

**UNIVERSIDAD NACIONAL
TORIBIO RODRIGUEZ DE MENDOZA DE AMAZONAS**



ESCUELA DE POSGRADO

**TESIS PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE MAESTRO
EN GESTIÓN PARA EL DESARROLLO SUSTENTABLE**

**POTENCIAL FUNCIONAL DE
CHOCOLATES OSCUROS ENRIQUECIDOS CON
SUBPRODUCTOS DE BERRIES Y ACEITE DE SACHA
INCHI (*Plukenetia huayllabambana sp. nov*)**

Registro:

Autora: Bach. Marleni Medina Mendoza

Asesor: Dr. Efraín Manuelito Castro Alayo

CHACHAPOYAS – PERÚ

2022



ANEXO 6-H

AUTORIZACIÓN DE PUBLICACIÓN DE LA TESIS DE MAESTRÍA (X)/DOCTORADO () EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL DE LA UNTRM

1. Datos de autor 1

Apellidos y nombres (tener en cuenta las tildes): Medina Mendoza Marleni
DNI N°: 73424208
Correo electrónico: marleni.medina@untrm.edu.pe
Nombre de la Maestría (X) / Doctorado (): Gestión para el desarrollo Sostenible

Datos de autor 2

Apellidos y nombres (tener en cuenta las tildes): _____
DNI N°: _____
Correo electrónico: _____
Nombre de la Maestría () / Doctorado (): _____

2. Título de la tesis para obtener el grado académico de Maestro (X) / Doctor ()

POTENCIAL FUNCIONAL DE CHOCOLATES OSUROS ENRIQUECIDOS CON SUBPRODUCTOS DE BERRIES Y ACEITE DE SACHA INCHI (Pligkenetia huayllabambana sp. nov)

3. Datos de asesor 1

Apellidos y nombres: Castro Alayo Efraín Manuelito
DNI, Pasaporte, C.E N°: 18204816
Open Research and Contributor-ORCID (<https://orcid.org/0000-0002-9670-0970>) 0000 - 0003 - 4322 - 8980

Datos de asesor 2

Apellidos y nombres: _____
DNI, Pasaporte, C.E N°: _____
Open Research and Contributor-ORCID <https://orcid.org/0000-0002-9670-0970>

4. Campo del conocimiento según Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos- OCDE (ejemplo: Ciencias médicas, Ciencias de la Salud-Medicina básica-Immunología)

https://catalogos.concytec.gob.pe/vocabulario/ocde_ford.html
INGENIERÍA Y TECNOLOGÍA

5. Originalidad del Trabajo

Con la presentación de esta ficha, el(la) autor(a) o autores(as) señalan expresamente que la obra es original, ya que sus contenidos son producto de su directa contribución intelectual. Se reconoce también que todos los datos y las referencias a materiales ya publicados están debidamente identificados con su respectivo crédito e incluidos en las notas bibliográficas y en las citas que se destacan como tal.

6. Autorización de publicación

El(los) titular(es) de los derechos de autor otorga a la Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas (UNTRM), la autorización para la publicación del documento indicado en el punto 2, bajo la *Licencia creative commons* de tipo BY-NC: Licencia que permite distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir de su obra de forma no comercial por lo que la Universidad deberá publicar la obra poniéndola en acceso libre en el repositorio institucional de la UNTRM y a su vez en el Registro Nacional de Trabajos de Investigación -RENATI, dejando constancia que el archivo digital que se está entregando, contiene la versión final del documento sustentado y aprobado por el Jurado Evaluador.

Chachapoyas, 23 / febrero / 2023

[Firma]
Firma del autor 1

Firma del autor 2

[Firma]
Firma del Asesor 1

Firma del Asesor 2

DEDICATORIA

A mis padres Doris Mendoza y Víctor Medina, por estar siempre presentes en cada etapa de mi vida expresándome su apoyo incondicional. Por encaminarme y formarme en la persona que soy. Muchos de mis logros se los debo a ustedes entre los que se incluye este.

A mis abuelos Luz María Chuquilín y Franco Mendoza, a mis hermanos y a toda mi familia por el esfuerzo, apoyo incondicional y confianza que me brindaron para cumplir mis metas y objetivos.

A mis amigos, compañeros y docentes, que en el transcurso de mi carrera han aportado de diferentes maneras.

Marleni Medina Mendoza

AGRADECIMIENTOS

A Efraín Manuelito Castro Alayo, Ilse Silvia Cayo Colca, miembros de la Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza que participaron en mi proceso de la ejecución de la tesis, brindarme los conocimientos, apoyo académico y experimental a lo largo de toda la investigación.

Al sub Proyecto: contrato N°012-2018-01-BM-Fondecyt/BM-Mejoramiento de la infraestructura para la investigación, por hacer posible la ejecución del presente trabajo de investigación a través del soporte científico, metodológico y la provisión de reactivos y materiales necesarios para su realización.

A la Facultad de Ingeniería y Ciencias Agrarias, docentes, compañeros de trabajo y amigos por brindarme sus conocimientos para culminar la ejecución de mi proyecto de tesis.

Marleni Medina Mendoza

**AUTORIDADES DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL TORIBIO
RODRÍGUEZ DE MENDOZA DE AMAZONAS**

PhD. JORGE LUIS MAICELO QUINTANA
RECTOR

Dr. OSCAR ANDRÉS GAMARRA TORRES
VICERRECTOR ACADÉMICO

Dra. MARÍA NELLY LUJÁN ESPINOZA
VICERRECTORA DE INVESTIGACIÓN

Dr. EFRAÍN MANUELITO CASTRO ALAYO
DIRECTOR DE LA ESCUELA DE POSGRADO



UNTRM

REGLAMENTO GENERAL
PARA EL OTORGAMIENTO DEL GRADO ACADÉMICO DE
BACHILLER, MAESTRO O DOCTOR Y DEL TÍTULO PROFESIONAL

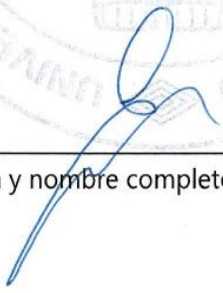
ANEXO 6-L

**VISTO BUENO DEL ASESOR DE TESIS PARA OBTENER EL
GRADO ACADÉMICO DE MAESTRO (X)/ DOCTOR ()**

El que suscribe el presente, docente de la UNTRM (X)/Profesional externo (), hace constar que ha asesorado la realización de la Tesis titulada POTENCIAL FUNCIONAL DE CHOCOLATES OSCUROS ENRIQUECIDOS CON SUBPRODUCTOS DE BERRIES Y ACEITE DE SACHA INCHI (Plukenetia huayllabambana sp. nov); cuyo autor MARLENI MEDINA MENDOZA es estudiante del _____ ciclo/egresado (X) de la Escuela de Posgrado, Maestría (X) / Doctorado () en GESTIÓN PARA EL DESARROLLO SUSTENTABLE, con correo electrónico institucional marleni.medina.epg@untrm.edu.pe.

El suscrito da el Visto Bueno a la Tesis mencionada, dándole pase para que sea sometida a la revisión por el Jurado Evaluador, comprometiéndose a supervisar el levantamiento de observaciones que formulen en Acta en conjunto, y estar presente en la sustentación.

Chachapoyas, 15 de JULIO de 2022



Firma y nombre completo del Asesor



JURADO EVALUADOR DE LA TESIS



Dr. ERICK ALDO AUQUIÑIVIN SILVA
PRESIDENTE



Mg. ERICK STEVINSONN ARELLANOS CARRIÓN
SECRETARIO



Ms. SEGUNDO GRIMALDO CHAVEZ QUINTANA
VOCAL



ANEXO 6-Q

CONSTANCIA DE ORIGINALIDAD DE LA TESIS PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE MAESTRO (X) / DOCTOR ()

Los suscritos, miembros del Jurado Evaluador de la Tesis titulada:

POTENCIAL FUNCIONAL DE CHOCOLATES OSCUROS ENZIMOSOS CON SUBPRODUCTOS DE PERRIES Y ACEITE DE SACHA INCHI (Plukenetia huayllabambana sp.nov)

presentada por el estudiante ()/egresado (X) MARIENI MEDINA MENDOZA

de la Escuela de Posgrado, Maestría (X) / Doctorado () en GESTIÓN PARA EL DESARROLLO SUSTENTABLE

con correo electrónico institucional marieni.medina.epg@untrm.edu.pe

después de revisar con el software Turnitin el contenido de la citada Tesis, acordamos:

- a) La citada Tesis tiene 21 % de similitud, según el reporte del software Turnitin que se adjunta a la presente, el que es menor (X) / igual () al 25% de similitud que es el máximo permitido en la UNTRM.
b) La citada Tesis tiene _____ % de similitud, según el reporte del software Turnitin que se adjunta a la presente, el que es mayor al 25% de similitud que es el máximo permitido en la UNTRM, por lo que el aspirante debe revisar su Tesis para corregir la redacción de acuerdo al Informe Turnitin que se adjunta a la presente. Debe presentar al Presidente del Jurado Evaluador su Tesis corregida para nueva revisión con el software Turnitin.

Chachapoyas, 15 de OCTUBRE del 2022

[Signature] SECRETARIO

[Signature] PRESIDENTE

[Signature] VOCAL

OBSERVACIONES:
.....
.....

ÍNDICE GENERAL

AUTORIZACIÓN DE PUBLICACIÓN DE LA TESIS DE MAESTRÍA EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL DE LA UNTRM.....	ii
DEDICATORIA	iii
AGRADECIMIENTOS	iv
AUTORIDADES DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL TORIBIO RODRÍGUEZ DE MENDOZA DE AMAZONAS	v
VISTO BUENO DEL ASESOR DE LA TESIS.....	vi
JURADO EVALUADOR DE LA TESIS.....	vii
CONSTANCIA DE ORIGINALIDAD DE LA TESIS	viii
ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS	ix
ÍNDICE GENERAL	x
ÍNDICE DE TABLAS	xii
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xiii
RESUMEN	xv
ABSTRACT.....	xvi
I. INTRODUCCIÓN.....	17
II. MATERIALES Y MÉTODOS	20
2.1. Material de estudio.....	20
2.2. Variables de estudio	20
2.2. Diseño de Investigación	21
2.3. Métodos y técnicas	22
2.3.1. Elaboración del chocolate	22
2.3.2. Liofilización de los berries	22
2.3.3. Análisis de la capacidad antioxidante.....	23

2.3.4. Contenido Total de Fenoles.....	23
2.3.5. Análisis Reológico	24
2.3.6. Evaluación de Textura.....	24
2.3.7. Determinación del tamaño de partícula.....	25
2.4. Análisis de datos	25
III. RESULTADOS	26
IV. DISCUSIONES	33
V. CONCLUSIONES.....	39
VI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	40
ANEXOS	49

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Valores de las variables a evaluar con el diseño estadístico Central Compuesto Rotacional	21
Tabla 2. Diseño estadístico Central Compuesto Rotacional para optimizar tres variables independientes	21
Tabla 3. Valores de respuesta y optimizados para las propiedades fisicoquímicas de las muestras de chocolate con aguaymanto.....	26
Tabla 4. Coeficientes de regresión y valores de p para respuestas significativas	27
Tabla 5. Valores de respuesta y optimizados para las propiedades fisicoquímicas de las muestras de chocolate con mora.	28
Tabla 6. Coeficientes de regresión y valores de p para respuestas significativas	29
Tabla 7. Valores de respuesta y optimizados para las propiedades fisicoquímicas de las muestras de chocolate con sauco.	30
Tabla 8. Coeficientes de regresión y valores de p para respuestas significativas	31

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Superficie de respuesta de DPPH vs CSPA; CSIO	49
Figura 2. Superficie de respuesta de DPPH vs CSIO; TC	49
Figura 3. Superficie de respuesta de DPPH vs CSIO; TC	49
Figura 4. Superficie de respuesta de ABTS vs CSIO; TC	50
Figura 5. Superficie de respuesta de TPC vs C.SPA; CSIO	50
Figura 6. Superficie de respuesta de TPC vs CSPA; TC	50
Figura 7. Superficie de respuesta de TPC vs CSIO; TC	51
Figura 8. Superficie de respuesta de Dureza vs CSPA; TC.....	51
Figura 9. Superficie de respuesta de Dureza vs CSIO; TC.....	51
Figura 10. Superficie de respuesta de PSD vs CSPA; CSIO	52
Figura 11. Superficie de respuesta de DPPH vs CSPM; CSIO	52
Figura 12. Superficie de respuesta de DPPH vs CSPM; TC	52
Figura 13. Superficie de respuesta de ABTS vs CSPM; TC	53
Figura 14. Superficie de respuesta de ABTS vs CSPM; CSIO	53
Figura 15. Superficie de respuesta de TPC vs CSIO; TC	53
Figura 16. Superficie de respuesta de TPC vs CSPM; TC	54
Figura 17. Superficie de respuesta de TPC vs CSPM; CSIO	54
Figura 18. Superficie de respuesta de Dureza vs CSPM; CSIO	54
Figura 19. Superficie de respuesta de Dureza vs CSIO; TC.....	55
Figura 20. Superficie de respuesta de Dureza vs CSPM; TC	55
Figura 21. Superficie de respuesta de PSD vs CSPM; CSIO	55
Figura 22. Superficie de respuesta de PSD vs CSPM; TC	56
Figura 23. Superficie de respuesta DPPH vs CSIO; TC.....	56
Figura 24. Superficie de respuesta de DPPH vs CSPS; CSIO.....	56
Figura 25. Superficie de respuesta de DPPH vs CSPS; TC	57
Figura 26. Superficie de respuesta de ABTS vs CSPS; TC	57
Figura 27. Superficie de respuesta de TPC vs CSIO; TC	57
Figura 28. Superficie de respuesta de TPC vs CSPS; TC.....	58
Figura 29. Superficie de respuesta de TPC vs CSPS; CSIO.....	58
Figura 30. Superficie de respuesta de Viscosidad plástica de Casson vs CSPM; CSIO	58
Figura 31. Superficie de respuesta de Viscosidad plástica de Casson vs CSIO; TC	59

Figura 32. Superficie de respuesta de Dureza vs CSIO; TC.....	59
Figura 33. Superficie de respuesta de Dureza vs CSPS; CSIO.....	59
Figura 34. Superficie de respuesta de Dureza vs CSPS; TC.....	60
Figura 35. Superficie de respuesta de PSD vs CSPS; TC.....	60
Figura 36. Diagrama de flujo de la elaboración de chocolate oscuro	61
Figura 37. Tostado de los granos de cacao.	62
Figura 38. Descascarillado de los granos tostados	62
Figura 39. Molido de los nibs	62
Figura 40. Conchado y refinado.....	63
Figura 41. Templado del chocolate.....	63
Figura 42. Moldeado de los chocolates	63
Figura 43. Tabletas de chocolates oscuros.....	64

RESUMEN

Estudiamos el efecto de incorporar subproductos de aguaymanto (*Physalis peruviana*), mora (*Rubus ulmifolius*) y sauco (*Sambucus peruviana*) en tres concentraciones 2, 6 y 10%, aceite de sacha inchi en tres concentraciones (CSIO) 1, 3 y 5% y tres tiempos de conchado (TC) de 16, 20 y 24 horas, sobre el potencial funcional de los chocolates oscuros, para esto se optimizó las condiciones del proceso a través de la metodología de superficie de respuesta (RSM). Se evaluó las propiedades físicas y químicas, en el chocolate con subproductos de sauco al 7.7%, 1% de CSIO y 16 horas de TC, obtuvimos valores (54.53; 23.28 en puntuaciones pronosticadas para la actividad antioxidante DPPH y ABTS respectivamente), aumentando significativamente con respecto a los otros dos chocolates con subproductos de mora y aguaymanto. Para el TPC el chocolate con subproductos de sauco al 10%, CSIO al 5% y 16 horas de TC, se obtuvieron las puntuaciones más altas de 25.25 con respecto a los otros dos chocolates con subproductos de mora y aguaymanto. Por el contrario, la menor viscosidad plástica de Casson, lo obtuvo el chocolate con subproductos de aguaymanto al 2%, 3.02% de CSIO y 24 horas de TC con un valor de 2.24, con respecto a los otros dos chocolates con subproductos de mora y sauco, De igual forma, la menor dureza y PSD se obtuvo con el chocolate con subproductos de aguaymanto (2.45; 14.64, 5% de CSIO y 16 horas de TC, con valores de 5.52; 14.64 en puntuaciones pronosticadas respectivamente), con respecto a los otros dos chocolates con subproductos de mora y sauco. Además, la correlación de los factores declarados frente a las variables fue alto muy cercano a 1, indicando confiabilidad de los chocolates oscuros.

