

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



**FACULTAD DE INGENIERÍA Y CIENCIAS AGRARIAS  
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL**

**TESIS PARA OBTENER  
EL TÍTULO PROFESIONAL DE  
INGENIERA AGROINDUSTRIAL**

**DESARROLLO DE CHOCOLATES FUNCIONALES  
UTILIZANDO NANOPARTÍCULAS DE ACEITES  
ESENCIALES DE PIELES DE CÍTRICOS**

**Autora: Bach. Anali Cieza Irigoin**

**Asesor: Ms. Diner Mori Mestanza**

**Registro: (.....)**

**CHACHAPOYAS – PERÚ**

**2024**

## **DEDICATORIA**

*A mis padres, Santos Cieza Delgado y Nelida Irigoín Coronel, quienes siempre han estado apoyándome durante el transcurso de mi vida y desarrollo profesional, apoyándome e inculcándome con valores y principios*

*A mis hermanos, que me han brindado su apoyo de distintas maneras; económico, emocional, a lo largo del desarrollo de esta tesis.*

**Anali Cieza Irigoín**

## **AGRADECIMIENTO**

*Agradecer a Dios por haberme dado la fortaleza, sabiduría y perseverancia a lo largo de este camino académico.*

*A mis padres, por su constante e incondicional apoyo a lo largo de mi vida. Su cariño, entrega y orientación han sido pilares esenciales en mi desarrollo tanto personal como académico. Por la confianza y el respaldo económico que me han brindado.*

*Quiero agradecer a mi asesor, Ms. Diner Mori Mestanza, por su apoyo y dedicación durante el desarrollo de mi tesis, por darme la oportunidad de conformar parte de su equipo técnico como tesista en el desarrollo del proyecto **“Nanoencapsulado de aceites esenciales de piel de cítricos extraídos con solventes verdes para desarrollar chocolates finos de aroma potencialmente funcionales”**.*

*Agradecer al M.Sc. Grobert Amado Guadalupe Chuqui por su apoyo durante el desarrollo de mi tesis.*

*También agradezco profundamente a la M.Sc. Aline Camila Caetano por su apoyo durante los análisis de Cromatografía de gases desarrollados en las instalaciones del Instituto del laboratorio de Fisiología y Biotecnología Vegetal pertenecientes al Instituto de Investigación para el Desarrollo Sustentable de Ceja de Selva (INDES-CES) de la Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas.*

*Anali Cieza Irigoin*

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

JORGE LUIS MAICELO QUINTANA Ph.D.

**RECTOR**

Dr. OSCAR ANDRÉS GAMARRA TORRES

**VICERRECTOR ACADÉMICO**

Dra. MARÍA NELLY LUJÁN ESPINOZA

**VICERRECTORA DE INVESTIGACIÓN**

Dr. ERICK ALDO AUQUÍNIVÍN SILVA

**DECANO DE LA FACULTAD DE INGENIERÍA Y CIENCIAS AGRARIAS**

## VISTO BUENO DEL ASESOR DE LA TESIS



**UNTRM**

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

### ANEXO 3-L

#### VISTO BUENO DEL ASESOR DE TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL

El que suscribe el presente, docente de la UNTRM (  )/Profesional externo (  ), hace constar que ha asesorado la realización de la Tesis titulada \_\_\_\_\_  
DESARROLLO DE CHOCOLATES FUNCIONALES UTILIZANDO NANOPARTICULAS DE  
ACEITES ESENCIALES DE PIELES DE CITRICOS \_\_\_\_\_ ;  
del egresado Anali Cieza Irigoin \_\_\_\_\_  
de la Facultad de Ingeniería y Ciencias Agrarias \_\_\_\_\_  
Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial \_\_\_\_\_  
de esta Casa Superior de Estudios.

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, 26 de AGOSTO de 2024

Firma y nombre completo del Asesor  
MS. Diner Mori Mestanza



**JURADO EVALUADOR DE LA TESIS**




---

Dr. EFRAÍN MANUELITO CASTRO ALAYO  
**PRESIDENTE**



---

Ph.D. ARMSTRONG BARNARD FERNÁNDEZ JERI  
**SECRETARIO**



---

Ing. MS. ROBERT JAVIER CRUZALEGUI FERNÁNDEZ  
**VOCAL**

# CONSTANCIA DE ORIGINALIDAD DE LA TESIS



## ANEXO 3-Q

### CONSTANCIA DE ORIGINALIDAD DE LA TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL

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

DESARROLLO DE CHOCOLATES FUNCIONALES UTILIZANDO NANOPARTICULAS DE ACEITES ESENCIALES DE PIELES DE CITRICOS

presentada por el estudiante ( )egresado (x) Anali Cieza Irigoin

de la Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial

con correo electrónico institucional 7721431672@untrm.edu.pe.

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

- a) La citada Tesis tiene 24 % 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, 20 de octubre del 2024

  
SECRETARIO

  
VOCAL

  
PRESIDENTE

OBSERVACIONES:

.....  
.....



## REPORTE TURNITIN

# DESARROLLO DE CHOCOLATES FUNCIONALES UTILIZANDO NANOPARTÍCULAS DE ACEITES ESENCIALES DE PIELES DE CÍTRICOS

### INFORME DE ORIGINALIDAD



### FUENTES PRIMARIAS

- 1** Jim Van Durme, Isabel Ingels, Ann De Winne. "Inline roasting hyphenated with gas chromatography-mass spectrometry as an innovative approach for assessment of cocoa fermentation quality and aroma formation potential", Food Chemistry, 2016  
Publicación **2%**
- 2** [ouci.dntb.gov.ua](http://ouci.dntb.gov.ua)  
Fuente de Internet **2%**
- 3** Delli Huaman-Rojas, Jorge L. Maicelo-Quintana, Diner Mori-Mestanza, Erick A. Auquiñivin-Silva et al. "Enriching white chocolates with native Amazonian blackberries improves its physicochemical properties", Applied Food Research, 2024  
Publicación **1%**
- 4** [link.springer.com](http://link.springer.com)  
Fuente de Internet **1%**

  
Dr. Efraim Manuelito Castro Alayo



# ACTA DE SUSTENTACIÓN DE LA TESIS



**UNTRM**

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

## ANEXO 3-5

### ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL

En la ciudad de Chachapoyas, el día 06 de Noviembre del año 2024, siendo las 10:00 horas, el aspirante: Anali Cieza Jrigoin, asesorado por Ms. Diner Mori Mestanza defiende en sesión pública presencial (  ) / a distancia (  ) la Tesis titulada: DESARROLLO DE CHOCOLATES FUNCIONALES UTILIZANDO NANOPARTICULAS DE ACEITES ESENCIALES DE PIELES DE CITRICOS. para obtener el Título Profesional de Ingeniera Agroindustrial a ser otorgado por la Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas; ante el Jurado Evaluador, constituido por:

Presidente: Dr. Efraín Manuelito Castro Alaya

Secretario: Ph.D. Armstrong Barnard Fernández Jeri

Vocal: Mg. Ms. Robert Javier Cruzalegui Fernández



Procedió el aspirante a hacer la exposición de la Introducción, Material y métodos, Resultados, Discusión y Conclusiones, haciendo especial mención de sus aportaciones originales. Terminada la defensa de la Tesis presentada, los miembros del Jurado Evaluador pasaron a exponer su opinión sobre la misma, formulando cuantas cuestiones y objeciones consideraron oportunas, las cuales fueron contestadas por el aspirante.

Tras la intervención de los miembros del Jurado Evaluador y las oportunas respuestas del aspirante, el Presidente abre un turno de intervenciones para los presentes en el acto de sustentación, para que formulen las cuestiones u objeciones que consideren pertinentes.

Seguidamente, a puerta cerrada, el Jurado Evaluador determinó la calificación global concedida a la sustentación de la Tesis para obtener el Título Profesional, en términos de:

Aprobado (  ) por Unanimidad (  ) / Mayoría (  ) Desaprobado (  )

Otorgada la calificación, el Secretario del Jurado Evaluador lee la presente Acta en esta misma sesión pública. A continuación se levanta la sesión.

Siendo las 11:10 am horas del mismo día y fecha, el Jurado Evaluador concluye el acto de sustentación de la Tesis para obtener el Título Profesional.

[Signature]  
SECRETARIO

[Signature]  
VOCAL

[Signature]  
PRESIDENTE

OBSERVACIONES:  
.....

## ÍNDICE

DEDICATORIA .....	ii
AGRADECIMIENTO .....	iii
AUTORIDADES DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL TORIBIO RODRÍGUEZ DE MENDOZA DE AMAZONAS .....	iv
VISTO BUENO DEL ASESOR DE LA TESIS .....	v
JURADO EVALUADOR DE LA TESIS .....	vi
CONSTANCIA DE ORIGINALIDAD DE LA TESIS.....	vii
REPORTE TURNITIN.....	viii
ACTA DE SUSTENTACIÓN DE LA TESIS.....	ix
ÍNDICE.....	x
ÍNDICE DE TABLAS .....	xii
INDICE DE FIGURAS .....	xiii
RESUMEN .....	xv
ABSTRACT.....	xvi
I. INTRODUCCIÓN .....	17
II. MATERIAL Y MÉTODOS.....	20
2.1. Lugar de ejecución .....	20
2.2. Obtención de la pasta de cacao.....	20
2.3. Reactivos químicos.....	20
2.4. Diseño de la investigación.....	20
2.5. Métodos .....	21
2.6. Preparación de las nanopartículas por encapsulación .....	21
2.7. Preparación del chocolate.....	22
2.8. Análisis químicos de los chocolates con nanopartículas de aceites esenciales de pieles de cítricos .....	24
2.9. Análisis físicos de los chocolates con nanopartículas de aceites esenciales de pieles de cítricos .....	26

III.	RESULTADOS .....	28
3.1.	Contenido fenólico total de las barras de chocolates con nanopartículas de aceites esenciales de pieles de cítricos .....	28
3.2.	Capacidad antioxidante de las barras de chocolates con nanopartículas de aceites esenciales de pieles de cítricos mediante los métodos de DPPH y ABTS <sup>·+</sup> . 29	29
3.3.	Identificación de compuestos volátiles de las barras de chocolates con nanopartículas de aceites esenciales de pieles de cítricos.....	31
3.4.	Análisis físicos de los chocolates con nanopartículas de aceites esenciales de pieles de cítricos .....	33
3.5.	Color .....	33
3.6.	Textura.....	35
3.7.	Tamaño de partícula y actividad de agua ( <b>a<sub>w</sub></b> ).....	36
3.8.	Análisis sensorial.....	37
IV.	DISCUSIÓN .....	38
V.	CONCLUSIONES .....	43
VI.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	44
	ANEXOS .....	51

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Arreglo experimental .....	21
<b>Tabla 2.</b> Formulaciones de chocolates oscuros con nanopartículas de aceites esenciales de pieles de cítricos por cada 100 gr .....	22
<b>Tabla 3.</b> Valores de color de las barras de los chocolates con nanopartículas de aceites esenciales de pieles de cítricos .....	33
<b>Tabla 4.</b> Valores de textura de las barras de los chocolates con nanopartículas de aceites esenciales de pieles de cítricos .....	35
<b>Tabla 5.</b> Valores del tamaño de partícula y ( $a_w$ ) de las barras de los chocolates con nanopartículas de aceites esenciales de pieles de cítricos .....	36

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Flujograma para la elaboración de chocolates oscuros con nanopartículas de aceites esenciales de pieles de cítricos .....	23
<b>Figura 2.</b> Contenido fenólico total de las barras de los chocolates con nanopartículas de aceites esenciales de pieles de cítricos .....	28
<b>Figura 3.</b> Capacidad antioxidante de las barras de chocolates con nanopartículas de aceites esenciales de pieles de cítricos mediante el método ABTS <sup>+</sup> .....	29
<b>Figura 4.</b> Capacidad antioxidante de las barras de chocolates con nanopartículas de aceites esenciales de pieles de cítricos mediante el método DPPH .....	30
<b>Figura 5.</b> Abundancia de compuestos volátiles en las barras de chocolates con nanopartículas de aceites esenciales de pieles de cítricos identificados mediante GC-MS .....	32
<b>Figura 6.</b> Índice de color de las barras de los chocolates con nanopartículas de aceites esenciales de pieles de cítricos .....	34
<b>Figura 7.</b> Valores de análisis sensorial de las barras de los chocolates con nanopartículas de aceites esenciales de pieles de cítricos .....	37
<b>Figura 8.</b> Selección de los granos del cacao .....	51
<b>Figura 9.</b> Tostado de los granos del cacao .....	51
<b>Figura 10.</b> Descascarillado.....	52
<b>Figura 11.</b> Molido .....	52
<b>Figura 12.</b> Conchado .....	53
<b>Figura 13.</b> Colado y temperado.....	53
<b>Figura 14.</b> Moldeado .....	54
<b>Figura 15.</b> Desmoldado .....	54

<b>Figura 16.</b> Envasado y rotulado .....	55
<b>Figura 17.</b> Pesado 0.5 gr de chocolate triturado.....	55
<b>Figura 18.</b> Se agregó extractos de las barras de chocolates triturados, Folin y carbonato de sodio .....	56
<b>Figura 19.</b> Reacción en oscuridad después de 30 min.....	56
<b>Figura 20.</b> Actividad antioxidante DPPH.....	57
<b>Figura 21.</b> Actividad antioxidante ABTS <sup>·+</sup> .....	57
<b>Figura 22.</b> Reposo después de 30 min .....	58
<b>Figura 23.</b> Preparación de las muestras.....	58
<b>Figura 24.</b> Muestras en viales de vidrio .....	59
<b>Figura 25.</b> Exposición de la fibra triple (DVB/Car/PDMS.....	59
<b>Figura 26.</b> Cromatógrafo.....	60
<b>Figura 27.</b> Medición del color mediante colorímetro .....	60
<b>Figura 28.</b> Medición de actividad de agua (aw).....	61
<b>Figura 29.</b> Medición de tamaño de partícula .....	61
<b>Figura 30.</b> Análisis sensorial de los chocolates .....	62
<b>Figura 31.</b> Ficha de análisis sensorial .....	63

## RESUMEN

Los chocolates funcionales son productos que no solo satisfacen el gusto, sino que también aportan beneficios para la salud porque tienen ingredientes que cumplen la función de antioxidantes. En esta investigación se analizaron las características fisicoquímicas y sensoriales de los chocolates funcionales con nanopartículas de aceites esenciales de pieles de cítricos; naranja (*Citrus sinensis*), lima (*Citrus limetta* Risso), mandarina (*Citrus reticulada*) y limón dulce (*Citrus limetta* sp.) con diferentes concentraciones (1;1.5 y 2%). Se evaluó el contenido de compuestos fenólicos totales, antioxidantes a través de los métodos DPPH y ABTS<sup>+</sup>, adicción a esto también, se analizó los compuestos volátiles mediante cromatografía de gases (GC-MS). Las barras de chocolates al 2 % de *C. reticulada* presentó una mayor cantidad de CPT (188.53 mg GAE/g) y una mayor capacidad antioxidante (1905.39 umol TE/g), representado el 95.17%. Las muestras de chocolates con menor cantidad de CPT se encontró para *C. limetta* Risso al 1% (132.53 mg GAE/g) y menor capacidad antioxidante (1463 umol TE/g), representando el 72.5%. Respecto a los compuestos volátiles todas las muestras de chocolates con nanopartículas incrementaron sus componentes, dentro de ello se pudo presenciar compuestos como él; ácido acético, D- limoneno y linalool . En cuanto al análisis sensorial los chocolates al 2% de *C. limetta* sp tuvo una mejor aceptación, la muestra con menos aceptación fue para *C.sinensis*. La incorporación de nanopartículas de aceites esenciales de pieles de cítricos aplicado en chocolates ayuda a mejorar su perfil fisicoquímico y sensorial, lo que sugiere mayores beneficios para la salud.

