

Prediction of total polyphenols content of cocoa extracts from the CIElab color space

Predicción del contenido de polifenoles totales de extractos de cacao, a partir del espacio de color CIElab

E. Acosta-Otálvaro^{1*}, J.C. Mazo-Rivas¹, C. García-Viguera²

¹Compañía Nacional de Chocolates S.A.S., Centro de Investigación, Desarrollo y Calidad (CIDCA), Km 2 Vía Belén Autopista Medellín-Bogotá, Rionegro Antioquia. Colombia.

²Laboratorio de Fitoquímica y Alimentos Saludables, Departamento de Ciencia y Tecnología de Alimentos, CEBAS-CSIC, Campus Universitario de Espinardo, 25, 30100 Espinardo, Murcia. Spain.

*eacosta@chocolates.com.co

Abstract

Cocoa polyphenols are composed of flavanols (catechins, epicatechins, and procyanidins) and anthocyanins. Some compounds generated from reactions between flavanols and anthocyanins are related to the purple colors typical of unfermented beans. Colors such as brownish are the product of oxidation reactions of these compounds with the enzyme polyphenol oxidase or by the effect of temperature. Some techniques for the quantification of polyphenols are complex and sometimes imprecise. This work aimed to propose a mathematical model to correlate the total polyphenol content (TPC) and the color coordinates L^* , a^* , b^* , of three unfermented cocoa extracts. This model was obtained from experimental data and multiple regressions between the variables mentioned above. This represents a tool for the prediction of the SCT in a rapid manner, as a possible indicator of quality in the control of the cocoa extract extraction process. The mathematical models obtained were acceptable as the resulting correlation coefficients were mostly above 0.829 (R^2) and the error values between actual and predicted data were below 5 %.

Keywords: mathematical models; experimental data; predicted data.

Resumen

Los polifenoles del cacao están compuestos por flavanoles (catequinas, epicatequinas y procianidias) y antocianinas. Algunos compuestos generados de las reacciones entre flavanoles y antocianinas se relacionan con los colores púrpura típicos de los granos sin fermentar. Colores como los amarronados son el producto de las reacciones de oxidación de estos compuestos con la enzima polifenol oxidasa o por efecto de la temperatura. Algunas técnicas para la cuantificación de los polifenoles son complejas y en ocasiones imprecisas. Este trabajo tuvo como objetivo proponer un modelo matemático, para correlacionar el contenido de polifenoles totales (TPC) y las coordenadas de color L^* , a^* , b^* , de tres extractos de cacao sin fermentar. Dicho modelo se obtuvo a partir de datos experimentales y regresiones múltiples entre las variables mencionadas anteriormente. Esto representa una herramienta para la predicción del TPC de forma rápida, como un posible indicador de calidad en el control del proceso de obtención de extractos de cacao. Los modelos matemáticos obtenidos fueron aceptables ya que los coeficientes de correlación resultantes, en su mayoría estuvieron por encima de 0,829 (R^2), y los valores de error entre los datos reales y los predichos por debajo del 5 %.

Palabras clave: modelos matemáticos; datos experimentales; datos predichos.

1. INTRODUCCIÓN

Los polifenoles de cacao están compuestos principalmente por flavanoles (catequinas, epicatequinas y procianidinas) y antocianinas (1). El grano de cacao sin fermentar tiene un color púrpura típico el cual puede darse por los compuestos derivados de las reacciones entre las antocianinas y flavanoles, las cuales pueden ocurrir directamente o por la presencia de acetaldehído en el grano de cacao el cual genera un puente etilo entre ambos compuestos (2). Cuando los flavanoles o las antocianinas sufren procesos oxidación por efecto de enzimas como la polifenol oxidasa y o por efecto de la temperatura estos colores pueden tornarse en un color amarronado (3). Existen diferentes técnicas para la cuantificación del contenido de estos compuestos (4-7). La mayoría de estas técnicas son complejas, requieren preparaciones rigurosas de las muestras y no son funcionales desde el punto de vista del control de procesos, ya que no pueden realizarse mediciones en línea en un proceso industrial. Llerena et al. (8), propusieron modelos matemáticos para predecir el contenido de carotenoides, polifenoles totales y antocianinas de diferentes frutos del ecuador a partir de la medición de las coordenadas de color (L^* , a^* , b^*), encontrando una adecuada correlación entre el color de los frutos y el contenido de biocompuestos. Esto es una herramienta simple, que puede permitir el control de un proceso en el que se quiera monitorear el contenido de compuestos bioactivos, a través de una medida indirecta y fácil de monitorear en línea. El objetivo de esta investigación es proponer modelos similares a los propuestos por los autores mencionados anteriormente con el fin de predecir el contenido de polifenoles totales en extractos de cacao a partir de un análisis de color, para establecer si es posible usarlo como un predictor de esta variable, durante el proceso de obtención de dichos extractos.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Obtención de extractos de cacao

