

**Desarrollo y evaluación de un chocolate  
funcional incorporando dos tipos de extracto  
a dos concentraciones de dulcamara (*Solanum  
dulcamara L.*)**

**Carlos Santiago Moreno Miranda**

**Zamorano, Honduras**

Diciembre, 2009

ZAMORANO  
CARRERA DE AGROINDUSTRIA ALIMENTARIA

**Desarrollo y evaluación de un chocolate  
funcional incorporando dos tipos de extracto  
a dos concentraciones de dulcamara (*Solanum  
dulcamara L.*)**

Proyecto especial presentado como requisito parcial para optar  
al título de Ingeniero en Agroindustria Alimentaria en el  
Grado Académico de Licenciatura

Presentado por

**Carlos Santiago Moreno Miranda**

**Zamorano, Honduras**

Diciembre, 2009

**Desarrollo y evaluación de un chocolate funcional incorporando dos tipos de extracto a dos concentraciones de dulcamara *Solanum dulcamara L.***

Presentado por:

Carlos Santiago Moreno Miranda

Aprobado:

---

Flor M. Núñez R, M.Sc.  
Asesora principal

---

Luis Fernando Osorio, Ph.D.  
Director  
Carrera de Agroindustria Alimentaria

---

Francisco J. Bueso, Ph.D.  
Asesor

---

Raúl Espinal, Ph.D.  
Decano Académico

---

Kenneth L. Hoadley, D.B.A.  
Rector

## RESUMEN

Moreno, C. 2009. Desarrollo y evaluación de un chocolate funcional incorporando dos tipos de extracto a dos concentraciones de *Solanum dulcamara L.* Proyecto de Graduación del Programa de Ingeniería de Agroindustria Alimentaria, Escuela Agrícola Panamericana, El Zamorano, Honduras. 53p.

Actualmente el consumidor indica un estilo de vida saludable implicando un cambio en el concepto del alimento. El chocolate combinado con *Solanum dulcamara L.* constituye un alimento funcional. El objetivo del estudio fue desarrollar y evaluar un chocolate funcional incorporando dos tipos de extracto a dos concentraciones de *Solanum dulcamara L.* Basándose en pruebas exploratorias médicas con seis tratamientos; se elaboró cuatro formulaciones. Se utilizó un diseño de bloques completos al azar con un arreglo factorial 2x2 siendo los factores el tipo de extracto (deshidratado y líquido) y concentración (1 y 3%). Se hizo un análisis de varianza y una separación de medias Tukey ( $P < 0.05$ ). Se evaluó rendimiento (extracto y chocolate), atributos sensoriales de aceptación (apariencia, sabor, textura y aceptación general) y preferencia; características físico-químicas (color, textura, actividad de agua y análisis proximal); costos, y tiempos-movimientos. Se desarrolló un método para cuantificar por HPLC  $\alpha$ -solamargina presente en *Solanum dulcamara L.* Los rendimientos de extracto fueron 69.1 y 18.8% para el líquido y deshidratado, respectivamente y los de chocolate fueron 77.6 y 81.2% para el 1% líquido y 1% deshidratado, respectivamente. Las mejores puntuaciones sensoriales fueron para el chocolate 1%-dulcamara-líquida. El tratamiento con 1%-dulcamara-líquida fue 41% carbohidratos, 17% humedad, 37% grasa, 4.2% proteína, 1.2% fibra cruda y 0.09% cenizas. El tiempo piloto para 1kg de chocolate funcional fue de 39min, 36s. El costo variable para 1kg. de chocolate con 1%-dulcamara-líquida fue de L. 293.61. La concentración *Solanum dulcamara L.* fue el factor determinante en el estudio ( $P < 0.05$ ).

**Palabras clave:** glucoalcaloides,  $\alpha$ -solamargina, indomethacina, HPLC.

## CONTENIDO

Portadilla .....	i
Página de firmas.....	ii
Resumen .....	iii
Contenido .....	iv
Índice de cuadros, figuras y anexos .....	v
<b>1. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>1</b>
<b>2. REVISIÓN LITERARIA .....</b>	<b>4</b>
<b>3. MATERIALES Y MÉTODOS .....</b>	<b>14</b>
<b>4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....</b>	<b>21</b>
<b>5. CONCLUSIONES .....</b>	<b>36</b>
<b>6. RECOMENDACIONES.....</b>	<b>37</b>
<b>7. BIBLIOGRAFÍA .....</b>	<b>38</b>
<b>8. ANEXOS.....</b>	<b>41</b>

## ÍNDICE DE CUADROS, FIGURAS Y ANEXOS

### Cuadro

1. Peso molecular ( $\text{g mol}^{-1}$ ) de principales glucoalcaloides de origen <i>Solanum</i> .....	7
2. Pruebas médicas exploratorias: Tipo de extracto. ....	10
3. Pruebas médicas exploratorias: Concentración del extracto.....	11
4. Pruebas médicas exploratorias: cambio en nivel de linfocitos vs tratamiento. ....	12
5. Arreglo factorial del experimento.....	15
6. Codificación de tratamientos .....	17
7. Formulaciones para la elaboración de chocolates con extracto de dulcamara.....	17
8. Parámetros de evaluación Colorflex Hunter L*a*b. ....	18
9. Parámetros de evaluación Instron 4444 ®. ....	18
10. Aceptación de acuerdo al atributo apariencia de los chocolates elaborados con extracto de dulcamara. ....	21
11. Aceptación de acuerdo al atributo sabor de los chocolates elaborados con extracto de dulcamara. ....	22
12. Aceptación de acuerdo al atributo textura de los chocolates elaborados con extracto de dulcamara. ....	23
13. Aceptación de acuerdo al atributo aceptación general de los chocolates elaborados con extracto de dulcamara. ....	24
14. Análisis colorimétrico de los tratamientos elaborados bajo las escalas (Comisión Internacional de Luz)*. ....	25
15. Mediciones de carga máxima y desplazamiento para ruptura del chocolate elaborado con extracto de dulcamara. ....	26
16. Comparación de extractos por su rendimiento. ....	28
17. Comparación de tratamientos por su rendimiento. ....	28
18. Mediciones de Actividad de Agua (aw) de los chocolates elaborados.....	29
19. Aporte Nutricional del chocolate elaborado con 1% de dulcamara líquida. ....	29
20. Efecto del factor concentración sobre las variables sensoriales.....	31
21. Efecto del factor tipo de extracto sobre las variables sensoriales. ....	31
22. Efecto del factor concentración sobre las variables físico-químicas. ....	31
23. Efecto del factor tipo de extracto sobre las variables físico-químicas.....	31
24. Probabilidad de factores e interacción por variable analizada. ....	32

## Figura

1. Estructura morfológica de la dulcamara <i>Solanum dulcamara L.</i> .....	6
2. Estructuras de alcaloides más comunes de origen.....	7
3. Fórmula estructural de la $\alpha$ -solamargina.....	8
4. Extracción de glucoalcaloides a partir de frutos de <i>Solanum dulcamara L.</i> .....	13
5. Diagrama de proceso para chocolate dulce familiar con extracto de dulcamara.....	16
6. Diagrama de tiempos y movimientos para la elaboración de chocolate dulce familiar con dulcamara.....	33
7. Diagrama de tiempos y movimientos para la elaboración de dos tipos de extracto a partir de <i>Solanum dulcamara L.</i> .....	34

## Anexo

1. Diagrama explicativo de la función de polifenoles. ....	41
2. Contenido de polifenoles en cada unidad del proceso de chocolate.....	41
3. Metodología de pruebas médicas.....	42
4. Distribución de tratamientos en pacientes.....	43
5. Discusión médica sobre los pacientes.....	44
6. Descripción de la elaboración de extractos de <i>Solanum dulcamara L.</i> .....	45
7. Descripción de la elaboración del chocolate .....	45
8. Resultados de deshidratación de <i>Solanum dulcamara L.</i> .....	46
9. Efecto de las interacciones (concentración* extracto) sobre las variables analizadas .....	48
10. Hoja de evaluación sensorial en pruebas de aceptación.....	51
11. Ejemplo de resultados de pruebas sanguíneas de la Cruz Roja Ecuatoriana .....	52
12. Cromatogramas de $\alpha$ -solamargina e indomethacina (estándar externo).....	53

## 1. INTRODUCCIÓN

Las principales enfermedades crónicas que afectan al ser humano y que causan la mayoría de muertes incluyen enfermedades cardiovasculares, cáncer y diabetes. Los efectos de estas enfermedades pueden ser prevenidos o atenuados mediante una buena selección de los alimentos que conforman nuestra dieta (Patiño 2009). Basándose en la preocupación creciente sobre la salud del consumidor; la industria alimenticia ha avanzado durante estos últimos años en el desarrollo de lo que se denomina Alimentos Funcionales o Nutracéuticos los cuales se definen como “cualquier alimento o ingrediente del mismo que proporcione un beneficio probado a la salud humana” (Lobaton 1998).

El mercado de alimentos funcionales representa hoy USD\$ 200 millones, pero algunos proveen que en una década se comercializarán por valores cercanos a los USD\$ 450 millones, lo que indica una tendencia creciente de consumo por parte de la población (Food and Drug Administration EE.UU – FDA 2008). En el año 2012, la categoría de alimentos denominados "mejores para ti" (USD\$ 70 millones ) será la tercera categoría de más ventas seguida de los suplementos alimenticios (Intitute of Food Technology- IFT 2008).

El chocolate es una matriz alimenticia muy apreciada por el consumidor a través de la cual se puede suministrar componentes benéficos para la salud. Asimismo constituye un alimento funcional gracias a la presencia de compuestos antioxidantes llamados polifenoles (Moreno, C. 2009). Los flavonoides del cacao son una categoría de polifenoles que constituyen un potente antioxidante para las células y que podrían llegar a prevenir la aparición de determinados tipos de cáncer, retardar el envejecimiento a través de la reducción en la oxidación del colesterol bueno (Engler 2007).

La *Solanum dulcamara* L. conocida popularmente como dulcamara es una planta herbácea que crece espontáneamente y que está ampliamente distribuida en todo el mundo principalmente en zonas húmedas y boscosas; sus hojas, tallos y frutos contienen glucoalcaloides tales como solamargina, solanodulcina y solanina constituyendo sus componentes estimulantes del sistema inmune (Pittier 1974). La dulcamara es ampliamente utilizada en Sudamérica por países como Ecuador, Perú, y Bolivia debido a que sus grupos étnicos la emplean como medicamento contra innumerables enfermedades; a partir de eso, científicos han tratado de esclarecer la razón por la que dicha planta es llamada “la planta de la vida”.

La efectividad de la planta ha sido comprobada en pacientes que padecen de cáncer a través de estudios realizados en cultivos de células de cáncer de colon y próstata en la Universidad de Miami (Balakrishna 1998) . Por otro lado se efectuaron estudios que



demonstraron la capacidad de los glucoalcaloides de la *Solanum dulcamara L.* para incrementar las células CD4 (células blancas T), y reducir por apoptosis células cancerígenas en un 59% (Universidad de Birmingham, Alabama – USA 2007).

El industria de productos alimenticios funcionales se enfoca exclusivamente en alimentos enriquecidos y fortificados en su mayoría tales como lácteos, alimentos dietéticos, alimentos altos en fibra, alimentos enriquecidos, antioxidantes. Se decidió elaborar un producto en el que se aproveche las propiedades antioxidantes y cardiosaludables del chocolate complementados con las propiedades inmunoestimuladoras del la dulcamara para obtener un alimento que equilibre y eleve las defensas del organismo mediante la normalización de los niveles de linfocitos T y leucocitos.

Se evaluó dos tipos de extracto a diferentes concentraciones de *Solanum dulcamara L.*; los tratamientos fueron sometidos a pruebas exploratorias desarrolladas en conjunto con el Dr. Luis Cazar, director de la Unidad de Inmunología de la Cruz Roja de Tungurahua en Ecuador; posteriormente se escogió los cuatro mejores tratamientos de las pruebas exploratorias; estos fueron evaluados a través de pruebas físicas, químicas, sensoriales y productivas; finalmente se adaptó un método cromatográfico para cuantificar el principal glucoalcaloide de la dulcamara.

## **1.1. OBJETIVOS**

### **1.1.1. Objetivo general**

Desarrollar y evaluar un chocolate con propiedades funcionales incorporando con dos tipos de extracto a dos niveles de concentración de *Solanum dulcamara L.*

### **1.1.2. Objetivos específicos**

- Elaborar y obtener rendimientos de dos tipos de extractos de *Solanum dulcamara L.*
- Establecer la formulación, proceso y rendimientos a escala piloto del chocolate funcional.
- Determinar las propiedades sensoriales, físicas y químicas del chocolate funcional.
- Determinar los costos variables de las formulaciones con mayor aceptación a nivel de mercado.
- Desarrollar un método para identificación, purificación y cuantificación del principal glucoalcaloide de *Solanum dulcamara L.*

## **1.2. JUSTIFICACIÓN DE ESTUDIO**

La justificación de la investigación tiene como base el interés por desarrollar alimentos que contribuyan con el buen funcionamiento del organismo estableciendo objetivos que estén por sobre los beneficios nutricionales; actualmente la industria esta inmersa en la labor de conjugar procesos operacionales, estudios médicos y químicos que permitan obtener alimentos funcionales aceptados por los consumidores. Por otra parte está el interés de impartir conocimiento sobre la labor de cada alimento una vez dentro del cuerpo. Finalmente incentivar a la Escuela Agrícola Panamericana – Carrera de Agroindustria Alimentaria a la investigación de este interesante rubro en el mercado de alimentos.

## **2. REVISIÓN LITERARIA**

### **2.1. GENERALIDADES**

El concepto de alimento está cambiando, debido a que, a sus funciones tradicionales como la gastronómica y nutritiva, se les sumará la capacidad como medicamento. “Los alimentos funcionales, gracias al conocimiento del ADN (Nutrigenómica) de la persona, ayudarán a su desarrollo, procesos metabólicos y rendimientos físico y cognitivo” (Martí 2008). Este tipo de alimentos son parte importante de un estilo de vida saludable en general que incluye una dieta equilibrada y actividad física. Las personas deben esforzarse por consumir una amplia variedad de alimentos los cuales aportarían muchos componentes potencialmente beneficiosos EUFIC (European Food Information Council - EUFIC) 2008.

### **2.2. CHOCOLATE**

#### **2.2.1. Descripción y factores esenciales**

El chocolate es un alimento único debido a que a temperatura ambiente se encuentra en estado sólido pero funde rápidamente al ingresar a la cavidad bucal; esto se adjudica a la manteca que contiene el cacao y que permanece estable a menos de 25 °C; dicha condición permite que la matriz de un chocolate en combinación con edulcorantes, preservantes o ingredientes adicionales se mantenga apta para el consumo (Miller 2006).

La matriz de chocolate se obtiene por un proceso adecuado de fabricación a partir de materias de cacao que pueden combinarse con productos lácteos, azúcares y/o edulcorantes. Para constituir distintos productos de chocolate pueden añadirse otros productos alimenticios comestibles; las adiciones en combinación se limitarán al 40% del peso total del producto ver Cuadro 1. La industrialización del cacao ha venido evolucionando desde cada uno de los factores que la envuelve; por ejemplo la implementación de varias operaciones como el conchado, alcalinización y extracción hidráulica de manteca; así como también el cambio de formulaciones, envases y diseños; convirtiéndose esta actividad en un arte (Códex Alimentarius 1981).

Estudios han demostrado los beneficios que el cacao y el chocolate producen en la salud dentro de una dieta sana. Diversos estudios afirman que este alimento incide directamente en la prevención de enfermedades coronarias y contribuye al control del colesterol (Sanbongi 2009).

### **2.2.2. Chocolate como alimento funcional**

La ingestión de 6 g/día de chocolate durante 2 semanas reduce la presión arterial y mejora la función del endotelio de las arterias; la formación de óxido nítrico favorece la dilatación de las arterias, este produce además inhibición de la función de las plaquetas, estas tienen un papel importante en la formación del trombo dentro de las arterias. El efecto es debido, probablemente a la acción de los polifenoles del cacao (Knight 1998). Existe una dieta llamada Polymeal que puede reducir hasta un 76% el riesgo de enfermedad coronaria e incrementar la expectativa de vida en 5 años para las mujeres, y 6,6 años para los hombres (Anexo 1). Esta contempla el consumo de 100 gramos diarios de chocolate, con un 70% de cacao mínimo, pescado 114 g (4 veces por semana), vino menos de 150 ml por día, frutas y vegetales 400 g/día, almendras 68 g/día y ajo 2,7 g/día (Departamento de Salud Pública del Centro Médico Universitario de Róterdam 2006).

