



UNIVERSITAT
POLITÈCNICA
DE VALÈNCIA

**CARACTERIZACIÓN DE LAS PROPIEDADES FÍSICAS DE
POLVOS DE CACAO SOMETIDOS A DIFERENTES NIVELES
DE ALCALINIZACIÓN**

**MASTER EN GESTIÓN DE SEGURIDAD Y CALIDAD
ALIMENTARIA**

Nombre del Alumno: Rocío Martínez Fernández

Directores: Pau Talens Oliag

José Manuel Barat Baviera

Édgar Pérez Esteve

Centro: Departamento de Tecnología de Alimentos (UPV)

CARACTERIZACIÓN DE LAS PROPIEDADES FÍSICAS DE POLVOS DE CACAO SOMETIDOS A DIFERENTES NIVELES DE ALCALINIZACIÓN

Rocío Martínez Fernández¹, Édgar Pérez Esteve¹, Pau Talens Oliag¹, José Manuel Barat Baviera¹

RESUMEN

Durante la elaboración de productos alimentarios a partir de cacao en polvo, propiedades físicas como el color, la reología, el tamaño de partícula, la densidad o la humectabilidad, afectan a la percepción del sabor a cacao y a las características globales del producto elaborado. Pese a la importancia de estas propiedades para la industria alimentaria no existen trabajos que describan las propiedades físicas del cacao el polvo y cómo éstas se transforman a lo largo de un proceso de alcalinización. El presente trabajo tiene por objetivo caracterizar las propiedades físicas de polvos de cacao sometidos a diferentes grados de alcalinización. Los resultados obtenidos demuestran que la alcalinización tiene un gran efecto no sólo en el color, sino también en la morfología y tamaño de partícula y en la tendencia del cacao a captar agua del entorno, lo cual modifica a su vez las propiedades de flujo de las partículas en un medio acuoso. Por otra parte, la metodología utilizada ha permitido no sólo confirmar estos cambios evidenciados en la práctica industrial, sino también describirlos y cuantificarlos.

PALABRAS CLAVE: capacidad colorante, densidad, morfología y tamaño de partícula, reología, isoterma.

RESUM

Durant l'elaboració de productes alimentaris a partir de cacau en pols, propietats físiques com el color, la reologia, la grandària de la partícula, densitat o humectabilitat, afecten la percepció del sabor a cacau així com les característiques globals del producte elaborat. Malgrat la importància d'estes propietats per a la indústria alimentària no hi ha treballs que descriguin les propietats físiques del cacau en pols i com estes es transformen al llarg d'un procés d'alcalinització. El present treball té per objectiu caracteritzar les

¹Departamento de Tecnología de Alimentos, Universidad Politécnica de Valencia, Camino de Vera s/n. Apdo. Correos 22012, 46071. Valencia. España.

propietats físiques de pols de cacau sotmeses a diferents graus d'alcalinització. Els resultats obtinguts demostren que l'alcalinització té un gran efecte no sols en el color, sinó també en la morfologia i la grandària de la partícula i en la tendència del cacau per a captar aigua de l'entorn, la qual cosa modifica al seu torn les propietats de flux de les partícules en un mitjà aquós. D'altra banda, la metodologia utilitzada ha permès no sols confirmar estos canvis evidenciats en la pràctica industrial, sinó també descriure'ls i quantificar-los.

PARAULES CLAU: capacitat colorant, densitat, morfologia, grandària de la partícula, reologia, isoterms.

ABSTRACT

During the manufacture of food products from cocoa powder, physical properties such as color, rheology, particle size, density or wettability, affect cocoa taste perception and global characteristics of the processed products. Despite the importance of these properties for the food industry there are no studies describing the physical properties of cocoa powder and how they are transformed along an alkalization process. This work aims to characterize the physical properties of cocoa powders subjected to different degrees of alkalizing. The results show that the alkalization has a great effect not only in color but also in the morphology and particle size and in the tendency of the cocoa to pick up water from the environment, which changes in turn the flow properties of the particles in an aqueous medium. Furthermore, the methodology used has not only allowed the confirmation of these changes which are evident in industrial practice, but also describing and quantifying them.

KEY WORDS: coloring ability, density, particle size, morphology, rheology, isotherms.

INTRODUCCIÓN

El fruto del cacao (*Theobroma cacao*), con una producción anual mundial de 3.5 millones de toneladas, es un ingrediente de gran importancia en la industria alimentaria (Afoakwa et al., 2008). Entre las características que contribuyen a su alta popularidad se encuentran su agradable aroma y sabor característico, así como las reportadas propiedades funcionales derivadas de la presencia de flavonoides entre los que se pueden distinguir las catequinas (37%), antocianinas (4%) y procianidinas (58%) (Hii et al., 2009). Entre sus aplicaciones se encuentra la elaboración de galletas, tortas y otros productos de panadería y repostería, donde el cacao en polvo aporta el sabor y el aroma; la fabricación de bebidas de chocolate; la elaboración de chocolates, coberturas y bombones; así como la aromatización de helados, glaseados, y bebidas (Miller et al., 2008).

En el proceso de producción del cacao, las semillas o habas del fruto del cacao son sometidas a una serie de procesos primarios y secundarios que conducen a la elaboración de los principales productos comerciales: licor de cacao, manteca de cacao y cacao en polvo (Nair, 2010).

El procesado primario comienza con la etapa de fermentación. Durante esta etapa los frutos de cacao maduros se abren y las semillas se dejan fermentar en contacto con la pulpa (Hii et al., 2009). Esta etapa es clave para la formación del aroma y color característico del cacao por la acción combinada de levaduras y bacterias (Reed, 2010). Una vez fermentadas y liberadas de la pulpa, las semillas se someten a proceso de secado en el que se alcanza un contenido en humedad inferior al 7% (Beckett, 2000). Las etapas posteriores de limpieza, descascarillado y esterilización conducen a la obtención de las semillas secas y curadas preparadas para su distribución desde las zonas de producción (Oeste de África, Sudeste Asiático y Sudamérica) hasta los diferentes mercados mundiales.

Durante el proceso secundario las semillas son primeramente tostadas en un rango de temperaturas entre 95°C y 145°C dependiendo de la variedad y calidad del cacao, de las condiciones de cultivo y de las condiciones de fermentación con el objetivo de evaporar ácidos volátiles, causando la reducción de la acidez y del amargor de las semillas (Krysiaky, 2006). Los granos de cacao tostados son molidos hasta obtener una masa denominada pasta o licor de cacao. La molienda rompe la estructura celular de los granos de cacao y libera la manteca de cacao, obteniendo una suspensión de partículas de cacao sobre la fase grasa llamado licor de cacao. El licor de cacao es posteriormente prensado mediante prensas hidráulicas con el fin de desengrasarlo y obtener así, por un lado, una masa sólida llamada torta de cacao prensada, y por otro lado la manteca de cacao.

Cada subproducto obtenido se utiliza para una finalidad distinta. La torta se muele en pequeños trozos para obtener el polvo de cacao; el licor se utiliza para la elaboración de chocolate añadiendo manteca de cacao, azúcar, coadyuvantes, leche, emulsionantes, etc, y la manteca se utiliza para enriquecer en grasa diferentes subproductos de la industria del cacao o para la elaboración de otros productos (Codini et al., 2004).