Palabras claves: chocolate oscuro, potencial funcional, subproductos de berries, aceite de sacha, tiempo de conchado.

ABSTRACT

We studied the effect of incorporating by-products of golden gooseberry (*Physalis peruviana*), blackberry (*Rubus ulmifolius*) and elder (*Sambucus peruviana*) in three concentrations 2, 6 and 10%, sachu inchi oil in three concentrations (CSIO) 1, 3 and 5% and three conching times (TC) of 16, 20 and 24 hours, on the functional potential of dark chocolates, for which the process conditions were optimized through the response surface methodology (RSM). The physical and chemical properties were evaluated, in the chocolate with 7.7% elderberry by-products, 1% CSIO and 16 hours of TC, we obtained values (54.53; 23.28 in predicted scores for the antioxidant activity DPPH and ABTS respectively), increasing significantly with respect to the other two chocolates with blackberry and goldenberry by-products. For the TPC, the chocolate with 10% elderberry by-products, 5% CSIO and 16 hours of TC, the highest scores of 25.25 were obtained with respect to the other two chocolates with blackberry and goldenberry by-products. On the contrary, the lowest plastic Casson viscosity was obtained by the chocolate with 2% goldenberry by-products, 3.02% CSIO and 24 hours of TC with a value of 2.24, with respect to the other two chocolates with blackberry and blackberry by-products. sauco, Similarly, the lowest hardness and PSD was obtained with chocolate with goldenberry by-products (2.45; 14.64, 5% of CSIO and 16 hours of TC, with values of 5.52; 14.64 in predicted scores respectively), with respect to the other two chocolates with blackberry and elderberry by-products. In addition, the correlation of the declared factors against the variables was high, very close to 1, indicating reliability of the dark chocolates.

Keywords: dark chocolate, functional potential, berry by-products, sachu oil, conching time.

I. INTRODUCCIÓN

El chocolate es uno de los alimentos más populares en todo el mundo. Tanto la industria y la investigación están buscando soluciones para reducir las características no deseadas del chocolate, por ejemplo, el alto contenido de azúcar, las grasas entre otros, además se requiere mejorar el alto contenido de polifenoles ya que esta es la principal característica del chocolate. Por lo tanto, el objetivo de esta investigación es desarrollar el potencial funcional de los chocolates oscuros enriquecidos con subproductos de berries y aceite de sachá inchi, alimentos muy altos en antioxidantes y bajos en grasas (Barišić et al., 2020).

El chocolate contiene manteca de cacao (CB) como componente central del bloque líquido de la fase continua, además de la pasta de cacao, el azúcar, lecitina y otros componentes como fase dispersa (Sun et al. 2021). Entre ellos, la fase continua le da al chocolate una estructura en forma de red para mantener la posición de la fase dispersa, que determina las propiedades físicas, textura, reológicas y la distribución del tamaño de partícula del chocolate (Żyżelewicz et al., 2018).

Los alimentos funcionales se definen como las sustancias que proporcionar beneficios en la salud de los consumidores, por ende, proporcionan un mejor estado de salud y bienestar en las personas (Ordoñez et al., 2019). Las reacciones de los consumidores sobre los alimentos funcionales no solo dependen de su salubridad percibida, sino también de la calidad sensorial, precio y conveniencia, como cualquier producto convencional (Ares et al., 2010). Normalmente, un alimento comercializado como funcional, contiene un ingrediente agregado desarrollado tecnológicamente con un beneficio específico para la salud (Niva, 2007). Es importante señalar que, en la tecnología alimentaria, la fortificación y el enriquecimiento de alimentos tienen significados diferentes, los alimentos enriquecidos son aquellos con ingredientes añadidos, que originalmente no contenían. Por el contrario, la expresión de enriquecimiento es aplicable cuando los nutrientes añadidos estaban originalmente en el alimento (Hanczné et al., 2021).

En la elaboración de chocolates se pueden utilizar sustancias bioactivas como es el ácido fenólico, flavonoides, polifenoles, vitaminas, entre otros. Estas sustancias se encuentran en forma natural, proporcionando beneficios más allá del valor nutricional básico del producto (Biesalski et al., 2009). Además, el compuesto bioactivo agregado a la matriz

de los alimentos debe mantener su sustancia química original, estructura y la funcionalidad durante todo el período de vida útil (Botelho et al., 2014).

Los amantes del chocolate quieren un producto funcional que ofrezca beneficios probados (Konar et al., 2016). Una alternativa para el enriquecimiento del chocolate oscuro es el uso de berries como los arándanos, las moras, las cerezas y las bayas de saúco, se conocen como fuentes tradicionales ricas en compuestos bioactivos (Mikulic et al., 2016). Dentro de su composición, los berries tienen compuestos fenólicos y antioxidantes con efectos beneficiosos para la salud como lo demuestran los estudios *in vitro* e *in vivo* (Bhaswant et al., 2017). El Sauco (*Sambucus peruviana*) a la fecha, existe escasa información sobre el perfil metabólico, las propiedades bioactivas y sus características fisicoquímicas (Porrás et al., 2020). La mora (*Rubus ulmifolius*) muestra algunos de los niveles más altos de antocianinas. Estos flavonoides son considerados el principal responsable de la actividad antioxidante. Los pigmentos responsables de su típico color son las antocianinas, muy conocidos y estudiados como potenciales antioxidantes (Ferreira et al. 2015). El aguaymanto (*Physalis peruviana*) contiene compuestos bioactivos como polifenoles, provitamina A, vitamina C, vitamina E y algunos complejos de vitamina B, fibra, proteína y fósforo, los contenidos en este berrie son excepcionalmente altos (Jurado et al. 2016). El contenido de compuestos fenólicos totales y la actividad antioxidante es más elevado en la cáscara de las frutas en comparación con la pulpa (Kunradi et al., 2009) y (Ajila et al., 2007). Sin embargo, pocos estudios se han realizado sobre la actividad antioxidante de semillas de frutas tropicales y subtropicales. Para lograr la utilización completa de tales frutas, sería beneficioso si las semillas pudieran usarse como fuente de aditivos e ingredientes alimentarios naturales (Soong y Barlow, 2004). Para la presente investigación los subproductos de berries se liofilizaron previamente antes de ser incorporados al chocolate (Ramírez, 2006) indica en su libro “Liofilización de alimentos” que este proceso es considerado como el mejor método de deshidratación, conservando las características organolépticas y nutritivas de los alimentos, sin alterar la estructura fisicoquímica.

Ordoñez et al. (2019) presenta resultados sobre el contenido de polifenoles totales, encontrando una mayor cantidad en semillas y piel de uva, en comparación con la pulpa del fruto entero. En la investigación de (Garzón et al., 2020) el mayor contenido de fenoles se encontró en el orujo en comparación con el contenido del fruto entero de bayas

(758,6 ± 62,3 mg GAE / 100 g FW), esto se puede explicar por la presencia de semillas y cáscaras prensadas, que contienen mayor cantidad de compuestos fenólicos, confirmando que las capas externas de la fruta son ricas en polifenoles. En otro estudio indican que los valores más altos en actividad de eliminación de radicales, capacidad antioxidante y reducción férrica se registraron en grosellas negras, moras y arándanos; en la concentración de polifenoles destacaron los arándanos y las moras (Zorzi et al., 2020).

Menciona Sun et al. (2021) que debido a los limitados recursos de CB y la creciente demanda de productos de cacao, su costo ha aumentado entre todas las grasas vegetales. Por lo tanto, se han desarrollado los sustitutos con una variedad de funciones para reemplazar parcialmente o completamente el CB sin causar un efecto significativo en su composición original. Legalmente las grasas vegetales están permitidas hasta un 5% en la UE para venderse como chocolate (Afoakwa et al., 2008). Por lo tanto, en esta investigación se desea sustituir la manteca de cacao por ASI, donde (Sanchez Reinoso et al., 2020) menciona que los compuestos fenólicos predominantes encontrados en los extractos de la cáscara de sacha inchi (subproducto subutilizado en el procesamiento del aceite) fueron 3,4-dihidroxi-benzaldehído, hidroxí-4-cromona y sus derivados. Estos resultados indican que la cáscara de sacha inchi es una fuente promisoría de compuestos naturales con un alto potencial en actividad antioxidante y omegas 3 y 6. Según los autores (Medina et al., 2021) debido a la posible pérdida de contenido fenólico total y la capacidad antioxidante durante las condiciones de procesamiento del chocolate oscuro, se intentó aumentar o al menos minimizar la pérdida utilizando SIO como sustituto de CB. La capacidad antioxidante y el contenido fenólico total de las 4 muestras de chocolates aumentó a medida que aumentaba el porcentaje SIO ($p < 0.05$), demostrando que el sacha inchi es un alimento potencialmente funcional para ser agregado al chocolate.

Se han empleado diferentes metodologías para evaluar la capacidad antioxidante de las frutas, de los cuales FRAP, ABTS, DPPH y ORAC son los más utilizados Sánchez Moreno y Larraur (1998). Se recomienda que al menos dos de estos ensayos se combinen para proporcionar una imagen confiable de la capacidad antioxidante total de un alimento. Para determinar el contenido total de fenoles (Pérez Jiménez et al., 2008 y Węglińska et al., 2020) trabajaron por el método de Folin±Ciocalteu utilizando un espectrómetro.

Según Pedan et al. (2017) cuanto más tiempo se realiza el conchado, más suave es el chocolate durante el consumo. Generalmente, los periodos de conchado pueden variar

desde unas horas a días. (Beckett, 2008) realizó esta operación en 4 diferentes tiempos 8, 12, 16 y 20 horas y determinaron que a las 20 horas fue el de mayor aceptación y dentro del rango del tamaño de partícula. Menciona (Shire et al., 2019) que el tamaño de partículas tiene influencia en la reología como en la textura del chocolate. Además, existe una relación directa entre el tiempo de conchado y el tamaño de partícula, un tamaño de partícula de 30 μm el chocolate se percibe como "arenoso o áspero" en la boca, en cambio un chocolate molido hasta un tamaño de partícula menor de 19 o 20 μm tendrá un sabor y una textura más cremosa.

Hasta el momento no existe información detallada sobre los compuestos bioactivos en chocolates oscuro, por lo que, el presente estudio fue investigar el potencial funcional de este producto en relación con el enriquecimiento con subproductos de berries y aceite de sachá inchi.

II. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Material de estudio

La materia prima como es el cacao se obtuvo de la asociación de productores APROCAM con una humedad de 14% de la variedad criollo, en cuanto a los berries fueron recolectados de los sembríos de los productores en estado maduro, se seleccionaron y se realizaron una limpieza. Así mismo, se separaron las pepas y cascaras de la pulpa y llevados a liofilización. El aceite de Sacha Inchi se obtuvo del mercado local en forma procesada, los chocolates se elaboraron en el laboratorio de ingeniería de alimentos y Postcosecha de la Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas. Posteriormente llevados al laboratorio de biotecnología de la facultad de Ingeniería y Ciencias Agrarias, para su evaluación.

2.2. Variables de estudio

Variables independientes

- Concentración de subproductos de berries
- Concentración del aceite de sachá inchi
- Tiempo de conchado

Variables dependientes

- Actividad antioxidante

- Contenido total de fenoles
- Viscosidad Plástica de Casson
- Dureza
- Tamaño de partícula

2.2. Diseño de Investigación

En la presente investigación se empleó una metodología de superficie de respuesta (MSR) con un diseño central giratorio compuesto (CCD) de tres niveles, utilizado para los estudios. Los escenarios experimentales se generaron con tres factores: concentración de subproductos de mora, sauco y aguaymanto (2,6 y 10%), concentración de aceite de sachá inchi (1, 3 y 5%) y tiempo de conchado (16, 20 y 24 horas). Se llevaron a cabo acciones en todos los puntos del diseño. Se generó 20 corridas con tres puntos centrales (0, 0, 0). Todos los experimentos se realizaron por triplicado en todos los puntos del experimento.

Tabla 1. Valores de las variables a evaluar con el diseño estadístico Central Compuesto Rotacional

Valor de la variable	X1: Concentración del subproducto de berries %	X2: Concentración de aceite de sachá inchi %	X3: Tiempo de conchado (horas)
Alto (+)	10	5	24
Medio (0)	6	3	20
Bajo (-)	2	1	16

Tabla 2. Diseño estadístico Central Compuesto Rotacional para optimizar tres variables independientes

corridas	Variables		
	X1	X2	X3
1	-1	-1	-1
2	1	1	-1
3	1	-1	1
4	0	0	0
5	0	0	0
6	1	-1	-1

7	-1	1	-1
8	-1	-1	1
9	1	1	1
10	0	0	0
11	0	0	0
12	-1	0	0
13	1	0	0
14	0	-1	0
15	0	1	0
16	0	0	-1
17	0	0	1
18	0	0	0
19	0	0	0
20	-1	-1	-1

2.3. Métodos y técnicas

2.3.1. Elaboración del chocolate

Se siguió el proceso según Afoakwa, E., Paterson, A., y Fowler, M. (2007) con algunas modificaciones, a las almendras de cacao se les hizo una limpieza, selección y clasificación antes del proceso. Así mismo los granos de cacao fueron llevados a un secador de bandejas a 130°C por 30 minutos, luego se llevó a un descascarillador. Los nibs obtenidos pasaron por un molino de granos obteniendo una pasta de cacao. En un refinador de dos rodillos, se agregó la pasta, azúcar, manteca de cacao, SIO y los subproductos de berries liofilizados, durante 16, 20 y 24 horas. Posteriormente, el chocolate se sometió a un proceso de templado y moldeado. Las muestras de chocolate se envasaron en papel aluminio y almacenados en refrigeración para su análisis fisicoquímico.

2.3.2 Liofilización de los berries

Los berries en estado maduro se procesaron hasta obtener un jugo, utilizando una licuadora. Las cáscaras y pepas de cada berrie se recolectaron durante el exprimido y llevadas a ultra congelación a -75 °C por 48 horas. Luego fueron llevados a un equipo Liofilizador durante 72 horas, se molieron en un molino de bolas (Retch, MM200, Alemania) con una humedad de 2.7 %.

2.3.3. Análisis de la capacidad antioxidante

Los análisis de antioxidantes se realizaron con ensayos de DPPH y ABTS $\cdot+$, todas las muestras se realizaron por triplicado.

2.3.3.1. Ensayo de DPPH

Según Brand Williams et al. (1995), Rios de Souza et al. (2014) y Hu et al. (2016), se realizó el siguiente procedimiento, la solución de DPPH (600 l M) se diluyó con etanol para obtener una absorbancia de $0,7 \pm 0,02$ unidades a 517 nm. Los extractos de frutas (0,1 mL) se dejaron reaccionar con 3,9 mL de la solución del radical DPPH durante 30 minutos en la oscuridad y la disminución de la absorbancia de la solución resultante se controló. La absorbancia de la mezcla de reacción se midió a 517 nm. Los resultados se expresaron en μmol de equivalente de Trolox /g de muestra ($\mu\text{mol Trolox} / \text{g DFW}$). Cada muestra fue analizada por triplicado.

2.3.3.2. Ensayos ABTS $\cdot+$

Para el ensayo ABTS $\cdot+$, se siguió el procedimiento bajo el método de Re et al. (1999) y Rios de Souza et al. (2014) con algunas modificaciones menores. El catión radical ABTS se genera por la reacción de 5 ml de solución acuosa de ABTS $\cdot+$ (7 mM) con 88 μm de 140 mM (concentración final 2,45 mM) persulfato de potasio. La mezcla se mantuvo en la oscuridad durante 16 h antes de su uso y luego se diluyó con etanol hasta obtener una absorbancia de $0,7 \pm 0,02$ unidades a 734 nm utilizando un espectrofotómetro. Los extractos (30 μm) o un sub-(Trolox) reaccionaron con 3 ml del producto resultante de solución de radicales ABTS $\cdot+$ con un color azul-verde en la oscuridad. Después de 6 minutos se midió la absorbancia a 734 nm. Se utilizaron para la calibración concentraciones conocidas de Trolox. Los resultados se expresan como micromoles de equivalentes de Trolox (TEs) por gramo de peso fresco (1 mol de TEs / g de fw).