### **2.2.3. Polifenoles del chocolate**

Los polifenoles son fitoquímicos caracterizados por la presencia de más de un grupo fenol por molécula. Los polifenoles son generalmente subdivididos en taninos hidrolizables y fenilpropanoides. Actúan como antioxidantes protegiendo las células de radicales libres; por ejemplo cuando LDL colesterol es oxidado causando enfermedades cardiovasculares (Dewick 2005).

Las células de cacao contienen entre un 65 a 70% de polifenoles y un 3% de antocianinas, expresados en peso seco. Durante la fermentación, los polifenoles sufren reacciones, como la autocondensación con las proteínas y los péptidos. Al finalizar la fermentación, queda un 20%(p/p) de estos. Cabe mencionar que el tostado y otros tratamientos en el procesamiento del cacao son causa de cambios en los niveles de polifenoles. Anexo 2. Es importante saber que el nivel de los polifenoles cambia con las variedades y grados de fermentación (Zumbe 1999).

El consumo mundial de chocolate está estimado en 2 800 000 toneladas al año. Los países importadores de cacao son Europa (más de 1.2 millones toneladas / por año) y los Estados Unidos (0.4 millones toneladas / por año). A la cabeza de la lista se encuentran respectivamente Países Bajos, los Estados Unidos, Alemania, Reino Unido, Suiza, Bélgica, Venezuela, México Argentina Brasil. I.C.C.O (International Cocoa Organization) 2007.

## 2.3. DULCAMARA

### 2.3.1. Descripción

La Dulcamara ha obtenido durante los últimos años gran acogida por sus supuestos beneficios medicinales y curativos tales como activar el sistema inmunológico del organismo, proteger de enfermedades de tipo alérgica, cancerígena, hepática y gastrointestinal (Mejía 2008); se la comercializa principalmente en estado fresco, infusiones líquidas en solución dentro de una matriz azucarada; actualmente existe un jarabe medicinal a base de dulcamara llamado BIRM (Modulador Biológico de la Respuesta Inmune) desarrollado por el Dr. Edwin Cevallos; este medicamento ha sido objeto de investigación en el Departamento de Ciencias Médicas de la Universidad Estatal de Miami (Figura 1). Asimismo la Escuela Politécnica del Litoral ha desarrollado una bebida estimulante a base de dulcamara y que ha sido comercializada principalmente en la región litoral de Ecuador. Es importante mencionar que los organismos reguladores de alimentos funcionales son: en Europa el FUFUSE (Functional Food Science in Europe) y el International Life Sciences Institution en Washington D.C. La dulcamara es una planta herbácea perenne con tallos trepadores que llega a medir de 50 a 200 cm de altura, leñosa, puede ser acostado o rastrero. Posee hojas simples, trilobadas, ovales agudas las hojas inferiores y flores en racimos irregulares colgantes de color azul-violeta con algunas manchas amarillas.



Figura 1. Estructura Morfológica de *Solanum dulcamara* L.  
Fuente. Universidad de Brigham (2004).

### 2.3.2. Componentes activos

Son estructuras compuestas llamadas alcaloides glucosídicos esteroidales (Cuadro 1); poseen una aglicona y un azúcar (Griffiths 2000). Los glucoalcaloides de origen *Solanum* son metabolitos secundarios formados de precursores esteroides como el  $\beta$ -sitosterol, el ergosterol y el cicloartenol. Las diferencias existentes entre glucoalcaloides se centran en los carbohidratos que poseen. Estos componentes en la planta; permiten que el vegetal active su sistema inmune contra virus, bacterias, y patógenos que afecten su desarrollo normal (Yencho 1998).

Cuadro 1. Peso molecular ( $\text{g mol}^{-1}$ ) de principales glucoalcaloides de origen *Solanum*.

Componente	Fórmula Global	Aglicona	Azúcar
$\alpha$ -Chaconina	$\text{C}_{45}\text{H}_{73}\text{NO}_{14}$	solanidina	chacotriosa
$\alpha$ -Solana	$\text{C}_{45}\text{H}_{73}\text{NO}_{15}$	solanidina	solatriosa
$\alpha$ -Solamargina	$\text{C}_{45}\text{H}_{73}\text{NO}_{15}$	solasodina	chacotriosa
$\alpha$ -Solasonina	$\text{C}_{45}\text{H}_{73}\text{NO}_{16}$	tomatidenol	solatriosa
$\alpha$ -Solamarina	$\text{C}_{45}\text{H}_{73}\text{NO}_{16}$	tomatidenol	Solatriosa
$\alpha$ -Tomatina	$\text{C}_{50}\text{H}_{83}\text{NO}_{11}$	tomatidina	Lycotetraosa
Commersonina	$\text{C}_{51}\text{H}_{85}\text{NO}_{21}$	demissidina	Commertetrosa
Leptinina I	$\text{C}_{45}\text{H}_{73}\text{NO}_{15}$	leptinidina	chacotriosa
Leptinina II	$\text{C}_{51}\text{H}_{83}\text{NO}_{16}$	leptinidina	solatriosa

Fuente: Departamento de Química de Alimentos- Universidad de Helsinki, 2005.

Los glucoalcaloides presentes en la *Solanum dulcamara L* son de tipo Espirosolanoles tales como la solamarina, solanósido, solamargina y soladulcamarina, y Saponósidos esteroídicos como el ácido dulcamarético y el ácido dulcamárico (Figura 2). La mayor parte de estudios realizados sobre la efectividad de la planta se centran principalmente en  $\alpha$ -solamargina debido a que su mecanismo de acción ha sido el más efectivo a nivel del sistema inmune. Existen investigaciones similares en *Solanum tuberosum* y *Solanum americanum Mill* empleando ratas que han sido inyectadas con células de poder cancerígeno (Griffiths 2000).

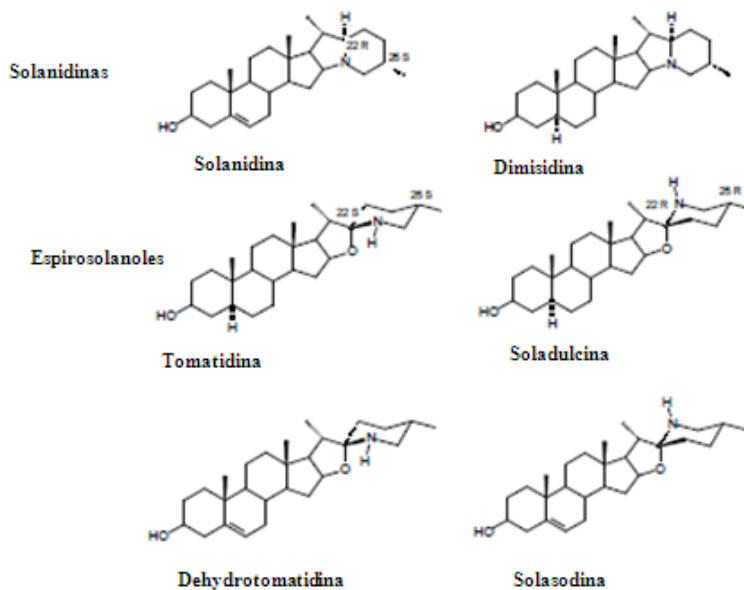


Figura 2. Estructuras de alcaloides más comunes de origen *Solanum*

Fuente. Instituto de Biotecnología Molecular- Universidad de Heidelberg, Alemania, (2005).

### 2.3.3. $\alpha$ -Solamargina

La Figura 3 muestra este alcaloide glucosídico esteroideo formado por solasodina (aglicona) y cacotriosa (azúcar), derivado del género vegetal *Solanum* que se caracteriza por su mecanismo estimulador (antígeno) en la producción de células de origen humano (linfocitos T) o a través de su mecanismo desintegrador en células patógenas mediante cambios en morfología celular, contenido de ADN y expresión genética de células sometidas previamente a tratamientos con solamargina (Cham 2008).

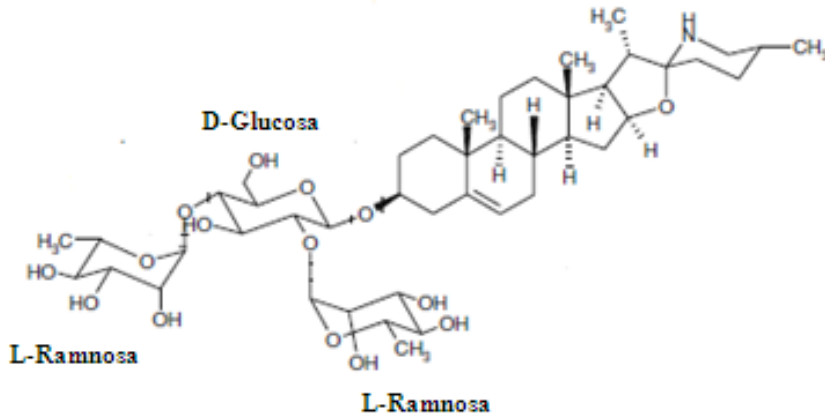


Figura 3. Fórmula estructural de la  $\alpha$ -solamargina

Fuente. Instituto de Biotecnología Molecular- Universidad de Heidelberg, Alemania, 2005.

### 2.3.4. Mecanismo de acción de la $\alpha$ -solamargina

De acuerdo a (Hall y Hobby 2007), la efectividad de la planta radica en el mecanismo de la  $\alpha$  solamargina; estos glucoalcaloides provocan citólisis explicada por la depresión de interacciones específicas de carbohidratos que generan intercalación de complejos esteroides en la membrana plasmática logrando la desintegración del parásito.

#### Efecto genómico

Según Chataing *et. al.*(1998), es causado por la interacción del glucoalcaloide con la membrana mitocondrial. la exposición de solamargina abre los canales de potasio mitocondriales, aumentando el potencial de la membrana; esto obstaculiza el transporte normal de  $\text{Ca}^{2+}$  al interior de las mitocondrias, aumentando la concentración de  $\text{Ca}^{2+}$  en el citoplasma provocando toxicidad. Durante el mecanismo de acción de la solamargina se da la condensación de la cromatina y fragmentación del ADN del patógeno induciendo la muerte del patógeno por apoptosis (Usubillaga 1998).

Efecto no genómico

Según Chataing *et. al.* (1998), se produce una inserción de la bicapa lipídica al evitar la síntesis de carbohidratos como respuesta de defensa por parte del patógeno, asimismo evita a que se lleve a cabo la metástasis o propagación de un foco infeccioso. Según Cevallos (2005), los glucoalcaloides de la *Solanum dulcamara L.* modulan el sistema inmunológico, lo que ha permitido emplearlos en enfermedades de depresión inmune y autoinmunes en los que los pacientes presentan un sistema inmunológico sobrecargado.

## **2.4. SISTEMA INMUNE**

El Sistema Inmune defiende nuestro organismo de los agentes externos (fundamentalmente bacterias y virus) que producen enfermedades infecciosas o cancerígenas. Está compuesto por células procedentes de los órganos linforreticulares: médula ósea, timo, bazo, ganglios linfáticos y agregados linfoides. Dichos órganos se encargan de producir las células de defensa B y T, que a su vez se encuentran en la sangre y se conocen como glóbulos blancos, leucocitos o más específicamente linfocitos B y T (Cevallos 2005).

Los linfocitos T y los linfocitos B, tienen distintas funciones, a los primeros les corresponde la inmunidad celular y a los segundos la producción de anticuerpos (inmunidad humoral). Un subtipo de linfocitos T, los linfocitos T4, actúan dirigiendo las operaciones de defensa cuando se presenta el patógeno; estos producen histamina, la misma que estimula la formación de anticuerpos al unirse con los receptores de los vaso dilatadores; cuando la producción de anticuerpos excede lo normal inician las enfermedades autoinmune; existen agentes reguladores como los glucoalcaloides de origen *Solanum* que interceptan la unión y equilibran la producción de las inmunodefensas (Cazar 2008).

### **2.4.1. Inmunoestimulador**

Los inmunoestimuladores son sustancias (fármacos y nutrientes) que estimulan el sistema inmunológico induciendo activación o aumentando la actividad de cualquiera de sus componentes (Kinast 2005).

## **2.5. INVESTIGACIONES PREVIAS**

### **2.5.1. Estudio médico exploratorio**

Se realizó un estudio preliminar aprobado por el Comité de Bioética conjuntamente con el Dr. Luis Cazar director de la Unidad de Inmunología de la Cruz Roja de Tungurahua en Ecuador con 18 pacientes para determinar la tasa de cambio en linfocitos a través de la ingestión de los 6 diferentes tratamientos; estos contemplaron 3 niveles de concentración de la planta (1, 3 y 5 %) vs tipo el de extracto (deshidratado y líquido) y un control 0%



extracto (Anexo 3 y 4). Los resultados fueron discutidos y respaldados por la opinión del Dr. Luis Cazar en la entrevista sobre el *Efecto Inmunoestimulador del Chocolate Funcional con Dulcamara*.

Los resultados del Cuadro 2 revelan que la diferencia de transformación (deshidratado e infusión) aplicado al material vegetal no determinó diferencias significativas en el grado de estímulo que ejercen los alcaloides de la dulcamara; en la actualidad la administración de ingredientes activos a pacientes se ha vuelto una tarea tediosa, de hecho las investigaciones radican en la invención de nuevos procesos de los que se obtenga alimentos con ingredientes foráneos no permisibles por los sentidos para su aceptabilidad. Según Pidox, T 1990 la *Solanum dulcamara L.* de infusiones, ya que el proceso térmico permite atenuar los componentes activos de la planta debido a que a altas concentraciones el efecto puede ser tóxico para el organismo traduciéndose en un rechazo por parte del sistema digestivo. No se ha reportado casos de intoxicación por la ingesta de la planta; pero se sabe que el consumo de 12 frutos crudos de la planta puede provocar vómito, dolores de cabeza, y vértigo; la recomendación para infusión es de por lo menos de 10 minutos a una proporción máxima de 3:2 (hoja-agua). El agua caliente actúa solubilizando los glucoalcaloides por las características básicas polares de las mismas y porque a 100 °C el agua rompe la célula y por ende las vacuolas donde se centran los alcaloides (Adams 1998).

Cuadro 2. Pruebas médicas exploratorias: Tipo de extracto.\*

Descripción	CNL $\pm$ D.E.
Deshidratado	23.82 <sup>a</sup> $\pm$ 15.86
Líquido	21.70 <sup>a</sup> $\pm$ 12.19

\*Medias con letras diferentes en la misma columna representan diferencias significativas (P<0.05).

CNL.- Cambio en Niveles de Linfocitos

Fuente. Unidad de Inmunología. Cruz Roja de Tungurahua

El Cuadro 3 indicó que a concentraciones menores (1%) del extracto la tasa de cambio a nivel de linfocitos es mayor. Del presente estudio Cazar (2009), indica que cierta concentración del ingrediente activo detiene la formación excesiva de anticuerpos y por lo tanto evita enfermedades de carácter autoinmune; al consumir una excesiva cantidad de alcaloides los efectos no son los esperados porque ya no se da una regulación en la formación de anticuerpos sino una pérdida al bajar el nivel de inmunodefensas.

Comparando los resultados del presente estudio con los obtenidos en la Universidad de los Andes Mérida-Venezuela en un estudio con una crema de alcaloides de origen *Solanum*; los mejores resultados fue la de 1%; debido al tipo de enfermedades de los pacientes.

Cuadro 3. Pruebas médicas exploratorias: Concentración del extracto.\*

Concentración %	CNL $\pm$ D.E.
1	39.78 <sup>a</sup> $\pm$ 9.24
2	17.37 <sup>b</sup> $\pm$ 2.23
3	11.13 <sup>b</sup> $\pm$ 1.80

\*Medias con letras diferentes en la misma columna representan diferencias significativas ( $P < 0.05$ ).

