

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 560 503**

51 Int. Cl.:

A23G 1/32 (2006.01)

A23G 1/02 (2006.01)

A23L 1/30 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **25.05.2006 E 06764347 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **18.11.2015 EP 2071961**

54 Título: **Método para la obtención de extractos de cacao con un alto contenido de polifenoles**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
19.02.2016

73 Titular/es:

**NATUREX (100.0%)
ZAC Pôle Technologique Agroparc, Montfavet
84140 Avignon, FR**

72 Inventor/es:

**PASAMAR, MARÍA ANGELES;
IBARRA, ALVIN;
CIENFUEGOS-JOVELLANOS, ELENA y
LAGHI, SARA**

74 Agente/Representante:

SUGRAÑES MOLINÉ, Pedro

ES 2 560 503 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Método para la obtención de extractos de cacao con un alto contenido de polifenoles

5 **Campo de la Técnica**

La invención se refiere a extractos de cacao, más específicamente se refiere a un proceso para obtener extractos de cacao con alto contenido de polifenol a partir de semillas de cacao no fermentadas.

10 **Estado de la Técnica**

Recientemente ha habido un creciente interés en productos alimentarios tales como té verde, manzanas, aceitunas, vino y cacao como una fuente de polifenoles, debido al carácter antioxidante de estos compuestos.

15 El uso del cacao y el chocolate en la medicina, y la idea de sus posibles beneficios para la salud, se conoce desde hace tiempo. Ya los nativos del "Nuevo Mundo" dejaron evidencia de su uso en su vida cotidiana, siendo Hernán Cortés el primero de los conquistadores españoles en mencionar los términos "cacao" y "chocolate". Sin embargo, fue el naturalista sueco Karl von Linné (conocido como Carolus Linnaeus en latín, Carlos Linneo en español) quien publicó un estudio taxonómico en el que fueron vinculados a su género y especie, Theobroma Cocoa, que significa
20 "alimento de los dioses". Theobroma Cocoa se utilizó en el pasado para curar varias enfermedades, pero esto desapareció de forma progresiva hasta que estudios recientes han demostrado, de forma inesperada, que el cacao tiene un gran potencial para "aumentar la salud" (T.L. Dillinger et al., "Food of the Gods: Cure for the Humanity? A cultural history of the medicinal and ritual use of chocolate", J.Nutr., 130, 2057S-2072S (2000)).

25 Actualmente hay bastante bibliografía de patentes y de no patentes, respaldando los posibles beneficios de la inclusión del cacao en la dieta debido a los polifenoles que éste contiene, específicamente flavonoides y su clase específica flavonoles, que proporcionan un efecto beneficioso en la circulación (L.I. Meneen et al., "Consumption of foods rich in flavonoids is related to a decreased cardiovascular risk in apparently healthy French women", J.Nutr. 13, 923-926 (2004)), para el corazón (M.G. Hertog et al., "Dietary antioxidant flavonoids and risk of coronary disease: the Zutphen Elderly Study", Lancet 342, 1007-1011 (1993)), contra el cáncer (M.G. Hertog et al., "Flavonoid intake and long-term risk of coronary heart disease and cancer in the seven countries study", Arch. Inter. Med. 155, 381-386 (1995)), y contribuye a prevenir enfermedades neurodegenerativas y diabetes mellitus (A. Scalbert et al., "Dietary polyphenols and the prevention of diseases", Crit. Rev. Food Sci. Nutr. 45, 287-306 (2005)).

35 El uso de los granos de cacao se ha desarrollado durante siglos, hasta lo que actualmente se denomina chocolate (granos de cacao procesados con distintos componentes adicionales, tales como azúcares y leche, entre otros). Los estudios de los componentes del chocolate se han llevado a cabo por medio de cromatografía líquida, y se ha observado que los principales compuestos monoméricos purificados contenidos en el chocolate son los flavonoles, catequina y epicatequina (J.F. Hammerstone et al., "Identification of procyanidins in cocoa (Theobroma cocoa) and chocolate using high-performance liquid chromatography/mass spectrometry", J. Agric. Food Chem., 47, 490-496 (1999)).

45 Se conocen varios procesos para la obtención de extractos de cacao. La patente de Estados Unidos 5.554.645, publicada el 10.09.1996, describe la preparación de extractos de cacao de varios genotipos, en los que los granos de cacao se liofilizan, una vez congelados se despulpan y se descascaran, y la masa resultante se desgrasa y se extrae con un disolvente, tal como metanol, acetona acuosa, o acetato de etilo, a partir de lo cual se obtiene el extracto de cacao. Se han ensayado extractos de cacao de varios genotipos, así como fenoles sintéticos en composiciones antioxidantes, antitumorales y anticancerígenas. También se reivindicó un kit útil para el tratamiento de tumores y cáncer.

50 En la patente de Estados Unidos 6.015.913, publicada el 18.01.2000, las semillas de cacao se calientan a 100-110 °C por medio de rayos infrarrojos sin tostarlas, siendo separada la cáscara. Las semillas descascaradas se pasan a través de una prensa con el fin de desgrasarlas, obteniéndose un sólido de cacao que contiene procianidinas.

55 En la patente de Estados Unidos 6.312.753, publicada el 06.11.2001, las semillas de cacao tienen un factor de fermentación de 275 o menos, la cáscara se separa con la ayuda de rayos infrarrojos y se tuestan a una temperatura de 150 °C, moliéndose más tarde para obtener licor de cacao. De forma opcional, de las semillas tostadas puede obtenerse un sólido parcialmente desgrasado que se utiliza como un componente en la fabricación de barras u otros productos alimentarios.

60 La patente de Estados Unidos US 6.627.232, publicada el 30.09.2003, que pertenece a los mismos autores que las dos anteriores, utiliza para obtener sólidos de cacao los procesos de cualquiera de los métodos descritos con, de forma alternativa, semillas tostadas y no tostadas, fermentadas y no fermentadas. A partir de dichos sólidos se ensayan distintos métodos y disolventes (el método preferente es el método en contracorriente) para extraer de ellos
65 cafeína y teobromina.

Se debe tener en cuenta que el contenido de polifenol en los granos de cacao depende en gran parte del origen de dichos granos, de su tipo, el área geográfica donde se han cultivado, el tipo de agricultura utilizada para su cuidado, cómo se han recogido y el procesado de las plantas y sus semillas (fermentación, secado, tostado, desgrasado, etc.), hasta la obtención de los productos finales conteniendo flavonoides (J. Wollgast, E. Anklam, "Review on polyphenols in Theobroma cocoa: changes in composition during the manufacture of chocolate and methodology for identification and quantification", Food Research International, 33, 423-447 (2000)).

En el documento de la patente WO 2005/115160 A1, publicado el 08.12.2005, los autores de la presente invención describen un proceso por el cual se obtiene un concentrado de polifenol de cacao, que comprende las etapas de: a) someter las semillas de cacao no fermentadas a un escaldado en agua a una temperatura de 85-100 °C, durante un periodo de tiempo de 3 a 15 minutos; b) secado de las semillas no fermentadas a una temperatura de menos de 85 °C, obteniendo semillas con un contenido de humedad de no más del 15 %; c) triturar las semillas obtenidas en la etapa anterior hasta que al menos el 99 % del producto tiene un tamaño de partícula de 300 µm; d) someter las semillas molidas a una extracción; y e) concentrar dicho extracto de cacao con polifenoles; donde el proceso puede incluir, de forma opcional, una etapa de desgrasado que se lleva a cabo antes de la etapa d).

Además, la solicitud de patente española P 200600462, documento de prioridad WO 2007/096449, basándose solo en el Art. 54(3) EPC, los mismos autores describen un proceso para obtener polvo de cacao rico en polifenol con bajo contenido de grasa, caracterizado por qué consiste de las siguientes etapas: 1) pelado; 2) despulpado; 3) escaldado; 4) secado; 5) desgrasado; 6) estabilización; 7) trituración; y 8) micronización, por el cual se obtiene un polvo de cacao que tiene un contenido de polifenol de más del 18 % por peso de materia seca, un contenido de grasa de menos del 1 % por peso, un contenido de agua del 7 % por peso y un tamaño de grano de menos de 75 micrones en 99 %.