Además de estos procesos, el cacao puede ser sometido al tratamiento con una solución alcalina como carbonato potásico o sódico conocido como alcalinización (Egas-Chávez, 2015). El cacao, en su forma natural, es ligeramente ácido (pH entre 5.0-5.6). La alcalinización neutraliza dicha acidez normal hasta un pH de 7-8, provocando una reducción del sabor ácido y la astringencia del cacao debido a las polimerizaciones de los flavonoides (Afoakwa et al., 2008, Li et al., 2012). Durante la alcalinización tienen lugar además numerosas y complicadas reacciones químicas que intervienen en el desarrollo del sabor y color. Diferentes estudios han mostrado que estas reacciones son principalmente reacciones de Maillard entre azúcares y proteínas, y reacciones de oxidación y polimerización de polifenoles (Hoskin y Dimick, 1994, Camu et al., 2008). Como resultado el cacao desarrolla colores que van de un marrón claro suave a un marrón más oscuro con tonos rojizos a causa de la reacción entre los pigmentos del cacao y el álcali en presencia de oxígeno (Dyer, 2003) y se intensifica su sabor.

Cada una de estas etapas repercute de manera significativa sobre las propiedades físico-químicas del cacao. Existen diversos estudios en los que se ha evaluado la influencia de las operaciones que configuran las diferentes fases de los procesos primarios y secundarios sobre las propiedades químicas del cacao, como por ejemplo aquellos en los que se estudia el impacto de la alcalinización del cacao en el contenido de flavonoides y otros antioxidantes (Andrés-Lacueva et al., 2008 y Miller et al., 2008) o, por otro lado, el desarrollo de los aromas y sabores característicos del cacao (Afoakwa et al., 2008).

A nivel físico, la observación del comportamiento de diferentes tipos de cacao en polvo en distintas aplicaciones alimentarias (siropes, chocolates, galletas...) ha puesto en evidencia una gran diversidad de propiedades tecnológicas del cacao (capacidad para dar color a una solución, contribución a la viscosidad, captación de agua...) en función del tipo de materia prima utilizada y las condiciones de procesado de la misma. De esta manera, el tipo de cacao utilizado puede determinar, por ejemplo, la estructura de un pastel, la suavidad de un pudín, el batido de una crema, o la viscosidad de un sirope (Miller et al., 2008). Pese a estas evidencias no existen estudios que correlacionen las características de la materia prima y las variables de proceso con las propiedades físicas de un polvo de cacao. Una de las principales limitaciones para esta correlación es la falta de información sobre estudios de caracterización física de polvos de cacao, y mucho menos de la afección de las propiedades físicas del polvo de cacao durante el procesado de alcalinización.

En este contexto, el objetivo del presente trabajo es proponer una metodología que sirva para caracterizar las propiedades físicas del cacao en polvo y utilizar la misma para determinar las diferencias que existen entre las propiedades físicas de diferentes tipos de cacao sometidos a diferentes grados de alcalinización.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Materia prima

Para la realización del presente estudio se utilizó una colección de cacaos en polvo procesados por un mismo fabricante (Olam Food Ingredients S. L, Cheste, España) consistente en 9 muestras con un mismo contenido en grasa (10-12%) y diferente grado de alcalinización: natural (**N**), alcalino suave (**AS**), alcalino medio (**AM**), alcalino fuerte (**AF**) y negro (**B**). Los códigos de cada una de ellas, los grados de alcalinización, así como las características de procesado proporcionadas por el proveedor se muestran en la **Tabla 1**. No se dispone de otros datos de origen y/o datos específicos de procesado por ser datos confidenciales de la empresa.

Tabla 1. Características de procesado de las distintas muestras de cacao incluidas en el estudio.

Código	Grado Alcalinización	Características Procesado
N1, N2	Natural	No alcalinizadas
AS1, AS2	Alcalino Suave	Concentración de álcali 1-3%
AM	Alcalino Medio	Concentración de álcali 3 -5%
AF1, AF2, AF3	Alcalino Fuerte	Concentración de álcali 5 -7%
B	Alcalino Fuerte	Concentración de álcali 5 -7% y altas presiones y temperaturas

2.2 Determinación del pH

La determinación del pH extractable se determinó según el método descrito en el manual de Zaan para análisis del cacao (ADM Cocoa, 1999) con algunas modificaciones. Se suspendieron 5 g de cacao en polvo en 50 mL de agua destilada. La medida del pH se realizó directamente sobre la suspensión utilizando un pH metro Crisonbasic 20+ (Barcelona, España) por triplicado.

2.3 Determinación del color

La determinación del color se realizó mediante tres procedimientos diferentes: determinación del color del polvo seco (color extrínseco), determinación del color de una suspensión de partículas en agua (color intrínseco), y determinación del color en un medio acuoso tras eliminar las partículas insolubles (capacidad colorante).

Para la determinación del color extrínseco la muestra de cacao en polvo se colocó en una cubeta de metacrilato, unificando el grado de compactación mediante un asentamiento del polvo a través de pequeños golpes sucesivos. El espesor de la cubeta era de 20 mm lo que aseguraba la opacidad de la muestra.

Para la determinación del color intrínseco 7,5 g de cacao se suspendieron en 50 mL de agua destilada a 80°C y se agitó durante 1 minuto. Posteriormente se añadieron otros 50 mL de agua destilada fría y se agitó. Una vez homogenizada, la mezcla se colocó sobre una cubeta de metacrilato y se tomó la medida de color.

Para determinar la capacidad colorante se diseñó un método que permitiera medir la transferencia de color entre la partícula de cacao y un medio acuoso. Para ello suspendió 1 g de cacao en 40 mL de agua destilada y se llevó a agitación de 400 rrpm durante 30 min a 25°C utilizando un agitador orbital VWR Incubating Mini Shaker (Francia). La mezcla se centrifugó a 10.000 rrpm durante 10 min a 20°C utilizando una centrífuga Eppendorf Centrifuge 5804R (Hamburg, Germany). De esta manera se separó el sobrenadante (agua y materia colorante soluble) del precipitado (componentes del cacao insolubles). Al precipitado se le añadieron 40 mL de agua destilada a lo largo de 3 ciclos sucesivos de agitación/centrifugación con el objetivo de estudiar la capacidad colorante del precipitado a lo largo del tiempo. Los sobrenadantes de cada uno de los ciclos de lavado se reservaron para su posterior medida del color.

Las coordenadas de color CIEL*a*b* (observador 10° e iluminante D65) de cada una de las muestras fueron obtenidas midiendo el espectro de reflexión (color extrínseco y color intrínseco) o absorción (materia colorante) de las muestras a través de un espectrocolorímetro Minolta CM 3600D (Tokyo, Japón). A partir de las coordenadas de color L*, a* y b* se calculó el tono (h_{ab}^*) y el croma (C_{ab}^*) (Eq. 1 y Eq. 2, respectivamente). Cada uno de los análisis se realizó por triplicado para cada una de las muestras.

$$h_{ab}^* = \arctan \frac{b^*}{a^*} \quad \text{Eq. 1}$$

$$C_{ab}^* = \sqrt{a^{*2} + b^{*2}} \quad \text{Eq. 2}$$

2.4 Determinación de la materia soluble

Para la determinación de la materia soluble se utilizó un proceso similar al seguido en la determinación de la materia colorante. 1g de cacao en polvo se colocó en un tubo Falcon con peso conocido. Tras 4 ciclos de lavado (agitación y centrifugación) la materia no solubilizada se secó a 100°C en estufa durante 6h. El cálculo de la materia soluble se realizó mediante la ecuación 3:

$$\% \text{ materia soluble} = \frac{m_1 - m_2}{m_1} \cdot 100 \quad \text{Eq.3}$$

Donde:

m_1 = peso (b.s.) de la muestra (g).

m_2 = peso seco de la muestra tras los 4 lavados (g).

2.5 Determinación de la densidad

La determinación de la densidad real se realizó siguiendo el método descrito por (Omobuwajo et al., 2000, Shittu y Lawal, 2007). Según el mismo, una probeta de plástico de 50 mL se llenó con cacao en polvo, garantizando la ausencia de huecos interpartícula mediante una sucesión de pequeños golpes sobre la bancada hasta que se observa una mayor compactación. La densidad se calculó como la relación entre el peso de la muestra y el volumen ocupado por la misma.

