamientos	6	0,0041	0,0006	30,40	<0,0001	**
Error experimental	14	0,0003	0,0000			
<b>Total</b>	<b>20</b>	<b>0,0044</b>				

$R^2 = 0,9287$     C.V. = 6.5714    M.S.E. = 0,0047    Media = 0,1868

**A-IV:** Análisis de varianza de IC<sub>50</sub> del radical ABTS<sup>0+</sup> del chocolate bitter con piel de camu camu, piel de uva morada y cascarilla de cacao.

<b>F.V.</b>	<b>G.L.</b>	<b>S.C.</b>	<b>C.M.</b>	<b>F cal.</b>	<b>P<sub>valor</sub></b>	<b>Sig.</b>
Tratamientos	6	0,0003	0,0000	18,14	<0,0001	**
Error experimental	14	0,0000	0,0000			
<b>Total</b>	<b>20</b>	<b>0,0003</b>				

$R^2 = 0,886$     C.V. = 2.9732    M.S.E. = 0,0017    Media = 0,0587

**A-V** Análisis de componentes principales de los atributos de los chocolates - Correlaciones con las variables originales.

<b>Variables</b>	<b>CP 1</b>	<b>CP 2</b>
Color	-0,56	0,16
Brillo	-0,68	- 0,41
Aroma a chocolate	-0,21	- 0,11
Aroma floral	0,25	-0,05
Aroma frutal	0,45	0,77
Aroma a frutos secos	0,88	-0,16
Sabor a chocolate	0,27	0,05
Acidez	-0,67	0,60
Acidez cítrica	-0,87	0,48
Amargor	-0,59	-0,73
Astringencia	0,54	-0,76
Funde	0,45	0,80
Rugosidad	0,90	-3.4E-03

Correlación cofenética =0.829

**A-VI:** Auto valores del análisis multivariado.

<b>Lambda</b>	<b>Valor</b>	<b>Proporción</b>	<b>PropAcum</b>
1	4,73	0,36	0,36
2	3,17	0,24	0,61
3	2,24	0,17	0,78
4	1,92	0,15	0,93
5	0,56	0,04	0,97
6	0,39	0,03	1,00
7	0,00	0,00	1,00
8	0,00	0,00	1,00
9	0,00	0,00	1,00
10	0,00	0,00	1,00
11	0,00	0,00	1,00
12	0,00	0,00	1,00
13	0,00	0,00	1,00

**A-VII: Autovectores del análisis multivariado.**

<b>Variables</b>	<b>E1</b>	<b>E2</b>
Color	-0,26	0,09
Brillo	-0,31	-0,23
Aroma a chocolate	-0,10	-0,06
Aroma floral	0,11	-0,03
Aroma frutal	0,21	0,43
Aroma a frutos secos	0,40	-0,09
Sabor a chocolate	0,12	0,03
Acidez	-0,31	0,34
Acidez cítrica	-0,39	0,27
Amargor	-0,27	-0,41
Astringencia	0,25	-0,43
Funde	0,21	0,45
Rugosidad	0,42	-1.9E-03