

COMPOSICIÓN QUÍMICA DE EDULCORANTES A PARTIR DE EMC

Influencia de la Temperatura y el pH en la Composición de Edulcorantes Líquidos Producidos a Partir del Exudado del Mucílago de Cacao

Manuel Yarid Aldana Quijano y Yinna Andrea Bustos Santos

Trabajo de Grado para Optar el Título de Químico

Director:

Cristian Blanco Tirado, Ph. D.

Codirector:

Luz América Espinosa Sandoval, Ph. D.

Universidad Industrial de Santander

Facultad de Ciencias

Escuela de Química

Bucaramanga

2023

COMPOSICIÓN QUÍMICA DE EDULCORANTES A PARTIR DE EMC

Dedicatoria

A mi madre, por ser esa mujer perseverante, atenta, siempre alerta a cualquier imprevisto que me surgiera y a brindarme ayuda, además de enseñarme lo que es tener persistencia.

A mi padre, por toda la ayuda y las propuestas de trabajo que me motivaron a comprender y ver de distintas maneras mi carrera, además de enseñarme que nunca es tarde para seguir estudiando.

A mis hermanos, por ser un motivo para esforzarme siempre y dar más de mí para ser un buen ejemplo de persona para ellos.

A mis tías por ser el hombro donde confesar mis pesares, consejeras de vida que me ayudaron a culminar mi pregrado, por no rendirse ante las adversidades y ser un ejemplo.

Especialmente a mis abuelos, por toda la ayuda brindada antes y durante mi paso por la universidad, porque sin ellos no sería la persona que soy el día de hoy, a ellos gracias por todos los consejos, y ser el motor y la columna que sostiene las bases de mi futuro.

Manuel Aldana

A mis padres, por su esfuerzo y sacrificio para alcanzar los sueños de sus hijas. Porque todo lo que han hecho por mí representa el amor más puro y sincero.

A mi hermana, por motivarme y ser una compañía incondicional.

A Sebastián, por creer en mí y en lo que puedo lograr.

Yinna Bustos

COMPOSICIÓN QUÍMICA DE EDULCORANTES A PARTIR DE EMC

Agradecimientos

Agradecemos inicialmente a la Escuela de Química y a la Universidad Industrial de Santander por el proceso de estudio y préstamo de sus establecimientos para formarnos como profesionales.

A la profesora Marianny Combariza y el profesor Cristian Blanco por la oportunidad de pertenecer al grupo de investigación GIFTEX y desarrollar nuestro proyecto de investigación, igualmente agradecemos la paciencia, tiempo dedicado, orientación y conocimientos compartidos.

A la Gobernación de Santander y al Sistema General de Regalías (SGR) por la financiación del proyecto.

A los profesionales de GIFTEX, en especial a Daniel, Mafe, Anyi, Manuel, Edinson, Brenda, Lucho y Felipe, compañeros de café los cuales nos daban un respiro a las largas jornadas de trabajo y fueron un apoyo moral en el laboratorio. Gracias totales a las experiencias vividas.

Agradezco a mis padres Yizel y Moisés por el apoyo en estos años de estudio, los cuales nunca dejaron de darme ánimos para seguir dando todo de mí.

A mis hermanos por su fe en que podría sacar mis estudios adelante y ser un ejemplo para ellos.

A mis tías Claudia y Flor por la compañía, la experiencia, mis consejos y la paciencia, también por ser una ayuda en los pesares sucedidos

COMPOSICIÓN QUÍMICA DE EDULCORANTES A PARTIR DE EMC

A mi abuela Esperanza y mi difunto abuelo Mario por los años dedicados a mi crianza, por enseñarme a valorar la educación ganada y por los principios y valores inculcados los cuales me hacen la persona que soy al día de hoy.

A mis amigos de la universidad, especialmente a Sebastián, Andrea, Carlos, Juan, Danna, Edwin y Leidy por ser personas con las cuales compartir los conocimientos adquiridos y el apoyo a lo largo de todas las asignaturas vistas para poder superar las adversidades. Compañeros que conocí y aprendí a querer a lo largo de estos años de carrera, por sus consejos, el apoyo y los momentos de calma que me brindaron y me ayudaron a reponer energías para dar lo mejor de mí en el estudio.

A mi compañera de trabajo de grado Yinna por los años de amistad, de paciencia y compañía, de consejos y risas, de trabajo y esfuerzo, por los trasnochos y las madrugadas, por todo lo vivido estos dos casi dos años de trabajo, muchas gracias y felicidades también.

Manuel Aldana

Agradezco a mis padres, Leticia y Luis, quienes con mucho sacrificio me impulsaron a alcanzar este logro con su apoyo incondicional. A ellos por su dedicación, paciencia, consejos y amor.

A mi hermana, por motivarme, darme ánimos y comprensión cuando más lo necesitaba.

A mis amigos y colegas, especialmente a Andrea y Danna, quienes fueron mis primeras compañeras al iniciar esta etapa universitaria. Infinitas gracias a ustedes por la amistad sincera que me brindan, que es uno de los mayores tesoros que la universidad me dejó. De igual manera a Carlos, Sebastián, Juan, Leidy y Edwin. Gracias por todas las experiencias que tuvimos y por lo

COMPOSICIÓN QUÍMICA DE EDULCORANTES A PARTIR DE EMC

que pude aprender de cada uno de ustedes, fue grato verlos crecer en el ámbito profesional como personal.

A mi compañero de trabajo de grado Manuel, por su amistad y su compañía en esta experiencia tan enriquecedora. Gracias por su resiliencia, dedicación y por seguir siempre adelante a pesar de todo.

A mi compañero de vida Sebastián, agradezco por inspirarme en ser mejor en el ámbito profesional y personal. Gracias por la incondicionalidad, lealtad, calidez y amor que me brinda siempre.

Yinna Bustos

COMPOSICIÓN QUÍMICA DE EDULCORANTES A PARTIR DE EMC

Tabla de Contenido

	Pág.
Introducción	14
1. Objetivos	16
1.1 Objetivo general	16
1.2 Objetivos específicos	16
2. Marco teórico	17
2.1 Cacao	17
2.2 Mucílago de cacao	18
2.3 Edulcorantes	20
2.3.1 Producción de edulcorantes	21
2.4 Regulaciones	23
2.4.1 HMF	23
2.4.2 Control de calidad	25
2.4.2.1 Color y pH	25
2.4.2.2 Carbohidratos	26
2.4.2.3 Ácidos orgánicos	28
3. Antecedentes	29

COMPOSICIÓN QUÍMICA DE EDULCORANTES A PARTIR DE EMC

4. Metodología	32
4.1 Etapa 1.....	32
4.1.1 Extracción del EMC.....	32
4.1.2 Determinación de sólidos solubles totales en el EMC.....	33
4.1.3 Determinación de sólidos totales en el EMC.....	33
4.1.4 Obtención del edulcorante a partir del EMC	33
4.1.5 Diseño experimental	33
4.1.6 Ajuste de pH	34
4.1.7 Deshidratación de la muestra.....	34
4.2 Etapa 2.....	35
4.2.1 Determinación de las propiedades fisicoquímicas.....	35
4.2.1.1 pH.....	35
4.2.1.2 Color	35
4.2.1.3 Turbidez.....	36
4.2.2 .Determinación y cuantificación de azúcares y ácidos orgánicos.....	36
4.2.2.1 Cuantificación de azúcares.	36
4.2.2.2 Cuantificación de ácidos orgánicos.	37
4.2.3 Determinación y cuantificación de HMF y Cadmio.....	39

COMPOSICIÓN QUÍMICA DE EDULCORANTES A PARTIR DE EMC

4.2.3.1 Determinación de 5-hidroximetilfurfural.....	39
4.2.3.2 Cuantificación de cadmio.	40
5. Resultados y discusión.....	42
5.1 Obtención de edulcorantes a partir de exudado del mucílago de cacao	42
5.2 Propiedades fisicoquímicas de los edulcorantes.	45
5.3 Cuantificación de azúcares totales	47
5.4 Cuantificación de ácidos orgánicos	55
5.5 Determinación de 5-hidroximetilfurfural.....	61
5.6 Cuantificación de cadmio	66
6. Conclusiones	70
7. Recomendaciones	71
8. Divulgación de resultados.....	71
Referencias Bibliográficas	73
Anexos	90

COMPOSICIÓN QUÍMICA DE EDULCORANTES A PARTIR DE EMC

Lista de Tablas

	Pág.
Tabla 1. Diseño factorial 2K.....	33
Tabla 2. Curva de calibración de Cd.....	40
Tabla 3. Ajuste de pH de los experimentos.	43
Tabla 4. Duración de la deshidratación, peso del EMC y peso y densidad final del jarabe.	44
Tabla 5. Propiedades fisicoquímicas.....	45
Tabla 6. Cuantificación de azúcares en jarabes mediante HPLC.	47
Tabla 7. Comparación de la concentración de azúcares con otros edulcorantes naturales.....	51
Tabla 8. Cuantificación de ácidos orgánicos en jarabes de cacao mediante HPLC.	55
Tabla 9. Resultados del análisis de HMF.....	62
Tabla 10. Concentración de HMF en jarabe S2 y S4.....	65
Tabla 11. Concentración de cadmio en jarabes.	68

COMPOSICIÓN QUÍMICA DE EDULCORANTES A PARTIR DE EMC

Lista de Figuras

	Pág.
Figura 1 Componentes de la fruta del árbol de cacao: cáscara (amarilla-naranja), pulpa mucilaginosa (blanca) y semillas (recubiertas por la pulpa).....	20
Figura 2 Formación de HMF en alimentos por caramelización..	24
Figura 3. Estructura química de: a. Sacarosa, b. D(+)-Glucosa, y c. D(-)-Fructosa.....	27
Figura 4. Tratamientos S1-S7.	46
Figura 5. Diagrama de Pareto estandarizado para la concentración de (a) sacarosa, (b) glucosa y (c) fructosa. (Azul: efecto negativo; Gris: efecto positivo)	52
Figura 6. Diagrama de Pareto estandarizado sobre la concentración de (a) ácido cítrico, (b) ácido málico, (c) ácido láctico, (d) ácido tartárico y (e) ácido fumárico. (Azul: efecto negativo; Gris: efecto positivo).....	59
Figura 7. Diagrama de Pareto estandarizado para la concentración de cadmio. (Azul: efecto negativo; Gris: efecto positivo).....	69

COMPOSICIÓN QUÍMICA DE EDULCORANTES A PARTIR DE EMC

Lista de Anexos

	Pág.
Anexo A. <i>Azúcares</i>	90
Anexo B. <i>Ácidos</i>	91
Anexo C. <i>HMF</i>	93
Anexo D. <i>Cadmio</i>	98

COMPOSICIÓN QUÍMICA DE EDULCORANTES A PARTIR DE EMC

Resumen

Título: Influencia de la temperatura y el pH en la composición de edulcorantes líquidos producidos a partir del exudado del mucílago de cacao

Autores: Manuel Yarid Aldana Quijano, Yinna Andrea Bustos Santos

Palabras clave: Exudado del mucílago de cacao, jarabes, azúcares, ácidos orgánicos, HPLC

Descripción:

El exudado del mucílago de cacao es un subproducto nutricional y de alta energía proveniente del procesamiento de frutos de cacao, que contiene hasta un 15% p/p de azúcares simples y ácidos orgánicos. En este trabajo se explora el proceso de concentración del exudado del mucílago de cacao para producir jarabe de cacao bajo diferentes temperaturas de deshidratación (60, 70 °C) y arreglos de pH (4.0, 5.0) usando un diseño factorial 2^2 con tres puntos centrales. El análisis de HPLC permitió monitorear los cambios en el contenido de los azúcares simples y los contenidos de ácidos orgánicos, así como la formación de 5-(hidroximetil)furfural (HMF) a lo largo del proceso de concentración. La temperatura y el pH afectan significativamente ($p < 0,05$) la concentración de sacarosa y ácido cítrico. Las concentraciones promedio de azúcares simples en los jarabes alcanzaron en promedio de 26.52 – 29.71% p/p, 24.44 – 27.20% p/p y 6.77 – 16.42% p/p para fructosa, glucosa y sacarosa, respectivamente. Los ácidos cítrico, málico, láctico, tartárico y fumárico representan el 5.12% p/p, el 3.01% p/p, el 0.20% p/p, el 0.16% p/p y el 0.002% en p/p, respectivamente. La formación de HMF (5.96 ± 0.50 , 3.25 ± 0.15 mg/L) se evidenció solo en jarabes producidos a pH 5.0.

*Trabajo de Grado

*Facultad de Ciencias. Escuela de Química. Director: Cristian Blanco Tirado, Ph. D. Codirector: Luz América Espinosa Sandoval, Ph. D.

COMPOSICIÓN QUÍMICA DE EDULCORANTES A PARTIR DE EMC

Abstract

Title: Influence of temperature and pH on the composition of liquid sweeteners produced from cocoa mucilage exudate.

Authors: Manuel Yarid Aldana Quijano, Yinna Andrea Bustos Santos

Keywords: Cocoa mucilage exudate, syrups, sugars, organic acids, HPLC

Description:

Cocoa mucilage exudate is a nutritional and high-energy by-product from cocoa fruit processing, containing up to 15% w/w of simple sugars and organic acids. In this work, the concentration process of cocoa mucilage exudate to produce cocoa syrup under different dehydration temperatures (60, 70 °C) and pH (4.0, 5.0) is explored using a 2² factorial design with three center points. HPLC analysis allowed monitoring changes in simple sugars and organic acid contents, as well as the formation of 5-(hydroxymethyl)furfural (HMF) throughout the concentration process. Temperature and pH significantly ($p < 0.05$) affect sucrose and citric acid concentration. The average concentrations of simple sugars in the syrups reached on average 26.52 - 29.71% w/w, 24.44 - 27.20% w/w and 6.77 - 16.42% w/w for fructose, glucose and sucrose, respectively. Citric, malic, lactic, tartaric and fumaric acids accounted for 5.12% w/w, 3.01% w/w, 0.20% w/w, 0.16% w/w and 0.002% w/w, respectively. HMF formation (5.96 ± 0.50 , 3.25 ± 0.15 mg/L) was evidenced only in syrups produced at pH 5.0.

*Degree work

*Faculty of Science. School of Chemistry. Director: Cristian Blanco Tirado, Ph. D. Co-director: Luz América Espinosa Sandoval, Ph. D.

COMPOSICIÓN QUÍMICA DE EDULCORANTES A PARTIR DE EMC

Introducción

De acuerdo con Fedecacao, en los últimos 10 años, la producción de cacao en Colombia ha incrementado un 29% (Fedecacao, 2022). Esta industria genera, aproximadamente, 90% de biomasa residual constituida principalmente por la cáscara de la mazorca (80% p/p) y el mucílago de cacao (10% p/p) (De Souza et al., 2018; Mühlbauer & Müller, 2020). Durante la cosecha, se abren las mazorcas y se desecha la cáscara y en el proceso de fermentación se descompone el mucílago y su lixiviado.

La valorización de los subproductos de frutos tropicales mediante la obtención de nuevos productos constituye una vía para aumentar la circularidad en la agroindustria. En los últimos años, el aprovechamiento de los residuos de biomasa se ha convertido en un punto importante asociado con el crecimiento económico y la descarbonización de las industrias agrícolas. Numerosos países han implementado estrategias de uso de residuos dentro de sus agendas de economía circular (Kowalska et al., 2017).

Estudios realizados al exudado del mucílago de cacao (EMC) han demostrado la presencia de gran cantidad de carbohidratos y ácidos orgánicos, lo cual lo hace llamativo como materia prima para la creación de gran variedad de productos en la industria alimenticia (De Souza et al., 2018; Saavedra-Sanabria et al., 2021). De esta forma, su potencial de aprovechamiento se ha trasladado de darle uso como fertilizante y alimento para animales, a utilizarse como aditivo en confitería y pastelería, igualmente en la creación de productos para consumo humano, tales como jaleas, mermeladas y diferentes tipos de bebidas (K. Y. B. Anvoh et al., 2009; Vergara-Mendoza et al., 2022). Para el aprovechamiento del mucílago de cacao y su lixiviado se utilizan tratamientos

COMPOSICIÓN QUÍMICA DE EDULCORANTES A PARTIR DE EMC

físicos o químicos para la transformación en un producto potencial comercial. El calentamiento, como método de concentración, es el tratamiento más usado para la creación de jarabes, mermeladas y jaleas.

Las características físicas y químicas de los productos alimenticios dependen del tratamiento al cual se somete la materia prima. La producción de alimentos, normalmente involucra procesos de modificación de pH, como acidificación o alcalinización, y tratamientos térmicos, regularmente a altas temperaturas. Como consecuencia, es necesario realizar un riguroso control de calidad, ya que estos procesos pueden resultar en la formación de compuestos no deseados (Capuano & Fogliano, 2011). En el caso de los edulcorantes, por ejemplo, las materias primas, suelen ser ricas en carbohidratos que al ser tratadas térmicamente pueden dar lugar a compuestos, como furfurales resultado de reacciones de caramelización y/o reacción de Maillard (Schouten et al., 2020). Estos compuestos están catalogados por organizaciones alimenticias como tóxicos. Además, en el caso de edulcorantes derivados del cacao, también es de interés estudiar la presencia de cadmio ya que estudios recientes muestran la presencia de este elemento en los suelos colombianos donde se cultiva el cacao (Gil et al., 2022).

El presente trabajo de investigación pretende evaluar el efecto del pH del EMC y la temperatura de deshidratación sobre la calidad fisicoquímica y nutricional del edulcorante líquido obtenido.

COMPOSICIÓN QUÍMICA DE EDULCORANTES A PARTIR DE EMC

1. Objetivos

1.1 Objetivo general

Evaluar el efecto de la temperatura y el pH sobre la composición química de un edulcorante líquido producido por deshidratación del exudado del mucílago de cacao.

1.2 Objetivos específicos

Obtener un edulcorante líquido a partir del exudado del mucílago de cacao utilizando la técnica de deshidratación variando la temperatura y el pH.

Evaluar la influencia de la temperatura y el pH sobre la composición del edulcorante líquido obtenido.

COMPOSICIÓN QUÍMICA DE EDULCORANTES A PARTIR DE EMC

2. Marco teórico

2.1 Cacao

El árbol de cacao (*Theobroma cacao L.*) pertenece a la clase Magnoliopsida, orden Malvales, familia Malvaceae o también clasificado en Sterculiaceae, género *Theobroma* y especie Cacao (Hancock & Fowler, 1994). Este árbol de hoja perenne se cultiva principalmente en las regiones de bosques tropicales húmedos con temperaturas de entre 24 y 28 °C a una altura de hasta 600 m sobre el nivel del mar y pueden crecer hasta 5 a 8 metros, por lo que se consideran árboles pequeños (Belitz et al., 2009; De Souza et al., 2018). Actualmente, se sabe el origen de este árbol debido a que se han hecho estudios sobre su genética, los cuales revelaron que se originó en regiones del Amazonas, principalmente en la cuenca superior. Existen tres tipos de cacao: criollo, forastero y trinitario. Los términos criollo y forastero fueron acuñados en Venezuela para diferenciar el cacao nativo (criollo) y el cacao amazónico (forastero). El tipo *criollo* se extendió hacia el norte llegando a Centroamérica, siendo el más común en esa región. Este tipo de cacao es el más costoso, con mayor dulzor y rareza debido a que el fruto, de color verde o rojo, tiene semillas más grandes. El tipo *forastero* tiene mayor abundancia, se destaca porque el color de la cáscara del fruto varía entre amarillo a colores oscuros y tiene bajo costo comercial. Actualmente, los cacaos de tipo forastero se cultivan en Brasil y África Occidental. Finalmente, el tipo *trinitario* es un híbrido entre el criollo y el forastero, el cual presenta variedades de tamaño y color (Lim, 2012). En Colombia, el tipo de cacao predominante es el trinitario, mientras que en algunos países de África se cultiva extensivamente cacao de los tipos trinitario y forastero.

COMPOSICIÓN QUÍMICA DE EDULCORANTES A PARTIR DE EMC

El árbol de cacao es cultivado principalmente en Latinoamérica y algunos países de África y Asia. Costa de Marfil, Ghana, Indonesia y Ecuador son los principales productores de cacao. Colombia ocupa el décimo lugar con cacaos finos y de aroma a diferencia de los grandes productores que se caracterizan en producir cacao de granel o cacao corriente (Abbott et al., 2018; Horta-Téllez et al., 2019). Colombia es un país con una industria cacaotera consolidada y creciente, siendo Santander el departamento con mayor producción seguido de Arauca, Meta, Antioquia, Nariño, Cundinamarca y Tolima. Cifras entregadas por Fedecacao (Fedecacao, 2022) indican que en los años 2021-2022 se registró la producción de cacao en grano más alta de la historia en Colombia con 69040 toneladas. Actualmente la institucionalidad trabaja para forjar alianzas que permitan el mejoramiento de la calidad de vida de las familias productoras, el posicionamiento en el mundo del grano nacional y los alimentos producidos en el país; así mismo en buscar estrategias de cultivo debido a las temporadas de lluvia.