2.3.4. Contenido Total de Fenoles

2.3.4.1. Extracción de los fenoles

Para adquirir los extractos, se pesó un gramo de muestra y se agrega 10 ml de metanol-agua (80:20, v/v) conforme a lo descrito por (Díaz de Cerio et al., 2016). Posteriormente, el extracto fue llevado a la centrifuga a 5000 rpm durante 10 minutos, luego se filtró con

papel filtro y el sobrenadante se guardó en refrigeración. El extracto preparado se utilizó para el análisis del contenido total de fenoles y la capacidad antioxidante.

2.3.4.2. Fenoles totales

El contenido fenólico total (TPC) se determinó siguiendo los procedimientos de Singleton (1999) con algunas modificaciones. Se agregó extracto 0,1 ml y se mezcló con 2.5 ml de reactivo de Folin-Ciocalteu, luego se añadieron 2 ml de solución saturada de carbonato de sodio. Los reactivos se mezclaron agitando vigorosamente durante 10s. con ayuda de un vortex. La mezcla se dejó reposar en oscuridad durante 2 h antes de la determinación de la absorbancia a 760 nm usando un espectrofotómetro. Una curva patrón de ácido gálico (10-100 $\mu\text{g/mL}$) en 70% de metanol se diluyó (10 -100 $\mu\text{g/mL}$) para crear una curva de calibración. El contenido fenólico total se expresa en mg de gálico equivalentes de ácido/ g de muestra (mg GAE / g DFW). Todas las muestras se realizaron por triplicado.

2.3.5. Análisis Reológico

La medición reológica se realizó para determinar las propiedades de flujo del chocolate. Las mediciones se realizaron utilizando un Reómetro (Anton Paar, Modelo MCR 92, Austria), equipado con una geometría de cilindro concéntrico. El chocolate se fundió a 50°C en una cocina durante 10 minutos antes de la medición. El chocolate derretido se colocó entre un cono y una placa. La temperatura del reómetro se ajustó a 40°C. El procedimiento de medición se basó en el método 209 (ICA, 2000) y (Abdul Halim et al., 2018) con modificaciones menores. Cada medición se repitió por triplicado. Los resultados obtenidos fue viscosidad plástica de Casson (CPV) en Pa, s.

2.3.6. Evaluación de Textura

La dureza de los chocolates se midió utilizando un Analizador de Textura (Brookfield, modelo CT3, EE. UU) según Brookfield Engineering Laboratories. Inc. (2009) y Alvis, Pérez, y Arrazola (2011). El instrumento se configuro para medir la fuerza en compresión, equipado con una sonda TA2/1000 Cono 30 mmd, 60° y celda de carga de 5 kg durante un ciclo de penetración registrándose una curva de fuerza - tiempo. El ensayo se realizó en muestras de dimensiones de 55 x 50 x 0,7 (cm). La velocidad de prueba se ajustó a 10.0 mm/s.

2.3.7. Determinación del tamaño de partícula

De acuerdo con Afoakwa et al. (2008) se usará un analizador de tamaño de partícula (PSD) modelo Anton Paar, Austria. Una cantidad de 200 mg de muestra, será colocada en el dispersor del analizador. La distribución del tamaño de partícula será caracterizada en las curvas de distribución. Los parámetros medidos serán el área específica de la superficie medio de la partícula (D50).

2.4. Análisis de datos

Se utilizó un diseño Central Compuesto Rotacional de tres niveles, utilizado para los estudios de la metodología de superficie de respuesta (RSM). Los escenarios experimentales se generaron optimizando tres factores utilizando un software Minitab versión 17 (EE. UU).

III. RESULTADOS

3.1. Optimización de los factores del chocolate oscuro con subproductos de Aguaymanto y SIO.

En la Tabla 3, se presenta los valores optimizados de los 3 factores CSPA, CSIO y TC, obteniendo para el ensayo de DPPH un 45.85 umol TE/gm, el ensayo de ABTS·+ 19.62 umol TE/gm y el TPC 20.13 mg GAE/g muestra, estos valores se obtuvieron con los porcentajes más altos de CSPA y CSIO y el menor TC. La CPV tuvo un valor optimizado de 2.24 Pa, s con el porcentaje menor de CSPB, el porcentaje intermedio de CSIO y el mayor TC. La dureza tuvo un valor optimizado de 5.52 N con los porcentajes más bajos de los 3 factores. El PSD tuvo un valor optimizado de 14.64 micras, con el porcentaje más altos de CSPA y CSIO, en el TC fue el menor.

Tabla 3. Valores de respuesta y optimizados para las propiedades fisicoquímicas de las muestras de chocolate con aguaymanto.

Variables	puntuaciones pronosticadas	CSPA (%)	CSIO (%)	TC (h)	Deseabilidad Compuesta
DPPH	45.85	10	5	16	1.0000
ABTS·+	19.62	10	5	16	1.0000
TPC	20.13	10	5	16	1.0000
CPV	2.24	2	3.02	24	0.8800
Dureza	5.52	2.40	1	16	0.7132
PSD	14.64	10	5	16	0.8827

CSPA: concentración de subproductos de aguaymanto; CSIO: concentración de aceite de sachá inchi; TC: tiempo de conchado, DPPH: 2,2-difenil-1-picrilhidracilo; ABTS·+: ácido 2,2'-azino-bis-3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico; TPC: contenido fenólico total; CPV: viscosidad plástica de Casson; PSD: determinación del tamaño de partícula.

La Tabla 4, contiene los resultados para los ensayos de DPPH donde la CSPA y CSIO son significativos. En la ecuación cuadrática los factores CSIO y TC son significativos. En las combinaciones CSPA*CSIO y CSIO* TC son significativos, también nos muestra que existe confiabilidad en los datos reflejados en el R^2 con un índice de 89,14% teniendo un claro acercamiento a 1. Para el ensayo ABTS·+ en la ecuación lineal y cuadrática el factor CSPA y CSIO fueron significativos, en las combinaciones los factores CSPA*CSIO y CSIO*TC son significativos frente a la variable, los resultados nos muestran confiabilidad en los datos reflejados el R^2 de 83.03%. Por otro lado, para el TPC en la ecuación lineal se encontró una diferencia significativa en los tres factores, en la ecuación cuadrática el factor TC es significativa. En las tres combinaciones se encontró una diferencia significativa, los resultados nos muestran confiabilidad reflejados en el R^2

un índice de 89.43%. En el CPV el único factor que tiene diferencia significativa es CSPA, nos muestra que existe confiabilidad en los datos reflejados en el R^2 con un índice de 98.93%. Para dureza en la ecuación lineal y cuadrática el factor CSPA y CSIO tienen diferencia significativa. En sus combinaciones los factores CSPA*TC y CSIO*TC son significativos, nos muestra que existe confiabilidad en los datos reflejados en el R^2 con un índice de 79.15%. En los resultados de PSD para la ecuación lineal los tres factores tienen diferencias significativas, en la ecuación cuadrática CSPA es significativa, en las combinaciones CSPA* CSIO son significativos, con el valor de R^2 con un índice de 92.79%, demostrando una alta confiabilidad.

Tabla 4. Coeficientes de regresión y valores de p para respuestas significativas

Respuestas	Factores	Coeficiente	Valor de p	
DPPH	CSPA(L)	12.772	0.000	$R^2=89.14\%$
	CSIO(L)	1.567	0.035	F=35.83
	CSIO*CSIO(Q)	4.36	0.003	P=0.000
	TC*TC(Q)	3.20	0.026	
	CSPA*CSIO	3.500	0.000	
	CSIO*TC	1.708	0.040	
ABTS·+	CSPA(L)	3.400	0.000	$R^2=83.03\%$
	CSIO(L)	-0.034	0.027	F=21.34
	CSPA*CSPA(Q)	2.204	0.002	P=0.000
	CSIO*CSIO(Q)	2.454	0.000	
	CSPA*CSIO	1.979	0.000	
	CSIO*TC	1.146	0.004	
TPC	CSPA(L)	1.0933	0.000	$R^2=89.43\%$
	CSIO(L)	0.6319	0.000	F=36.94
	TC(L)	-0.4578	0.000	P=0.000
	TC*TC(Q)	0.931	0.000	
	CSPA*CSIO	0.3907	0.000	
	CSPA*TC	-0.2167	0.018	
	CSIO*TC	-0.3472	0.000	
CPV	CSPA(L)	-0.2150	0.000	$R^2=98.93\%$
				F=2.78 P=0.007
Dureza	CSPA(L)	-0.8061	0.000	$R^2=79.15\%$
	CSIO(L)	-0.3139	0.000	F=16.56
	CSPA*CSPA(Q)	-0.599	0.000	P=0.000
	CSIO*CSIO(Q)	0.474	0.002	
	CSPA*TC	0.2578	0.004	

	CSIO*TC	0.3036	0.001	
PSD	CSPA(L)	3.359	0.000	R ² =92.79%
	CSIO(L)	0.604	0.000	F=56.17
	TC(L)	-1.121	0.000	P=0.000
	CSPA*CSPA(Q)	-1.946	0.000	
	CSPA*CSIO	0.619	0.001	

L: Lineal; C: Cuadrática.

CSPA: concentración de subproductos de aguaymanto; CSIO: concentración de aceite de sachá inchi; TC: tiempo de conchado, DPPH: 2,2-difenil-1-picrilhidracilo; ABTS·+: ácido 2,2'-azino-bis-3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico; TPC: contenido fenólico total; CPV: viscosidad plástica de Casson; PSD: determinación del tamaño de partícula. Estadísticamente significativa en < 0.05.

3.2. Optimización de los factores del chocolate oscuro con subproductos de Mora y SIO.

En la Tabla 5, se presenta los valores optimizados de los 3 factores CSPM, CSIO y TC, obteniendo para el ensayo de DPPH un 49.91 umol TE/gm, el ensayo de ABTS·+ 20.86 umol TE/gm y TPC 21.02 mg GAE/g muestra, estos valores se obtuvieron con los porcentajes más altos de CSPA y CSIO, en cambio en el TC fue el menor. La CPV tuvo un valor optimizado de 3.58 Pa, s con el porcentaje menor de CSPB, porcentaje intermedio de CSIO y el mayor TC. La dureza tuvo un valor optimizado de 6.73 N con el porcentaje más bajo de CSPM, el porcentaje más alto en CSIO y el mayor TC. El PSD tuvo un valor optimizado de 17.51 micras, con los valores más bajos de los factores.

Tabla 5. Valores de respuesta y optimizados para las propiedades fisicoquímicas de las muestras de chocolate con mora.

Variables	puntuaciones pronosticadas	CSPM (%)	CSIO (%)	TC (h)	Deseabilidad Compuesta
DPPH	49.91	10	5	16	0.9767
ABTS·+	20.86	10	5	16	0.9262
TPC	21.02	10	5	16	0.9824
CPV	3.58	2	2.94	21	0.1842
Dureza	6.73	2	5	24	1
PSD	17.51	2	1	16	1

CSPA: concentración de subproductos de mora; CSIO: concentración de aceite de sachá inchi; TC: tiempo de conchado, DPPH: 2,2-difenil-1-picrilhidracilo; ABTS·+: ácido 2,2'-azino-bis-3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico; TPC: contenido fenólico total; CPV: viscosidad plástica de Casson; PSD: determinación del tamaño de partícula.

En la tabla 6, observamos los resultados de coeficientes de regresión y los valores de p para las respuestas significativas, en la ecuación cuadrática el factor CSIO es significativa frente a los otros factores. Para el ensayo de ABTS·+ en la ecuación lineal y cuadrática los tres factores son significativos. En sus combinaciones los factores CSPM*CSIO y

CSPM* TC tienen diferencia significativa. Por otro lado, el TPC en la ecuación lineal se encontró una diferencia significativa en las tres variables, todo lo contrario, en la ecuación cuadrática solo un factor CSIO fue significativo, en las combinaciones de igual manera los tres factores son significativos. El CPV en la ecuación lineal el único factor CSPM tiene diferencia significativa. En la Dureza encontramos que, en la ecuación lineal la CSPM y CSIO son significativos. En la ecuación cuadrática TC tuvo una diferencia significativa frente a los otros dos factores. En las combinaciones las tres variables se encontraron diferencias significativas. Para el PSD, en la ecuación lineal el factor CSPM y el TC se encontraron diferencias significativas, sin embargo, en la ecuación cuadrática los tres factores son significativos. Las combinaciones de CSPM*CSIO y CSPM*TC se encontraron diferencias significativas.

Tabla 6. Coeficientes de regresión y valores de p para respuestas significativas

Respuestas	Factores	Coeficiente	Valor de p	
DPPH	CSPM(L)	7.550	0.000	R ² =91.01%
	TC(L)	-2.719	0.000	F=44.17
	CSIO*CSIO(Q)	5.623	0.000	P=0.000
	CSPM*CSIO	1.476	0.002	
	CSPM*TC	-2.448	0.000	
ABTS·+	CSPM(L)	3.400	0.000	R ² =88.60%
	CSIO(L)	-0.034	0.000	F=33.93
	TC(L)	-0.779	0.000	P=0.000
	CSPM*CSPM(Q)	2.204	0.020	
	CSIO*CSIO(Q)	2.454	0.000	
	TC*TC(Q)	1.343	0.022	
	CSPM*CSIO	1.979	0.000	
	CSPM*TC	-0.618	0.000	
TPC	CSPM(L)	1.3289	0.000	R ² =97.89%
	CSIO(L)	0.4407	0.000	F=202.78
	TC(L)	-0.4322	0.000	P=0.000
	CSIO*CSIO(Q)	0.1393	0.031	
	CSPM*CSIO	-0.1843	0.000	
	CSPM*TC	-0.3370	0.000	
	CSIO*TC	-0.2028	0.000	
CPV	CSPM(L)	-0.2150	0.000	R ² =98.93% F=0.01 P=0.454
Dureza	CSPM(L)	0.2803	0.000	R ² =91.10%
	CSIO(L)	-1.1876	0.000	F=44.69
	TC*TC(Q)	0.352	0.006	P=0.000

	CSPM*CSIO	0.2580	0.001	
	CSPM*TC	-0.5130	0.000	
	CSIO*TC	-0.2978	0.000	
PSD	CSPM(L)	4.491	0.000	R ² =98.05%
	TC(L)	-1.765	0.000	F=218.95
	CSPM*CSPM(Q)	2.732	0.000	P=0.000
	CSIO*CSIO(Q)	1.308	0.000	
	TC*TC(Q)	3.602	0.000	
	CSPM*CSIO	0.323	0.036	
	CSPM*TC	0.871	0.000	

L: Lineal; C: Cuadrática.

CSPA: concentración de subproductos de mora; CSIO: concentración de aceite de sachá inchi; TC: tiempo de conchado, DPPH: 2,2-difenil-1-picrilhidracilo; ABTS·+: ácido 2,2'-azino-bis-3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico; TPC: contenido fenólico total; CPV: viscosidad plástica de Casson; PSD: determinación del tamaño de partícula. Estadísticamente significativa en < 0.05.

3.3. Optimización de los factores del chocolate oscuro con subproductos de Sauco y SIO.

En la Tabla 7, se presenta los valores optimizados de los 3 factores CSPS, CSIO y TC obteniendo para el ensayo de DPPH un 454.53 umol TE/gm y el ensayo de ABTS·+ 23.28 umol TE/gm estos valores se obtuvieron con los porcentajes más altos de CSPA y el porcentaje más bajo para CSIO y TC. Para el TPC fue 25.25 mg GAE/g muestra, con los porcentajes más altos para CSPS y TC y el menor TC. La CPV tuvo un valor optimizado de 2.62 Pa, s con el porcentaje menor de CSPS, porcentaje menor de CSIO y el menor TC. La dureza tuvo un valor optimizado de 7.24 N con el porcentaje alto de CSPM, el porcentaje más bajo en CSIO y el mayor TC. El PSD tuvo un valor optimizado de 20.28 micras, con los valores más bajos de los 3 factores.

