

USO DE AZÚCARES DE CAÑA NO REFINADOS EN LA FORMULACIÓN DE UN PRODUCTO DE CACAO SOLUBLE CON PROPIEDADES ANTIOXIDANTES MEJORADAS

Raquel Esparza Balaguer, Lucía Seguí Gil¹, Cristina Barrera Puigdollers¹.

RESUMEN

Las nuevas tendencias de consumo están muy marcadas por la preferencia de los consumidores por los alimentos que aportan beneficios para la salud. El objetivo del presente trabajo es el de formular un cacao soluble con propiedades antioxidantes mejoradas gracias a la sustitución total o parcial del azúcar blanco por azúcares de caña no refinados con probado contenido en compuestos antioxidantes. Se obtuvieron productos de distinta relación azúcar:cacao (formulación) habiéndose reemplazado totalmente el azúcar blanco por azúcar moreno de caña o por panela granulada, así como parcialmente (50%) en el caso de la panela granulada. Los productos obtenidos se caracterizaron fisicoquímicamente (humedad, actividad del agua, higroscopicidad, solubilidad, tamaño de partícula, color y textura), así como por su contenido en compuestos antioxidantes (fenoles y flavonoides totales, y capacidad antioxidante por los métodos ABTS y DPPH). Las características físico-químicas que se vieron afectadas en mayor medida por el reemplazo fueron la humedad y la higroscopicidad, así como el color y el tamaño de partícula. Se constataron mejores propiedades antioxidantes para todos los productos formulados con azúcares no refinados, aunque el cacao soluble formulado con panela granulada presentó propiedades antioxidantes significativamente superiores al resto. Sin embargo, el producto formulado totalmente con panela recibió una peor valoración por parte del panel de catadores. El presente estudio confirma que la sustitución de azúcar blanco por azúcares de caña no refinados permite obtener un cacao soluble más saludable, con unas propiedades físico-químicas bastante similares a las del producto original; no obstante, la aceptación por parte del consumidor se vería disminuida.

PALABRAS CLAVE: cacao soluble, azúcar de caña no refinado, panela granulada, fenoles, flavonoides, capacidad antioxidante.

RESUM

Les noves tendències de consum estan molt marcades per la preferència dels consumidors pels aliments que aporten beneficis per a la salut. L'objectiu del present treball és el de formular un cacau soluble amb propietats antioxidants millorades gràcies a la substitució total o parcial del sucre blanc per sucres de canya no refinats amb provat contingut en compostos antioxidants. Es van obtenir productes de diferent relació

¹Instituto Universitario de Ingeniería de los Alimentos para el Desarrollo (IUIAD). Departamento de Tecnología de Alimentos. Universidad Politécnica de Valencia. Camino de Vera s/n. 46022. Valencia.

sucre:cacau (formulació), havent-se reemplaçat totalment el sucre blanc per sucre moré de canya o per panela granulada, així com parcialment (50%) en el cas de la panela granulada. Els productes obtinguts es van caracteritzar fisicoquímicament (humitat, activitat de l'aigua, higroscopicitat, solubilitat, tamany de partícula, color i textura), així com pel seu contingut en compostos antioxidants (fenols i flavonoides totals, i capacitat antioxidant pels mètodes ABTS i DPPH). Les característiques fisicoquímiques que es van veure afectades en major mesura van ser la humitat i la higroscopicitat, així com el color i el tamany de partícula. Es van constatar millors propietats antioxidants per a tots els productes formulats amb sucres no refinats, encara que el cacau soluble formulat amb panela granulada presentar propietats antioxidants significativament superiors a la resta. No obstant això, el producte formulat totalment amb panela va rebre una pitjor valoració per part del panell de tastadors. El present estudi confirma que la substitució de sucre blanc per sucres de canya no refinats permet obtenir un cacau soluble més saludable, amb unes propietats fisicoquímiques prou similars a les del producte original; no obstant això, l'acceptació per part del consumidor es veuria disminuïda.

PARAULES CLAU: cacau soluble, sucre de canya no refinat, panela granulada, fenols, flavonoides, capacitat antioxidant.

ABSTRACT

The new consumer trends are very marked by consumer preference for food that provides health benefits. The aim of this study is to formulate a soluble cocoa with enhanced antioxidant properties thanks to the total or partial substitution of white sugar with non-refined cane sugar with proven antioxidant compounds content. Products of different ratio sugar:cocoa (formulation) were obtained, having completely replaced white sugar with brown sugar or with jaggery, as well as partly (50%) with jaggery. The obtained products were characterized physicochemically (humidity, water activity, hygroscopicity, solubility, particle size, color and texture) and their antioxidant compounds content (total phenols and flavonoids, and antioxidant capacity by ABTS and DPPH methods). The most affected physicochemical characteristics were humidity and hygroscopicity, as well as color and particle size. Better antioxidant properties for all products made with non-refined sugars were noted, although the soluble cocoa made with jaggery presented significantly higher antioxidant properties than the rest. However, the product fully formulated with jaggery received a worse evaluation by the panel of tasters. The present study confirms that the substitution of white sugar with non-refined cane sugar allows for a healthier soluble cocoa, with physicochemical properties which are quite similar to the original product properties; however, acceptance by consumers would be decreased.

KEYWORDS: soluble cocoa, non-refined sugar, jaggery, phenols, flavonoids, antioxidant capacity.

INTRODUCCIÓN

La caña de azúcar (*Saccharum officinarum* L.) es la fuente principal de azúcar en el mundo (70%), dejando en segundo lugar a la remolacha azucarera (30%) (Nayaka *et al.*, 2009). De la caña de azúcar se obtienen distintos tipos de azúcares, que difieren en función del procesado al que son sometidos. Además del azúcar blanco o refinado, se distinguen diversos azúcares no refinados, resultado directo de la evaporación del agua presente en el jugo o, en general, sometidos a un menor procesado (Jaffe, 2012). Se sabe que el jugo de caña tiene propiedades beneficiosas para la salud, lo que se ha atribuido a su elevado contenido en compuestos antioxidantes, principalmente flavonoides (Duarte-Almeida *et al.*, 2007; Kadam *et al.*, 2008; Nayaka *et al.*, 2009). Por otra parte, el grupo investigación en el que se ha realizado el presente trabajo ha constatado a través de diversos proyectos la ausencia de componentes antioxidantes en el azúcar blanco y la presencia de una cantidad significativa de los mismos en los productos no refinados disponibles en el mercado, fundamentalmente en la miel de caña y en las panelas (Calabuig, 2012; Hostalet *et al.*, 2011; Ivorra, 2014; Seguí *et al.*, 2015; Soler, 2015). Por lo tanto, se demuestra que los compuestos antioxidantes presentes en el zumo de la caña que son eliminados durante el proceso de refinado se conservan, al menos parcialmente, en los azúcares no refinados.

En España, se consume principalmente el azúcar refinado (azúcar blanco), que no contiene dichos compuestos bioactivos (Nayaka *et al.*, 2009; Seguí *et al.*, 2015), y cuyo consumo excesivo se asocia a desórdenes metabólicos y a una mayor incidencia de caries dental. Por otra parte, a pesar del uso cada vez más extendido de otro tipo de endulzantes menos calóricos o acariogénicos, el azúcar sigue siendo un ingrediente apreciado tanto por sus características organolépticas como por sus propiedades conservativas. En este contexto, el uso de azúcares no refinados en la formulación de alimentos podría suponer un incremento de las propiedades nutricionales de los mismos sin ocasionar los problemas tecnológicos que puede presentar el empleo de otro tipo de endulzantes.

La presente tesis de máster se engloba dentro del proyecto GV/2013/047 en el que se plantea el desarrollo de alimentos funcionales por incorporación o sustitución del azúcar blanco por azúcares de caña no refinados. El potencial impacto de la sustitución del azúcar refinado por alternativas más saludables será mayor para aquellos productos que presentan un elevado contenido en azúcares; en este sentido, el grupo investigador ha desarrollado hasta el momento mermeladas con propiedades funcionales mejoradas (Cervera *et al.*, 2014a,b). El cacao soluble es otro de los productos que destaca por su elevado contenido en azúcar, pudiendo llegar hasta el 70-80% de su formulación, por lo que se propone trabajar con dicho producto.