Portes et al., Phytochemistry, Vol. 30, No. 5, pág. 1657-1663, 1991, documento XP001084175, describen procianidinas de cacao, flavonoides principales y la identificación de los mismos metabolitos menores.

Otro efecto de los polifenoles en los mamíferos, es que la capacidad antioxidante del plasma se altera dependiendo de la cantidad de flavonoides circulando en dicho plasma (J.P.E. Spencer et al., "Bioavailability of flavan-3-ols and procyanidins: gastrointestinal tract influences and their relevance to be active forms in vivo", Antioxid. Redox. Signal, 3, 1023-1039 (2000)). En otras palabras, el efecto provocado por los polifenoles en el organismo depende de varios factores, siendo el más importante su biodisponibilidad. Esta característica está estrechamente relacionada con la estructura del compuesto. Por lo tanto, la importancia de los contenidos de catequina y epicatequina se basa en el hecho de que, dado que son compuestos con una estructura monomérica, se absorben más fácilmente en comparación con los compuestos con un tamaño molecular más grande; las moléculas más grandes necesitan ser hidrolizadas para facilitar su absorción. Por esta razón, los monómeros tienen una mayor biodisponibilidad en el organismo.

Debido a lo dicho anteriormente, sería muy beneficioso para la salud obtener productos a partir de granos de cacao que sean mejores que aquellos que ya existen en el estado de la técnica, que tengan características especiales no solo de selección, cultivo, recolección y almacenamiento, sino también que se obtengan por medio de un proceso que tenga, de forma especial, cuidado de no dañar o eliminar polifenoles, es decir, los flavonoides presentes en dichos granos.

Por lo tanto, el objetivo de la presente invención es obtener un producto de cacao que no solo tenga un alto contenido de polifenol, sino que estos polifenoles tengan un alto contenido de monómeros Flavan-3-ol (catequina y epicatequina), sus dímeros (procianidina B1 y procianidina B2) y las procianidinas restantes con un tamaño molecular más grande (procianidinas triméricas, tetraméricas y poliméricas).

Para alcanzar este objetivo, en primer lugar el producto inicial se ha seleccionado porque tiene una influencia significativa no solo sobre el contenido de polifenol final y total, sino también en el contenido de monómero y dímero del producto obtenido.

Con el propósito de obtener cacao con los mayores niveles de catequina, epicatequina y procianidinas B1 Y B2, también se ha llevado a cabo un proceso en el que las semillas de cacao no se fermentan, debido a que los resultados de diversos estudios que se han llevado a cabo indican que las semillas de cacao no fermentadas contienen, de forma significativa, mayores niveles que las semillas fermentadas, debido a que hasta el 70-80 % de los polifenoles pueden degradarse durante la fermentación (véase por ejemplo [0008] la patente de Estados Unidos 2004/0096566 A1). El cacao obtenido de forma adicional tiene un contenido de grasa bajo, debido a que actualmente se sabe que una dieta baja en grasa es mucho más beneficiosa para la salud.

Descripción de los Dibujos

Figura 1: el primer folio muestra el diagrama de flujo del proceso para obtener extractos de cacao ricos en polifenol, desde la recolección de la vaina de cacao hasta la torta/harina molida estabilizada.

La segunda hoja muestra la continuación del diagrama de flujo del proceso para obtener extractos de cacao ricos en polifenol: desde la extracción de la torta/harina hasta la obtención de extractos hidroalcohólicos, semipurificados y purificados.

5 Descripción de la Invención

El proceso que corresponde a esta invención, para obtener extractos de cacao ricos en polifenol a partir de granos de cacao no fermentados, consiste de las siguientes etapas:

- 10 a) Pelado de la fruta (separación de su envoltura natural)
- b) Despulpado de las semillas
- 15 c) Escaldado de las semillas
- d) Secado de las semillas
- e) Desgrasado por medio de prensado
- 20 f) Estabilización del producto desgrasado
- g) Trituración
- 25 h) Extracción sólido-líquido
- i) Separación sólido-líquido
- j) Concentración del extracto líquido
- 30 k) Obtención del extracto hidroalcohólico obtenido mediante secado del concentrado obtenido en (j)
- l) Extracción líquido-líquido del extracto concentrado en (j) y separación de las fases acuosa y orgánica
- 35 m) Concentración de la fase acuosa obtenida en (l)
- n) Obtención del extracto semipurificado mediante secado del concentrado obtenido en (m)
- o) Concentración de la fase orgánica obtenida en (l)
- 40 p) Obtención del extracto purificado mediante secado del concentrado obtenido en (o)

Más específicamente, la obtención proporciona un proceso como se define en las reivindicaciones adjuntas.

Cada una de las fases del proceso para la producción de extractos de cacao se describe en detalle a continuación:

- 45 a) Pelado de la fruta o separación de su envoltura natural.

Las vainas de cacao son el fruto a partir del que se obtiene el material en bruto que será utilizado para desarrollar el proceso completo para obtener extractos de cacao con alto contenido de polifenol.

- 50 Esta fase del proceso consiste de la apertura de las vainas de cacao y la extracción de las semillas recién obtenidas de su envoltura original, en la que la fase se lleva a cabo de forma manual manteniendo las condiciones higiénicas necesarias para evitar tanto como se pueda que los granos de cacao se contaminen. En esta etapa se obtienen granos de cacao recién obtenidos.

- 55 Las semillas recién obtenidas se pueden refrigerar con el fin de preservar los polifenoles presentes en las semillas de cacao recién obtenidas, así como para eliminar parcialmente la pulpa que las recubre. La refrigeración se lleva a cabo mediante la inmersión de las semillas en agua, la que debe estar a una temperatura de no menos de 1 °C o más de 25 °C. Por lo tanto, con este proceso se reduce la temperatura interna del grano, reduciéndose el riesgo de fermentación de los granos de cacao durante su almacenamiento y evitándose el contacto de los granos de cacao con oxígeno, lo que retarda las reacciones de oscurecimiento enzimático. Los granos de cacao pueden permanecer en estas condiciones durante un periodo de tiempo máximo de 24 horas.
- 60

b) Despulpado de las semillas

El objetivo de esta fase del proceso es eliminar de forma completa o parcial la pulpa que recubre las semillas de cacao recién obtenidas con el fin de optimizar el rendimiento de la etapa de secado y evitar que las semillas se peguen entre sí una vez que estén secas. El despulpado se lleva a cabo, por ejemplo, con una máquina de despulpado de acero inoxidable, de la marca CI Talsa, modelo D500, adaptada para este tipo de proceso. Este tipo de máquina despulpa de 500 a 700 kg/h, y se proporciona con una tolva receptora donde se descargan los granos, de donde los granos pasan por gravedad a un tamiz cilíndrico con un tamaño de malla comprendido entre 3 y 5 mm. Este tamiz tiene un eje concéntrico con palas con un acabado de superficie de goma, que dirige los granos hacia las paredes del tamiz. La pulpa pasa a través de la malla del tamiz y los granos limpios salen a través de la apertura del cilindro.

c) Escaldado de las semillas

Esta fase del proceso consiste del escaldado de las semillas con agua a una temperatura interna de la semilla de no menos de 85 °C y no más de 100 °C, durante un periodo de tiempo de no menos de 3 min y no más de 15 min, preferentemente a una temperatura de 95 °C durante 5 min.

Los objetivos principales de esta fase son llevar a cabo una inactivación completa o parcial de la actividad de la enzima polifenol oxidasa, presente en los granos de cacao, lo que contribuye a preservar el contenido de polifenol inicial presente en la semilla.