CNL.- Cambio en Nivel de Linfocitos

Fuente. Unidad de Inmunología. Cruz Roja de Tungurahua

### 2.5.2. Comparación de los tratamientos con un control

El Cuadro 4. señala que los tratamientos con 1% de dulcamara deshidratada y líquida causaron un mayor cambio en linfocitos; el tratamiento con 3% de dulcamara deshidratada, 3% y 5% de dulcamara líquida produjeron cambios significativos menores a los anteriores pero indiferentes entre sí y finalmente los tratamientos con 5% de dulcamara deshidratada y 0% extracto deshidratada o líquido (chocolate comercial) tuvieron una tasa de cambio menor que todos y siendo indiferentes entre sí; con esto se aclara que si existe un efecto funcional de los glucoalcaloides de la *Solanum dulcamara L.* a nivel del sistema inmune.

Luis Cazar indica que estas diferencias entre tratamientos y el control con 0% de ingrediente; es por los alcaloides que desarrollaron un efecto estimulante a nivel de linfocitos; en el estudio se pudo haber optado por otras variables pero se decidió evaluar linfocitos porque están ligados al proceso de respuesta inmune en caso de presentarse algún patógeno o alérgeno; la activación inicial se da en los linfocitos T quienes ejecutan las funciones de atacar a agentes extraños y activar linfocitos B, estos últimos se encargan de estimular la producción de histamina para dar lugar a anticuerpos. Los glucoalcaloides funcionan como reguladores de la producción de anticuerpos al interrumpir la unión entre la histamina y los receptores (vaso dilatadores) que en conjunto produce anticuerpos y por ende enfermedades autoinmunes como las alergias. Los resultados son un indicativo valioso de la funcionalidad de la planta y que abre muchas expectativas para investigaciones posteriores (Carlos Moreno Miranda: “Análisis Estadístico de Pruebas Médicas” Entrevista con Dr. Luis Cazar Jefe de la Unidad de Inmunología de la Cruz Roja de Tungurahua, *Evaluación del Efecto Inmunoestimulador de un Chocolate Funcional con Dulcamara*, Ambato, 2009).

Cuadro 4. Pruebas médicas exploratorias: Cambio en nivel de linfocitos vs tratamiento.\*

Tratamiento	Descripción	CNL $\pm$ D.E.
TD1	Deshidratado-1%	43.36 <sup>a</sup> $\pm$ 9.24
TL1	Líquido-1%	36.20 <sup>a</sup> $\pm$ 18.28
TD3	Deshidratado-3%	18.06 <sup>b</sup> $\pm$ 3.20
TL3	Líquido-3%	16.67 <sup>b</sup> $\pm$ 3.89
TL5	Líquido-5%	12.22 <sup>b</sup> $\pm$ 2.00
TD5	Deshidratado-5%	10.04 <sup>c</sup> $\pm$ 9.69
Control	0% Ingrediente	0.003 <sup>c</sup> $\pm$ 0.002

\*Medias con letras diferentes en la misma columna representan diferencias significativas (P<0.05).

CNL.- Cambio Nivel de Linfocitos

Fuente. Unidad de Inmunología. Cruz Roja de Tungurahua.

### 2.5.3. Adaptación de un método de purificación de glucoalcaloides a partir de frutos de *Solanum dulcamara* L

Se adaptó un método desarrollado por Chataing y Usubillaga (1998) para purificar glucoalcaloides a partir de frutos lavados de *Solanum americanum* Mill. El procedimiento conllevó dos etapas de digestión de frutos de *Solanum dulcamara* L. a base de calor y precipitación por presencia de un ácido y una base (Ver Figura 4). Se comparó con otro método adaptado para hojas de *Solanum dulcamara* L. del estudio realizado por Kuo-wha y Chun-nan (2000) con hojas de *Solanum incanum*, este método presentó un proceso de digestión menos complejo (ver metodología); las muestras purificadas tanto de frutos como de hojas fueron inyectadas al HPLC; se hizo una comparación de tiempos de elución; Kuo-wha y Chun-nan reportaron 5.62 min, los tiempos que se reportó fueron 6.4 min para frutos y 6.8 para hojas; debido a la facilidad del método adaptado para hoja se decidió tomarlo para la investigación oficial.

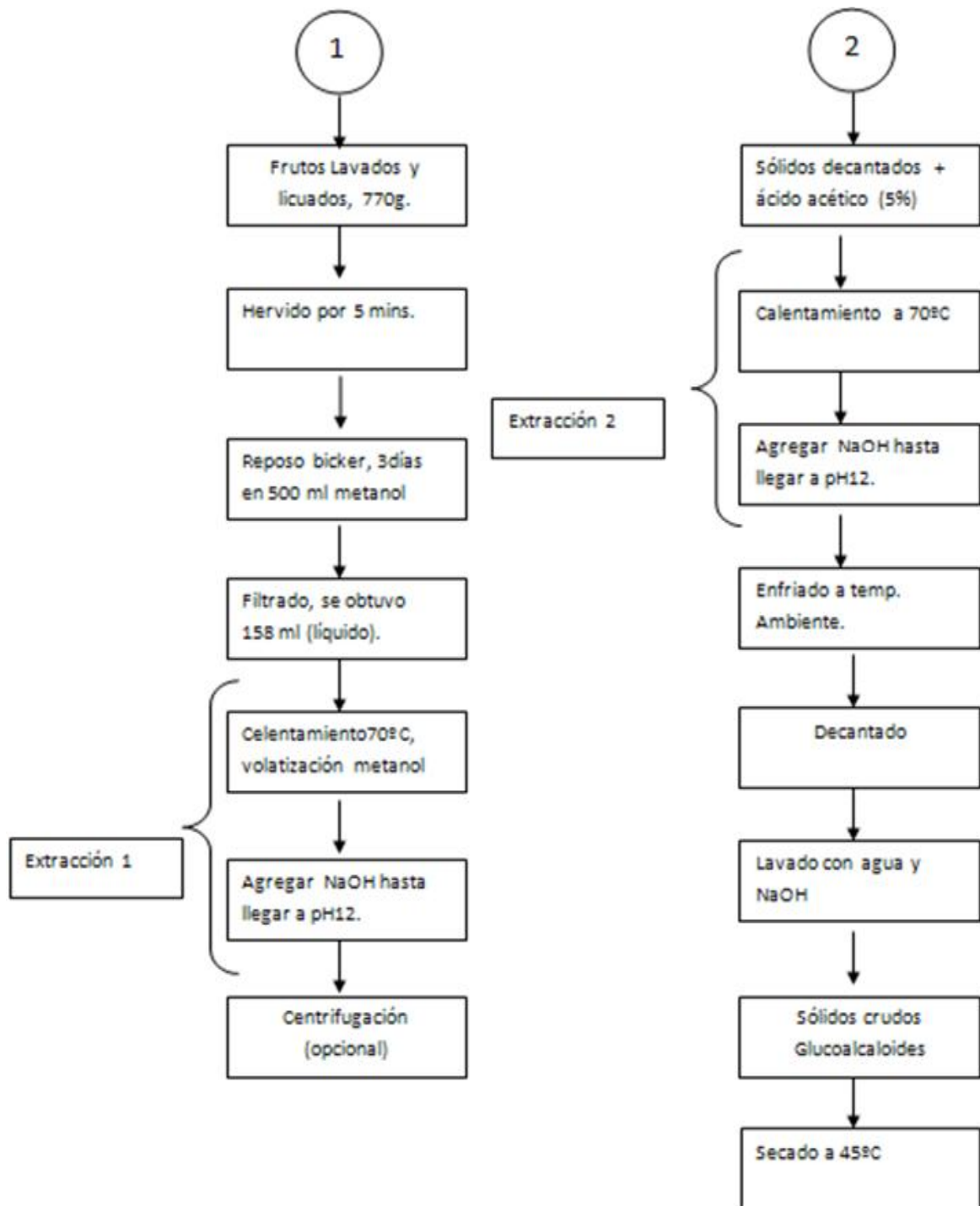


Figura 4. Moreno (2009) Extracción de Glucoalcaloides a partir de Frutos de *Solanum dulcamara L.* adaptado de Chataing y Usubillaga (1998).

### **3. MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **3.1. UBICACIÓN**

El desarrollo de los chocolates, pruebas físicas, químicas y sensoriales se llevaron a cabo en las instalaciones de la Planta Agroindustrial de Investigación y Desarrollo (P.A.I.D), en el Laboratorio de Análisis de Alimentos Zamorano (L.A.A.Z), Laboratorio de Análisis Sensorial Zamorano y Centro de Comercialización, ubicados en la Escuela Agrícola Panamericana Zamorano situada en el Valle del Yeguaré, San Antonio de Oriente, Km 32 al este de Tegucigalpa-Honduras. El estudio médico exploratorio se ejecutaron en las instalaciones de la Cruz Roja Ecuatoriana Ambato-Ecuador.

#### **3.2. MATERIALES Y EQUIPOS**

##### **3.2.1. Materiales**

Agua.  
Almidón de maíz.  
Azúcar refinada (edulcorante).  
Chocolate de cobertura.  
Esencia de vainilla (saborizante).  
Extracto deshidratado de dulcamara.  
Extracto líquido dulcamara comercial.  
Gelatina sin sabor.  
Leche en polvo.  
Lecitina (emulsificante).  
Pasta de Cacao 70% magro.  
Galletas Soda (análisis sensorial).

##### **3.2.2. Equipos**

Deshidratador de bandejas “Excalibur parallexx 3526T”.  
Termómetro digital.  
Balanza “Acculab VI – 10Kg”.  
Balanza “HH320 OH AUS”.  
Estufa Mabe 2300.  
Molino TRES CORONAS.

Aqualab “Little 3T”.  
 Instron Modelo 4444 “Instron Corporation”.  
 Colorflex Hunter L\*a\*b\*.  
 Horno Fisher Scientific”.  
 Incinerador , Mufla “SYBRON Thermolyne”.

### 3.3. DISEÑO EXPERIMENTAL

Se utilizó un diseño experimental de Bloques Completos al Azar (BCA) con un arreglo factorial de 2x3 ; se realizaron 3 bloques. Los factores fueron tipos de extracto con dos niveles (deshidratado y líquido); y concentración de extractos con 2 niveles (1 y 3%)

Cuadro 5. Arreglo factorial del experimento.

Tipo de Extracto	Concentraciones	
	1%	3%
Deshidratado	TD1	TD3
Líquido	TL1	TL3

Inicialmente se utilizó un factorial de 2x3 (1, 3, y 5 % de extracto) para las pruebas médicas exploratorias; posteriormente se escogió los 4 mejores tratamientos para establecer un factorial 2x2.

### 3.4. DESARROLLO DEL CHOCOLATE

#### 3.4.1. Preparación de extractos de *Solanum dulcamara L.*

Se prepararon dos tipos de extractos de dulcamara: extracto deshidratado y extracto líquido (Anexo 5). El extracto deshidratado se preparó a partir de hojas frescas de *Solanum dulcamara L.* obtenidas de la región amazónica ecuatoriana en estado silvestre. El extracto líquido se obtuvo de una compañía de laboratorios especialistas en medicamentos nutraceuticos en Ecuador y que elabora el extracto adicionando un jarabe azucarado para mejorar su sabor.

#### 3.4.2. Elaboración del chocolate

##### Chocolate dulce/familiar

Se elaboraron los distintos chocolates del tipo dulce/familiar según el CODEX STAN 87-1981 partir de pasta de cacao 70% magra, en ellos se incorporaron distintos ingredientes

como azúcar, almidón de maíz, lecitina, cobertura de chocolate, leche en polvo, gelatina sin sabor y los extractos (deshidratado o líquido) de *Solanum dulcamara L* (Anexo 6 y 7). “El *chocolate dulce/familiar* deberá contener, en extracto seco, no menos del 30% de extracto seco total de cacao, del cual no menos del 18% será manteca de cacao y el 12%, por lo menos, extracto seco magro de cacao; contiene un máximo del 18% m/m de harina y/o almidón de trigo, maíz o arroz” (Códex Alimentarius 1981).

### 3.4.3. Diagrama de proceso

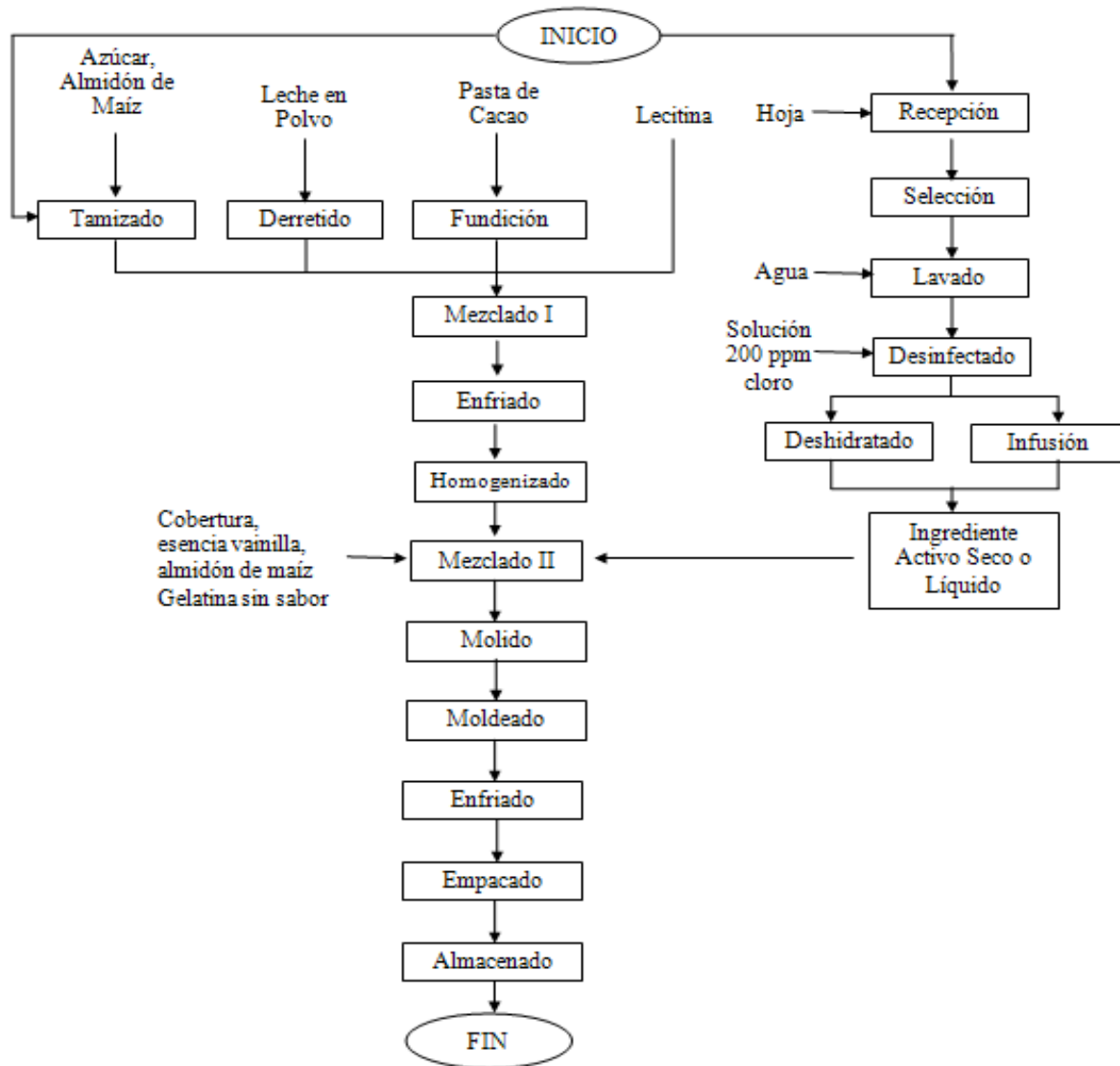


Figura 5. Diagrama de proceso para chocolate dulce familiar con extracto de dulcamara.

Cuadro 6. Codificación de tratamientos.

Tratamiento	Dulcamara	Concentración %	Codificación
1	Deshidratada	1	TD1
2	Deshidratada	3	TD3
3	Líquida	1	TL1
4	Líquida	3	TL3

TD1 Tratamiento con 1% de dulcamara deshidratada.