El cacao se descubrió en el año 1100 a.C y se consideró un alimento divino. Se conoce como cacao al grano que se obtiene del fruto del árbol del cacao (*Theobroma cacao* L.), así como al polvo que se obtiene del mismo. Cada fruto contiene alrededor de 50 granos, los cuales están envueltos en

una masa mucilaginoso. Antes del secado, necesario para reducir su humedad hasta un 6-8%, los granos del cacao sufren una fermentación alcohólica a 50 °C durante una semana, lo que permite descomponer el mucílago y gran parte de las sustancias astringentes amargas y los taninos, así como favorecer la formación de los aromatizantes y saborizantes particulares del cacao. El producto resultante es marrón y tiene un sabor amargo, a la vez que dulce (Siedentopp, 2009).

Numerosos estudios afirman que el cacao tiene efectos beneficiosos para la salud humana, especialmente en la prevención de enfermedades cardiovasculares como la hipertensión arterial mediante la vasodilatación por la producción de óxido nítrico (Pascual *et al.*, 2009). Este beneficio se atribuye a su contenido en compuestos antioxidantes, principalmente flavonoides, los cuales son más abundantes en el cacao que en otros productos conocidos por sus propiedades antioxidantes tales como el té verde o el vino tinto, siendo predominante el flavonol epicatequina (Siedentopp, 2009).

Los compuestos antioxidantes que estarían presentes en los azúcares no refinados y en el cacao son sustancias que, cuando están presentes en bajas concentraciones en comparación con las de un sustrato oxidable, retrasan significativamente o previenen la oxidación de dicho sustrato (Halliwell, 1990). A este grupo pertenecen los compuestos fenólicos, tales como los polifenoles o los flavonoides, principalmente del grupo de las flavonas (Durán y Padilla, 1993), a los cuales se les atribuye la capacidad de prevenir y combatir el desarrollo del cáncer y otras enfermedades relacionadas con el daño oxidativo (Urpi-Sarda *et al.*, 2010).

Debido a la elevada concentración de azúcares en el cacao soluble, parece factible que dicho producto pueda ser mejorado con respecto a sus propiedades antioxidantes gracias a la sustitución del azúcar blanco por alternativas más saludables. Además, al tratarse de un producto de color naturalmente oscuro, permitiría enmascarar la contribución al color por parte de los azúcares no refinados, principalmente en el caso de la panela granulada. Asimismo, el interés aumenta por el hecho de que España es el mayor consumidor mundial de cacao soluble (1,7 kg/persona/año) (<http://www.nutrimetabolomics.com>) y de que, además, es un producto ampliamente consumido por la población infantil, que estaría ingiriendo diariamente una cantidad elevada de azúcares que no aportaría beneficios para la salud. Por otra parte, al ser el cacao un ingrediente rico en compuestos antioxidantes, la contribución de éstos por parte del azúcar no refinado debería ser suficiente como para suponer un beneficio añadido.

Por lo tanto, teniendo en cuenta todo lo anterior, el presente estudio plantea evaluar la sustitución parcial o total del azúcar blanco por alternativas no refinadas más saludables en cacao soluble. En concreto, se propone la sustitución del azúcar blanco por panela granulada, elegida por sus mejores propiedades antioxidantes y por sus propiedades fisicoquímicas, más parecidas a las del azúcar blanco en comparación con la panela en bloque; y el azúcar moreno que, pese a contener menos compuestos antioxidantes que las panelas, es el azúcar no refinado más comercializado en España, además de parecerse más desde el punto de

vista organoléptico al azúcar refinado. Se pretende evaluar las propiedades antioxidantes de los productos formulados, así como las principales características fisicoquímicas relacionadas con la calidad de los mismos y su aceptabilidad por parte de un panel de catadores.

MATERIALES Y MÉTODOS

Preparación de las muestras

Las materias primas utilizadas en la formulación de los diferentes tipos de cacao soluble fueron adquiridas en un comercio local. Las muestras se prepararon a partir de cacao en polvo 100% puro (Valor), harina de trigo (Hacendado), sal (Hacendado) y distintos tipos de azúcar: azúcar blanco (AB) (Acor), azúcar moreno (AM) (Azucarera Española) y panela granulada (PG) (IntermonOxfam). Estos ingredientes se combinaron para obtener productos de diferentes características teniendo en cuenta, por un lado, la proporción azúcar:cacao (formulación 50:30, 60:20 ó 70:10) y, por otro, el tipo de azúcar (AB, AM y PG). Además, se elaboraron muestras con una mezcla de AB y PG al 50% con el fin de estudiar el porcentaje de reemplazo (reemplazo del 0, 50 y 100% de AB por PG). La Tabla 1 recoge los ingredientes y las cantidades correspondientes a cada uno de los productos formulados.

TABLA 1. Combinación de materias primas para las distintas formulaciones de estudio.

PRODUCTO (% reemplazo)	Azúcar (g)	Cacao (g)	Harina (g)	Sal (g)
AB_50(0%)	50	30	15	0,4
AB_60 (0%)	60	20		
AB_70 (0%)	70	10		
AM_50	50	30		
AM_60	60	20		
AM_70	70	10		
PG_50 (100%)	50	30		
PG_60 (100%)	60	20		
PG_70 (100%)	70	10		
AB+PG_50 (50%)	50	30		
AB+PG_60 (50%)	60	20		
AB+PG_70 (50%)	70	10		

El procedimiento de elaboración del cacao soluble se basó en las recetas publicadas para el procesador de alimentos Thermomix® (TM 31, Vorwerk, España), utilizado para preparar el producto. En primer lugar, se tostó la

harina en dos etapas: una, a 100°C y agitando a velocidad 4 durante 20 min; y la otra, a temperatura Varoma y agitando a la misma velocidad durante 5 min. Una vez tostada, la harina se extiende en una bandeja para enfriar y se remueve para evitar el apelmazamiento. A continuación, el azúcar se glasea triturando a velocidad progresiva de 5 a 10. Por último, se mezclan todos los ingredientes en el vaso totalmente frío para que el chocolate no se funda y éstos se terminan de triturar y mezclar a la velocidad TURBO durante 1 min.

Determinaciones analíticas

Se analizaron las características físico-químicas del producto formulado, en términos de humedad (x_w), actividad del agua (a_w), higroscopicidad (Hi), solubilidad (S), tamaño de partícula, color y propiedades mecánicas, así como sus propiedades antioxidantes y las correspondientes a las materias primas (contenido en fenoles totales, contenido en flavonoides totales y capacidad antioxidante). Todas las muestras fueron analizadas por triplicado dentro de las 48 h siguientes a su elaboración y se conservaron en tarros de cristal con tapa metálica, con el fin de evitar posibles migraciones de humedad, y en oscuridad para minimizar la degradación de compuestos antioxidantes. A continuación, se describe la metodología empleada para cada determinación.

HUMEDAD (x_w)

La humedad se determinó por el método oficial para alimentos ricos en azúcares (AOAC 934.06, 2000). Éste consiste en introducir la muestra en estufa a vacío (Vaciotem, J.P. Selecta) a 60 °C durante 48 h con el fin de eliminar toda la humedad de la muestra y poder medir la variación de peso. Se introdujeron 2 g de muestra en una placa de Petri de vidrio de 3 cm de diámetro. Se hicieron pruebas preliminares para constatar que, pasado dicho intervalo de tiempo, el peso se mantenía constante. Tras el secado, las muestras se dejaron enfriar en un desecador con base de sílica gel. Se empleó una balanza de 1 mg de precisión (Mettler Toledo MS3035).

ACTIVIDAD DEL AGUA (a_w)

La actividad del agua se midió con un higrómetro de punto de rocío (Aqualab 4TE) con una precisión de $\pm 0,003$, previamente calibrado con disoluciones saturadas de referencia.

HIGROSCOPICIDAD (Hi)

La higroscopicidad se determinó según el método descrito por Cai y Corke (2000) que consiste en introducir 2 g de muestra en una placa de Petri de vidrio de 3 cm de diámetro en una cámara que contiene una disolución saturada de sulfato sódico (Na_2SO_4). La higroscopicidad se evalúa por doble pesada determinando la masa de agua ganada por la muestra tras una semana.