Tabla 7. Valores de respuesta y optimizados para las propiedades fisicoquímicas de las muestras de chocolate con sauco.

Variables	puntuaciones pronosticadas	CSPS (%)	CSIO (%)	TC (h)	Deseabilidad Compuesta
DPPH	54.53	7.66	1	16	1
ABTS·+	23.28	7.58	1	16	1
TPC	25.25	10	5	16	0.9881
CPV	2.62	8.95	1	16	0.8582
Dureza	7.24	7.25	1	24	1
PSD	20.28	2	1	16	0.9454

CSPA: concentración de subproductos de sauco; CSIO: concentración de aceite de sachá inchi; TC: tiempo de conchado, DPPH: 2,2-difenil-1-picrilhidracilo; ABTS·+: ácido 2,2'-azino-bis-3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico; TPC: contenido fenólico total; CPV: viscosidad plástica de Casson; PSD: determinación del tamaño de partícula.

En la Tabla 8, observamos los resultados para el ensayo de DPPH en la ecuación lineal, cuadrática y sus combinaciones los tres factores tienen diferencias significativas. En el ensayo de ABTS·+ la ecuación lineal el factor de CSPS y CSIO son significativos, en la ecuación cuadrática los tres factores son significativos y en sus combinaciones CSPS*TC son significativos. Por otro lado, para el TPC todos los factores se encontraron significativos. En los resultados para CPV, encontramos que en la ecuación lineal y cuadrática los tres factores son significativos. En la combinación de CSIO*TC se encontró diferencia significativa. En la Dureza se encuentran diferencias significativas en los tres factores para la ecuación lineal, en la ecuación cuadrática la CSPS y CSIO tuvieron diferencia significativa, para las combinaciones en los tres factores se encontraron diferencias significativas. Para el PSD los factores de CSPS y TC tienen diferencias significativas en la ecuación lineal, en la ecuación cuadrática los tres factores son significativos. En las combinaciones CSPS*CSIO y CSPS*TC son significativos.

Tabla 8. Coeficientes de regresión y valores de p para respuestas significativas

Respuestas	Factores	Coeficiente	Valor de p	
DPPH	CSPS(L)	4.678	0.000	R ² =90.50%
	CSIO(L)	-0.675	0.039	F=41.58
	TC(L)	-2.328	0.000	P=0.000
	CSPS*CSPS(Q)	-5.845	0.000	
	CSIO*CSIO(Q)	2.919	0.000	
	TC*TC(Q)	1.794	0.005	
	CSPS*CSIO	2.017	0.000	
	CSPS*TC	-2.219	0.000	
	CSIO*TC	1.358	0.000	
ABTS·+	CSPS(L)	1.703	0.000	R ² =81.94%
	CSIO(L)	-0.372	0.042	F=19.80
	CSPS*CSPS(Q)	-3.253	0.000	P=0.000
	CSIO*CSIO(Q)	0.958	0.008	
	TC*TC(Q)	2.097	0.000	
	CSPS*TC	-0.961	0.000	
TPC	CSPS(L)	0.9619	0.000	R ² =98.36%
	CSIO(L)	0.1630	0.000	F=262.05
	TC(L)	-0.2093	0.000	P=0.000
	CSPS*CSPS(Q)	0.8898	0.000	
	CSIO*CSIO(Q)	-0.1269	0.006	
	TC*TC(Q)	0.1231	0.007	
	CSPS*CSIO	0.2130	0.000	
	CSPS*TC	-0.0880	0.001	

	CSIO*TC	-0.1472	0.000	
CPV	CSPS(L)	0.1497	0.000	R ² =93.42%
	CSIO(L)	-0.1163	0.000	F=61.95
	TC(L)	-0.0533	0.000	P=0.000
	CSPS*CSPS(Q)	-0.1321	0.000	
	CSIO*CSIO(Q)	0.0612	0.024	
	TC*TC(Q)	0.2662	0.000	
	CSIO*TC	0.2187	0.000	
Dureza	CSPS(L)	0.2640	0.003	R ² =83.00%
	CSIO(L)	-0.8647	0.000	F=21.30
	TC(L)	0.4680	0.000	P=0.000
	CSPS*CSPS(Q)	-0.422	0.013	
	CSIO*CSIO(Q)	1.035	0.000	
	CSPS*CSIO	-0.3088	0.002	
	CSPS*TC	-0.3146	0.002	
	CSIO*TC	-0.2379	0.015	
PSD	CSPS(L)	5.589	0.000	R ² =97.25%
	TC(L)	-1.854	0.000	F=154.20
	CSPS*CSPS(Q)	2.732	0.000	P=0.000
	CSIO*CSIO(Q)	2.000	0.000	
	TC*TC(Q)	3.966	0.000	
	CSPS*CSIO	0.748	0.001	
	CSPS*TC	0.844	0.000	

L: Lineal; C: Cuadrática.

CSPA: concentración de subproductos de sauco; CSIO: concentración de aceite de sachá inchi; TC: tiempo de conchado, DPPH: 2,2-difenil-1-picrilhidracilo; ABTS-+: ácido 2,2'-azino-bis-3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico; TPC: contenido fenólico total; CPV: viscosidad plástica de Casson; PSD: determinación del tamaño de partícula. Estadísticamente significativa en < 0.05.

IV. DISCUSIONES

La determinación de la capacidad antioxidante de diferentes productos es cada vez más de interés científico. Sin embargo, un método estandarizado para la determinación de propiedades antioxidantes de ciertos alimentos no se ha establecido, siendo recomendable utilizar más de un método para evaluar la capacidad antioxidante. ABTS DPPH, FRAP y ORAC son los métodos más comunes y es recomendado que al menos dos ensayos se combinen, de modo que proporcionen información completa sobre la capacidad antioxidante total de un alimento, en nuestra investigación se trabajó con dos ensayos DPPH y ABTS (Todorovic et., al 2015). Para (Frankel y Meyer, 2000) los diferentes tipos de compuestos fenólicos que se encuentran en las muestras responden diferente en los análisis de Dpph. Por lo tanto, las muestras con mayor contenido de cacao podrían tener valores menores en Dpph y las muestras con valores más altos de antioxidantes podrían tener valores más bajos de TPC. La adición de CSPB, CSIO y el TC en los chocolates oscuros, tuvieron un efecto significativo en la actividad antioxidante. En la investigación de (Todorovic et al., 2015) realizó chocolates oscuros con frambuesas donde obtuvo resultados para Dpph de 77.3 y 76.3 mM TE/g y por Abts 81.3 mM TE/g. Aunque la adición de frambuesas a sus chocolates no tuvo influencia significativa en TPC si mostró un aumento significativo en la capacidad antioxidante de los chocolates oscuros con frambuesa en comparación con otros chocolates negros. En comparación con nuestra investigación obtuvimos valores por debajo de ellos, sin embargo, seguimos la misma secuencia, los chocolates que han sido adicionados los subproductos del aguaymanto, mora y saco aumentó la actividad antioxidante, esto podría ser a que los berries son muy ricos en compuestos bioactivos aún más al proceso de liofilizado que se les ha realizado logrando concentrar en mayor cantidad sus propiedades (Cervellati et al., 2008). Hasta ahora datos sobre chocolates oscuros con incorporación de frutos se ha encontrado muy poco, solo se ha publicado algunas investigaciones para pimiento rojo y romero.

Los factores CSPB, CSIO y TC fueron significativos en las muestras de chocolates para TPC. Faccinetto-Beltrán et al., (2021) menciona que, durante el proceso de elaboración del chocolate, la composición y TPC se modifican, principalmente debido a temperaturas bastante altas y presencia de oxígeno, por ello podemos decir que en nuestra investigación al haber incorporado cualquiera de los tres subproductos de berries y el aceite de sacha inchi contrarrestaron estos efectos, logrando valores muy altos de TPC. En su

investigación de (Todorovic et al., (2015), analizaron muestras de chocolates oscuros con y sin frambuesas añadidas, los resultados fueron similares en ambos casos en cuanto a TPC con rangos generales de 7,21 a 12,65 mg GAE/g. En los resultados de (Toker et al., 2018) donde el contenido de fenoles totales en el chocolate amargo osciló entre 12 y 15 mgGAE/g. De la misma forma para (Calva-Estrada et al., 2020) reportaron un rango de 8.94 a 21.17 mg GAE/g en chocolates latinoamericanos. Mencionan (Acosta-Montoya et al., 2010) que la TPC puede variar aun siendo de la misma especie la muestra, dependiendo según la zona geográfica, origen y los diferentes métodos de obtención de sus extractos fenólicos. A pesar de las diferencias individuales en el contenido de polifenoles en nuestras muestras de la misma categoría, los valores se encuentran dentro de los rangos.

Las muestras de chocolates oscuros enriquecidos con subproductos de berries y aceite de sacha inchi en la viscosidad plástica de Casson, el efecto de la grasa es proporcionalmente mayor para la viscosidad plástica que el valor de rendimiento. Explicó (Beckett, 2000) que este fenómeno no es sorprendente ya que la grasa adicional solo se suma a la grasa de libre movimiento que ayuda a las partículas cuando fluyen entre sí. La mayor parte de la grasa es grasa mojante, que está parcialmente unida a las superficies de las partículas, esta grasa libre tiene un gran efecto en la lubricación del flujo cuando se produce, por lo que la viscosidad plástica disminuye drásticamente. El valor de rendimiento para (Afoakwa, E. O., Paterson, A., y Fowler, M. 2007) es más pronunciado con las fuerzas entre las partículas sólidas, que a su vez están relacionadas con la distancia absoluta entre ellas, de ahí su menor efecto con las adiciones de grasa. Para (Mongia, G. y Ziegler, R. 2000) uno de los parámetros importantes de la masa de chocolate es la viscosidad que suele expresarse mediante el modelo de Casson, cuyos valores de referencia para el chocolate negro se han definido entre 2.1 y 3.9 Pa.s, en nuestra investigación la gran mayoría de chocolates oscuros se encuentran dentro del rango con valores de 1.30 hasta 2.84 Pa. S, a excepción de algunos que contienen mayor concentración de aceite de sacha inchi. En la investigación de (Medina et al., 2021) sustituyeron el aceite de sacha inchi por la manteca de cacao en tres proporciones 1, 3 y 5% en los chocolates oscuros y obtuvieron valores de Viscosidad plástica de Casson de 14.65 hasta 17.89 Pa. S y el límite elástico de Casson 1.60 hasta 2.08 Pa. En otra investigación de (Chire fajardo et al., 2019) realizaron chocolates oscuros de 70% de cacao, donde obtuvieron resultados de la Viscosidad de Casson en rango de 2.95 hasta 2.85 Pa.s., disminuyendo significativamente

los valores de Límite elástico de Casson y viscosidad plástica de Casson de todas las muestras de chocolates. Según (Sasaki et al., 2012) los grandes cristales de β' perturban la fina red cristalina formada por cristales β_V cuando ambos cristalizan, lo que afecta las propiedades reológicas y reduce la viscosidad. En otra investigación elaboraron chocolates a partir del equivalente de manteca de cacao sintetizado a partir de manteca de illipe y fracción media de palma. La Manteca de illipe tuvo la mayor viscosidad de 6.1 Pas, el chocolate oscuro con manteca de cacao tenía una viscosidad intermedia de 5.5 Pas, (Adiguna y Akoh, 2018). Una explicación del por qué el chocolate con manteca de illipe tuvo la mayor viscosidad podría deberse al triacilglicerol con alto contenido de ácido esteárico en chocolates con manteca de illipe. El ácido esteárico tiene la mayor viscosidad entre otros ácidos grasos saturados a la misma temperatura. (Kaur et al., 2022) estudió los efectos de la mantequilla de mango añadida al chocolate a diferentes niveles, se notó que el chocolate incorporado con 20% de mantequilla de mango reveló un aumento en la viscosidad de 6.53 Pa. s en comparación con el control que fue de 5.87 Pa. S a la misma velocidad de corte. Además, el sustituto de chocolate que contenía 100% de mantequilla de mango mostró la misma tendencia. Estos resultados mostraron que el aumento de la viscosidad del sustituto de chocolate con diferentes cantidades de mantequilla de mango resultó en una alta calidad del producto final en comparación con el control. La correlación entre la viscosidad aparente y la velocidad de corte dio una curva que confirma el comportamiento del fluido no newtoniano (Baixauliet al., 2008). De esta manera corroboramos que los sustitutos de la manteca de cacao (CSIO), CSPB y el TC si afectan en la viscosidad plástica de Casson y en el límite elástico de Casson.

En la investigación de Medina et al. (2021) elaboró chocolates oscuros con sustitución de manteca de cacao por aceite de sacha inchi en tres concentraciones 1, 3 y 5%, obteniendo resultados para la dureza de 3503 a 5562g, nuestros resultados se encuentran dentro del rango para la dureza de 2.37 a 7.10 N. En otra investigación de (Afoakwa, E. O., Paterson, A., y Fowler, M. 2008) realizó chocolates con un contenido de grasa del 35% que fue la de mayor concentración, se observaron muy pocas diferencias, estas se atribuyen a la grasa que induce un flujo de lubricante de movimiento libre que está más relacionado con las fuerzas entre las partículas sólidas. También (Beckett, 2019) explicó que la grasa llena los espacios o vacíos entre las partículas sólidas en chocolate fundido y reduce su resistencia al flujo, con el mayor efecto perceptible. Estos cambios también se atribuyen a los diferentes tiempos de conchado y concentraciones de los berries que influyen

directamente en la dureza de los chocolates. Los resultados de esta investigación concuerdan con (Torbica et al., 2016 y Kadivar et al., 2016) quien encontró que el uso de equivalentes de manteca de cacao tiene un efecto suavizante en la manteca de cacao y por lo tanto en el chocolate, creemos que es posible usar el aceite de sachá inchi como equivalente de la manteca de cacao, sin alterar las propiedades básicas del chocolate. Otra investigación de (Kadivar et al., 2016) observaron una disminución en la dureza del chocolate cuando la manteca de cacao se reemplazó por el equivalente de manteca de cacao a base de aceite de girasol producido enzimáticamente, ya que contienen TAG insaturados más altos, este es un fenómeno esperado debido a la fusión de la grasa sólida en el chocolate a altas temperaturas. En la investigación de (Li, Liu y Lin, 2021) prepararon chocolates de baja saturación refiriéndose a chocolates con bajo contenido de grasas saturadas reemplazando 50g/100g de manteca de cacao con tres oleogel, teniendo una textura más suave que el chocolate control. Explicado por la composición de TAG de los oleogel, ya que contienen TAG más insaturados al igual que el aceite de sachá inchi. Aunque la dureza del chocolate a base de aceite de sachá inchi es menor en algunas muestras de chocolate en otras tienen la misma dureza que un chocolate tradicional presentando una apariencia sólida y similares. En otra investigación de (Kadivar et al., 2016) estudió chocolates oscuros con equivalentes de aceite de girasol, observando una disminución lineal en la dureza de los chocolates cuanto más manteca de cacao fue reemplazada. Esto puede explicarse por la composición de triacilglicerol de los equivalentes de manteca de cacao, ya que contienen mayor oleoil-oleoil saturada triacilglicerol que conducen al ablandamiento de la manteca de cacao y los chocolates. Las mezclas que contienen más equivalente de manteca de cacao mostraron un efecto suavizante dando como resultado una menor dureza. La disminución de la dureza también puede ser un indicador de que las muestras no formaron completamente la forma polimórfica βV después del temperado, durante el almacenamiento el polimórfico procedió y mientras esta transición se completaba la dureza disminuyó. En el estudio de (Adiguna y Akoh, 2018) elaboraron chocolates a partir del equivalente de manteca de cacao sintetizado a partir de manteca de illipe y fracción media de palma. El chocolate negro elaborado con manteca de illipe tuvo el rompimiento más alto mientras que la mezcla de chocolate físico oscuro tuvo la resistencia a la rotura más baja. En otra investigación de (Chen et al., 2022) el análisis de contenido de grasa sólida para mostró que el chocolate compuesto preparado por las mezclas de grasa plástica de diacilglicerol a base de aceite de oliva con manteca de cacao con este rango de proporción de 10% a

40% podría tener una excelente propiedad de fusión en la boca. Sin embargo, tiene una menor dureza a bajas temperaturas. En la investigación de (Kaur et al., 2022) la dureza disminuye mientras se aumenta la proporción de mantequilla de mango. Al estudiar los efectos de la mantequilla de mango añadida al chocolate a diferentes niveles, se notó que el chocolate incorporado con 20% de mantequilla de mango reveló un aumento en la viscosidad de 6.53 Pa. S, en comparación con el control que fue de 5.87 Pa. S, a la misma velocidad de corte. De manera similar, la manteca de karité como sustituto del chocolate también observó un patrón de arnés relacionado (Zeng et al., 2020). Se pueden afirmar estos resultados con la investigación de (Zhang et al., 2020) donde los equivalentes de la manteca de cacao tienen una composición de ácidos grasos y triacilglicerol similar a la de manteca de cacao, por lo tanto, el triacilglicerol simétrico solo puede lograr cristales β' estables después de ser templado. Los cristales son esenciales para la consistencia del chocolate y la microestructura se ve fácilmente afectada por condiciones de procesamiento, tiene un efecto significativo en las propiedades físicas macroscópicas de los aceites y grasas en comparación con el contenido de grasas sólidas y polimorfismo bajo diferentes condiciones de procesamiento donde la textura puede cambiar inevitablemente. Investigaciones con respecto a la incorporación de SPB liofilizados en chocolates oscuros con respecto a la dureza no se encuentran estudiadas aun siendo un gran avance los resultados presentados.