Polifenol oxidasa es una enzima del cacao endógena, su característica estructural más importante es la presencia de dos átomos de cobre en su centro activo, cada uno de los cuales está unido a tres histidinas. Esta enzima tiene dos actividades enzimáticas, una de las cuales hidroxila monofenoles a difenoles (cresolasa) y la otra que oxida difenoles dando lugar a quinonas (catecolasa); las quinonas pueden convertirse en trifenoles y posteriormente oxidarse a hidroxiquinonas; estos compuestos son muy reactivos y pueden, por lo tanto, dar lugar a reacciones de polimerización, dando lugar a melaninas. Este conjunto completo de reacciones provoca la degradación y reducción de compuestos fenólicos del cacao, por lo tanto, la inactivación de la polifenol oxidasa ayuda en la preservación del contenido de estos compuestos. Por lo tanto, el objetivo de esta etapa es minimizar la reducción del contenido de polifenol total, así como el contenido de los monómeros catequina y epicatequina y de los dímeros procianidina B1 y procianidina B2.

Otro objetivo alcanzado en esta fase es la reducción de la posible carga microbiana de los granos.

Un sistema de escaldado continuo, por ejemplo, se utiliza para llevar a cabo esta etapa. En este caso, los granos pasan directamente de la máquina de despulpado a una malla cilíndrica donde se los transporta longitudinalmente a través del cilindro mediante un tornillo sin fin; durante este proceso los granos se sumergen en agua en ebullición para conseguir una temperatura interna del grano de 95° C, con un tiempo de permanencia de 5 min. El agua se calienta por medio de una camisa de vapor y el tiempo de permanencia de los granos se controla modificando la velocidad del tornillo sin fin.

También se puede utilizar un sistema de escaldado discontinuo; este sistema puede consistir en sumergir cantidades limitadas de granos de cacao en un tanque de acero inoxidable provisto de resistencias de calentamiento de agua. Para sumergir los granos se utiliza un cilindro fabricado con una malla de acero inoxidable, que permite la entrada de agua caliente y evita la salida de los granos. Una vez que se ha completado el tiempo de permanencia se retira el cilindro con los granos.

d) Secado de los granos

El fin de esta fase es reducir el contenido de humedad de la semilla no fermentada escaldada, para minimizar en ella la fermentación microbiana. La humedad de las semillas después del secado debe estar comprendida entre el 1 % y el 12 % expresado en peso/peso. El secado se puede llevar a cabo a temperatura ambiente secando las semillas al sol, o en secadores a una temperatura de no más de 80 °C.

En esta etapa se obtiene un grano de cacao seco que tiene un contenido total de polifenol que usualmente es de más del 5 %, alcanzando valores del 15 % expresado como un porcentaje del peso seco y medido de acuerdo con el método de Folin-Ciocalteu modificado, en el que los polifenoles se expresan como equivalentes de catequina (Singleton, V.; Rossi, J. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. Am. J. Enol. Vitic. 16, 144-158, (1965))

Los granos se secan en un secador por etapas con un sistema de circulación de aire, por ejemplo, en este secador la humedad se elimina por medio de un proceso que implica varias etapas de calentamiento que se pueden llevar a cabo en cámaras independientes. En cada cámara se aplican los parámetros de calentamiento cambiando la velocidad de secado de cada una de las etapas, optimizando así el secado del grano y evitando el cierre de los poros de dichos granos. Se puede incluir una etapa de refrigeración después de la última etapa de secado, en la que

se disminuye la temperatura de la semilla hasta alcanzar los 30 °C. El aire se calienta en la entrada del sistema, y su temperatura se controla a través de todo el proceso por medio de la colocación de sensores en cada una de las cámaras. En la salida del secador, la humedad contenida en el aire se elimina por medio de un proceso de condensación, de manera que este pueda ser recirculado.

5

El secado también se puede llevar a cabo en un secador discontinuo en plataformas de secado.

e) Desgrasado por medio de prensado

10 El objetivo de la fase de prensado es eliminar de forma parcial la grasa presente en los granos de cacao no fermentados. Este proceso se lleva a cabo mediante la extrusión de los granos de cacao. Para llevar a cabo esta fase del proceso se puede utilizar una prensa de tornillo, también llamada expulsora o extrusora. Este equipo consiste de un extractor mecánico continuo en el que los granos se prensan, y la manteca de cacao se extrae mediante presión.

15

Este equipo está formado por una tolva en la que los granos de cacao se descargan y, posteriormente, pasan a una cuba en la que se calientan a una temperatura de no menos de 35 °C; este material se prensa mediante un tornillo helicoidal rotando dentro de un cilindro, de tal manera que la grasa se expulsa y se drena. El producto obtenido en esta fase es llamado torta si es a partir de granos descascarados, o harina si es a partir de granos con cáscara. La temperatura de este producto cuando sale de la prensa debe ser de menos de 80 °C.

20

En esta fase del proceso se obtiene una torta de cacao no fermentado, inactivado, parcialmente desgrasado. El contenido de grasa de esta torta puede estar comprendido entre el 8 % y el 30 %, expresado en un porcentaje de peso seco, por ejemplo, el 12 %.

25

f) Estabilización del producto desgrasado

El objetivo de esta fase del proceso es reducir la temperatura de la torta (o harina) obtenida en la etapa previa hasta una temperatura de no más de 35 °C, de manera que se facilite la etapa posterior de trituration. El proceso de estabilización se puede llevar a cabo con un refrigerador, provisto de forma interna con palas que agitan el producto. Este equipo puede estar provisto de una camisa a través de la cual se circula agua fría para facilitar la reducción de la temperatura en producto.

30

g) Trituración

35

El objetivo de esta fase del proceso es reducir el tamaño de partícula de la torta o harina, con el fin de mejorar la superficie de contacto en el momento que se lleva a cabo la extracción. En esta etapa, se obtiene un producto de cacao del que al menos el 80 %, preferentemente al menos el 95 %, y todavía más preferentemente al menos el 99 % de las partículas de cacao, tienen un tamaño de partícula de menos de 0,5 mm.

40

La trituration se puede llevar a cabo con un molino de martillos provisto de un tamiz, o con cualquier otro sistema de trituration que permita alcanzar el tamaño de partícula deseado.

h) Extracción sólido-líquido

45

El fin de esta fase es llevar a cabo una extracción selectiva de los polifenoles presentes en la torta o harina de cacao. La migración de los polifenoles de la torta o harina de cacao al disolvente de extracción, depende de un conjunto de factores tales como la proporción sólido-líquido, el tamaño de partícula del material a extraer, la mezcla de extracción, la temperatura de extracción y el tiempo de extracción.

50

La proporción sólido/líquido debe ser mayor de 1/3, por ejemplo 1/5. Preferentemente, la extracción se lleva a cabo utilizando torta o harina molidas, debido a que la reducción del tamaño de partícula aumenta la superficie de contacto y facilita la extracción de los polifenoles. Esta etapa de proceso se lleva a cabo utilizando una mezcla de extracción polar formada por etanol y agua, pudiendo variar la proporción de estos solventes de 30 % de etanol y 70 % de agua (v/v), hasta 100 % de etanol, siendo la mezcla preferente 70 % de etanol y 30 % de agua (v/v).

55

La temperatura de extracción puede variar de 40 °C a 80 °C, por ejemplo 70 °C. El tiempo de extracción utilizado es normalmente de más de 30 minutos, por ejemplo de 1 hora y media.

60

Esta etapa preferentemente se lleva a cabo en extractores de acero inoxidable provistos con agua caliente o camisas de vapor, para mantener la temperatura de extracción deseada. La mezcla se agita de forma frecuente con palas de acero inoxidable, que se accionan por medio de motores provistos con dispositivos para cambiar la velocidad (mecánicos o eléctricos), con el fin de optimizar el proceso de extracción.

65

i) Separación sólido-líquido

El fin de esta fase es separar el sólido semiempobrecido (fase sólida) y el extracto hidroalcohólico rico en polifenol (fase líquida).

5 El sólido semiempobrecido se puede someter a una nueva etapa de extracción o se puede eliminar como un residuo; esto se lleva a cabo de acuerdo con el contenido de polifenol restante en el mismo. Normalmente, se llevan a cabo dos etapas de extracción con el mismo material en bruto, debido a que, en general, se obtienen rendimientos de baja masa en la tercera etapa de extracción. El rendimiento de masa corresponde a la proporción porcentual entre la cantidad de sólidos recuperados en el extracto hidroalcohólico y la cantidad inicial de torta o harina.