En Santander, en municipios como San Vicente de Chucurí, El Carmen de Chucurí, Landázuri, y Rionegro, el cacao es uno de los principales renglones productivos que sustenta más de veinte mil familias campesinas («Aliados por el subsector cacaotero colombiano», 2020).

2.2 Mucílago de cacao

La fruta del árbol de cacao tiene diferentes formas y colores dependiendo del tipo, como se mencionó anteriormente. Las formas que presenta son ovoide, oblonga y elipsoide, con algunos casos de puntas pronunciadas. Generalmente, cuando la fruta está inmadura es verde y cuando se madura es amarilla, roja o violácea. El periodo de maduración de la fruta es de 160 días en promedio (Rojas et al., 2022). Los componentes principales de la fruta de cacao son (Mühlbauer

COMPOSICIÓN QUÍMICA DE EDULCORANTES A PARTIR DE EMC

& Müller, 2020): la cáscara, las semillas y la pulpa mucilaginosa, como se puede apreciar en la figura 1. La cáscara de la fruta, que tiene un grosor de aproximadamente 9-17 mm, presenta un pericarpio carnoso (De Souza et al., 2018) que está compuesto de tres partes: el *epicarpio* que es carnoso y grueso; el *mesocarpio*, delgado y duro, pero poco lignificado; y el *endocarpio*, carnoso y poco grueso. Después del pericarpio, se encuentran las semillas o granos de cacao, que tienen una longitud de 2-3 cm y su forma varía entre elipsoide a ovoide. En la fruta se encuentran hasta 30-40 semillas rodeadas por una pulpa mucilaginosa blanca que tiene un sabor dulce-ácido. Estos granos de cacao son la materia prima esencial en la industria chocolatera, en la cual separan las semillas de cacao de la pulpa por lavado o fermentación, que es un proceso importante debido a que induce el desarrollo de precursores y numerosos compuestos responsables del sabor y aroma del chocolate (De Souza et al., 2018). Luego de la fermentación o lavado, los granos de cacao se secan, tuestan y descascarillan y los nibs obtenidos pasan por un proceso de molienda para producir licor de cacao, ingrediente principal del chocolate, junto con la manteca de cacao (Belitz et al., 2009; Rojas et al., 2022). Sin embargo, este proceso industrial genera subproductos en grandes cantidades puesto que la cáscara y el tejido de soporte de las semillas en la fruta representa un 80% en peso, mientras que las semillas y la pulpa, un 20% en peso (Vergara-Mendoza et al., 2022). Dicha pulpa se compone de células parenquimatosas esponjosas que contienen alrededor de 10 a 15% de azúcares, 1% de pectina y 1.5% de ácido cítrico (De Souza et al., 2018). El líquido extraído de la pulpa se conoce como exudado o lixiviado del mucílago de cacao y su composición química ha generado gran interés para la fabricación de edulcorantes, jaleas, mermeladas, licores o productos de confitería. Lo anterior se fundamenta en que se desperdician entre 30 y 50 litros de EMC por tonelada de fruto (Saavedra-Sanabria et al., 2021).

COMPOSICIÓN QUÍMICA DE EDULCORANTES A PARTIR DE EMC

Figura 1.

Componentes de la fruta del árbol de cacao: cáscara (amarilla-naranja), pulpa mucilaginosa (blanca) y semillas (recubiertas por la pulpa).



2.3 Edulcorantes

Los edulcorantes son aditivos que cumplen con la función de dar sabor dulce a cualquier alimento o producto (ASALE & RAE, s. f.-b, s. f.-a). Un edulcorante nutritivo es aquel que contiene calorías y nutrientes. Dentro de los edulcorantes nutritivos se encuentran los azúcares, tales como la glucosa, fructosa y sacarosa que son los carbohidratos de sabor dulce más importantes presentes de forma natural en los alimentos. Los edulcorantes pueden ser obtenidos a través de la naturaleza, como la miel (de abejas), de plantas y savia de árboles. Estos últimos se

COMPOSICIÓN QUÍMICA DE EDULCORANTES A PARTIR DE EMC

denominan jarabe porque se pueden extraer de muchas fuentes diferentes como árboles (jarabe de arce), plantas (jarabe de agave) y frutas y verduras (jarabe de maíz). La mayoría de los jarabes son nutritivos y contienen una alta proporción de azúcares, proteínas, lípidos, fibra dietética y fitoquímicos. Sin embargo, la composición del extracto y las propiedades sensoriales de estos edulcorantes naturales dependen del origen botánico, las condiciones ambientales y de producción («Honey and Syrups», 2019).

2.3.1 Producción de edulcorantes

Los procesos de concentración de jugos de frutas para su posterior comercialización como jaleas, jarabes, mermeladas o jugos de frutas concentrados son de vital importancia ya que amplían la vida útil del producto, además de que ofrecen estabilidad enzimática, microbiana y reducen la actividad del agua (Maskan et al., 2002). Por otro lado, facilitan el empaque, transporte y distribución (Surin et al., 2014). La concentración de jugos de frutas requiere la eliminación de una cantidad parcial de agua en el jugo dejando los sólidos disueltos, azúcares, vitaminas y minerales- concentrados en el jarabe (Fazaeli et al., 2013).

El tratamiento de concentración implica procesos de calentamiento que tienen como objetivo deshidratar la fruta o jugo de fruta. Generalmente las frutas sensibles al calor se les aplica un tratamiento a bajas presiones para evitar elevar las temperaturas de calentamiento, ya que, al realizar un proceso de evaporación convencional, la temperatura usada es regularmente más alta que la necesaria para evaporar el agua lo que conlleva a pérdida o modificación de los nutrientes además de una baja calidad (Surin et al., 2014). El calentamiento es el proceso tradicional para la preparación de edulcorantes naturales como el jarabe de arce y agave además de ser un proceso

COMPOSICIÓN QUÍMICA DE EDULCORANTES A PARTIR DE EMC

usado para la preservación de edulcorantes como la miel (González-Montemayor et al., 2019b, 2019d, 2019c). La producción de mieles comerciales implica siete diferentes fases que consisten en extracción, deshumidificación, licuefacción y mezcla, calentamiento, pasteurización, cristalización y envasado del producto que tiene 76.3-85.3 °Brix y un pH entre 3.5 y 5.5 («Honey and Syrups», 2019).

Por otro lado, el jarabe de arce se produce a partir de la savia extraída de algunas especies de arce. En cuanto al procesamiento, se basa en concentrar la savia hasta llegar a una solución final con 66-67 °Brix. Los dos procesos principales utilizados durante la concentración son evaporación por calentamiento y ósmosis inversa seguida de calentamiento. Sin embargo, también se ha utilizado concentración por congelación para producir el jarabe («Authentication and quality control determination of maple syrup», 2021).

El jarabe de agave es producido principalmente por la cocción de pencas de agave. En las últimas décadas, debido al auge y la calidad de los jarabes de agave, se desarrollaron nuevas estrategias para optimizar su producción, elaborando los jarabes por medio de la hidrólisis enzimática de fructanos de agave, en lugar de los métodos tradicionales basados en procesos térmicos o hidrólisis ácida. Actualmente, la estrategia usada en la producción es la hidrólisis enzimática basada en el uso de inulinasas debido a su bajo costo (Mellado-Mojica & López, 2015).

Sin embargo, estas condiciones de cocción o calentamiento en los procesamientos de los edulcorantes mencionados inducen reacciones de Maillard o caramelización que, además de ser responsables de la formación de algunos compuestos que mejoran las propiedades organolépticas

COMPOSICIÓN QUÍMICA DE EDULCORANTES A PARTIR DE EMC

del producto alimenticio, traen consigo la formación de subproductos no deseados tales como el 5-hidroximetilfurfural (Schouten et al., 2020).

2.4 Regulaciones

2.4.1 *HMF*

Durante la producción y fabricación de los alimentos, los tratamientos térmicos causan cambios composicionales que afectan las propiedades finales de los productos, incluidas las propiedades organolépticas, texturales y nutricionales (O'Brien et al., 1989). La principal preocupación se encuentra en la formación de compuestos no presentes naturalmente en los alimentos como resultado de reacciones químicas durante los procesos de calentamiento o conservación de los productos. Estas sustancias pueden ser nocivas pues algunas exhiben efectos mutagénicos, cancerígenos y citotóxicos. Estos compuestos son conocidos como compuestos neoformados (NFC) (Capuano & Fogliano, 2011).

El 5-(hidroximetil) furfural (5-(hidroximetil) furan-2-carbaldehído, HMF) es un NFC furánico puesto que su estructura química presenta un furano, un aldehído y un grupo OH. Estos dos últimos grupos son susceptibles a procesos de oxidación. El HMF existe naturalmente en el café, la miel, algunas frutas secas y algunos jugos de frutas. Sin embargo, también se puede formar como intermediario en la reacción de Maillard y a partir de la deshidratación directa de azúcares en condiciones ácidas (caramelización) durante los tratamientos térmicos aplicados a los alimentos (Ver figura 2) (Capuano & Fogliano, 2011). El HMF representa un parámetro para estudiar la calidad de alimentos como el café, leche y cereal, principalmente la miel ya que ayuda a verificar su frescura y está relacionado con las propiedades químicas, como el pH, la acidez total, el

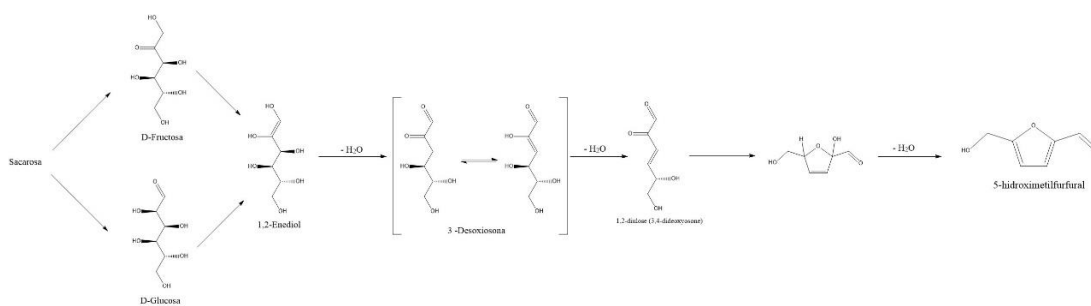
COMPOSICIÓN QUÍMICA DE EDULCORANTES A PARTIR DE EMC

contenido mineral (Capuano & Fogliano, 2011; Shapla et al., 2018; Zappalà et al., 2005). Asimismo, se ha reportado la toxicidad del HMF, que a altas concentraciones es citotóxico e irritante para los ojos, las vías respiratorias superiores, la piel y las mucosas (Li et al., 2019), además tiene actividad cancerígena en roedores (Teixidó et al., 2011). Sin embargo, no está claro si la exposición humana al HMF representa un riesgo potencial para la salud. La preocupación real de su presencia en los alimentos se debe a la transformación *in vivo* e *in vitro* en sulfoximetilfurfural (SMF) por la presencia de sulfotransferasas, ya que es posible la biotransformación en 5-[(sulfoxi)metil]furfural (SMF) a través de la sulfonación del grupo 5-alílico hidroxilo por las sulfotransferasas que da como resultado un carbocatión alílico electrofílico reactivo que puede promover daños en la estructura y efectos mutagénicos y genotóxicos al reaccionar con nucleófilos celulares tales como el ADN, ARN y algunas proteínas (Abraham et al., 2011; Arribas-Lorenzo & Morales, 2010; Petrarca et al., 2020; Zhao et al., 2013). Por otro lado, el Codex Alimentarius (2000) y la Unión Europea (2001) establecieron un nivel máximo de HMF en miel de 40 mg/kg, con las siguientes excepciones: 80 mg/kg para miel de países con temperaturas tropicales y 15 mg/kg para miel con bajo nivel enzimático. Además, la Federación Internacional de Procesadores de Zumos de Frutas (IFFJP) recomienda un máximo concentración de 5 a 10 mg/L en jugos de frutas y 25 mg/L en concentrados de frutas (T. P. Lee et al., 2014).

Figura 2.

Formación de HMF en alimentos por caramelización.

COMPOSICIÓN QUÍMICA DE EDULCORANTES A PARTIR DE EMC



Nota: Adaptado de Capuano & Fogliano (2011).

En Colombia no existe reglamentación sobre las máximas concentraciones de HMF en alimentos; por lo tanto, se siguen las normas internacionales. La determinación de HMF en alimentos se realiza mediante técnicas espectrofotométricas y cromatográficas (*INVIMA - Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos*, 2021). El método estándar de AOAC para la determinación de HMF en alimentos utiliza HPLC. Específicamente, para alimentos como la miel la determinación de HMF puede hacerse mediante tres métodos estándar: uno cromatográfico y dos espectroscópicos (Maskan et al., 2002). El método de White y de Winkler se basa en la medición de la absorbancia con la adición de otras sustancias, mientras que el método de HPLC se basa en realizar primeramente una limpieza de la matriz con extracción en fase sólida seguida de cromatografía líquida (LC) con detección de absorbancia UV (Shapla et al., 2018). Este último es el más utilizado debido a su sensibilidad, selectividad y versatilidad. La cuantificación se hace mediante calibración externa (Driffield et al., 2005; Eberhart et al., 2005).

2.4.2 Control de calidad

2.4.2.1 Color y pH. Las reacciones de Maillard (Rizzi, 2005) se inician por una condensación de grupos amino en proteínas, péptidos y aminoácidos con grupos carbonilo en

COMPOSICIÓN QUÍMICA DE EDULCORANTES A PARTIR DE EMC

azúcares reductores, lo que da como resultado la formación de bases de Schiff y el reordenamiento en productos Amadori o Heyns. Como ya se ha mencionado anteriormente, algunos de los intermedios reactivos tóxicos de la reacción de Maillard en alimentos es el HMF. Con el tiempo, se forman grandes compuestos poliméricos, como las melanoidinas, que provocan el oscurecimiento (Lund & Ray, 2017). Los productos de estas reacciones son importantes en los alimentos, ya que a menudo influyen en su calidad y aceptación. Es decir, que no todos los productos de estas reacciones son tóxicos, sino que aportan en las propiedades organolépticas. Por esta razón, es importante analizar el color del alimento, ya que se relaciona con los productos de reacciones de Maillard. Por ejemplo, el jarabe de arce se clasifica según su color en extra claro, claro, medio, ámbar y oscuro, midiendo su transmitancia a 560 nm, tomándose como de mejor calidad los jarabes de coloraciones más claras (Aït-Aïssa et al., 2020). Por otro lado, estas reacciones son aceleradas a temperaturas más altas y pH alto, sin embargo, a pH bajo se ha demostrado la formación de HMF en alimentos como jugos de frutas.

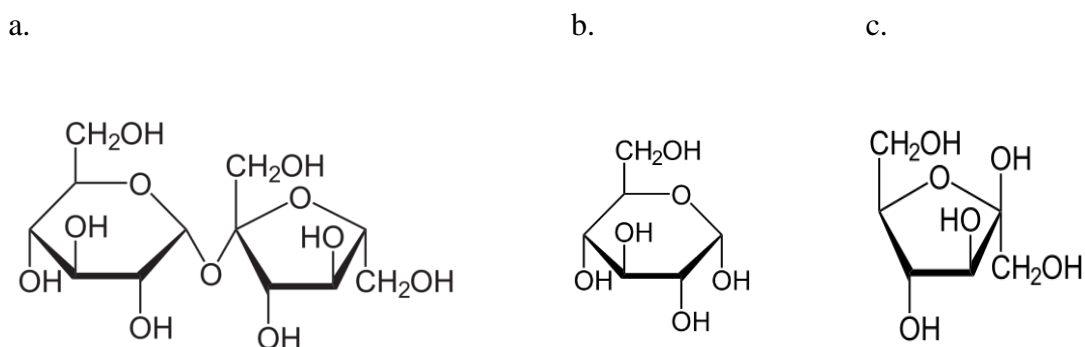
2.4.2.2 Carbohidratos. La presencia de carbohidratos en los alimentos es importante debido a que son la principal fuente de energía de los seres vivos. Los azúcares son los compuestos mayoritarios en las bebidas frutales y están presentes de forma natural o como agregados para impartir dulzura y textura al producto. Los principales azúcares que se encuentran en los jugos de frutas son el disacárido sacarosa, junto con los monosacáridos D-fructosa y D-glucosa (Ver figura 3), siendo especialmente mayoritarios los dos primeros (Buglass, 2014; Tyagi et al., 2014). Según la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) y la Organización Mundial de la Salud (OMS), los carbohidratos se dividen en tres grupos dependiendo

COMPOSICIÓN QUÍMICA DE EDULCORANTES A PARTIR DE EMC

del tamaño molecular de los azúcares: monosacáridos, oligosacáridos y polisacáridos (BeMiller, 2017).

Figura 3.

Estructura química de: a. Sacarosa, b. D(+)-Glucosa, y c. D(-)-Fructosa



Los carbohidratos digeribles se convierten en monosacáridos por medio de la hidrólisis, para poder ser absorbidos y proporcionar energía metabólica y saciedad. Los polisacáridos no digeribles (todos los que no sean almidón) constituyen la mayor parte de la fibra dietética (Tyagi et al., 2014).

El análisis de carbohidratos es importante desde varias perspectivas. Los análisis cualitativos y cuantitativos se utilizan para determinar la composición de alimentos, bebidas y sus ingredientes. Los azúcares libres totales a menudo se estiman a partir de la medición de sólidos solubles totales, utilizando un hidrómetro o un refractómetro (BeMiller, 2017).

COMPOSICIÓN QUÍMICA DE EDULCORANTES A PARTIR DE EMC

Existen una gran variedad de métodos para el análisis de carbohidratos, entre ellas se encuentran: pruebas de color cualitativas, cromatografía de papel cualitativa, cromatografía de papel cuantitativa, GC y HPLC. También se encuentran métodos que emplean resonancia magnética nuclear (NMR), espectroscopia de infrarrojo con transformada de Fourier (FTIR), espectroscopia de infrarrojo cercano (NIR), inmunoensayos, electroforesis capilar (CE), la espectroscopia de fluorescencia y espectrometría de masas (MS) (BeMiller, 2017; Montero et al., 2004).

2.4.2.3 Ácidos orgánicos. Al igual que los azúcares, los ácidos también son cruciales para la palatabilidad de los jugos de frutas. El contenido de ácidos orgánicos en los jugos de frutas influye en su pH y sabor, como también en la estabilidad, aspectos nutricionales y calidad de conservación. Sin ellos, se tendría un sabor plano y azucarado, muchos tendrían diferentes colores y todos serían muy propensos al deterioro microbiológico. Los ácidos a menudo imparten sabores además del sabor agrio. Si bien el sabor dominante de los ácidos orgánicos es la acidez, también aportan amargura y astringencia las cuales varían en proporción a los diferentes ácidos (Buglass, 2014; Zhang et al., 2008).

Los ácidos de jugos de frutas más comunes y abundantes son el ácido málico, predominante en manzanas, peras y frutas de hueso, y el ácido cítrico, predominante en frutas cítricas y tropicales. En general, los ácidos orgánicos de jugos son en su mayoría ácidos mono, di y tricarbónicos de bajo peso molecular con valores de pK_a en el rango de 3.01 a 5.74. Todos existen principalmente como ácidos libres (moleculares o no disociados) («Fruits and Fruit Products», 2009; Zhang et al., 2008).

COMPOSICIÓN QUÍMICA DE EDULCORANTES A PARTIR DE EMC

Es importante determinar con precisión los ácidos orgánicos para fines de control de calidad, para cumplir con las especificaciones y etiquetado. Entre las técnicas usadas para el análisis de ácidos encontramos en la actualidad que los ácidos orgánicos se miden mediante métodos enzimáticos, LC o cromatografía iónica, mientras que algunos ácidos orgánicos volátiles como los ácidos acético, propiónico y butírico se miden por GC (Zhang et al., 2008).

3. Antecedentes

Se han encontrado diferentes usos para el EMC a lo largo de los años, entre los cuales está la generación de energía y bioproductos que pueden ser usados en la industria de alimentos (K. Y. B. Anvoh et al., 2009; Beltrán Pérez & Romero Hernández, 2019; Ochoa et al., 2021; Quimbita Yupangui & Ruales Najera, 2018; Reyes Ramos Natividad, 2019; Rivera Cepeda, 2019; Rojas Sosa & Rojas Manayay, 2017; Saavedra-Sanabria et al., 2021; Vergara-Mendoza et al., 2022). Primordialmente, los subproductos del fruto de cacao se han utilizado en la industria de fertilizantes y en la formulación de alimentos para animales. En 2020, se realizó una investigación con varios residuos de actividades agrícolas, entre los cuales se encontraba el EMC, en la cual se evaluó la recuperación de fósforo como estruvita de los efluentes de co-digestión anaeróbica que utilizan estas biomásas residuales. Al final, se logró una eficiencia de recuperación de fósforo superior al 98% en efluentes de digestión anaeróbica (Ochoa et al., 2021).