### Palabras claves

Nanopartículas cítricas, encapsulación de cítricos, antioxidantes, compuestos volátiles.



## ABSTRACT

Functional chocolates are products that not only satisfy taste, but also provide health benefits because they have ingredients that serve as antioxidants. In this research, the physicochemical and sensory characteristics of functional chocolates with nanoparticles of essential oils from citrus peels; orange (*Citrus sinensis*), lime (*Citrus limetta* Risso), mandarin (*Citrus reticulata*) and sweet lemon (*Citrus limetta* sp.) with different concentrations (1;1.5 and 2%) were analyzed. The content of total phenolic compounds and antioxidants was evaluated by DPPH and ABTS.+ methods, and volatile compounds were also analyzed by gas chromatography (GC-MS). The chocolate bars with 2 % *C. reticulata* presented a higher amount of CPT (188.53 mg GAE/g) and a higher antioxidant capacity (1905.39  $\mu\text{mol TE/g}$ ), representing 95.17%. The chocolate samples with the lowest amount of CPT were found for *C. limetta* Risso at 1% (132.53 mg GAE/g) and the lowest antioxidant capacity (1463  $\mu\text{mol TE/g}$ ), representing 72.5%. Regarding the volatile compounds, all the samples of chocolates with nanoparticles increased their components, including compounds such as acetic acid, D-limonene and linalool. In terms of sensory analysis, chocolates with 2% of *C. limetta* sp had a better acceptance, the sample with less acceptance was for *C. sinensis*. The incorporation of nanoparticles of essential oils of citrus peels applied in chocolates helps to improve their physicochemical and sensory profile, suggesting greater health benefits.

### Keywords

Citrus nanoparticles, citrus encapsulation, antioxidants, volatile compounds.

## I. INTRODUCCIÓN

Las nanopartículas son usadas en nuestra vida diaria y pueden ser aprovechadas en diversos ámbitos sanitario, químicos y en la industria de los alimentos. Durante los últimos tiempos, la fabricación de nanopartículas se ha incrementado y ha ampliado para la utilización de productos fabricados en los consumidores (Singh et al., 2022). Las nanopartículas son moléculas pequeñas de un tamaño de 1 a 100 nm, las cuales pueden tener una a más dimensiones (Nair et al., 2022). Además, estas nanopartículas se caracterizan por una tener una alta reactividad, superficie específica, sensibilidad, estabilidad y propiedades únicas, se han utilizado como aditivos alimentarios y materiales de recubrimiento (Liu et al., 2023). Las nanopartículas vienen siendo utilizadas ampliamente como nanoaditivos y nanoingredientes en la elaboración de productos de consumo común como alimentos, bebidas, derivados a base de chocolate, envases, etc. (Guidotti et al., 2022; Zergui, 2023).

Actualmente, la tendencia del consumo de alimentos funcionales es cada vez mayor, ya que los consumidores prefieren productos más seguros y saludables (Julio et al., 2019) que sean beneficios para la salud (Souza et al., 2022). Los alimentos funcionales ofrecen ventajas para la salud más allá de su valor nutricional, por lo que es necesario informar a más personas para que elijan alimentos funcionales (Sun et al., 2022).

El creciente interés actual por alimentos más saludables ha llevado al estudio y la creación de nuevos productos reducidos en azúcar y grasa y/o fortificados con beneficios específicos para la salud (Aranguren & Marcovich, 2023). Dentro de este de este rango se encuentra el desarrollo de chocolates funcionales, que como nuevos chocolates sean bajos en calorías y que puedan ser sustituidos en el azúcar y la grasa por componentes alternativos (Chen et al., 2022). El azúcar se ha convertido en edulcorantes primarios durante la elaboración del chocolate (Mellor et al., 2018). Si bien, los edulcorantes naturales alternativos, contribuyen al dulzor y también ayudan a aumentar las propiedades nutricionales y sensoriales del chocolate. Por otro lado, los chocolates con sustitutos como azúcar o el CB tienen mayor contenido de humedad (Ibrahim et al., 2020).

El proceso de elaboración de chocolates conlleva de varias etapas, las cuales consiste en fermentación, secado, tostado, molienda, refinación, conchado y templado de los granos de cacao. Durante este procedimiento prolongado, se ocasiona la pérdida de ciertos compuestos polifenoles, flavonoides disminuyen debido a la reacción de Maillard (Samanta et al., 2022). El proceso de conchado es un procedimiento fundamental para la

elaboración de chocolate, ya que permite liberar sustancias y mejorar características de los chocolates como; sabores, la textura, entre otros. Además, este proceso provoca cambios importantes en las características fisicoquímicas, sensoriales y físicas (Toker et al., 2019).

El chocolate y otros productos derivados del procesamiento del cacao (*Theobroma cacao* L.), son ampliamente consumidos a nivel mundial debido a sus características sensoriales (Silva et al., 2023). El chocolate con alto contenido de sólidos de cacao tiene un efecto positivo en la nutrición humana, ya que proporciona antioxidantes, compuestos fenólicos, lo cual estos desempeñan una función crucial en la prevención de enfermedades (Jovanović et al., 2022). El chocolate en si posee sus propios compuestos funcionales y sensoriales, las cuales pueden asignar a componentes fenólicos y nitrogenados (Deus et al., 2020). Sin embargo, hoy en día se está buscando incrementar sus compuestos y, a la misma vez, mejorar sus características sensoriales, tales como es el desarrollo de chocolates funcionales o fortificados (Samanta et al., 2022). Se utilizaron extracto de granada, tanto libres y encapsulado, para mejorar la actividad antioxidante en chocolates blancos (Didar, 2020).

En estudios previos, se desarrollaron chocolates oscuros con la finalidad de enriquecer compuestos funcionales. Para el cual, se utilizaron diversas concentraciones de aceite de lima (*Citrus hystrix*) 0.25%, 0.5%, 0.75% v/w. El chocolate al 0,25 % de aceite esencial de *C. hystrix* incrementó su capacidad antioxidante por la presencia de compuestos como el citronelal, acetato, cafeína, entre otros. Además, mantenía mejores características aroma, color, textura y tuvieron una mayor aceptación por parte de los panelistas (Yoriska et al., 2019). Por otro lado, se utilizaron 2,5, 5,0, 7,5 y 10 ppm, p/p) de aceite esencial de *C. sinensis* para la elaboración de chocolates oscuros, en los cuales se encontraron compuestos volátiles como el limoneno, el cual contribuye a mejorar el aroma de los chocolates. Además no se presentaron cambios en la humedad (Galvagni et al., 2020)

Se utilizaron diferentes porcentajes de microcápsulas que contenían aceite de semilla de Chía (CSO) (5%, 10% y 15% p/p). Los chocolates fortificados al 10% de microcápsulas, después de 120 días de almacenamiento, no se presentaron cambios significativos en el sabor y textura. Por lo tanto, llegaron a concluir que la producción de chocolates con compuestos fortificados ayudan a mejorar las propiedades sensoriales (Razavizadeh & Tabrizi, 2021). En estudios previos, se usaron varias concentraciones de microcápsulas de oleoresina de corteza de canela (4 %/F1, 6 %/F2 y 8 %/F3) para la

elaboración de chocolates oscuros, donde la mejor fórmula resultó ser la adición del 8%, ya que este chocolate poseía una textura más dura, una actividad antioxidantes y fenoles totales más altos, y su contenido de humedad era más bajo, siendo la más aceptada por los panelistas (Praseptiangga et al., 2019).

## II. MATERIAL Y MÉTODOS

### 2.1. Lugar de ejecución

La producción de chocolates oscuros se llevó a cabo en el Laboratorio de Ingeniería de Alimentos y Post cosecha (LIIAP) en el área de Chocolates.

### 2.2. Obtención de la pasta de cacao

Los granos de cacao secos de variedad criollo se obtuvieron de la Cooperativa CEPROAA.-Amazonas, Perú. Seguidamente, los granos de cacao fueron llevados al Laboratorio de Ingeniería de Alimentos y Post cosecha (LIIAP), seguido se seleccionaron los granos de cacao, después los granos se tostaron en un equipo del tipo bandejas (Fischer Agro) y se trasladaron a un descascarillador (Imsa, Perú) obteniendo los nibs se transportaron a un molino de granos (Prosol Perú SAC, Tritur -50, Perú) adquiriendo una pasta de cacao, posteriormente la pasta del cacao fue almacenada en bolsas herméticas.

### 2.3. Reactivos químicos

Reactivo de fenol de Folin-Ciocalteu (Sigma Aldrich, EEUU), ácido gálico (Sigma Aldrich, China,  $\geq 98\%$ ), carbonato de sodio ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) (Spectrum Chemical Mfg. Corp, EEUU, 99.5%), metanol ( $\text{CH}_3\text{OH}$ ) (J.T.Baker, EEUU, 99.98%), quercetina ( $\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_7$ ), Acetato de sodio ( $\text{C}_2\text{H}_3\text{Na}_2\text{O}_2$ ), cloruro de aluminio ( $\text{AlCl}_3$ ), 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) (Sigma Aldrich, EEUU), ácido 2,2'-azino-bis-3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico (ABTS+), persulfato de potasio ( $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ ).

### 2.4. Diseño de la investigación

Se utilizó un diseño estadístico factorial  $4 \times 3 \times 3$  bajo un diseño completamente al azar (DCA) con 3 repeticiones, por cada tratamiento (Tabla 1), obteniendo 48 unidades experimentales. Donde el (Factor A) es el aceite encapsulado y el (Factor B) es la dosis de nanopartículas.

**Factor A:** aceite esencial nanoencapsulado

A1: Naranja (*C. sinensis*)

A2: Mandarina (*C. reticulata*)

A3: Lima (*C. limetta* Riso)

A4: Limón (*C. limetta* sp)

**Factor B:** dosis de nanopartículas (%)

B1: 1%

B2: 1.5%

B3: 2%

Testigo: sin adición de nanopartículas de aceites esenciales de pieles de cítricos

**Tabla 1.**

*Arreglo experimental*

	Factores												Testigo
	a1			a2			a3			a4			
	b1	b2	b3	b1	b2	b3	b1	b2	b3	b1	b2	b3	
<b>Tratamientos</b>	a1b1	a1b2	a1b3	a2b1	a2b2	a2b3	a3b1	a3b2	a3b3	a4b1	a4b2	a4b3	T0
<b>R1</b>	a1b1	a1b2	a1b3	a2b1	a2b2	a2b3	a3b1	a3b2	a3b3	a4b1	a4b2	a4b3	T1
<b>R2</b>	a1b1	a1b2	a1b3	a2b1	a2b2	a2b3	a3b1	a3b2	a3b3	a4b1	a4b2	a4b3	T2
<b>R3</b>	a1b1	a1b2	a1b3	a2b1	a2b2	a2b3	a3b1	a3b2	a3b3	a4b1	a4b2	a4b3	T3

## 2.5. Métodos

Se utilizó nanopartículas de aceites esenciales de pieles de cítricos con tres paredes de recubrimiento Caseína, Maltodextrina y Goma arábiga, estas nanopartículas se elaboraron en el Laboratorio de Ingeniería de la Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas. Los ingredientes como la manteca de cacao, pasta de cacao se obtuvieron de la cooperativa CEPROAA- Amazonas, Perú, el azúcar fue adquirido del mercado central de la ciudad de Chachapoyas.

## 2.6. Preparación de las nanopartículas por encapsulación

Para encapsular los aceites esenciales de cítricos *C.sinensis*, *C.limetta* Riso, *C. reticulata* y *C.limetta* sp, se utilizó una combinación de maltodextrina, goma arábiga y caseína como material de pared, siguiendo el método de Karaaslan et al. (2021). Se estableció una proporción 1:1:1 (p/p) entre los materiales de pared, pesando cada uno según la cantidad de aceite esencial a encapsular, para completar un volumen de 50 ml por cada 15 g de material de pared pesado. Se preparó una suspensión acuosa de estos materiales y se refrigeró a 5°C durante 12 hr (Krishnan et al., 2005).

Luego, se incorporaron los materiales de pared y el aceite esencial, que representaba el 30% del peso seco de los materiales. Para garantizar una mezcla homogénea, se utilizó un vórtex y se añadió Tween 80 ( 5% del peso en seco del material de pared (Guo et al., 2020) realizando una homogeneización adicional durante 3 min para garantizar una buena dispersión del material de pared y formar una emulsión homogénea. Finalmente, la mezcla se ultracongelación por 24 hr, y se liofilizó (Labconco, modelo 710402010, Kansas City, Mo, EE. UU) a 0.008 bar y -84°C durante 48 hr.

## 2.7. Preparación del chocolate

Para la formulación del chocolate se utilizó 65% pasta de cacao, 35% de azúcar y 5% de manteca de cacao. Se elaboraron cinco tipos de chocolate: Testigo, y chocolate con nanopartículas de aceites esenciales de pieles de cítricos al 1, 1.5 y 2% de *C. sinensis*, *C. reticulata*, *C. limetta* Risso y *C. limetta* sp. El testigo se tomó como referencia, consistiendo en la ausencia de nanopartículas . A continuación, se presentarán las formulaciones de chocolates en la tabla 2.