TD3 Tratamiento con 3% de dulcamara deshidratada.

TL1 Tratamiento con 1% de dulcamara líquida

TL3 Tratamiento con 3% de dulcamara líquida

Cuadro 7. Formulaciones para la elaboración de chocolates con extracto de dulcamara.

Ingredientes	Porcentaje %			
	TD1	TD3	TL1	TL3
Dulcamara Deshidratada	1.0	3.0	0.0	0.0
Dulcamara Líquida	0.0	0.0	1.0	3.0
Pasta de Cacao	40.0	40.0	40.0	40.0
Cobertura de Chocolate	10.0	10.0	10.0	10.0
Leche en Polvo	10.0	10.0	10.0	10.0
Azúcar Refinada	16.0	16.0	16.0	16.0
Almidón de Maíz	12.6	10.6	12.6	10.6
Gelatina sin Sabor	6.0	6.0	6.0	6.0
Esencia de Vainilla	4.0	4.0	4.0	4.0
Lecitina	0.4	0.4	0.4	0.4
<b>TOTAL</b>	<b>100.0</b>	<b>100.0</b>	<b>100.0</b>	<b>100.0</b>

### 3.5. ANÁLISIS SENSORIAL

Los tratamientos evaluados fueron los 4 mejores de las pruebas médicas exploratorias.

#### 3.5.1. Análisis sensorial exploratorio de aceptación

Se realizó un análisis exploratorio de aceptación utilizando un panel no entrenado de 12 personas. Se usó una escala hedónica de 5 puntos; siendo 1 (me disgusta mucho) el menor grado de aceptación y 5 (me gusta mucho) el mayor grado de aceptación. Los resultados se analizaron a través de un ANDEVA; las variables evaluadas fueron:



- Apariencia
- Sabor
- Textura
- Aceptación General

### 3.5.2. Análisis sensorial de preferencia

Para la prueba de preferencia se seleccionó los dos mejores tratamientos de las pruebas de aceptación; estos fueron sometidos a un panel preferencial con 90 personas, se determinó el tratamiento que más gusta a los consumidores a través del método analítico tabla t-student con un nivel de significancia del 5%.

## 3.6. ANÁLISIS FÍSICO

### 3.6.1. Análisis de color

Los tratamientos seleccionados para las pruebas sensoriales exploratorias fueron evaluados por su atributo color mediante el uso del Colorflex Hunter L\*a\*b.

Cuadro 8. Parámetros de evaluación Colorflex Hunter L\*a\*b.

Número de lecturas por muestra	Parámetros de medida Colorflex Hunter L*a*b
3	L(luminosidad) de 0-100; 0 negro y 100 blanco a(verde-rojo) a- verde y a+ rojo b(azul-amarillo). b- azul b+ amarillo

### 3.6.2. Análisis de textura

Los tratamientos seleccionados para las pruebas sensoriales exploratorias fueron evaluados por su textura; se empleó un método empírico ayudado por el INSTRON 4444 con acople aguja de punción; se midió el esfuerzo en kN (kilonewtons) y desplazamiento de fractura en mm (milímetros) del prototipo.

Cuadro 9. Parámetros de evaluación Instron 4444 ®.

Número de lecturas por muestra	Esfuerzo	Desplazamiento
3	Kn	Mm

### 3.7. ANÁLISIS QUÍMICO

#### 3.7.1. Análisis químico proximal

Se determinó la composición química del mejor tratamiento obtenido de las pruebas sensoriales de preferencia de acuerdo a métodos de la A.O.A.C; los componentes analizados fueron:

- Humedad (A.O.A.C 925.09 Horno a 105 °C)
- Grasa (A.O.A.C 972.28 Hidrólisis Ácida)
- Proteína (A.O.A.C 960.52 Micro Kjeldahl)
- Fibra Cruda (A.O.A.C 926.09)
- Cenizas (A.O.A.C 923.02)
- Actividad de Agua (A.O.A.C 978.18 Aqualab)
- Carbohidratos (Extracto libre de nitrógeno-ELN)

#### 3.7.2. Extracción, identificación y cuantificación de $\alpha$ - solamargina

##### Extracción

El método de extracción fue adaptado de los métodos desarrollados por Kuo, Kou-wha y Lin Chun-nan et al (2000) de un estudio para el tratamiento farmacológico contra células cancerígenas; y de Distl (2004) de un estudio de identificación y cuantificación de alcaloides esteroidales en especies *Solanum*.

##### Identificación y Cuantificación

Se identificó y cuantificó  $\alpha$ -solamargina por medio de HPLC. La solución de alcaloides fue filtrada previamente con una membrana filtro de 0.45  $\mu$ m; la fase móvil fue acetonitrilo:agua 60:40, pH ajustado con  $H_3PO_5$  a 2.5; la columna fue ZORBAX Eclipse Plus C18: 4.6 x 150mm, 5 $\mu$ m; el flujo de 1ml/ min; detector UV 220nm y un estándar interno de INDOMETHACIN 99% pureza (Sigma Aldrich Co.) Este método fue adaptado de método desarrollado por Kuo, Kou-wha y Lin Chun-nan *et. al.* (2000).

### 3.8. RENDIMIENTO

Se comparó los rendimientos de los dos tipos de extracto y los rendimientos de los dos mejores tratamientos del análisis sensorial de aceptación a través de la siguiente ecuación:

$$\% \text{Rendimiento} = (\text{salida}) / (\text{entrada}) * 100 \text{ (porcentual)}$$

Fuente. Universidad Nacional Autónoma de México- Departamento de Ciencias Físicas y Químicas.

### **3.9. ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

Se realizó un análisis de varianza para revelar la uniformidad de los datos y una separación de medias Tukey para determinar si existen diferencias significativas al comparar las interacciones; se empleó el sistema SAS ® Statistical Analysis System.

### **3.10. DETERMINACIÓN DE TIEMPOS Y MOVIMIENTOS**

Se determinó el tiempo empleado y distancias recorridas durante el proceso de extracto líquido y extracto deshidratado; y de los dos mejores tratamientos de pruebas sensoriales.

### **3.11. DETERMINACIÓN DE COSTOS**

Se determinó los costos variables del mejor tratamiento del análisis de preferencia considerando únicamente los ingredientes.

## 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1. ANÁLISIS SENSORIAL

#### 4.1.1. Pruebas de aceptación

##### 4.1.1.1. Apariencia

Según el Cuadro 10, se detectaron diferencias significativas en apariencia entre tratamientos. Los tratamientos con 1% dulcamara líquida y 1 % dulcamara deshidratada obtuvieron las calificaciones más altas pero siendo indiferentes entre sí; lo que implica que los panelistas tuvieron mayor aceptabilidad por las formulaciones con menos extracto visible; independientemente del tipo de extracto. El tratamiento con 3% dulcamara líquida tuvo una calificación intermedia menor a los anteriores y el tratamiento con 3% dulcamara deshidratada obtuvo la calificación más baja probablemente por la coloración verde intensa de la hoja o partículas que a concentraciones menores no es notoria, pero al 3% si influye.

Cuadro 10. Aceptación de acuerdo al atributo apariencia de los chocolates elaborados con extracto de dulcamara.\*

Tratamiento	Apariencia	
	Descripción	Calificación $\pm$ D.E.**
TL1	Líquido, 1%	4.25 <sup>a</sup> $\pm$ 0.57
TD1	Deshidratado, 1%	4.11 <sup>a</sup> $\pm$ 0.58
TL3	Líquido, 3%	3.03 <sup>b</sup> $\pm$ 0.52
TD3	Deshidratado, 3%	2.69 <sup>c</sup> $\pm$ 0.49
CV <sup>ϕ</sup> (%)		12.2

\*Medias con letras diferentes en la misma columna representan diferencias significativas (P<0.05).

\*\*D.E. Desviación Estándar

CV<sup>ϕ</sup> Coeficiente de variación

#### 4.1.1.2. Sabor

El Cuadro 11 indica las diferencias significativas que se detectaron en sabor entre tratamientos. Los tratamientos con 1% dulcamara líquida y 1% dulcamara deshidratada obtuvieron las calificaciones más altas indistintamente del tipo de extracto; lo que implica que los panelistas tuvieron mayor aceptabilidad por las formulaciones con menos extracto. Los tratamientos con 3% dulcamara deshidratada y 3% líquida tuvieron las calificaciones más bajas; probablemente por la alta concentración de los extractos lo que influyó en la apreciación del sabor. La calificación de este atributo se basó más en concentración que en tipo de extracto. Según Stark y Hoffman (2006), el sabor característico del chocolate lo dan los alcaloides como la teobromina y fenetilamina; estos tienen un efecto sinérgico con ácidos orgánicos como el aspártico y glutámico presentes en la matriz, al combinarse con otro ingrediente de sabor fuerte, existen dos posibilidades, realce de los componentes volátiles del chocolate o pérdida de los mismos por esta razón recomiendan emplear una nariz electrónica para lograr un perfil de sabor e identificar los ingredientes más idóneos para un chocolate.

Cuadro 11. Aceptación de acuerdo al atributo sabor de los chocolates elaborados con extracto de dulcamara.\*

Tratamiento	Sabor	
	Descripción	Calificación $\pm$ D.E.**
TD1	Deshidratado, 1%	4.39 <sup>a</sup> $\pm$ 0.67
TL1	Líquido, 1%	4.33 <sup>a</sup> $\pm$ 0.64
TL3	Líquido, 3%	2.89 <sup>b</sup> $\pm$ 0.56
TD3	Deshidratado, 3%	2.67 <sup>b</sup> $\pm$ 0.51
CV <sup>φ</sup> (%)		12.4

\*Medias con letras diferentes en la misma columna representan diferencias significativas ( $P < 0.05$ ).

\*\*D.E. Desviación Estándar

CV<sup>φ</sup> Coeficiente de Variación

#### 4.1.1.3. Textura

El Cuadro 12 indica las diferencias significativas que se detectaron en textura entre tratamientos. Los tratamientos con 1% dulcamara líquida y 1% dulcamara deshidratada tuvieron mayor aceptabilidad por parte de los panelistas. Los tratamientos con 3% dulcamara deshidratada y 3% dulcamara líquida tuvieron las calificaciones más bajas; esto se debe probablemente a la textura de la hoja y el sabor residual del jarabe, que en mayores concentraciones no es apreciado por los panelistas. La calificación de este atributo se inclinó más por la concentración de extractos, similar al atributo de sabor.

La textura de un chocolate depende exclusivamente del contenido de grasa que exista; la presencia de ingredientes completamente ajenos a la matriz podrían causar un desorden en

las partículas por lo que se recomienda emplear agentes aglutinantes que no contribuya con sabores ni aromas extraños (Hargreaves 2007).

Cuadro 12. Aceptación de acuerdo al atributo textura de los chocolates elaborados con extracto de dulcamara.\*

Tratamiento	Textura	
	Descripción	Calificación $\pm$ D.E.**
TD1	Deshidratado, 1%	4.56 <sup>a</sup> $\pm$ 0.49
TL1	Líquido, 1%	4.31 <sup>a</sup> $\pm$ 0.54
TL3	Líquido, 3%	2.86 <sup>b</sup> $\pm$ 0.45
TD3	Deshidratado, 3%	2.53 <sup>b</sup> $\pm$ 0.52
CV <sup>ϕ</sup> (%)		12.6

\*Medias con letras diferentes en la misma columna representan diferencias significativas ( $P < 0.05$ ).

\*\*D.E. Desviación Estándar

CV<sup>ϕ</sup> Coeficiente Variación

#### 4.1.1.4. Aceptación general

En el Cuadro 13 se observa diferencias significativas en aceptación general entre tratamientos. Los tratamientos con 1% dulcamara líquida y 1% dulcamara deshidratada obtuvieron las calificaciones más altas independientemente del tipo de extracto; probablemente porque la apreciación de los panelistas se inclinó por las formulaciones con menos extracto al evaluar las variables analizadas anteriormente. Los tratamientos con 3% dulcamara deshidratada y 3% dulcamara líquida tuvieron las calificaciones más bajas; esto se comprueba en el análisis de los atributos apariencia, textura y sabor ya que las partículas de hoja en el caso del tratamiento con 3% dulcamara deshidratada y el sabor residual elevado del tratamiento con 3% de dulcamara líquida denotaron baja aceptación. En general los dos mejores tratamientos, 1% dulcamara líquida y 1% dulcamara deshidratada, se mantuvieron en los niveles 4 y 5 de la escala hedónica.

De acuerdo a Frauendorfer (2006), la evaluación sensorial en un chocolate es básico para la identificación de componentes que se desee potenciar para lograr mayor aceptabilidad en el mercado; ellos recomiendan un panel con experiencia y que se maneje una escala de 5 a 7 puntos, finalmente concluyen que en un chocolate el atributo color, olor y aroma presentan la mayor complejidad e importancia.

Cuadro 13. Aceptación de acuerdo al atributo aceptación general de los chocolates elaborados con extracto de dulcamara.\*

Tratamiento	Aceptación General	
	Descripción	Calificación $\pm$ D.E.**
TL1	Líquido, 1%	4.31 <sup>a</sup> $\pm$ 0.71
TD1	Deshidratado, 1%	4.25 <sup>a</sup> $\pm$ 0.51
TL3	Líquido, 3%	2.92 <sup>b</sup> $\pm$ 0.57
TD3	Deshidratado, 3%	2.72 <sup>b</sup> $\pm$ 0.52
CV <sup>ϕ</sup> (%)		13.1

\*Medias con letras diferentes en la misma columna representan diferencias significativas (P<0.05).

\*\*D.E. Desviación Estándar

CV<sup>ϕ</sup> Coeficiente de Variación

#### 4.1.2. Pruebas de preferencia

Los resultados indican que 65 personas calificaron al tratamiento con 1% dulcamara líquida como el mejor. La preferencia por el tratamiento antes mencionado se puede deber al efecto sinérgico entre el jarabe líquido azucarado que contiene el ingrediente activo y los componentes del cacao; asimismo este resultado se atribuye mucho a la textura suave del mismo versus el tratamiento con 1% dulcamara deshidratada. De este análisis rescatamos la necesidad de rediseñar el proceso de deshidratación de dulcamara; se recomienda licuar la hoja y elaborar una pasta homogénea, esto facilitará la deshidratación y al triturar las partículas será mucho más pequeñas lo que mejorará la aceptabilidad a nivel de mercado.

## 4.2. ANÁLISIS FÍSICO

### 4.2.1. Color

#### 4.2.1.1. Valores L\*, a\* y b\*

Valor L\*

El Cuadro 14 indica que se detectaron diferencias significativas entre tratamientos para el valor L\*. El tratamiento con 1% dulcamara líquida presentó diferencias significativas con el tratamiento 3% dulcamara líquida que presentó la media más baja, lo cual indica que fue el tratamiento con matices mas oscuro. El tratamiento con 1% dulcamara deshidratada y 3% dulcamara deshidratada fueron indiferentes estadísticamente de los dos tratamientos antes mencionados y entre sí. El extracto líquido en bajas concentraciones probablemente

no afecta drásticamente el color del chocolate mientras que a altas concentraciones de extracto azucarado líquido las tonalidades tienden a ser más oscuras por el color pardo del mismo.

#### Valor a\*

Se puede observar diferencias significativas entre tratamientos para el valor a\* (Cuadro 14). Todos los tratamientos estuvieron en el rango de color rojo. El tratamiento con 3% dulcamara deshidrata presentó diferencias significativas con el tratamiento 1% dulcamara líquida que presentó la media más baja, indicando que fue el tratamiento con bajas tonalidades rojas. El tratamiento con 1% dulcamara deshidratada y 3% dulcamara líquida fueron indiferentes estadísticamente de los dos tratamientos antes mencionados y entre sí; se deduce que el extracto deshidratado en altas concentraciones probablemente influye el color del chocolate por sus tonalidades oscuras pardas.