SOLUBILIDAD (S)

La solubilidad se determinó según el método descrito por Mimouni *et al.* (2009). Este método consiste en determinar la fracción másica de los sólidos disueltos (SD) en la muestra hidratada por variación de peso por secado en estufa de vacío. Para ello, por una parte, se determinaron los sólidos totales (ST) de la misma y, por otra, los sólidos solubles (SS), de manera que el cociente aporta el dato de la solubilidad (Ec. 1).

$$ST = \frac{SS}{ST} \quad (\text{Ec. 1})$$

Se disolvieron 2 g de muestra en 50 ml de agua destilada agitando a 700-900 rpm durante 1 min en un agitador magnético (Delabo). Se escogió esta relación por considerarse que, comúnmente, se toman 2 cucharadas (alrededor de 10 g) disueltas en 250 ml de leche. Manteniendo la agitación para que no sedimente el producto, se introducen 20 g en un vaso y se procede a un secado en estufa, inicialmente, a presión atmosférica a 60 °C durante 48 h para eliminar la mayor parte de la humedad y, posteriormente, bajo vacío a 60 °C durante 24 h. Para determinar los SS, se toma la misma cantidad de muestra y se centrifugan en refrigeración (4 °C) a 10.000 rpm durante 10 min. El sobrenadante obtenido se filtra a vacío empleando filtros Whatman N° 1 y se somete al mismo proceso de secado descrito para los ST.

TAMAÑO DE PARTÍCULA

El tamaño de partícula se midió en un analizador de tamaño de partículas modular con tecnología de difracción láser (Malvern Mastersizer 2000) con un sistema de dispersión por aire a presión en vía seca (Scirocco 2000) empleando el procedimiento estándar de operación por defecto (SOP 2,5 bar y 50% de vibración). El índice de refracción empleado es 1,52 y la absorción 0,1. En todos los casos, se obtuvieron los valores de diámetro medio de volumen equivalente, también llamado “media de DeBroucker” (D(4,3)), así como el span, que indica la dispersión de los valores obtenidos.

PROPIEDADES ÓPTICAS: COLOR

El color se midió en un fotocolorímetro (Minolta CM 3600D) obteniéndose el espectro de reflectancia, a partir del cual se expresaron los resultados según el sistema CIEL*a*b*, empleando como referencia el iluminante D65 y el observador 10°. Se emplearon cubetas de metacrilato de tamaño estándar (37mmx50mmx22mm) y se colocaron sobre un fondo negro. Se obtuvieron los valores de las coordenadas cromáticas L*, que indica la luminosidad en una escala de 0 a 100, del negro al blanco; a*, que indica la cantidad de color rojo (+) o verde (-); b*, que indica la cantidad de color amarillo (+) o azul (-); y h*_{ab}, el tono. Se calculó, además, la diferencia de color (ΔE*) entre

los productos formulados con azúcares no refinados y los elaborados únicamente con azúcar blanco, según indica Maskan (2001).

PROPIEDADES MECÁNICAS: TEXTURA

Las propiedades mecánicas se analizaron con un texturómetro TA-XT Plus (Stable Micro Systems). Se realizó un ensayo de compresión con una cápsula de aluminio de 3,7 cm de diámetro y 1,8 cm de altura y se comprimió una distancia de 3 mm a una velocidad constante de 0,5 mm/s. Se obtuvo la curva fuerza-distancia de cada producto, de la cual se leyó la fuerza máxima.

EXTRACCIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS

Se llevó a cabo un ensayo preliminar utilizando distintos disolventes: metanol, metanol agua (70:30) y agua bidestilada, determinándose que los extractos acuosos presentaban una mayor cantidad de compuestos fenólicos extraídos. Se emplearon distintas diluciones para distintos ensayos.

Las disoluciones se prepararon en vasos de precipitados de 100 ml y, para favorecer la solubilización, se agitaron a 700-900 rpm durante 1 min en un agitador magnético (Delabo), a la vez que se cubría con papel de aluminio para evitar la degradación de los compuestos fenólicos. La extracción se finalizó agitando en una placa oscilante (GFL 3005) a 100 rpm durante 30 min.

CONTENIDO EN FENOLES TOTALES

Para la determinación del contenido en fenoles totales se empleó el método Folin-Ciocalteu (FC) (Singleton *et al.*, 1999). Se añadieron en una cubeta 0,125 ml de la disolución del producto tras la extracción, 0,5 ml de agua bidestilada y 0,125 ml de reactivo FC y se dejó reaccionar durante 6 min en oscuridad, tras los cuales se añadieron 1,25 ml de carbonato sódico 7% w/v y 1 ml de agua bidestilada. Pasados 90 min en oscuridad, se midió la absorbancia a 760 nm en un espectrofotómetro UV-visible (Helios Zeta, Thermoscientific). Los resultados se expresaron en mg equivalentes de ácido gálico por gramo de producto (mg EAG/g) a partir de la recta patrón obtenida en el intervalo de concentraciones comprendido entre 100 y 400 ppm.

CONTENIDO EN FLAVONOIDES TOTALES

Para la determinación del contenido en flavonoides totales se siguió el método colorimétrico modificado del cloruro de aluminio descrito por Luximon-Rammaet *al.* (2005). Se añadieron en una cubeta 1,5 ml del extracto de la muestra y 1,5 ml de una disolución de cloruro de aluminio al 2% (w/v) en metanol. Tras 10 min en oscuridad, se midió la absorbancia a 337 nm en un espectrofotómetro UV-visible (Helios Zeta, Thermoscientific). Los resultados se expresaron en mg equivalentes de apigenina por gramo

de producto (mg EA/g) a partir de la recta patrón obtenida en el intervalo de concentraciones comprendido entre 0 y 200 ppm.

CAPACIDAD ANTIOXIDANTE POR EL MÉTODO DPPH

Uno de los métodos empleados para determinar la capacidad antioxidante fue el DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) (Molyneux, 2004) basado en la capacidad de las sustancias antioxidantes para captar radicales libres como el DPPH. Se añadieron en una cubeta 2 ml de una disolución 100 µM de DPPH en metanol, 50 µl del extracto de la muestra y 950 µl de metanol. Se midió la absorbancia a 517 nm en continuo durante 2,5 h. Los resultados se expresaron como porcentaje de inhibición del DPPH calculándose como se muestra en la Ec. 2.

$$\% \text{inhibición} = \frac{A_B - A_M}{A_B} \cdot 100\% \quad (\text{Ec. 2})$$

donde: A_B = absorbancia del blanco; A_M = absorbancia de la muestra.

CAPACIDAD ANTIOXIDANTE POR EL MÉTODO ABTS

El otro método empleado para determinar la capacidad antioxidante es el descrito por Re *et al.* (1999) basado en la decoloración del radical ABTS (Ácido 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico)). Tras 6 minutos en oscuridad, se midió la absorbancia a 734 nm en un espectrofotómetro UV-visible (Helios Zeta, Thermoscientific). Los resultados se expresaron en mg equivalentes de Trólox por gramo de producto (mg ET/g) a partir de la recta patrón obtenida en el intervalo de concentraciones comprendido entre 0 y 800 µM.

ANÁLISIS SENSORIAL

Se llevó a cabo un análisis sensorial del producto formulado con la relación azúcar:cacao 60:20 reconstituido en leche semidesnatada. Se realizó una prueba olfato-gustativa con el fin de que un panel de catadores semientrenados compuesto por 25 personas determinara el nivel de satisfacción con respecto a la intensidad de varios atributos: aroma, color, solubilidad, sabor y dulzor, aceptabilidad global e intención de compra.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El análisis estadístico de los resultados se llevó a cabo con el programa StatgraphicsCenturion XVI.II. Se realizaron análisis de la varianza (ANOVA) multifactorial y simple para evaluar las diferencias entre los productos elaborados, con un nivel de confianza del 95%. Todas las determinaciones se realizaron, al menos, por triplicado.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Caracterización físico-química del producto formulado

Los valores obtenidos para los parámetros humedad, actividad del agua, higroscopicidad y solubilidad del producto formulado se muestran en la Tabla 2.