El PSD es un determinante clave del flujo de las propiedades reológicas de los chocolates con influencia directa en la percepción sensorial. Esto también lo describe (Beckett, 2019) que las partículas más grandes son importantes para la sensación en la boca con respecto a la arenilla, pero los más pequeños son mucho más importante con respecto a las propiedades de fluidez del chocolate. Tradicionalmente, el chocolate de Europa continental ha sido descrito con una finura de 15 a 22 micras de diámetro de partícula y en América del Norte 20 a 30 micras (Jackson, 1999). Otros autores como (Afoakwa, E., Paterson, A., y Fowler, M. 2007) afirman que existe un tamaño máximo de partícula de 30 micras, sino el producto se percibe como arenoso o áspero en la boca. El tamaño de partícula afecta tanto a la viscosidad como a la textura y un chocolate molido a un tamaño de partícula máximo de 20 mm tendrá un sabor y textura más cremosa que la de 30 micras. Los resultados de esta investigación se encuentran dentro del rango para el PSD con valores obtenidos de 3.22 hasta 21.21 micras, de alguna manera la CSIO y la CSPB no afectó significativamente en los valores, esto se debe al tiempo de conchado, mientras

mayor fue menor fue el PSD. Muchos productos de chocolate tienen PSD bimodal y trimodal, un típico en las distribuciones bimodales, los mínimos generalmente se ubican alrededor de 15-25 μm , encontrándose en ese rango los chocolates con berries. En la investigación de (Afoakwa, E. O., Paterson, A., y Fowler, M. 2008) aumento la grasa a sus chocolates amargos de 25% al 35% produciendo reducciones significativas en el área de superficie específica con aumentos en todos los demás parámetros. El diámetro medio de Sauter D10 estuvo en un rango de 1,01 hasta 2.05 (μm). Se sabe que los tamaños de partículas más pequeños en el chocolate mejoran las propiedades sensoriales (Ziegler, Mongia y Hollender, 2001) sin embargo, la viscosidad plástica y el límite elástico incrementan debido al aumento de la superficie de las partículas en contacto con la manteca de cacao (Mongia y Ziegler, 2000). En la investigación de (Adiguna y Akoh, 2018) elaboraron chocolates a partir del equivalente de manteca de cacao sintetizado a partir de manteca de illipe y fracción media de palma. El chocolate amargo tuvo el mayor valor para D10 al alrededor de 1,2 a 1,5 μm . El D50 tuvo valores que varían de 7,9 a 10,1 μm . Los valores D90 van desde 24,8 a 30,4 μm . En la investigación de (N. S et al., 2021) se puede ver que todos los chocolates tienden a tener un tamaño de partícula comparable. En comparación con el chocolate de referencia, las muestras con sustituto de manteca de cacao en 70, 75, 80, 85 y 90% no tuvieron diferencia significativa ($p < 0,05$). Esto se debe a la duración similar del proceso de molienda aplicado. Podemos decir que el TC si afecta significativamente en el PSD. En su investigación de (Afoakwa, E., Paterson, A., y Fowler, M. 2007) se sabe que los tamaños de partículas más pequeños en el chocolate mejoran las propiedades sensoriales, pero la viscosidad plástica y el límite elástico aumentan debido al aumento de la superficie de las partículas en contacto con la manteca de cacao (Ziegler, Mongia y Hollender, 2001)

V. CONCLUSIONES

En el proceso de elaboración del chocolate, particularmente la concentración de subproductos de berries, concentración de aceite de sachá inchi y el tiempo de conchado cambio significativamente la actividad antioxidante y el TPC. En la viscosidad plástica de Casson, dureza y PSD los valores se encontraron dentro de los parámetros aceptables, sin embargo, la incorporación de estos ingredientes si afectaron significativamente sus propiedades físicas. Además, se puede decir que se logró elaborar un chocolate oscuro con propiedades bioactivas, llamándose chocolate funcional. Consideramos que este trabajo contribuirá a la búsqueda de nuevos ingredientes que se incorporen al chocolate para mejorar sus propiedades. Las condiciones se determinaron utilizando el modelo experimental RSM. Las puntuaciones se acercaron satisfactoriamente a los valores predichos por el modelo lo que confirma la validación del modelo.

VI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abdul Halim, H. S., Selamat, J., Mirhosseini, S. H., y Hussain, N. (2018). Sensory preference and bloom stability of chocolate containing cocoa butter substitute from coconut oil. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 18(4), 443-448. <https://doi.org/10.1016/j.jssas.2018.02.005>
- Afoakwa, E. O., Paterson, A., y Fowler, M. (2007). factores que influyen en las cualidades reológicas y texturales del chocolate. *Food Science y Technology*. 290-298. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2007.02.002>
- Afoakwa, E. O., Paterson, A., & Fowler, M. (2008). Effects of particle size distribution and composition on rheological properties of dark chocolate. *European Food Research and Technology*, 226(6), 1259-1268. <https://doi.org/10.1007/s00217-007-0652-6>
- Ajila, CM, Naidu, KA, Bhat, SG y Prasada Rao, UJS (2007). Compuestos bioactivos y potencial antioxidante del extracto de cáscara de mango. *Química de los alimentos*, 105, 982-988. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.04.052>
- Ares, G., Besio, M., Gimenez, A. y Deliza, R. (2010). Relación entre participación intencional de compra de postres lácteos funcionales. Influencia en la actitud hacia las características del embalaje. *ScienceDirect*, 298-304. <https://doi.org/10.1016/j.appet.2010.06.016>.
- Adiguna, B., y Akoh, C. C. (2018). Estudio de textura, reología y fat bloom de chocolates elaborados a partir del equivalente de manteca de cacao sintetizado a partir de manteca de illipe y fracción media de palma . *Food Science and Technology*, 1-12. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.07.013>
- Alvis, A., Pérez, L., y Arrazola, G. (2011). Determinación de las Propiedades de Textura de Tabletas de Chocolate Mediante Técnicas Instrumentales. *Scielo*, 11-18. <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-07642011000300003>
- Beckett, ST. (2008). *The Science of Chocolate*. 2 ed. Cambridge, United Kingdoms, RSC Publishing.

- Beckett, ST (2019). La ciencia del chocolate. Libros en rústica de la Real Sociedad de Química. 3rd Edition.
- Biesalski, H.-K., Dragsted, L.O., Elmadfa, I., Grossklaus, R., Müller, M., Schrenk, D., Walter, P., Weber, P., (2009). Bioactive compounds: definition and assessment of activity. *ScienceDirect* (11–12), 1202–1205. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2009.04.023>
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., y Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology*, 28(1), 25-30. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)
- Bhaswant M, Shafie SR, Mathai ML, Mouatt P, Brown L. (2017). Las antocianinas en el chokeberry y el maíz morado atenúan el síndrome metabólico inducido por la dieta en ratas. *ScienceDirect*; 24–31. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2016.12.009>
- Brookfield Engineering Lab. Inc. Manual No. M08-373. “Brookfield Texture Pro CT”. Disponible en: www.brookfieldengineering.com. Consultado el: 19/ 07/ 2020.
- Botelho, PB, Galasso, M., Dias, V., Mandrioli, M., Lobato, LP, Rodríguez Estrada, MT y col. (2014). Estabilidad oxidativa del fitosterol funcional chocolate amargo enriquecido. *ScienceDirect*, 444- 451 , <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2013.09.002>
- Calva Estrada, SJ, Utrilla Vazquez, M., Vallejo Cardona, A., Roblero Perez, DB, Lugo Cervantes, E., 2020. Propiedades térmicas y perfil de compuestos volátiles de chocolates oscuros comerciales de diferentes genotipos de granos de cacao (*Theobroma cacao* L.) de América Latina. *Food Research International*. Vol. 136, 109594. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109594>
- Cervellati, R., Greco, E., Costa, S., Guerra, CM, Speroni, E., 2008. Una comparación de propiedades antioxidantes entre el chocolate artesanal y el producido en fábrica. *Revista internacional de ciencia y tecnología de los alimentos* 43, 1866–1870.
- Chen, Y., Wang, W., Zhang, W., Chin-Ping, B., Lan, D., & Wang, Y. (2022). Características y viabilidad de la grasa plástica de diacilglicerol a base de aceite de oliva para su uso en chocolate compuesto. *Química de los alimentos*, 1-12. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.133254>

- Chire Fajardo, G., Ureña Peralta, M., García Torres, S. M., & Hartel, R. W. (2019). Optimización de la formulación de chocolate oscuro a partir de la mezcla de granos de cacao y contenido de cacao aplicando método de superficie de respuesta. *SciELO*, 42-54. <https://doi.org/10.29019/enfoque.v10n3.432>.
- Depypere, F., De Clercq, N., Segers, M., Lewille, B. y Dewettinck, K. (2009). Migración y floración de triacilglicerol en chocolates rellenos: efectos del almacenamiento a baja temperatura. *Revista europea de ciencia y tecnología de lípidos*, 111(3), 280–289. <https://doi.org/10.1002/ejlt.200800179>
- Díaz de Cerio, E., Gómez Caravaca, A. M., Verardo, V., Fernández Gutiérrez, A., & Segura Carretero, A. (2016). Determination of guava (*Psidium guajava* L.) leaf phenolic compounds using HPLC-DAD-QTOF-MS. *Journal of Functional Food*, 22, 376-388. <https://doi:10.1016/j.jff.2016.01.040>
- Faccineto-Beltrán, P.; Gómez-Fernández, A.R.; Santacruz, A.; Jacobo-Velázquez, D.A. 2021. Chocolate as Carrier to Deliver Bioactive Ingredients: Current Advances and Future Perspectives. *Foods*, 10, 2065.
- Ferreira Zielinski , A. A., Goltz, C., Casagrande YamatoII, M. A., Ávila, S., Yoko HirookaIII, E., WosiackiII, G., Mottin DemiateII, I. (2015). Amora Preta (*Rubus* spp.): Influência do estágio de maturação e do processamento nos teores decompostos fenólicos e atividade antioxidante das variedades 'Brazos ' e 'Tupy ' cultivadas no Brasil. *SciELO*, 744-749. <http://dx.doi.org/10.1590/0103-8478cr20120715>
- Frankel, EN y Meyer, AS (2000) Los problemas del uso de métodos unidimensionales para evaluar alimentos multifuncionales y antioxidantes biológicos. *Diario de la Ciencia de la Alimentación y la Agricultura*, 80, 1925-1941. [http://doi:10.1002/1097-0010\(200010\)80:13<1925: AID-JSFA714>3.0.CO;2-4](http://doi:10.1002/1097-0010(200010)80:13<1925: AID-JSFA714>3.0.CO;2-4)
- Garzón, A. G., Y. Soto, C., López . R, M., Riedl , M. K., Browmiller, R. C., & Howard. C, L. (2020). Perfil fenólico, actividad antimicrobiana in vitro y capacidad antioxidante del orujo de *Vaccinium meridionale* Swartz. *Sciencedirect*, 38-45. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e03845>

- Hanczné Lakato, E., Kapcsándi, V., Székelyhidi, R., & Ajtony, Z. (2021). Explorando el perfil de ácido rosmarínico del chocolate amargo fortificado con extracto de bálsamo de limón liofilizado utilizando convencional y no convencional técnicas de extracción. *ScienceDirect*, 1-7. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111520>
- Hu, Y., Jie Pan, Z., Liao, W., Li, J., Gruget, P., Kitts, D., & Lu, X. (2016). Determinación de la capacidad antioxidante y contenido fenólico del chocolate por reflectancia total atenuada-infrarrojo transformado de Fourier espectroscopia. *ScienceDirect*, 254-261. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.01.130>
- ICA. (2000). International Confectionery Association. Viscosity of cocoa and chocolate products. Analytical Method. CAOBISCO, B-1000 Brussels, Belgium. 46- 498.
- Jackson, K. (1999). Recetas. En ST Beckett (Ed.). *Fabricación y uso de chocolate industrial* (3ra ed.). (págs. 323 y 346). Oxford: Blackwell ciencias.
- Jurado Teixeira, B., Aparcana Aaturima, I. M., Villarreal Inca, L. S., Ramos Llica, E., Calixto Cotos, R. R., Hurtado Manrique, P. E., & Acosta Alfaro, K. M. (2016). Evaluación del contenido de polifenoles totales y la capacidad antioxidante de los extractos etanólicos de los frutos de aguaymanto (*Physalis peruviana* L.) de diferentes lugares del Perú. *ScienceDirect*, 634. http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1810
- Kadivar, S., De Clercq, N., Mokbul, M. y Dewettinck, K. (2016). Influencia de equivalentes de manteca de cacao a base de aceite de girasol producidos enzimáticamente sobre el comportamiento de fase de la manteca de cacao y la calidad del chocolate negro. *Food Science and Technology*, 66, 48-55. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.10.006>
- konar, N., Omer, S., Sirin, O., y Osman, S. (2016). Improving functionality of chocolate: A review on probiotic, prebiotic, and/or synbiotic characteristics. *Trends in Food Science & Technology*, 35-44. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.01.002>
- Kaur, G., Kaur, D., Kansal, S. K., Garg, M., & Krishania, M. (2022). Sustituto potencial de la manteca de cacao derivado de la semilla del mango. *Química de los Alimentos*, 1-8. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.131244>

- Kunradi Vieira, FG, Da Silva Campelo Borges, G., Copetti, C., Da Valdemiro Gonzaga, L., Costa Nuñez, E. y Fett, R. (2009). Actividad y contenido de polifenólicos antioxidantes en la fruta entera, pulpa y cáscara de tres cultivares de manzana. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 59, 101-106. <https://www.alanrevista.org/ediciones/2009/1/art-16/>
- Li, L., Liu, G., & Lin, Y. (2021). Estabilidad física y de floración de chocolates de baja saturación con oleogeles basados en diferentes mecanismos de gelificación. *Ciencia y tecnología de los alimentos*, 140. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110807>
- Limbaro, R. P., Santoso, H., & Retti Witono, J. (2017). El efecto del aceite de coco y el aceite de palma como aceites sustitutos de la manteca de cacao en la textura y el punto de fusión de la barra de chocolate. *Instituto Americano de Física*, 1-9. <https://doi.org/10.1063/1.4982281>
- Martín-Gómez, J., Varo, M. A., Mérida, J., Serratos, MP, 2020. Influencia de los procesos de secado en los perfiles de antocianinas, compuestos fenólicos totales y actividad antioxidante del arándano (*Vaccinium corymbosum*). *Food Science and Technology*, 120, 108931. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108931>
- Marsanasco, M., Márquez, A. L., Wagner, J. R., Chiaramoni, N. S., & Alonso, S. V. (2015). Compuestos bioactivos como ingredientes alimentarios funcionales: caracterización en sistema modelo y evaluación sensorial en leche con chocolate. *ScienceDirect*, 55-63. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2015.05.007>
- Medina Mendoza, M., Rodríguez-Pérez, R. J., Rojas Ocampo, E., Torrejón Valqui, L., Fernández Jeri, A. B., Idrogo-Vásquez, G., Castro Alayo, E. M. (2021). Propiedades reológicas, bioactivas y preferencias sensoriales de los chocolates oscuros con incorporación parcial de aceite de Sacha Inchi (*Plukenetia volubilis* L.). *Heliyon*, 54-61. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e06154>
- Mikulic Petkovsek, Ivancic A, Schmitzer V, Veberic R, Stampar F. (2016). Comparación de los principales compuestos gustativos y propiedades antioxidantes de frutas y flores de diferentes especies de *Sambucus* e híbridos interespecíficos. *ScienceDirect*. 200: 134–140. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.01.044>