2.6 Determinación de la morfología de la partícula

La morfología de las partículas que componen el cacao en polvo se determinó mediante microscopía electrónica de barrido de emisión de campo (FESEM). Para tal efecto las partículas se colocaron sobre una cinta adhesiva de carbón y observaron con un microscopio Zeiss Ultra 55 (Carl Zeiss NTS GmbH, Oberkochen, Germany) operando a un voltaje de 1.5v.

2.7 Determinación de la distribución de tamaño de partícula

La determinación de la distribución de tamaño de partícula se analizó mediante difracción láser utilizando un equipo Mastersizer2000 (Malvern Instruments Limited, Worcestershire, U.K.). Para las medidas, las muestras fueron dispersadas en agua destilada. El análisis de los datos se basó en la teoría Mie usando índices de refracción de 1.33 y 1.45 para el dispersante y partícula, respectivamente. En todos los casos se empleó un valor de absorción de 0. La variación de este valor de absorción no cambió significativamente las distribuciones obtenidas. Las medidas se realizaron por triplicado.

2.8 Determinación de las propiedades reológicas

Las propiedades reológicas de las suspensiones de cacao en agua a concentraciones entre 10-40% se determinaron mediante un reómetro de cilindros concéntricos (Haake RheoStress 1, Karlsruhe, Alemania) equipado con un baño termostataado (20° C). Para la obtención de las curvas de flujo se realizaron tres barridos ascendentes y descendentes de forma consecutiva desde 0 a 300 s⁻¹, con el objetivo de eliminar la dependencia del tiempo. Los datos obtenidos en el tercer barrido de bajada se ajustaron al modelo de Casson (Eq. 4) con el que se obtuvo el valor del umbral de fluencia (σ_0). Dicho valor se utilizó para la determinación del resto de variables reológicas con el modelo de Herschel-Bulkley (Eq. 5). Ambos modelos utilizados se ajustan al comportamiento de fluidos no Newtonianos, en la cual, la deformación experimentada por una muestra se relaciona con el esfuerzo aplicado a la misma. Tres parámetros caracterizan esta relación: el índice de consistencia k , el índice de comportamiento al flujo n , y el umbral de fluencia σ_0 . Todas las mediciones se llevaron a cabo por triplicado.

$$\sigma^{1/2} = \sigma_0^{1/2} + \eta_e^{1/2} \gamma^{1/2} \quad \text{Eq.4}$$

$$\sigma = \sigma_0 + K\gamma^n \quad \text{Eq.5}$$

2.9 Determinación de las isotermas de sorción

Para la determinación de las isotermas de sorción las muestras se introdujeron en frascos de vidrio herméticos que contenían disoluciones sobresaturadas de LiCl, CH₃COOK, MgCl, KCO₃, Mg(NO₃)₂, CuCl₂, NaCl, KCl) a 25 ± 1 °C con fin de mantener una humedad relativa de 11.3, 22.5, 33.0, 43.0, 52.0, 67.5, 75.5 y 84.5% (Greenspan, 1977). Las muestras se pesaron periódicamente en una balanza de precisión de 0.00001 g hasta alcanzar el equilibrio. Finalmente, se determinó la humedad en el equilibrio de las mismas. Los datos experimentales de adsorción de agua se ajustaron a dos ecuaciones comúnmente utilizadas en alimentos, el modelo molecular de adsorción de BET (Eq.6) basado en el proceso de fisiosorción y el de GAB (Eq.7). El ajuste de los datos experimentales se realizó mediante un análisis de regresión lineal y polinomial respectivamente.

$$W_e = \frac{w_0 \cdot C \cdot a_w}{(1 - a_w) \cdot (1 + (C - 1) \cdot a_w)} \quad \text{Eq. 6}$$

$$W_e = \frac{w_0 \cdot C \cdot K \cdot a_w}{(1 - K \cdot a_w) \cdot (1 + (C - 1) \cdot K \cdot a_w)} \quad \text{Eq.7}$$

Donde W_e es el contenido de humedad en el equilibrio en base seca; W_0 , es la humedad de la monocapa; a_w es la actividad de agua; C y K son los parámetros de la ecuación, ambos dependientes de la temperatura, estando relacionado con la energía de interacción entre el agua y grano de cacao y entre las múltiples capas de agua respectivamente.

2.10 Análisis estadístico

El tratamiento estadístico de los datos obtenidos se realizó mediante el programa Statgraphics Centurion XVI Versión 16.1.17 (StatPoint Technologies, Inc., 2011). Se llevó a cabo un análisis de la varianza (ANOVA) con el objetivo de comprobar el efecto del grado de alcalinización sobre cada uno de los parámetros evaluados. El procedimiento LSD (least significant difference) se utilizó para comprobar las diferencias a un nivel de significación del 5%.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Determinación del pH

Los valores de pH extractable en las muestras analizadas se muestran en la **Figura 1**. Como se observa, estos valores oscilaron entre 5.5 (**N1**) y 7.8 (**AF1**). En la figura puede verse también que el pH aumento de forma proporcional al incremento de la concentración de álcali utilizado en la transformación de la muestra (**Tabla 1**). De esta manera, el valor de pH puede ser un indicador del grado de alcalinización del cacao. Por otra parte, los valores de pH determinados en esta etapa se utilizaron para clasificar las muestras en cuatro categorías siguiendo las pautas de Miller et al., (2008): cacao natural (pH 5-6), cacao alcalino suave (pH 6 -7.2), cacao alcalino medio (pH 7.2 – 7.6) y cacao alcalino fuerte (pH > 7.6). La clasificación realizada en el laboratorio a partir de la determinación del pH coincidió con la clasificación reportada en el etiquetado de los diferentes productos.

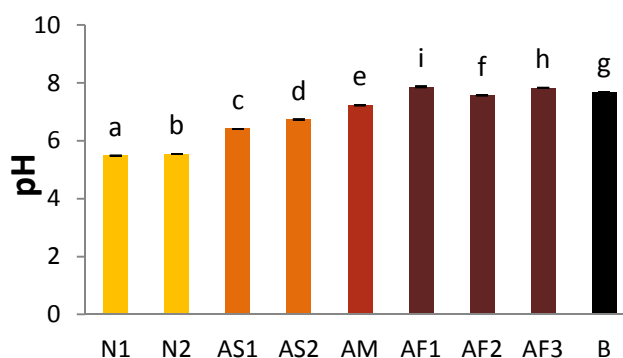


Figura 1. Valores (media \pm DS) del pH de las diferentes muestras de cacao.

3.2 Determinación del color extrínseco

En la **Figura 2** se muestran los valores del color extrínseco de los diferentes tipos de cacao en polvo. El color extrínseco es el color que percibimos de una muestra cuando la observamos en seco. Está muy influido por el color propio del cacao en polvo, pero también de su contenido en grasa y de su estado de cristalización. De esta manera, dos muestras del mismo tipo de cacao con dos niveles de grasa diferentes poseerán un diferente color extrínseco, siendo más clara la muestra con menor contenido en grasa, puesto que la grasa absorbe luz (Goff y Hartel., 2013).

Atendiendo a su color extrínseco la muestra con mayor luminosidad (L^*) fue la muestra de cacao natural **N1** ($L^*=50$), seguida de la muestra de cacao natural **N2** ($L^*=45$) (**Fig. 2a**). Los valores de L^* disminuyeron progresivamente en función del grado de alcalinización hasta alcanzar el valor mínimo de $L^*=22.5$ en la muestra de cacao negro (**B**).

En la **Figura 2b** se muestran los valores de la pureza de color (C^*) para las diferentes muestras. Dichos valores oscilaron entre 23.3 (**N2**) y 6.6 (**B**), confirmando el efecto que tiene la alcalinización en la pérdida de pureza de color a causa de las polimerizaciones de los polifenoles.