En 2009, se realizó una investigación (K. Y. B. Anvoh et al., 2009) para el uso del EMC en la producción de mermeladas mediante calentamiento, para evaporar el agua excedente de la materia usada que, en este caso, fue una mezcla de exudado y placenta triturada, llevando así a una

COMPOSICIÓN QUÍMICA DE EDULCORANTES A PARTIR DE EMC

determinada concentración de °Brix. Posteriormente se realizó una caracterización y cuantificación de los azúcares y ácidos totales en las mermeladas. Los resultados de los análisis mostraron que el pH del jugo de los granos de cacao era de 3.14 y su contenido de glucosa era muy alto (alrededor de 214.2 ± 6.2 g/L). Los sólidos solubles totales fueron 16.17 °Brix. Además, al realizar una evaluación sensorial y una comparación con una mermelada comercial, en una escala de calificación de 1 a 5, la aceptabilidad de la mermelada de cacao (3.56 ± 0.7) fue bastante más baja que la de la mermelada comercial (3.96 ± 0.5).

En 2017, en Perú, se desarrolló una tesis en la cual se buscaba crear una bebida no alcohólica a partir del EMC. En este trabajo se hizo una caracterización microbiológica, fisicoquímica y sensorial del EMC y se establecieron los procesos y parámetros para la obtención del producto. La bebida obtenida presentó una evaluación sensorial de 7.5 puntos en una escala hedónica de 9 puntos. La metodología usada se basó en la estabilización del EMC sacado de las almendras mucilaginosas por prensado. Posteriormente se homogenizó, pasteurizó, envasó y almacenó (Rojas Sosa & Rojas Manayay, 2017).

Investigadores peruanos, en 2018, determinaron las mejores condiciones para obtener miel a base de EMC. El procedimiento se basó en una hidrólisis enzimática con un mix de cóctel Pectinex y Celubrix con agitación hasta disminuir la cantidad de sólidos insolubles. Luego, se realizó una filtración como método de clarificado y se concentró por medio de rotovaporación a diferentes temperaturas. Se encontró que la mejor miel de cacao se obtuvo a 70 °C, con una consistencia similar a la miel de abeja y un rendimiento de 15.40%. Sus características fueron: pH

COMPOSICIÓN QUÍMICA DE EDULCORANTES A PARTIR DE EMC

de 4, 80 °Brix, 1.28 meq ácido cítrico/kg de acidez titulable y viscosidad de 183000 cp (Quimbita Yupangui & Ruales Najera, 2018).

En 2019, se desarrolló un trabajo en el cual se hizo uso del EMC para la obtención de ocho postres y siete bebidas aplicando distintas técnicas de repostería, mixología y vanguardia. Entre las muchas preparaciones se encuentran cheesecake, crema, helados, salsa, petit fours, cóctel, milkshake, smoothie y té (Rivera Cepeda, 2019).

Simultáneamente, se encuentran también patentes haciendo uso del EMC para la producción de bebidas probióticas (Reyes Ramos Natividad, 2019), aprovechando así su característico sabor y olor tropical. En esta patente se obtiene un producto a base del EMC mediante diferentes pasos: homogenización de la pulpa, agregado de azúcares, ácidos y conservantes, mezcla, filtración y pulido, pasteurización y envasado.

En 2021, en la Universidad Industrial de Santander se realizó un estudio comparando el EMC y el medio Hestrin y Schramm como sustratos de crecimiento del *Gluconacetobacter xylinus* para la producción de celulosa bacteriana. Los resultados mostraron que el EMC crudo, que tiene un alto contenido de azúcar, bajo pH y fuentes limitadas de nitrógeno, no era apto para el crecimiento de la bacteria. Sin embargo, la dilución del EMC y la suplementación con una fuente de nitrógeno permitió la producción de la biocelulosa bacteriana (Saavedra-Sanabria et al., 2021).

En 2022, se encontró una contribución en la cual se realiza un análisis del balance de masa y análisis composicional de la biomasa de frutos de cacao a lo largo de un año. Entre los datos se encuentran resultados de estudio del EMC donde se reporta que el fruto de cacao usado contiene un $4.13 \pm 0.80\%$ en peso de EMC. Informa también características fisicoquímicas como la cantidad

COMPOSICIÓN QUÍMICA DE EDULCORANTES A PARTIR DE EMC

de carbohidratos, nutrientes, polifenoles, el valor calórico entre otros (Vergara-Mendoza et al., 2022).

Finalmente, el grupo GIFTEX reportó la obtención de jarabes a partir del EMC utilizando evaporación por calentamiento (Beltrán Pérez & Romero Hernández, 2019). Sin embargo, la evaporación por calentamiento podría causar caramelización y reacciones de Maillard, en las cuales es posible la formación de metilfurfurales.

4. Metodología

4.1 Etapa 1.

Obtención de edulcorantes a partir de exudado del mucílago de cacao utilizando la técnica de deshidratación variando la temperatura y pH.

4.1.1 *Extracción del EMC*

Siguiendo el procedimiento dispuesto por el grupo de investigación y reportado por Vergara-Mendoza *et al.* (2022) se realizó la extracción del EMC.

Se recolectó la fruta de cacao del gen FEC2 de la plantación ubicada en el municipio de San Vicente de Chucurí en Santander, Colombia (latitud: 6°52'59" N, longitud: 73°25'1" O).

Para la realización del balance de masa se pesó la materia prima previamente. Se abrieron las mazorcas de cacao y se separaron los granos, de la placenta y de la cáscara; las semillas fueron llevadas a un reactor de fermentación (contenedor de acero inoxidable de doble pared provisto de

COMPOSICIÓN QUÍMICA DE EDULCORANTES A PARTIR DE EMC

una malla interior diseñado y construido por nuestro grupo de investigación) en donde se recolectó el EMC. Finalmente, el EMC se almacenó en recipientes metálicos en un refrigerador a -20 °C.

4.1.2 Determinación de sólidos solubles totales en el EMC

La medición de sólidos solubles totales (grados Brix) se realizó con un refractómetro. La calibración del equipo se realizó con agua desionizada a 20 °C (Brewster, 1924).

4.1.3 Determinación de sólidos totales en el EMC

Se siguió la metodología de Beltrán Pérez & Romero Hernández (2019). Se pesaron 25 g de EMC y se secaron en un horno por 24 horas a 105 °C. Los análisis fueron realizados por triplicado. Los resultados se expresan en mg/100 g de muestra.

4.1.4 Obtención del edulcorante a partir del EMC

La obtención de los jarabes se realizó mediante deshidratación en un equipo DY-110H de Lassele (rango de temperatura de 20-70 °C; voltaje 220 V; frecuencia 70 Hz; procedencia Corea).

4.1.5 Diseño experimental

Se empleó un diseño factorial 2^k con $k=2$ y tres puntos centrales (Tabla 1).

Tabla 1.

Diseño factorial 2^K .

Rótulo del experimento		Condiciones del diseño	
Experimento	Código de la	Temperatura (°C)	pH

COMPOSICIÓN QUÍMICA DE EDULCORANTES A PARTIR DE EMC

muestra			
1	S1	70	4
2	S2	70	5
3	S3	60	4
4	S4	60	5
5	S5	65	4.5
6	S6	65	4.5
7	S7	65	4.5

4.1.6 Ajuste de pH

Se tomaron 1000 ± 10 mL de EMC y se descongelaron. Posteriormente, se midió el pH del EMC con ayuda de un pH metro (Mettler Toledo). El proceso de alcalinización se realizó añadiendo NaHCO_3 grado alimenticio bajo agitación magnética. De esta forma las muestras de EMC se llevaron al pH deseado para cada experimento (Ver tabla 1).

4.1.7 Deshidratación de la muestra

Cada muestra de 1000 ± 10 mL de EMC alcalinizado se llevó en un azafate al deshidratador DY-110H de Lassele (Grupo GIFTEX, Universidad Industrial de Santander) y se colocaron en la parte superior del deshidratador. Antes de comenzar el proceso, se precalentó el equipo a la temperatura determinada para cada experimento (ver tabla 1). Se realizaron mediciones cada 30

COMPOSICIÓN QUÍMICA DE EDULCORANTES A PARTIR DE EMC

minutos de los sólidos solubles totales de la muestra, dichas mediciones se realizaron por triplicado. La deshidratación se realizó hasta alcanzar una concentración de sólidos solubles totales de aproximadamente 71 °Brix. Cada experimento se realizó por separado con un calentamiento continuo.

4.2 Etapa 2.

Evaluación de la influencia de la temperatura y el pH sobre la composición del edulcorante líquido obtenido

4.2.1 *Determinación de las propiedades fisicoquímicas*

4.2.1.1 pH Se preparó una solución disolviendo 2.0 gramos de jarabe en 20 mL de agua doblemente desionizada y se determinó su pH a temperatura ambiente utilizando un pH-metro calibrado para la medición (Boland et al., 1981).

4.2.1.2 Color Para la determinación del color se utilizó la ecuación que relaciona los °Brix y la absorbancia del jarabe, obteniendo un resultado en unidades de color ICUMSA (Beltrán Pérez & Romero Hernández, 2019). El color en las muestras de EMC y jarabe se determinaron siguiendo la norma GS 1/3-7 (2011). Se pesaron 2.0 gramos de muestra y se diluyeron con agua doblemente desionizada en un balón de 20 mL; se transfirió la solución resultante a un vaso de precipitado, se ajustó el pH a 7.00 empleando NaOH 0.1 M y se determinó el contenido de sólidos solubles empleando un refractómetro. Se filtró la solución usando microfiltros de membrana con tamaño de poro de 0.45 μm y finalmente se determinó la absorbancia a 420 nm usando como referencia agua.

COMPOSICIÓN QUÍMICA DE EDULCORANTES A PARTIR DE EMC

$$Color IU_{420} = \frac{Abs \cdot 100 \cdot 1000}{^{\circ}Brix \cdot b}$$

donde, Abs es la absorbancia de la muestra a 420 nm, °Brix es la concentración de sólidos solubles totales y b es la longitud de la celda (1 cm).

4.2.1.3 Turbidez. Para la determinación de la turbidez se utilizó la ecuación que relaciona los °Brix y la absorbancia del jarabe, obteniendo un resultado en unidades de UI (Beltrán Pérez & Romero Hernández, 2019). La turbidez en EMC y jarabes se midió siguiendo la norma GS 2/3-18 (2013) y consistió en pesar 2.0 gramos de muestra, luego se disolvió con agua doblemente desionizada en un balón aforado de 20 mL. La solución se dividió en dos fracciones, una de ellas se filtró mediante microfiltros con tamaño de poro de 0.45 µm. Finalmente, se determinó la absorbancia de las muestras a 420 nm usando agua como blanco.

$$Turbidez IU_{420} = \frac{(Abs_{sinsin filtrar} - Abs_{filtrada}) \cdot 100 \cdot 1000}{^{\circ}Brix \cdot b}$$

donde, Abs es la absorbancia de la muestra a 420 nm, °Brix es la concentración de sólidos solubles totales y b es la longitud de la celda (1 cm).

4.2.2 .Determinación y cuantificación de azúcares y ácidos orgánicos

4.2.2.1 Cuantificación de azúcares. Los azúcares presentes en el EMC y en los edulcorantes fueron cuantificados mediante cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC), con detector de índice de refracción, siguiendo el método propuesto por Durán & Cabezas (2019). Los análisis fueron realizados a 30 °C en un cromatógrafo de inyección automática (Agilent 1100/1200, Central-Universidad Industrial de Santander) equipado con una columna

COMPOSICIÓN QUÍMICA DE EDULCORANTES A PARTIR DE EMC

SUPELCOGEL C610-H (PS/DVB, longitud 30 cm, diámetro 7.8 mm, tamaño de partícula 9 μm) a 30 °C. Las separaciones fueron llevadas a cabo en modo isocrático con fase móvil de solución acuosa (0.1% ácido fosfórico - H_3PO_4). Se trabajó con un flujo de 0.6 mL/min, y un volumen de inyección de 10 μL y un tiempo de corrida por muestra de 20 minutos. La fase móvil se preparó tomando el volumen adecuado de H_3PO_4 al 85% y diluyendo con agua doblemente desionizada (Milli-Q ® Integra, MERCK) en un balón aforado clase A.

Los azúcares presentes en los jarabes fueron identificados empleando los tiempos de retención t_R de patrones. Para la cuantificación, se realizaron curvas de calibración externa empleando patrones de sacarosa, glucosa y fructosa en concentraciones de 0.5, 1, 1.5, 5, 6, 7, 10, 15, 18, 19 y 20 g/L; a partir de diluciones de la solución stock de 50 g/L de cada azúcar. Para la solución stock se diluyeron 5.0000 ± 0.0001 g de cada patrón hasta 100 mL con agua doblemente desionizada.

Para el análisis del EMC, 1 mL de muestra fue aforado con agua doblemente desionizada en un balón de 20 mL. Para el análisis de los jarabes, 1.3 gramos fueron diluidos con agua doblemente desionizada en un balón de 100 mL. Todas las muestras y los patrones se microfiltraron en filtros (FilterBIO, PDVF) con tamaño de poro de 0.45 μm . Todos los análisis fueron realizados por triplicado.

4.2.2.2 Cuantificación de ácidos orgánicos. Los ácidos orgánicos presentes en el EMC y en los edulcorantes se determinaron por cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC) con detector de arreglo de diodos (DAD) a una longitud de onda de 210 nm siguiendo el método recomendado para la determinación de ácidos orgánicos en jugos de frutas con columna de

COMPOSICIÓN QUÍMICA DE EDULCORANTES A PARTIR DE EMC

intercambio iónico (*Determination of Organic Acids in Wine and Fruit Juices with Ion Exclusion Chromatography*, s. f.). Los análisis se realizaron en un cromatógrafo (Agilent 1100/1200, Central-Universidad Industrial de Santander) con inyección automática equipado con una columna SUPELCOGEL C610-H (PS/DVB, longitud 30 cm, diámetro 7.8 mm, tamaño de partícula 9 μm) a una temperatura de 30 °C. Las separaciones se realizaron en modo isocrático, con fase móvil de solución acuosa (0.1% ácido fosfórico, H_3PO_4), flujo de 0.5 mL/min, volumen de inyección de 10 μL y un tiempo de corrida por muestra de 30 minutos. La fase móvil se preparó tomando el volumen adecuado de H_3PO_4 al 85% y diluyendo con agua doblemente desionizada (Milli-Q® Integra, MERCK) en un balón aforado clase A.

La identificación de los compuestos se realizó usando los tiempos de retención t_R de compuestos patrón. Para la cuantificación, se realizaron curvas de calibración externa empleando patrones de ácido cítrico en concentraciones de 1, 2, 5, 7, 12, 14 y 15 g/L; ácido málico en concentraciones de 0.5, 1, 1.5, 3, 4, 7, 7.5 y 8 g/L; ácido láctico y ácido tartárico en concentraciones de 0.02, 0.05, 0.1, 0.15, 0.2, 0.5, 0.8 y 1 g/L; y ácido fumárico en concentraciones de 0.0005, 0.002, 0.004, 0.005, 0.009, y 0.01 g/L a partir de diluciones de la solución stock de 50 g/L de cada ácido, excepto para el ácido fumárico cuya solución stock fue de 4 g/L. Para la solución stock se tomó la cantidad necesaria de cada patrón de acuerdo con su pureza y se diluyó hasta 100 mL con agua doblemente desionizada.

Para el análisis del EMC, el jugo no se diluyó. Para el análisis de los jarabes, se pesaron 5.0 gramos en un vaso de precipitado y se diluyeron con 10-15 mL de agua doblemente desionizada, seguidamente se pasaron a un balón aforado de 25 mL realizando lavados y aforando

COMPOSICIÓN QUÍMICA DE EDULCORANTES A PARTIR DE EMC

con agua doblemente desionizada. Todas las muestras y los patrones se filtraron mediante microfiltros (FilterBIO, PDVF) con tamaño de poro de 0.45 μm .

4.2.3 Determinación y cuantificación de HMF y Cadmio

4.2.3.1 Determinación de 5-hidroximetilfurfural. El contenido de 5-(hidroximetil)furfural presente en el EMC y en los edulcorantes se determinó por cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC) con detector de arreglo de diodos (DAD) a una longitud de onda de 280 nm, siguiendo el método propuesto por Driffield *et al.* (2005). Los análisis se realizaron en un cromatógrafo (Agilent 1100/1200, Central-Universidad Industrial de Santander) con inyección automática equipado con una columna Eclipse XDB-C18 RRHT (longitud 25 cm, diámetro 4.6 mm, tamaño de partícula 1.8 μm) a una temperatura de 30 °C. Las separaciones se llevaron a cabo en modo isocrático, con fase móvil de solución acuosa (acetonitrilo-agua 8-92 v/v), flujo de 1 mL/min, volumen de inyección de 50 μL , una temperatura del DAD de 35 °C y un tiempo de corrida por muestra de 20 minutos. La fase móvil se preparó tomando el volumen adecuado de acetonitrilo y diluyendo con agua doblemente desionizada tratada (Milli-Q ® Integra, MERCK) en un balón aforado clase A.

La identificación del HMF se realizó usando el tiempo de retención t_R de la solución patrón. Para la cuantificación, se realizó una curva de calibración externa empleando el patrón de HMF en concentraciones de 0.5, 1, 1.5, 2.2, 3, 4.5, 5, 5.5, y 6 mg/L; a partir de diluciones de la solución stock de 200 ppm. Para la solución stock se pesaron 20.0 ± 0.1 mg del patrón y se diluyó hasta 100 mL con agua doblemente desionizada.

COMPOSICIÓN QUÍMICA DE EDULCORANTES A PARTIR DE EMC

Para el análisis del EMC se tomó el jugo sin diluir. Para el análisis de los jarabes, se pesaron 5.0 gramos en un vaso de precipitado y se diluyeron con 10 mL de agua doblemente desionizada, seguidamente se pasaron a un balón aforado de 25 mL y se terminó de aforar con agua doblemente desionizada. Todas las muestras y los patrones se filtraron mediante microfiltros (FilterBIO, PDVF) con tamaño de poro de 0.45 μm .

4.2.3.2 Cuantificación de cadmio. La cuantificación de cadmio en los jarabes obtenidos (Ver Tabla 1) se realizó siguiendo el método 999.11 de la AOAC (1998) (J. AOAC Int, 2002).

Lavado de material

El lavado del material se realizó para evitar la contaminación cruzada. Brevemente, se llevó a cabo un lavado inicial seguido de dos enjuagues con jabón Extrán al 1%, el jabón fue retirado con abundante agua. Posteriormente, el material fue lavado varias veces con agua doblemente desionizada y sumergido en solución HNO_3 1M durante 5 horas agitando cada 20 min para cubrir toda la superficie. Luego, se lavó 5 veces con abundante agua doblemente desionizada, se secó por gravedad y se almacenó para cuidarlo de la contaminación.

Curva de calibración

La cuantificación de cadmio se realizó mediante curva de calibración externa. Para ello, se preparó una solución stock de 28 ppm tomando 7 mL de un patrón certificado de cadmio de 1000 ppm y diluyendo hasta 250 mL con HNO_3 0.1 M. De la solución stock se tomaron alícuotas para preparar los puntos de la curva de calibración, estos datos se muestran en la tabla 2.

Tabla 2.

COMPOSICIÓN QUÍMICA DE EDULCORANTES A PARTIR DE EMC

Curva de calibración de Cd.

Alícuota de la solución stock (mL)	Volumen del aforo (mL)	Concentración del patrón (mg/L)
0	50	0.000
0.2	50	0.112
0.4	50	0.224
0.9	50	0.504
1.4	50	0.784
2.0	50	1.120
2.7	50	1.512

Digestión

Se pesaron 2.5 gramos de cada muestra homogenizada, se colocaron en los crisoles previamente lavados y se llevaron a estufa por 12 horas a 105 °C; seguido, se llevó a la mufla (Carbolite, 220 V, 50-60 Hz, 2627 W, tipo CWF 12/13) con una programación de temperatura de 85 °C/h hasta 450 °C permaneciendo en esta temperatura por 3 horas. Seguidamente, se realizó una digestión ácida, para ello se adicionaron 5 mL de ácido clorhídrico al 37% asegurándose que toda la ceniza tuviera contacto con el ácido. Se evaporó el ácido mediante calentamiento en una plancha de calentamiento. Después, se disolvieron los residuos con 10-20 mL de HNO₃ al 0.1 M.

COMPOSICIÓN QUÍMICA DE EDULCORANTES A PARTIR DE EMC

Se agitó el crisol cada 20 minutos por 2 horas para que toda la ceniza tuviera contacto con el ácido. Luego, se transfirió a un balón aforado de 50 mL usando un embudo debidamente lavado y purgado. Se hizo uso de un filtro franja negra para evitar la transferencia del sólido al balón aforado realizando varios lavados con HNO_3 al 0.1 M para pasar cualquier rastro de muestra. Se adicionaron 0.9 mL de la solución stock de Cd para amplificar la señal en el equipo de absorción atómica. Por último, se aforó el balón y se transfirió el contenido a una botella de polipropileno forrada y debidamente rotulada.