15 El extracto hidroalcohólico obtenido en la primera etapa de extracción es normalmente un residuo seco comprendido entre 5 y 100 g/l, por ejemplo 25 g/l. El residuo seco expresa el contenido sólido en el extracto. Este valor puede disminuir si se lleva a cabo un lavado durante la separación. En el caso de extracciones sucesivas, estas se pueden llevar a cabo en las mismas condiciones descritas anteriormente. El extracto obtenido en la segunda etapa de extracción se puede combinar con el extracto obtenido en la primera etapa.

20 La separación se puede llevar a cabo utilizando varios equipos; por ejemplo utilizando un decantador, un sistema de filtración al vacío con la adición opcional de tierra de filtración, o a través de un filtro de placa.

j) Concentración del extracto líquido

25 El objetivo de esta fase es eliminar etanol y, opcionalmente, parte del agua del extracto hidroalcohólico. El proceso se lleva a cabo, por ejemplo, en concentradores de acero inoxidable, que pueden ser de una, dos y hasta tres etapas. La temperatura de concentración puede variar entre 30 °C y 70 °C, de acuerdo con la presión de vacío alcanzada en el equipo. Los disolventes eliminados del extracto pueden recuperarse y separarse en una torre de rectificación para reutilizarse en futuros procesos de extracción. En esta etapa, el alcohol se elimina preferentemente de forma completa del extracto hidroalcohólico, y el agua se elimina de forma parcial, de tal manera que el extracto está en el medio acuoso.

30 Este concentrado en un medio acuoso puede destinarse a obtener tres productos finales. Puede secarse directamente para obtener extracto hidroalcohólico, o purificarse con acetato de etilo con el fin de obtener el extracto purificado y el extracto semipurificado.

k) Obtención del extracto hidroalcohólico obtenido por secado del concentrado obtenido en (j)

40 El objetivo de esta fase es reducir el contenido de humedad del extracto hasta que tenga características de polvo. Esta etapa se puede llevar a cabo utilizando un secador por pulverización o, por ejemplo, un secador con un sistema alternativo de vacío. Las temperaturas de secado deben ser, de forma preferente, de menos de 40 °C y no más de 100 °C.

Puede utilizarse otro equipo con el fin de alcanzar el tamaño de partícula deseado en el producto final tal como, por ejemplo, molinos.

45 El extracto hidroalcohólico obtenido debe tener un contenido de humedad de menos del 10 % expresado en peso/peso, preferentemente menos del 5 %, por ejemplo el 3 %.

50 El extracto hidroalcohólico debe tener un tamaño de partícula de menos de 500 micrómetros, preferentemente menos de 200 micrómetros, por ejemplo menos de 50 micrómetros.

El contenido de polifenol total está comprendido entre el 35 % y el 55 % expresado en una base seca, por ejemplo el 40 %. El contenido total de polifenol se midió de acuerdo con el método de Folin-Ciocalteu.

55 Este extracto es significativamente diferente de otros extractos, con respecto a su contenido de Flavan-3-ol y procianidina. De esta forma, el extracto hidroalcohólico tiene niveles de catequina de entre 10 y 70 mg/g; de epicatequina de entre 80 y 350 mg/g; de procianidina B1 de entre 1 y 10 mg/g y de procianidina B2 de entre 30 y 125 mg/g.

60 La determinación del contenido de flavonol en cada uno de los extractos se llevó a cabo mediante cromatografía en columna utilizando un cromatógrafo Alginet 1100 con empaquetado de columna C18 y elución con agua acidificada y acetonitrilo con haz de diodos UV a una longitud de onda de 200 nm. Las soluciones estándar las proporcionó Sigma Aldrich (catequina y epicatequina), y Extrasynthese (Procianidinas B1 y B2).

l) Extracción líquido-líquido del extracto concentrado en (j) y separación de las fases acuosas y orgánicas

La purificación del concentrado hidroalcohólico mediante extracción líquido-líquido. El fin de esta fase es obtener el extracto purificado y el extracto semipurificado a partir del concentrado hidroalcohólico.

5 Para la purificación se lleva a cabo una extracción líquido-líquido con acetato de etilo. La purificación se produce por la migración de una parte de los polifenoles del concentrado hidroalcohólico hacia el acetato de etilo. Dado que el contenido hidroalcohólico está en un medio acuoso, después de añadir acetato de etilo y debido a la diferencia en polaridad, ambos forman dos fases no miscibles correspondientes a una fase acuosa (semipurificada) y una fase orgánica de acetato de etilo (purificada).

15 El proceso de purificación se lleva a cabo en un sistema a contracorriente a una temperatura de, preferentemente, más de 20 °C y menos de 70 °C; por ejemplo a 50 °C. Después se separan las fases por diferencia de polaridad. Una vez que las fases están separadas, estas se concentran y secan, obteniéndose dos productos distintos. Estos son el extracto semipurificado obtenido a partir de la fracción acuosa y el extracto purificado obtenido a partir de la fracción orgánica de acetato de etilo.

m) Concentración del extracto acuoso obtenido en (l)

20 El objetivo de esta fase es eliminar el agua del extracto semipurificado. La concentración se puede llevar a cabo en concentradores de acero inoxidable que pueden ser de una, dos y hasta tres etapas. La temperatura de concentración puede cambiar entre 30°C y 70°C, de acuerdo con la presión de vacío alcanzada por el sistema. El extracto puede tener una concentración de sólido de, preferentemente, entre el 15 % y el 40 % peso/peso; por ejemplo el 20 % peso/peso.

25 **n) Obtención del extracto semipurificado mediante secado del concentrado obtenido en (m).**

30 El objetivo de esta fase de secado es reducir el contenido de humedad hasta que el extracto tiene características de polvo. Esta etapa puede llevarse a cabo mediante la utilización de un secador por pulverización o, por ejemplo, de un secador con un sistema alternativo de vacío. Las temperaturas de secado deben, preferentemente, no ser de menos de 40 °C o de más de 80 °C.

35 Se puede utilizar otro equipo con el fin de alcanzar en el producto final el tamaño de partícula deseado tal como, por ejemplo, molinos. El extracto semipurificado debe tener un tamaño de partícula de menos de 500 micrómetros, preferentemente de menos de 200 micrómetros, por ejemplo de menos de 50 micrómetros.

El extracto semipurificado obtenido debe tener un contenido de humedad de menos del 10 % expresado en peso/peso, preferentemente de menos del 5 %, por ejemplo el 3 %.

40 El contenido de polifenol total está comprendido entre el 20 % y el 45 %, expresado en una base seca, por ejemplo el 35 %. El contenido de polifenol total se midió de acuerdo con el método de Folin-Ciocalteu.

45 El extracto semipurificado tiene niveles de catequina de entre 10 y 50 mg/g; de epicatequina de entre 50 y 250 mg/g; de procianidina B1 de entre 1 y 8 mg/g; y de procianidina B2 de entre 25 y 90 mg/g.

El análisis del perfil de polifenol se lleva a cabo mediante el mismo que el descrito para el extracto hidroalcohólico.

o) Concentración de la fase orgánica obtenida en (l)

50 El objetivo de esta fase es eliminar el solvente orgánico, en este caso acetato de etilo, del extracto purificado. La concentración se puede llevar a cabo en concentradores de acero inoxidable que pueden ser de una, dos y hasta tres etapas. La temperatura de concentración puede cambiar entre 30 °C y 70 °C, de acuerdo con la presión de vacío alcanzada por el sistema. El extracto puede tener una concentración de sólido preferentemente de entre el 15 % y el 40 % peso/peso; por ejemplo el 20 % peso/peso.