**Tabla 2.**

*Formulaciones de chocolates oscuros con nanopartículas de aceites esenciales de pieles de cítricos por cada 100 gr*

Ingredientes (%)	Chocolate			
	Testigo	Chocolate A	Chocolate B	Chocolate C
<b>Pasta de cacao</b>	60%	60%	60%	60%
<b>Azúcar</b>	35%	34%	33.5%	33%
<b>Manteca de cacao</b>	5%	5%	5%	5%
<b>Nanopartículas de cítricos</b>	0%	1%	1.5%	2%

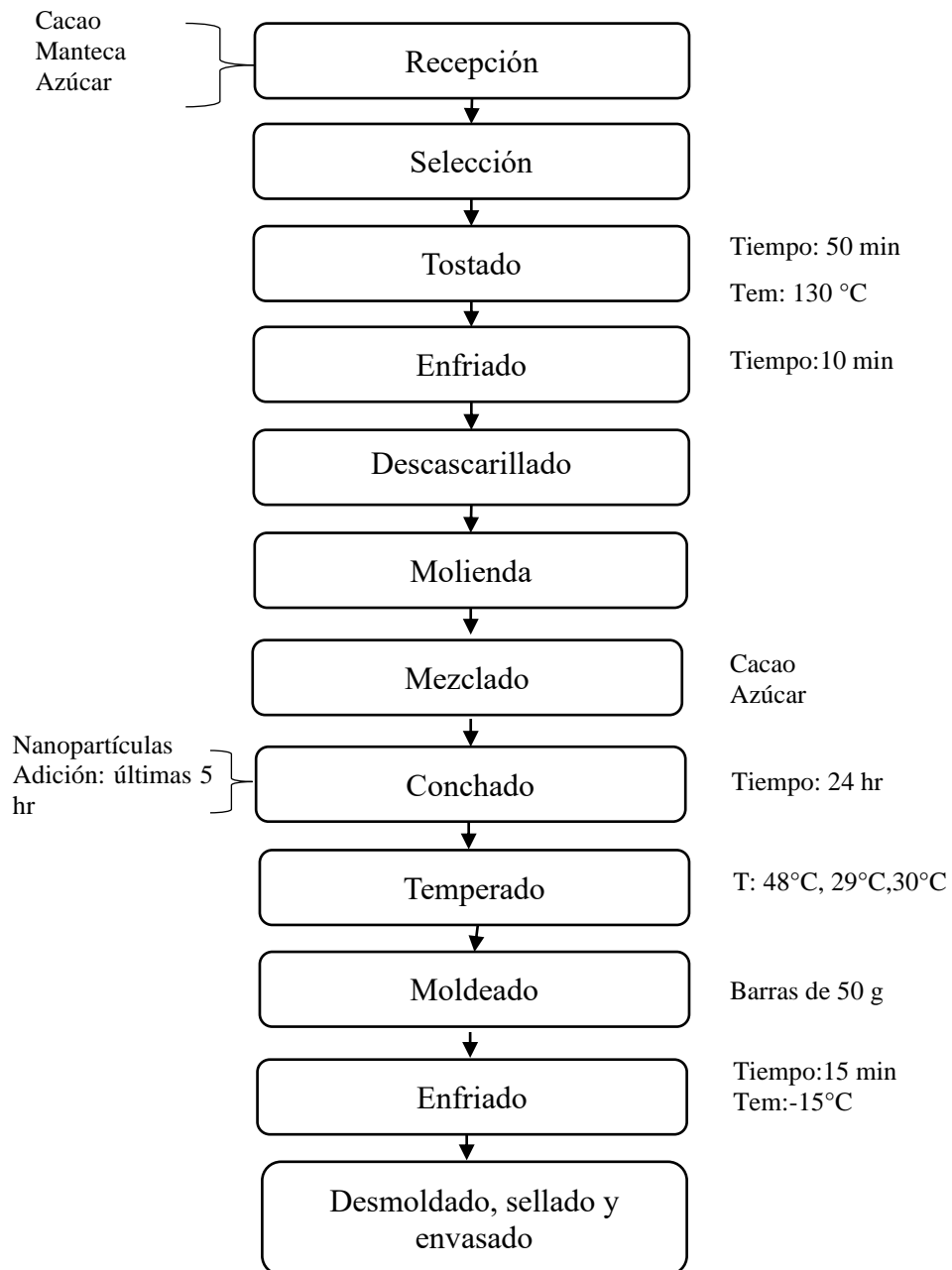
Seguidamente, la pasta de cacao, azúcar y manteca de cacao se derritieron con la ayuda de baño maría y se procesaron en un refinador de dos rodillos (Premier, PG508, India) durante 24 hr. Durante las últimas 5 horas de conchado se agregaron las nanopartículas de cítricos. Luego, el chocolate se templó de manualmente y se vertió en moldes de 40 gramos, llevándolos a congelar a -18 °C durante 15 min. Posteriormente, las muestras se desmoldaron se envolvieron en papel aluminio, y se almacenaron en un recipiente



hermético en refrigeración para sus análisis . A continuación, se presenta el flujograma para la fabricación de chocolates. Figura 1.

**Figura 1.**

*Flujograma para la elaboración de chocolates oscuros con nanopartículas de aceites esenciales de pieles de cítricos*



## **2.8. Análisis químicos de los chocolates con nanopartículas de aceites esenciales de pieles de cítricos**

### **2.8.1. Determinación del contenido fenólico total**

### **2.8.2. Preparación de los extractos fenólicos**

La preparación de los extractos se preparó de acuerdo al método de Godočíková et al.(2020) con algunas adaptaciones, para el cual se pesó 0.5 gramos de chocolates triturado, luego se mezcló con 9.5 ml de solución metanólica al 80%. Seguidamente, se movió en un vórtex durante 1 min y centrifugado a 3000 rpm por 30 min, el sobrenadante fue puesto en tubos de ensayo y guardado en refrigeración.

### **2.8.3. Cuantificación de fenoles totales**

El contenido de fenoles totales (CPT) se determinó siguiendo el método de Deus et al. (2021); Puchol et al. (2021) con algunas adaptaciones. Para la reacción se agregó 0,5 ml de los extractos de chocolate (2.5 mg/0.5 ml en etanol) y 2.5 ml de reactivo de Folin-Ciocalteu diluido 1:10 agua ultrapura. Después, se agregó 2 ml de una solución de carbonato de sodio al (7.5%) a la mezcla, la cual se agitó intensamente y se dejó reaccionar por 60 min. Posteriormente, se midió la absorbancia a 764 nm usando un espectrofotómetro (EMC-11-UV SPECTROPHOTOMETER). Para cuantificar el contenido de fenoles totales, se construyó una curva estándar de ácido gálico  $y = 0.0004x + 0.0212$ . Los resultados se expresaron en miligramos equivalentes de ácido gálico (GAE) por gramo de muestra seca de chocolate, fue realizado en concentraciones desde 0 hasta 2500 mM.

### **2.8.4. Actividad antioxidante utilizando el método DPPH (radical libre 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo)**

La actividad de eliminación de radicales libres de DPPH se evaluó siguiendo el método descrito por (Deus et al., 2021; Żyżelewicz et al., 2018), con algunas adaptaciones, el cual se detalla a continuación. Se mezclaron 1 ml de extractos de chocolate (1 ml/9ml) con 1 ml de una solución metanólica de DPPH 0.1 mM. La mezcla se incubó en la oscuridad a temperatura ambiente durante 30 min. Posteriormente, se midió la absorbancia de las muestras a 517 nm usando un espectrofotómetro (EMC-11-UV SPECTROPHOTOMETER), las absorbancias se registraron como " A\_muestra ". Además, se llevó a cabo un experimento en blanco, siguiendo el mismo procedimiento a una solución, pero sin extractos de chocolate, y se registró a la absorbancia como "A\_blanco". Todos los tratamientos se realizaron por cuadruplicado.

La actividad depuradora de DPPH se determinó empleando la siguiente ecuación.

$$(\%) = \left[ \frac{(A_{\text{blanco}} - A_{\text{muestra}})}{A_{\text{blanco}}} \right] * 100$$

### **2.8.5. Actividad antioxidante mediante el método ABTS<sup>·+</sup>**

La capacidad antioxidante se analizó utilizando el procedimiento de Godočíková et al. (2020) con algunas adaptaciones. El catión radical ABTS<sup>·+</sup> se originó haciendo reaccionar ABTS<sup>·+</sup> acuoso 7 mM, mezclando 88 µl de solución ABTS<sup>·+</sup> con 5ml de persulfato de potasio a 2.45 mM. Esta mezcla se incubó en la oscuridad a temperatura ambiente por 16 hr antes de su uso. La solución ABTS<sup>·+</sup> se diluyó con etanol (aproximadamente 1:80) hasta lograr una absorbancia de  $0.700 \pm 0.02$  a 734 nm. Para medir la actividad antioxidante de los chocolates con nanopartículas de aceites esenciales de pieles de cítricos, se agregó 30 µl de cada extracto con 3000 µl de ABTS<sup>·+</sup> diluido, y se registró la absorbancia como al tiempo cero y después de 30 min cuando la absorbancia se estabilizó, se procedió a cuantificar la capacidad antioxidante de los chocolates, para el cual se usó la ecuación  $y = -0.0004x + 0.8502$  realizado con estándar trolox en concentraciones que variaron de 0 hasta 2000 mM.

### **2.8.6. Determinación de los compuestos volátiles**

Para proceder con el análisis de los compuestos volátiles de los chocolates se tomaron las barras de chocolates almacenadas del Laboratorio de Ingeniería de la Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas, para la cual, se utilizó menos de la mitad de la barra de chocolate. Seguidamente con la ayuda de un mortero se trituro la muestra de chocolate, se pesó 2 gr y se colocó en un vial de vidrio, el cual fue sellado con una tapa de politetrafluoroetileno (PTFE). Luego, los viales fueron llevados al Laboratorio de Fisiología y Biotecnología Vegetal de la Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas.

Para el análisis de los compuestos volátiles se siguió el procedimiento de Calva et al. (2020). Para el cual, se utilizó en un muestreador multiusos (Gerstel, Mulheim an der Rur, Alemania) equipado a una unidad de HA-SPME. Seguidamente la muestra 2 gr que se colocó en el vial de vidrio de 20 ml herméticamente cerrados, luego se hizo una micro extracción en fase sólida aplicada al espacio de cabeza de la muestra (HS-SPME). Para ello, se utilizó un SPME CAR /DVB/PDMS de 50/30 µm bien acondicionado. La fibra

(Supelco, Sigma – Aldrich NV, Bornem, Bélgica). Posteriormente, la muestra fue equilibrada a 60 °C durante 15 min. Luego, la fibra se expuesta en el vial de vidrio y se calentó a 60 °C durante 30 min bajo agitación continua. Seguidamente, los volátiles se analizaron mediante GC-MS, utilizando inyección de splitless, helio como gas portador (1 ml min<sup>-1</sup>) y una columna ZB-WAX-plus de 30 m de longitud, 0.25 mm de diámetro interno y 0.250 µm de espesor de película (Phenomenex, Utrecht, Países bajos). Para ello, se aplicó la siguiente programación de temperatura-tiempo: 35 °C por 5 min, de 35 a 182 °C (4 °C min<sup>-1</sup>) y de 182 °C a 240 °C por (7 °C min<sup>-1</sup>). El inyector y las líneas de transferencia se mantuvieron a 250 °C y 280 °C. La corriente iónica total (70 eV) se registraron en el rango de masas de modo m/z 40 a 250 (modo escaneo) sin retardo de solvente y un umbral de 50. La identificación de compuestos volátiles en el espacio de cabeza se realizó utilizando la biblioteca Wiley 275. La corroboración de la presencia de los compuestos volátiles se comprobó basándose en una configuración de GM-MS idéntica, pero equipada con una columna de metil silicona reticulada (HP-PONA) de 50 de longitud, 0.20 Diegem, Bélgica). La programación de tiempo-temperatura fue de 40 °C a 180 °C por (5°Cmin<sup>-1</sup>) de 40 °C a 180 °C por (10 °C min<sup>-1</sup>). La corriente iónica total (70 eV) se registraron en el rango de masas de m/z 40 a 250 (modo escaneo) sin retardo de solvente y un umbral de 50. La identificación de compuestos volátiles en el espacio de cabeza se realizó utilizando la biblioteca Wiley 275. Finalmente, se realizaron tres réplicas para todos los tratamientos.

## **2.9. Análisis físicos de los chocolates con nanopartículas de aceites esenciales de pieles de cítricos**

### **2.9.1. Color**

Para el color, se utilizó el procedimiento de Tolve et al. (2021), para el cual se utilizó colorímetro en condiciones estándar de luz. Para ello, se hicieron medidas en diferentes partes de las barras de los chocolates. Los resultados se expresaron utilizando el sistema CIE en L\*, a\*, b\*; donde (L\*) luminosidad y color (+a: rojo – a: verde; +b: amarillo; –b: azul). Se realizaron un total de cuatro repeticiones.

### **2.9.2. Textura**

Los parámetros de perfil de textura de los chocolates con nanopartículas de aceites esenciales de pieles de cítricos se realizaron de acuerdo a Abreu et al.(2021) con modificaciones, la textura de los chocolates se evaluó utilizando un analizador de textura (marca Brookfield, modelo CT3, Estados Unidos). Equipado con una celda de carga de

25 kg y una sonda TA2/1000 Cono 30 mmd, 60° de acero inoxidable. Las muestras utilizadas tenían dimensiones de 55 x 50 x 0,9 cm. La velocidad de prueba se estableció 10 mm/s. Finalmente, se realizó por cuadruplicado para todos los tratamientos.

### **2.9.3. Determinación de tamaño de partícula**

Para la medición del tamaño de partícula, se pesó 10 g de chocolate con nanopartículas de pieles de cítricos. Basándose en los estudios de Fernández et al. (2020) con adaptaciones, para el desengrasado del chocolate se usó de éter de petróleo, para el cual se pesaron 10 g. En resumen, se aplicaron 10 g de chocolate rallado en tubos Falcon de 50 ml, luego se añadieron 40 ml de éter de petróleo y se centrifugó a 5000 rpm por 20 min a 4 °C. Después de la centrifugación, se eliminó el líquido sobrenadante y la muestra desengrasada se secó a temperatura ambiente ( $20 \pm 2$  °C) por 24 hr. Seguidamente, se evaluó la distribución del tamaño de partícula utilizando un analizador (PSA1190, Anton Paar, Graz, Austria). Para ello, se colocó 1 g de muestra desengrasada en el dispersor del analizador, utilizando agua como disolvente. Para cada crema, se analizaron tres réplicas. Las curvas resultantes de distribución de tamaño caracterizaron el tamaño de partícula en áreas específicas de superficie, representadas por los valores D [10] (pequeño), D [50] (medio) y D [90] (grande). Finalmente, se realizó tres réplicas para todos los tratamientos.

### **2.9.4. Actividad de agua ( $A_w$ )**

La actividad del agua de los chocolates se evaluó utilizando un rotronic HygroPalm 23-AW-A. Para este análisis se utilizaron 3,0 g, la lectura se tomó a una temperatura de 22 °C. Se realizaron cuatro réplicas para cada muestra (Bölek et al., 2022).