#### Valor b\*

Según los datos del Cuadro 14 se detectaron diferencias significativas entre tratamientos para el valor b\*. Todos los tratamientos están en el rango de color amarillo. El tratamiento con 3% dulcamara deshidratada tuvo la media mas alta seguido del tratamiento 3% dulcamara líquida esto se puede deber a la presencia en altas concentraciones de partículas de hoja; y del jarabe líquido que inducen a tonalidades amarillentas. Los tratamientos con 1% dulcamara líquida y 1% dulcamara deshidratada tuvieron las media más bajas; probablemente a que la combinación del extracto líquido u hoja deshidratada en bajas concentraciones con los pigmentos del cacao no influyen en el color tradicional del producto.

Cuadro 14. Análisis colorimétrico de los tratamientos elaborados bajo las escalas del CIE (Comisión Internacional de Luz).\*

Tratamiento	Descripción	Valores CIE $\pm$ D.E.**		
		L*	a*	b*
TL1	Líquido, 1%	22.25 <sup>a</sup> $\pm$ 2.82	07.42 <sup>b</sup> $\pm$ 1.82	08.03 <sup>c</sup> $\pm$ 0.31
TD1	Deshidratado, 1%	21.26 <sup>ba</sup> $\pm$ 2.47	07.80 <sup>ba</sup> $\pm$ 1.86	09.33 <sup>c</sup> $\pm$ 0.51
TD3	Deshidratado, 3%	20.15 <sup>ba</sup> $\pm$ 1.99	09.36 <sup>a</sup> $\pm$ 2.15	10.04 <sup>a</sup> $\pm$ 0.24
TL3	Líquido, 3%	19.75 <sup>b</sup> $\pm$ 0.52	08.32 <sup>ba</sup> $\pm$ 1.81	09.73 <sup>b</sup> $\pm$ 0.12
CV <sup>φ</sup> (%)		1.52	2.23	1.74

\*Medias con letras diferentes en la misma columna representan diferencias significativas (P<0.05).

\*\*D.E. Desviación Estándar

CV<sup>φ</sup> Coeficiente de Variación



## 4.2.2. Textura

### 4.2.2.1. Carga máxima (kN)

Con respecto a la fuerza máxima de ruptura de la matriz; observamos en el Cuadro 15 diferencias entre tratamientos. El tratamiento con 1% dulcamara deshidratada presenta mejor cohesividad entre sus partículas debido a la presencia mínima de extracto seguido del tratamiento con 1% dulcamara líquida, el tratamiento con 3% dulcamara deshidratada obtuvo la media más baja en comparación con los anteriormente mencionados; por último el tratamiento con 3% dulcamara líquida es indiferente del tratamiento 3% dulcamara deshidratada y 1% dulcamara líquida pero si diferente del tratamiento con 1% dulcamara deshidratada. La presencia del extracto deshidratado a altas concentraciones desestabiliza la matriz; estas diferencias también se puede también adjudicar al proceso es necesario el uso de equipos que permitan obtener un alimento con mejores propiedades; se observa además diferencias entre tratamientos para el parámetro de desplazamiento; la relación es directa; mayor fuerza de carga menor desplazamiento del acople.

Wright (2004), manifiesta que la matriz de chocolate es muy compleja; la solidez del chocolate radica en la fase lipídica y temperatura a la que este expuesta; existe variabilidad de acuerdo al tipo de cacao; pero el criollo que comúnmente se encuentra en Latinoamérica presenta buena estabilidad a temperatura ambiente (20-30 °C); de esto dependerá el tipo ingredientes que se desee incorporar en un chocolate.

Cuadro 15. Mediciones de carga máxima y desplazamiento para ruptura del chocolate elaborado con extracto de dulcamara.\*

Tratamiento	Descripción	Valores INSTRON $\pm$ D.E.**	
		Ruptura (kN)	Desplazamiento (mm)
TL1	Líquido, 1%	22.25 <sup>a</sup> $\pm$ 2.82	07.42 <sup>b</sup> $\pm$ 1.82
TD1	Deshidratado, 1%	21.26 <sup>ba</sup> $\pm$ 2.47	07.80 <sup>ba</sup> $\pm$ 1.86
TD3	Deshidratado, 3%	20.15 <sup>ba</sup> $\pm$ 1.99	09.36 <sup>a</sup> $\pm$ 2.15
TL3	Líquido, 3%	19.75 <sup>b</sup> $\pm$ 0.52	08.32 <sup>ba</sup> $\pm$ 1.81
CV <sup>ϕ</sup> (%)		3.15	1.03

\*Medias con letras diferentes en la misma columna representan diferencias significativas (P<0.05).

\*\*D.E. Desviación Estándar

CV<sup>ϕ</sup> Coeficiente de Variación

### **4.3. CORRELACIONES**

#### **4.3.1. Color (Colorflex Hunter L\*a\*b) – apariencia**

La correlación positiva alta de 0.9556 entre el valor L\* y el atributo sensorial apariencia, indica que a mayor sean las tonalidades claras del tratamiento mejor será su calificación en apariencia. Esta correlación se ve reflejada en el tratamiento con dulcamara líquida al 1%.

Se evaluó la correlación entre el valor a\* y el atributo sensorial apariencia; se determinó que mientras es menor la influencia de tonos rojos en su color los tratamientos reciben mejor calificación en apariencia; se reflejado en el tratamiento con 1% dulcamara líquida La correlación fue de -0.965.

La correlación positiva alta de -0.911 entre la apariencia y el valor b\* demuestra que el tratamiento con menor tono amarillo será mejor calificado en el atributo apariencia; se ve reflejada en el tratamiento con 1% dulcamara líquida.

#### **4.3.2. Textura (Instron) – textura sensorial**

La correlación positiva alta de 0.936 entre los datos de textura del INSTRON y el atributo textura demuestra que el tratamiento con mayor cohesividad entre sus partículas tendrá mejor calificación en el atributo textura del análisis sensorial; se ve reflejad esto en el tratamiento con 1% dulcamara deshidratada.

### **4.4. RENDIMIENTOS DEL PRODUCTO**

#### **4.4.1. Rendimiento de la dulcamara**

El Cuadro 16 señala diferencias significativas entre tipos de extracto por su rendimiento; esta diferencia se debe principalmente a que líquido es diluido en una matriz azucarada acuosa.

Cuadro 16. Comparación de extractos por su rendimiento.\*

Tipo de Extracto	Rendimiento (%) $\pm$ D.E.**
Líquido	69.03 <sup>a</sup> $\pm$ 23.76
Deshidratado	18.79 <sup>b</sup> $\pm$ 3.52
CV <sup>ϕ</sup> (%)	12.73

\*Medias con letras diferentes en la misma columna representan diferencias significativas (P<0.05).

\*\*D.E. Desviación Estándar

CV<sup>ϕ</sup> Coeficiente de Variación

#### 4.4.2. Rendimiento final de los tratamientos

El Cuadro 17 señala que existe una diferencia de rendimientos entre los tratamientos con extracto deshidratado y con extracto líquido; esto se atribuye a la presencia de agua en el caso de los tratamientos con dulcamara líquida. En el siguiente cuadro se observa la diferencia entre los dos mejores tratamientos del experimento.

Cuadro 17. Comparación de tratamientos por su rendimiento.\*

Tratamiento	Descripción	Rendimiento (%) $\pm$ D.E.**
TL1	Líquida, 1%	81.24 <sup>a</sup> $\pm$ 1.39
TD1	Deshidratada, 1%	77.57 <sup>b</sup> $\pm$ 2.34
CV <sup>ϕ</sup> (%)		9.49

\*Medias (n=3) con letras diferentes en la misma columna representan diferencias significativas (P<0.05).

\*\*D.E. Desviación Estándar

CV<sup>ϕ</sup> Coeficiente de Variación

### 4.5. ANÁLISIS QUÍMICO

#### 4.5.1. Actividad de agua

El Cuadro 18 indica que el tratamiento con 3% dulcamara líquida presenta mayor actividad de agua en comparación con el tratamiento 3% dulcamara deshidratada; mientras que los tratamientos 1% dulcamara líquida y 1% dulcamara deshidratada no muestran diferencias significativas entre sí ni con los dos tratamientos antes mencionados. La razón por la que el tratamiento con 3% dulcamara deshidratada presenta menor aw es probablemente por efecto.

Cuadro 18. Mediciones de actividad de agua (aw) de los chocolates elaborados.\*

Tratamiento	Actividad de Agua	
	Descripción	Calificación $\pm$ D.E.**
TL3	Líquido, 3%	0.75 <sup>a</sup> $\pm$ 0.007
TL1	Líquido, 1%	0.74 <sup>ba</sup> $\pm$ 0.009
TD1	Deshidratado, 1%	0.74 <sup>ba</sup> $\pm$ 0.009
TD3	Deshidratado, 1%	0.74 <sup>ba</sup> $\pm$ 0.031
CV <sup>φ</sup> (%)		1.32

\*Medias con letras diferentes en la misma columna representan diferencias significativas (P<0.05).

\*\*D.E. Desviación Estándar

CV<sup>φ</sup> Coeficiente de Variación

#### 4.5.2. Análisis químico proximal

El Cuadro 19 indica un alto contenido de carbohidratos y grasa; esto se debe a que en la formulación se sustituyó manteca de cacao por una cobertura que poseía en su composición aceite de palma y manteca de cacao. El valor de humedad está por debajo de los niveles normales 2-15% (Beckett, 2000) debido a la presencia de dulcamara líquida en forma de jarabe; el valor de fibra de igual manera sobrepasa el nivel normal en un chocolate 0.1% (Riversson, A. 2007); el resto de valores se encuentran dentro de los rangos normales según el Códex Alimentarius para chocolate dulce familiar.

Cuadro 19. Aporte Nutricional del chocolate elaborado con 1% de dulcamara líquida.

Componente	Chocolate D.F.D. Porcentaje $\pm$ D.E.*	Chocolate D.F.S. Porcentaje**
Carbohidratos	40.90 $\pm$ 0.0012	45-65
Humedad	16.70 $\pm$ 0.0011	17-22
Grasa	37.00 $\pm$ 0.0021	20-38
Proteína	4.20 $\pm$ 0.0015	4 – 8
Fibra Cruda	1.11 $\pm$ 0.0017	-
Cenizas	0.09 $\pm$ 0.0013	-
Fibra Dietética	-	15-20
Calorías/onz	-	30
Calorías/100 g.	-	471
TOTAL	100	

\*D.E. Desviación Estándar

\*\*Aporte Nutricional de un Chocolate Dulce Familiar Estándar Vierii (2007)

D.F.D. Chocolate dulce familiar con 1% dulcamara líquida

D.F.S. Chocolate dulce familiar simple.

### 4.5.3. Cromatografía líquida

Se determinó una concentración de  $\alpha$ -solamargina de 17.055 mg/100g de muestra  $\pm$  0.904 en hoja deshidratada de *Solanum dulcamara L.* de acuerdo al estándar externo indomethacin 99% utilizado como referencia. Se observó que existe diferencias en los tiempos de retención siendo este de 6.25 min  $\pm$  0.61. De acuerdo a Kuo – whan (2000) la concentración de  $\alpha$ -solamargina en solanáceas varía entre 10 a 100 mg/100g de hoja seca (Anexo 11).

Los parámetros que se tomaron para emplear indomethacin fueron la similitud en su estructura química con la de  $\alpha$ -solamargina y la longitud de onda a la que fueron sometidos concluyendo que ambos compuestos presentaron la mayor absorción a 220 nm. De acuerdo a Kuo- whan (2000), el tiempo de retención es de 5.8 min y la longitud de onda a la que detecto  $\alpha$ -solamargina fue de 220 nm.

La concentración total de glucoalcaloides puede variar desde 25 hasta 2700 mg/100g y los factores que influyen directamente son género y especie del vegetal; y tipo de proceso al que han sido sometidos, teniendo claro que a temperatura alta existen pérdidas de glucoalcaloides (Bacigalupo 2004).

## 4.6. EFECTO DE LOS FACTORES SOBRE LAS VARIABLES ANALIZADAS

### 4.6.1. Efecto de los factores sobre las variables sensoriales

Los Cuadros 20 y 21 señalan claramente que el factor predominante en la investigación fue la concentración; indistintamente del tipo de extracto los panelistas aceptaron a través de puntuaciones altas los chocolates con una concentración de 1%. El tipo de extracto fue indiferente a excepción de la apariencia donde si hubo una diferencia estadística; probablemente porque la partícula de hoja deshidratada era muy visible y poco aceptada por los panelistas.

Cuadro 20. Efecto del factor concentración sobre las variables sensoriales.

Factor	Variables Sensoriales			
	Apariencia	Sabor	Textura	Aceptación General
1%	A	A	A	A
3%	B	B	B	B

Cuadro 21. Efecto del factor tipo de extracto sobre las variables sensoriales.

Factor	Variables Sensoriales			
	Apariencia	Sabor	Textura	Aceptación General
Deshidratado	A	A	A	A
Líquido	B	A	A	A

### 4.6.2. Efecto de los factores sobre las variables físico-químicas

En los Cuadros 22 y 23 se observa que el factor concentración influyó mas en el análisis de las variables físico-químicas a excepción de la variable actividad de agua; a diferencia del factor tipo de deshidratado el mismo que fue indiferente en el análisis de color; lógicamente es el deshidratado el que disminuyó la actividad de agua de la matriz por contener fibra; muy por lo contrario sucede con el líquido que incrementó la actividad de agua del chocolate.

Cuadro 22. Efecto del factor concentración sobre las variables físico-químicas.

Factor	Físico-químicas				
	L*	a*	b*	Textura analítica	Actividad de agua
1%	A	B	B	A	A
3%	B	A	A	B	A

Cuadro 23. Efecto del factor tipo de extracto sobre las variables físico-químicas

Factor	Físico-químicas				
	L*	a*	b*	Textura analítica	Actividad de agua
Deshidratado	A	A	A	B	B
Líquido	A	A	A	A	A

#### 4.7. PROBABILIDAD DE FACTORES E INTERACCIÓN POR VARIABLE ANALIZADA

El cuadro 24 señala con claridad la probabilidad de cada factor e interacción para cada variable analizada destacando por su mayor diferencia las probabilidades correspondientes al factor concentración; asimismo las probabilidades de la interacción de ambos factores fueron significativas. El factor tipo de extracto fue determinante en la variable textura analítica y actividad de agua debido a la interacción de las partículas de la matriz de chocolate con la fibra o líquido independientemente.

Cuadro 24. Probabilidad de factores e interacción por variable analizada.

Probabilidad	Variables								
	Ap.	Sabor	Textura	A.G.	L*	a*	b*	T.A.	Aw
Pr>F(CC)	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	<.0001	0.0162	0.4342
Pr>F(TE)	0.0118	0.4341	0.6648	0.1931	0.2627	0.4228	0.7315	0.0251	0.0149
Pr>F(CC*TE)	0.0116	0.0232	0.0029	0.0486	0.0182	0.0475	0.0294	0.0337	0.0428
R <sup>2</sup>	0.7521	0.7231	0.8241	0.7486	0.801	0.8722	0.9305	0.9202	0.8149

Pr>F(CC). Probabilidad para factor concentración

Pr>F(TE). Probabilidad para factor tipo de extracto

Pr>F(CC\*TE). Probabilidad para interacción concentración\*tipo de extracto

R<sup>2</sup> Ajuste de datos.

Ap. Atributo apariencia

A.G. Atributo aceptación general

T.A. Textura analítica

Aw Actividad de agua

#### 4.8. ESTUDIO DE TIEMPOS Y MOVIMIENTOS A ESCALA PILOTO

La Figura 6 indica el diagrama de proceso para elaborar 1 kg. de chocolate dulce familiar con extracto de *Solanum dulcamara L.* se necesita 39 min, 36 s.
















Proceso Chocolate	Símbolo	Tiempo seg.	Distancia m.
Almacenamiento de Materia Prima			
Hacia Mesa de Trabajo		14	7
Pesado de Materias Primas		420	
Hacia Fundido		14	7
Fundido		600	
Hacia mezclado I		14	7
Mezclado I		300	
Enfriado I		240	
Homogenizado		180	
Mezclado II		300	
Hacia Molino		14	10
Molido		300	
Moldeado			
Enfriado			
Empacado			
<b>TOTAL</b>		<b>2396 seg</b>	<b>31 m</b>

Figura 6. Diagrama de tiempos y movimientos para la elaboración de chocolate dulce familiar.