TABLA 2. Valor medio (desviación estándar) de la humedad (x_w), actividad del agua (a_w), higroscopicidad (H_i) y solubilidad (S) de los productos formulados con los diferentes azúcares (AB, AM, PG y AB+PG) y de distinta formulación (relación azúcar:cacao = 50:30, 60:20 y 70:10). SS: sólidos solubles; ST: sólidos totales.

PRODUCTO (% reemplazo)	x_w (g agua/100 g producto)	a_w	H_i (g agua/100 g producto)	S (g SS/100 g ST)
AB_50(0%)	1,02(0,06) ^a	0,36(0,02) ^a	19(6) ^{a,b,c}	48(3) ^a
AB_60 (0%)	0,95(0,05) ^a	0,35(0,03) ^a	15(14) ^{a,b,c}	56(1,2) ^{b,c,d}
AB_70 (0%)	0,98(0,08) ^a	0,366(0,014) ^{a,b}	11(6) ^a	60(4) ^{c,d,e}
AM_50	1,18(0,03) ^a	0,354(0,008) ^a	24(10) ^{b,c}	50(5) ^a
AM_60	0,93(0,06) ^a	0,42(0,03) ^{c,d,e}	26(9) ^c	62(2) ^{d,e,f}
AM_70	0,78(0,08) ^a	0,41(0,05) ^{b,c,d,e}	27(1,7) ^c	67(3) ^{f,g}
PG_50 (100%)	1,79(0,11) ^b	0,356(0,007) ^a	22(2) ^{a,b,c}	51(3) ^{a,b}
PG_60 (100%)	1,79(0,07) ^b	0,376(0,007) ^{a,b,c}	20(6) ^{a,b,c}	64(3) ^{e,f}
PG_70 (100%)	2,4(1,1) ^c	0,45(0,07) ^e	15(6) ^{a,b,c}	71(4) ^{g,h}
AB+PG_50 (50%)	1,1(0,2) ^a	0,379(0,009) ^{a,b,c,d}	16(3) ^{a,b,c}	54(7) ^{a,b,c}
AB+PG_60 (50%)	0,8(0,3) ^a	0,393(0,003) ^{a,b,c,d}	15(6) ^{a,b,c}	61(4) ^{d,e,f}
AB+PG_70 (50%)	0,8(0,3) ^a	0,427(0,012) ^{d,e}	12(10) ^{a,b}	74(3) ^h

^{a,b,c...} Superíndices con letras diferentes en la misma columna indican diferencias estadísticamente significativas con un nivel de confianza del 95% (p-valor<0.05).

De acuerdo con los resultados obtenidos, los productos con PG presentan una x_w significativamente mayor a los productos formulados con los otros tipos de azúcar (p-valor<0,05), ya que este azúcar presenta un mayor contenido en humedad en comparación con los azúcares comercializados en forma de cristal. Por los valores obtenidos, estos productos se pueden considerar altamente estables por los bajos niveles de x_w (Murrieta *et al.*, 2012). No obstante, estas diferencias no se ven reflejadas en los valores de a_w , indicando que todos los azúcares empleados ejercen un efecto similar por lo que respecta a la depresión de la a_w . Sí se pueden observar ciertas diferencias entre las distintas formulaciones en cuanto a la relación azúcar:cacao, siendo mayor este parámetro cuanto menor cacao contienen las muestras. Este hecho podría deberse a que el agua contenida en el cacao esté menos disponible.

Los resultados de higroscopicidad destacan por presentar valores elevados de desviación típica. No obstante, a partir de los resultados obtenidos se deduce que los productos elaborados con AM y PG son más higroscópicos que los que contienen AB en su formulación, aunque sólo existe significancia estadística entre AM y el resto. La higroscopicidad se considera un parámetro de calidad importante que se relaciona con la estabilidad de los productos en polvo (Bhandari y Howes, 1998). Por tanto, desde este punto de vista, los productos con AM y PG serían más susceptibles a sufrir problemas de apelmazamiento y pegajosidad durante el almacenamiento de los mismos.

Por su parte, la solubilidad se ve afectada tanto por el tipo de azúcar como por la cantidad del mismo empleado en la formulación del producto significativamente (p -valor $<0,05$), siendo este último factor el más relevante. La solubilidad es mayor para los productos que contienen PG y también aumenta conforme lo hace la proporción de azúcar, pues el cacao como producto es menos soluble que cualquiera de los azúcares.

Por tanto, se asocian mayores valores de x_w , a_w , H_i y el consiguiente riesgo de apelmazamiento a los azúcares no refinados que al AB.

Los resultados correspondientes al análisis del tamaño de partícula del cacao en polvo se presentan en las Figuras 1A y 1B, las cuales muestran los resultados correspondientes al diámetro medio de volumen equivalente ($D(4,3)$) y al span o ancho de la distribución, respectivamente. Los productos resultado de sustituir el AB por PG presentaron un tamaño de partícula superior al resto, tal y como se refleja en los valores del diámetro equivalente $D(4,3)$ (Figura 1A). Este resultado podría estar relacionado con el mayor apelmazamiento de este azúcar, ya que el apelmazamiento podría conllevar la aparición de partículas de mayor tamaño, así como a un triturado menos fino debido a su mayor humedad, en comparación con los azúcares cristal.

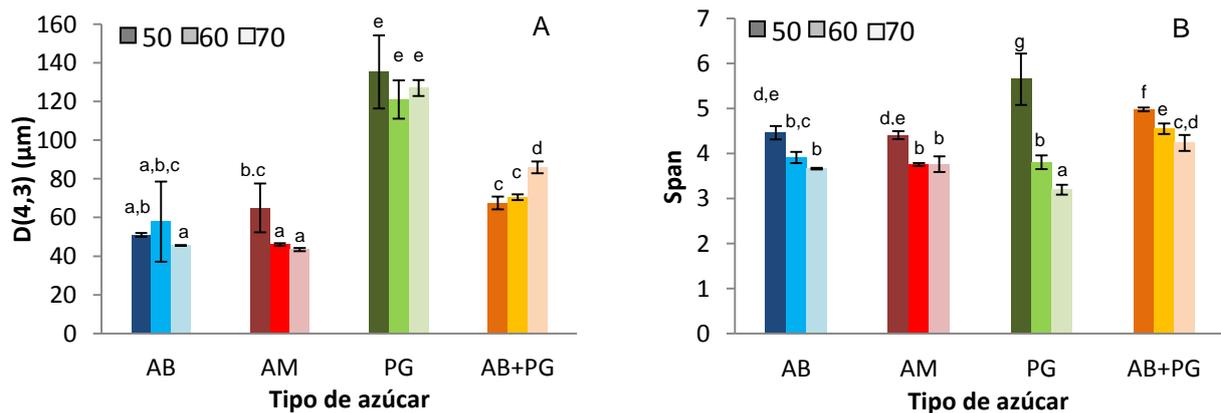


FIGURA 1. Valores medios y desviación estándar del diámetro medio de volumen equivalente de las partículas de cada muestra (A) y del span asociado al mismo (B) de los distintos productos formulados con los diferentes azúcares (AB, AM, PG, AB+PG), y formulación (azúcar:cacao = 50:30, 60:20, 70:10). ^{a,b,c...} Superíndices con letras diferentes en la misma serie indican diferencias estadísticamente significativas con un nivel de confianza del 95% (p -valor $<0,05$).

Por otro lado, el tamaño de la distribución (span), se ve más significativamente afectado por el tipo de formulación (relación azúcar:cacao), disminuyendo conforme aumenta la proporción de azúcar en la mezcla (Figura 1B). Este resultado reflejaría una mayor homogeneidad de tamaños de partícula conforme aumenta la proporción del ingrediente azúcar frente al cacao.

Los resultados correspondientes a las propiedades ópticas quedan reflejados en la Tabla 3.

TABLA 3. Valor medio (desviación estándar) de las coordenadas de color (L^* , a^* , b^*), tono (h^*_{ab}) y diferencia de color (ΔE^*) de los productos formulados con los diferentes azúcares (AB, AM, PG, AB+PG), y de distinta formulación (azúcar:cacao = 50:30, 60:20, 70:10).