Los valores de tono para las muestras de polvo de cacao se muestran en la **Figura 2c**. En este caso el valor más alto del tono encontrado fue de 61.5 y corresponde al cacao natural (**N1**), mientras que el valor más bajo fue de 48.6 perteneciendo al cacao de alcalinización fuerte (**AF3**). Estos valores confirman la capacidad de la alcalinización para pasar de tonos amarillentos ($h^*=90$) a tonos rojizos ($h^*=0$).

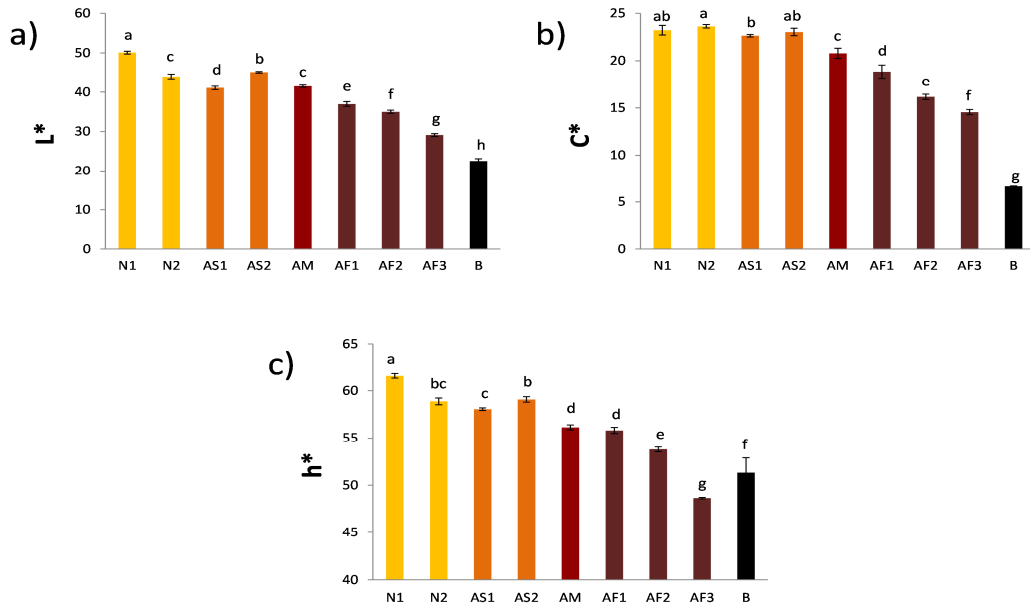


Figura 2. Valores (media \pm DS) de la luminosidad L^* (a), pureza de color C^* (b) y del tono h^* (c) para el color extrínseco de las diferentes muestras de cacao

3.3 Determinación del color intrínseco

En la **Figura 3** se muestran los valores de la luminosidad, pureza de color y tono de las muestras, determinados como color intrínseco o color propio del polvo del cacao determinado en solución acuosa una vez toda la grasa se ha dispersado. De esta manera, para una misma cantidad efectiva de partículas, la cantidad de grasa no interviene en el color.

Tal y como se observaba en la **Figura 2** para el color extrínseco, un mayor grado de alcalinización provoca un mayor oscurecimiento de la muestra (descenso de L^*), una pérdida de pureza de color (descenso de C^*) y una tendencia hacia la formación de colores rojizos (descenso de h^*). Sin embargo, como cabía esperar, la comparación entre ambos permite concluir que el color se percibe mucho más oscuro y pardo cuando las muestras se suspenden en agua (intrínseco) que cuando se observan en seco (extrínseco).

Por otra parte, como se observa en la **Figura 3d**, la importancia de medir tanto el color extrínseco como intrínseco en la caracterización de un polvo de cacao radica en la falta de una precisa correlación entre ambas medidas (L^* : $r^2=0.866$; C^* : $r^2=0.913$; h^* : $r^2=0.879$). Así, si bien el color extrínseco es de gran importancia durante la fase de compraventa del cacao, el color intrínseco es importante durante la aplicación del cacao a la elaboración de productos alimentarios y ambos deben de medirse de manera independiente.

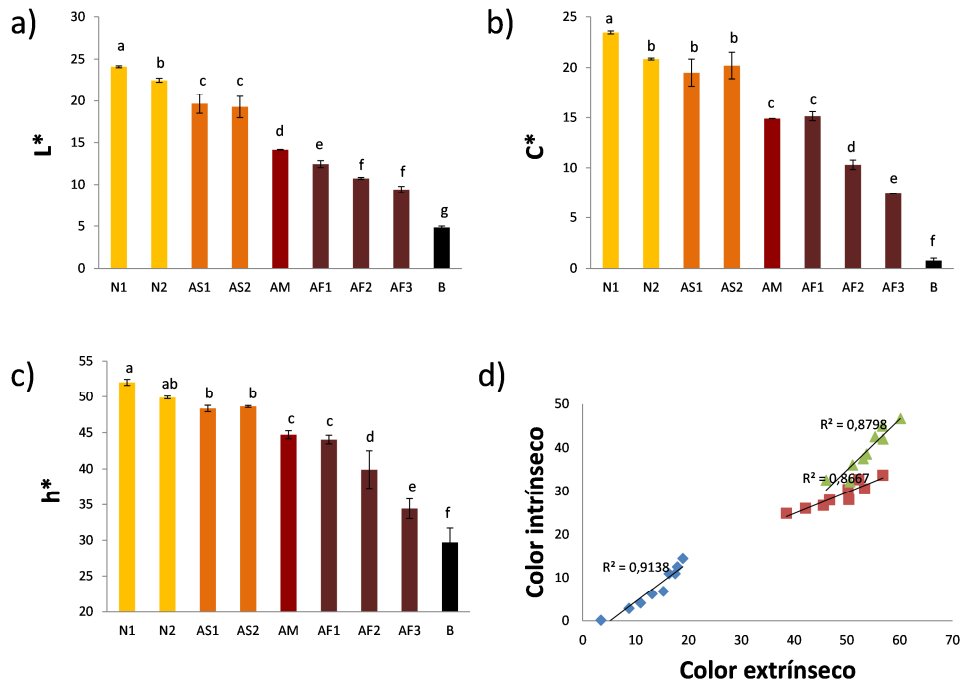


Figura 3. Valores (media \pm DS) de luminosidad L^* (a), pureza de color C^* (b) y tono h^* (c) para el color intrínseco de las diferentes muestras de cacao y comparativa del color extrínseco y color intrínseco (d).

3.4 Determinación de la capacidad colorante

Los valores de luminosidad L^* , pureza de color C^* y tono h^* para cada uno de los lavados realizados a las muestras de polvo de cacao se muestran en la **Tabla 2**. Como cabría esperar, para cualquiera de los parámetros estudiados los valores disminuyen según aumenta el grado de alcalinización de las muestras. Por otro lado, al aumentar el número de lavados los valores de luminosidad y del tono del color aumentan y los de pureza de color disminuyen indicando la pérdida de capacidad colorante a lo largo del proceso de lavado.

Tabla 2. Valores (media \pm DS) de luminosidad L*, de la pureza de color C* y del tono h* para la materia colorante de las diferentes muestras de cacao en cada uno de los lavados.