### **2.9.5. Análisis sensorial**

El análisis sensorial fue realizado por panelistas semientrenados. Las muestras se proporcionaron en platos descartables respectivamente codificados con letras aleatorias junto con un vaso de agua. Para ello, se utilizó la Ficha de Catación de Cacao. Para este análisis sensorial se contó con la presencia de 50 panelistas semientrenados, en el cual marcaron el grado de intensidad percibida, descriptores y calidad de cada atributo presentado de los chocolates (Talawar et al., 2021).

### **2.9.6. Análisis estadístico**

Para identificar diferencias significativas entre los resultados de cada actividad, se usó un análisis estadístico mediante la prueba paramétrica de Tukey con un nivel de significancia de  $p < 0.05$ , empleando el software SPSS Statistics 22 y el R-4.4.1.

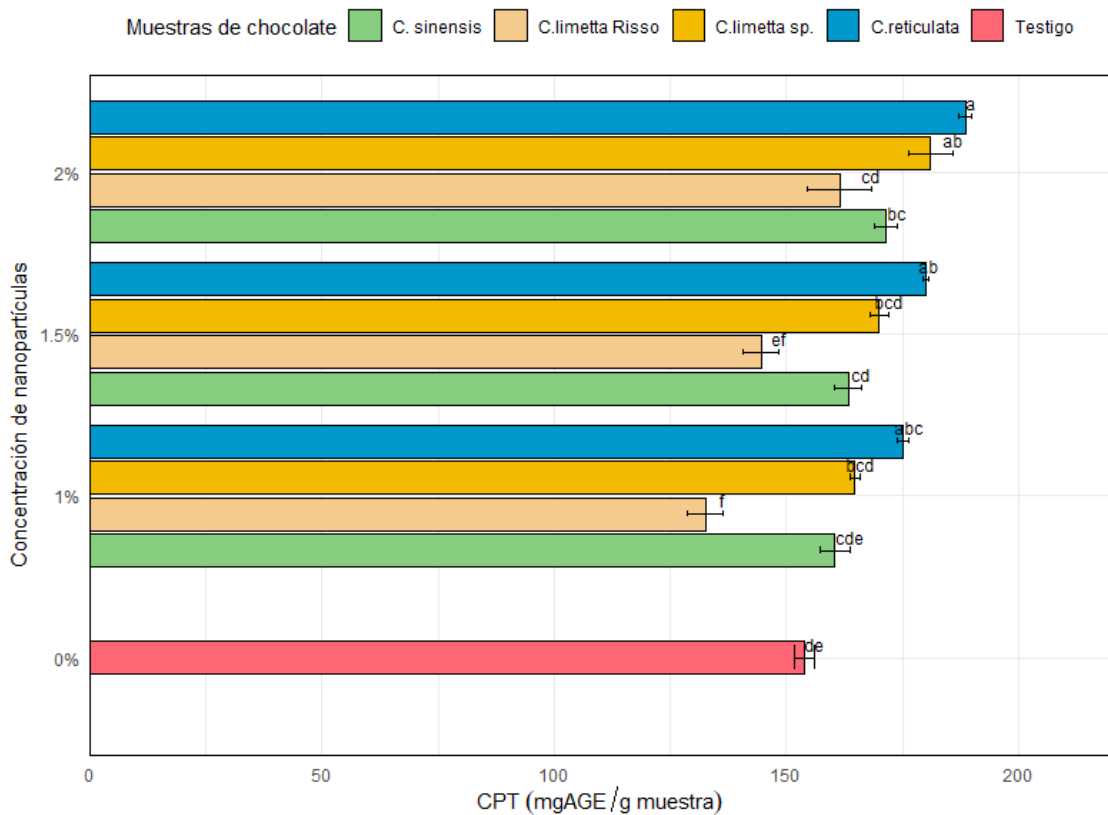
### III. RESULTADOS

#### 3.1. Contenido fenólico total de las barras de chocolates con nanopartículas de aceites esenciales de pieles de cítricos

En la figura 2 se muestra el contenido total de fenoles (CPT) de las barras de chocolates oscuros con nanopartículas de aceites esenciales de pieles de cítricos, los cuales oscilaron entre 132.53-188.53 (mgAGE/g muestra), donde se puede ver las diferencias significativas entre ellos ( $P < 0.05$ ). Las barras de chocolates al 1, 1.5 y 2% con nanopartículas de aceites de pieles esenciales de cítricos *C. reticulata* presentó un mayor CPT (175.24, 180.28 y 188.53 mg GAE/g) en todas sus concentraciones, seguido *C. limetta* sp (164.78, 170.03, 181.03 mg GAE/g) a diferencia de los chocolates con *C. sinensis* (160.40, 163.28, 171.40 mg GAE/g), los chocolates con menor capacidad antioxidante fue para *C. limetta* Risso al 1% (132.53 mg GAE/g) y la muestra testigo.

**Figura 2.**

*Contenido fenólico total de las barras de los chocolates con nanopartículas de aceites esenciales de pieles de cítricos*



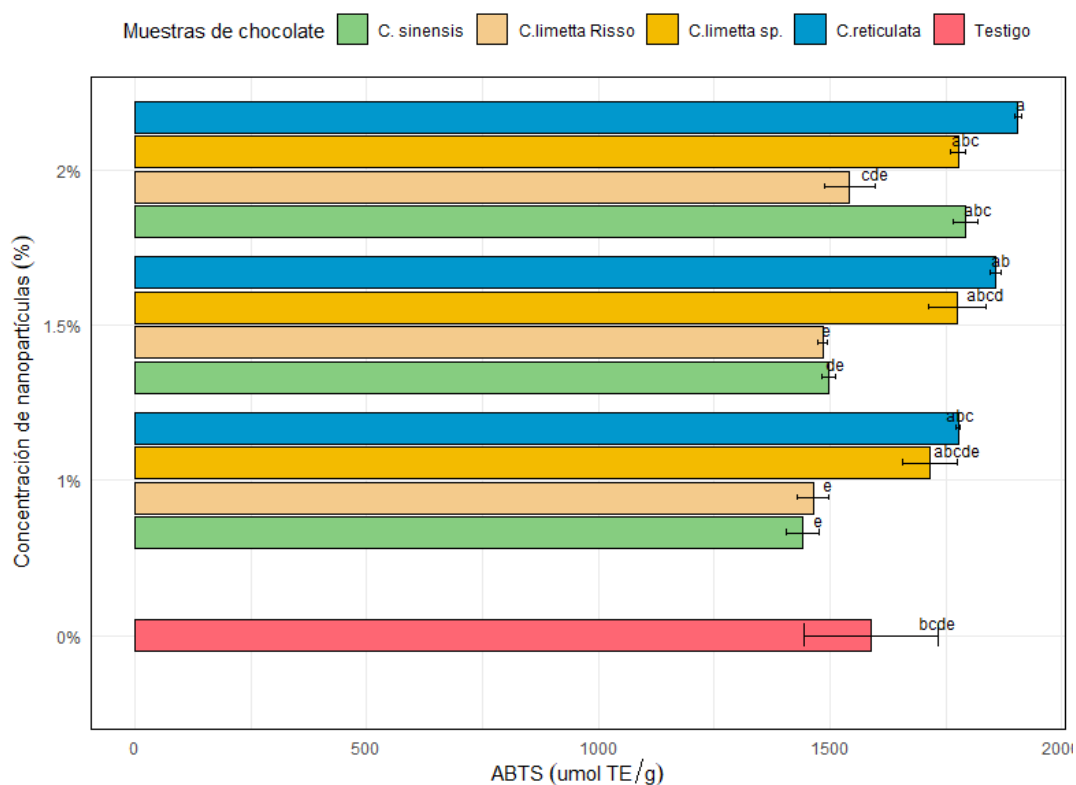
Nota: Letras indican grupos estadísticamente diferentes entre las barras de chocolates, según el test de Tukey ( $\text{sig.} \leq 0.05$ ).

### 3.2. Capacidad antioxidante de las barras de chocolates con nanopartículas de aceites esenciales de pieles de cítricos mediante los métodos de DPPH y ABTS<sup>+</sup>

En la figura 3 y 4 muestra la capacidad antioxidante en chocolates, en las cuales se pudo presenciar que las barras de chocolates con nanopartículas de aceites de pieles esenciales de cítricos con diferentes concentraciones ( 1, 1.5, 2%), se encontró valores más altos en los chocolates con *C.reticulata* ( 1776.76, 1858.31 y 1905.39 umol TE/g), lo cual representa el ( 90.58, 92.79, 95.17%), seguidamente *C.limetta* sp. (1715.50, 1774.25, 1776. 75 umol TE/g), el cual representa (78.49, 82.08, 88.56%), luego, *C. sinensis* ( 1440.50, 1497.38, 1791.75 umol TE/g ), que representa el (77.07, 78.45, 86.38%). La menor capacidad antioxidante se encontró en las barras de chocolates de *C.limetta* Risso (1463.00, umol TE/g), el cual representa (72.55,%) y la muestra testigo.

**Figura 3.**

*Capacidad antioxidante de las barras de chocolates con nanopartículas de aceites esenciales de pieles de cítricos mediante el método ABTS<sup>+</sup>*

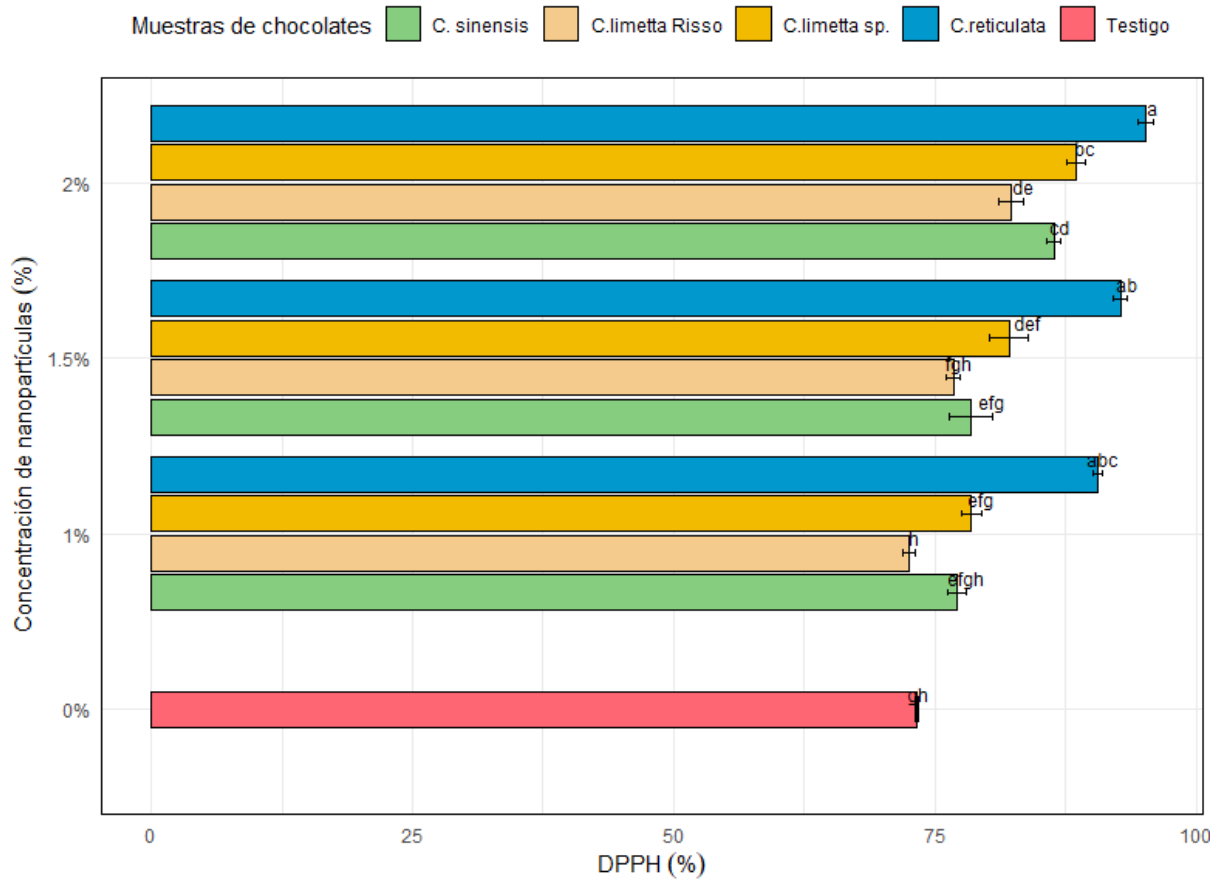


Nota: Letras indican grupos estadísticamente diferentes entre las barras de chocolates, según el test de Tukey (sig.≤0.05).