Análisis de cadmio

La determinación de cadmio de las muestras se realizó en un espectrómetro de absorción atómica (Thermo Electro Corporation, modelo S4 AA System, Central-Universidad Industrial de Santander) a una longitud de onda de 228.8 nm con una llama de aire-acetileno, se midieron las absorbancias de la curva de calibración y de las muestras de jarabes.

5. Resultados y discusión

5.1 Obtención de edulcorantes a partir de exudado del mucílago de cacao

Los jarabes se concentraron hasta alcanzar 71 °Brix (Ver tabla 4). Se obtuvieron en promedio 145.129 ± 14.315 gramos de jarabe a partir de los 1000 ± 10 mL de EMC. Esto indica que la relación jarabe:mucílago de cacao es de 1:7.8. La tabla 3 muestra la cantidad de bicarbonato de sodio usado en el proceso de alcalinización del EMC y el valor de pH final del EMC que será usado para la obtención del jarabe.

COMPOSICIÓN QUÍMICA DE EDULCORANTES A PARTIR DE EMC

Tabla 3.*Ajuste de pH de los experimentos.*

Muestra	Cantidad de NaHCO ₃ (g) ^a	pH inicial ^b	pH final ^c
S1	2.3926	3.39	3.98
S2	6.0391	3.37	4.99
S3	2.4436	3.35	4.00
S4	6.2459	3.35	4.96
S5	4.7232	3.40	4.56
S6	4.2432	3.37	4.45
S7	4.2935	3.36	4.46

a: Los valores corresponden a la cantidad de bicarbonato añadido a cada EMC usado en cada tratamiento.

b. pH inicial del EMC.

c. pH final del EMC alcalinizado que posteriormente se usará para preparar el edulcorante.

COMPOSICIÓN QUÍMICA DE EDULCORANTES A PARTIR DE EMC

Tabla 4.

Duración de la deshidratación, peso del EMC y peso y densidad final del jarabe.

Muestra	Tiempo (min)^a	Peso inicial de EMC (g)	Peso final del jarabe (g)	Densidad (g/mL)
S1	290	1129,4	144.3	1.028
S2	300	1129,4	156.0	1.099
S3	360	1129,4	118.5	1.033
S4	360	1129,4	163.0	1.088
S5	330	1129,4	142.5	1.108
S6	330	1129,4	139.7	1.090
S7	330	1129,4	151.9	1.104

a: Corresponde al tiempo máximo de duración de la deshidratación hasta llegar a la concentración de sólidos solubles totales de 71 °Brix.

COMPOSICIÓN QUÍMICA DE EDULCORANTES A PARTIR DE EMC

5.2 Propiedades fisicoquímicas de los edulcorantes.

Los resultados de las mediciones de pH, color y turbidez se muestran en la tabla 5. Los jarabes poseen turbidez debido a las partículas suspendidas, entre las cuales se encuentran las sales producidas en el proceso de alcalinización mediante la adición de NaHCO_3 . Se observa que los tratamientos obtuvieron un rango de turbidez de 5245.71 a 5902.70 UI.

Tabla 5.

Propiedades fisicoquímicas.

Edulcorante	pH	Color (UI)	Turbidez (UI)
S1	3.95	1747.8 ± 0.2	5902.7 ± 0.3
S2	4.99	1737.9 ± 0.3	5302.7 ± 0.2
S3	3.97	1813.8 ± 0.3	5777.1 ± 0.3
S4	5.00	1714.3 ± 0.3	5211.1 ± 0.2
S5	4.56	1714.3 ± 0.3	5697.3 ± 0.3
S6	4.40	1885.7 ± 0.3	5522.2 ± 0.2
S7	4.48	1621.4 ± 0.2	5245.7 ± 0.3

Por otro lado, la coloración de los jarabes depende de varios factores como la acidez, humedad y grados Brix en el EMC. De igual manera influye el pH, tipo y concentración de

COMPOSICIÓN QUÍMICA DE EDULCORANTES A PARTIR DE EMC

azúcares, área superficial, temperatura y tiempo de calentamiento. Esto se debe a que la coloración común de los edulcorantes se debe a la formación de moléculas complejas de bajo y alto peso molecular que representa tonalidades marrones claras a marrones oscuras respectivamente. Las coloraciones de los jarabes (Ver Figura 4) probablemente se presentaron por condensación de aldehídos y cetonas debido al calentamiento de azúcares con ácidos o bases (caramelización), formando compuestos coloreados principalmente furanos y ciclopentenonas y por reacciones de un grupo amino con azúcares reductores (Maillard) generando pirazinas.

Figura 4.

Tratamientos S1-S7.

a. S1



b. S2



c. S3



d. S4



e. S5

f. S6

g. S7

COMPOSICIÓN QUÍMICA DE EDULCORANTES A PARTIR DE EMC



Los tratamientos estudiados presentaron tonalidades de marrones según la escala ICUMSA (500 a 7000) (Azúcar y sus derivados. Método para determinación de color en azúcar morena, 1998) en comparación, este rango representa las tonalidades adquiridas entre soluciones de azúcar morena y soluciones de azúcar sin refinar (Giani, 2018).

5.3 Cuantificación de azúcares totales

Se identificó la presencia de sacarosa, fructosa y glucosa por la comparación de los tiempos de retención de los patrones en los cromatogramas de las muestras (Ver anexo A.2). Bajo las condiciones cromatográficas usadas, se encontró una relación lineal entre la concentración de los azúcares y la señal del detector de índice de refracción RID. En el anexo A.1 se puede observar que para todas las curvas de calibración se obtuvieron coeficientes de correlación (R^2) superiores a 0.99.

Tabla 6.

Cuantificación de azúcares en jarabes mediante HPLC.

COMPOSICIÓN QUÍMICA DE EDULCORANTES A PARTIR DE EMC

Muestra	Sacarosa (g/L)	Glucosa (g/L)	Fructosa (g/L)	Azúcares totales (g/L)	Azúcares totales (g/100g)^a
MUC06 b	18.27 ± 0.05	66.82 ± 0.06	72.98 ± 0.17	158.07 ± 0.19	13.99 ± 0.19
S1	69.59 ± 0.20	254.49 ± 0.22	277.95 ± 0.64	602.04 ± 0.71	58.58 ± 0.71
S2	180.50 ± 0.39	268.58 ± 0.64	291.49 ± 1.34	740.58 ± 1.53	67.38 ± 1.53
S3	129.77 ± 0.48	273.82 ± 0.33	298.50 ± 0.47	702.09 ± 0.75	67.98 ± 0.75
S4	172.71 ± 0.25	268.76 ± 0.37	292.05 ± 0.62	733.52 ± 0.76	67.42 ± 0.76
S5	149.95 ± 0.55	288.13 ± 0.32	314.17 ± 0.16	752.25 ± 0.66	67.88 ± 0.66
S6	126.53 ± 0.45	296.47 ± 0.19	323.92 ± 0.04	746.92 ± 0.49	68.52 ± 0.49
S7	115.68 ± 7.68	279.55 ± 8.63	300.37 ± 14.71	695.56 ± 18.70	62.99 ± 18.70

a: Teniendo en cuenta las densidades de las muestras. (Véase tabla 4)

b: Cuantificación de azúcares en el EMC (FEC2).

COMPOSICIÓN QUÍMICA DE EDULCORANTES A PARTIR DE EMC

En la tabla 6 se puede observar la concentración de azúcares totales determinados mediante HPLC. Los valores obtenidos son menores a los sólidos solubles totales (71 ± 0.5 °Brix) debido a que la medición con el refractómetro óptico no es selectiva, es decir, esta determinación puede incluir ácidos y proteínas presentes en el EMC o sales en los jarabes, formadas por la alcalinización del EMC con bicarbonato de sodio.

Las concentraciones de azúcares en el EMC coinciden con los reportados en la literatura, sin embargo, se observan variaciones debido al tipo de cacao analizado. Durán & Cabezas (2019) informaron para el EMC CCN-51, un contenido de azúcares de 15.32 ± 1.33 °Brix con 10.71 ± 4.13 g/L sacarosa, 60.60 ± 8.87 g/L glucosa y 80.68 ± 3.35 g/L de fructosa. Comparando el EMC de FEC2 y CCN-51 (especies de cacao cultivadas en Santander, Colombia), los contenidos de azúcares son similares, como lo muestra el estudio de Vergara-Mendoza *et al.* (2022) donde se encuentra un promedio de 75.54 ± 9.54 g/L, 67.15 ± 8.36 g/L y 14.08 ± 8.89 g/L de fructosa, glucosa y sacarosa respectivamente en muestras de EMC de 1 tonelada de cacao, de la especie CCN-51, recolectadas en todo un año. Por otro lado, en Brasil, González-Montemayor *et al.* (2019a) reportaron para el EMC un contenido de 32.50 ± 0.03 g/L y 45.80 ± 0.12 g/L de fructosa y glucosa, respectivamente.

El contenido de fructosa y glucosa, como se puede observar en la tabla 6, fue mayor en el tratamiento en el punto central del diseño experimental, S5-S7 (65 °C y pH 4.5). El contenido de sacarosa fue mayor en el tratamiento S2 (70 °C y pH 5.0), seguidamente del tratamiento S4 (60 °C y pH 5.0). Esto puede indicar que el pH influye en el contenido de sacarosa, puesto que condiciones de pH bajas se promueve la hidrólisis en sus monómeros (Suárez Guevara, 2013). Al comparar las

COMPOSICIÓN QUÍMICA DE EDULCORANTES A PARTIR DE EMC

concentraciones iniciales y finales de la fructosa, glucosa y sacarosa en el EMC y los jarabes, se comprueba el aumento en la concentración de los azúcares debido a la remoción de humedad. Sin embargo, el aumento fue mayor al esperado, lo que supone la presencia de polímeros como fructanos y/o polisacáridos. Se ha encontrado en la pulpa mucilaginosa que rodea el grano de cacao y su exudado, que entre los polisacáridos mayoritarios se tiene 0.5%–1.2% de pectina, 0.2–3% de hemicelulosa, 0.7–0.9% de celulosa, 0.1 - 0.3% de lignina (Meersman et al., 2017). Se ha reportado fructanos en la raíz del árbol de cacao (Mazzocco, 2019), sin embargo no se ha reportado en el fruto del cacao. Por otra parte, se ha determinado estos compuestos en otros jugos provenientes de frutas (Mellado-Mojica & López, 2015; Michel-Cuello et al., 2015), por lo tanto, en el proceso de deshidratación, los compuestos mencionados se pueden hidrolizar en sus monómeros (glucosa, fructosa, galactosa, ramnosa, entre otros) o disacárido (sacarosa). Por lo tanto, es posible que, a las condiciones operadas en cada tratamiento, la hidrólisis de los polisacáridos se viera favorecida reflejándose en el aumento del contenido de azúcares en los jarabes. Por otro lado, debido a que el contenido de sacarosa es menor a comparación del contenido de glucosa y fructosa en el EMC, se podría suponer la existencia de un equilibrio en la hidrólisis de la sacarosa en medio ácido con los resultados del contenido de azúcares en los jarabes (Suárez Guevara, 2013).

El contenido de azúcares en porcentaje p/p en los jarabes obtenidos fueron de 26.52 – 29.71%, 24.44 – 27.20% y 6.77 – 16.42% para fructosa, glucosa y sacarosa, respectivamente. La relación que existe entre glucosa y fructosa es 1:1. Se ha encontrado que la ingesta simultánea de estos monosacáridos facilita la absorción de la fructosa en el tracto gastrointestinal (Bogdanov

COMPOSICIÓN QUÍMICA DE EDULCORANTES A PARTIR DE EMC

et al., 2008) y se han reportados otros beneficios de formulaciones que contienen glucosa y fructosa sobre las poblaciones atléticas (Bogdanov et al., 2008).

Tabla 7.

Comparación de la concentración de azúcares con otros edulcorantes naturales.

	Jarabe de cacao^a	Miel de abeja	Jarabe de agave A tequilana	de Jarabe de arce
Sacarosa (g/100g)	15.87	0.56 - 1.66	4.0	51.1 - 68.8
Glucosa (g/100g)	24.70	27.78 - 32.35	15.0	0.094 - 1.12
Fructosa (g/100g)	26.84	32.26 - 42.42	71.0	0.055 - 1.00
Azúcares totales	67.43	60.60 - 76.43	90.0	52 - 70

a. Jarabe de cacao del presente estudio, corresponde a los datos del tratamiento S4.

COMPOSICIÓN QUÍMICA DE EDULCORANTES A PARTIR DE EMC

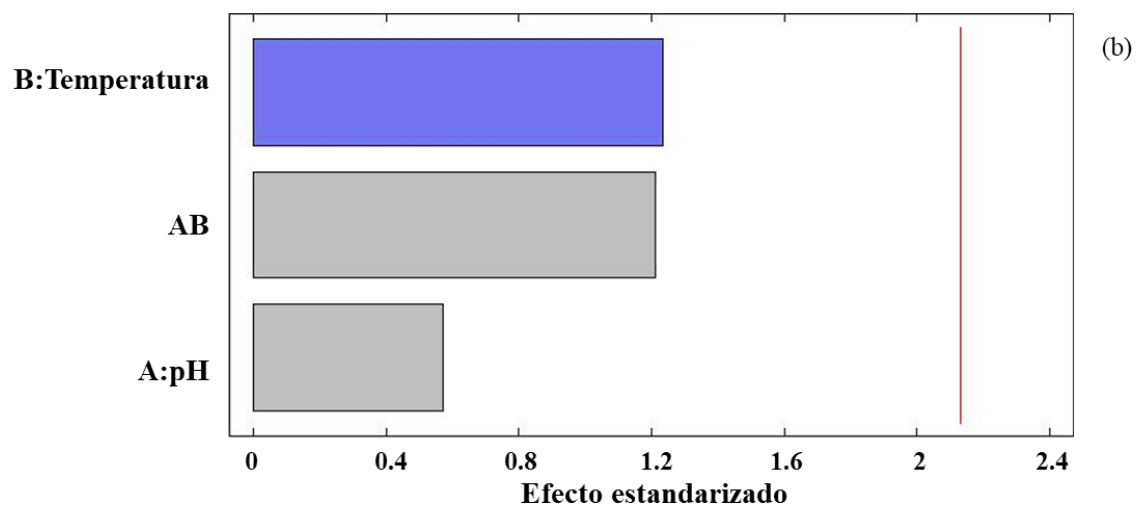
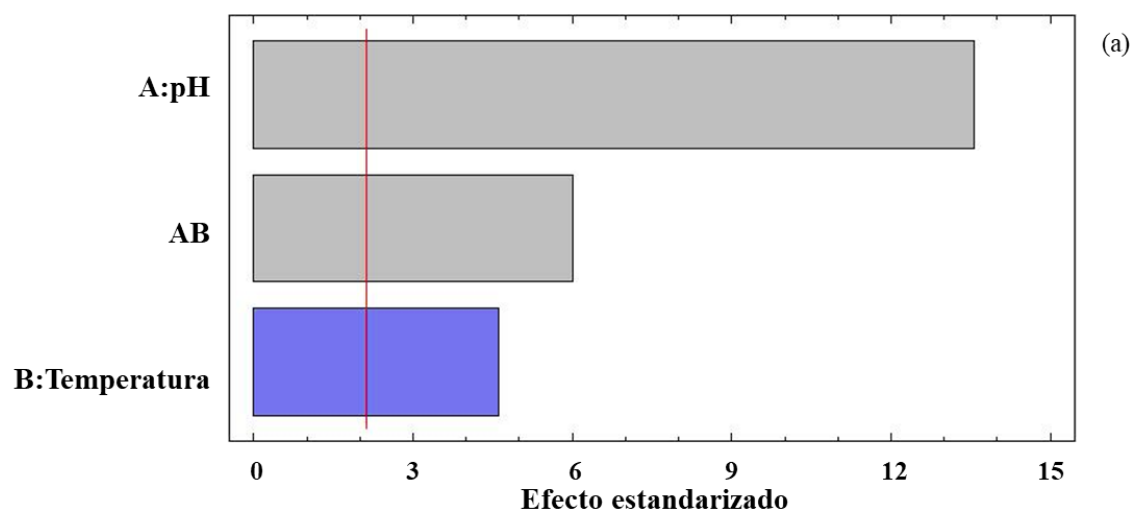
Los jarabes a partir de EMC tienen el potencial nutricional para competir con los edulcorantes comerciales (Ver tabla 7) de bajo índice glucémico como la miel, jarabe de arce y jarabe de agave (Foster-Powell et al., 2002). Además, un factor a favor de los jarabes estudiados es que su nivel de fructosa no es tan elevado como los edulcorantes mencionados, lo cual lo hace llamativo para la dieta alimenticia ya que se ha encontrado que el consumo excesivo de fructosa está relacionado con la acumulación de grasa en el hígado. Esto se asocia con enfermedades cardiovasculares, resistencia a la insulina (Bray et al., 2004), entre otros problemas de salud (Lustig et al., 2012).

Para evaluar el efecto de la temperatura y el pH sobre la concentración de azúcares en el diseño experimental planteado se realiza un análisis estadístico mediante un análisis de ANOVA expresado en diagramas de Pareto. La figura 5 muestra los diagramas de Pareto estandarizados para los carbohidratos estudiados.

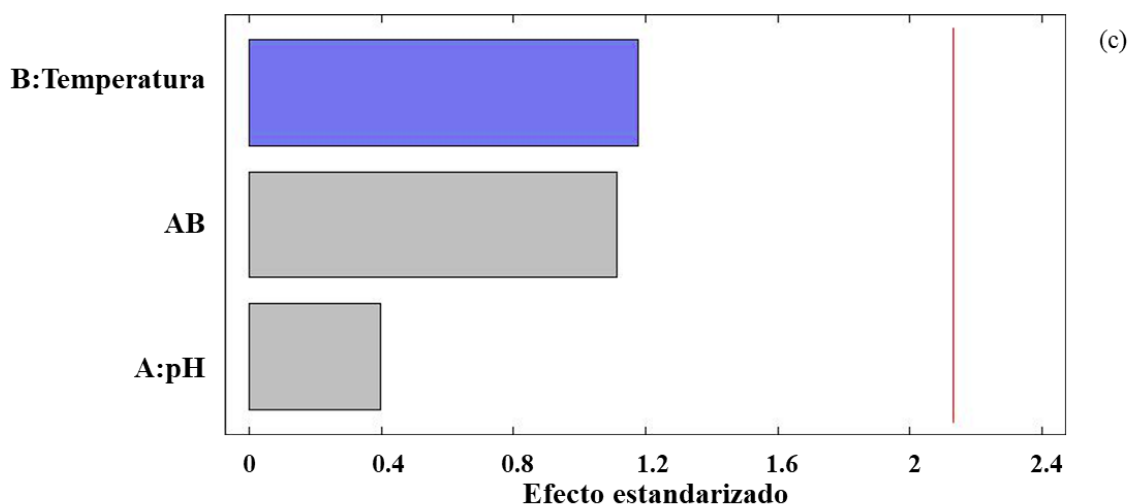
Figura 5.

Diagrama de Pareto estandarizado para la concentración de (a) sacarosa, (b) glucosa y (c) fructosa. (Azul: efecto negativo; Gris: efecto positivo)

COMPOSICIÓN QUÍMICA DE EDULCORANTES A PARTIR DE EMC



COMPOSICIÓN QUÍMICA DE EDULCORANTES A PARTIR DE EMC



El diseño experimental arrojó una desviación estándar de 2.14 y un R del 94.34 con un valor de confianza del 95% para el contenido de sacarosa. La variable temperatura, pH y la interacción entre éstas superaron el valor crítico ($P < 0.05$) como se ilustra en la figura 5 (a). Con este análisis se comprueba que el pH tiene un efecto positivo sobre la concentración de sacarosa en los edulcorantes, es decir, que los jarabes con pH alto tienen un contenido de sacarosa mayor porque este carbohidrato a estas condiciones no se degrada por hidrólisis. Mientras que la temperatura tiene un efecto negativo debido a que a mayores temperaturas se promueve la hidrólisis a sus monómeros fructosa y glucosa. Sin embargo, la interacción de estas variables tiene un efecto positivo.

Para el contenido de glucosa y fructosa, se obtuvo una desviación estándar de 2.99 y 3.39 y un R del 22.10 y 21.74 respectivamente, con un valor de confianza del 95%. En este caso, las variables temperatura y pH no superan el valor crítico ($P < 0.05$) como se ilustra en la figura 5 (b) y (c). Esto indica que no hay diferencias significativas en los rangos estudiados de temperatura y pH sobre el contenido de glucosa y fructosa en los edulcorantes. Asimismo, no se observa que la

COMPOSICIÓN QUÍMICA DE EDULCORANTES A PARTIR DE EMC

interacción de estas variables afecte las concentraciones de estos azúcares. Por otro lado, se tiene que la temperatura tiene un efecto negativo, esto indica que a mayores temperaturas se obtienen menores valores de las concentraciones de glucosa y fructosa. Este efecto era esperado y se asocia a reacciones de descomposición de los azúcares reductores (caramelización y Maillard).