Muestra	L*				C*				h*			
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
N1	60.01 \pm 0.41	82.77 \pm 2.38	89.80 \pm 0.55	87.68 \pm 0.68	73.44 \pm 0.41	37.21 \pm 1.04	20.88 \pm 0.04	17.57 \pm 0.82	73.96 \pm 0.59	78.67 \pm 0.40	81.85 \pm 0.01	80.17 \pm 0.02
N2	65.39 \pm 0.50	81.37 \pm 1.49	87.42 \pm 2.83	86.84 \pm 3.84	69.10 \pm 0.66	32.49 \pm 0.46	20.10 \pm 1.76	15.43 \pm 1.49	71.91 \pm 0.02	77.69 \pm 0.74	79.92 \pm 0.81	78.68 \pm 1,18
AS1	54.20 \pm 1.30	80.07 \pm 0.69	84.11 \pm 0.62	86.99 \pm 1.87	84.25 \pm 0.33	34.38 \pm 0.39	24.57 \pm 2.74	16.10 \pm 0.36	66.56 \pm 1.05	75.50 \pm 0.08	76.98 \pm 1.20	77.83 \pm 2.86
AS2	55.13 \pm 0.63	83.57 \pm 1.07	88.57 \pm 1.33	93.32 \pm 0.50	72.32 \pm 0.51	27.46 \pm 1.47	16.13 \pm 0.13	10.12 \pm 0.31	62.69 \pm 0.05	72.09 \pm 1.38	73.43 \pm 1.56	76.51 \pm 0.28
AM1	36.49 \pm 0.20	73.98 \pm 1.85	79.02 \pm 0.17	89.49 \pm 1.24	73.89 \pm 0.30	42.73 \pm 2.30	25.52 \pm 0.80	13.97 \pm 1.15	53.14 \pm 0.05	62.33 \pm 0.48	64.63 \pm 0.28	69.41 \pm 1.07
AF1	37.59 \pm 0.94	76.48 \pm 1.2	85.89 \pm 0.84	91.43 \pm 0.90	78.49 \pm 4.50	38.81 \pm 1.27	20.26 \pm 1.09	12.24 \pm 0.62	57.35 \pm 4.36	67.11 \pm 0.62	70.00 \pm 0.29	72.87 \pm 1.84
AF2	12.00 \pm 0.11	55.72 \pm 1.94	70.87 \pm 1.93	82.38 \pm 2.21	40.51 \pm 0.16	56.78 \pm 2.58	32.85 \pm 0.40	18.65 \pm 1.93	30.22 \pm 0.03	61.73 \pm 1.06	65.00 \pm 0.20	68.37 \pm 0.44
AF3	18.51 \pm 0.00	59.03 \pm 0.00	68.87 \pm 0.00	80.19 \pm 0.00	50.61 \pm 0.00	46.72 \pm 0.00	28.93 \pm 0.00	17.30 \pm 0.00	38.66 \pm 0.00	63.16 \pm 0.00	67.20 \pm 0.00	69.85 \pm 0.00
B	0.18 \pm 0.00	27.87 \pm 0.23	49.37 \pm 1.40	67.69 \pm 0.67	0.51 \pm 0.00	44.95 \pm 0.33	41.32 \pm 0.23	31.16 \pm 0.88	15.75 \pm 0.00	58.19 \pm 0.09	65.37 \pm 0.08	70.52 \pm 0.56

Por último, se puede concluir que según aumenta el grado de alcalinización incrementa no sólo la intensidad de color que aporta a la muestra, sino también la persistencia en la contribución del color materializada en el número de lavados necesarios para la que muestra deje de contribuir al color.

3.5 Determinación de materia soluble

La cantidad de materia que se solubiliza durante el proceso de lavado y centrifugación se muestra en la **Figura 4**. Como puede observarse, al incrementar la alcalinización aumenta el porcentaje de materia capaz de solubilizarse en contacto con el agua. Esta cantidad es máxima en el cacao negro (**B**), donde la materia soluble supone casi el 50% del peso de la muestra y duplica la cantidad de materia soluble en el cacao natural (**N1**). Este hecho podría deberse al efecto que tiene el álcali sobre los carbohidratos y proteínas y podría explicar por qué las muestras alcalinizadas poseen una capacidad colorante mayor y más persistente (ver sección 3.4).

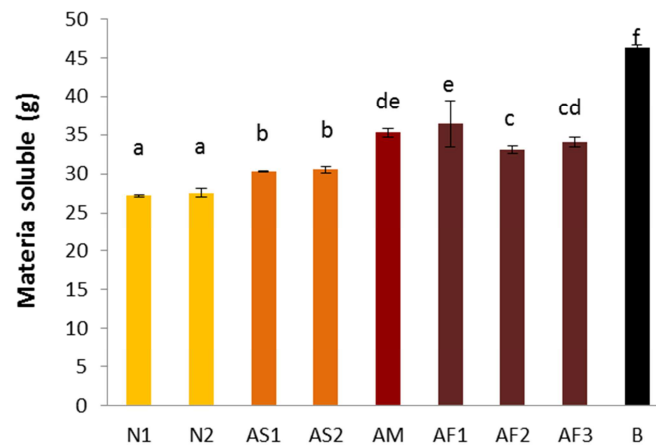


Figura 4. Valores (media \pm DS) de la materia colorante de las diferentes muestras de polvo de cacao.

3.6 Determinación de la densidad

En la **Figura 5** se muestran los valores de densidad para cada una de las muestras de cacao. A nivel general se observa que el valor más bajo corresponde a la muestra de cacao natural (**N1**) (0.35 g/mL), y éste aumenta de manera estadísticamente significativa según se incrementa el grado de alcalinización alcanzando un valor de casi el doble (0.65 g/mL) en la muestra de cacao negro (**B**). Este cambio en la densidad afectaría no sólo a las propiedades del producto elaborado, sino que debería de tenerse en cuenta a la hora de diseñar envases para los diferentes tipos de cacao.

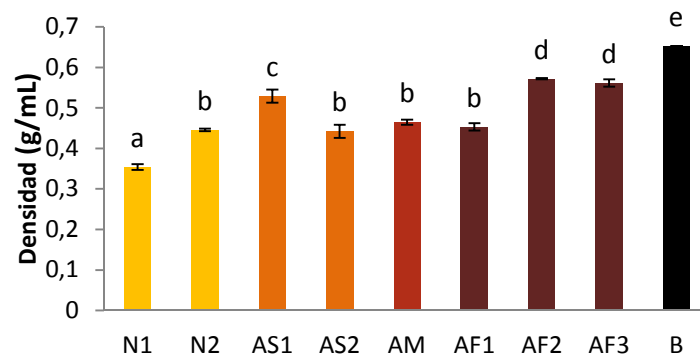


Figura 5. Valores (media \pm DS) de la densidad de las diferentes muestras de cacao.

3.7 Distribución de tamaño de partícula

En la **Figura 6** se muestran los valores de la distribución del tamaño de partícula para cinco de las muestras de cacao estudiadas, representando un ejemplo de cacao natural, alcalino suave, alcalino medio, alcalino fuerte y negro. En ambos casos se observa una distribución monomodal, aunque la amplitud y situación del máximo es dependiente del grado de alcalinización. Los cacaos naturales, alcalinos suaves y alcalino medio presentan una distribución más estrecha con un tamaño de partícula medio ($d_{0.5}$) de alrededor de 10 μm . Por su parte, los cacaos fuertemente alcalinizados presentan una distribución de tamaños de partícula más amplia y un tamaño de partícula de alrededor de las 20 μm . Atendiendo a estos resultados podría decirse que la alcalinización provoca cambios no sólo en el color y materia soluble, sino también en el tamaño de las partículas, lo cual confirmaría las diferencias encontradas en la densidad de los diferentes polvos.