**Figura 4.**

*Capacidad antioxidante de las barras de chocolates con nanopartículas de aceites esenciales de pieles de cítricos mediante el método DPPH*



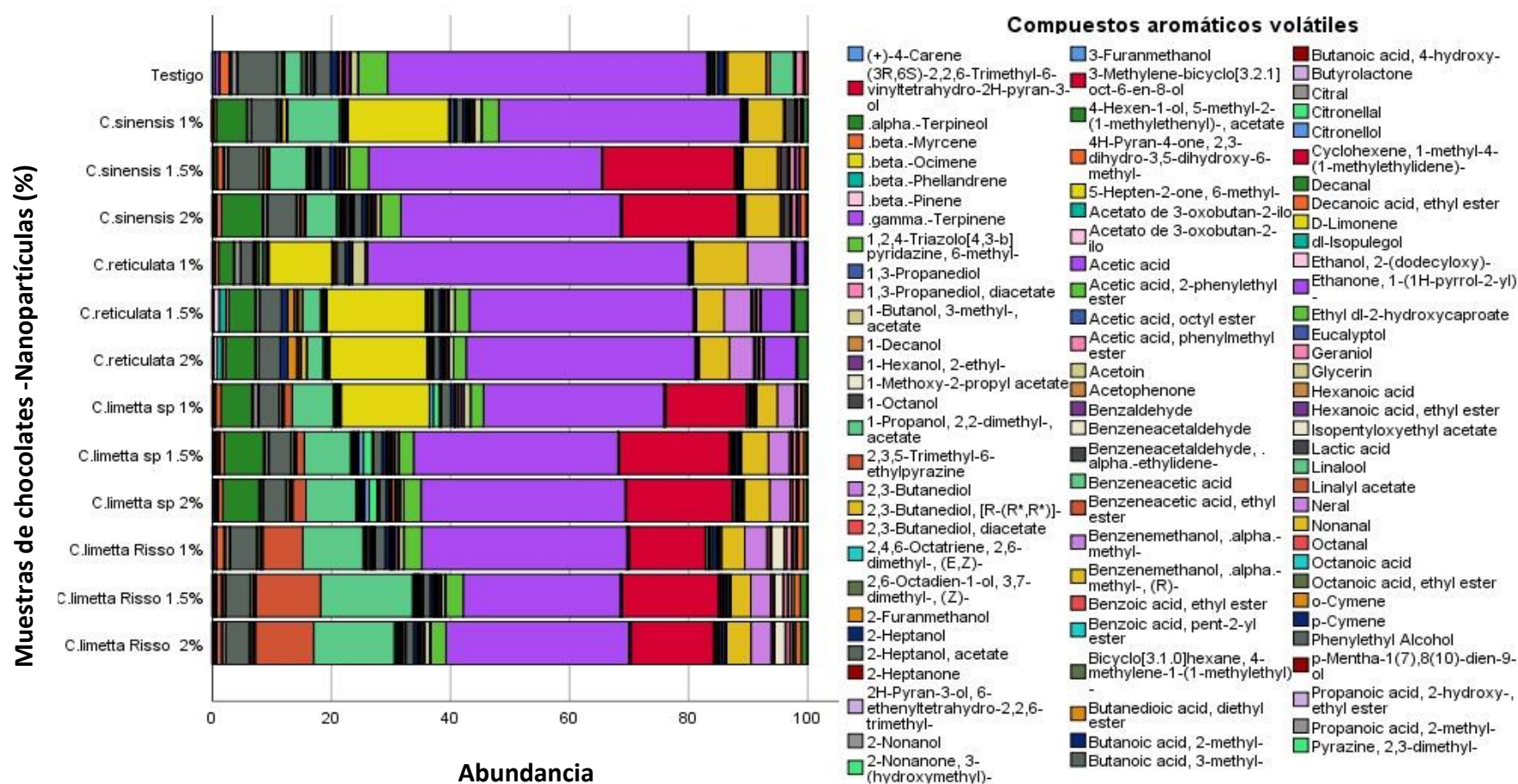
Nota: Letras indican grupos estadísticamente diferentes entre las barras de chocolates, según el test de Tukey ( $\text{sig.} \leq 0.05$ ).

### **3.3. Identificación de compuestos volátiles de las barras de chocolates con nanopartículas de aceites esenciales de pieles de cítricos.**

La figura 5 presenta la abundancia de compuestos volátiles. Los chocolates *C. limetta* sp. Presento mayor cantidad de compuestos volátiles (75, 78, 78), la menor cantidad de compuestos fue para *C. reticulata* (45, 49, 47), todas las muestras incrementaron sus componentes en comparación a la muestra testigo (44). Dentro de estos compuestos los predominantes fueron el grupo de los ácidos como es; el ácido acético, el cual oscilo de 26.38% a 53.87%; terpenos como el D-limoneno 10.66-16.88% y alcoholes como es el linalool 8.81-15.42%.

**Figura 5.**

*Abundancia de compuestos volátiles en las barras de chocolates con nanopartículas de aceites esenciales de pieles de cítricos identificadas mediante GC-MS*



Nota: Cada barra muestra la abundancia de compuestos aromáticos de las barras de chocolates con nanopartículas de aceites esenciales de pieles cítricos, dentro de ellos predomina el ácido acético y D-limoneno.

### 3.4. Análisis físicos de los chocolates con nanopartículas de aceites esenciales de pieles de cítricos

### 3.5. Color

En la tabla 3, se presenta el índice de color de las barras de los chocolates en nuestro estudio se obtuvo, que el brillo (L\*) de la superficie de los chocolates oscilaron entre 27-66-29.31, mientras que el enrojecimiento (a\*) 9.95-11.68 y el amarillamiento (b\*) 0.05-1.68, en los cuales presentaron cambios mínimos. Ver en la tabla 3 figura 5.

**Tabla 3.**

*Valores de color de las barras de los chocolates con nanopartículas de aceites esenciales de pieles de cítricos*

Muestras de chocolates	Concentración de nanopartículas	Parámetros colorimétricos		
		L*	a*	b*
Testigo	0%	28.47 ± 0.09 <sup>bc</sup>	10.93 ± 0.17 <sup>b</sup>	0.31 ± 0.02 <sup>bcd</sup>
<i>C. sinensis</i>	1%	28.05 ± 0.42 <sup>cd</sup>	11.68 ± 0.3 <sup>a</sup>	0.37 ± 0.12 <sup>bcd</sup>
	1.5%	28.44 ± 0.16 <sup>bc</sup>	14.38 ± 0.36 <sup>a</sup>	1.68 ± 0.21 <sup>a</sup>
	2%	28.76 ± 0.09 <sup>abc</sup>	10.78 ± 0.08 <sup>bc</sup>	0.05 ± 0.04 <sup>d</sup>
<i>C. limetta</i> Risso	1%	28.55 ± 0.26 <sup>bc</sup>	11.55 ± 0.17 <sup>a</sup>	0.32 ± 0.02 <sup>bcd</sup>
	1.5%	28.44 ± 0.46 <sup>bc</sup>	11.51 ± 0.2 <sup>a</sup>	0.18 ± 0.05 <sup>cd</sup>
	2%	29.12 ± 0.16 <sup>ab</sup>	9.96 ± 0.07 <sup>d</sup>	0.86 ± 0.07 <sup>a</sup>
<i>C. limetta</i> sp.	1%	28.44 ± 0.5 <sup>bc</sup>	10.65 ± 0.17 <sup>bc</sup>	0.27 ± 0.13 <sup>cd</sup>
	1.5%	28.95 ± 0.2 <sup>ab</sup>	9.95 ± 0.1 <sup>d</sup>	0.62 ± 0.07 <sup>ab</sup>
	2%	27.66 ± 0.13 <sup>d</sup>	10.58 ± 0.08 <sup>bc</sup>	0.42 ± 0.03 <sup>bc</sup>
<i>C. reticulata</i>	1%	29.31 ± 0.11 <sup>a</sup>	10.57 ± 0.06 <sup>bc</sup>	0.32 ± 0.39 <sup>bcd</sup>
	1.5%	28.5 ± 0.49 <sup>bc</sup>	10.98 ± 0.3 <sup>b</sup>	0.1 ± 0.09 <sup>cd</sup>
	2%	28.96 ± 0.15 <sup>ab</sup>	10.35 ± 0.17 <sup>c</sup>	0.2 ± 0.08 <sup>cd</sup>

Nota: Letras diferentes indican grupos estadísticamente diferentes entre las barras de los chocolates, según el test de Tukey (sig. ≤ 0.05).

**Figura 6.**

*Indice de color de las barras de los chocolates con nanopartículas de aceites esenciales de pieles de cítricos*



### 3.6. Textura

En los chocolates evaluados se obtuvo valores de 29.39 - 61.82N, los chocolates con mayor estructura de dureza fueron los chocolates con nanopartículas de *C. reticulata* (61.82) al 2%, *C. limetta* sp (59.41), todas las muestras de chocolates al 2% presentaron una mayor dureza.

**Tabla 4.**

*Valores de textura de las barras de los chocolates con nanopartículas de aceites esenciales de pieles de cítricos*

Muestras de chocolates	Concentración de nanopartículas	Textura				
		Dureza (N)	Cohesión	Elasticidad mm	Gomosidad (N)	Masticabilidad (N)
Testigo	0%	46.14 ± 5.27 <sup>ab</sup>	0.13 ± 0.06 <sup>b</sup>	0.1 ± 0.01 <sup>c</sup>	6.01 ± 3.18 <sup>a</sup>	0.57 ± 0.29 <sup>a</sup>
<i>C. sinensis</i>	1%	36.28 ± 4.25 <sup>ab</sup>	0.22 ± 0.04 <sup>b</sup>	0.42 ± 0.12 <sup>abc</sup>	7.72 ± 1.39 <sup>a</sup>	3.18 ± 1.02 <sup>a</sup>
	1.5%	29.39 ± 3.14 <sup>b</sup>	0.36 ± 0.37 <sup>ab</sup>	0.62 ± 0.39 <sup>ab</sup>	3.32 ± 4.02 <sup>a</sup>	1.51 ± 1.41 <sup>a</sup>
	2%	52.69 ± 13.23 <sup>ab</sup>	0.63 ± 0.26 <sup>a</sup>	0.87 ± 0.09 <sup>a</sup>	7.14 ± 1.8 <sup>a</sup>	5.14 ± 1.23 <sup>a</sup>
<i>C. limetta</i> Risso	1%	34.18 ± 10.43 <sup>ab</sup>	0.19 ± 0.16 <sup>b</sup>	0.28 ± 0.17 <sup>bc</sup>	5.6 ± 3.05 <sup>a</sup>	1.3 ± 1.01 <sup>a</sup>
	1.5%	37.15 ± 8.2 <sup>ab</sup>	0.17 ± 0.07 <sup>b</sup>	0.3 ± 0.06 <sup>bc</sup>	5.85 ± 1.37 <sup>a</sup>	1.69 ± 0.22 <sup>a</sup>
	2%	41.8 ± 10.14 <sup>ab</sup>	0.07 ± 0.07 <sup>b</sup>	0.17 ± 0.11 <sup>bc</sup>	3.29 ± 3.99 <sup>a</sup>	0.77 ± 1.06 <sup>a</sup>
<i>C. limetta</i> sp.	1%	55.22 ± 17.66 <sup>ab</sup>	0.15 ± 0.04 <sup>b</sup>	0.27 ± 0.29 <sup>bc</sup>	8.27 ± 3.38 <sup>a</sup>	2.74 ± 4.25 <sup>a</sup>
	1.5%	58.98 ± 15.88 <sup>a</sup>	0.21 ± 0.1 <sup>b</sup>	0.25 ± 0.13 <sup>bc</sup>	10.24 ± 4.6 <sup>a</sup>	2.42 ± 1.16 <sup>a</sup>
	2%	59.41 ± 19.3 <sup>a</sup>	0.31 ± 0.26 <sup>ab</sup>	0.15 ± 0.1 <sup>bc</sup>	2.71 ± 2.92 <sup>a</sup>	0.48 ± 0.66 <sup>a</sup>
<i>C. reticulata</i>	1%	52.16 ± 8.28 <sup>ab</sup>	0.17 ± 0.07 <sup>b</sup>	0.38 ± 0.41 <sup>abc</sup>	8.44 ± 3.73 <sup>a</sup>	4.32 ± 6.33 <sup>a</sup>
	1.5%	53.62 ± 8.02 <sup>ab</sup>	0.16 ± 0.08 <sup>b</sup>	0.23 ± 0.17 <sup>bc</sup>	8.28 ± 4.64 <sup>a</sup>	2.45 ± 2.59 <sup>a</sup>
	2%	61.82 ± 6.19 <sup>a</sup>	0.11 ± 0.06 <sup>b</sup>	0.44 ± 0.13 <sup>abc</sup>	7.01 ± 3.68 <sup>a</sup>	3.16 ± 2.02 <sup>a</sup>

Nota: Letras diferentes indican grupos estadísticamente diferentes entre las barras de los chocolates, según el test de Tukey (sig. ≤ 0.05).

### 3.7. Tamaño de partícula y actividad de agua ( $a_w$ )

En la tabla 5, se detalla el tamaño de partícula en las barras de chocolates con diferentes concentraciones de nanopartículas, en las cuales se presentaron los siguientes tamaños; para  $D_{10}$  [ $\mu\text{m}$ ],  $D_{50}$  [ $\mu\text{m}$ ],  $D_{90}$  [ $\mu\text{m}$ ] (13.41-1.86  $\mu\text{m}$ , 21.06 -5.90  $\mu\text{m}$  y 38.87 -11.92  $\mu\text{m}$ ). También, se evaluó la ( $a_w$ ), en nuestro estudio se encontraron valores de 0.58- 0.54 en todas las muestras de chocolates el cual se sustenta con resultados de otras investigaciones donde se encontraron valores superiores a 0.55.

**Tabla 5.**

*Valores del tamaño de partícula y ( $a_w$ ) de las barras de los chocolates con nanopartículas de aceites esenciales de pieles de cítricos*

Muestras de chocolates	Concentración de nanopartículas	Tamaño de partícula			$a_w$
		$D_{10}$ [ $\mu\text{m}$ ]	$D_{50}$ [ $\mu\text{m}$ ]	$D_{90}$ [ $\mu\text{m}$ ]	
Testigo	0%	10.35 $\pm$ 1.72 <sup>ab</sup>	12.57 $\pm$ 1.84 <sup>abc</sup>	18.24 $\pm$ 2.09 <sup>bc</sup>	0.54 $\pm$ 0 <sup>d</sup>
<i>C. sinensis</i>	1%	2.79 $\pm$ 0.47 <sup>cd</sup>	6.48 $\pm$ 0.38 <sup>cd</sup>	11.92 $\pm$ 1.29 <sup>d</sup>	0.56 $\pm$ 0 <sup>bc</sup>
	1.5%	3.38 $\pm$ 0.8 <sup>cd</sup>	6.86 $\pm$ 0.48 <sup>cd</sup>	14.76 $\pm$ 1.86 <sup>cd</sup>	0.57 $\pm$ 0 <sup>d</sup>
	2%	6.92 $\pm$ 1.08 <sup>abcd</sup>	14.09 $\pm$ 1.7 <sup>ab</sup>	28.9 $\pm$ 0.95 <sup>d</sup>	0.58 $\pm$ 0 <sup>d</sup>
<i>C. limetta</i> Risso	1%	2.55 $\pm$ 3.97 <sup>cd</sup>	6.12 $\pm$ 1.61 <sup>cd</sup>	22.47 $\pm$ 2.17 <sup>ab</sup>	0.54 $\pm$ 0 <sup>cd</sup>
	1.5%	3.04 $\pm$ 3.88 <sup>cd</sup>	5.9 $\pm$ 1.59 <sup>d</sup>	24.17 $\pm$ 1.47 <sup>ab</sup>	0.56 $\pm$ 0 <sup>cd</sup>
	2%	1.86 $\pm$ 1.3 <sup>d</sup>	7.09 $\pm$ 1.07 <sup>cd</sup>	21.59 $\pm$ 2.12 <sup>ab</sup>	0.56 $\pm$ 0 <sup>bc</sup>
<i>C. limetta</i> sp	1%	6.51 $\pm$ 0.84 <sup>bcd</sup>	15.7 $\pm$ 2.1 <sup>ab</sup>	36.25 $\pm$ 2.56 <sup>a</sup>	0.57 $\pm$ 0 <sup>c</sup>
	1.5%	7.29 $\pm$ 2.04 <sup>bcd</sup>	19.87 $\pm$ 6.67 <sup>ab</sup>	38.87 $\pm$ 2.74 <sup>a</sup>	0.57 $\pm$ 0 <sup>d</sup>
	2%	11.94 $\pm$ 1.56 <sup>d</sup>	15.51 $\pm$ 3.6 <sup>ab</sup>	38.64 $\pm$ 2.26 <sup>a</sup>	0.58 $\pm$ 0 <sup>c</sup>
<i>C. reticulata</i>	1%	5.28 $\pm$ 0.85 <sup>bcd</sup>	9.27 $\pm$ 1.22 <sup>bcd</sup>	26.28 $\pm$ 2.44 <sup>c</sup>	0.54 $\pm$ 0 <sup>cd</sup>
	1.5%	8.49 $\pm$ 0.94 <sup>ab</sup>	16.43 $\pm$ 2.41 <sup>a</sup>	26.66 $\pm$ 3.99 <sup>c</sup>	0.55 $\pm$ 0 <sup>bc</sup>
	2%	13.41 $\pm$ 2.86 <sup>a</sup>	21.06 $\pm$ 3.09 <sup>a</sup>	35.91 $\pm$ 4.41 <sup>a</sup>	0.55 $\pm$ 0 <sup>ab</sup>

Nota: Letras diferentes indican grupos estadísticamente diferentes entre las barras de los chocolates, según el test de Tukey (sig. $\leq$ 0.05).