5.4 Cuantificación de ácidos orgánicos

Para la determinación de ácido cítrico, málico, láctico, tartárico, fumárico, oxálico y acético se compararon los t_R de los patrones con los cromatogramas de las muestras (Véase anexo B.2). En los cromatogramas del EMC y jarabes, no se identificaron el ácido oxálico y acético. La cuantificación de los ácidos orgánicos identificados se realizó por curva de calibración. Bajo las condiciones cromatográficas usadas, se encontró una relación lineal entre la concentración de ácidos orgánicos y la señal del DAD. Para los ácidos orgánicos mayoritarios, los valores de R^2 fueron mayor a 0.99 (Ver anexo B.1).

Es de interés estudiar los ácidos orgánicos presentes en el EMC y jarabes debido a las contribuciones de estos compuestos sobre las propiedades organolépticas (color y sabor) y las propiedades fisicoquímicas (pH y acidez). En la tabla 8 se presenta el contenido de ácidos orgánicos en los tratamientos.

Tabla 8.

Cuantificación de ácidos orgánicos en jarabes de cacao mediante HPLC.

COMPOSICIÓN QUÍMICA DE EDULCORANTES A PARTIR DE EMC

Muestra	Ácido cítrico (g/L)	Ácido málico (g/L)	Ácido láctico (g/L)	Ácido tartárico (g/L)	Ácido fumárico (g/L)	Ácidos orgánicos totales (g/L)	Ácidos orgánicos totales (g/100g) ^a
MUC06 ^b	9.73 ± 0.02	5.09 ± 0.01	0.79 ± 0.07	0.35 ± 0.01	0.001 ± 0.0001	15.96 ± 0.08	1.41 ± 0.08
S1	54.98 ± 0.59	28.37 ± 0.45	1.98 ± 0.15	1.72 ± 0.09	0.021 ± 0.0006	87.07 ± 0.76	8.47 ± 0.76
S2	56.44 ± 0.35	31.96 ± 0.42	2.62 ± 0.13	1.88 ± 0.14	0.027 ± 0.0019	92.92 ± 0.58	8.45 ± 0.58
S3	51.94 ± 0.78	32.95 ± 0.07	1.93 ± 0.16	1.63 ± 0.10	0.019 ± 0.0015	88.46 ± 0.80	8.56 ± 0.80
S4	55.84 ± 0.33	31.72 ± 0.38	2.36 ± 0.14	1.77 ± 0.03	0.028 ± 0.0016	91.71 ± 0.52	8.43 ± 0.52
S5	56.58 ± 0.51	33.92 ± 0.57	2.19 ± 0.19	1.84 ± 0.18	0.026 ± 0.0013	94.55 ± 0.81	8.53 ± 0.81
S6	55.36 ± 0.25	34.47 ± 0.38	2.10 ± 0.10	1.79 ± 0.13	0.026 ± 0.0011	93.74 ± 0.48	8.59 ± 0.48

COMPOSICIÓN QUÍMICA DE EDULCORANTES A PARTIR DE EMC

S7	55.01 ± 0.20	34.26 ± 0.25	2.18 ± 0.15	1.78 ± 0.19	0.022 ± 0.0014	93.25 ± 0.40	8.44 ± 0.40
----	-----------------	-----------------	-------------	-------------	----------------	--------------	-------------

a: Teniendo en cuenta las densidades de las muestras (Ver tabla 4).

b: Cuantificación de ácidos orgánicos en el EMC (FEC2).

Para el caso del EMC variedad FEC2, se encontró que el ácido cítrico fue mayoritario, seguido por el ácido málico y en menor cantidad los ácidos láctico, tartárico y fumárico (Ver tabla 8). De manera similar, Anvoh *et al.* (2015) reportó que el ácido cítrico es el ácido mayoritario (9.14 ± 0.6 mg/L), seguido el ácido málico (3.36 ± 0.5 mg/L) y en menores concentraciones el ácido acético (2.28 ± 0.7 mg/L), ácido oxálico (1.27 ± 0.7 mg/L), ácido láctico (1.23 ± 0.1 mg/L) y ácido fumárico (0.02 ± 0.001 mg/L) para el EMC de cacao cultivado en Costa de Marfil. Sin embargo, al comparar los valores de las concentraciones con las halladas en esta investigación, se observa que los valores no coinciden. Al igual por su parte, Mian *et al.* (2022) reportó que el ácido tartárico es el mayoritario (9.45 ± 0.07 g/L), seguido del ácido cítrico (9.2 ± 1.13 g/L) y en menores concentraciones el ácido láctico (4.03 ± 0.02 g/L), ácido acético (0.89 ± 0.01 g/L) y ácido fumárico (0.062 ± 0.001 g/L) en el EMC del mismo país. Los valores de las concentraciones de los ácidos láctico y fumárico en este proyecto coinciden con lo reportado; sin embargo las variaciones con respecto a la literatura se atribuyen al tipo de cacao analizado, además de factores de cultivo del fruto. El porcentaje de ácidos totales cuantificados (1.41% p/p) está dentro del rango de porcentajes de acidez reportados para el EMC en otras contribuciones (Guirlanda *et al.*, 2021; Vallejo Torres

COMPOSICIÓN QUÍMICA DE EDULCORANTES A PARTIR DE EMC

et al., 2016). Para el caso del cacao cultivado en Colombia, se reportó la concentración de ácido cítrico en la variación CCN-51 y fue de 0.5 g/L (Durán & Cabezas, 2019) por medio de HPLC-RID, sin embargo, no se había reportado el perfil de ácidos orgánicos expuestos en la presente investigación.

Para el caso de los jarabes, los resultados indican alto porcentaje de ácidos orgánicos (8.44 - 8.59% p/p) en comparación a edulcorantes líquidos comerciales como la miel (0.5% p/p) (González-Montemayor et al., 2019b; Suárez-Luque et al., 2002), jarabe de agave (<0.01% p/p) (González-Montemayor et al., 2019d; Willems & Low, 2012) y jarabe de arce (0.5% p/p) (González-Montemayor et al., 2019c; Perkins & van den Berg, 2009). Dichos resultados se reflejan en las propiedades sensoriales (Wang et al., 2022) como el sabor y olor de los edulcorantes realizados a partir del EMC. Por tal motivo, los jarabes se convierten en una fuente rica en ácidos orgánicos con alto valor nutricional.

Se ha reportado que los ácidos orgánicos estudiados en esta investigación presentan propiedades antioxidantes, antiinflamatorias y antibacterianas entre otras propiedades (An et al., 2020). También se sabe que la concentración de azúcar, el pH bajo, los compuestos fenólicos y el contenido de proteínas presentes en la miel proporcionan actividad antimicrobiana (González-Montemayor et al., 2019a), por lo tanto se requiere más estudios sobre las actividades potenciales del edulcorante a partir del EMC para conocer sus verdaderos beneficios.

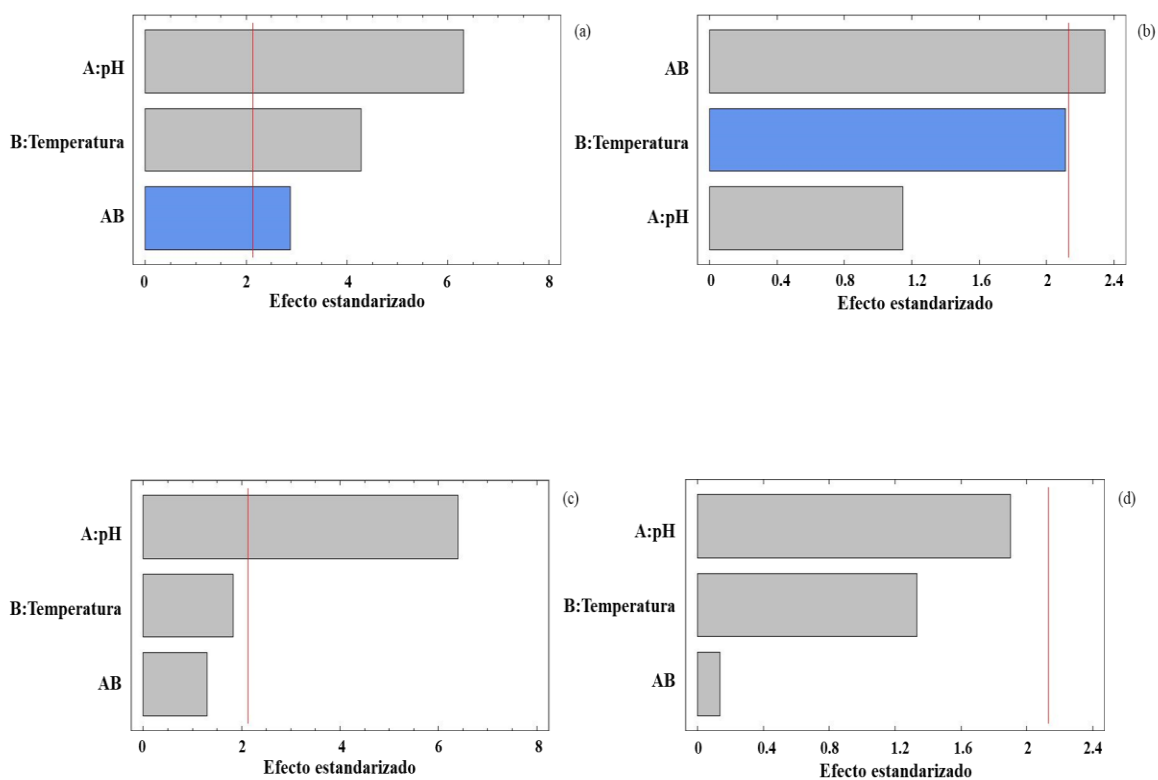
Para evaluar el efecto de la temperatura y el pH y la relación entre estas sobre la concentración de ácidos orgánicos en el diseño experimental planteado se realiza un análisis

COMPOSICIÓN QUÍMICA DE EDULCORANTES A PARTIR DE EMC

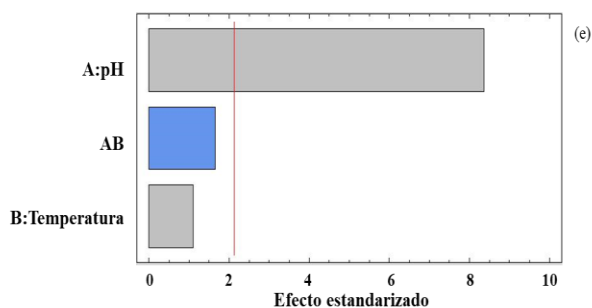
estadístico mediante un análisis de ANOVA expresado en diagramas de Pareto. La figura 6 muestra los diagramas de Pareto estandarizados para los ácidos estudiados.

Figura 6.

Diagrama de Pareto estandarizado sobre la concentración de (a) ácido cítrico, (b) ácido málico, (c) ácido láctico, (d) ácido tartárico y (e) ácido fumárico. (Azul: efecto negativo; Gris: efecto positivo)



COMPOSICIÓN QUÍMICA DE EDULCORANTES A PARTIR DE EMC



El diseño experimental arrojó una desviación estándar de 0.16 y un R del 82.66 con un valor de confianza del 95% para el contenido de ácido cítrico. La variable temperatura, pH y la interacción entre éstas superaron el valor crítico ($P < 0.05$) como se ilustra en la figura 6 (a). Con este análisis se encontró que el la temperatura tiene un efecto positivo sobre la concentración de ácido cítrico en los edulcorantes, es decir, que a altas temperaturas se obtiene más contenido de ácido cítrico en los jarabes. Sin embargo, la interacción entre el pH y la temperatura tiene un efecto negativo.

Para el contenido de ácido málico, se obtuvo una desviación estándar de 0.39 y un R del 43.08 con un valor de confianza del 95%. En este caso, la interacción entre las variables temperatura y pH superaron el valor crítico ($P < 0.05$) como se ilustra en la figura 6 (b). Mientras que las variables estudiadas no mostraron diferencias significativas sobre el contenido de ácido málico. Sin embargo, se encontró que la temperatura tiene un efecto negativo, lo que indica que a mayores temperaturas se promueven reacciones de caramelización o Maillard por los grupos carboxílicos de los ácidos y azúcares reductores.

Para el contenido de ácido láctico y ácido fumárico, se obtuvo una desviación estándar de 0.04 y 0.0003 y un R del 75.87 y 84.63 respectivamente, con un valor de confianza del 95%. En

COMPOSICIÓN QUÍMICA DE EDULCORANTES A PARTIR DE EMC

este caso, el pH supera el valor crítico ($P < 0.05$) como se ilustra en la figura 6 (c) y (e). Por otro lado, la temperatura y la interacción de las dos variables no mostraron diferencias significativas sobre la concentración de estos ácidos. Para el caso del ácido láctico, las variables y su interacción mostraron un efecto positivo, mientras que para el ácido fumárico la interacción muestra un efecto negativo.

Para el contenido de ácido tartárico, se obtuvo una desviación estándar de 0.03 y un R del 29.40 con un valor de confianza del 95%. En este caso, las variables y su interacción no superaron el valor crítico ($P < 0.05$) como se ilustra en la figura 6 (d). Ahora bien, se muestra que producen un efecto positivo las variables y su interacción, sobre el contenido del ácido tartárico.

5.5 Determinación de 5-hidroximetilfurfural

Para la determinación del HMF en las muestras no se realizó un tratamiento de limpieza. Esta decisión se encuentra soportada por el estudio de Zappalà *et al.* (2005) en donde se comparan 3 metodologías de análisis de HMF en muestras de miel, y se concluye que con el análisis por HPLC - solo diluyendo la muestra en agua y filtrando una vez - se obtienen buenos resultados. Además, la metodología usada también fue aplicada a muestras acuosas como el brandy y otros licores, en los cuales se detectaron furfural y HMF por este método (Jeuring & Koppers, 1980).

La cuantificación del HMF se realizó utilizando una curva de calibración externa. Bajo las condiciones cromatográficas usadas, se encontró una relación lineal entre la concentración del HMF y la señal del DAD. En el anexo C.1 se puede observar que en la curva de calibración se obtuvo un coeficiente de correlación (R^2) de 0.9999.

COMPOSICIÓN QUÍMICA DE EDULCORANTES A PARTIR DE EMC

Tabla 9.*Resultados del análisis de HMF.*

Anexo	Muestra	tr^a	
Anexo C.2. A	Patrón 1	6.92	
Anexo C.2. B	Mucílago	6.77	
Anexo C.2. C	S1	6.79	
Anexo C.2. D	S2	6.45	6.83
Anexo C.2. E	S3	6.79	
Anexo C.2. F	S4	6.47	6.96
Anexo C.2. G	S5	6.63	
Anexo C.2. H	S6	6.66	
Anexo C.2. I	S7	6.68	
Anexo C.2. J	Patrón 2	6.58	
Anexo C.2. K	JR	6.34	6.65
Anexo C.2. L	JR + HMF	6.35	6.61

COMPOSICIÓN QUÍMICA DE EDULCORANTES A PARTIR DE EMC

a t_R : tiempo de retención (tiempos de retención más aproximado al tiempo de retención del patrón de HMF)

Al realizar el análisis de los jarabes se obtuvo como se observa en los anexos C.2. A-I, cromatogramas limpios con un pico solapado en el tiempo de retención de 6.59 min correspondiente al del patrón de HMF. Se realizó el respectivo análisis de estos resultados usando la opción de deconvolución del programa gráfico Origin. Los resultados como se pueden apreciar en la tabla 9, muestran una posible formación del compuesto 5-(hidroximetil)furfural en las muestras de jarabes S2 y S4 en pequeñas cantidades teniendo en cuenta los tiempos de retención del último pico de los compuestos coeluidos. Debido a la coelución de los dos compuestos en la región del estándar, se procedió a realizar una prueba de enriquecimiento de una de las muestras para confirmar la presencia del HMF.

Los resultados del experimento fueron concluyentes, como se puede observar en la tabla 9 y los anexos C.2.K y C.2.L. Se observa que la muestra S4 enriquecida con HMF presenta un aumento de la intensidad de la señal en el tiempo de retención correspondiente al patrón comparado con la misma muestra sin enriquecimiento. A partir de los resultados de esta prueba se concluye que con los tratamientos S2 (70 C, pH 5) y S4 (60 C, pH 5) se forma HMF (Capuano & Fogliano, 2011; Shapla et al., 2018). La formación de HMF puede resultar de la reacción de Maillard como se ha reportado ampliamente (Gökmen et al., 2008; Kroh, 1994). De esta manera se infiere que los tratamientos a pH 4 y 4.5 poseen señales con t_R muy cercanos al patrón de HMF debido a la posible

COMPOSICIÓN QUÍMICA DE EDULCORANTES A PARTIR DE EMC

formación de intermediarios, de la reacción de Maillard, con estructuras y propiedades químicas similares, como por ejemplo los compuestos de Amadori.

Se ha encontrado la presencia de HMF en varios alimentos a lo largo de los años. Zappalà *et al.* (2005) encontraron un promedio de entre 0 y 108.8 ± 18.82 mg/kg en mieles de diferente origen floral. Gaspar & Lucena (2009) encuentran en muestras como miel, caramelo, azúcar blanca y morena y jugo de manzana concentraciones de 24.9 mg/kg, 1500.1 mg/kg, 3.9 mg/kg, 83.5 mg/kg, 0.2 mg/L y 0.2 mg/L respectivamente; al igual Vorlová *et al.* (2006) encontraron la presencia de HMF en mermeladas de frutas y tomate en diferentes preparaciones. Por su parte, Yuan & Chen (1998) encontraron concentraciones que varían entre 1.0 y 21.9 en muestras de jugos de frutas y bebidas. Además, también se ha encontrado la presencia de HMF en comidas para bebés, Vorlová *et al.* (2006) encontraron concentraciones entre 2.06 ± 0.07 y 9.76 ± 0.08 mg/kg y Petrarca *et al.* (2020) hallaron concentraciones entre 2.3 y 195.4 μ g/kg.

Tal como muestran los resultados de Lee *et al.* (2014), las frutas tropicales como el tamarindo y la piña presentaron más concentración de HMF que otras frutas como guayaba, guanábana y otras frutas mixtas. Esto recae en que se puede dar la formación del HMF, además del uso de altas temperaturas durante los procesos de producción y fabricación, por deshidratación directa de azúcares en condiciones ácidas durante los tratamientos térmicos aplicados a los alimentos (Capuano & Fogliano, 2011; Kroh, 1994; Tsai *et al.*, 2009). Mientras tanto, otros estudios demuestran que la cantidad de esfuerzo aplicado en el proceso de producción y fabricación de las muestras, traducido en procesos como calentamiento, tostado y secado, favorece la formación del 5-(hidroximetil)furfural pues facilitan tanto la reacción de Maillard como la

COMPOSICIÓN QUÍMICA DE EDULCORANTES A PARTIR DE EMC

caramelización como es el caso del proceso aplicado a jugos de fruta contra el de producción de café, chocolate o tostadas (Teixidó et al., 2011). El HMF es un compuesto clave para observar el avance tanto de la reacción de Maillard como de la caramelización a su vez que un factor respuesta del tratamiento térmico aplicado a la muestra (Li et al., 2019), En el caso de la concentración del EMC, como subproducto de la fruta de cacao, factores como el color de la muestra y los sólidos solubles totales reflejaban el final del proceso.

Otro factor importante que afecta la formación del HMF son las condiciones de almacenamiento. La temperatura a la cual se almacena la muestra, la humedad, el recipiente usado, el tiempo almacenado y el método de concentración son factores claves para la formación del HMF (Islam et al., 2012; Khalil et al., 2010; Shapla et al., 2018). Asimismo, el azúcar presente en la muestra es de vital importancia, ya que se encuentra que la fructosa tiene una reactividad mayor a ser deshidratada catalizada en un medio ácido que la glucosa o sacarosa (Doner, 1977; H. S. Lee & Nagy, 1990).

Tabla 10.

Concentración de HMF en jarabe S2 y S4.

Jarabe	Concentración promedio (mg/L)	Desviación estándar	%RSD^a
S2	5.9610	0.4951	8.3049

COMPOSICIÓN QUÍMICA DE EDULCORANTES A PARTIR DE EMC

S4	3.2510	0.1505	4.6301
----	--------	--------	--------

a: porcentaje de desviación estándar relativa

Teniendo en cuenta los resultados obtenidos por diferentes autores (anteriormente nombrados) a lo largo de los años, además de que se ha usado una metodología de análisis ya descrita en la literatura, se puede asumir que la temperatura y tiempo que se aplicó en la muestra, ya sea en calentamiento o en reserva almacenado, además de las condiciones de almacenamiento usadas, contribuyeron a la formación del 5-(hidroximetil)furfural en 5.9610 y 3.2510 mg/L en los jarabes con tratamiento de 70 y 60 °C respectivamente, con una baja desviación estándar entre las repeticiones realizadas (ver tabla 10), sin embargo, el HMF está por debajo de los límites establecidos en alimentos. Se puede apreciar que se formó una mayor cantidad de HMF en el jarabe S2 que en el S4 debido a el uso de más temperatura en el proceso de concentración en el S2 (Ver tabla 10) lo cual se puede considerar ya que las altas temperaturas facilitan las reacciones de Maillard.