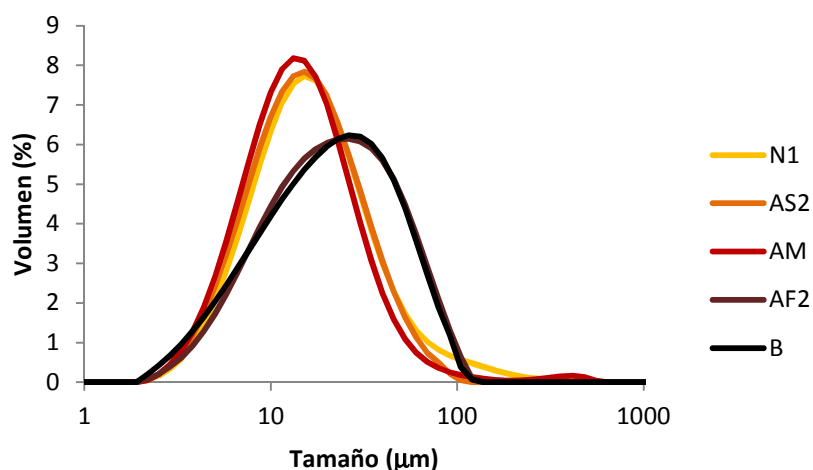


Figura 6. Distribución del tamaño de partícula muestras de cacao sometidas a diferentes niveles de alcalinización.

3.8 Determinación de la morfología de la partícula

Las diferencias encontradas en los valores de densidad y distribución de tamaño de partícula fueron corroboradas por medio de la observación de las partículas por microscopía electrónica de barrido de emisión de campo (FESEM).

Por una parte, la **Figura 7** muestra una imagen de cada una de las muestras a un nivel de magnificación de 500x. En ella se puede observar que las muestras de cacao natural, alcalino suave y alcalino medio están formadas por partículas más o menos agregadas de un tamaño similar al determinado por difracción láser (círculos azules). En cambio, en las muestras de cacao alcalino fuerte y cacao negro aparece una segunda población formada por partículas de un tamaño muy superior (círculos naranjas) formadas probablemente por aglomeración de partículas durante procesos largos y severos de alcalinización. Estas observaciones corresponden con el ensanchamiento en la distribución de tamaño de partícula. Por otra parte, la presencia de ambos tipos de partículas en las muestras de cacao alcalino fuerte podría explicar las diferencias en la densidad entre los diferentes tipos de cacao, ya que se sabe que la densidad de empaquetamiento de un sistema multipartícula es superior cuando la distribución de tamaño de partícula se extiende (Sohn y Moreland, 1968).

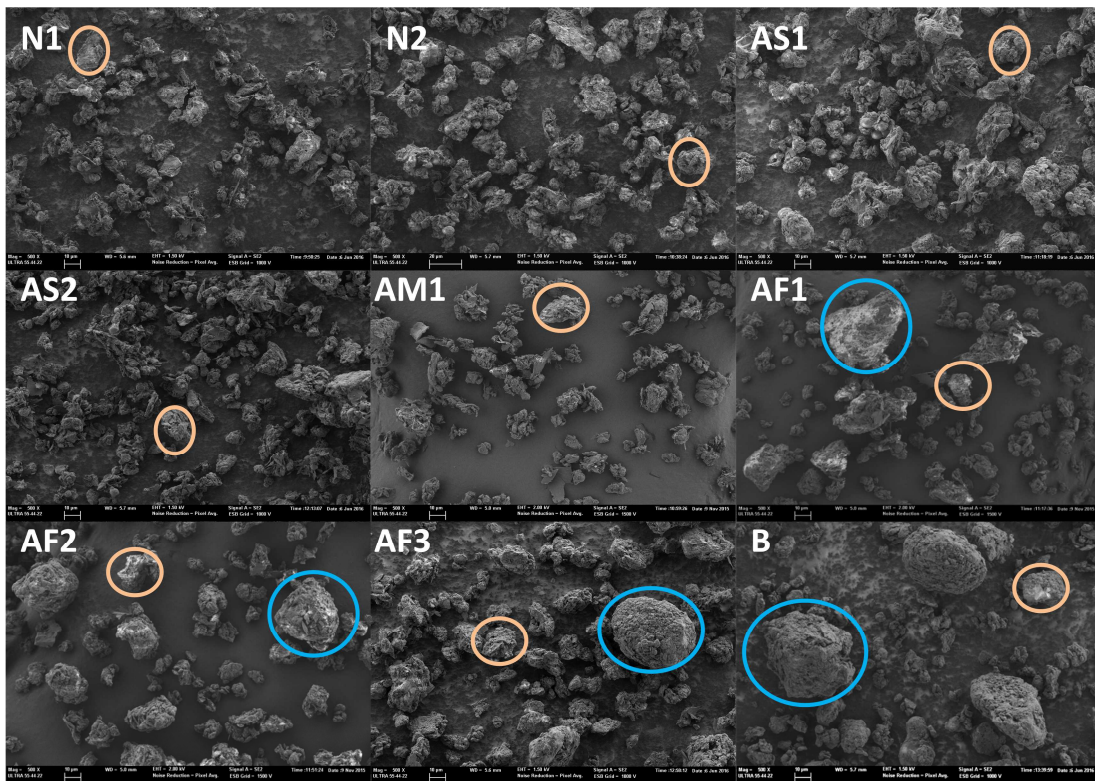


Figura 7. Micrografías FESEM de las diferentes muestras de polvo de cacao alcalinizado (Aumento 500x). La existencia de dos poblaciones se muestra con círculos naranjas (partículas pequeñas) y azules (partículas grandes).

Por otra parte, la **Figura 8** muestra una imagen de cada una de las muestras de cacao a un nivel de magnificación de 5000x. A este nivel de magnificación se puede observar que, independientemente del tamaño de la partícula o agregados de la misma, las partículas de cacao natural presentan una serie de recovecos (marcados por flechas naranjas) propios de la ruptura de los tejidos del haba de cacao durante la fase de molturación. Estos recovecos, aunque en menor proporción, también están presentes en las muestras de cacao alcalino suave y medio. En las partículas de cacao alcalino fuerte y cacao negro estas estructuras desaparecen como consecuencia de la aparición de una nueva fase que parece rellenar/recubrir la superficie de la partícula transformándolas en unas estructuras mucho más compactas y densas a la vista. Esta nueva fase podría estar formada por materia solubilizada durante el proceso de alcalinización que precipita alrededor de las partículas durante la etapa de secado. A su vez, la pérdida de porosidad en las partículas de cacao alcalino fuerte podría ayudar a explicar el aumento en los valores de densidad de las mismas, ya que para un mismo volumen las partículas poseen más masa.