- Mongia, G. y Ziegler, GR (2000). Papel de la distribución del tamaño de partícula de los sólidos en suspensión en la definición de las propiedades de flujo del chocolate con leche. *Revista Internacional de propiedades Alimentarias*, 137-147 <https://doi.org/10.1080/10942910009524621>
- Moraes de Souza, R. A., Oldoni, T., Regitano-d´Arce, M. A., & Alencar, S. M. (2008). Antioxidant activity and phenolic composition of herbal infusions consumed in brazil. *Journal of Food*, 6(1), 41-47. <http://doi:10.1080/11358120809487626>
- Niva, M., 2007. ‘All foods affect health’: understandings of functional foods and healthy eating among health-oriented Finns. *ScienceDirect*. 48 (3), 384–393. <https://doi.org/10.1016/j.appet.2006.10.006>
- Syafira, N S., Saputro, A D, Kashanah, A N, Oetama T, Setiowati, A D, Rahayoe S, & Bintoro, N. (2021). Impacto de la proporción de sustituto de manteca de cacao (CBR) en las características físicas del chocolate negro compuesto. *Medio Ambiente Terrestre*, 1-8. <http://doi:10.1088/1755-1315/653/1/012035>
- Ordoñez, E. S., Arevalo, A. L., & Rivera Rojas, H. (2019). Cuantificación de polifenoles totales y capacidad antioxidante en cáscara y semilla de cacao (*Theobroma cacao* L.), tuna (*Opuntia ficus indica* Mill), uva (*Vitis Vinífera*) y uvilla (*Pourouma cecropiifolia*). *SciELO*, 2-29. <https://doi:https://orcid.org/0000-0001-7125-9659>
- Pedan, V., Fischer, N., Bernath, K., Tilo Hühn, T., Hühn, T., y Rohn, S. (2017). Determinación de proantocianidinas oligoméricas y su antioxidantecapacidad de diferentes etapas de fabricación de chocolate utilizando elMetodología NP-HPLC-online-DPPH. *ScienceDirect*, 523-532 <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.07.094>
- Pérez Jiménez, J., Arranz, S., Taberner, M., Díaz Rubio, ME, Serrano, J., Goñi, I., (2008). Metodología actualizada para determinar la capacidad antioxidante en alimentos vegetales, Aceites y bebidas: Extracción, medición y expresión de resultados. *ScienceDirect*, 41, 272-285. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2007.12.004>
- Porras Mija, I., Chirinos, R., García Ríos, D., Aguilar Galvez, A., Huaman Alvino, C., Pedreschi, R., & Campos, D. (2020). Caracterización físico-química, perfil

metabolómico y propiedades antioxidantes, antihipertensivas, antiobesidad y antidiabéticas in vitro de la baya del saúco andino (*Sambucus nigra* subsp. *Peruviana*). *Journal of Berry Research*, 193-208. [Doi.10.3233 / JBR-190439](https://doi.org/10.3233/JBR-190439)

Ramírez, N. (2006). *Liofilización de Alimentos*. Colombia: ReCiTeIA.

Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology & Medicine*, 26, 1231-1237. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00315-3)

Rios de Souza, V., Pimenta Pereira, P., Teodoro da Silva, T., de Oliveira Lima, L., Pio, R., & Queiroz, F. (2014). Determinación de compuestos bioactivos, actividad antioxidante y composición química de la mora brasileña, la frambuesa roja, frutos de fresa, arándano y cereza dulce. *ScienceDirect*, 362-368. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.01.125>

Sanchez Reinoso, Z., Mora Adames, W. I., Fuenmayor, C. A., Darghan Contreras, A. E., Gardana, C., y Gutiérrez, L.-F. (2020). Microwave-assisted extraction of phenolic compounds from Sacha Inchi shell: Optimization, physicochemical properties and evaluation of their antioxidant activity. *Chemical Engineering and Processing - Process Intensification*, 153, 107922. <https://doi.org/10.1016/j.cep.2020.107922>

Sánchez Moreno, C. y Larrauri, JA (1998). Principales métodos para la determinación de la oxidación lipídica. *Food Science and Technology International*, 4, 391-399. <https://doi.org/10.1177/108201329800400603>

Sasaki, M., Ueno, S., Sato, K., 2012. Polimorfismo y comportamiento de la fase de mezcla de los principales triacilglicérols de la manteca de cacao. En: Garti, N., Widlak, NR (Eds.), *Manteca de cacao y compuestos relacionados*. Estados Unidos de América: *AOCS Press*, 151–172. <https://doi.org/10.1016/B978-0-9830791-2-5.50009-8>

Singleton, V., Orthofer, R., y Lamuela-Raventos, R. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin Ciocalteu reagent. En

Methods in enzymology. Academic Press. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(99\)99017-1](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(99)99017-1)

Soong, YY y Barlow, PJ (2004). Actividad antioxidante y contenido fenólico de seleccionados semillas de frutas. *Science Direct*, 88 , 411–417 <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.02.003>

Sun, P., Xia, B., Jing Ni, Z., Wang, Y., Elam, E., Thakur, K., Jun Wei, Z. (2021). Caracterización de chocolate funcional formulado a partir de oleogeles derivados de β -sitosterol con γ -orizanol / lecitina / ácido esteárico. *Science Direct*, 1-9. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.130017>

Todorovic, V., Radojic Redovnikovic, I., Todorovic, Z., Jankovic, G., Dodevska, M., & Sobajic, S. (2015). Polifenoles, metilxantinas y capacidad antioxidante de los chocolates producidos en Serbia. *Revista de composición y análisis de alimentos*, 137-143. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2015.01.018>

Toker, OS, Konar, N., Palabiyik, I., Rasouli Pirouzian, H., Oba, S., Polat, DG, Poyrazoglu, ES, Sagdic, O., 2018. Formulación de chocolate negro como vehículo para entregar ácidos eicosapentaenoico y docosahexaenoico: efectos en la calidad del producto. *Química alimentaria*. 254, 224–231. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.02.019>.

Węglińska, M., Szostak, R., Kita , A., y Nemś, A. (2020). Determinación de los parámetros nutricionales del polen de abeja por Raman y espectroscopia infrarroja. *ScienceDirect*, 39 , 91. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2020.120790>

Żyżelewicz, D., Budryn, G., Oracz, J., Antolak, H., Kręgiel, D., y Kaczmarska, M. (2018). The effect on bioactive components and characteristics of chocolate by functionalization with raw cocoa beans. *Food Research International*, (113), 234-244. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.04.001>

Zeng, J., Shen, J., Wu, Y., Liu, X., Deng, Z. y Li, J. (2020). Efecto de la adición de estearina de manteca de karité y emulsionantes sobre las propiedades físicas de la manteca de cacao. *Revista de Ciencias de la Alimentación*, 85(4), 972–979. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.15076>

- Ziegler, GR, Mongia, G. y Hollender, R. (2001). Papel de la distribución del tamaño de las partículas de los sólidos suspendidos en la definición de las propiedades sensoriales del chocolate con leche. *International Journal of Food Properties*, 4, 353e370. <https://doi.org/10.1081/JFP-100105199>
- Zorzi , M., Gai, F., Medana, C., Aigotti , R., Morello , S., & Peiretti, G. P. (2020). Bioactive Compounds and Antioxidant Capacity of Small Berries. *Sciencedirect*, 2-13. <https://doi:10.3390/foods9050623>
- Zhang, Z., Song, J., JunLee, W., Xie, X., & Wang, Y. (2020). Caracterización de grasas a base de aceite de palma interesterificado enzimáticamente y su potencial aplicación como sustituto de la manteca de cacao. *Food Chemistry*, 1- 9, Volumen 318. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.126518>