5.6 Cuantificación de cadmio

El cadmio es un metal pesado. Presenta efectos negativos sobre la salud de los seres vivos cuando entra en contacto por ingesta o inhalación. Cuando su ingesta, por agua o alimentos, es superior a 15 ppm (Pasquali, 2003) aparecen síntomas como náuseas, vómito, dolores abdominales, cefalea y diarrea con colapso. Adicionalmente, cuando la exposición es prolongada, es considerado un elemento cancerígeno que puede conllevar hasta la muerte. Por lo tanto, se ha

COMPOSICIÓN QUÍMICA DE EDULCORANTES A PARTIR DE EMC

establecido por diferentes organismos a nivel mundial una ingesta tolerable del metal por los humanos; la ingestión diaria normal con la dieta (IDD) ha sido propuesta por algunas organizaciones internacionales que establecen como valor límite tolerable 7 μg /semana por kg de peso (Ramírez, 2002). Consumir 100 mg producen síntomas de problemas gastrointestinales, mientras que a partir de 350 mg se considera mortal. En 2009, la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria estableció una ingestión semanal tolerable en los alimentos de 2.5 μg por kg de peso corporal. Al año siguiente, el Comité Mixto de la Organización de Agricultura y Comida de Estados Unidos (FAO), la Organización Mundial de la Salud (OMS) y el Comité de Expertos en Aditivos Alimentarios (JECFA) determinaron un insumo mensual tolerable provisional en los alimentos de 25 μg por kg de peso corporal (Mead, 2011). Mientras tanto, la OMS fijó una ingesta semanal tolerable provisional de 7 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de peso corporal (García & Cruz, 2012; Ratnaningsih, s. f.).

A nivel ambiental, el cadmio proviene de fuentes naturales como las erupciones volcánicas y antropogénicas como la incineración, la minería, la fundición de metales, los fertilizantes, los herbicidas y alimentos fosfatados para animales (Ramírez, 2002). Por lo tanto, se puede afirmar que hay presencia de cadmio en el aire, el agua y la tierra (Klaassen, 1755). Específicamente, diferentes estudios han comprobado la presencia de cadmio en el cacao en varios países latinoamericanos, entre los cuales se encuentran Colombia, Ecuador y Brasil (Argüello et al., 2019; Bravo et al., 2021; Furcal-Beriguete & Torres-Morales, 2020; Lanza et al., 2016; Rofner, 2021; Rofner et al., 2018). Un chocolate amargo con 65% de cacao, reportó una concentración promedio de cadmio de 4.0477 mg/kg, la cual supera el límite establecido por el Codex Alimentarius (2.0

COMPOSICIÓN QUÍMICA DE EDULCORANTES A PARTIR DE EMC

mg/kg) y la Unión Europea (0.8 mg/kg) para chocolates con contenido de cacao con más de 50% (Echeverry & Reyes, 2016; Jiménez Tobón, 2015). Además de las semillas, se han encontrado presencia de cadmio en diferentes partes del árbol de cacao, no solo en la semilla, sino en las demás partes de la fruta y el árbol de cacao (Aguirre-Forero et al., 2020; Gil et al., 2022).

Tabla 11.

Concentración de cadmio en jarabes.

Muestras	Peso [g]	Concentración Cd en jarabes [mg/kg]	
S1	2.5042	0.7154	
S2	2.4985	1.0266	
S3	2.5018	1.0252	
Jarabe	S4	2.5076	0.8686
	S5	2.5079	1.1769
	S6	2.5060	0.8692
	S7	2.5058	0.7149

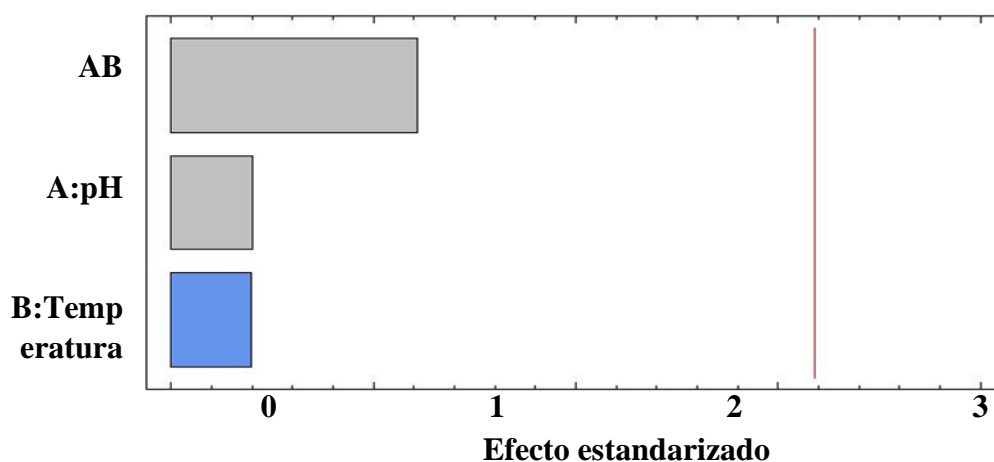
COMPOSICIÓN QUÍMICA DE EDULCORANTES A PARTIR DE EMC

La cuantificación de cadmio se realizó mediante curva de calibración externa expresándose en mg/kg de jarabe en base húmeda con un R^2 de 0.9999 (Ver anexo D.1). Los resultados de los análisis (tabla 11) demostraron la presencia de Cd en todos los tratamientos realizados al EMC. Esto a su vez, confirma la presencia de cadmio en el EMC usado, por tal razón se confirmó la presencia de cadmio en el fruto del árbol de cacao. Sin embargo, dicha concentración de Cd en los jarabes a partir del EMC es baja comparándola con un producto como el chocolate amargo con un alto porcentaje de diferencia.

Para evaluar el efecto de la temperatura y el pH y la relación entre estas sobre la concentración de cadmio en el diseño experimental planteado se realiza un análisis estadístico mediante un análisis de ANOVA expresado en diagramas de Pareto. La figura 7 muestra el diagrama de Pareto estandarizados para la concentración de cadmio.

Figura 7.

Diagrama de Pareto estandarizado para la concentración de cadmio. (Azul: efecto negativo; Gris: efecto positivo)



COMPOSICIÓN QUÍMICA DE EDULCORANTES A PARTIR DE EMC

El diseño experimental arrojó una desviación estándar de 0.07 y un R del 37.47 con un valor de confianza del 95% para el contenido de cadmio en los jarabes. La variable temperatura, pH y la interacción entre éstas no superaron el valor crítico ($P < 0.05$) como se ilustra en la figura 7. Esto indica que no hay diferencias significativas en los rangos estudiados de temperatura y pH al igual que la interacción de éstas sobre la concentración de cadmio, sin embargo, la variabilidad de los resultados obtenidos entre muestras se sustentan en errores al realizar el tratamientos de las muestras ya que se esperaba el mismo contenido de cadmio, pues se parte de la misma muestra de EMC para cada tratamiento, por lo cual la concentración debería mantenerse en todo el proceso de deshidratación.

6. Conclusiones

Se evaluó la influencia del pH y la temperatura en el proceso de obtención de edulcorantes a partir de EMC mediante un proceso de concentración, por deshidratación, sobre la composición química de los jarabes obtenidos. Se encuentra una concentración p/p de fructosa, glucosa y sacarosa de 26.52 – 29.71%, 24.44 – 27.20% y 6.77 – 16.42% en promedio en los tratamientos, y un promedio de 8.44 - 8.59% p/p de ácidos orgánicos. El diseño experimental 2^2 con 3 puntos centrales, reveló que si hay diferencias significativas sobre la composición el contenido de azúcares y ácidos orgánicos en el rango estudiado de pH (4 y 5) y temperatura (60 y 70 °C) donde el pH y la temperatura afectan la concentración de sacarosa y ácido cítrico en los edulcorantes. Por su parte, se encontró que el pH es el factor que afecta la formación de HMF en los jarabes

COMPOSICIÓN QUÍMICA DE EDULCORANTES A PARTIR DE EMC

producidos, ya que solo a pH 5 se encuentran valores de 5.9610 y 3.2510 mg/L en los jarabes tratados a temperatura de 70 y 60 °C respectivamente.

7. Recomendaciones

Analizar otros parámetros fisicoquímicos, para el exudado de mucílago de cacao y los edulcorantes, tales como: viscosidad, humedad y contenido de proteínas en la matriz.

Realizar análisis de contenido de cadmio en el exudado de mucílago de cacao para comparar con los edulcorantes obtenidos a partir de él.

Se recomienda realizar un proceso de clarificación del exudado de mucílago de cacao ya que podría facilitar la medición de los °Brix ópticamente con el refractómetro óptico.

Se recomienda evaluar los beneficios, del alto contenido de ácidos orgánicos en los edulcorantes, para la salud.

Estudiar otros ajustes de pH para confirmar la formación de HMF por reacción de Maillard.

8. Divulgación de resultados

Los resultados de este trabajo de grado fueron presentados en modalidad poster presencial en el congreso Latin Food 2022 realizado en Puebla México. Por otro lado, se encuentra en revisión un artículo científico a partir de nuestro trabajo de investigación para publicar en

COMPOSICIÓN QUÍMICA DE EDULCORANTES A PARTIR DE EMC

International Journal of Food Science and Technology titulado Influence of Temperature and pH in Cacao Syrup Composition.

COMPOSICIÓN QUÍMICA DE EDULCORANTES A PARTIR DE EMC

Referencias Bibliográficas

- Abbott, P., Benjamin, T., Burniske, G., Croft, M., Fenton, M., Kelly, C., Lundy, M., Rodriguez-Camayo, F., & Wilcox, M. D. (2018). Análisis de la cadena productiva de cacao en Colombia. *USAID, Cali, Colombia*.
- Abraham, K., Gürtler, R., Berg, K., Heinemeyer, G., Lampen, A., & Appel, K. E. (2011). Toxicology and risk assessment of 5-Hydroxymethylfurfural in food. *Molecular Nutrition & Food Research*, 55(5), 667-678. <https://doi.org/10.1002/mnfr.201000564>
- Aguirre-Forero, S. E., Piraneque-Gambasica, N. V., Vásquez-Polo, J. R., Aguirre-Forero, S. E., Piraneque-Gambasica, N. V., & Vásquez-Polo, J. R. (2020). Heavy metals content in soils and cocoa tissues in Magdalena department Colombia: Emphasis in cadmium. *Entramado*, 16(2), 298-310. <https://doi.org/10.18041/1900-3803/entramado.2.6753>
- Aït-Aissa, A., Gerliani, N., Orlova, T., Sadeghi-Tabatabai, B., & Aïder, M. (2020). Development of a Process for Color Improvement of Low-Grade Dark Maple Syrup by Adsorption on Activated Carbon. *ACS Omega*, 5(33), Article 33. <https://doi.org/10.1021/acsomega.0c02717>
- Aliados por el subsector cacaoero colombiano. (2020, agosto). *FEDECACAO*, 7,12,18.
- An, N., Cai, W.-J., Zhu, Q.-F., Wang, W., Hussain, D., & Feng, Y.-Q. (2020). Metabolic profiling of organic acids in honey by stable isotope labeling assisted liquid chromatography-mass spectrometry. *Journal of Food Composition and Analysis*, 87, 103423. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2020.103423>

COMPOSICIÓN QUÍMICA DE EDULCORANTES A PARTIR DE EMC

- Anvoh, B. K. Y., Kouame, A. K., Loukou, L. A., Bouatenin, J.-P. K. M., & Dago, G. (2015). Study of changes organic acids in cocoa mucilaginous juice during alcoholic fermentation. *International Journal of Advanced Research* (2015, 3(7), 1335-1341.
- I, K. Y. B., Zoro Bi, A., & Gnakri, D. (2009). Production and Characterization of Juice from Mucilage of Cocoa Beans and its Transformation into Marmalade. *Pakistan Journal of Nutrition*, 8, 129-133. <https://doi.org/10.3923 / pjn.2009.129.133>
- Argüello, D., Chavez, E., Laurysen, F., Vanderschueren, R., Smolders, E., & Montalvo, D. (2019). Soil properties and agronomic factors affecting cadmium concentrations in cacao beans: A nationwide survey in Ecuador. *Science of The Total Environment*, 649, 120-127. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.08.292>
- Arribas-Lorenzo, G., & Morales, F. J. (2010). Estimation of dietary intake of 5-hydroxymethylfurfural and related substances from coffee to Spanish population. *Food and Chemical Toxicology*, 48(2), 644-649. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2009.11.046>
- ASALE, R.-, & RAE. (s. f.-a). *Edulcorante / Diccionario de la lengua española*. «Diccionario de la lengua española» - Edición del Tricentenario. Recuperado 22 de noviembre de 2022, de <https://dle.rae.es/edulcorante>
- ASALE, R.-, & RAE. (s. f.-b). *Edulcorar / Diccionario de la lengua española*. «Diccionario de la lengua española» - Edición del Tricentenario. Recuperado 22 de noviembre de 2022, de <https://dle.rae.es/edulcorar>

COMPOSICIÓN QUÍMICA DE EDULCORANTES A PARTIR DE EMC

Authentication and quality control determination of maple syrup: A comprehensive review.

(2021). *Journal of Food Composition and Analysis*, 100, 103901.

<https://doi.org/10.1016/j.jfca.2021.103901>

Azucar y sus derivados. Método para determinación de color en azúcar morena, 120, 41-316-98 4

(1998).

Belitz, H.-D., Grosch, W., & Schieberle, P. (Eds.). (2009). Coffee, Tea, Cocoa. En *Food Chemistry*

(pp. 938-970). Springer. https://doi.org/10.1007/978-3-540-69934-7_22

Beltrán Pérez, S. B., & Romero Hernández, A. K. (2019). *Obtención y caracterización de*

edulcorantes líquidos a partir del exudado del mucílago de cacao. Universidad Industrial de Santander.

BeMiller, J. N. (2017). Carbohydrate Analysis. *Food Analysis*, 333-360.

https://doi.org/10.1007/978-3-319-45776-5_19

Bogdanov, S., Jurendic, T., Sieber, R., & Gallmann, P. (2008). Honey for Nutrition and Health: A

Review. *Journal of the American College of Nutrition*, 27(6), 677-689.

<https://doi.org/10.1080/07315724.2008.10719745>

Boland, F. E., Lin, R. C., Mulvaney, T. R., McClure, F. D., Johnston, M. R., & Collaborators:

(1981). pH Determination in Acidified Foods: Collaborative Study. *Journal of Association of Official Analytical Chemists*, 64(2), Article 2. <https://doi.org/10.1093/jaoac/64.2.332>

Bravo, D., Leon-Moreno, C., Martínez, C. A., Varón-Ramírez, V. M., Araujo-Carrillo, G. A.,

Vargas, R., Quiroga-Mateus, R., Zamora, A., & Rodríguez, E. A. G. (2021). The First

COMPOSICIÓN QUÍMICA DE EDULCORANTES A PARTIR DE EMC

- National Survey of Cadmium in Cacao Farm Soil in Colombia. *Agronomy*, 11(4).
<https://doi.org/10.3390/agronomy11040761>
- Bray, G. A., Nielsen, S. J., & Popkin, B. M. (2004). Consumption of high-fructose corn syrup in beverages may play a role in the epidemic of obesity. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 79(4), 537-543. <https://doi.org/10.1093/ajcn/79.4.537>
- Brewster, J. F. (1924). Determination of Total Solids in Sugar-House Products. *Journal of Association of Official Agricultural Chemists*, 7(4), Article 4.
<https://doi.org/10.1093/jaoac/7.4.354>
- Buglass, A. J. (2014). Chemical Composition of Beverages and Drinks. *Handbook of Food Chemistry*, 1-62. https://doi.org/10.1007/978-3-642-41609-5_29-1
- Capuano, E., & Fogliano, V. (2011). Acrylamide and 5-hydroxymethylfurfural (HMF): A review on metabolism, toxicity, occurrence in food and mitigation strategies. *LWT - Food Science and Technology*, 44(4), 793-810. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2010.11.002>
- De Souza, P. A., Moreira, L. F., Sarmiento, D. H. A., & da Costa, F. B. (2018). Cacao—Theobroma cacao. *Exotic Fruits*, 69-76. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803138-4.00010-1>
- Determination of Organic Acids in Wine and Fruit Juices with Ion Exclusion Chromatography.*
(s. f.). Sigma Aldrich. Recuperado 11 de enero de 2023, de
<https://www.sigmaaldrich.com/CO/en/technical-documents/technical-article/analytical-chemistry/small-molecule-hplc/determination-of-organic>

COMPOSICIÓN QUÍMICA DE EDULCORANTES A PARTIR DE EMC

- Doner, L. W. (1977). The sugars of honey—A review. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 28(5), 443-456. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2740280508>
- Driffield, M., Chan, D., Macarthur, R., MacDonald, S., Brereton, P., & Wood, R. (2005). Single Laboratory Validation of a Method for the Determination of Hydroxymethylfurfural in Honey by Using Solid-Phase Extraction Cleanup and Liquid Chromatography. *Journal of AOAC INTERNATIONAL*, 88(1), 121-127. <https://doi.org/10.1093/jaoac/88.1.121>
- Durán, D., & Cabezas, J. (2019). *Evaluacion del mucílago de cacao como fuente de carbono para producción de celulosa bacteriana* [Tesis doct.]. Universidad Industrial de Santander.
- Eberhart, B. L., Ewald, D. K., Sanders, R. A., Tallmadge, D. H., Zyzak, D. V., & Strothers, M. A. (2005). Quantitation of Acrylamide in Food Products by Liquid Chromatography/Mass Spectrometry. *Journal of AOAC INTERNATIONAL*, 88(4), Article 4. <https://doi.org/10.1093/jaoac/88.4.1205>
- Echeverry, A., & Reyes, H. (2016). Determinación de la concentración de cadmio en un chocolate colombiano con 65% de cacao y chocolates extranjeros con diferentes porcentajes de cacao. *Entre Ciencia e Ingeniería*, 10(19), 22-32.
- Fazaeli, M., Hojjatpanah, G., & Emam-Djomeh, Z. (2013). Effects of heating method and conditions on the evaporation rate and quality attributes of black mulberry (*Morus nigra*) juice concentrate. *Journal of Food Science and Technology*, 50(1), 35-43. <https://doi.org/10.1007/s13197-011-0246-y>
- Fedecacao. (2022, noviembre). COLOMBIA CACAOTERA NO 68. *FEDECACAO*, 13.