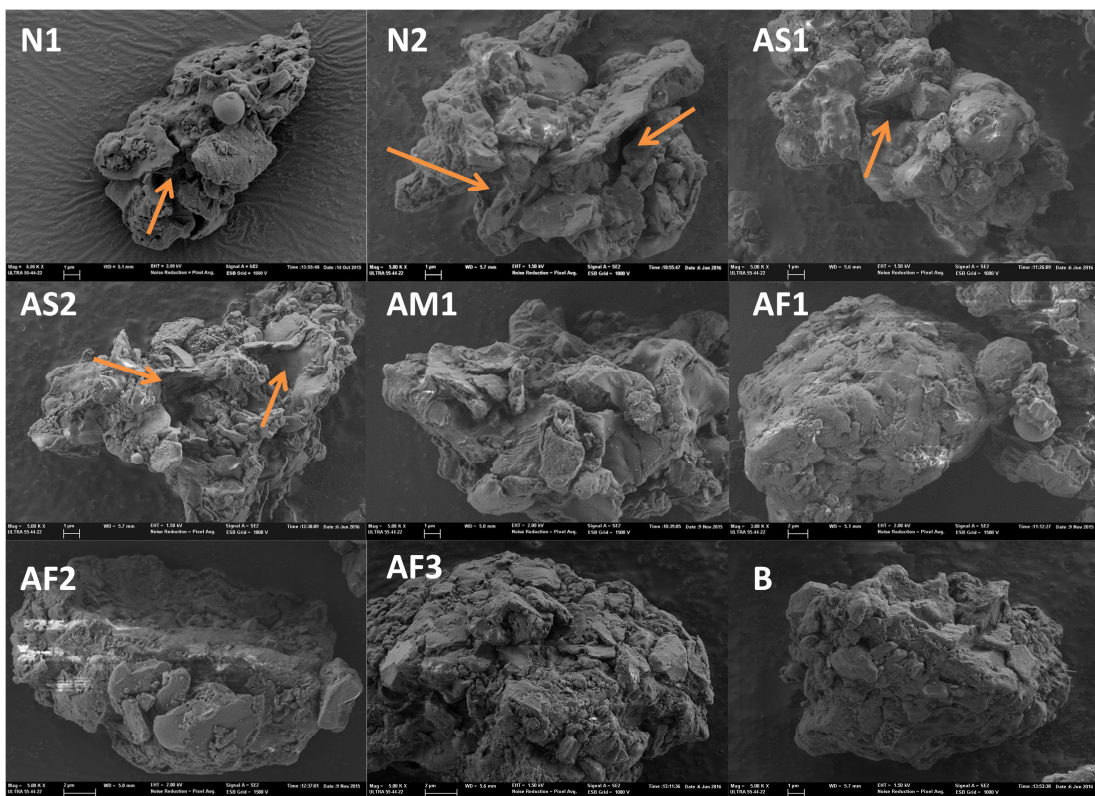


Figura 8. Micrográficas FESEM de las diferentes muestras de polvo de cacao alcalinizado (Aumento 5000x). Las flechas naranjas indican la presencia de recovecos en la estructura de las partículas.

3.9 Comportamiento reológico

El comportamiento reológico de cada una de las diferentes muestras se determinó tras preparar una suspensión de partículas en agua a concentraciones entre el 10-40%. La **Figura 9a** muestra las curvas de flujo de una de las muestras (**AM**) como ejemplo del comportamiento de flujo mostrado por las diferentes muestras. Como puede observarse, a concentraciones entre el 10-30% de polvo de cacao en la suspensión acuosa, las muestras presentaron un comportamiento Newtoniano, y una viscosidad creciente en función de la concentración. Las curvas de flujo fueron modelizadas por la ley de la potencia, pero debido a la poca viscosidad de las muestras, los parámetros de ajuste obtenidos estuvieron enmascarados por la inercia propia del reómetro. Dado el comportamiento Newtoniano y la poca viscosidad de las muestras, se propone para futuros ensayos utilizar un viscosímetro Brookfield para determinar el comportamiento reológico de las muestras a estas concentraciones. A partir del 40% de polvo de cacao en la suspensión acuosa, las muestras presentaron el comportamiento plástico característico del licor de cacao y del chocolate fundido. Así pues, la curva de flujo descendente del tercer barrido de velocidades se modelizaron con el modelo de Herschel-Buckley, previa obtención del valor de umbral de fluencia por Casson, logrando un buen ajuste ($R^2 > 0.999$).

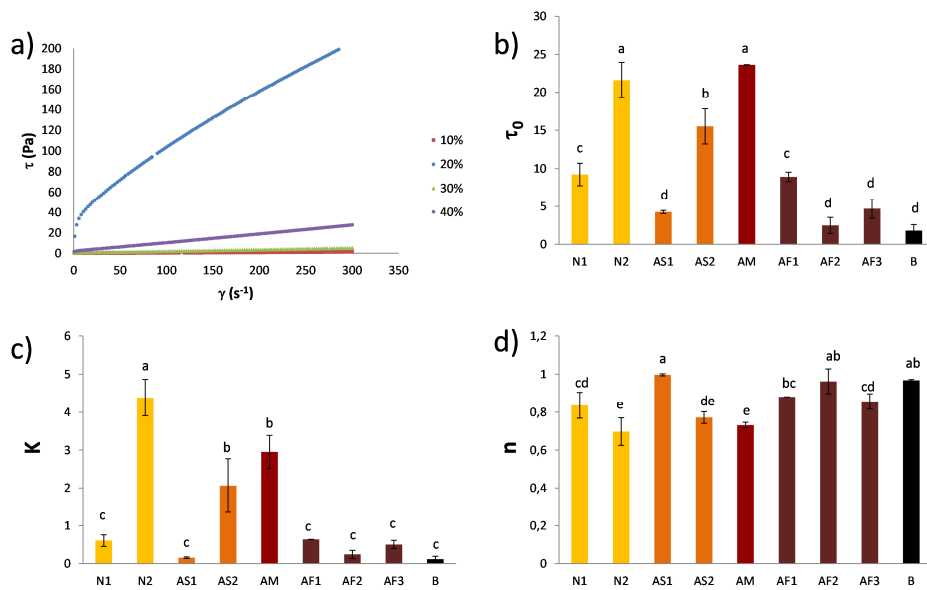


Figura 9. Curva de flujo de una muestra de cacao alcalino medio suspendido en agua a diferentes concentraciones (a). Parámetros de umbral de fluencia (a), índice de consistencia (c) e índice de comportamiento al flujo (d) obtenido de la modelización de las curvas de flujo obtenidas para cada uno de los tipos de cacao suspendidos en agua a una concentración del 40%.

Las **Figuras 9b-d** muestran los valores de umbral de fluencia, índice de consistencia e índice de comportamiento al flujo de cada una de las muestras. Como puede observarse, los valores de umbral de fluencia e índice de consistencia tendieron a disminuir al incrementar el grado de alcalinización con la excepción de las muestras **AS2** y **AM**. Los valores de índice comportamiento al flujo oscilaron alrededor de 0.8 sin presentar una tendencia clara. El comportamiento de la muestra **N2** se parece más al de **AM** que al de **N1**. Las diferencias observadas en estas muestras podrían ser debidas a factores de proceso propios no desvelados por el fabricante.

3.10 Determinación de las isothermas de sorción

La tendencia de los diferentes polvos de cacao para captar agua del entorno se evaluó mediante la determinación de isothermas de sorción de cada una de las muestras.

La **Figura 10** muestra los datos de absorción de agua a 20°C de 3 muestras representando un cacao natural (**N1**), un cacao alcalino medio (**AM1**) y un cacao fuertemente alcalinizado (**B**). En los tres casos, los datos de adsorción mostraron la típica forma sigmoïdal de isoterma tipo II, encontrada frecuentemente en cereales (Erbas et al., 2005; Albarracín et al., 2016) y otros alimentos de baja humedad como leche en polvo (Langová y Štencl, 2015). Los datos también muestran que la humedad de las muestras va aumentando conforme aumenta la actividad de agua, siendo éste incremento más progresivo al inicio y más acelerado a altas actividades de agua.

La comparación de las tres curvas permite observar que, al aumentar la alcalinización, las partículas tienden a captar más agua del entorno para una misma humedad relativa ambiental. Mientras que el cacao natural presenta una humedad en base seca de 6% de agua a una humedad relativa del 40%, la muestra de cacao negro presentaría una humedad del 10%.

Esto supone un diferente comportamiento higroscópico por parte de las muestras que habría que tener en cuenta a la hora de diseñar sistemas de envase y embalaje.

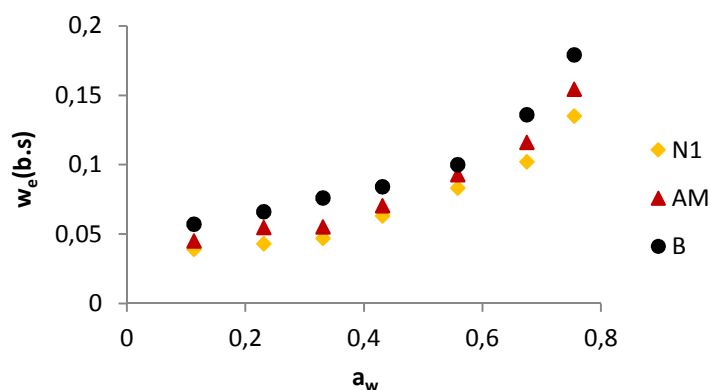


Figura 10. Valores experimentales de sorción obtenidos para las muestras de cacao suave (**N1**), alcalino medio (**AM1**) y fuertemente alcalinizado (**B**).