ANEXOS

Figura 1. Superficie de respuesta de DPPH vs CSPA; CSIO

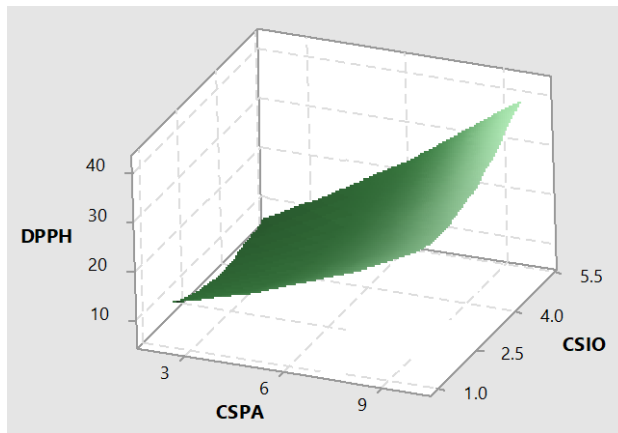


Figura 2. Superficie de respuesta de DPPH vs CSIO; TC

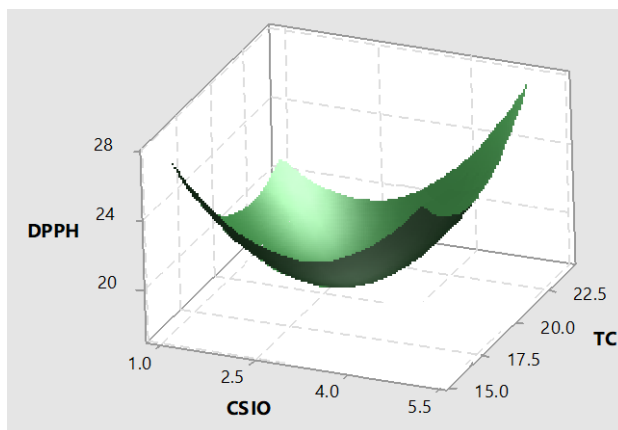


Figura 3. Superficie de respuesta de DPPH vs CSIO; TC

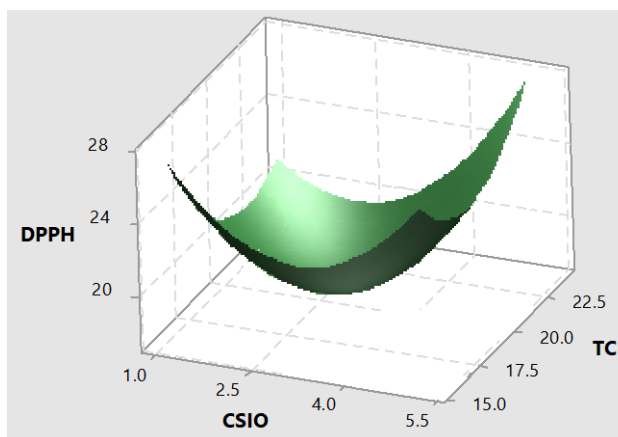


Figura 4. Superficie de respuesta de ABTS vs CSIO; TC

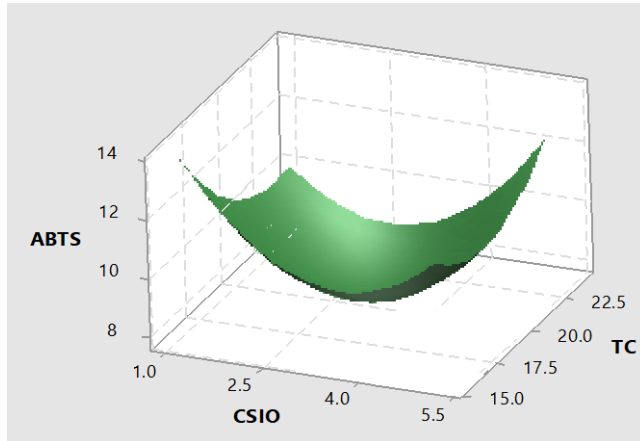


Figura 5. Superficie de respuesta de TPC vs C.SPA; CSIO

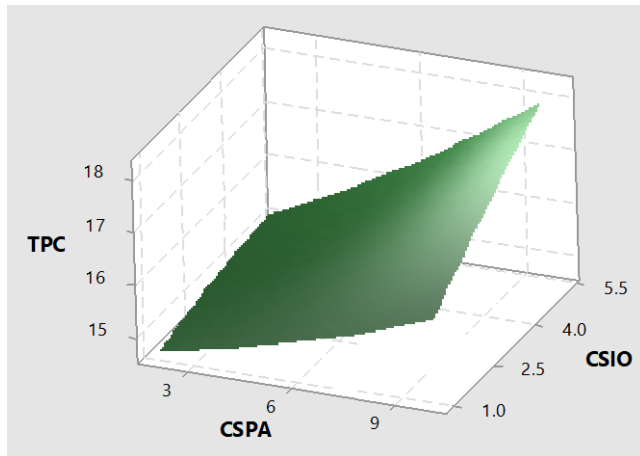


Figura 6. Superficie de respuesta de TPC vs C.SPA; TC

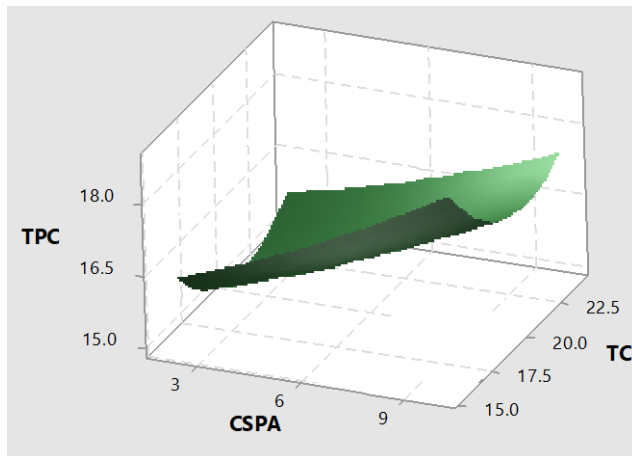


Figura 7. Superficie de respuesta de TPC vs CSIO; TC

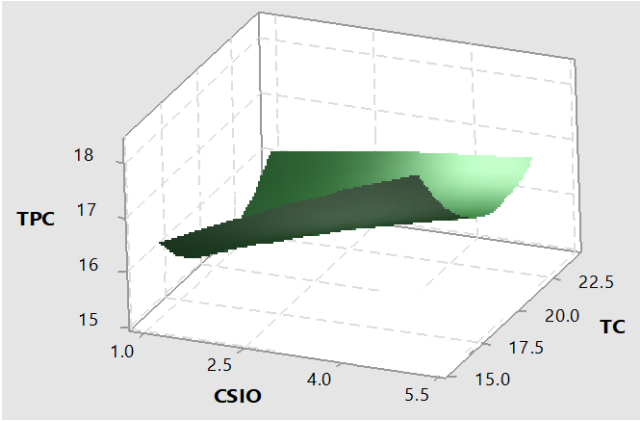


Figura 8. Superficie de respuesta de Dureza vs CSPA; TC

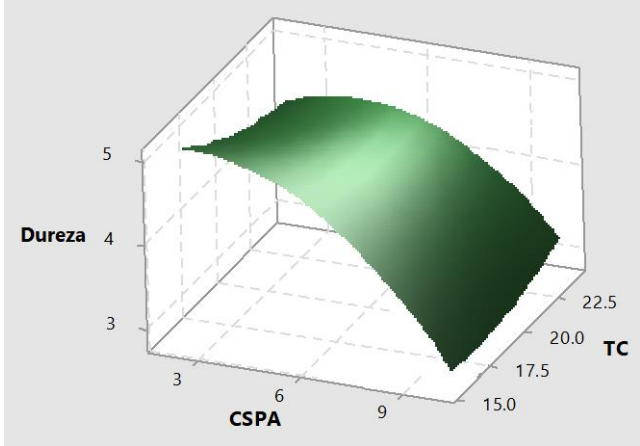


Figura 9. Superficie de respuesta de Dureza vs CSIO; TC

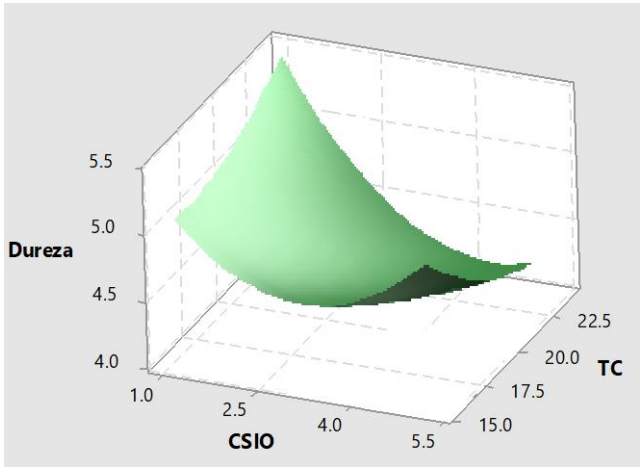


Figura 10. Superficie de respuesta de PSD vs CSPA; CSIO

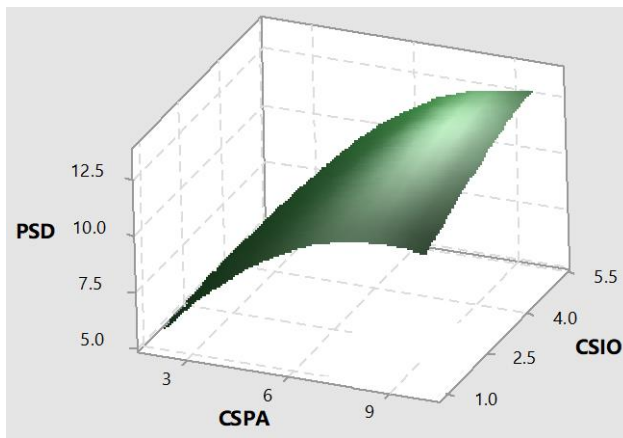


Figura 11. Superficie de respuesta de DPPH vs CSPM; CSIO

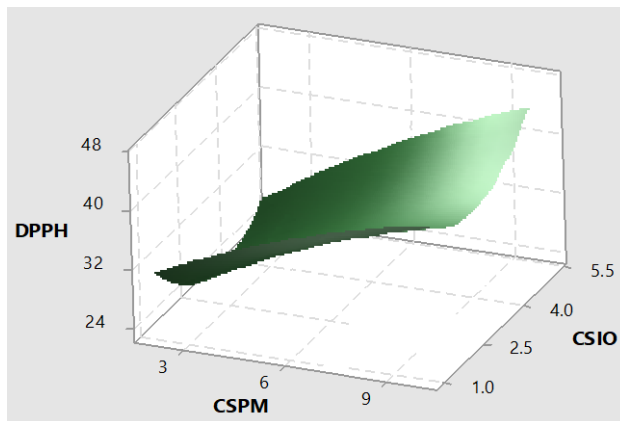


Figura 12. Superficie de respuesta de DPPH vs CSPM; TC

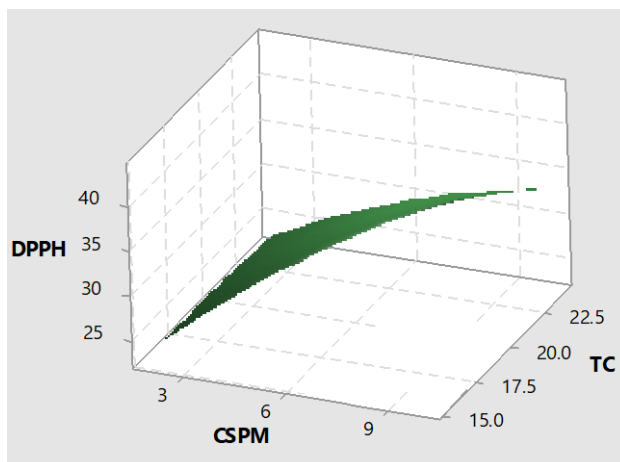


Figura 13. Superficie de respuesta de ABTS vs CSPM; TC

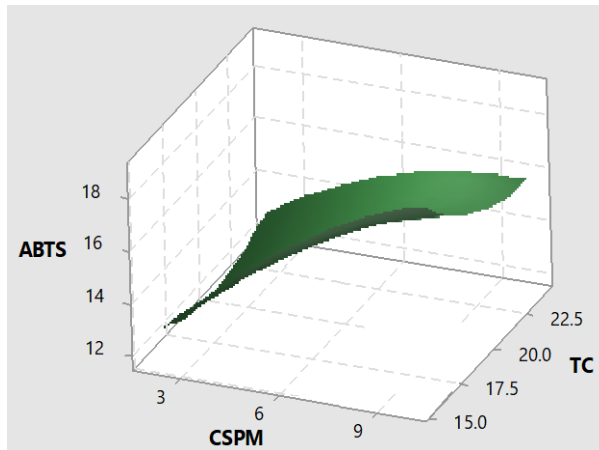


Figura 14. Superficie de respuesta de ABTS vs CSPM; CSIO

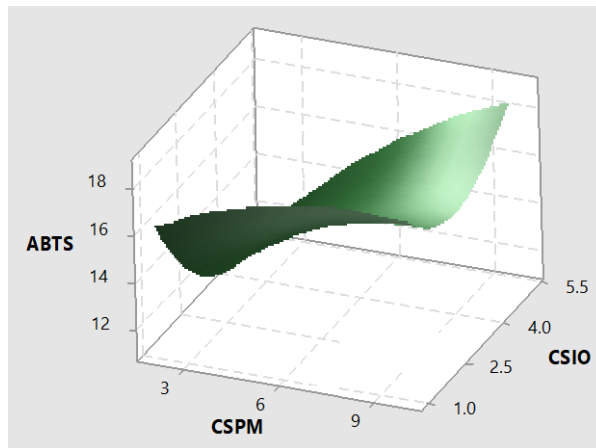


Figura 15. Superficie de respuesta de TPC vs CSIO; TC

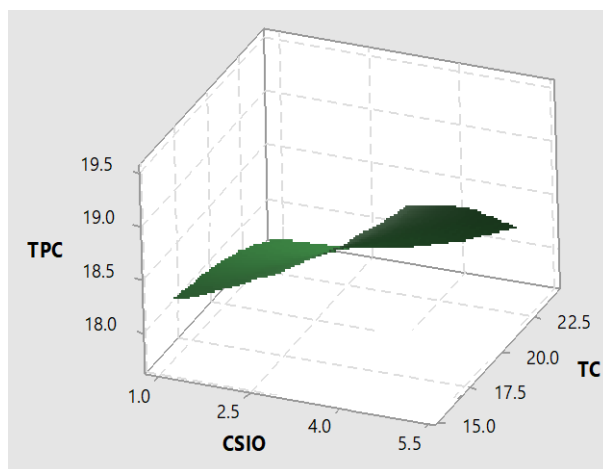


Figura 16. Superficie de respuesta de TPC vs CSPM; TC

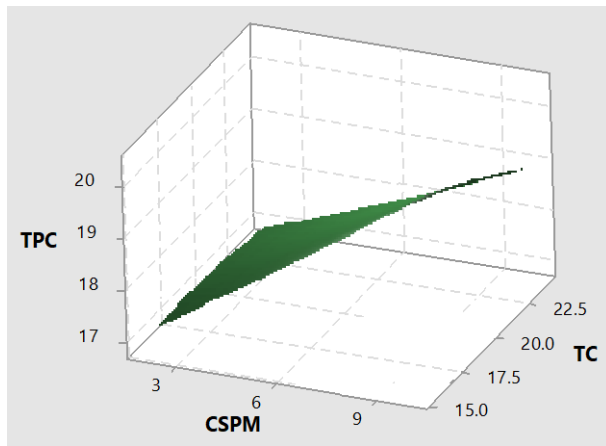


Figura 17. Superficie de respuesta de TPC vs CSPM; CSIO

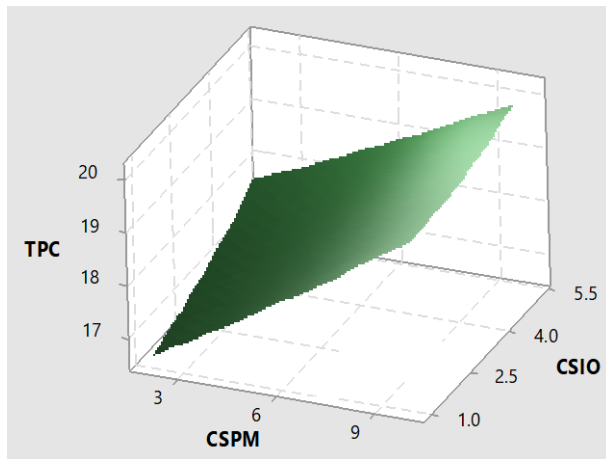


Figura 18. Superficie de respuesta de Dureza vs CSPM; CSIO

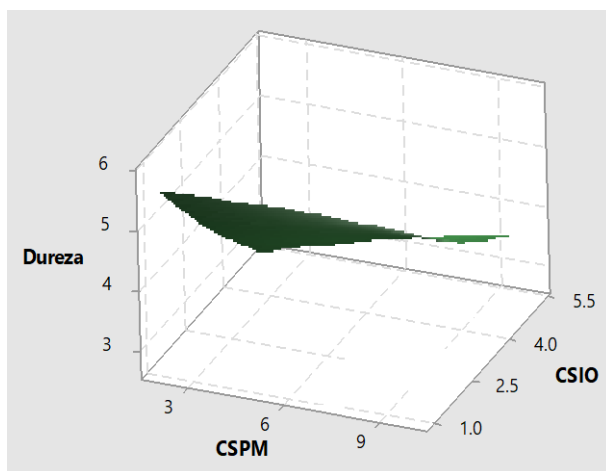


Figura 19. Superficie de respuesta de Dureza vs CSIO; TC

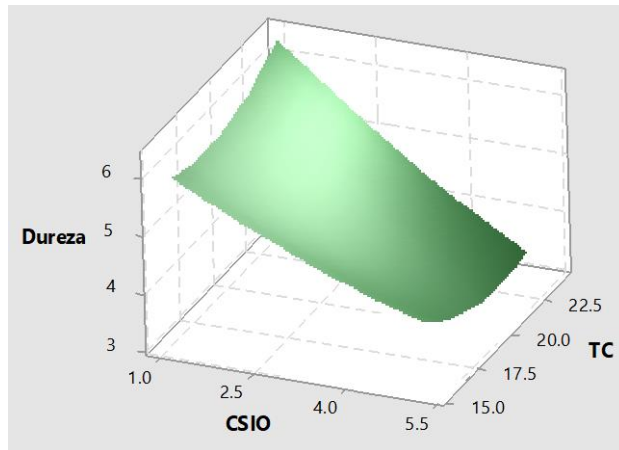


Figura 20. Superficie de respuesta de Dureza vs CSPM; TC

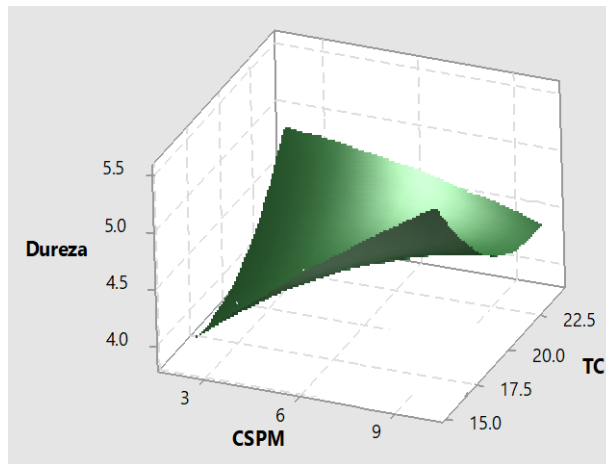