55 **p) Obtención del extracto purificado mediante secado del concentrado obtenido en (o)**

60 El objetivo de esta fase de secado es reducir el contenido de disolvente hasta que el extracto tiene características de polvo. Esta etapa se puede llevar a cabo mediante el uso de un secador por pulverización o, por ejemplo, un secador con un sistema alternativo de vacío. Las temperaturas de secado deben, preferentemente, no ser de menos de 40 °C o de más de 80 °C.

65 Se puede usar otro equipo con el fin de alcanzar en el producto final el tamaño de partícula deseado tal como, por ejemplo, molinos. El extracto semipurificado debe tener un tamaño de partícula de menos de 500 micrómetros, preferentemente de menos de 200 micrómetros, por ejemplo de menos de 50 micrómetros.

El extracto purificado obtenido debe tener un contenido de humedad de menos del 10 % expresado en peso/peso, preferentemente de menos del 5 %, por ejemplo el 3 %.

5 El contenido de polifenol total está comprendido entre el 60 % y el 90 %, expresado en una base seca, por ejemplo el 85 %. El contenido de polifenol total se midió de acuerdo con el método de Folin-Ciocalteu.

El extracto purificado tiene niveles de catequina de entre 40 y 100 mg/g; de epicatequina de entre 200 y 500 mg/g; de procianidina B1 de entre 5 y 20 mg/g; y de procianidina B2 de entre 80 y 250 mg/g.

10 El análisis del perfil de polifenol se lleva a cabo con el mismo análisis que el descrito para el extracto hidroalcohólico.

Fases opcionales

15 - Limpieza

La fase de limpieza es opcional, y su objetivo es eliminar los restos de sustancias extrañas que acompañan a las semillas de cacao. Esta limpieza se puede llevar a cabo en un equipo Bulher, que consiste en un sistema de tamizado con un tamaño de malla comprendido entre 2 y 10 mm, y provisto de un sistema opcional de succión de aire que permite la separación de sustancias extrañas.

20 - Descascarado

25 La fase de descascarado es opcional y su objetivo es eliminar de forma parcial la cáscara que rodea a las semillas de cacao. Este proceso se lleva a cabo de forma mecánica. Las semillas de cacao no fermentadas, secas, pasan a través de un sistema automático donde se fragmentan; la cáscara liberada se elimina mediante un proceso de succión, obteniendo así gránulos de cacao (el término gránulos de cacao se refiere a fragmentos de cacao sin cáscara). Se pueden utilizar otros equipos tales como aquellos fabricados por Martin Lloveras, Bauermeister, Lehmann y otros, alcanzando rendimientos de cáscara residual en los gránulos del 2 % por peso.

30 En esta fase se obtienen gránulos de cacao con un contenido de cáscara residual que debe ser de menos del 7 %, y preferentemente de más del 2 %.

Ejemplo 1. Ensayo de laboratorio. Comparación de los extractos de polifenol hidroalcohólicos, obtenidos mediante el uso de torta de cacao con diferentes contenidos de grasa como material en bruto.

35 En este ensayo se lleva a cabo una comparación de los diferentes extractos de cacao que pueden obtenerse, de acuerdo con el proceso descrito en la invención, dependiendo del material en bruto utilizado en la extracción. Con ese fin se llevaron a cabo dos procesos de extracción con tres pasos de extracción consecutivos, utilizando como material en bruto torta de cacao con distinto contenido de grasa y distinto contenido de polifenol.

40 Las condiciones del proceso para ambos extractos son semejantes, cambiando solamente la torta de cacao que se utiliza para la extracción.

Descripción de los materiales en bruto usados en los ensayos de extracción:

45 En ambos casos, la torta de cacao utilizada es de semillas de cacao de la variedad Amazonas, del Ecuador, clon CCN 51, no fermentadas, escaldadas, secas y descascaradas, siendo la única diferencia entre ambas las condiciones del proceso de prensado.

50 1. En el proceso de extracción 1 se utilizó una torta de cacao con un contenido de grasa del 30 % y un contenido de polifenol del 10 % expresado en una base seca, con humedad del 5,82%.

55 2. En el proceso de extracción 2, una torta de cacao con un contenido de grasa del 12 % y un contenido de polifenol del 18 % expresado en una base seca, con humedad del 6,77 %.

Descripción de las condiciones del proceso:

60 Las condiciones del proceso se describen a continuación, siendo estas condiciones semejantes para los dos ensayos.

- Extracción sólido-líquido

65 Se someten 100 g de torta de cacao a una extracción sólido-líquido, con una mezcla de etanol:agua a una proporción de 70:30, utilizando un matraz de reacción de vidrio de 2 litros provisto de un sistema de refrigeración. La agitación se lleva a cabo de forma mecánica utilizando para tal fin un motor Heidolph provisto de palas de mezcla. Las condiciones de extracción son 70 °C durante una hora y media, con una proporción sólido-líquido 1/5.

• Separación sólido-líquido

El extracto se separa del sólido semiempobrecido por medio de un proceso de filtración al vacío, utilizando un proceso de filtración de laboratorio con un filtro de 15-25 micrones N°. 411 ALBET para este fin.

5 El sólido semiempobrecido se lava varias veces con agua destilada y después se somete otra vez a una segunda y tercera etapa de extracción sólido-líquido, con el fin de estudiar los rendimientos de masa y la recuperación de polifenoles obtenidos en cada caso.

10 • Concentración del extracto

El extracto obtenido se concentra a una temperatura de 55 °C y con una presión de vacío de menos de 150 mbar, utilizando para tal fin un sistema de evaporación rotatorio de laboratorio Heidolph V V2000.

15 • Secado del extracto

El extracto concentrado se seca a 70°C en un horno de laboratorio Gallenkam Modelo 5 A-5799 OVL-570010J, provisto de un sistema de vacío.

20 El contenido de polifenol total de los extractos obtenidos se cuantifica de acuerdo con el método de Folin-Ciocalteu modificado, en el que los polifenoles se expresan como equivalentes de catequina (Singleton, V.; Rossi, J. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. Am. J. Enol. Vitic. 16, 144-158, 1965).

25 La Tabla 1 muestra los contenidos de polifenol total de los extractos hidroalcohólicos, los rendimientos de recuperación de masa y los rendimientos de recuperación de polifenoles obtenidos en los procesos de extracción, utilizando torta de cacao con un 30 % y un 12 % de grasa. Los rendimientos de la segunda y la tercera etapa se refieren a los contenidos iniciales del material en bruto.

30 **Tabla 1. Comparación de los contenidos de polifenol, rendimiento de masa de polifenol y rendimiento de recuperación de los ensayos con material en bruto distinto**

Material en bruto	Rendimiento de masa		Rendimiento de polifenol		Contenido de polifenol (b.s)	
	Torta 30 % de grasa	Torta 12 % de grasa	Torta 30 % de grasa	Torta 12 % de grasa	Torta 30 % de grasa	Torta 12 % de grasa
Primera etapa	22,26 %	23,24 %	77,47 %	64,18 %	37,10 %	50,08 %
Segunda etapa	3,24 %*	10,03 %*	7,92 %*	15,39 %*	26,11 %	27,82 %
Tercera etapa	4,36 %*	2,18 %*	4,05 %*	4,22 %*	9,92 %	35,07 %

(*) Los rendimientos se refieren al material en bruto inicial

Ejemplo 2. Ensayo de laboratorio: comparación de los extractos hidroalcohólicos de polifenoles obtenidos mediante cambio de la concentración de etanol en la mezcla de extracción.

35 Se comparan en este ensayo los distintos extractos de cacao que se pueden obtener de acuerdo con la concentración de etanol de la mezcla de extracción. Se llevan a cabo tres procesos de extracción a nivel de laboratorio, a tres concentraciones de etanol distintas. Las concentraciones utilizadas son del 50 %, 70 % y 90 % (v/v).

40 En los tres ensayos las condiciones del proceso son semejantes, cambiando solamente las concentraciones de etanol. El material en bruto utilizado es la torta de cacao a partir del procesamiento de las semillas de cacao de la variedad Amazon, clon CCN 51, no fermentadas, escaldadas, secas y descascaradas. La torta tiene un contenido de grasa del 12 % y un contenido de polifenol del 18 %, expresado en una base seca. La humedad de esta torta es del 45 6,77 %.