PRODUCTO (% reemplazo)	L^*	a^*	b^*	h^*_{ab}	ΔE^*
AB_50(0%)	50,4 (0,6) ^d	10,80(0,06) ^g	15,40(0,07) ^c	54,95(0,10) ^a	-
AB_60 (0%)	57,10 (0,04) ^h	9,42(0,06) ^d	14,56(0,14) ^b	57,11(0,08) ^c	-
AB_70 (0%)	67,1(0,2) ^k	7,33(0,04) ^a	12,31(0,11) ^a	59,25(0,11) ^e	-
AM_50	48,2(0,2) ^b	11,24(0,09) ^h	16,1(0,2) ^d	55,08(0,15) ^a	2,4(0,3) ^a
AM_60	55,0(0,2) ^f	10,04(0,08) ^f	16,0(0,3) ^d	57,9(0,2) ^d	2,6(0,4) ^a
AM_70	62,95(0,05) ⁱ	8,09(0,04) ^c	14,25(0,16) ^b	60,42(0,17) ^f	4,61(0,03) ^b
PG_50 (100%)	45,54(0,05) ^a	11,89(0,13) ⁱ	18,0(0,3) ^f	56,6(0,2) ^b	5,62(0,17) ^c
PG_60 (100%)	49,2(0,5) ^c	11,34(0,10) ^h	18,1(0,2) ^f	58,0(0,2) ^d	8,9(0,5) ^d
PG_70 (100%)	56,2(0,4) ^g	9,63(0,18) ^e	17,0(0,5) ^e	60,5(0,3) ^f	12,0(0,6) ^e
AB+PG_50 (50%)	48,3(0,2) ^b	11,29(0,16) ^h	16,26(0,19) ^d	55,23(0,12) ^a	2,3(0,3) ^a
AB+PG_60 (50%)	54,47(0,08) ^e	10,024(0,018) ^f	15,52(0,03) ^c	57,14(0,09) ^c	2,86(0,07) ^a
AB+PG_70 (50%)	65,96(0,03) ^j	7,73(0,02) ^b	14,45(0,13) ^b	61,87(0,16) ^g	2,44(0,10) ^a

^{a,b,c...} Superíndices con letras diferentes en la misma columna indican diferencias estadísticamente significativas con un nivel de confianza del 95% (p-valor<0.05).

En general, el color se ve afectado significativamente tanto por el tipo de azúcar como por la formulación utilizada (p-valor<0,05), siendo las diferencias más destacables en el caso de los parámetros L^* y a^* . La luminosidad de las muestras depende directamente del color de los ingredientes empleados, de modo que el producto resulta más claro cuanto más azúcar contiene, ya que el cacao tiene un color más oscuro que cualquiera de los azúcares empleados. Por otro lado, los azúcares no refinados aportan menor luminosidad que el AB. De forma similar, se observa que el empleo de azúcares distintos del AB incrementa los valores de a^* , debido al color pardo de los azúcares no refinados. Por el contrario, esta coordenada disminuye conforme se incrementa la proporción de azúcar en la formulación, sobretodo en el caso de los productos formulados con AB total o parcialmente, lo que indica un alejamiento de los tonos marrones propios del cacao. Analizando de forma conjunta las coordenadas a^* y b^* a través del tono (h^*_{ab}), se deduce que depende en mayor medida del tipo de

formulación (p -valor $<0,05$). De manera que las muestras con el mismo porcentaje de azúcar no presentan un tono significativamente distinto en el caso de las muestras con azúcares no refinados, mientras que las que contienen AB sí que se diferencian de ellos significativamente. Concretamente, el parámetro ΔE^* indica la diferencia de color respecto a la muestra con AB, mostrando las de PG una diferencia significativa (p -valor $<0,05$), mientras que las que contienen AM o en las que se ha sustituido sólo una parte del azúcar (AB+PG) se diferencian en menor medida.

Los ensayos de compresión ejecutados para evaluar las propiedades mecánicas de los productos obtenidos dieron lugar a los resultados que se presentan en la Figura 2.

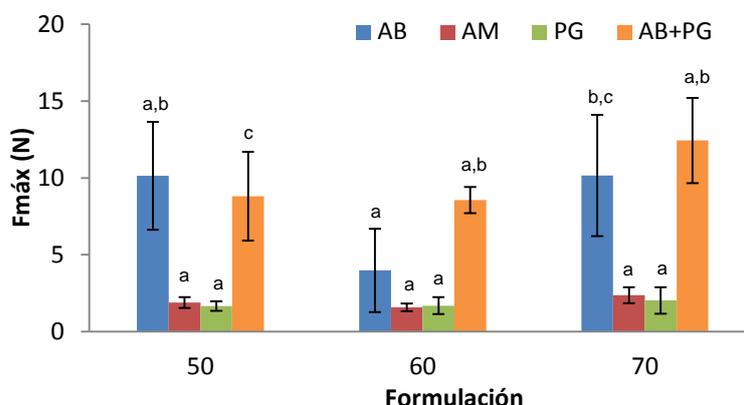


FIGURA 2. Valores medios y desviación estándar de la fuerza máxima ejercida en el ensayo de compresión para los distintos productos formulados con los diferentes azúcares (AB, AM, PG, AB+PG), y formulación (azúcar:cacao = 50:30, 60:20, 70:10).^{a,b,c...} Superíndices con letras diferentes en la misma serie indican diferencias estadísticamente significativas con un nivel de confianza del 95% (p -valor $<0,05$).

La fuerza máxima ejercida en el ensayo de compresión es significativamente mayor para las muestras que contienen AB. Esta diferencia se asocia con la x_w del producto, ya que, con mayores valores de este parámetro, como es el caso de las muestras con AM y PG, se puede comprimir más fácilmente y es necesario ejercer una fuerza menor para desplazar el émbolo la misma distancia dentro de la muestra. El motivo se relaciona con la mayor compresibilidad de los líquidos frente a los sólidos, considerándose una x_w despreciable para las muestras de AB. Además, el AB tiene estructura cristalina, mientras que la PG es un azúcar amorfo, por lo que podría presentar una mayor deformabilidad. No obstante, la desviación estándar de los resultados es muy elevada, lo que se trata de un error inherente al método empleado.

Caracterización de las materias primas con respecto a sus propiedades antioxidantes

El uso de azúcares de caña no refinados como sustitutos del AB, con el fin de incrementar las propiedades antioxidantes del producto formulado, se basa en la mayor cantidad de fenoles y flavonoides que contienen estos azúcares con respecto a la nula concentración de este tipo de compuestos en el AB (Seguí *et al.*, 2015). Por su parte, el cacao posee unas propiedades antioxidantes destacables (Pascual *et al.*, 2009; Siedentopp, 2009), por lo que sería conveniente estudiar si existe algún tipo de sinergismo o inhibición entre la capacidad antioxidantes del cacao y la de los azúcares empleados. En la Tabla 4, se presentan los resultados correspondientes a la caracterización de las materias primas empleadas en el presente estudio en relación a sus propiedades antioxidantes. Según puede observarse, de entre los azúcares empleados, destaca la PG por su mayor contenido en fenoles y flavonoides, lo cual concuerda con los resultados obtenidos anteriormente (Seguí *et al.*, 2015). Por otra parte, el cacao muestra una cantidad de fenoles totales marcadamente superior al resto de materias primas, lo que concuerda con su mayor actividad antioxidante medida por el método ABTS y con los resultados publicados por otros autores (Zapata *et al.*, 2013); sin embargo, dichas diferencias no se constatan en la evaluación del contenido en flavonoides totales. Este hecho puede deberse a la distinta naturaleza de los flavonoides de ambas materias primas, pues el flavonoide predominante presente en el cacao es la epicatequina (Zapata *et al.*, 2013) que presentaría un máximo de absorbancia alrededor de 420 nm (Iland *et al.*, 2000), mientras que las flavonas predominantes en la caña de azúcar (luteolina, apigenina, tricina) presentarían máximos por debajo alrededor de 350 nm. Este hecho es responsable de las limitaciones del método del cloruro de aluminio, según destacan algunos autores (Denni y Mammen, 2012; Pekal y Pyrzynska, 2014).

TABLA 4. Valor medio (desviación estándar) de fenoles totales (mg EAG/g), flavonoides totales (mg EA/g) y capacidad antioxidante medida por el método ABTS (mg ET/g) de las materias primas.