La Figura 7 indica las diferencias entre los tiempos que se necesitan para elaborar tanto el extracto líquido como el deshidratado principalmente por la etapa de deshidratación (4 horas) con por la de infusión (0.5 horas).

















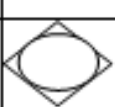




Proceso Deshidratado de Hoja Dulcamara	Símbolo	Tiempo seg.	Distancia m.	Proceso Jarabe Líquido Dulcamara	Símbolo	Tiempo seg.	Distancia m.
Almacenamiento de Hoja				Almacenamiento de Hoja			
Hacia mesa de Trabajo		14	7	Hacia mesa de Trabajo		14	7
Selección de Hojas		300		Selección de Hojas		300	
Lavado		300		Lavado		300	
Desinfectado		180		Desinfectado		180	
Pre-secado		120		Pesado		300	
Pesado		300		Hacia infusión		14	8
Hacia deshidratado		14	8	Infusión-Jarabe		3600	
Deshidratado		16200		Hacia Almacenado		300	10
Hacia almacenado		10	10	Almacenado		10	
Almacenado		10		<b>TOTAL</b>		<b>5018 seg.</b>	<b>25 m.</b>
<b>TOTAL</b>		<b>17448 seg.</b>	<b>25 m.</b>				

Figura 7. Diagrama de tiempos y movimientos para la elaboración de dos tipos de extracto a partir de *Solanum dulcamara L.*

#### 4.9. DETERMINACIÓN DE COSTOS VARIABLES

Para el análisis de costos variables de los mejores tratamientos en pruebas sensoriales de aceptación se tomó como base la producción de 100 Kg. de producto final. Cuadros 25 y 26.

**Cuadro 25. Costos variables de un chocolate familiar con 1% de dulcamara líquida**

Ingrediente	Base 1 Kg de Chocolate con 1% dulcamara líquida		
	%	Peso (g)	Precio (L.)
Dulcamara Deshidratada	0.00	0	0.00
Dulcamara Líquida	3.00	30	18.00
Pasta de Cacao	40.00	400	200.00
Cobertura de Chocolate	10.00	100	11.01
Leche en Polvo	10.00	100	7.50
Azúcar Refinada	16.00	160	8.00
Almidón de Maíz	10.60	106	10.60
Gelatina sin Sabor	6.00	60	18.00
Esencia de Vainilla	4.00	40	20.00
Lecitina	0.40	4	0.50
<b>TOTAL</b>	<b>100.00</b>	<b>1000</b>	<b>293.61</b>

**Cuadro 26. Costos variables de un chocolate familiar con 1% de dulcamara deshidratada**

Ingrediente	Base 1 Kg de Chocolate con 1% dulcamara deshidratada		
	%	Peso (g)	Precio (L.)
Dulcamara Deshidratada	3.00	30	9.00
Dulcamara Líquida	0.00	0	0.00
Pasta de Cacao	40.00	400	200.00
Cobertura de Chocolate	10.00	100	11.01
Leche en Polvo	10.00	100	7.50
Azúcar Refinada	16.00	160	8.00
Almidón de Maíz	10.60	106	10.60
Gelatina sin Sabor	6.00	60	18.00
Esencia de Vainilla	4.00	40	20.00
Lecitina	0.40	4	0.50
<b>TOTAL</b>	<b>100.00</b>	<b>1000</b>	<b>284.61</b>

De acuerdo al IFST (Institute of Food Science and Technology, 2008) en Europa el precio de 1 Kg. de chocolate familiar para tasa es de 14 a 15 euros es decir L. 416.75

## 5. CONCLUSIONES

- La concentración al 1% de dulcamara deshidratada o líquida en la matriz de chocolate dulce familiar fue la más aceptada por el consumidor.
- Se determinó que el porcentaje de rendimiento del extracto líquido ( 69.03 %) fue mejor que del extracto deshidratado (18.79%); los rendimientos en los mejores tratamientos fueron 77.57% para el de 1% dulcamara deshidratada y 81.24% para el de 1% dulcamara líquida.
- Independientemente de los tratamientos, se observó que el almidón de maíz y gelatina sin sabor contribuyeron en la dotación de estabilidad a la matriz conjuntamente con los tipos de extracto .
- El tratamiento con 1% dulcamara líquida contiene 40.81 % de carbohidratos, 16.70 % de humedad, 37% de grasa, 4,2 % de proteína, 1,20 % de fibra cruda y 0.089 % de cenizas cumpliendo en su mayoría con normas del Códex Alimentarius.
- La concentración de  $\alpha$ -solamargina fue de 17.055 mg/100g de muestra de hoja deshidratada utilizando de referencia indomethacin como estándar externo.
- Se encontró las siguientes correlaciones en el estudio; 0.956 entre valor L\* y atributo apariencia,- 0.965 entre el valor a\* y el atributo apariencia, -0.981 entre el valor b\* y el atributo apariencia; y 0.936 entre los datos del INSTRON 4444 y el atributo textura.
- El tiempo que toma elaborar 100 gramos de cada uno de los tipos de extracto a escala piloto difiere; siendo el líquido (1 hora, 23 minutos y 24 segundos) menor que el deshidratado (4 horas, 50 minutos, 45 segundos).
- A escala piloto el tiempo para elaborar 1kg de chocolate es de 0 horas, 29 minutos, 26 segundos.
- Se determinó que el costo variable para 1kg de chocolate dulce familiar con 1% dulcamara líquida es menor (L. 293.61) que el costo de 1 kg. de chocolate dulce familiar con 1% dulcamara deshidratada (L. 284.61).

## 6. RECOMENDACIONES

- Implementar investigaciones con solanáceas similares a la dulcamara, específicamente se recomienda la *Solanum americanum Mill* presente en la E.A.P. aplicado a otras matrices y evaluando a partir de un extracto líquido no comercial.
- Adquirir estándares puros de  $\alpha$ -solamargina que se están elaborando principalmente en Inglaterra.
- Adquirir maquinaria específica para la elaboración de confites que permitan desarrollar prototipos de mejor calidad e innovación.
- Realizar un estudio de vida de anaquel de producto en almacenamiento conjuntamente con análisis microbiológico del mismo.
- Contar con panelistas capacitados para futuras investigaciones en el rubro de confitería.
- Establecer estudios que contemplen pruebas de efectividad en el organismo a lo largo del tiempo reglamentado por las organizaciones que regulan este tipo de investigación.
- Iniciar proyectos de investigación que contemple pruebas médicas con alimentos funcionales en conjunto con universidades o centros de investigación.
- Realizar un estudio de mercado completo de este producto.

## 7. BIBLIOGRAFÍA

Acree, T. E.; Barnard, J.; Cunningham, D. G. A procedure for the sensory analysis of gas chromatographic effluents. *FoodChem.* **1984**, *14*, 273-286 (en línea). Consultado 10 de junio de 2009. Disponible en: [www.nysaes.cornell.edu/fst/faculty/acree/public.html](http://www.nysaes.cornell.edu/fst/faculty/acree/public.html)

Adams M. 2005 Chocolate Properties. *J. Food Science*. Consultado 12 de junio de 2009. Disponible en: [www.springerlink.com/index/8830K46X17772303.pdf](http://www.springerlink.com/index/8830K46X17772303.pdf) -

Alzerreca A, Hart G. 1982. Molluscicidal steroid glycoalkaloids possessing stereoisomeric spirosolane structures. *Toxicol Lett* 12: 151155 (en línea). Consultado 12 de junio de 2009. Disponible en: [www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7112609](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7112609)

Bacigalupo MA (2004) Alpha-solanine and alpha-chaconine glycoalkaloid assay in *Solanum tuberosum* extracts by liposomes and time-resolved fluorescence. *J Food Compost Anal* 17:665–673 (en línea). Consultado 12 de junio de 2009. Disponible en: [www.springerlink.com/index/8260K46X17772303.pdf](http://www.springerlink.com/index/8260K46X17772303.pdf) -

Bixler, R. G.; Morgan, J. N. Cocoa bean and chocolate processing. In *Chocolate and Cocoa*; Knight, J., Ed.; Blackwell Science: London, U.K., 1999; pp 43-60 (en línea). Consultado 10 de junio de 2009. Disponible en: [www.worldcocoafoundation.org/scientific.../Frauendorfer2006.pdf](http://www.worldcocoafoundation.org/scientific.../Frauendorfer2006.pdf)

Blankemeyer JT, McWilliams ML, Rayburn JR., Weissenberg M, Friedman M. 1998. Developmental toxicology of solamargine and solasonine glycoalkaloids in frog embryos. *Food Chem Toxic* 36: 383389 (en línea). Consultado 18 de junio de 2009. Disponible en: [linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0278691500000909](http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0278691500000909) -

Bodart P, Kabengeru C, Noifalisse A, Hubert P, Angenot L. 2000. Determination of  $\alpha$ solanine and  $\alpha$ chaconine in potatoes by highperformance thinlayer chromatography/densitometry. *J AOAC Int* 83: 14681473(en línea). Consultado 22 de junio de 2009. Disponible en: [orbi.ulg.ac.be/ph-search?uid=U001823&start=40](http://orbi.ulg.ac.be/ph-search?uid=U001823&start=40)

Bonvehi, S. J.; Coll, V. F. Evaluation of purine alkaloids and diketopiperazines contents in processed cocoa powder. *Eur. Food Res. Technol.* **2000**, *210*, 189-195 (en línea). Consultado 10 de junio de 2009. Disponible en: [www.worldcocoafoundation.org/scientific.../Frauendorfer2006.pdf](http://www.worldcocoafoundation.org/scientific.../Frauendorfer2006.pdf)

Cham BE, Daunter B, Evans RA. 1991. Topical treatment of malignant and premalignant skin lesions by very low concentrations of a standard mixture (BEC) of solasodine

glycosides. **Cancer Lett.** 59: 183-192 (en línea). Consultado 2 de julio de 2009. Disponible en: [www.worldcocoafoundation.org/...research/research.../Stark05Flavor.pdf](http://www.worldcocoafoundation.org/...research/research.../Stark05Flavor.pdf)  
=

Chataing B, Concepción JL, Lobaton R, Usubillaga A. 1998. Inhibition of *Trypanosoma cruzi* growth *in vitro* by *Solanum* alkaloids: A comparison with ketoconazole. *Planta Médica.* 64: 31-36 (en línea). Consultado 5 de junio de 2009. Disponible en: [indianmedicine.eldoc.ub.rug.nl/root/C/10753/?...ON](http://indianmedicine.eldoc.ub.rug.nl/root/C/10753/?...ON) -

Chataing B, Concepción JL, Buitrago de Cristancho N, Usubillaga A. 1996. Estudio clínico de la efectividad de extractos alcaloides obtenidos de los frutos de *Solanum americanum* Miller sobre *Herpes simplex*, *Herpes zoster* y *Herpes genital*.. *Rev. Fac. Farmacia. Univ. Los Andes* 32: 18- 25 (en línea). Consultado 2 de julio de 2009. Disponible en: [www.ciens.ula.ve/~piqa/Archivos/base.htm](http://www.ciens.ula.ve/~piqa/Archivos/base.htm) -

Cazar, L. 2009. Efecto Inmunoestimulador de la dulcamara, Cruz Roja Ecuatoriana, 20pp. Ambato-Ecuador.

Cros, E.; Villeneuve, F.; Vincent, J.-C. Evolution des composés phénoliques du cacao au cours de la fermentation en relation avec la qualité. *9th Conference Internationale sur la Recherche Cacaoyère*, Feb 12-18, 1984, Lomé, Togo; Cocoa Producers Alliance: Lagos, Nigeria, 1984; pp 651-655 (en línea). Consultado 15 de julio de 2009. Disponible en: [books.google.com/books?isbn=2876144263](http://books.google.com/books?isbn=2876144263)

Dewick, 2000. Componentes Activos de las Solanáceas, Universidad Complutense de España, Departamento de Ciencias Médicas y Farmacología, 336pp, 78-93. Edición Rojas (en línea). Consultado 25 de agosto de 2009. Disponible en: [www.ucm.es/](http://www.ucm.es/)

Engler, H. 2007. Alimentos Funcionales en el Mundo Actual, Editorial Melendez, Caracas- Venezuela. 190pp.

E.U.F.I.C (European Food Information Council, 2008. Chocolate is a drug or an addictive, Seminar Washington, 2008.

Fraudarfer M (2006) Potato glycoalkaloids and metabolites: roles in the plant and in the diet. *J Agric Food Chem* 54:8655–8681 (en línea). Consultado 5 de julio de 2009. Disponible en: [books.google.com/books?isbn=2876144263](http://books.google.com/books?isbn=2876144263).  
[books.google.com/books?isbn=047172761X](http://books.google.com/books?isbn=047172761X)

Jackson, K. Recipes. In *Industrial Chocolate Manufacture and Use*; Beckett, S. T., Ed.; Blackie: London, U.K., 1988; pp 236- 258 (en línea). Consultado 2 de julio de 2009. Disponible en: [www.worldcocoafoundation.org/.../Miller2006\(HumanNutritionAntioxidants191KB\).pdf](http://www.worldcocoafoundation.org/.../Miller2006(HumanNutritionAntioxidants191KB).pdf)

International Cocoa Organization (ICCO). Cocoa year 2003/2004. *Q. Bull. Cocoa Statistics* 2004, 30 (en línea). Consultado 17 de agosto de 2009. Disponible en: [www.worldcocoafoundation.org/scientific.../Frauendorfer2006.pdf](http://www.worldcocoafoundation.org/scientific.../Frauendorfer2006.pdf)

Kinast, 2005. Capacidad anticancerígena de los glucoalcaloides, Consultado 2 de julio de 2009. Disponible en: <http://www.sciencemag.org/cgi/content/abstract/1109220>

Kuo-whan, 2000. Tratamiento de células cancerígenas con solanáceas. Consultado 12 de junio de 2009. Disponible en: [www.springerlink.com/index/3260K46X17772303.pdf](http://www.springerlink.com/index/3260K46X17772303.pdf) -

Lobaton, R. (1998). Obtención de perfiles electroforéticos de carne de res, Merida Venezuela, 230p.

Matissek, R. Evaluation of xanthine derivates in chocolates Nutritional and chemical aspects. *Z. Lebensm.-Unters. Forsch. A* **1997**, *205*, 175-184 (en línea). Consultado 17 de agosto de 2009. Disponible en: [ww.springerlink.com/index/BTNGJUV213C9U0RR.pdf](http://www.springerlink.com/index/BTNGJUV213C9U0RR.pdf) -

Ney, K. H. Cocoa aroma: Bitter compounds as important taste ingredients. *Gordian* **1986**, *5*, 84-88. [citation.nstl.gov.cn/detail.jsp?internal\\_id=732020](http://citation.nstl.gov.cn/detail.jsp?internal_id=732020) -

Pickenhagen, W.; Dietrich, P.; Keil, B.; Polonsky, J.; Nouaille, F.; Lederer, E. Identification of the bitter principle of cocoa. *Helv. Chim. Acta* **1975**, *58*, 1078-1086.

Robinson, T.; Ranalli, A. W.; Phillips, A. W. Changes in cocoa tannins during processing. *J. Agric. Food Chem.* **1961**, *9*, 295-298.

Sanbongi, 2004 Glycoalkaloides from Solanum. *Antiviral Research* *5*: 435-273.

Schnermann, P. Schieberle, P. Evaluation of key odorants in milk chocolate and cocoa mass by aroma extract dilution analyses. *J. Agric. Food Chem.* **1997**, *45*, 867-872.

Steinburg, F. M.; Bearden, M. M.; Keen, C. L. Cocoa and chocolate flavonoids: implications for cardiovascular health. *J. Am. Diet. Assoc.* **2003**, *103*, 2125-2223.