Descripción de las condiciones del proceso para obtener extractos hidroalcohólicos:

• Extracción sólido-líquido.

50 Se someten 100 g de la torta de cacao a una extracción sólido-líquido en un único paso de extracción. La extracción se lleva a cabo en un matraz de reacción de vidrio de 2 litros, provisto de un sistema de refrigeración. La agitación se lleva a cabo de forma mecánica, utilizando para tal fin un motor Heidolph provisto de palas de mezcla. Las condiciones de extracción son 70 °C durante una hora y media, con una proporción sólido/líquido 1/5.

55

Las mezclas de extracción utilizadas en cada uno de los procesos son:

Proceso 1: etanol:agua (50:50)

5 Proceso 2: etanol:agua (70:30)

Proceso 3: etanol:agua (90:10)

10 • Separación sólido-líquido

El extracto se separa del sólido semiempobrecido por medio de un proceso de filtración al vacío, utilizando para tal fin un proceso de filtración de laboratorio con un filtro de 15-25 micrones N°. 411 ALBET.

15 El residuo sólido obtenido después de la filtración se elimina.

• Concentración del extracto

El extracto obtenido se concentra a una temperatura de 55 °C y con una presión de vacío de menos de 150 mbar, utilizando para tal fin un sistema de evaporación rotatorio de laboratorio Heidolph V V2000.

20 • Secado del extracto

El extracto concentrado se seca a 70 °C en un horno de laboratorio Gallenkam Modelo 5 A-5799 OVL-570010J, provisto de un sistema de vacío.

25 El contenido de polifenol total de los extractos obtenidos se cuantifica de acuerdo con el método de Folin-Ciocalteu modificado, en el que los polifenoles se expresan como equivalentes de catequina (Singleton, V.; Rossi, J. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdo-phosphotungstic acid reagents. Am. J. Enol. Vitic. 16, 144-158, 1965).

30 La Tabla 2 muestra los contenidos de polifenol, los rendimientos de masa y los rendimientos de recuperación de polifenoles obtenidos a diferentes concentraciones de etanol.

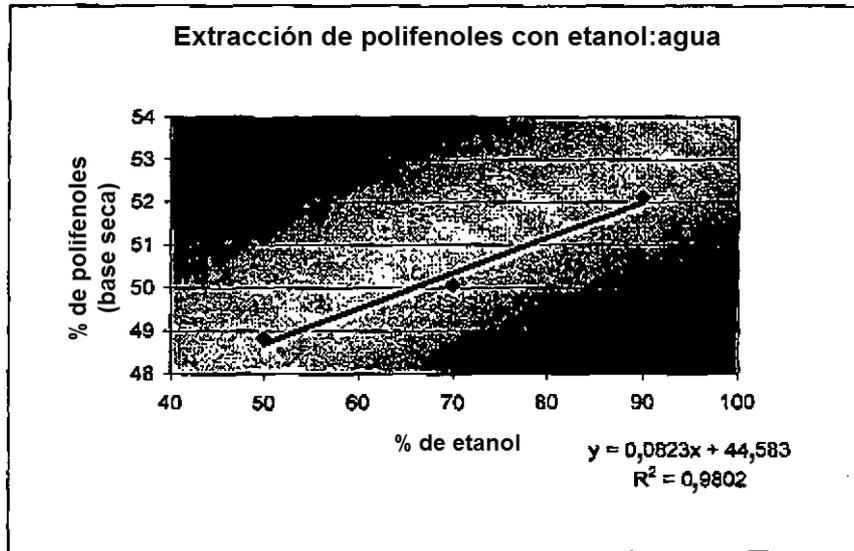
Tabla 2. Resultados de los ensayos de extracción utilizando distintas concentraciones de etanol

	% de polifenoles en el extracto (b.s)	% Rendimiento de Masa	% Rendimiento de polifenol
Etanol 50 %	48,83	24,24	65,32
Etanol 70 %	50,08	23,24	64,18
Etanol 90 %	52,12	19,17	55,11

35 Los resultados muestran que un aumento de la concentración de etanol favorece la concentración total de polifenol obtenida en el extracto. Por consiguiente, cuando la concentración de polifenol en el extracto aumenta, el rendimiento de masa y recuperación de polifenol disminuyen.

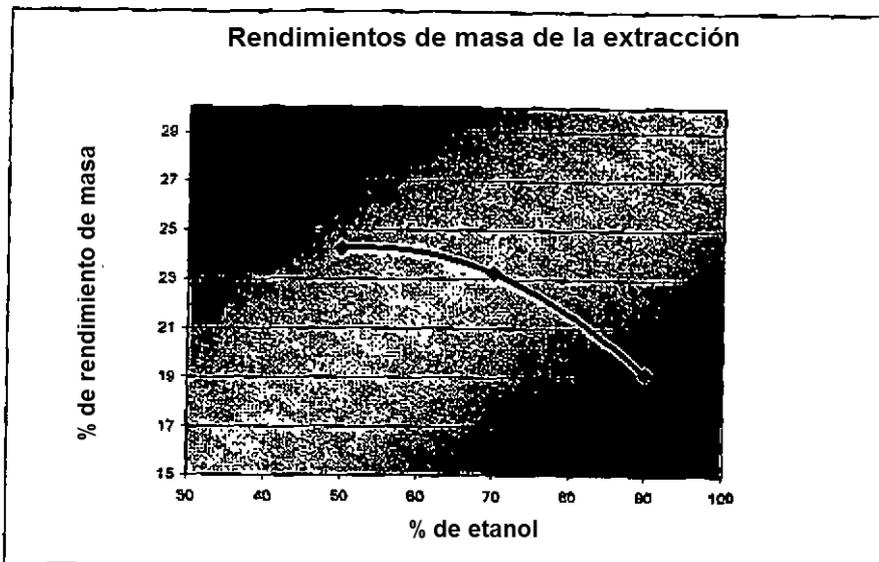
40 El Gráfico 1 muestra la concentración de polifenol aumentada de acuerdo con la concentración de etanol de la muestra de extracción.

Gráfico 1. % de polifenoles en el extracto de acuerdo con la concentración de etanol



5 El Gráfico 2 muestra como un aumento de la concentración de etanol reduce los rendimientos de masa de la extracción.

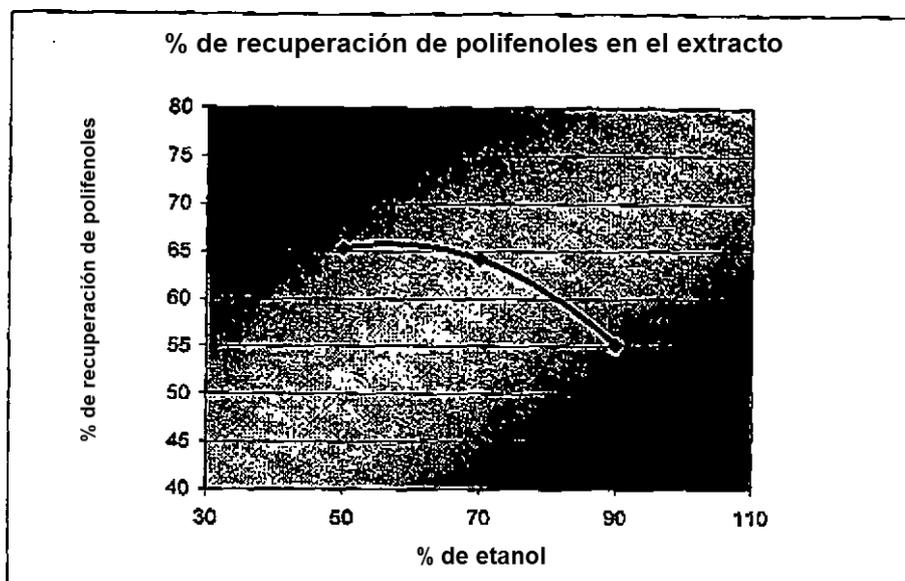
Gráfico 2. % del rendimiento de masa de acuerdo con la concentración de etanol



10

El Gráfico 3 muestra como la recuperación de polifenol disminuye cuando aumenta la concentración de etanol.