Figura 21. Superficie de respuesta de PSD vs CSPM; CSIO

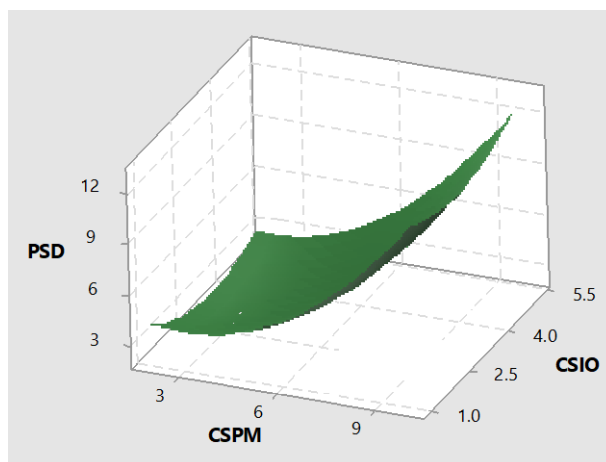


Figura 22. Superficie de respuesta de PSD vs CSPM; TC

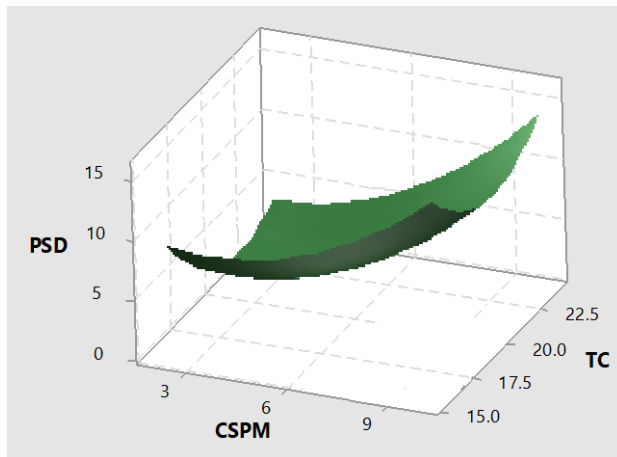


Figura 23. Superficie de respuesta DPPH vs CSIO; TC

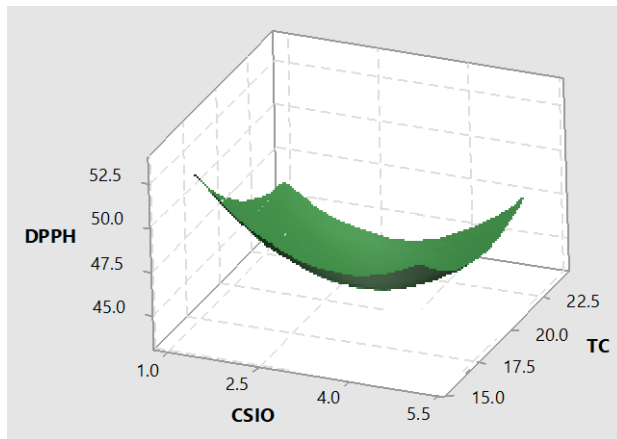


Figura 24. Superficie de respuesta de DPPH vs CSPS; CSIO

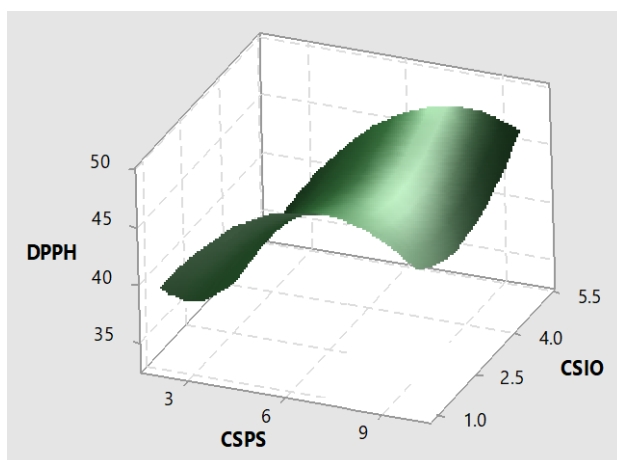


Figura 25. Superficie de respuesta de DPPH vs CSPS; TC

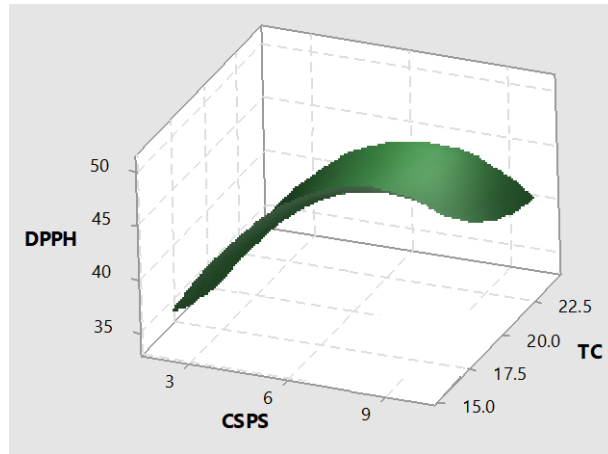


Figura 26. Superficie de respuesta de ABTS vs CSPS; TC

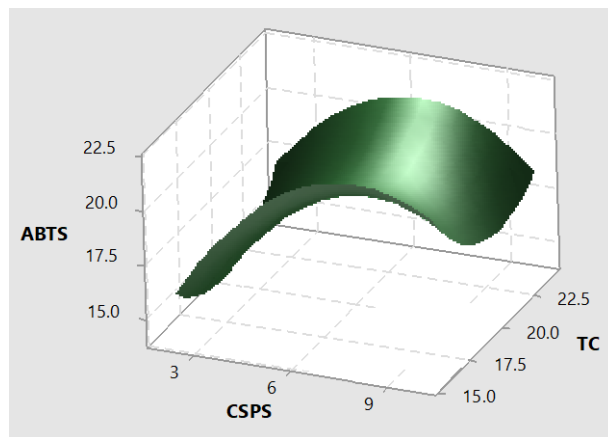


Figura 27. Superficie de respuesta de TPC vs CSIO; TC

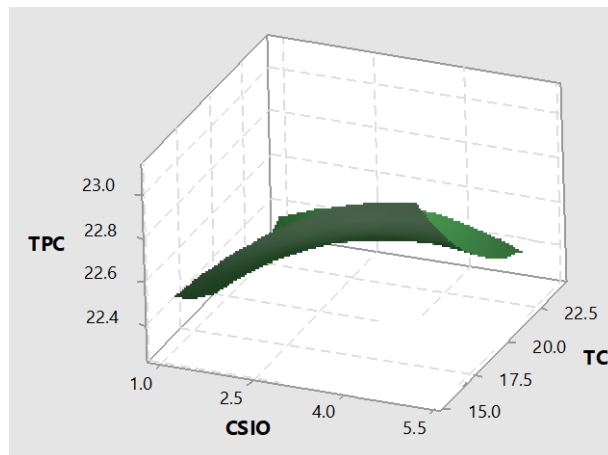


Figura 28. Superficie de respuesta de TPC vs CSPS; TC

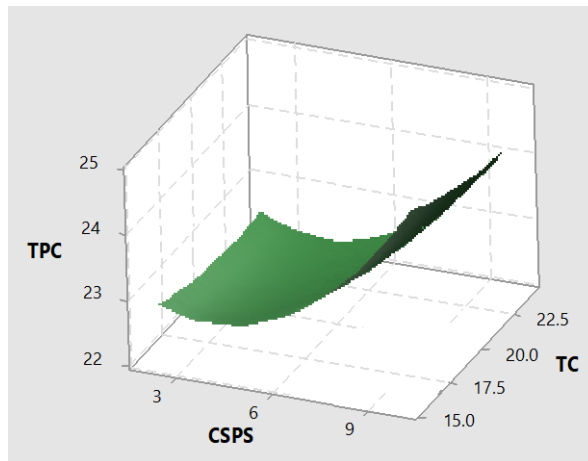


Figura 29. Superficie de respuesta de TPC vs CSPS; CSIO

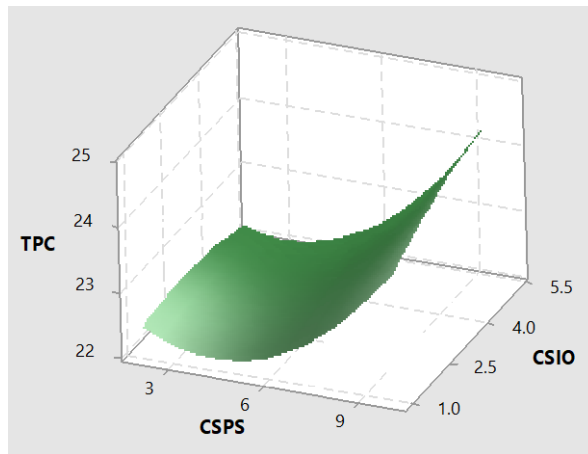


Figura 30. Superficie de respuesta de Viscosidad plástica de Casson vs CSPM; CSIO

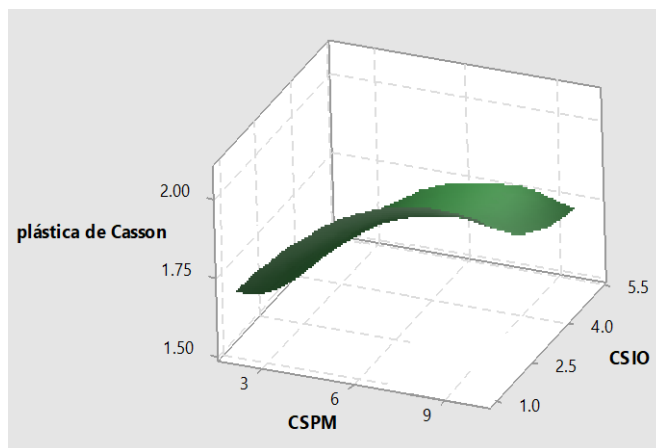


Figura 31. Superficie de respuesta de Viscosidad plástica de Casson vs CSIO; TC

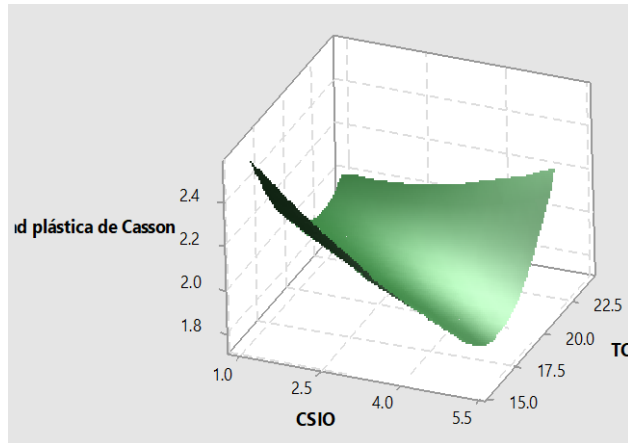


Figura 32. Superficie de respuesta de Dureza vs CSIO; TC

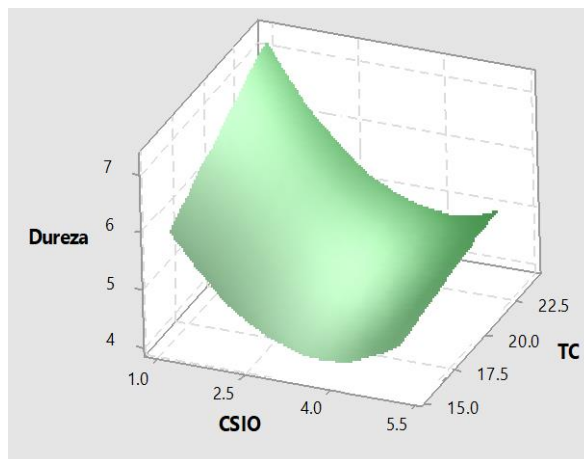


Figura 33. Superficie de respuesta de Dureza vs CSPS; CSIO

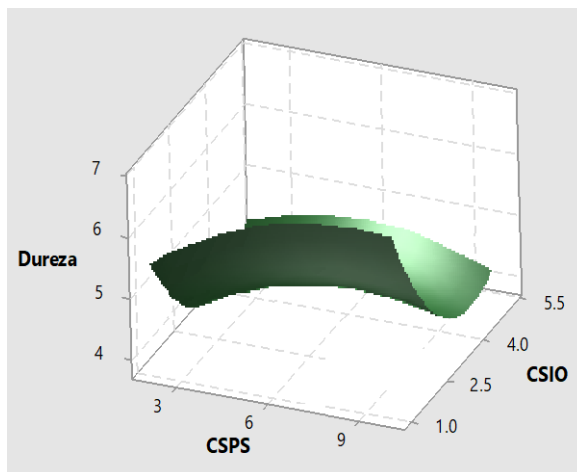


Figura 34. Superficie de respuesta de Dureza vs CSPA; TC

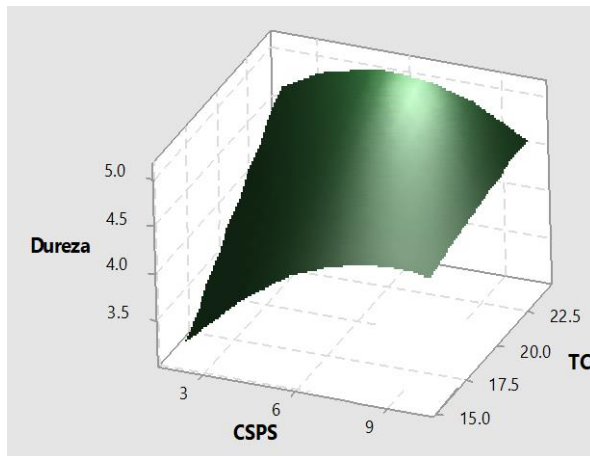


Figura 35. Superficie de respuesta de PSD vs CSPA; TC

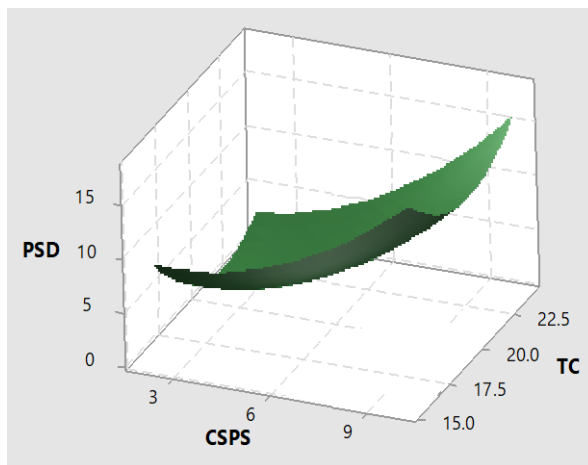
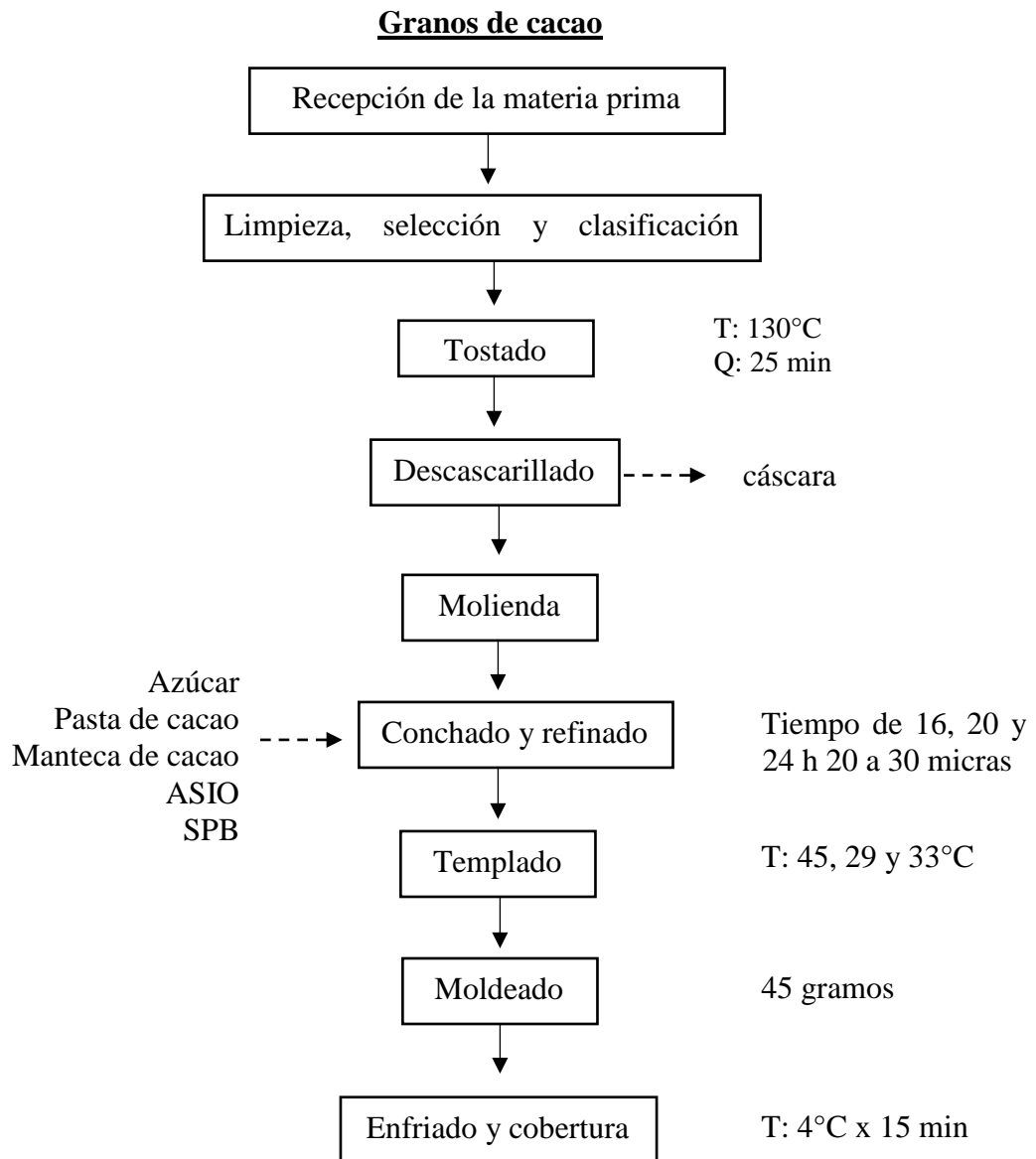


Figura 36. Diagrama de flujo de la elaboración de chocolate oscuro



Según Afoakwa, E., Paterson, A., y Fowler, M. (2007)

Figura 37. *Tostado de los granos de cacao.*



Figura 38. *Descascarillado de los granos tostados*



Figura 39. *Molido de los nibs*



Figura 40. *Conchado y refinado*



Figura 41. *Templado del chocolate*

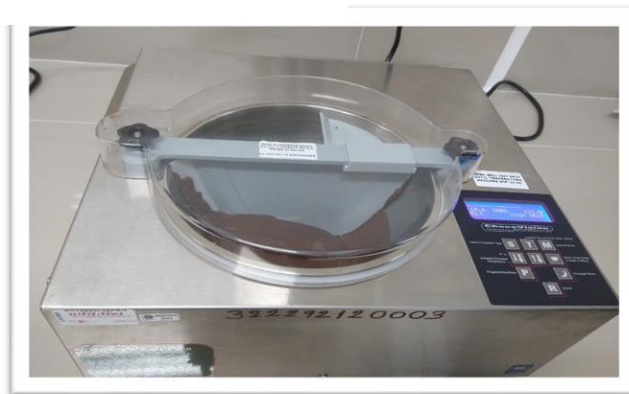


Figura 42. *Moldeado de los chocolates*



Figura 43. *Tabletas de chocolates oscuros*