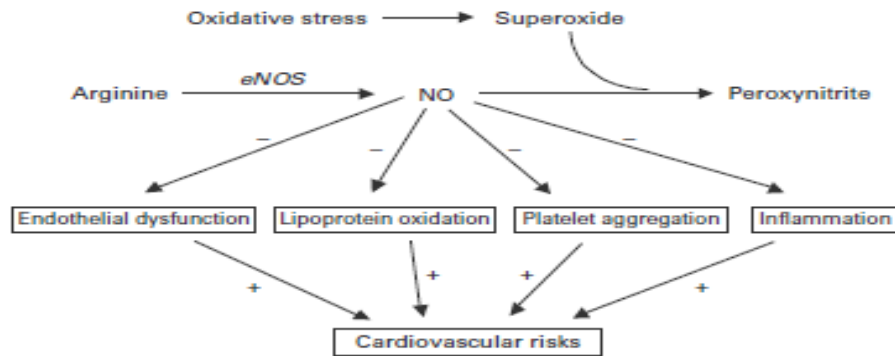
Thorne HV, Clarke GF, Skuce R. 1985. The inactivation of herpes simplex virus by some Solanaceae glycoalkaloids. *Antiviral Research* *5*: 335-343.

Whright, A, H. Pidoux.1999. *Análisis Reológicos de Alimentos*, 336pp, 78-93. Edición Rojas (en línea). Consultado 25 de agosto de 2009. Disponible en: [www.ucm.es/](http://www.ucm.es/)

Zumbe, 2005 Alpha-solanine assay in Solanum tuberosum extracts by time-resolved fluorescence. *J Food Compost Anal* *17*:665–673 (en línea). Consultado 12 de junio de 2009. Disponible en: [www.springerlink.com/index/8260K46X17772303.pdf](http://www.springerlink.com/index/8260K46X17772303.pdf) -

## 8. ANEXOS.

### Anexo 1. Diagrama explicativo de la función de polifenoles



Fuente . Journal Food Chemistry 2005, Universidad de California

### Anexo 2. Contenido de polifenoles en cada unidad del proceso de chocolate

Compuesto	Semillas (g/100g materia seca)	Después de Tostado y Conchado (g/100g)
Flavonoles		
Catequinas	3.0	-
(+)Catequinas	1.6-2.75	0.03-0.02
(-)-Epicatequina		
(+)-Galocatequina		
(+)-Epigalocatequina	0.25-0.45	0.3-0.5
Leucocianidinas		
L1-L4	2.7	L1: 0.08-0.17
L. Poliméricas	2.1-5.4	
Antocianinas	-	0.01
3-a-L-arabinosidil cianidina	0.3	-
3-β-D-galactosidil cianidina	0.1	-
Fenoles Totales	13.4	-

Cantidad de Polifenoles Existentes en Almendra de Cacao y Chocolate Procesado

Fuente. Organización Internacional del Cacao - I.C.C.O.



## Metodología de pruebas médicas

### Preparación del confite usado como vehículo para el suministro de extracto de *Solanum dulcamara L.*

A 100 g del confite se le agregó una de las dos versiones que presentaba el extracto. Se trabajó con 3 concentraciones recomendadas por La Cruz Roja de Tungurahua y que están explicadas en el siguiente cuadro.

#### Anexo 3. Metodología de pruebas médicas

Concentración % Inmunomodulador	B1: 1	B2: 3	
A1: Extracto Deshidratado	T1: ED 1%	T2: ED 3%	T3: ED 5%
A2: Extracto Fluido	T4: EF 1%	T5: EF 3%	T6: EF 5%

T1 Inmunomodulador con 1% de extracto deshidratado de *Solanum dulcamara L.*

T2 Inmunomodulador con 3% de extracto deshidratado de *Solanum dulcamara L.*

T3 Inmunomodulador con 5% de extracto deshidratado de *Solanum dulcamara L.*

T4 Inmunomodulador con 1% de extracto fluido de *Solanum dulcamara L.*

T5 Inmunomodulador con 3% de extracto fluido de *Solanum dulcamara L.*

T6 Inmunomodulador con 5% de extracto fluido de *Solanum dulcamara L.*

### Estudio de los pacientes

Como primer paso se efectuaron pruebas sanguíneas a 18 pacientes para identificar niveles de leucocitos y eritrocitos; se sometió a 3 pacientes a cada tratamiento, los mismos que fueron suministrados con 100 g. del modulador durante 60 días. Finalmente los pacientes fueron sometidos a pruebas sanguíneas para revelar el efecto obtenido.

La edad de los pacientes comprendía entre 17 y 32 años, presentaban enfermedades referentes a alergias, fatiga crónica y enfermedades cutáneas. De ellos, 6 con EA (enfermedades alérgicas), 7 con FC (fatiga crónica) y 5 con EC (enfermedades cutáneas).

**Anexo 4. Distribución de tratamientos en pacientes**

<b>Enfermedad</b>	<b>Edad</b>	<b>Sexo</b>	<b>Aplicación de Tratamiento</b>
EA	23	F	TL3
EA	25	M	TL1
EA	18	F	TL5
EA	32	F	TD5
EA	22	F	TD1
EA	24	M	TD3
<b>Enfermedad</b>	<b>Edad</b>	<b>Sexo</b>	<b>Aplicación de Tratamiento</b>
FC	21	F	TL5
FC	27	M	TD1
FC	19	F	TD3
FC	24	M	TD5
FC	17	M	TL1
FC	20	F	TL3
FC	29	M	TD1
<b>Enfermedad</b>	<b>Edad</b>	<b>Sexo</b>	<b>Aplicación de Tratamiento</b>
EC	26	F	TD3
EC	31	F	TL1
EC	18	M	TD5
EC	25	F	TL3
EC	23	M	TL5

EA. Pacientes con Alergias.

EC. Pacientes con Enfermedades Cutáneas.

FC. Pacientes con Fatiga Crónica

## Anexo 5. Discusión médica sobre los pacientes

Todos los pacientes con EC (Enfermedades cutáneas) acusaron desaparición de manchas, desaparición de resequead de la piel y/o ardor y disminución importante de herpes labial acompañado de inicio de la desecación de las vesículas con formación de costras a los 7 días de iniciada la investigación. La involución total del proceso ocurrió en menos de 15 días en los pacientes con EC; ninguno de estos casos reportó efectos colaterales.

Los pacientes con EA (Enfermedades alérgicas) notificaron mejora a los 15 días de iniciada la investigación; notándose en la desaparición de inflamación respiratoria, desaparición de tos crónica, desaparición de moqueo de fosas nasales y estornudos constantes a los 20 días de iniciada la investigación; así mismo mostraron resistencia a alérgenos como el polvo y ciertos alimentos a los 40 días de aplicación del tratamiento.

Por otra parte, aquellos pacientes que padecían de FC (fatiga crónica) acusaron que el periodo de duración de la fatiga disminuyó en un 40% al finalizar el tratamiento y lo denotaron en el mejor desempeño de sus actividades, mayor efectividad del sueño y desaparición de dolores de cabeza, articulaciones y músculos.

Las afecciones cutáneas son procesos virales muy frecuentes en las consultas hospitalarias y las mismas ocurren de manera cíclica y con una marcada recurrencia. Hasta la fecha no existe un tratamiento completamente eficaz. El tratamiento utilizado más comúnmente ha sido el Aciclovir pero el mismo es efectivo durante su administración durante largos períodos y en forma oral (Hirsch 1997, Mitchell et al. 1981, Saral et al. 1981, Straus et al. 1984, Whitley 1997).

La funcionalidad alcaloidea presente en la *Solanum dulcamara L.* ha mostrado ser efectiva en el tratamiento de las diferentes manifestaciones de virus en la piel como el Herpes labial, sin efectos irritativos locales, al menos en el control rápido de la signosintomatología de las lesiones presentes. Asimismo los pacientes con FC y EA han mostrado mejora rápida y que se revela en la normalidad de sus vidas, el 99% de ellos han notificado los efectos benéficos del confite inmunoestimulador y desean mantener su consumo normalmente. Los beneficios de los glucoalcaloides que poseen las solanáceas se han verificado en muchos estudios; un claro ejemplo son los resultados obtenidos por Thorne et al. (1985) en sus estudios *in vitro* del *Herpes simplex* del tipo I en el cual afirma la efectividad en la inactivación del virus, particularmente  $\alpha$ -chaconina y en menor extensión  $\alpha$ -tomatina y  $\alpha$ -solasonina y una carencia de actividad de las correspondientes agliconas (solanidina, solasodina y tomatidina). La similaridad estructural de los sacáridos que contienen en su estructura Solamargina y chaconina sugieren que estos sacáridos son los involucrados en la acción contra el herpes.

Fuente. Unidad de Inmunología. Cruz Roja de Tungurahua

## **Anexo 6. Descripción de la elaboración de extractos de *Solanum dulcamara L.***

Extracto deshidratado.

Se inició con la cosecha de la hoja en estado fresco es decir, cuando las hojas presentaron un color verde oscuro intenso; se hizo una selección de las hojas y limpieza eliminando partículas extrañas y suciedad gruesa; posteriormente se hizo un lavado de las hojas con una solución clorinada a una concentración de 200ppm y un enjuague con agua potable. A continuación se colocó las hojas en planchas plásticas con teflón especial para la deshidratación de las hojas en el Deshidratador “Excalibur parallexx 3526T”. El proceso duró 4 horas, la temperatura empleada fue de 52 °C aconsejada por Excalibur especialistas en deshidratadores, se tomó el peso de las hojas cada 0.5 hora para construir una curva de secado apropiada a esta planta; los datos y resultados se muestran en el Cuadro.

Extracto líquido

El extracto líquido se obtuvo de los laboratorios GARDE Natural Medicine ubicados en la ciudad de Guayaquil- Ecuador. El proceso que conllevó este fluido fue siguiendo una metodología desarrollada por los Hospitales de París a través de una infusión primaria a 70°C por 30 minutos en una proporción de 1: 4 (1 parte de hoja y 4 de agua) ; a continuación se filtró la infusión, se dejó en reposo 12 horas y posteriormente la infusión fue diluida en una matriz de jarabe de azúcar en una proporción de 1:3 (1 de infusión de *Solanum dulcamara L.* y 3 de jarabe de azúcar); finalmente se deja concentrar la mezcla a 50°C hasta que haya perdido un peso igual al del primer líquido de Dulcamara.

## **Anexo 7. Descripción de la elaboración del chocolate**

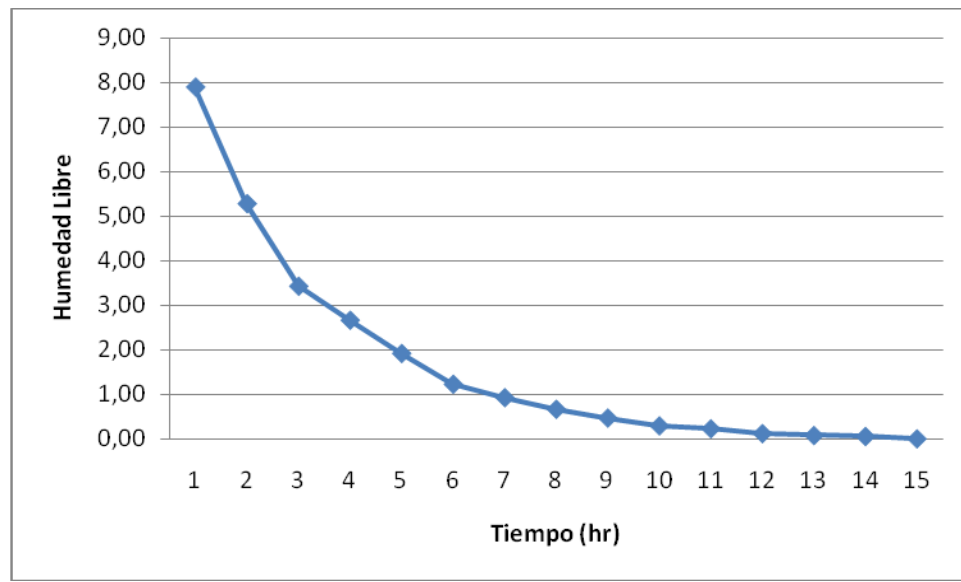
- Se inició con el pesado del azúcar refinado, el almidón de maíz, gelatina sin sabor, leche en polvo el chocolate de cobertura la esencia de vainilla, la lecitina, la pasta de cacao y por último el ingrediente activo.
- Se hizo la fundición del bloque de pasta de cacao (70% magro); utilizando un baño maría a 60 °C por 10 min.
- Se añadió azúcar, leche en polvo, lecitina y 0.5 del almidón de maíz pesado a la pasta fundida (derretida) y se procedió a homogenizar la mezcla.
- Se enfrió la mezcla durante 3 min y se añadió el 50% del almidón sobrante, gelatina sin sabor, esencia de vainilla, el chocolate de cobertura y el ingrediente activo en sus diversas concentraciones.
- Se mezcló la masa durante 10 min para posteriormente reducir el tamaño de la partícula a través de un molino.
- Posteriormente se enfrió la masa a 4°C en moldes.
- Finalmente se empaco las porciones en papel aluminizado y se almacenó a 21 °C.

**Anexo 8. Resultados de deshidratación de *Solanum dulcamara L.***

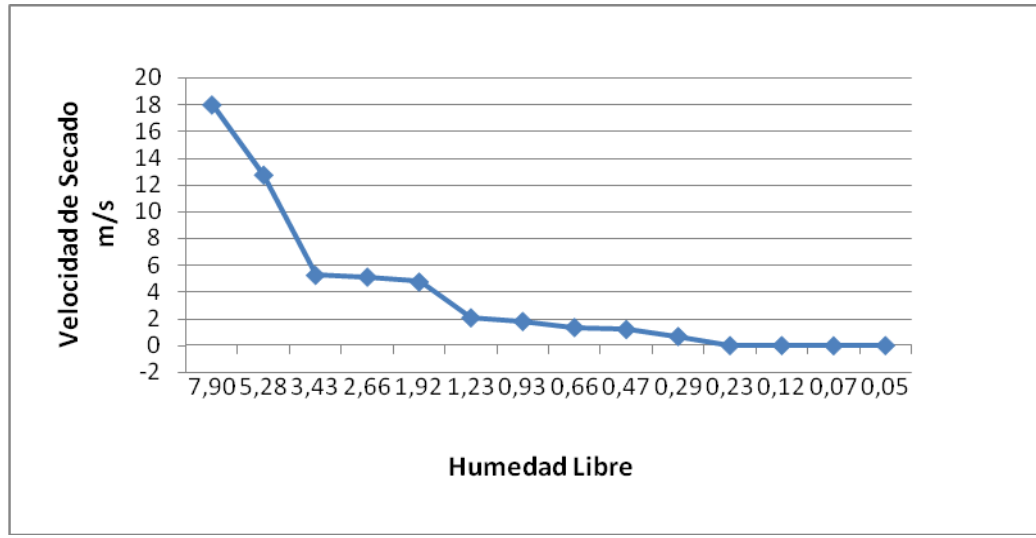
Peso	kg H <sub>2</sub> O/kg ss HUMEDAD TOTAL	HUMEDAD Libre	Tiempo (min)	Tiempo (hr)
5	8,09	7,90	0	0
3,56	5,47	5,28	30	0,5
2,54	3,62	3,43	60	1
2,12	2,85	2,66	90	1,5
1,71	2,11	1,92	120	2
1,33	1,42	1,23	150	2,5
1,16	1,12	0,93	180	3
1,02	0,85	0,66	210	3,5
0,91	0,66	0,47	240	4
0,82	0,48	0,29	270	4,5
0,78	0,42	0,23	290	4,8
0,72	0,31	0,12	290	4,8
0,70	0,27	0,07	290	4,8
0,68	0,24	0,05		
0,66	0,19	0		

Resultados de la Operación de Secado de *Solanum dulcamara L.*

Fuente: Moreno, (2009) Planta Agroindustrial de Investigación y Desarrollo PAID-Zamorano