Gráfico 3. % de rendimiento de recuperación de polifenoles en el extracto de acuerdo con la concentración de etanol



5

Ejemplo 3. Ensayo de laboratorio: Obtención del Extracto Purificado.

Este ensayo se lleva a cabo utilizando como material en bruto la torta de cacao del procesamiento de semillas de cacao de la variedad Amazon, clon CCN 51, no fermentadas, escaldadas, secas y descascaradas. La torta tiene un contenido de grasa del 12 % y un contenido de polifenol del 18 % expresado en una base seca. La humedad de la torta es del 6,77 %.

Descripción de las condiciones del proceso para obtener el extracto purificado:

15 • Extracción sólido-líquido

Se someten 100 g de la torta de cacao a una extracción sólido-líquido en una única etapa de extracción. La extracción se lleva a cabo en un matraz de reacción de vidrio de 2 litros, provisto de un sistema de refrigeración. La agitación se lleva a cabo de forma mecánica, utilizando un motor Heidolph provisto de palas de mezcla para tal fin. Las condiciones de extracción son 70 °C durante una hora y media, con una proporción sólido/líquido 1/5.

20 • Separación sólido-líquido

El extracto se separa del sólido semiempobrecido por medio de un proceso de filtración al vacío, utilizando para tal fin un proceso de filtración de laboratorio con un filtro de 15-25 micrones N.º 411 ALBET.

El residuo sólido obtenido después de la separación se elimina.

30 • Concentración del extracto hidroalcohólico

El extracto obtenido se concentra hasta la eliminación completa del etanol, a una temperatura de 55 °C y con una presión de vacío de menos de 150 mbar, utilizando para tal fin un sistema de evaporación rotatorio de laboratorio.

35 • Extracción líquido-líquido

En esta etapa el extracto concentrado se somete a un proceso de purificación por medio de una extracción líquido-líquido con acetato de etilo. Para tal fin, se toma el extracto concentrado y se diluye al doble con agua, y después se añade un volumen proporcional de acetato de etilo y la mezcla se agita de forma vigorosa a una temperatura de 50 °C durante 30 minutos, en un matraz de reacción de vidrio de 2 litros. La agitación se lleva a cabo de forma mecánica, utilizando para tal fin un motor de agitación Heidolph. Después se separa la mezcla en un embudo de decantación y se recupera la fracción correspondiente al acetato de etilo.

• Concentración del extracto purificado

El extracto obtenido se concentra hasta la eliminación completa del etanol, a una temperatura de 40 °C y con una presión de vacío de menos de 150 mbar, utilizando para tal fin un sistema de evaporación rotatorio de laboratorio Heidolph V V2000.

• Secado del extracto purificado

El extracto concentrado se seca en un horno de circulación de aire con un sistema de ventilación externo, hasta una humedad del 5,4 %.

Después de esta etapa, se obtienen 2,43 g de extracto purificado con un contenido total de polifenol del 87 %.

El contenido total de polifenol de los extractos obtenidos se cuantifica de acuerdo con el método de Folin-Ciocalteu modificado, en el que los polifenoles se expresan como equivalentes de catequina (Singleton, V.; Rossi, J. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. Am. J. Enol. Vitic. 16, 144-158, 1965).

La Tabla 3 muestra los contenidos totales de polifenol, el rendimiento de recuperación de masa y el rendimiento de recuperación de polifenoles obtenidos en este ensayo.

Tabla 3. Porcentaje de polifenoles y de rendimientos del ensayo para obtener el extracto purificado

	% de polifenoles en el extracto (b.s)	% de rendimiento de masa	% de rendimiento de polifenol
Extracto purificado	87 %	2,47 %	11,93

Ejemplo 4. Ensayo industrial: Obtención de extractos de cacao ricos en polifenol a un nivel industrial.

Para llevar a cabo el proceso se utilizó un genotipo de cacao, el clon CCN 51 de la variedad Amazon, de la región de Quevedo en el Ecuador.

El proceso se lleva a cabo con 10.000 kg de semillas de cacao recién obtenidas, en pulpa mucilaginoso, y los contenidos de la semilla en una base húmeda es aproximadamente del 65 % de humedad, en el que la humedad correspondiente a la pulpa comprende el 17 % de grasa, 4 % de cáscara, 3,5 % de polifenoles totales. Estas semillas se someten a un tratamiento de despulpado utilizando para tal fin una máquina de despulpado de acero inoxidable modelo D500 CI Talsa para este tipo de procesamiento. Los granos se cargan en la tolva y se pasan a un tamiz cilíndrico por gravedad; este tamiz tiene un tamaño de malla comprendido entre 3 y 5 mm y tiene, de forma interna, palas que empujan los granos hacia las paredes del tamiz, alcanzando así la separación del 90 % de la pulpa presente en los granos, y obteniendo 7.210 kg de granos despulpados con un contenido de pulpa residual del 3 %, 47 % de humedad, 23,5 % de grasa y 5,5 % de cáscara, y 4,8 % de polifenoles totales.

Una vez que la mayoría de la pulpa se ha eliminado de los granos, estos últimos se someten a un tratamiento de escaldado; en este punto los granos pasaron directamente de la máquina de despulpado a una malla cilíndrica, en la que se los conduce longitudinalmente a través del cilindro mediante un tornillo sin fin; durante este proceso los granos se sumergen en agua en ebullición para alcanzar una temperatura interna del grano de 95 °C, con un tiempo de escaldado de 5 minutos. El agua se calienta por medio de una camisa de vapor, y el tiempo de estancia de los granos se controla cambiando la velocidad del tornillo sin fin.

Los granos obtenidos en la etapa de escaldado, con humedad cercana al 50 %, se secan a 70 °C hasta reducir su humedad a aproximadamente el 6 %; en este punto se utiliza un secador en etapas con un sistema de circulación de aire que se diseñó especialmente para este proceso. En este secador los granos de cacao se someten a distintas condiciones de secado en cada una de las etapas, cambiando la velocidad de secado en cada una de ellas. Después de este proceso, se obtienen 3.805 kg de granos secados con una humedad residual del 6 %, 44 % de grasa, 10,5 % de cáscara y 9,1 % de polifenoles totales, todos los contenidos expresados en una base húmeda.

Los granos secados se someten a un tratamiento de limpieza en el que se eliminan partículas extrañas, tales como cuerdas, piedras, etc.; esta limpieza se lleva a cabo en una máquina de limpieza Buhler. Una vez que se limpian los granos, estos van a una etapa de fragmentación y descascarado, en la que los granos se fragmentan, obteniendo granos finos clasificados por tamaño. La cáscara se elimina mediante succión, eliminando al menos el 90 % de la cáscara presente en los granos. Este proceso se lleva a cabo en una máquina de descascarado tipo DK 100 Martin Lloveras y se obtienen 3.475 kg de gránulos de cacao descascarados con un contenido de cáscara residual del 2 %, 6,5 % de humedad, 48 % de grasa y 10 % de polifenoles totales.

Los granos obtenidos en esta etapa se someten a un proceso de desgrasado por medio de prensado en un expulsor; este proceso se lleva a cabo por medio de la extrusión de los gránulos de cacao, eliminando así parte de la

fracción de grasa. Para llevar a cabo este proceso se utilizó una prensa continua KP Harburguer Einsem Bronzwerke. De este proceso se obtienen 1.910 kg de torta de cacao, con un contenido de grasa del 9 %, 18 % de polifenoles expresado en una base húmeda, siendo la humedad del torta del 10 %.

- 5 El torta obtenida en esta etapa salió a una temperatura $> 35\text{ }^{\circ}\text{C}$ y para tritararla tuvo que someterse a un proceso de refrigeración y estabilización. Esto se lleva a cabo utilizando un refrigerador de hoja rotativa. La temperatura de la torta cuando sale del refrigerador es de aproximadamente $15\text{ }^{\circ}\text{C}$.