COMPOSICIÓN QUÍMICA DE EDULCORANTES A PARTIR DE EMC

- Foster-Powell, K., Holt, S. H., & Brand-Miller, J. C. (2002). International table of glycemic index and glycemic load values: 2002. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 76(1), 5-56. <https://doi.org/10.1093/ajcn/76.1.5>
- Fruits and Fruit Products. (2009). *Food Chemistry*, 807-861. https://doi.org/10.1007/978-3-540-69934-7_19
- Furcal-Beriguete, P., & Torres-Morales, J. L. (2020). Determinación de concentraciones de cadmio en plantaciones de *Theobroma cacao* L. en Costa Rica. *Revista Tecnología en Marcha*, 33(1), 122-137. <https://doi.org/10.18845/tm.v33i1.5027>
- García, P. E. P., & Cruz, M. I. A. (2012). Los efectos del cadmio en la salud. *Revista de Especialidades Médico-Quirúrgicas*, 17(3), 199-205.
- Gaspar, E. M. S. M., & Lucena, A. F. F. (2009). Improved HPLC methodology for food control – furfurals and patulin as markers of quality. *Food Chemistry*, 114(4), 1576-1582. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.11.097>
- Giani, S. (2018). *Determination of Sugar Solutions Color According to ICUMSA / Application Note Analytical Chemistry*.
- Gil, J. P., López-Zuleta, S., Quiroga-Mateus, R. Y., Benavides-Erazo, J., Chaali, N., & Bravo, D. (2022). Cadmium distribution in soils, soil litter and cacao beans: A case study from Colombia. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 19(4), 2455-2476. <https://doi.org/10.1007/s13762-021-03299-x>

COMPOSICIÓN QUÍMICA DE EDULCORANTES A PARTIR DE EMC

- Gökmen, V., Açar, Ö. Ç., Serpen, A., & Morales, F. J. (2008). Effect of leavening agents and sugars on the formation of hydroxymethylfurfural in cookies during baking. *European Food Research and Technology*, 226(5), 1031-1037. <https://doi.org/10.1007/s00217-007-0628-6>
- González-Montemayor, Á.-M., Flores-Gallegos, A. C., Serrato-Villegas, L. E., López-Pérez, M. G., Montañez-Sáenz, J. C., & Rodríguez-Herrera, R. (2019a). 6 - Honey and Syrups: Healthy and Natural Sweeteners with Functional Properties. En A. M. Grumezescu & A. M. Holban (Eds.), *Natural Beverages* (pp. 143-177). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816689-5.00006-7>
- González-Montemayor, Á.-M., Flores-Gallegos, A. C., Serrato-Villegas, L. E., López-Pérez, M. G., Montañez-Sáenz, J. C., & Rodríguez-Herrera, R. (2019b). 6.2. Honey. En A. M. Grumezescu & A. M. Holban (Eds.), *Natural Beverages* (pp. 143-177). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816689-5.00006-7>
- González-Montemayor, Á.-M., Flores-Gallegos, A. C., Serrato-Villegas, L. E., López-Pérez, M. G., Montañez-Sáenz, J. C., & Rodríguez-Herrera, R. (2019c). 6.3. Maple Syrup. En A. M. Grumezescu & A. M. Holban (Eds.), *Natural Beverages* (pp. 143-177). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816689-5.00006-7>
- González-Montemayor, Á.-M., Flores-Gallegos, A. C., Serrato-Villegas, L. E., López-Pérez, M. G., Montañez-Sáenz, J. C., & Rodríguez-Herrera, R. (2019d). 6.4. Agave Syrup. En A. M. Grumezescu & A. M. Holban (Eds.), *Natural Beverages* (pp. 143-177). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816689-5.00006-7>

COMPOSICIÓN QUÍMICA DE EDULCORANTES A PARTIR DE EMC

- Guirlanda, C. P., da Silva, G. G., & Takahashi, J. A. (2021). Cocoa honey: Agro-industrial waste or underutilized cocoa by-product? *Future Foods*, 4, 100061. <https://doi.org/10.1016/j.fufo.2021.100061>
- Hancock, B. L., & Fowler, M. S. (1994). Cocoa bean production and transport. En S. T. Beckett (Ed.), *Industrial Chocolate Manufacture and Use* (pp. 8-24). Springer US. https://doi.org/10.1007/978-1-4615-2111-2_2
- Honey and Syrups: Healthy and Natural Sweeteners with Functional Properties. (2019). *Natural Beverages*, 143-177. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816689-5.00006-7>
- Horta-Téllez, H. B., Sandoval-Aldana, A. P., Garcia-Muñoz, M. C., Cerón-Salazar, I. X., Horta-Téllez, H. B., Sandoval-Aldana, A. P., Garcia-Muñoz, M. C., & Cerón-Salazar, I. X. (2019). Evaluation of the fermentation process and final quality of five cacao clones from the department of Huila, Colombia. *DYNA*, 86(210), 233-239. <https://doi.org/10.15446/dyna.v86n210.75814>
- INVIMA - Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos. (2021, marzo 14). <https://www.invima.gov.co/>
- Islam, A., Khalil, I., Islam, N., Moniruzzaman, M., Mottalib, A., Sulaiman, S. A., & Gan, S. H. (2012). Physicochemical and antioxidant properties of Bangladeshi honeys stored for more than one year. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 12(1), 177. <https://doi.org/10.1186/1472-6882-12-177>

COMPOSICIÓN QUÍMICA DE EDULCORANTES A PARTIR DE EMC

J. AOAC Int. (2002). *AOAC Official Method 999.11 Determination of Lead, Cadmium, Copper, Iron, and Zinc in Foods*. 83.

Jeuring, H. J., & Koppers, F. J. E. M. (1980). High Performance Liquid Chromatography of Furfural and Hydroxymethylfurfural in Spirits and Honey. *Journal of Association of Official Analytical Chemists*, 63(6), 1215-1218. <https://doi.org/10.1093/jaoac/63.6.1215>

Jiménez Tobón, C. S. (2015). Estado legal mundial del cadmio en cacao (*Theobroma cacao*): Fantasía o realidad. *Producción + Limpia*, 10(1), 89-104.

Khalil, M. I., Sulaiman, S. A., & Gan, S. H. (2010). High 5-hydroxymethylfurfural concentrations are found in Malaysian honey samples stored for more than one year. *Food and Chemical Toxicology*, 48(8), 2388-2392. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2010.05.076>

Klaassen, C. D. (1755). Metales pesados y sus antagonistas. *Goodman & Gilman. Las bases farmacológicas de la terapéutica. Mc Graw-Hill Interamericana. México, 1779.*

Kowalska, H., Czajkowska, K., Cichowska, J., & Lenart, A. (2017). What's new in biopotential of fruit and vegetable by-products applied in the food processing industry. *Trends in Food Science & Technology*, 67, 150-159. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.06.016>

Kroh, L. W. (1994). Caramelisation in food and beverages. *Food Chemistry*, 51(4), 373-379. [https://doi.org/10.1016/0308-8146\(94\)90188-0](https://doi.org/10.1016/0308-8146(94)90188-0)

Lanza, J. G., Churión, P. C., Liendo, N. J., & López, V. H. (2016). EVALUACIÓN DEL CONTENIDO DE METALES PESADOS EN CACAO (*Theobroma cacao* L.) DE SANTA

COMPOSICIÓN QUÍMICA DE EDULCORANTES A PARTIR DE EMC

- BÁRBARA DEL ZULIA, VENEZUELA. *SABER. Revista Multidisciplinaria del Consejo de Investigación de la Universidad de Oriente*, 28(1), 106-115.
- Lee, H. S., & Nagy, S. (1990). Relative reactivities of sugars in the formation of 5-hydroxymethylfurfural in sugar-catalyst model systems. *Journal of Food Processing and Preservation*, 14(3), 171-178. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4549.1990.tb00126.x>
- Lee, T. P., Sakai, R., Manaf, N. A., Rodhi, A. M., & Saad, B. (2014). High performance liquid chromatography method for the determination of patulin and 5-hydroxymethylfurfural in fruit juices marketed in Malaysia. *Food Control*, 38, 142-149. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2013.10.018>
- Li, Z., Yuan, Y., Yao, Y., Wei, X., Yue, T., & Meng, J. (2019). Formation of 5-hydroxymethylfurfural in industrial-scale apple juice concentrate processing. *Food Control*, 102, 56-68. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2019.03.021>
- Lim, T. K. (2012). Theobroma cacao. En T. K. Lim (Ed.), *Edible Medicinal And Non Medicinal Plants: Volume 3, Fruits* (pp. 208-251). Springer Netherlands. https://doi.org/10.1007/978-94-007-2534-8_30
- Lund, M. N., & Ray, C. A. (2017). Control of Maillard Reactions in Foods: Strategies and Chemical Mechanisms. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65(23), Article 23. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.7b00882>
- Lustig, R. H., Schmidt, L. A., & Brindis, C. D. (2012). The toxic truth about sugar. *Nature*, 482(7383), Article 7383. <https://doi.org/10.1038/482027a>

COMPOSICIÓN QUÍMICA DE EDULCORANTES A PARTIR DE EMC

- Maskan, A., Kaya, S., & Maskan, M. (2002). Effect of concentration and drying processes on color change of grape juice and leather (pestil). *Journal of Food Engineering*, 54(1), 75-80. [https://doi.org/10.1016/S0260-8774\(01\)00187-X](https://doi.org/10.1016/S0260-8774(01)00187-X)
- Mazzocco, E. N. (2019). *Efecto del uso de fructanos tipo agavinas como sustituto parcial de grasa y azúcar en productos panificables a base de harinas libres de gluten*. <http://repositorio.ugto.mx/handle/20.500.12059/2137>
- Mead, M. N. (2011). Confusión por el cadmio ¿Los consumidores necesitan protección? *Salud Pública de México*, 53(2), 178-186.
- Meersman, E., Struyf, N., Kyomugasho, C., Jamsazzadeh Kermani, Z., Santiago, J. S., Baert, E., Hemdane, S., Vrancken, G., Verstrepen, K. J., Courtin, C. M., Hendrickx, M., & Steensels, J. (2017). Characterization and Degradation of Pectic Polysaccharides in Cocoa Pulp. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65(44), 9726-9734. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.7b03854>
- Mellado-Mojica, E., & López, M. G. (2015). Identification, classification, and discrimination of agave syrups from natural sweeteners by infrared spectroscopy and HPAEC-PAD. *Food Chemistry*, 167, 349-357. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.06.111>
- Mian, T. M.-A. S., Camara, F., Coulibaly, W. H., & Beugré, G. A. M. (2022). Assessment of physicochemical, biochemical and functional properties of mucilage cocoa juice during storage at room temperature. *Open Journal of Food and Nutrition*, 10-26.

COMPOSICIÓN QUÍMICA DE EDULCORANTES A PARTIR DE EMC

- Michel-Cuello, C., Gallegos Fonseca, G., Maldonado Cervantes, E., & Aguilar Rivera, N. (2015). Effect of temperature and PH environment on the hydrolysis of maguey fructans to obtain fructose syrup. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 14(3), 615-622.
- Montero, C. M., Doderó, M. C. R., Sánchez, D. A. G., & Barroso, C. G. (2004). Analysis of Low Molecular Weight Carbohydrates in Food and Beverages: A Review. *Chromatographia*, 59(1), 15-30. <https://doi.org/10.1365/s10337-003-0134-3>
- Mühlbauer, W., & Müller, J. (2020). *Cocoa (Theobroma cacao L.)* (pp. 239-245). Woodhead Publishing. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818162-1.00028-6>
- O'Brien, J., Morrissey, P. A., & Ames, J. M. (1989). Nutritional and toxicological aspects of the Maillard browning reaction in foods. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 28(3), 211-248. <https://doi.org/10.1080/10408398909527499>
- Ochoa, C., Hernández, M. A., Bayona, O. L., Camargo, H. A., Cabeza, I. O., & Candela, A. M. (2021). Phosphorus recovery by struvite from anaerobic co-digestion effluents during residual biomass treatment. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 11(2), 261-274. <https://doi.org/10.1007/s13399-020-01146-6>
- Pasquali, R. C. (2003). *Química Ambiental*. Librería Akadia. <https://www.universitaseditorial.com.ar/productos/quimica-ambiental-ricardo-pasquali/>
- Perkins, T. D., & van den Berg, A. K. (2009). Chapter 4 Maple Syrup—Production, Composition, Chemistry, and Sensory Characteristics. En *Advances in Food and Nutrition Research* (Vol. 56, pp. 101-143). Academic Press. [https://doi.org/10.1016/S1043-4526\(08\)00604-9](https://doi.org/10.1016/S1043-4526(08)00604-9)

COMPOSICIÓN QUÍMICA DE EDULCORANTES A PARTIR DE EMC

- Petrarca, M. H., Meinhart, A. D., & Godoy, H. T. (2020). Dilute-and-Shoot Liquid Chromatography Approach for Simple and High-throughput Analysis of 5-Hydroxymethylfurfural in Fruit-based Baby Foods. *Food Analytical Methods*, 13(4), 942-951. <https://doi.org/10.1007/s12161-020-01713-7>
- Quimbita Yupangui, Y. M., & Ruales Najera, J. C. (2018). *Elaboración de miel de cacao (Theobroma cacao) a partir del mucílago*. EPN.
- Ramírez, A. (2002). Toxicología del cadmio. Conceptos actuales para evaluar exposición ambiental u ocupacional con indicadores biológicos. *Anales de la Facultad de Medicina*, 63(1), 51-64.
- Ratnaningsih, W. (s. f.). *Environmental Chemistry-Manahan (7th Edition)-Ebook*. Recuperado 22 de noviembre de 2022, de https://www.academia.edu/7241736/Environmental_Chemistry_Manahan_7th_Edition_Ebook
- Reyes Ramos Natividad, D. L. P. (2019). *Prebiotic cocoa mucilage nectar drink, low sugar (addition of stevia and spirulina) and with high magnesium content* (Patent N.º MX2017013216A). <https://patents.google.com/patent/MX2017013216A/en?q=cocoa+mucilage&oq=cocoa+mucilage>
- Rivera Cepeda, S. B. (2019). *Propuesta de aplicación del mucílago de cacao para la elaboración de bebidas y postres mediante técnicas de vanguardia*. Universidad de Cuenca.

COMPOSICIÓN QUÍMICA DE EDULCORANTES A PARTIR DE EMC

- Rizzi, G. P. (2005). The Maillard Reaction in Foods. En T. P. Labuza, G. A. Reineccius, V. M. Monnier, J. O'Brien, & J. W. Baynes (Eds.), *Maillard Reactions in Chemistry, Food and Health* (pp. 11-19). Woodhead Publishing. <https://doi.org/10.1533/9781845698393.1.11>
- Rofner, N. F. (2021). Revisión sobre límites máximos de cadmio en cacao (*Theobroma cacao* L.). *La Granja*, 34(2), Article 2.
- Rofner, N. F., Melchor, S. L. C., & Bernal, R. G. (2018). EL pH Y LA ABSORCIÓN DE CADMIO EN ALMENDRAS DE CACAO ORGÁNICO (*Theobroma cacao* L.) EN LEONCIO PRADO, HUÁNUCO, PERU. *Folia Amazónica*, 27(1), Article 1. <https://doi.org/10.24841/fa.v27i1.438>
- Rojas, M., Hommes, A., Heeres, H. J., & Chejne, F. (2022). Physicochemical Phenomena in the Roasting of Cocoa (*Theobroma cacao* L.). *Food Engineering Reviews*, 14(3), 509-533. <https://doi.org/10.1007/s12393-021-09301-z>
- Rojas Sosa, J. M., & Rojas Manayay, E. D. (2017). *APROVECHAMIENTO DEL MUCILAGO DE CACAO (Theobroma cacao) EN LA FORMULACIÓN DE UNA BEBIDA NO ALCOHÓLICA*. Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo.
- Saavedra-Sanabria, O. L., Durán, D., Cabezas, J., Hernández, I., Blanco-Tirado, C., & Combariza, M. Y. (2021). Cellulose biosynthesis using simple sugars available in residual cacao mucilage exudate. *Carbohydrate Polymers*, 274, 118645. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2021.118645>

COMPOSICIÓN QUÍMICA DE EDULCORANTES A PARTIR DE EMC

- Schouten, M. A., Tappi, S., & Romani, S. (2020). Acrylamide in coffee: Formation and possible mitigation strategies – a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 60(22), Article 22. <https://doi.org/10.1080/10408398.2019.1708264>
- Shapla, U. M., Solayman, Md., Alam, N., Khalil, Md. I., & Gan, S. H. (2018). 5-Hydroxymethylfurfural (HMF) levels in honey and other food products: Effects on bees and human health. *Chemistry Central Journal*, 12(1), 35. <https://doi.org/10.1186/s13065-018-0408-3>
- Suárez Guevara, L. J., Jenniffer Andrea-Vidal Hurtado. (2013). *Hidrólisis ácida y concentración por vaporación de jugo de caña panelera (variedad cc 8592) para la elaboración de miel invertida*. Universidad del Valle / Cali, Colombia. <https://bibliotecadigital.univalle.edu.co/handle/10893/17660>
- Suárez-Luque, S., Mato, I., Huidobro, J. F., Simal-Lozano, J., & Sancho, M. T. (2002). Rapid determination of minority organic acids in honey by high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, 955(2), 207-214. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(02\)00248-0](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(02)00248-0)
- Surin, S., Thakeow, P., Seesuriyachan, P., Angeli, S., & Phimolsiripol, Y. (2014). Effect of extraction and concentration processes on properties of longan syrup. *Journal of Food Science and Technology*, 51(9), 2062-2069. <https://doi.org/10.1007/s13197-013-1249-7>
- Teixidó, E., Núñez, O., Santos, F. J., & Galceran, M. T. (2011). 5-Hydroxymethylfurfural content in foodstuffs determined by micellar electrokinetic chromatography. *Food Chemistry*, 126(4), 1902-1908. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.12.016>

COMPOSICIÓN QUÍMICA DE EDULCORANTES A PARTIR DE EMC

- Tsai, P.-J., Yu, T.-Y., Chen, S.-H., Liu, C.-C., & Sun, Y.-F. (2009). Interactive role of color and antioxidant capacity in caramels. *Food Research International*, 42(3), 380-386. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2009.01.006>
- Tyagi, G., Jangir, D. K., Singh, P., Mehrotra, R., Ganesan, R., & Gopal, E. S. R. (2014). Rapid determination of main constituents of packed juices by reverse phase-high performance liquid chromatography: An insight in to commercial fruit drinks. *Journal of Food Science and Technology*, 51(3), 476-484. <https://doi.org/10.1007/s13197-011-0502-1>
- Vallejo Torres, C. A., Díaz Ocampo, R., Morales Rodríguez, W., Soria Velasco, R., Vera Chang, J. F., & Baren Cedeño, C. (2016). Utilización del mucílago de cacao, tipo nacional y trinitario, en la obtención de jalea. *ESPAMCIENCIA*, 7 (1), 51-58.
- Vergara-Mendoza, M., Martínez, G. R., Blanco-Tirado, C., & Combariza, M. Y. (2022). Mass Balance and Compositional Analysis of Biomass Outputs from Cacao Fruits. *Molecules*, 27(12), Article 12. <https://doi.org/10.3390/molecules27123717>
- Vorlová, L., Borkovcová, I., Kalábová, K., & Večerek, V. (2006). Hydroxymethylfurfural contents in foodstuffs determined by HPLC method. *Journal of Food and Nutrition Research*, 45(1), 34-38.
- Wang, X., Chen, Y., Hu, Y., Zhou, J., Chen, L., & Lu, X. (2022). Systematic Review of the Characteristic Markers in Honey of Various Botanical, Geographic, and Entomological Origins. *ACS Food Science & Technology*, 2(2), 206-220. <https://doi.org/10.1021/acsfoodscitech.1c00422>

COMPOSICIÓN QUÍMICA DE EDULCORANTES A PARTIR DE EMC

- Willems, J. L., & Low, N. H. (2012). Major Carbohydrate, Polyol, and Oligosaccharide Profiles of Agave Syrup. Application of this Data to Authenticity Analysis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *60*(35), 8745-8754. <https://doi.org/10.1021/jf3027342>
- Yuan, J.-P., & Chen, F. (1998). Separation and Identification of Furanic Compounds in Fruit Juices and Drinks by High-Performance Liquid Chromatography Photodiode Array Detection. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *46*(4), 1286-1291. <https://doi.org/10.1021/jf970894f>
- Zappalà, M., Fallico, B., Arena, E., & Verzera, A. (2005). Methods for the determination of HMF in honey: A comparison. *Food Control*, *16*(3), 273-277. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2004.03.006>
- Zhang, H., Zhou, F., Ji, B., Nout, R. M. J., Fang, Q., & Yang, Z. (2008). Determination of organic acids evolution during apple cider fermentation using an improved HPLC analysis method. *European Food Research and Technology*, *227*(4), 1183-1190. <https://doi.org/10.1007/s00217-008-0835-9>
- Zhao, L., Chen, J., Su, J., Li, L., Hu, S., Li, B., Zhang, X., Xu, Z., & Chen, T. (2013). In Vitro Antioxidant and Antiproliferative Activities of 5-Hydroxymethylfurfural. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *61*(44), Article 44. <https://doi.org/10.1021/jf403098y>

COMPOSICIÓN QUÍMICA DE EDULCORANTES A PARTIR DE EMC

Anexos

Anexo A. Azúcares

Linealidad de curva de calibración

Tabla 1.

Linealidad de azúcares en el detector RID.

Compuesto	Rango (g/L)	R ²	Ecuación ^a
Sacarosa	0.5 - 20	0.9999	$y = 2551.7x - 28,882$
Glucosa	0.5 - 20	0.9999	$y = 2942.8x - 44,198$
Fructosa	0.5 - 20	0.9996	$y = 2832.0x + 95,138$

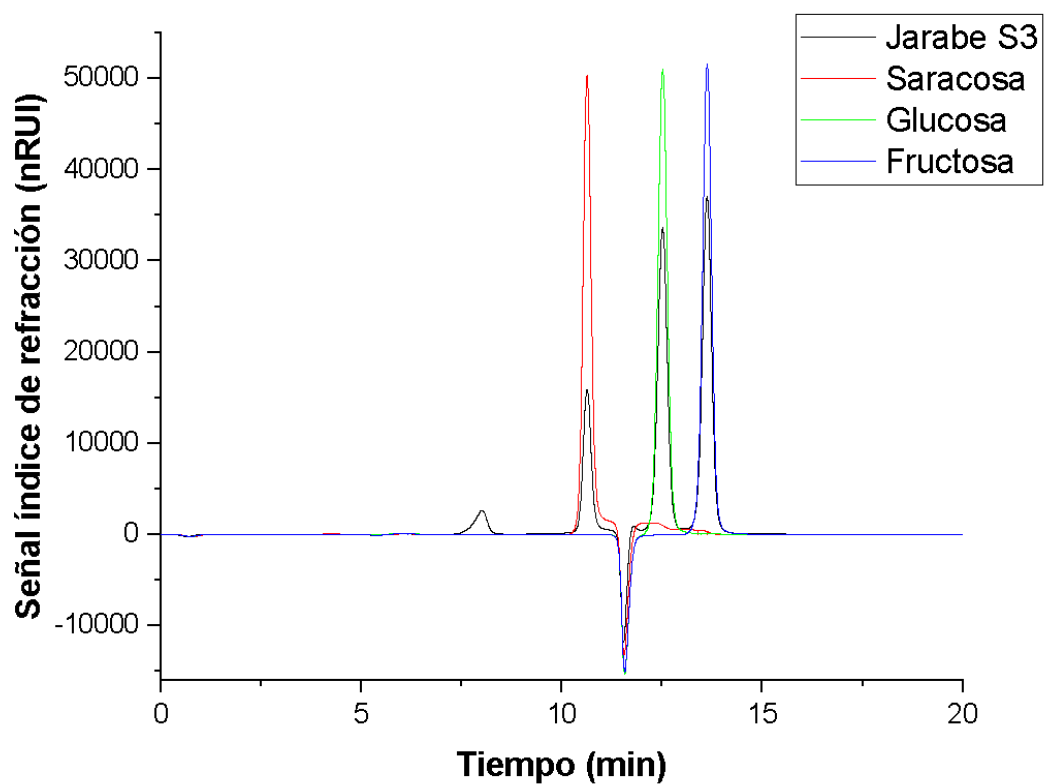
a: x: Concentración (g/L); y: Área.