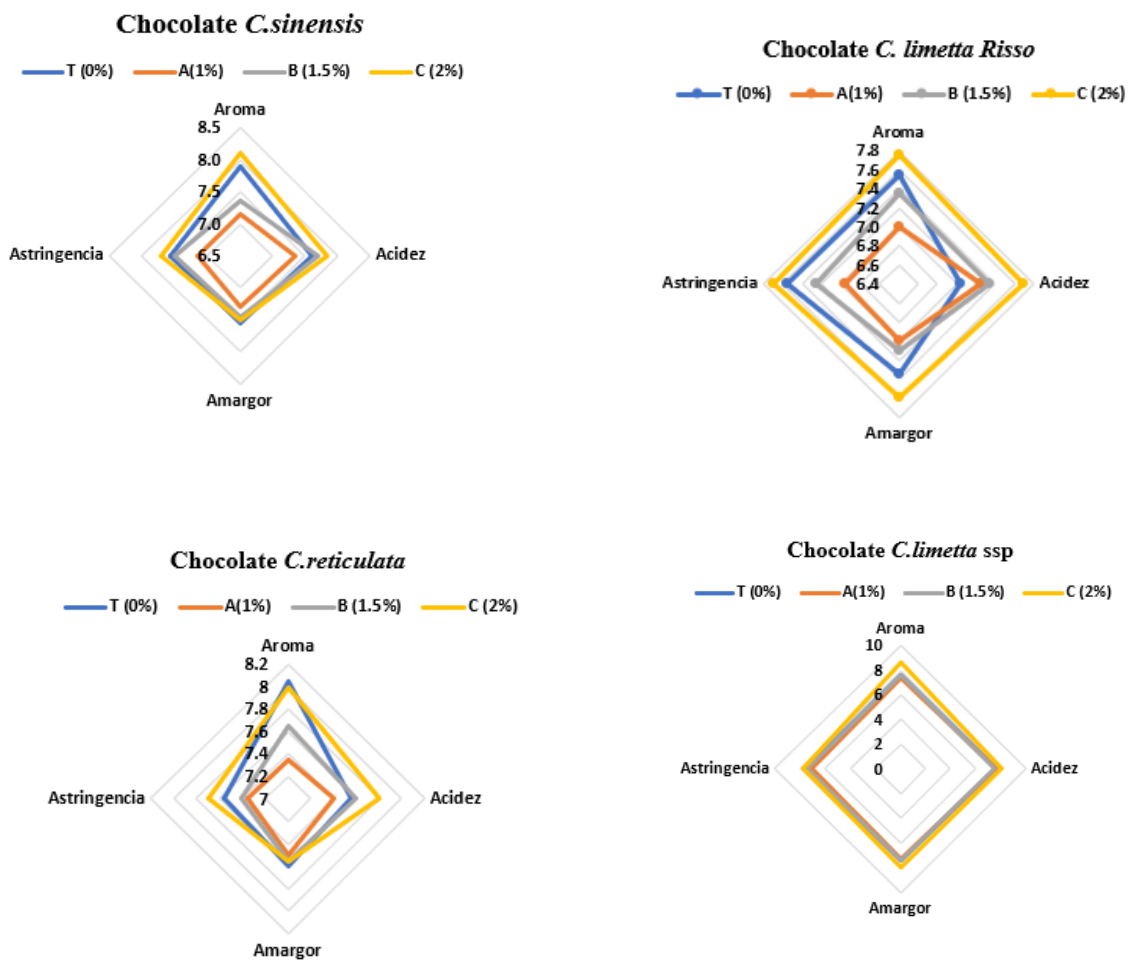


### 3.8. Análisis sensorial

El análisis sensorial es fundamental en la fabricación de productos. En nuestro estudio, los chocolates tuvieron buena aceptación por parte de los panelistas, donde se pudo observar que los chocolates al 2% nanopartículas de *C. limetta* sp y *C. sinensis* presentaron una mayor aceptación en sus atributos de astringencia, aroma, acidez y amargor. A continuación, se presentan los resultados de los atributos evaluados.

**Figura 7.**

*Valores de análisis sensorial de las barras de los chocolates con nanopartículas de aceites esenciales de pieles de cítricos*



Nota: el chocolate al 2% de *C. limetta* sp tuvo una mejor aceptación, la muestra con menos aceptación fue para *C. sinensis*.

#### IV. DISCUSIÓN

Los resultados indicaron que el contenido de CPT osciló entre 132.53 y 188.53 mg GAE/g. muestra. Las barras de chocolates al 1, 1.5 y 2% con nanopartículas de *C. reticulata* aceites esenciales de pieles de cítricos presentó un mayor CPT ( 175.24, 180.28 y 188.53 mg GAE/g), seguido *C. limetta* sp (164.78, 170.03, 181.03 mg GAE/g); luego, los chocolates con nanopartículas de *C. sinensis* (160.40, 163.28, 171.40 mg GAE/g). Los chocolates con menor capacidad antioxidante fueron para *C.limetta* Risso y la muestra testigo.

En estudios anteriores, se reportaron valores inferiores en el contenido fenoles en chocolates con adición de pulpa de baobab, con 210.2-305.8 mg GAE/100g (Monteiro et al., 2023). En otras investigaciones, se desarrollaron chocolates oscuros con la incorporación de naranja y frambuesa seca, en los cuales el contenido de TPC se incrementó entre 10.55 -39.82 mg/g GAE (Jaćimović et al., 2022). El contenido de TPC del chocolate está influenciado por diversos factores, como las distintas variedades de cacao, el proceso de elaboración y el almacenamiento. Esto se debe a que algunos compuestos son susceptibles a las altas temperaturas y la exposición a la luz (Godočiková et al., 2019). Según Jovanović et al. (2022), se observó un incremento significativo en el contenido total de polifenoles y en la capacidad antioxidante de los chocolates que se enriquecieron con arándanos encapsulados.

La capacidad antioxidante en chocolates se pudo presenciar que las barras de chocolates con nanopartículas de aceites esenciales de pieles de cítricos, con diferentes concentraciones ( 1, 1.5, 2%). Mediante la aplicación de los métodos de DPPH y ABTS<sup>+</sup>, se encontraron valores más altos en los chocolates con nanopartículas de *C.reticulata* ( 1776.76, 1858.31 y 1905.39 umol TE/g), lo cual representa el ( 90.58, 92.79, 95.17). Seguido fue el chocolate con nanopartículas de *C.limetta* sp. (1715.50, 1774.25, 1776.75 umol TE/g), que representa (78.49, 82.08, 88.56%); luego fue el chocolate con nanopartículas de *C. sinensis* ( 1440.50, 1497.38, 1791.75 umol TE/g ), representando el (77.07, 78.45, 86.38%). La menor capacidad antioxidante se encontró en las barras de chocolates con nanopartículas de *C.limetta* Risso al 1% (1463 umol TE/g), representando el 72.55%, y la muestra testigo 73.23%.

Dichos resultados se sustentan con estudios realizados en la elaboración de chocolates oscuros enriquecidos con extractos de sauco, donde obtuvieron valores de 2337.1 (μmol

TE/g) DPPH (Medina et al., 2023). En otras investigaciones, se obtuvo que la incorporación de diversas frutas ayuda a incrementar el TPC y la actividad antioxidante en chocolates, donde se obtuvieron valores acai 400 ( $\mu\text{mol TE/g}$ ), arándano rojo 310 ( $\mu\text{mol TE/g}$ ) arándano 260 ( $\mu\text{mol TE/g}$ ) (González et al., 2020). Además, en otros estudios, también encontraron una mejora notable en las propiedades antioxidantes del chocolate al añadir pieles de uva seca sin macerar (MGP) (Darwish et al., 2023). Por otro lado, Żyżelewicz et al. (2021) indican que el enriquecimiento de chocolates con frutas ayuda a mejorar la actividad antioxidante en chocolates, y que esto en gran parte, va a depender del tipo de chocolates y el tipo de aditivo funcional. Según Borghi & Pavanelli. (2023); Li et al. (2023), los aceites cítricos contienen cumarinas, terpenoides y flavonoides y ácidos orgánicos, como los ácidos hidroxicinámico, hidroxibenzoico, cítrico y succínico. Estas propiedades pueden ser beneficios para la salud.

Los chocolates son alimentos con un aroma muy agradable. Se analizó la composición de compuestos volátiles en diversas muestras de chocolates oscuros con nanopartículas de aceites esenciales de pieles de cítricos, con el objetivo de identificar posibles marcadores aromáticos claves mediante HS-SPME-GC-MS. En la figura 5 se muestra los siguientes compuestos volátiles identificados. Las muestras se diferenciaron en cuanto a la cantidad de compuestos volátiles identificados en su composición.

En las muestras de chocolates, se detectaron los siguientes compuestos volátiles: ácidos, alcoholes, ésteres, terpenos, cetonas, aldehídos y pirazinas, entre otros más grupos. Las muestras de chocolates con nanopartículas de *C. limetta* sp al 1, 1.5 y 2 % se encontraron (75, 78, 78), compuestos volátiles, siendo esta la muestra con mayores compuestos. La menor cantidad de compuestos se encontró en para los chocolates con nanopartículas de *C. reticulata* (45, 49, 47) y la muestra testigo (44). Todas las muestras de chocolates que contenían nanopartículas de aceites esenciales de pieles de cítricos mostraron un aumento en la cantidad de compuestos.

En la figura 5 se encuentran la lista de todos los compuestos volátiles encontrados, donde el compuesto predominante en todas las muestras de chocolates fue el grupo de los ácidos, destacando el ácido acético, el cual osciló de 26.38% a 53.87%. El ácido acético en los granos de cacao disminuye el pH a un rango de aproximadamente 4.5 a 5.5, lo que facilita las reacciones enzimáticas y la fermentación subsiguiente.

Seguidamente, se encontraron terpenos como; el D-limoneno , con un contenido de 0.60 a 16.88%, y alcoholes como el linalool, que varió entre 8.81 y 15.42% en las muestras de los chocolates. Además, se sabe que el D-limoneno y el linalool poseen potentes actividades fisiológicas, incluyendo propiedades antioxidantes y anticancerígenas (Zhang et al., 2024). El D-limoneno, en particular, es un precursor de aromas en chocolates oscuros (Calva et al., 2020). Diversas investigaciones, han evidenciado que, el D-limoneno es propenso a la oxidación, lo que puede provocar su desaparición (Bilawal et al., 2023).

Los ésteres son compuestos volátiles muy importantes, ya que están relacionados con un aroma afrutado, especialmente en el chocolate (Godočiková et al., 2020). Las pirazinas son compuestos volátiles significativos que, según informes de otros estudios, aportan sabores a cacao y frutas, y están asociados con atributos sensoriales positivos (Cemin et al., 2022).

En investigaciones previas se desarrollaron chocolates oscuros en los cuales se detectaron 62 compuestos volátiles. Dentro de ellos, se encontraron los siguientes grupos: ácidos, alcoholes, aldehídos, ésteres, cetonas, pirazinas, furanos, entre otros (Calva et al., 2020). Varios de estos grupos de compuestos han sido detectados en el aroma del chocolate como resultado de la fermentación y secado de los granos de cacao.

En otros estudios se identificaron 93 compuestos volátiles, siendo los ésteres los más abundantes, seguidos por alcoholes y fenoles. En detalle, los compuestos presentes se distribuyeron de la siguiente manera: 6,46% son ácidos; 18.28% corresponden a alcoholes y fenoles; 13.98% a aldehídos y cetonas; 19.35% a ésteres; 5.37% a furanos, furanonas, piranos y pironas; 13.98% a pirazinas y piperazinas; 2.15% y 3.23% a terpenos y terpenoides (Michel et al., 2021). En otras investigaciones, se determinaron 34 compuestos volátiles presentes en muestras de chocolates negros, donde el componente mayoritario fue el ácido acético contribuyendo al componente en un 5.79%; seguido de 2,3,5,6-tetrametilpirazina (5.70%), 2,3,5-trimetilpirazina (5.60%), benzaldehído (5.45%), 2,3-dimetilpirazina (5.15%) (Guzmán et al., 2023).

El color, junto con el aroma y el sabor, son elementos esenciales que influyen en la calidad de los productores de chocolates. Los valores obtenidos para el parámetro L oscilaron entre 28.47 (testigo) y 29.31 (1% de *C. reticulata*), con diferencias mínimas. Sin embargo, los parámetros de color a\* y b\* presentaron una influencia para los chocolates con nanopartículas de *C. sinensis* y *C. limetta* Riso. El parámetro de color a\* aumentó de 10.93 (Testigo) a 14.38 (1.5% de *C. sinensis*), aumentando la intensidad del color rojo,

mientras que el parámetro  $b^*$  aumentó de 0.31 (testigo) a 1.68 (1.5% de *C.sinensis*), aumentando la intensidad del color amarillo. A pesar de las diferencias entre el testigo y las muestras con nanopartículas de pieles de cítricos, los parámetros de color no se vieron afectados, lo que concuerda con estudios previos en chocolate con la incorporación de pulpa de baobab al 6% , donde se encontraron 27.1 para el brillo  $L^*$  (Monteiro et al., 2023). Otras investigaciones obtuvieron valores similares en el brillo  $L^*$ , donde los chocolates presentaron variaciones mínimas en los parámetros de color  $a^*$  y  $b^*$  (Ramos et al., 2021).