Materia prima	Fenoles Totales (mg EAG/g)	Flavonoides Totales (mg EA/g)	Capacidad AO - ABTS (mg ET/g)
AB	nd	nd	nd
AM	0,41(0,02) ^a	1,18(0,10) ^a	0,023(0,005) ^a
PG	2,16(0,03) ^b	4,1(0,4) ^b	0,197(0,003) ^b
Cacao	30(2) ^c	4,7(2,2) ^b	0,74(0,09) ^c

^{a,b,c...} Superíndices con letras diferentes en la misma columna indican diferencias estadísticamente significativas con un nivel de confianza del 95% (p-valor<0.05).

nd No detectado. Los valores obtenidos para el AB fueron inferiores a la sensibilidad del método, por lo que se consideran como no detectados.

La capacidad antioxidante de las muestras también se determinó a través del radical DPPH. La cinética de reacción de dicho radical para las materias

primas se muestra en la Figura 3, en la cual se observa el bajo porcentaje de inhibición que alcanza el AM frente a los elevados valores obtenidos para la PG y para el cacao. Se sabe que la forma que adquieren las curvas de inhibición está relacionada con el tipo de compuestos que reaccionan con el radical DPPH, de modo que existen compuestos antioxidantes que dan una respuesta prácticamente inmediata, como el ácido ascórbico, y otros que reaccionan más lentamente, como es el caso de las flavonas (Sendra *et al.*, 2006). Los resultados muestran una reacción mucho más rápida para el cacao, indicativo de la presencia de compuestos que reaccionan rápidamente. Por otro lado, la respuesta es significativamente más lenta para los azúcares, lo cual coincide con los resultados anteriores (Seguí *et al.*, 2015).

De acuerdo a los resultados obtenidos mediante el método ABTS, al comparar a tiempos cortos (6 min), se observa mayor capacidad antioxidante del cacao frente a los azúcares, predominando la PG entre éstos últimos y obteniéndose valores muy bajos para el AM y nulos para el AB.

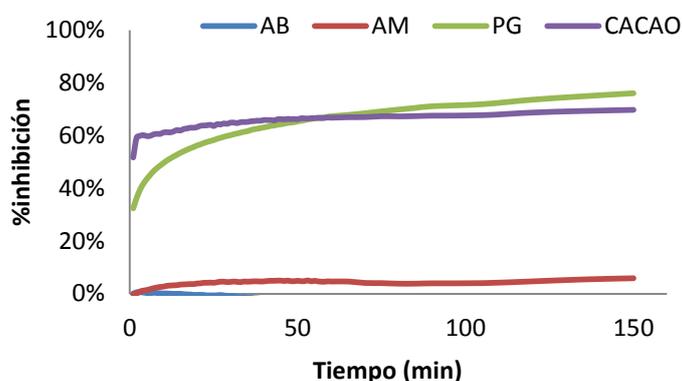


FIGURA 3. Cinética de inhibición del radical DPPH para las materias primas analizadas (AB, AM, PG, cacao).

Propiedades antioxidantes del producto formulado

Del producto formulado se espera que tenga unas propiedades antioxidantes mejoradas por la sustitución del AB por azúcares de caña no refinados, por lo que se analizaron según su contenido en fenoles totales, flavonoides totales y capacidad antioxidante por los métodos ABTS y DPPH. La Figura 4 presenta el contenido en fenoles y flavonoides totales de los distintos productos formulados. En general, las diferencias resultado de emplear uno u otro azúcar no son tan evidentes porque la mejora de propiedades antioxidantes se suma al valor referente al cacao, que es notablemente mayor. Los fenoles totales presentes en el cacao soluble se incrementan de forma significativa por el hecho de sustituir el azúcar blanco por cualquier azúcar no refinado, para todas las formulaciones estudiadas, siendo mayor el contenido en dichos compuestos en el caso de utilizar PG, seguida de las muestras con reemplazo parcial por PG y por las de AM. El efecto de sustituir un azúcar por otro se hace más evidente a medida que

disminuye la cantidad de cacao en la muestra, siendo más significativo en la formulación 70:10. Los resultados correspondientes a flavonoides totales muestran una tendencia similar, aunque destaca más la formulación con PG, y no se observan diferencias estadísticamente significativas entre el AM y los productos AB+PG.

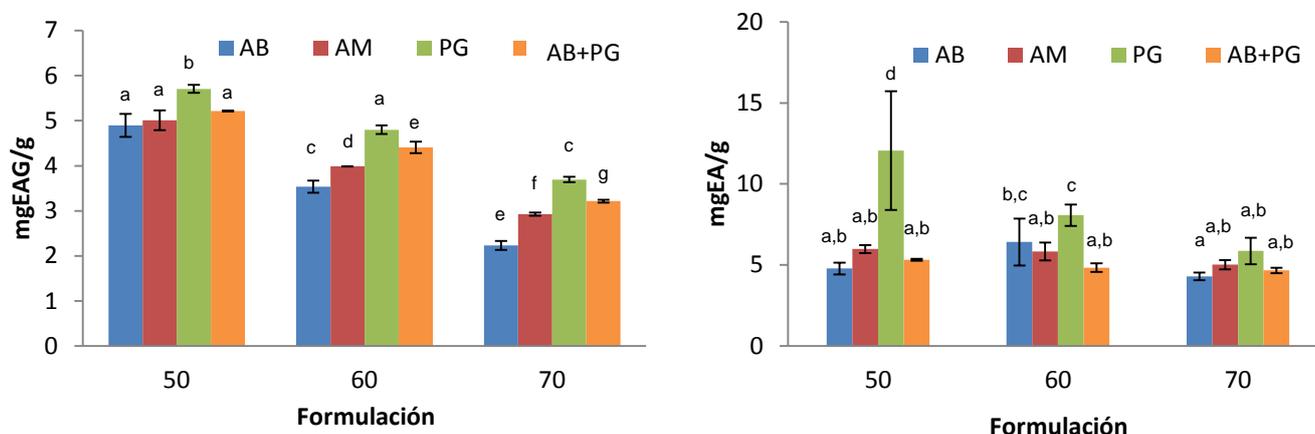


FIGURA 4. Valores medios y desviación estándar de fenoles totales (mgEAG/g) y flavonoides totales (mg EA/g) de los productos formulados con los diferentes azúcares (AB, AM, PG, AB+PG), y formulación (azúcar:cacao = 50:30, 60:20, 70:10).^{a,b,c...} Superíndices con letras diferentes en la misma serie indican diferencias estadísticamente significativas con un nivel de confianza del 95% (p-valor < 0.05).

La capacidad antioxidante resultado de la presencia de compuestos fenólicos en los productos se muestra en la Figura 5. El método ABTS, o mg equivalentes de Trólox, indica que los productos formulados con PG tienen mayor actividad antioxidante, lo cual se hace más relevante al aumentar la proporción de azúcar en la formulación (Figura 5). Sin embargo, a concentraciones menores de azúcar, el método no constata diferencias estadísticamente significativas entre los distintos azúcares no refinados, seguramente por reflejar en mayor medida los compuestos de reacción rápida presentes en las materias primas, ya que la medición se realizaba a los 6 minutos.

Por tanto, se constata que las propiedades antioxidantes no tienen por qué ser aditivas, pues sería de esperar que se acusara más la capacidad antioxidante para el producto con PG; sin embargo, se observa una tendencia similar para todos los productos con azúcares de caña no refinados, superando en todos los casos a los productos formulados con AB.

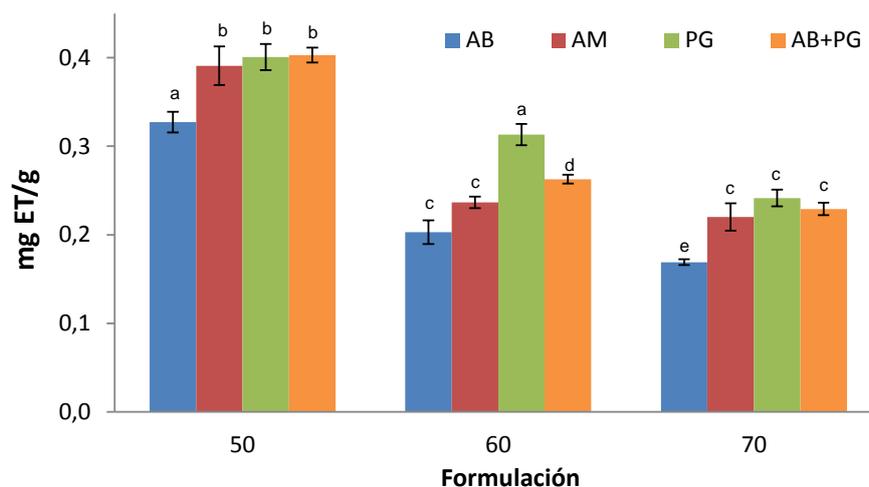


FIGURA 5. Valores medios y desviación estándar de la capacidad antioxidante (mg ET/g) de los productos formulados con los diferentes azúcares (AB, AM, PG, AB+PG), y formulación (azúcar:cacao = 50:30, 60:20, 70:10).^{a,b,c...} Superíndices con letras diferentes en la misma columna indican diferencias estadísticamente significativas con un nivel de confianza del 95% (p-valor<0.05).