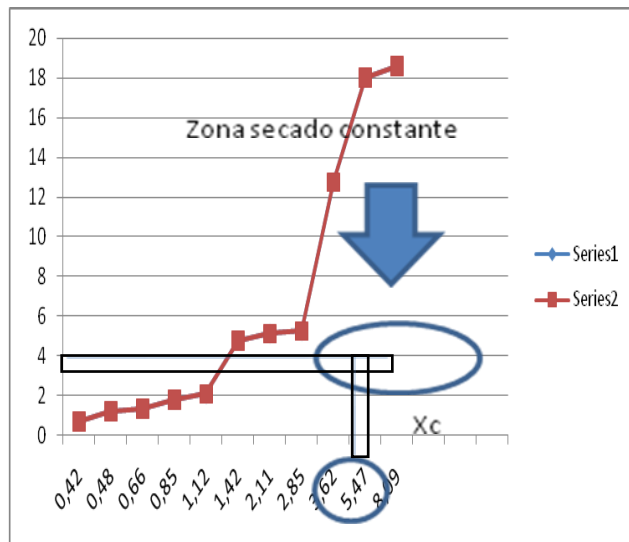


Curva de Deshidratación: Humedad Libre en la hoja vs Tiempo de Secado



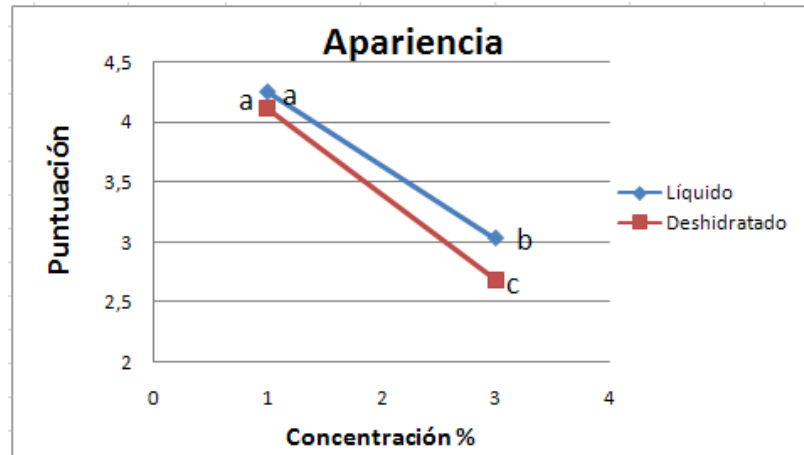
Curva de Deshidratación. Velocidad de Secado vs. Humedad Libre en la Hoja

humedad total	velocidad de secado
0,42	0,675
0,48	1,2
0,66	1,35
0,85	1,8
1,12	2,075
1,42	4,75
2,11	5,125
2,85	5,25
3,62	12,75
5,47	18
8,09	18,6

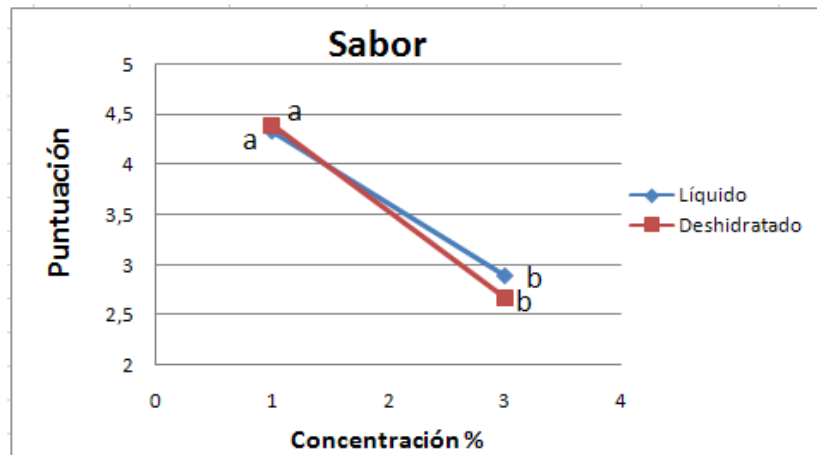


Determinación de velocidad de secado constante para hoja de Solanum dulcamara L.  
**Fuente.** Moreno, (2009) Planta Agroindustrial de Investigación y Desarrollo.

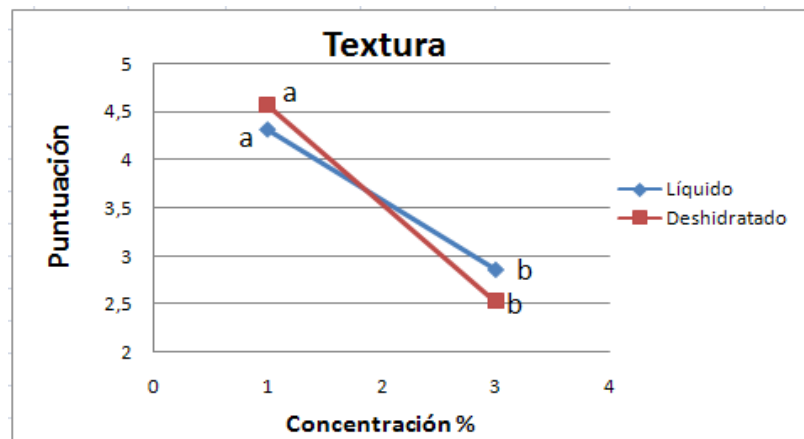
**Anexo 9. Efecto de las interacciones (concentración\*extracto) sobre las variables analizadas.**



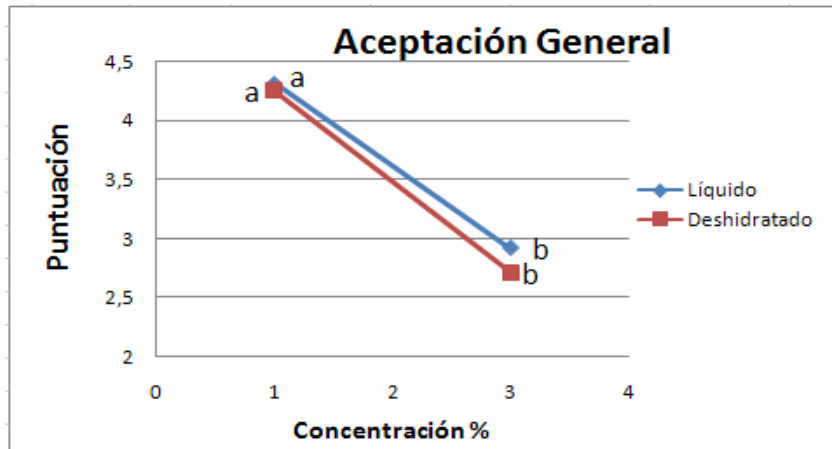
Efecto concentración- extracto de Dulcamara en la apariencia del chocolate.



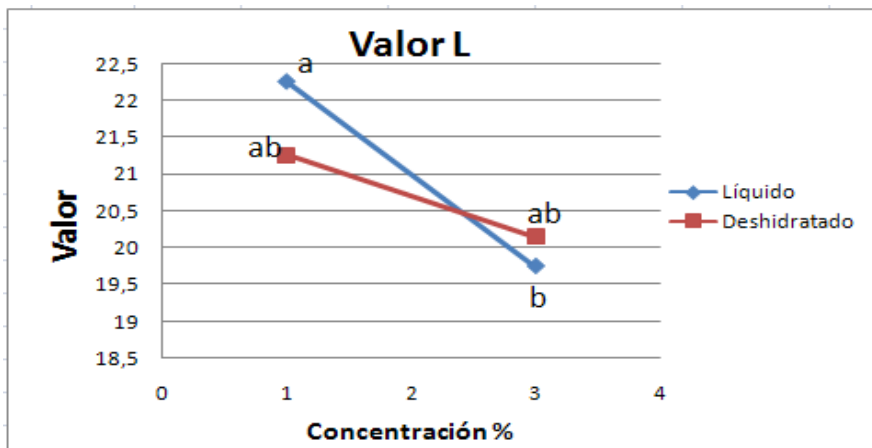
Efecto concentración- extracto de Dulcamara en el sabor del chocolate.



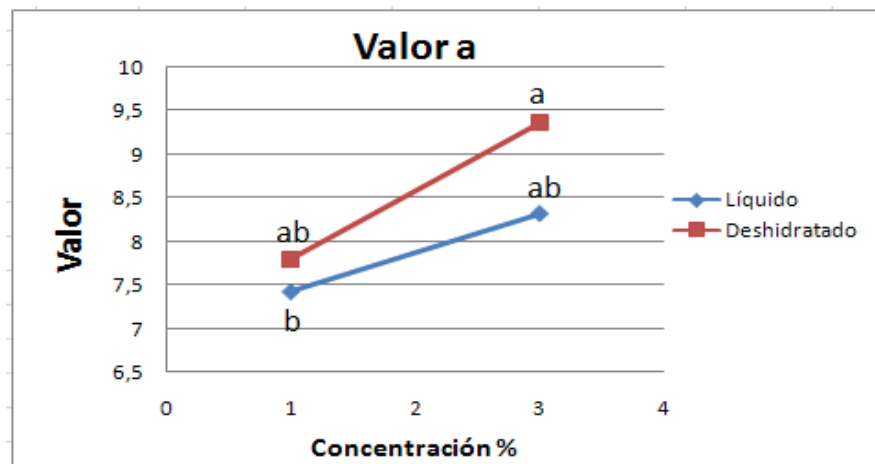
Efecto concentración- extracto de Dulcamara en la textura del chocolate.



Efecto concentración- extracto de Dulcamara en la aceptación general del chocolate.

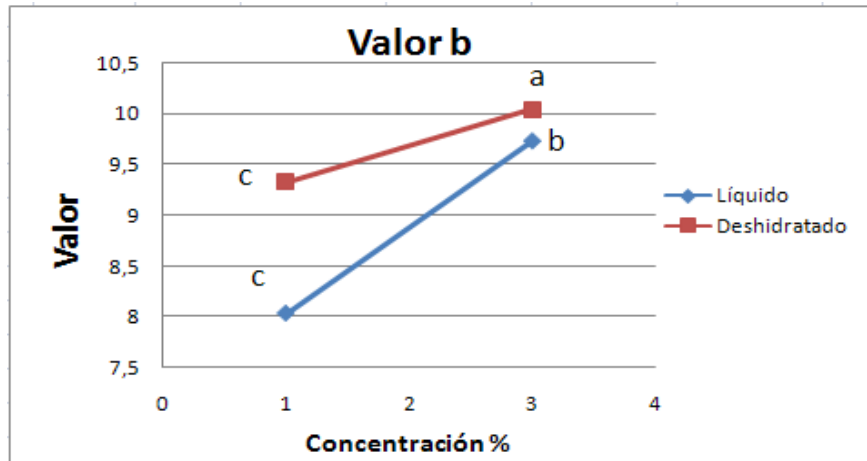


Efecto concentración- extracto de Dulcamara en el valor L\* del chocolate.

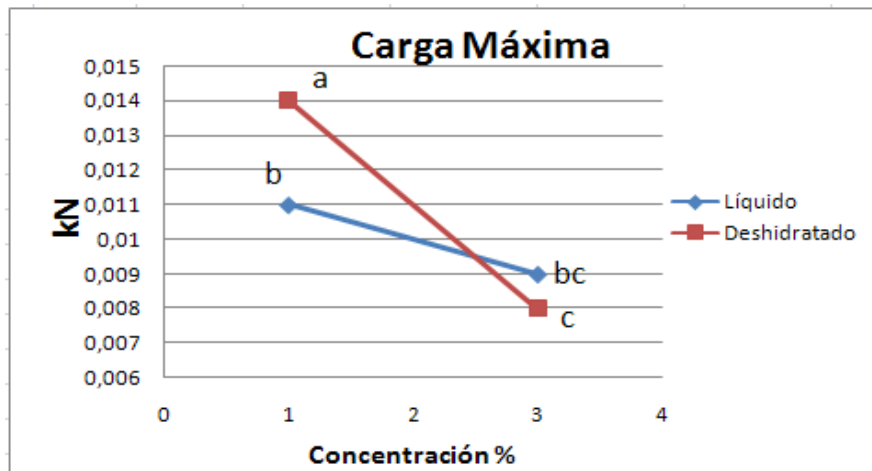


Efecto concentración- extracto de Dulcamara en el valor a\* del chocolate.

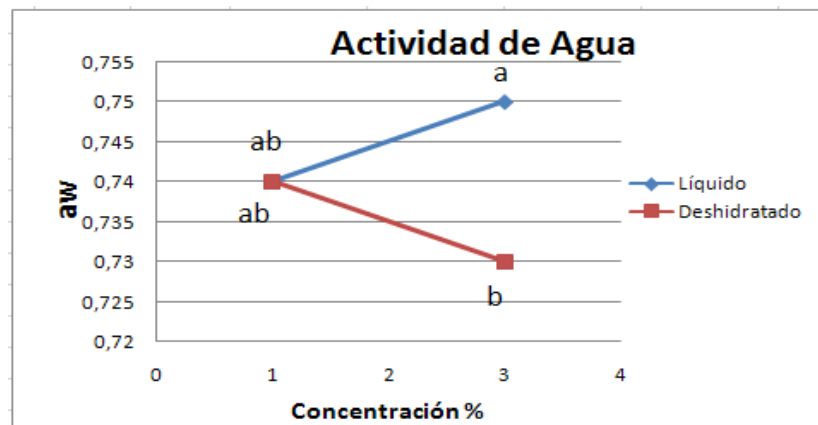




Efecto concentración- extracto de Dulcamara en el valor b\* del chocolate.



Efecto concentración- extracto de Dulcamara en la F. Ruptura del chocolate.



Efecto concentración- extracto de Dulcamara en la actividad de agua del chocolate.

## Anexo 10. Hoja de evaluación sensorial en pruebas de aceptación

### Efecto de un ingrediente activo (*Solanum americanum* Mill) en dos versiones y 2 concentraciones en una matriz de chocolate

**Tesista:**

**Fecha:**

**Instrucciones:**

- Por favor coloque su nombre y fecha en todas las hojas que se le entregan
- Se le presentarán cuatro muestras codificadas de chocolate, una galleta de soda y un vaso con agua.
- Limpie su paladar con galleta y agua antes y después de cada muestra.
- Haga su evaluación de izquierda a derecha.
- Marque con una "X" el círculo adecuado según su evaluación de las muestras de acuerdo con los atributos de: color, sabor, textura y apariencia general.
- Antes de probar cada muestra, evalúe primero el color y aroma.
- En la Escala: 1 significa extremadamente desagradable, 3 significa no me gusta, ni me disgusta (N.g/N.d), 5 significa extremadamente agradable.
- Al finalizar la evaluación deje la hoja en su cubículo.

\*Asegúrese de haber leído todas las instrucciones antes de ejecutar la evaluación. Si tiene alguna inquietud, aproveche ahora para indicarle al instructor.

### Hoja de Evaluación

**Nombre:** \_\_\_\_\_ **Fecha:** \_\_\_\_\_

**Muestra No. :**

	Extremadamente desagradable		N.g/N.d.		Extremadamente agradable
<b>Apariencia:</b>	○	○	○	○	○
	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>
<b>Sabor:</b>	○	○	○	○	○
<b>Textura:</b>	○	○	○	○	○
<b>Aceptación General:</b>	○	○	○	○	○

**Observaciones:**

## Anexo 11. Ejemplo de resultados de pruebas sanguíneas de la Cruz Roja Ecuatoriana



### Laboratorio de Análisis Clínico

DIRECCION: Av. 12 de Noviembre y Quito - Edificio Cruz Roja 1er. Piso  
Ambato - Ecuador

Nombre : Srta. Rosita Jaramillo Garcia  
Medico : Dr. Luis Cazar  
Muestra : SANGRE

#### BIOMETRIA HEMATICA

Hemoglobina : 12.4g/dl  
Leucocitos : 6200/ml  
Eritrocitos : 4.2 millones/microL.

#### FORMULA LEUCOCITARIA

Segmentados	:	84%
Linfocitos	:	11%
Monocitos	:	4%
Eosinofilos	:	0%
Basofilos	:	0%
Cayados	:	1%

#### EXAMENES BIOQUIMICOS

#### VALOR REFERENCIAL

GLUCOSA	:	72.7mg/dL	75 - 115mg/dL
UREA	:	18.5mg/dL	10 - 50mg/dL
CREATININA	:	0.8mg/dL	0.7 - 1.5mg/dL
AMONIO	:	37mcg	30 - 70 mcg
COLESTEROL	:	152mg/dL	Hasta 200 mg/dL
TRIGLICERIDOS	:	154.5mg/dL	Hasta 180 mg/dL

  
Dra. Rosita Jaramillo Garcia  
BIQUIMICA FARMACIUTICA  
RUC: 0903140001

Fecha

10 ENE 2009

**Anexo 12. Cromatogramas de  $\alpha$ -solamargina e indomethacina (estándar externo)**