Cromatograma de azúcares en muestra

COMPOSICIÓN QUÍMICA DE EDULCORANTES A PARTIR DE EMC

Figura 1.

Identificación de sacarosa, glucosa y fructosa en el jarabe S3 por medio de patrones obtenido por HPLC-RID.

**Anexo B. Ácidos**

Linealidad de curva de calibración.

Tabla 3.

COMPOSICIÓN QUÍMICA DE EDULCORANTES A PARTIR DE EMC

Linealidad de ácidos orgánicos en el detector DAD, longitud de onda 210 nm.

Compuesto	Rango (g/L)	R ²	Ecuación ^a
Ácido cítrico	1 – 15	0.9996	$y = 19.895x - 0.0066$
Ácido málico	0.5 – 8	0.9927	$y = 14.459x - 2.7188$
Ácido láctico	0.2 – 1	0.9943	$y = 14.589x - 0.1894$
Ácido tartárico	0.2 – 1	0.9965	$y = 23.919x + 0.267$
Ácido fumárico	0.0005 – 0.01	0.9974	$y = 1709x + 0.2883$

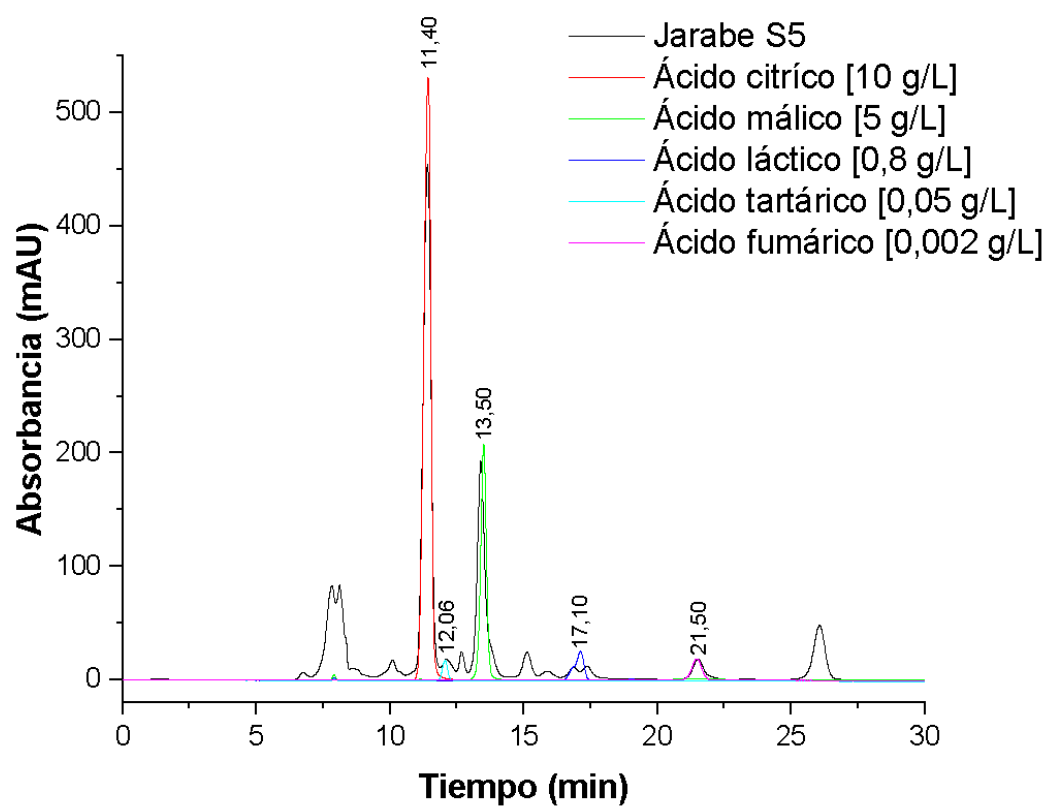
a: x: Concentración (g/L); y: Área.

Cromatograma de ácidos en muestra.

Figura 2.

Identificación de ácido cítrico, málico, láctico, tartárico y fumárico en el jarabe S5 por medio de patrones obtenidos por HPLC-DAD.

COMPOSICIÓN QUÍMICA DE EDULCORANTES A PARTIR DE EMC

**Anexo C. HMF**

Linealidad de curva de calibración.

Tabla 5.

Linealidad de patrón de HMF en detector DAD.

COMPOSICIÓN QUÍMICA DE EDULCORANTES A PARTIR DE EMC

Compuesto	Rango (mg/L)	R ²	Ecuación ^a
5-(hidroximetil) furfural	0.5 – 6	0.9999	$y = 5.2767x - 0.0073$

a: x: Concentración (mg/L); y: Área.

Cromatograma de HMF en muestras.

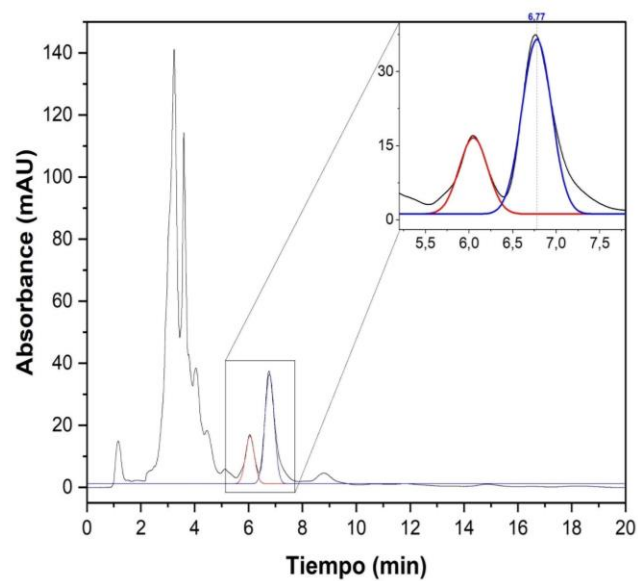
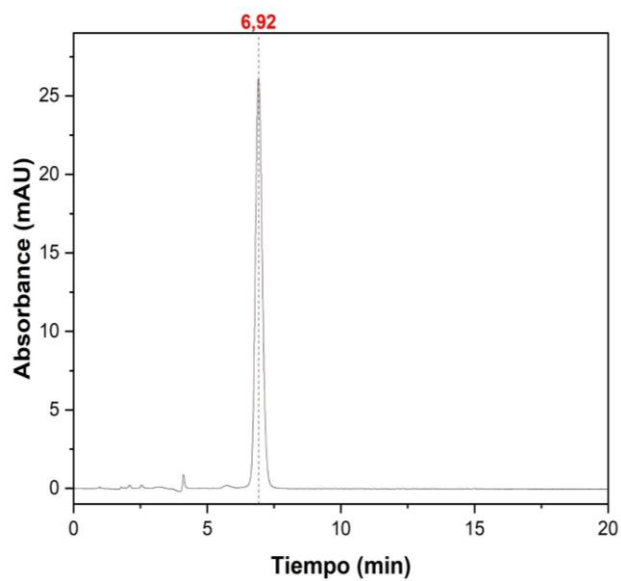
Figura 3.

Cromatogramas obtenidos por HPLC-UV de estudio de HMF: A. patrón 1; B. mucílago; C. jarabe S1; D. jarabe S2; E. jarabe S3; F. jarabe S4; G. jarabe S5; H. jarabe S6; I. jarabe S7; J. patrón 2; K. JR (jarabe S4); L. JR + HMF (jarabe S4).

A. Patrón 1

B. Mucílago

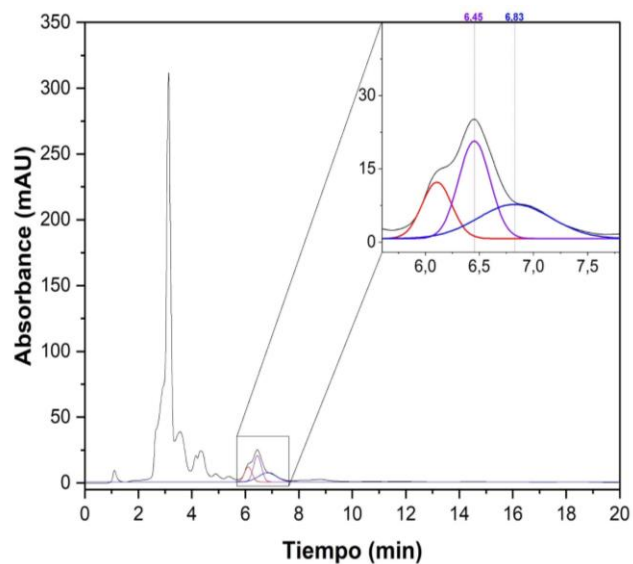
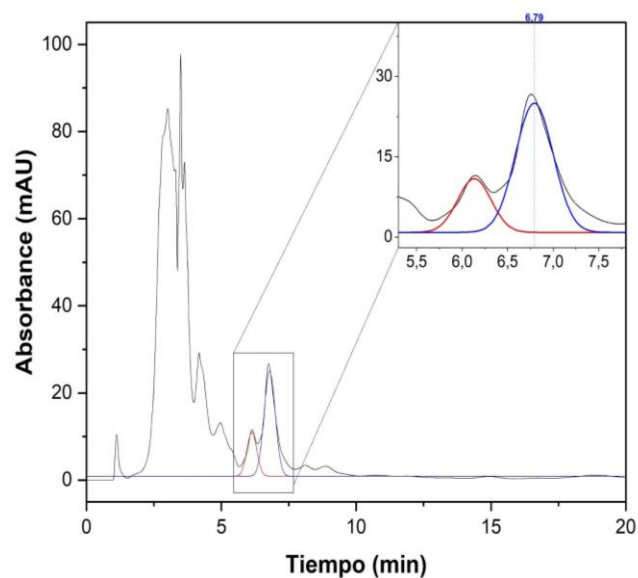
COMPOSICIÓN QUÍMICA DE EDULCORANTES A PARTIR DE EMC



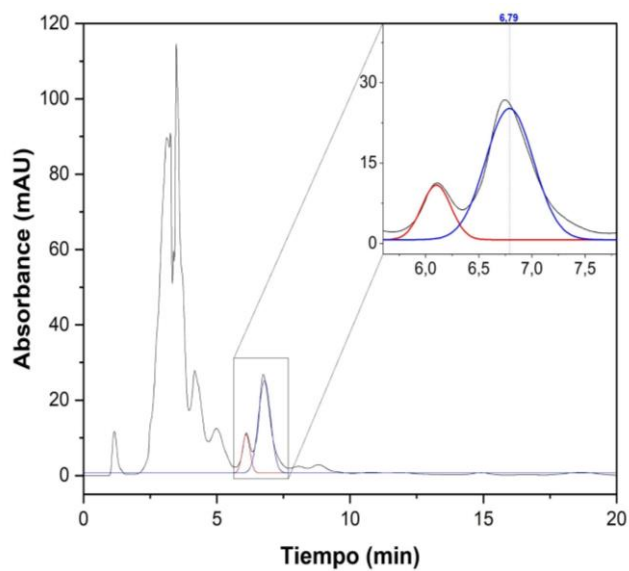
C. Jarabe S1

D. Jarabe S2

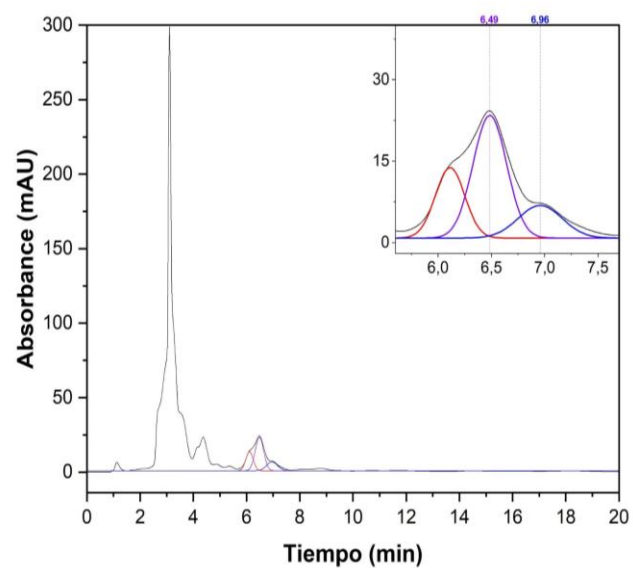
COMPOSICIÓN QUÍMICA DE EDULCORANTES A PARTIR DE EMC



E. Jarabe S3



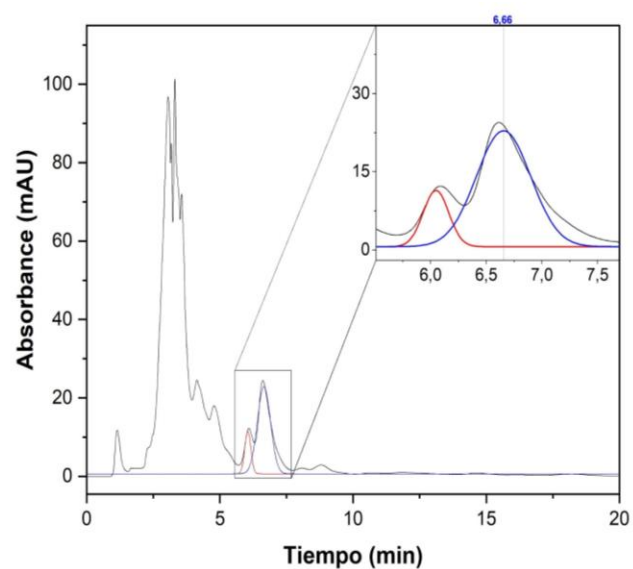
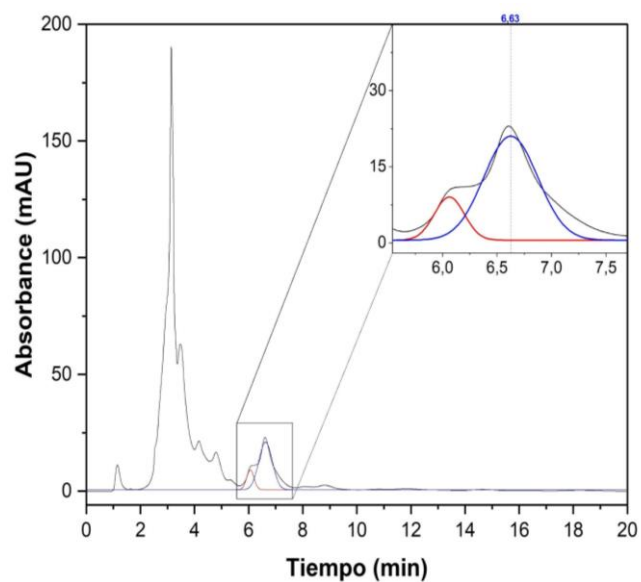
F. Jarabe S4



G. Jarabe S5

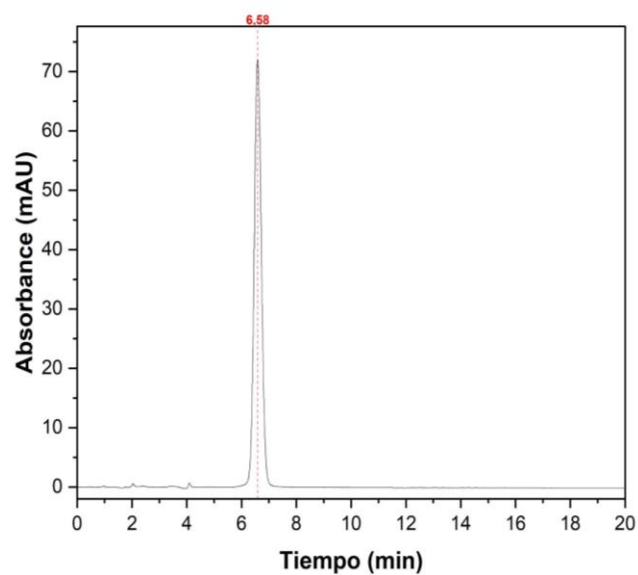
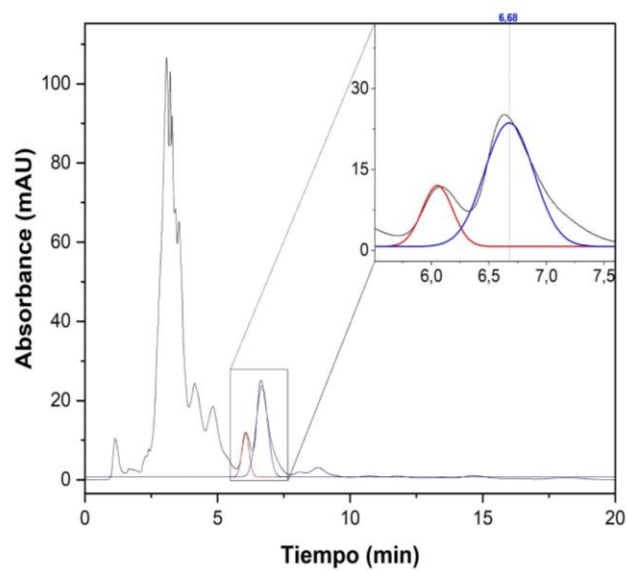
H. Jarabe S6

COMPOSICIÓN QUÍMICA DE EDULCORANTES A PARTIR DE EMC



I. Jarabe S7

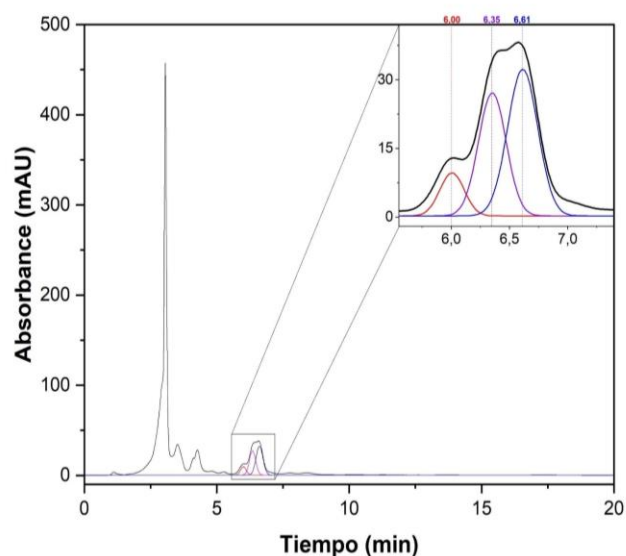
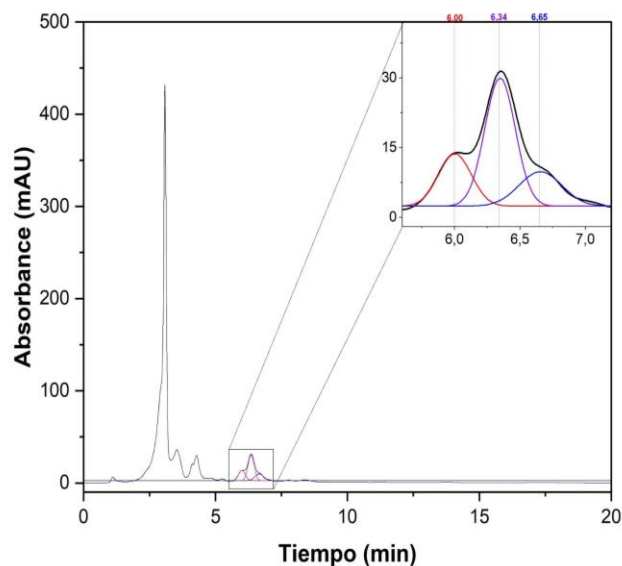
J. Patrón 2



K. JR

L. JR + HMF

COMPOSICIÓN QUÍMICA DE EDULCORANTES A PARTIR DE EMC

**Anexo D.Cadmio**

Linealidad de curva de calibración

Tabla 6.*Linealidad de patrón de Cd en equipo de absorción atómica.*

Compuesto	Rango (mg/L)	R ²	Ecuación ^a
Cadmio	0.0 – 1.512	0.9999	$y = 0.1293x + 0.0022$

a: x: Concentración (mg/L); y: Área.