La capacidad antioxidante medida según el método DPPH (Figura 6) sugiere que, a mayores concentraciones de un mismo tipo de azúcar, se obtiene un porcentaje de inhibición menor con respecto al producto más rico en cacao, excepto en el caso de los productos formulados con PG, cuyo comportamiento es similar para las tres formulaciones por el aporte de mayores propiedades antioxidantes que los otros azúcares. Las diferencias entre las distintas formulaciones se observan más en aquellos productos formulados con azúcares con menores propiedades antioxidantes. Cabe mencionar que todos los productos alcanzan cerca del 80% de inhibición pasadas dos horas y media, exceptuando los que presentan las menores concentraciones de compuestos fenólicos, que son los formulados con AB y AB+PG en una relación azúcar:cacao 70:10.

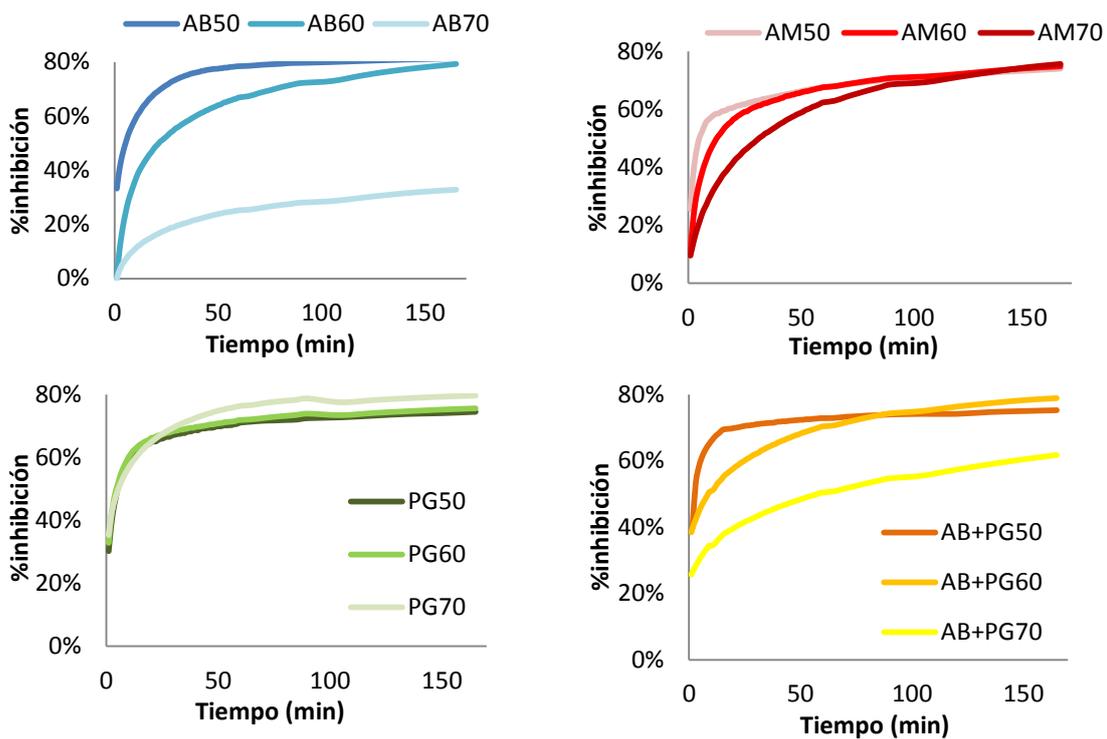


FIGURA 6. Cinética de inhibición del radical DPPH para los distintos productos formulados con los diferentes azúcares (AB, AM, PG, AB+PG), y formulación (azúcar:cacao = 50:30, 60:20, 70:10).

Prueba de aceptación sensorial de los productos formulados

La prueba sensorial se realizó únicamente con los productos formulados con una relación azúcar cacao 60:20, relación algo menor a la de los productos comerciales que presenta mejores propiedades antioxidantes que la 70:10. El análisis sensorial se realizó según se especifica en el apartado de material y métodos, de modo que la Figura 7 muestra el perfil olfato-gustativo resultado de dicho análisis.

En general, se obtuvo una mayor aceptación del producto formulado con AB frente a los formulados con azúcares no refinados, especialmente al formulado con PG. Las diferencias resultaron estadísticamente significativas para el atributo de solubilidad entre los productos que contenían PG y los que no, y para los atributos de color, dulzor y sabor entre los productos de AB y PG. Por el contrario, no se observaron diferencias estadísticamente significativas con respecto al aroma en ningún caso y, de entre los productos formulados con azúcares no refinados, con respecto al color, dulzor y sabor. Los parámetros solubilidad y dulzor fueron los peor valorados para el caso de utilizar azúcares no refinados.

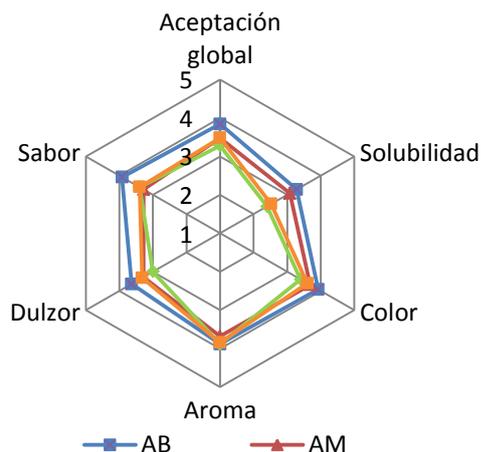


FIGURA 7. Perfil olfato-gustativo de los productos formulados con los diferentes azúcares (AB, AM, PG, AB+PG), y formulación (azúcar:cacao = 50:30, 60:20, 70:10).

Con respecto a la intención de compra, sólo el 44% del panel de catadores compraría el producto formulado con PG; mientras que el 60% compraría el de AB+PG; el 76%, el de AM; y el 88%, el de AB. En general, la PG no es un producto muy consumido en España, por lo que la menor puntuación otorgada podría deberse a la falta de hábito de consumo del producto. Puesto que se había previsto un posible rechazo del producto por parte del consumidor, se elaboró la formulación por reemplazo parcial (50%), la cual obtuvo una mejor aceptación. Sin embargo, a pesar de que en términos comerciales podría ser más interesante apostar por una formulación AB+PG o AM, las propiedades antioxidantes no reflejarían una mejora comparable a la de la sustitución por PG, sino más bien al producto formulado con AB.

CONCLUSIONES

Los resultados de este trabajo han puesto de manifiesto que es posible incrementar de forma significativa las propiedades antioxidantes de un producto como el cacao en polvo por la sustitución total o parcial del azúcar blanco por azúcares de caña no refinados. En particular, los productos formulados con panela granulada han sido los que han presentado una mayor concentración de compuestos fenólicos, seguidos de los formulados con azúcar moreno y con un 50% de reemplazo por panela granulada, los cuales presentan valores similares. Sin embargo, se han constatado diferencias estadísticamente significativas con respecto a las propiedades fisicoquímicas que definen la calidad del producto, ya que los cacaos solubles formulados con azúcares no refinados tenderían a un mayor apelmazamiento teniendo en cuenta los mayores valores humedad e higroscopicidad obtenidos, los cuales estarían relacionados a su vez con un

mayor tamaño de partícula. También se han constatado diferencias en otros atributos tales como el color, tanto de forma instrumental como por el panel de catadores empleado para evaluar sensorialmente la muestra. Otros atributos tales como la solubilidad, a pesar de ser superior en los productos formulados con azúcares de caña no refinados, fueron penalizados en el análisis sensorial, tomando como referencia la puntuación otorgada al cacao soluble elaborado con azúcar blanco. Por lo que respecta a las distintas formulaciones estudiadas, se ha comprobado que las que mayor porcentaje de cacao contienen son las que más propiedades antioxidantes presentan (50:30). No obstante, es la formulación que más se aleja de la correspondiente al producto comercial, por lo que se eligió la formulación 60:20 como la que muestra un equilibrio adecuado entre el contenido de azúcar y la concentración en compuestos fenólicos.