Las curvas de sorción de cada una de las muestras se modelizaron usando BET y GAB. Los valores de los parámetros de ambos modelos se muestran en la **Tabla 3**. Como puede observarse, el contenido de agua en la monocapa (w_0) estimada por GAB fue sensiblemente superior al estimado por BET. Timmermann (2003) atribuyó esta desigualdad en los valores de agua en la monocapa a la naturaleza física y matemática de ambos modelos. En cualquier caso, de manera general los valores de humedad en la monocapa aumentaron al incrementarse el grado de alcalinización. También lo hicieron los parámetros C de ambos modelos. Este efecto podría ser debido a que durante la alcalinización se rompen algunos puentes y se genera una mayor área disponible de la superficie y así como un mayor número de grupos polares para la adsorción (Albarracín et al., 2015).

Tabla 3. Constantes obtenidas tras el ajuste de los modelos de correlación BET Y GAB.

Muestra	BET			GAB			
	W_0	C	R ²	W_0	C	K	R ²
N1	0.036	70.02	0.992	0.038	51.29	0.95	0.979
N2	0.037	25.73	0.999	0.040	31.31	0.91	0.989
AS1	0.032	37.95	0.991	0.032	49.35	0.99	0.981
AS2	0.035	34.10	0.884	0.037	50.15	1.00	0.985
AM1	0.038	92.93	0.994	0.040	256.86	0.98	0.975
AF1	0.037	40.13	0.997	0.037	74.05	1.00	0.991
AF2	0.037	120.17	0.990	0.038	102.70	0.98	0.979
AF3	0.046	171.237	0.994	0.047	177.96	0.96	0.970
B	0.047	172.172	0.995	0.048	209.65	0.95	0.983

4. CONCLUSIONES

Durante la realización de este trabajo se han puesto a punto métodos analíticos que han permitido caracterizar las propiedades físicas del cacao en polvo y evaluar cómo éstas varían en función del grado de alcalinización de las muestras. La metodología utilizada ha permitido esclarecer que un mayor grado de alcalinización provoca de manera general un aumento de pH, una pérdida en luminosidad y pureza de color, el desarrollo de un tono rojizo, un aumento en la densidad, un aumento en el tamaño de partícula, una disminución de la consistencia y un incremento en la tendencia a captar agua desde el entorno. A pesar de esta tendencia general se han encontrado muestras que se desvían de este comportamiento y que confirman que la cantidad de sal utilizada en el proceso no es la única variable de proceso que influye en las propiedades físicas de los productos.

REFERENCIAS

- Afoakwa, E. O., Paterson, A., Fowler, M., & Ryan, A. (2008). Flavor formation and character in cocoa and chocolate: a critical review. *Critical reviews in food science and nutrition*, 48(9), 840-857.
- Albarracín, M., Talens, P., Martínez-Navarrete, N., González, R. J., & Drago, S. R. (2016). Physicochemical properties and structural characteristics of whole grain Oryzasativa L. with different treatments. *Food Science and Technology International*, 22(4), 333-342.
- Andres-Lacueva, C., Monagas, M., Khan, N., Izquierdo-Pulido, M., Urpi-Sarda, M., Permanyer, J., & Lamuela-Raventos, R. M. (2008). Flavanol and flavonol contents of cocoa powder products: influence of the manufacturing process. *Journal of agricultural and food chemistry*, 56(9), 3111-3117.
- Beckett, S. (2000). *The science of chocolate* (Vol. 22). Royal Society of Chemistry.
- Camu, N., De Winter, T., Addo, S. K., Takrama, J. S., Bernaert, H., & De Vuyst, L. (2008). Fermentation of cocoa beans: influence of microbial activities and polyphenol concentrations on the flavour of chocolate. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 88(13), 2288-2297.
- Cocoa, A. D. M. (1999). *The De Zaan Cocoa Products Manual: an ADM Publication on Cocoa Liqueur. Cocoa Butter, Cocoa Powder, Koog and De Zaan, Netherlands: ADM Cocoa*
- Codini, M., Vélez, F. D., Ghirardi, M., & Villavicencio, I. (2004). Obtención y utilización de la manteca de cacao. *Invenio: Revista de investigación académica*, (12), 143-148.
- Dyer, B. (2003). Alkalized cocoa powders. *Manufacturing Confectioner*, 83(6), 47-54.
- Egas-Chávez, M. A. (2015). Evaluación y análisis técnico financiero del proceso de prensado de licor de cacao (*Theobroma cacao*) para la obtención de manteca y polvo de cacao (Doctoral dissertation, Quito, 2015.).
- Erbaş, M., Ertugay, M. F., & Certel, M. (2005). Moisture adsorption behaviour of semolina and farina. *Journal of Food Engineering*, 69(2), 191-198.
- Goff, H. D., & Hartel, R. W. (2013). *Ice cream*. Springer Science & Business Media.
- Greenspan, L., 1977. Humidity fixed points of binary saturated aqueous solutions. *Journal of Research of the National Bureau of Standards* 81, 89. Spiess, W.E.L., Wolf, W.R., 1983. The results of the COST 90 Project on water activity.
- Hii, C. L., Law, C. L., & Cloke, M. (2009). Modeling using a new thin layer drying model and product quality of cocoa. *Journal of Food Engineering*, 90(2), 191-198.
- Hoskin, J. C., & Dimick, P. S. (1994). Chemistry of flavour development in chocolate. In *Industrial chocolate manufacture and use* (pp. 102-116). Springer US.
- Krysiak, W. (2006). Influence of roasting conditions on coloration of roasted cocoa beans. *Journal of Food Engineering*, 77(3), 449-453.
- Langová, J., & Štencl, J. (2015). Moisture sorption isotherms of whole milk powder in the temperature range of 5–35° C and critical values of water activity prediction. *Acta Veterinaria Brno*, 83(10), 35-40.
- Li, Y., Feng, Y., Zhu, S., Luo, C., Ma, J., & Zhong, F. (2012). The effect of alkalization on the bioactive and flavor related components in commercial cocoa powder. *Journal of Food Composition and Analysis*, 25(1), 17-23.
- Miller, K. B., Hurst, W. J., Payne, M. J., Stuart, D. A., Apgar, J., Sweigart, D. S., & Ou, B. (2008). Impact of alkalization on the antioxidant and flavanol content of commercial cocoa powders. *Journal of agricultural and food chemistry*, 56(18), 8527-8533.
- Nair, K. P. (2010). *The agronomy and economy of important tree crops of the developing world*. Elsevier.
- Omobuwajo, T. O., Busari, O. T., & Osemwegie, A. A. (2000). Thermal agglomeration of chocolate drink powder. *Journal of Food Engineering*, 46(2), 73-81.
- Reed, S. (2010). Sensory analysis of chocolate liqueur. *Manufacturing Confectioner*, 90, 43-52.
- Shittu, T. A., & Lawal, M. O. (2007). Factors affecting instant properties of powdered cocoa beverages. *Food Chemistry*, 100(1), 91-98.
- Sohn, H. Y., & Moreland, C. (1968). The effect of particle size distribution on packing density. *The Canadian Journal of Chemical Engineering*, 46(3), 162-167.
- Timmermann, E. O. (2003). Multilayer sorption parameters: BET or GAB values? *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 220(1), 235-260.