Las muestras de cacao fueron tomadas aleatoriamente de la granja experimental de Compañía Nacional de Chocolates S.A.S (CNCH) ubicada en el departamento de Támesis, Antioquia. Se tomó un bloque experimental con dos niveles, que corresponden a dos tiempos diferentes de muestreo con una diferencia de 8 meses entre ambos (t_1 y t_2), de mezclas de cacaos sin fermentar ni secar al sol. Estos cacaos fueron recolectados y sometidos a tres tratamientos: A) sin tratamiento/control, B) congelación a $-20\text{ }^\circ\text{C}$ (9) usando un ultracongelador modelo 3552A (Thermo scientific, Massachusetts, USA) y C) inhibición de la polifenol oxidasa (PPO) de acuerdo a lo descrito por (10-11). Posterior a dichos tratamientos, el cacao fue deshidratado a condiciones controladas en un deshidratador FBA_GFD1850 (Gourmia, Brooklyn, NY) a $45\text{ }^\circ\text{C}$ (Espinoza, 2011), hasta alcanzar una humedad de 8 % aproximadamente, descascarillado en un descascarillador cocoawinnow 240-1-150 (Capco test equipment, Ipswich, UK), desgrasado mediante extrusión, empleando una prensa de tornillo (screw) (CNCH, Medellín, Colombia). Finalmente, se realizó una reducción de tamaño de partícula en un molino (Capco test equipment, Ipswich, UK).

2.2 Análisis de polifenoles totales

El contenido de polifenoles totales (TCP) se determinó por espectroscopia UV-VIS usando el método a micro-escala de Folin-Ciocalteu (Merk, Darmstadt, Alemania) (6). Todas las mediciones se realizaron por triplicado y se reportaron en sólidos secos de cacao.

2.3 Análisis de color

Para la determinación del color se seleccionó el espacio de color CIELab, obteniéndose las coordenadas luminosidad (L^*), coordenada rojo-verde (a^*) y coordenada amarillo-azul (b^*). Para ello se utilizó el espectrofotocolorímetro ColorFlex EZ modelo 45/0 (HynterLab, Virginia, USA).

Las mediciones se realizaron con iluminante D65. Se efectuaron 3 mediciones para los granos de cada tratamiento.

2.4 Análisis estadístico

Se realizó un modelo de bloques completamente aleatorizado donde el factor principal fue el tratamiento que se compone de tres niveles: A) Sin tratamiento/control, B) congelado y C) inhibición de la PPO, y un bloque con dos niveles (t1 y t2) que corresponden al momento de cosecha del cacao (la diferencia entre los dos bloques fue de 8 meses). Esto fue necesario para eliminar el ruido experimental asociado a las diferencias estacionales de la cosecha. La asignación de los tratamientos a las unidades experimentales traídas en cada evento fue completamente aleatoria. Se realizó un análisis de varianza ANOVA y una prueba de Tukey para establecer diferencias significativas entre los tratamientos. El tratamiento estadístico de los datos se hizo utilizando el lenguaje estadístico R (R Development Core Team, 2019). Adicionalmente se construyeron modelos matemáticos a partir de regresiones múltiples, para la predicción del contenido de polifenoles totales a partir de las coordenadas L^* , a^* , b^* . Esto se realizó siguiendo la metodología propuesta por Tsanova-Savova *et al.* (10).

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los modelos construidos se presentan en la Tabla 1, donde es posible observar las ecuaciones matemáticas obtenidas en la regresión y los coeficientes de correlación, los cuales presentan un buen ajuste exceptuando el modelo obtenido para el tratamiento B ($R^2=0,5974$), para los tratamientos A y C se obtuvieron ajustes adecuados ($R^2=0,9999$ y $0,9482$ respectivamente). Llerena *et al.* (8) en un estudio, obtuvieron coeficientes de correlación para la predicción de polifenoles totales en diferentes frutas entre 0,81 y 0,89, lo que nos permite mencionar que los modelos obtenidos en esta investigación tienen un buen ajuste para la predicción de TPC a partir de las coordenadas de color L^* , a^* , b^* . Los modelos obtenidos se validaron a partir de una comparación de los datos experimentales y los predichos por los modelos, adicionalmente se calculó el error absoluto entre ambos como se muestra en la Tabla 2. Llerena *et al.* (8) mencionaron que para el TPC son aceptables niveles de error entre 5-8 %, en los tratamientos A, B y C del t1 se encontraron valores por debajo de este límite, en el t2 los tratamientos B y C se ajustan al límite propuesto, mientras que el tratamiento A estuvo por encima.