- 10 Una vez que la torta se estabiliza, se somete a una trituración que se lleva a cabo en un molino de martillos provisto de un tamiz (MS-33-M1) fabricado por Gruber Hnos. S.A., obteniendo 1.890 kg de torta molida con un tamaño de partícula de menos de 500 micrones en el 99 % de la torta, y humedad del 10 %.

- 15 Para obtener los extractos con un alto contenido de polifenol, se sometieron 1.850 kg de esta torta seca por peso a un proceso de extracción sólido-líquido. La extracción se lleva a cabo con una mezcla de etanol:agua (70:30) a $70\text{ }^{\circ}\text{C}$ en agitación constante durante una hora y media. Una vez que ha pasado este tiempo, el extracto se separa del sólido empobrecido por medio de un proceso de filtración al vacío. El extracto obtenido se concentra a $55\text{ }^{\circ}\text{C}$ en un concentrador con una presión de vacío de 150 mbar, hasta eliminar todo el etanol, obteniendo así un concentrado hidroalcohólico con un rendimiento de masa del 23 % y el 64 % de recuperación de polifenoles. Se seca la mitad de este extracto concentrado en un sistema de secado por pulverización a $70\text{ }^{\circ}\text{C}$ hasta reducir la humedad a
- 20 aproximadamente el 10 %. En esta etapa se obtienen 190 kg de extracto hidroalcohólico, con un contenido total de polifenol del 50 % expresado en una base seca, con un rendimiento de masa del 11 % y rendimiento de recuperación de polifenoles del 32 % con respecto a la torta.

- 25 El extracto concentrado restante se somete a una extracción líquido-líquido en un extractor a $50\text{ }^{\circ}\text{C}$. De esta etapa se obtienen dos fases, una fase acuosa y otra fase de acetato de etilo. La fase acuosa se concentra en un concentrador a $55\text{ }^{\circ}\text{C}$ y se seca con un sistema de secado por pulverización a una temperatura de $70\text{ }^{\circ}\text{C}$, obteniendo 142 kg de extracto semipurificado con un contenido de polifenol del 40 % expresado en una base seca; en esta etapa se obtiene un rendimiento de masa del 9 % y un rendimiento de recuperación de polifenoles del 20 %, con respecto a la torta inicial.

- 30 La fase de acetato de etilo se concentra a una temperatura de $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ y se seca en un sistema de secado por pulverización, obteniendo 38 kg de extracto purificado con un contenido de polifenol del 85 % expresado en una base seca; en esa etapa se obtiene un rendimiento de masa del 2,5 % y un rendimiento de recuperación de polifenoles del 11,9 %, con respecto a la torta inicial.
- 35

REIVINDICACIONES

1. Proceso para obtener extractos de polvo de cacao ricos en polifenol que se **caracteriza por** las siguientes etapas:
- 5 a. Pelado de las vainas de cacao para obtener semillas de cacao recién obtenidas,
 b. Despulpado de las semillas de la etapa a),
 c. Escaldado de las semillas de la etapa b) con agua para alcanzar una temperatura interna de semilla de no menos de 85 °C y no más de 100 °C, durante un periodo de no menos de 3 minutos y no más de 15 minutos,
 10 d. Secado de las semillas a una temperatura de no más de 80 °C,
 e. Desgrasado de las semillas secas obtenidas en la etapa d) por medio de prensado,
 f. Estabilización del producto desgrasado obtenido en la etapa e),
 g. Trituración del producto obtenido en la etapa f),
 h. Extracción sólido-líquido utilizando una mezcla de extracción polar formada por etanol y agua a una temperatura que varía de 40 a 80 °C durante más de 30 minutos,
 15 i. Separación sólido-líquido,
 j. Concentración del extracto de líquido,
 k. Obtención del extracto hidroalcohólico obtenido mediante secado del concentrado obtenido en j),
 o
 l. Extracción líquido-líquido del extracto concentrado en j) utilizando acetato de etilo y separación de las fases acuosa y orgánica,
 20 m. Concentración de la fase acuosa obtenida en l),
 n. Obtención del extracto semipurificado mediante secado del concentrado obtenido en m),
 o
 o. Concentración de la fase orgánica obtenida en l), y
 25 p. Obtención del extracto purificado mediante secado del concentrado obtenido en o).
2. Proceso de acuerdo con la reivindicación 1, **caracterizado por que** adicionalmente incluye una etapa de refrigeración de la semilla después de la etapa de pelado del fruto a) a una temperatura de no menos de 1 °C o de más de 25 °C, con el fin de retardar la fermentación.
- 30 3. Proceso de acuerdo con las reivindicaciones 1 y 2, **caracterizado por que** en la etapa de secado d) la temperatura de los granos es de menos de 80 °C.
4. Proceso de acuerdo con las reivindicaciones 1 a 3, **caracterizado por que** adicionalmente incluye una etapa de descascarado de la semilla después de la etapa de secado d) o la etapa de limpieza.
- 35 5. Proceso de acuerdo con las reivindicaciones 1 a 4, **caracterizado por que** la etapa de desgrasado por medio de prensado e) se lleva a cabo a una temperatura de menos de 80 °C, obteniendo un contenido de grasa en la torta o harina de cacao de entre 8 y 30 % en una base seca.
- 40 6. Proceso de acuerdo con las reivindicaciones 1 a 5, **caracterizado por que** en la etapa de extracción sólido-líquido el disolvente es una mezcla de 70 % de etanol y 30 % de agua.
7. Proceso de acuerdo con las reivindicaciones 1 a 6, **caracterizado por que** en la etapa de concentración del extracto líquido j) las temperaturas del proceso son de menos de 70 °C.
- 45 8. Proceso de acuerdo con las reivindicaciones 1 a 7, **caracterizado por que** en la etapa de concentración de la fase orgánica y acuosa l) las temperaturas del proceso son de menos de 70 °C.
- 50 9. Extracto de polvo de cacao hidroalcohólico rico en polifenol obtenible de acuerdo con la reivindicación 1, donde la catequina está presente de 10 a 70 mg/g, la epicatequina está presente de 80 a 350 mg/g, la procianidina B1 está presente de 1 a 10 mg/g y la procianidina B2 está presente de 30 a 124 mg/g, donde las partículas de cacao tienen un tamaño de partícula de menos de 500 µm, preferentemente de menos de 200 µm, por ejemplo menos de 50 µm y el extracto se obtiene con un contenido de humedad de menos del 10 % expresado en peso/peso, preferentemente menos del 5 %, por ejemplo el 3 %.
- 55 10. Extracto de polvo de cacao rico en polifenol semipurificado obtenible de acuerdo con la reivindicación 1, donde la catequina está presente de 10 a 50 mg/g, la epicatequina está presente de 50 a 250 mg/g, la procianidina B1 está presente de 1 a 8 mg/g y la procianidina B2 está presente de 25 a 90 mg/g, donde las partículas de cacao tienen un tamaño de partícula de menos de 500 µm, preferentemente de menos de 200 µm, por ejemplo menos de 50 µm y el extracto se obtiene con un contenido de humedad de menos del 10 % expresado en peso/peso, preferentemente menos del 5%, por ejemplo el 3%.
- 60 11. Extracto de polvo de cacao de acetato de etilo rico en polifenol obtenible de acuerdo con la reivindicación 1, donde la catequina está presente de 40 a 100 mg/g, la epicatequina está presente de 200 a 500 mg/g, la procianidina B1 está presente de 5 a 20 mg/g y la procianidina B2 está presente de 80 a 250 mg/g, donde las
- 65

ES 2 560 503 T3

partículas de cacao tienen un tamaño de partícula de menos de 500 μm , preferentemente de menos de 200 μm , por ejemplo de menos de 50 μm y el extracto se obtiene con un contenido de humedad de menos del 10 % expresado en peso/peso, preferentemente de menos del 5 %, por ejemplo el 3 %.

FIG. 1