En definitiva, el producto formulado con panela granulada es el más interesante desde el punto de vista nutricional, teniendo en cuenta sus potenciales beneficios para la salud. No obstante, a tenor de la evaluación realizada por el panel de catadores, habría que valorar si las alternativas formuladas con azúcar moreno y con panela granulada en un 50% serían mejores opciones desde el punto de vista comercial.

REFERENCIAS

- Bhandari, B. R.; Howes, T. 1998. Implication of glass transition for the drying and stability of dried foods. *Journal of Food Engineering*, 40: 71-79.
- Cai, Y.Z.; Corke, H. 2000. Production and Properties of Spray-dried *Amaranthus* Betacyanin Pigments. *Journal of Food Science*, 65 (7):1248-1252.
- Calabuig, L. 2012. Evaluación de las propiedades fisicoquímicas y antioxidantes de azúcares comerciales de caña no refinados. Trabajo Final de Carrera – Ingeniero Agrónomo. Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica y del Medio Natural.
- Cervera, L. 2015. Evaluación del impacto de sustitución parcial de azúcar blanco por azúcar de caña no refinado en mermeladas con propiedades antioxidantes mejoradas. Trabajo Final de Carrera – Ingeniero Agrónomo. Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica y del Medio Natural.
- Cervera, L.; Seguí, L.; Barrera, C.; Betoret, N.; Fito, P. 2014. Jams with improved antioxidant properties by partial replacement of White sugar by non-centrifugal cane sugar. *Proceedings of the FoodInnova2014*, 20-23 octubre de 2014. Editores: Jorge Amado Gerard, Pedro Fito Maupoey.
- Cervera, L.; Seguí, L.; Barrera, C.; Betoret, N.; Fito, P. 2014. Physical and sensory properties of jams formulated with non-refined cane sugar. *Proceedings of the FoodInnova2014*, 20-23 octubre de 2014. Editores: Jorge Amado Gerard, Pedro Fito Maupoey.
- Denni, M. and Mammen, D. 2013. A critical evaluation on the reliability of two aluminum chloride chelation methods for quantification of flavonoids. *Food Chemistry* 135, 1365-1368.
- Duarte-Almeida, J.M.; Negri, G.; Salatino, A.; Carvalho, J.E.; Lajolo, F.M. 2007. Antiproliferative and antioxidant activities of a tricinacylated glycoside from sugarcane (*Saccharum officinarum*) juice. *Phytochemistry* 68: 1165-1171. Elsevier.
- Durán, M.; Padilla, B. 1993. Actividad antioxidante de los compuestos fenólicos. *Revista Grasas y Aceites*. CSIC. Vol. 44 Fase. 2
- Halliwell, B. 1990. How to characterize a biological antioxidant. *Free Rad Res Comm* 9(1):1-32.
- Hostalet, A.; Betoret, N.; Seguí, L. 2011. Determinación de las propiedades antioxidantes del zumo de caña, panela y azúcar moreno. Tesis de máster. IUIAD. Universidad Politécnica de Valencia.

- Iland, P. 2004. Chemical analysis of grapes and wine: techniques and concepts. Campbeltown, SA:Patrick Iland Wine Promotions.
- Ivorra, L. 2014. Azúcares no refinados como ingrediente funcional: propiedades antioxidantes y anticariogénicas. Trabajo Final de Carrera. Licenciatura en Biotecnología. Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica y del Medio Natural.
- Jaffe, W.R. 2012. Health of Non-Centrifugal Sugar (NCS): A Review. Sugar Tech, An International Journal of Sugar Crops and Related Industries. Volume 14. Number 2.
- Kadam, U.S.; Ghosh, S.B.; Strayo, D.; Suprasanna, P.; Devasagayam, T.P.A.; Bapat, V.A. 2008. Antioxidant activity in sugarcane and its protective role against radiation induced DNA damage. Food Chemistry 106, 1154-1160.
- Luximon-Ramma, A.; Bahorun, T.; Soobrattee, M.A.; Aruoma, O.I. 2005. Antioxidant Activities of phenolic, proanthocyanidin, and flavonoid. components in extracts of Cassia fistula. Journal of Agricultural and Food.
- Maskan, M. 2001. Drying, shrinkage and rehydration characteristics of kiwifruits during hot air and microwave drying. Journal of Food Engineering 48: 177-182.
- Mimouni, A., Deeth, H.C., Whittaker, A.K., Gidley, M.J., Bhandari, B.R. 2009. Rehydration process of milk protein concentrate powder monitored by static light scattering. Food Hydrocolloids, 23: 1958–1965.
- Molyneux, P. 2004. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. Songklanakarin J. Sci. Technol. 26: 211-219.
- Murrieta-Pazos, I.; Gaiani, C.; Galet, L.; Calvet, R.; Cuq, B.; & Scher, J. 2012. Foodpowders: Surface and form characterization revisited. *Journal of Food Engineering*, 112, 1-21.
- Nayaka, M.A., Sathista, U.V., Manohar, M.P., Chandrashekar, K.B., Dharmesh, S. 2009. Cytoprotective and antioxidant activity studies of jaggery sugar. Food Chemistry 115. 113-118.
- Pascual, V.; Valls, R.; Solà, R. 2009. Clin Invest Arterioscl.; 21(4):198-209.
- Pekal, A.; Pyrzynska, K. 2014. Evaluation of aluminium complexation reaction for flavonoid content assay. Food Anal. Methods, 7:1776-1782.
- Re, R.; Pellegrini, N.; Proteggente, A.; Pannala, A.; Yang, M.; Rice-Evans, C. 1999. Antioxidant activity applying an improved abts radical cation decolorization assay. PII S0891-5849(98)00315-3. Elsevier.
- Seguí, L.; Calabuig, L.; Betoret, N.; Fito, P. 2015. Physicochemical and antioxidant properties of non-refined sugarcane alternatives to white sugar.
- Sendra, J.M.; Sentandreu, E.; Navarro, J.L. 2006. Reduction kinetics of the free stable radical 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH·) for determination of the antioxidant activity of citrus juices. European Food Research and Technology, 223, 615-624.
- Siedentopp, U. 2009. El cacao, planta medicinal y de deleite. DOI: 10.1016/j.dza.2009.07.007. 197 Revista Internacional de Acupuntura.
- Singleton, V.; Orthofer, R.; Lamuela-Raventós, R.M. 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. Methods in enzymology, 299: 152-178.
- Soler Luján, Carolina (2015). Propiedades antioxidantes de productos derivados de la caña de azúcar. Identificación y cuantificación de compuestos fenólicos por HPLC. Trabajo Final de Carrera – Licenciatura en Biotecnología. Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica y del Medio Natural.
- Urpi-Sarda, M.; Ramiro-Puig, E.; Khan, Nasiruddin; Ramos-Romero, S.; Llorach, R.; Castell, M.; Gonzalez-Manzano, S.; Santos-Buelga, C.; Andres-Lacueva, C. 2010. Distribution of epicatechin metabolites in lymphoid tissues and testes of Young rats with a cocoa-enriched diet. British Journal of Nutrition, 103: 1393-1397.
- Zapata, S.; Tamayo, A.; Alberto, B. 2013. Efecto de la fermentación sobre la actividad antioxidante de diferentes clones de cacao colombiano. Revista Cubana de Plantas Medicinales, 18(3):391-404.

Referencias electrónicas

<http://www.nutrimetabolomics.com/es/node/16>. Universidad de Barcelona, Grupo de investigación de Biomarcadores y metabolómica.