Las propiedades mecánicas, como la dureza, son fundamentales en el chocolate, ya que están directamente vinculadas con la experiencia sensorial del producto durante su consumo. En los chocolates analizados, se obtuvieron valores de 29.39 N y 61.82 N. Los chocolates con mayor estructura de dureza fueron los chocolates con nanopartículas de *C. reticulata* al 2% (61.82 N), mientras que los que presentaron con menos dureza correspondieron a *C.sinensis* al 1% (36.28 N). Todas las muestras de chocolates al 2% con nanopartículas presentaron una mayor dureza, lo que permite concluir que, a mayor porcentaje de nanopartículas, se obtiene una mayor dureza. Esto se puede observar en la tabla 5. Estos resultados concuerda con Abreu et al. (2021), donde se evidenció que, a medida que se incrementaron los porcentajes de mombin rojo (RMSF), los chocolates presentaron una mayor dureza. En otros estudios, se encontraron valores más altos en chocolates oscuros, que oscilaron entre 177.6 N y 124.6 N (Ostrowska et al., 2019).

La cohesión se puede medir como el nivel en el que los materiales fueron destruidos; en este estudio, la cohesión obtuvo valores de 0.11 y 0.63, los cuales no presentaron cambios significativos. Estos resultados se sustentan en (Kurniawan et al., 2024), donde se obtuvieron valores similares. Por otro lado, la elasticidad, gomosidad y masticabilidad no se vieron afectados con la incorporación de las nanopartículas de aceites esenciales de pieles de cítricos (Gomes et al., 2024)

El tamaño de partícula para los chocolates evaluados se midió en tres dimensiones:  $D_{10}$  [ $\mu\text{m}$ ],  $D_{50}$  [ $\mu\text{m}$ ] y  $D_{90}$  [ $\mu\text{m}$ ]. Se encontraron valores de 13.41-1.86  $\mu\text{m}$ , 21.06-5.90  $\mu\text{m}$  y 38.87-11.92  $\mu\text{m}$ , respectivamente. Estos resultados se sustentan en estudios previos, donde ese reportaron valores similares de  $D_{10}$  [ $\mu\text{m}$ ] entre 35-36, lo cual indica una buena finura en los chocolates (Saputro et al., 2021).

Además, se evaluó la actividad de agua ( $a_w$ ). En nuestro estudio, se encontraron valores de 0.58-0.54 en todas las muestras de chocolates, lo cual coincide con resultados de otras

investigaciones que reportaron valores superiores a 0.55 (Galvagni et al., 2020). La actividad de agua ( $a_w$ ) es un parámetro muy importante; Según Hartel et al. (2018), el valor de actividad del agua para confitería y chocolates debe ser menor a 0,60 para prevenir el crecimiento microbiano y deterioro.

El análisis sensorial es fundamental en la fabricación de productos. En nuestro estudio, los chocolates con mayor aceptación por parte de los panelistas fueron aquellos al 2% con nanopartículas de *C. limeta* sp, destacandose en sus atributos de astringencia, aroma, acidez y amargor. Mientras que, *C. sinensis* fue la menos aceptada.

## V. CONCLUSIONES

Se desarrollaron chocolates funcionales incorporando nanopartículas de aceites esenciales de pieles de cítricos de *C. sinensis*, *C. limetta* Risso, *C. reticulata* y *C. limetta* sp., en las cuales se hallaron diferencias significativas en cada una de sus propiedades. Las barras de chocolates al 2% de nanopartículas de *C. reticulata* presentaron una mayor cantidad de CPT (188.53 mg GAE/g) y una mayor capacidad antioxidante (1905.39 umol TE/g), representado el 95.17%. Las muestras de chocolates con menor CPT se encontraron para *C. limetta* Risso al 1% (132.53 mg GAE/g) y menor capacidad antioxidante (1463 umol TE/g), representando el 72.5%.

Respecto a los compuestos volátiles, todas las muestras de chocolates con nanopartículas incrementaron sus componentes aromáticos, dentro de ello se pudo presenciar compuestos como el ácido acético, D- limoneno y linalool . En cuanto al análisis sensorial, el chocolate al 2% con nanopartículas de *C. limetta* sp tuvieron una mejor aceptación por los panelistas. Por lo tanto, se concluye que los chocolates enriquecidos con nanopartículas de aceites esenciales de pieles de cítricos ayudan a mejorar sus propiedades fisicoquímicas.

## VI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abreu, D., Moraes, I., Asquiere, E., & Damiani, C. (2021). Red mombin (*Spondias purpurea* L.) seed flour as a functional component in chocolate brownies. *Journal of Food Science and Technology*, *58*(2), 612-620. <https://doi.org/10.1007/s13197-020-04574-4>
- Aranguren, M., & Marcovich, N. (2023). How recent approaches to improve the nutritional quality of chocolate affect processing and consumer acceptance. *Current Opinion in Food Science*, *50*, 100988. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2023.100988>
- Bilawal, A., Gantumur, M.-A., Huang, Y., Qayum, A., Ishfaq, M., & Jiang, Z. (2023). Effect of transglutaminase cross-linking and emulsification on the stability and digestion of limonene emulsions. *Process Biochemistry*, *131*, 210-216. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2023.06.016>
- Bölek, S., Tosya, F., & Akçura, S. (2022). Effects of *Santolina chamaecyparissus* essential oil on rheological, thermal and antioxidative properties of dark chocolate. *International Journal of Gastronomy and Food Science*, *27*, 100481. <https://doi.org/10.1016/j.ijgfs.2022.100481>
- Calva, S. J., Utrilla, M., Vallejo, A., Roblero, D. B., & Lugo, E. (2020). Thermal properties and volatile compounds profile of commercial dark-chocolates from different genotypes of cocoa beans (*Theobroma cacao* L.) from Latin America. *Food Research International*, *136*, 109594. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109594>
- Cemin, P., Reis Ribeiro, S., de Candido de Oliveira, F., Leal Leães, F., Regina dos Santos Nunes, M., Wagner, R., & Sant'Anna, V. (2022). Chocolates with Brazilian cocoa: Tracking volatile compounds according to consumers' preference. *Food Research International*, *159*, 111618. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2022.111618>
- Chen, Y., Wang, W., Zhang, W., Tan, C.-P., Lan, D., & Wang, Y. (2022). Characteristics and feasibility of olive oil-based diacylglycerol plastic fat for use in compound chocolate. *Food Chemistry*, *391*, 133254. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.133254>



- Darwish, A. G., El-Sharkawy, I., Tang, C., Rao, Q., & Tan, J. (2023). Investigation of Antioxidant and Cytotoxicity Activities of Chocolate Fortified with Muscadine Grape Pomace. *Foods*, 12(17), Article 17. <https://doi.org/10.3390/foods12173153>
- Deus, V., Bispo, E. S., Franca, A. S., & Gloria, M. B. A. (2020). Influence of cocoa clones on the quality and functional properties of chocolate – Nitrogenous compounds. *LWT*, 134, 110202. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110202>
- Deus, V., Resende, L., Bispo, E., Franca, A., & Gloria, M. (2021). FTIR and PLS-regression in the evaluation of bioactive amines, total phenolic compounds and antioxidant potential of dark chocolates. *Food Chemistry*, 357, 129754. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129754>
- Didar, Z. (2020). Characterization of White Chocolate Enriched with Free or Encapsulated Pomegranate Extract. *Journal of Nutrition, Fasting and Health*, 8(4 (Spe)), Article 4 (Spe).
- Galvagni, E., Fritzen, A., Graboski, A., Ballen, S., Steffens, J., & Steffens, C. (2020). Detection of Volatiles in Dark Chocolate Flavored with Orange Essential Oil by Electronic Nose. *Food Analytical Methods*, 13(7), 1421-1432. <https://doi.org/10.1007/s12161-020-01763-x>
- Godóčiková, L., Ivanišová, E., Noguera-Artiaga, L., Carbonell-Barrachina, Á. A., & Kačániová, M. (2019, julio 1). *Biological activity, antioxidant capacity and volatile profile of enriched Slovak chocolates.* | *Journal of Food & Nutrition Research* / EBSCOhost. <https://openurl.ebsco.com/contentitem/gcd:138675299?sid=ebsco:plink:crawler&id=ebsco:gcd:138675299>
- Godóčiková, L., Ivanišová, E., Zagała, G., Noguera, L., Carbonell, Á., Przemysław, K., & Kačániová, M. (2020). Antioxidant Activities and Volatile Flavor Components of Selected Single-Origin and Blend Chocolates. *Molecules*, 25(16), Article 16. <https://doi.org/10.3390/molecules25163648>
- Gomes, O. J. S., Leitão, A., Gaspar, M. C., Vitorino, C., Sousa, J. J. S., de Sousa, H. C., Braga, M. E. M., & Gando-Ferreira, L. M. (2024). Mousse de chocolate fortificada con polvo y extracto de hojas de *Moringa oleifera* para mejorar el valor nutricional. *Food Chemistry*, 441, 138338. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.138338>

- González, R., Nuñez, V., Cienfuegos, E., García, F. J., & Periago, M. J. (2020). Improvement of the Flavanol Profile and the Antioxidant Capacity of Chocolate Using a Phenolic Rich Cocoa Powder. *Foods*, 9(2), Article 2. <https://doi.org/10.3390/foods9020189>
- Guidotti, M., Morais, L., Santos, F., Rossi, D., Lucia, F., & Melo, R. (2022). Essential Oil-Based Nanoparticles as Antimicrobial Agents in the Food Industry. *Microorganisms*, 10(8), Article 8. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10081504>
- Guo, J., Li, P., Kong, L., & Xu, B. (2020). Microencapsulation of curcumin by spray drying and freeze drying. *LWT*, 132, 109892. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109892>
- Guzmán, S., Boulanger, R., Maraval, I., Kopp, G., Corno, M., Fontez, B., & Fontana, A. (2023). Link between Flavor Perception and Volatile Compound Composition of Dark Chocolates Derived from Trinitario Cocoa Beans from Dominican Republic. *Molecules*, 28(9), Article 9. <https://doi.org/10.3390/molecules28093805>
- Hartel, R. W., von Elbe, J. H., & Hofberger, R. (2018). Chocolate. En R. W. Hartel, J. H. von Elbe, & R. Hofberger (Eds.), *Confectionery Science and Technology* (pp. 423-484). Springer International Publishing. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-61742-8\\_15](https://doi.org/10.1007/978-3-319-61742-8_15)
- Ibrahim, S. F., Dalek, N. S. E. M., Raffie, Q. A. F. M., & Ain, M. R. F. (2020). Quantification of physicochemical and microstructure properties of dark chocolate incorporated with palm sugar and dates as alternative sweetener. *Materials Today: Proceedings*, 31, 366-371. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2020.06.235>
- Jaćimović, S., Popović-Djordjević, J., Sarić, B., Krstić, A., Mickovski-Stefanović, V., & Pantelić, N. Đ. (2022). Antioxidant Activity and Multi-Elemental Analysis of Dark Chocolate. *Foods*, 11(10), Article 10. <https://doi.org/10.3390/foods11101445>
- Julio, L., Copado, C., Crespo, R., Diehl, B., Ixtaina, V., & Tomás, M. (2019). Design of microparticles of chia seed oil by using the electrostatic layer-by-layer deposition technique. *Powder Technology*, 345, 750-757. <https://doi.org/10.1016/j.powtec.2019.01.047>

- Karaaslan, M., Şengün, F., Cansu, Ü., Başığit, B., Sağlam, H., & Karaaslan, A. (2021). Gum arabic/maltodextrin microencapsulation confers peroxidation stability and antimicrobial ability to pepper seed oil. *Food Chemistry*, 337, 127748. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127748>
- Krishnan, S., Bhosale, R., & Singhal, R. S. (2005). Microencapsulation of cardamom oleoresin: Evaluation of blends of gum arabic, maltodextrin and a modified starch as wall materials. *Carbohydrate Polymers*, 61(1), 95-102. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2005.02.020>
- Kurniawan, A. W., Tawali, A. B., & Fitri, F. (2024). The Effect of Gelatin and Xanthan Gum Concentration on Diversification of Dark Chocolate Praline Jelly Coffee Products. *BIO Web of Conferences*, 96, 01029. <https://doi.org/10.1051/bioconf/20249601029>
- Liu, R., Yu, D., Abd El-Aty, A. M., & Tan, M. (2023). Protein corona of food nanoparticles: Implications for biological responses and future research directions. *Trends in Food Science & Technology*, 141, 104179. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2023.104179>
- Medina, M., Castro, E. M., Balcazar, C. R., Silva, M. Z., Maicelo, J. L., & Cayo, I. S. (2023). Conching process time, sauco by-product concentration, and sachá inchi oil levels identification for the enrichment of dark chocolate. *Heliyon*, 9(9), e19886. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e19886>
- Mellor, D. D., Amund, D., Georgousopoulou, E., & Naumovski, N. (2018). Sugar and cocoa: Sweet synergy or bitter antagonisms. Formulating cocoa and chocolate products for health: a narrative review. *International Journal of Food Science & Technology*, 53(1), 33-42. <https://doi.org/10.1111/ijfs.13651>
- Monteiro, S., Dias, J., Lourenço, V., Partidário, A., Lageiro, M., Lampreia, C., Fernandes, J., Lidon, F., Reboredo, F., & Alvarenga, N. (2023). Development of a Functional Dark Chocolate with Baobab Pulp. *Foods*, 12(8), Article 8. <https://doi.org/10.3390/foods12081711>
- Nair, A., Mallya, R., Suvarna, V., Khan, T. A., Momin, M., & Omri, A. (2022). Nanoparticles: Attractive Carriers of Antimicrobial Essential Oils. *Antibiotics*, 11(1), Article 1. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11010108>