4. CONCLUSIONES

Los mejores modelos obtenidos la predicción del TPC a partir de las coordenadas de color L^* , a^* , b^* ; en términos del ajuste y los menores valores de error, fueron los encontrados para los tratamientos A y B en t1 y C en t2. Estos modelos representan una herramienta que permiten predecir de forma rápida y aproximada el TPC de extractos de cacao con el fin de cuantificar esta variable en línea como un parámetro de calidad del extracto durante su proceso de obtención.

5. AGRADECIMIENTOS

Agradecimiento a Compañía Nacional de Chocolates S.A.S por la financiación de este proyecto.

6. REFERENCIAS

- Schinella G, Mosca S, Cienfuegos-Jovellanos E, Pasamar MÁ, Muguerza B, Ramón D, et al. Antioxidant properties of polyphenol-rich cocoa products industrially processed. *Food Res Int.* 2010;43(6):1614–23.
- Sánchez-Ilárduya MB, Sánchez-Fernández C, Garmón-Lobato S, Vilorio-Bernal M, Abad-García B, Berrueta LÁ, et al. Tentative identification of pyranoanthocyanins in Rioja aged red wines by high-performance liquid chromatography and tandem mass spectrometry. *Aust J Grape Wine Res.* 2014;20(1):31–40.
- De Aguiar Cipriano P, Ekici L, Barnes RC, Gomes C, Talcott ST. Pre-heating and polyphenol oxidase inhibition impact on extraction of purple sweet potato anthocyanins. *Food Chem.* 2015;180:227–34.
- Cardona L. Influencia del proceso de fermentación sobre las características de calidad del grano de cacao. Universidad Nacional de Colombia [Internet]. 2016 [cited 2019]; 81. Available from: <http://bdigital.unal.edu.co/57686/1/43987710.2017.pdf>
- Quelal-vásconez MA, Lerma-garcía MJ, Pérez-esteve É, Arnau-bonachera A, Manuel J, Talens P. Changes in methylxanthines and flavanols during cocoa powder processing and their quantification by near-infrared spectroscopy. *LWT.* 2020;117:108598.
- Rover MR, Brown RC. Quantification of total phenols in bio-oil using the Folin-Ciocalteu method. *J Anal Appl Pyrolysis.* 2013;104:366–71.
- Stylos E, Chatziathanasiadou MV, Syriopoulou A, Tzakos AG. Liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometry (LC – MS/MS) based bioavailability determination of the major classes of phytochemicals. *J Chromatogr B.* 2017;1047:15–38.
- Llerena W, Ang I, Brito B, Ortiz B. Biocompounds Content Prediction in Ecuadorian. *Foods.* 2019;8(284):1–16.
- Gil J. Estabilidad y actividad antioxidante de catequinas presentes en cacaos colombianos durante los procesos de pre industrialización. Universidad de Antioquia [Internet]. 2012; [cited 2019]; Available from: https://pdfs.semanticscholar.org/0dfa/6dd6c35840838da727c314fa4742addc6a6c.pdf?_ga=2.239607681.321630985.1595598092-510555429.1595598092
- Tsanova-savova S, Á FR, Gerova M. (+)-Catechin and (-)-epicatechin in Bulgarian fruits. *J Food Compos Anal.* 2005;18:691–8.
- Toro-Urbe S, Montero L, López-Giraldo L, Ibáñez E, Herrero M. Characterization of secondary metabolites from green cocoa beans using focusing-modulated comprehensive two-dimensional liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry. *Anal Chim Acta.* 2018;1036(7):204-13.

Tabla 1. Modelos matemáticos para la predicción del contenido de polifenoles totales (TPC) en los extractos de cacao.

Tratamiento	b_0	$TPC = b_0 + b_1(L^*) + b_2(a^*) + b_3(b^*)$			R^2
		b_1	b_2	b_3	
A (Control)	106.241	-2.543	17.619	31.142	0.9999
B (Congelación)	93.150	5.972	-18.014	25.533	0.5974
C (Inhibición PPO)	692.930	-32.283	28.706	-2.152	0.9482

Tabla 2. Valores reales, predichos y error absoluto del TPC para los pre-tatamientos de cacao.

Tratamiento	Valor Real (mgGAE/g)	*t1			*t2		
		Valor Predicho (mgGAE/g)	Error absoluto	Valor Real (mgGAE/g)	Valor Predicho (mgGAE/g)	Error Absoluto	
A (Control)	153.06	152.92	0.13	113.64	131.06	17.42	
B (Congelación)	149.14	147.38	1.76	104.19	98.77	5.42	
C (Inhibición PPO)	202.14	201.80	0.33	103.64	103.88	0.23	

*t1 y t2 corresponden al tiempo de cosecha.