- Ostrowska, E., Marzec, A., Górska, A., Wirkowska, M., Bryś, J., Rejch, A., & Czarkowska, K. (2019). A comparative study of thermal and textural properties of milk, white and dark chocolates. *Thermochimica Acta*, *671*, 60-69. <https://doi.org/10.1016/j.tca.2018.11.005>
- Praseptiangga, D., Invicta, S. E., & Khasanah, L. U. (2019). Sensory and physicochemical characteristics of dark chocolate bar with addition of cinnamon (*Cinnamomum burmannii*) bark oleoresin microcapsule. *Journal of Food Science and Technology*, *56*(9), 4323-4332. <https://doi.org/10.1007/s13197-019-03901-8>
- Puchol, M., Palomares, C., Barat, J., & Perez, É. (2021). Formulation and physico-chemical and sensory characterisation of chocolate made from reconstituted cocoa liquor and high cocoa content. *LWT*, *137*, 110492. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110492>
- Ramos, F., Casimiro, S., Fernández, Á., Cancino, K., Gómez, J., Fuente, L. de la, & Muñoz, A. M. (2021). Color, ácidos grasos, compuestos bioactivos y capacidad antioxidante total en granos de cacao comerciales (*Theobroma cacao* L.). *LWT*, *147*, 111629. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111629>
- Razavizadeh, B., & Tabrizi, P. (2021). Characterization of fortified compound milk chocolate with microcapsulated chia seed oil. *LWT*, *150*, 111993. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111993>
- Samanta, S., Sarkar, T., Chakraborty, R., Rebezov, M., Shariati, M. A., Thiruvengadam, M., & Rengasamy, K. (2022). Dark chocolate: An overview of its biological activity, processing, and fortification approaches. *Current Research in Food Science*, *5*, 1916-1943. <https://doi.org/10.1016/j.crf.2022.10.017>
- Saputro, A. D., Muhammad, D. R. A., Sunarharum, W. B., Kusumadevi, Z., & Irmandharu, F. (2021). Physical characteristics of chocolate made from cocoa bean fermented at different duration: A preliminary study. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, *653*(1), 012039. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/653/1/012039>
- Silva, G., Dala, B., Bispo, E., & Gloria, M. (2023). Bioaccessibility of bioactive amines in dark chocolates made with different proportions of under-fermented and fermented cocoa beans. *Food Chemistry*, *404*, 134725. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.134725>

- Singh, P., Kaur, D., Prasad, R., & Singh, J. (2022). Green synthesis of titanium dioxide nanoparticles: Development and applications. *Journal of Agriculture and Food Research*, *10*, 100361. <https://doi.org/10.1016/j.jafr.2022.100361>
- Souza, I., Veloso, A., Augusto, C., Duran, J., Grimaldi, R., Luccas, V., Taranto, M. P., & Cardoso, D. (2022). Development of a potentially functional chocolate spread containing probiotics and structured triglycerides. *LWT*, *154*, 112746. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112746>
- Sun, W., Shahrajabian, M., & Cheng, Q. (2022). Chapter 21—Functional food and organic farming for sustainable development with a vision for sustainable food and farming. En R. B. Singh, S. Watanabe, & A. A. Isaza (Eds.), *Functional Foods and Nutraceuticals in Metabolic and Non-Communicable Diseases* (pp. 317-323). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819815-5.00033-1>
- Talawar, S. T., Chetana, R., Roopa, B. S., & Suresh Kumar, G. (2021). Effect of wheat bran oil concentrates on quality and nutrition of WBO dark compound chocolates. *LWT*, *142*, 111005. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111005>
- Toker, O., Palabiyik, I., & Konar, N. (2019). Chocolate quality and conching. *Trends in Food Science & Technology*, *91*, 446-453. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.07.047>
- Wedamulla, N. E., Fan, M., Choi, Y., & Kim, E. (2022). Citrus peel as a renewable bioresource: Transforming waste to food additives. *Journal of Functional Foods*, *95*, 105163. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2022.105163>
- Yoriska, D., Praseptiangga, D., & Khasanah, L. (2019). Panelist acceptance level and characterization of physical and chemical properties on dark chocolate bar with addition of kaffir lime (*Citrus hystrix* DC.) leaf essential oil. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, *633*(1), 012031. <https://doi.org/10.1088/1757-899X/633/1/012031>
- Zergui, A. (2023). Metallic nanoparticles in food: An overview on consumers' health effects. *Food and Humanity*, *1*, 51-56. <https://doi.org/10.1016/j.foohum.2023.04.004>
- Zhang, Q., Xue, R., Mei, X., Su, L., Zhang, W., Li, Y., Xu, J., Mao, J., Mao, C., & Lu, T. (2024). A study of volatiles of young citrus fruits from four areas based on GC–

MS and flash GC e-nose combined with multivariate algorithms. *Food Research International*, 177, 113874. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2023.113874>

Żyżelewicz, D., Oracz, J., Bilicka, M., Kulbat-Warycha, K., & Klewicka, E. (2021). Influence of Freeze-Dried Phenolic-Rich Plant Powders on the Bioactive Compounds Profile, Antioxidant Activity and Aroma of Different Types of Chocolates. *Molecules*, 26(22), Article 22. <https://doi.org/10.3390/molecules26227058>

## ANEXOS

Elaboración de chocolates con nanopartículas de aceites esenciales de pieles de cítricos.

**Figura 8.**

*Selección de los granos del cacao*



**Figura 9.**

*Tostado de los granos del cacao*



**Figura 10.**  
*Descascarillado*



**Figura 11.**  
*Molido*





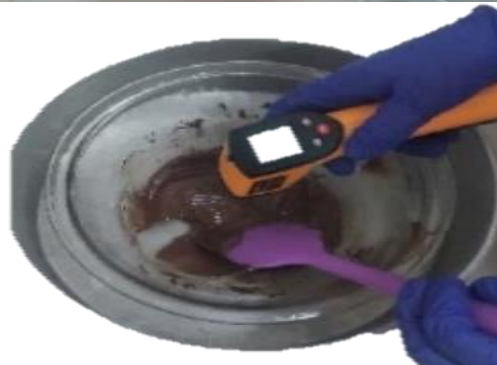
**Figura 12.**

*Conchado*



**Figura 13.**

*Colado y temperado*



**Figura 14.**

*Moldeado*



**Figura 15.**

*Desmoldado*



**Figura 16.**

*Envasado y rotulado*



Fenoles Totales de las barras de chocolates con diferentes concentraciones de nanopartículas de aceites esenciales de pieles de cítricos.

**Figura 17.**

*Pesado 0.5 gr de chocolate triturado*



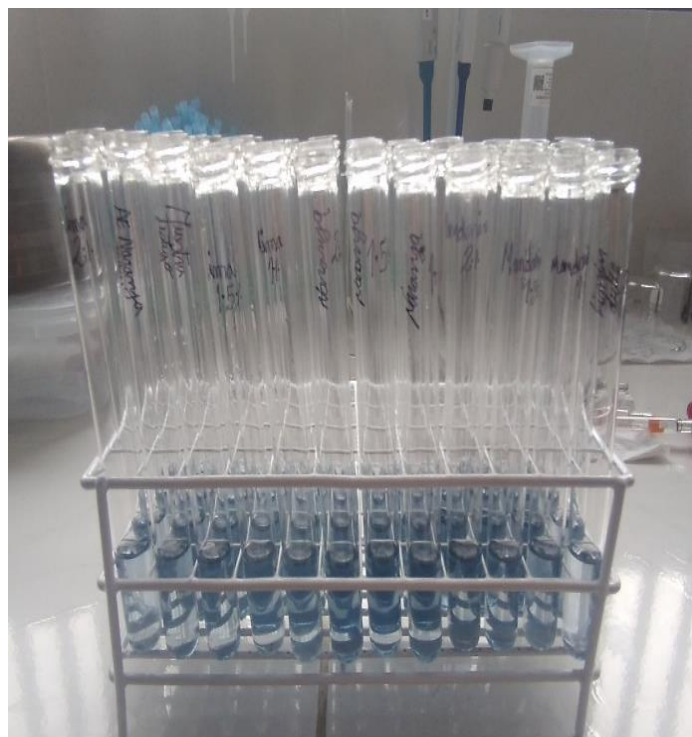
**Figura 18.**

*Se agregó extractos de las barras de chocolates triturados, Folin y carbonato*



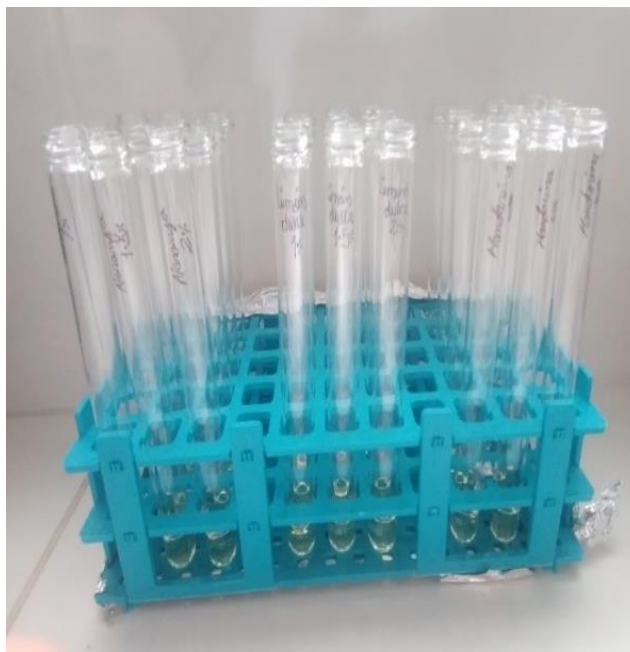
**Figura 19.**

*Reacción en oscuridad después de 30 min*



**Figura 20.**

*Actividad antioxidante DPPH*



**Figura 21.**

*Actividad antioxidante ABTS<sup>+</sup>*





**Figura 22.**

*Reposo después de 30 min*



Compuestos volátiles de las barras de chocolates con nanopartículas de aceites esenciales de pieles de cítricos

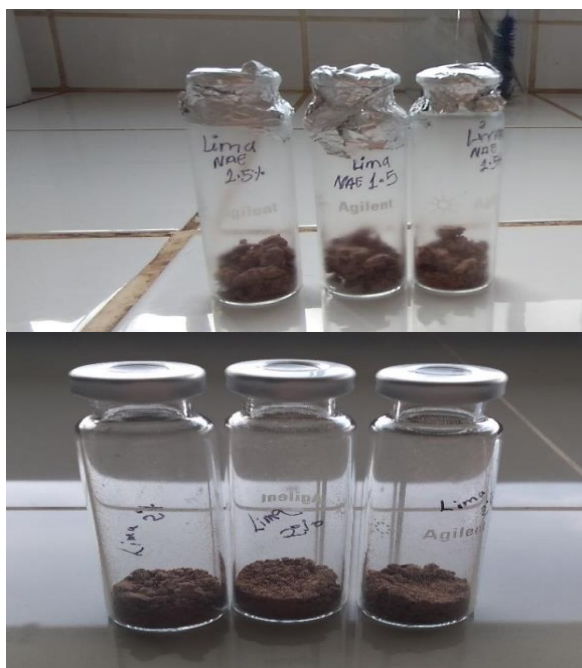
**Figura 23.**

*Preparación de las muestras*



**Figura 24.**

*Muestras en viales de vidrio*



**Figura 25.**

*Exposición de la fibra triple (DVB/Car/PDMS)*



**Figura 26.**  
*Cromatógrafo*



Análisis físicos de las barras de chocolates con nanopartículas de aceites esenciales de pieles de cítricos

**Figura 27.**  
*Medición del color mediante colorímetro*





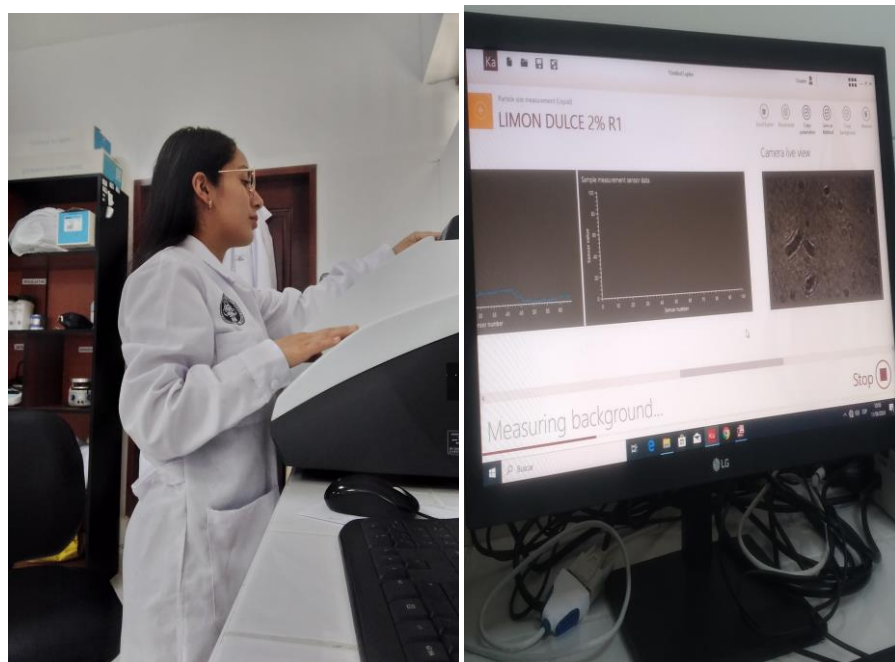
**Figura 28.**

*Medición de actividad de agua ( $a_w$ )*



**Figura 29.**

*Medición de tamaño de partícula*



**Figura 30.**

*Análisis sensorial de los chocolates*



Figura 31.

Ficha de análisis sensorial



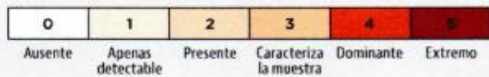
ANÁLISIS SENSORIAL DE CACAO

Ficha de Catación

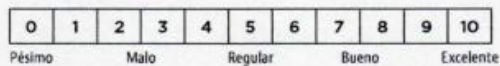
MUESTRA B  
 CATADOR Milagros Granda Santos  
 FECHA 16/01/2024

CATEGORIAS		INTENSIDAD	DESCRIPTORES	CALIDAD (0-10)	PUNTAJE	
Aroma			<i>Cacao, chocolate, panela</i>	7	x1 =	7
Acidez			<i>naranja</i>	7	x1 =	7
Amargor	INTENSIDAD 0 a 2.5: ≥ 5 en calidad 2.5 a 5: ≤ 5 en calidad		<i>piel de naranja</i>	8	x1 =	8
Astringencia			<i>pera</i>	8	x1 =	8
Defectos			<i>- - -</i>	-10	x2 =	20
Sabor	Cocoa/Cacao		<i>chocolate</i>	8	x2 =	16
	Dulce		<i>panela, azúcar</i>			
	Nuez		<i>almendra</i>			
	Frutas secas		<i>pasas</i>			
	Frutas frescas		<i>naranja</i>			
	Floral					
	Espicias					
	Otros					
Pos gusto			<i>agradable fresco chocolatero</i>	8	x1 =	8
COMENTARIOS: <i>Nuestra agradablemente equilibrada</i>			PUNTOS DE CATADOR	8	x1 =	8
<b>PUNTAJE FINAL</b>						<b>82</b>

ESCALA DE INTENSIDAD



ESCALA DE CALIDAD



TIPS PARA EVALUAR CALIDAD EN DEFECTOS

**Nombrar el defecto:**  
Una reducción de puntos en calidad debe ser justificado en Descriptores.

**Relación inversa:**  
Entre más intenso el sabor defectuoso, se reduce el puntaje en calidad.

