



# **UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE**

**FACULTAD DE INGENIERÍA EN CIENCIAS**

**AGROPECUARIAS Y AMBIENTALES**

**CARRERA DE AGROINDUSTRIAS**

**INFORME FINAL DEL TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR,**

**MODALIDAD TRABAJO DE INVESTIGACIÓN**

**TEMA:**

**EVALUACIÓN DE LOS PARÁMETROS TIEMPO Y TEMPERATURA EN  
EL PROCESO DE TOSTADO DE DOS VARIEDADES DE CACAO SOBRE  
LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE Y ATRIBUTOS SENSORIALES EN  
PASTA**

**Trabajo de titulación previo a la obtención del título de INGENIERA EN  
AGROINDUSTRIAS**

**Línea de investigación: Gestión, producción, productividad, innovación y desarrollo  
socioeconómico.**

**Autor: PUJOTA QUIMBIAMBA JEIMY ESTHELA**

**Director: Ing. Luis Armando Manosalvas Quiroz**

**Ibarra- noviembre -2023**



# UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE

## BIBLIOTECA UNIVERSITARIA

### AUTORIZACIÓN DE USO Y PUBLICACIÓN A FAVOR DE LA UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE

#### 1. IDENTIFICACIÓN DE LA OBRA

En cumplimiento del Art. 144 de la Ley de Educación Superior, hago la entrega del presente trabajo a la Universidad Técnica del Norte para que sea publicado en el Repositorio Digital Institucional, para lo cual pongo a disposición la siguiente información:

DATOS DE CONTACTO			
CÉDULA DE IDENTIDAD:	1726025099		
APELLIDOS Y NOMBRES:	Pujota Quimbiamba Jeimy Esthela		
DIRECCIÓN:	Ibarra, El Olivo		
EMAIL:	<a href="mailto:jepujotaq@utn.edu.ec">jepujotaq@utn.edu.ec</a>		
TELÉFONO FIJO:	-----	TELÉFONO MÓVIL:	0997317229

DATOS DE LA OBRA	
TÍTULO:	Evaluación de los parámetros tiempo y temperatura en el proceso de tostado de dos variedades de cacao sobre la actividad antioxidante y atributos sensoriales en pasta
AUTOR (ES):	Pujota Quimbiamba Jeimy Esthela
FECHA: DD/MM/AAAA	14/11/2023
SOLO PARA TRABAJOS DE GRADO	
PROGRAMA:	<input checked="" type="checkbox"/> PREGRADO <input type="checkbox"/> POSGRADO
TÍTULO POR EL QUE OPTA:	Ingeniera Agroindustrial
ASESOR /DIRECTOR:	Ing. Luis Armando Manosalvas MSc.

#### 2. CONSTANCIAS

La autora manifiesta que la obra objeto de la presente autorización es original y se la desarrolló, sin violar derechos de autor de terceros, por lo tanto, la obra es original y que es el titular de los derechos patrimoniales, por lo que asume la responsabilidad sobre el contenido de la misma y saldrá en defensa de la Universidad en caso de reclamación por parte de terceros.

Ibarra, a los catorce días del mes de noviembre de 2023

**EL AUTOR:**

.....  
  
 Jeimy Esthela Pujota Quimbiamba

## CERTIFICACIÓN DIRECTOR DEL TRABAJO DE INTERGRACIÓN CURRICULAR

Ibarra, 14 de noviembre de 2023

Ing. Luis Armando Manosalvas, MSc.

DIRECTOR DEL TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR

CERTIFICA:

Haber revisado el presente informe final del trabajo de Integración Curricular, el mismo que se ajusta a las normas vigentes de la Universidad Técnica del Norte; en consecuencia, autorizo su presentación para los fines legales pertinentes.

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Luis Armando Manosalvas', is written over a horizontal line. The signature is stylized and cursive.

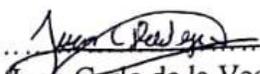
*Ing. Luis Armando Manosalvas, MSc.*

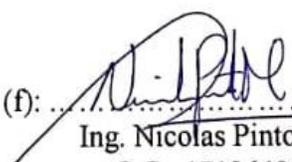
C.C.: 1001772134

## APROBACIÓN DEL COMITÉ CALIFICADOR

El Comité Calificador del trabajo de Integración Curricular “EVALUACIÓN DE LOS PARÁMETROS TIEMPO Y TEMPERATURA EN EL PROCESO DE TOSTADO DE DOS VARIEDADES DE CACAO SOBRE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE Y ATRIBUTOS SENSORIALES EN PASTA” elaborado por Jeimy Esthela Pujota Quimbiamba, previo a la obtención del título de Ingeniera en Agroindustrias, aprueba el presente informe de investigación en nombre de la Universidad Técnica del Norte:

  
(f): .....  
Ing. Luis Armando Manosalvas, MSc.  
C.C.: 1001772134

  
(f): .....  
Ing. Juan Carlo de la Vega, MSc.  
C.C.: 1002958856

  
(f): .....  
Ing. Nicolas Pinto, MSc  
C.C.: 1712640935

## DEDICATORIA

*Este logro académico se lo dedico a:*

*La mujer más valiente y fuerte que conozco, el amor más grande en mi vida mi madre Rosa Q., juntas caminamos este difícil camino que muchas veces intente abandonar, pero tus palabras de aliento y tu ejemplo de constancia me impulsaron a seguir a pesar de las adversidades esto no sería posible sin tu apoyo. ¡Mami lo logramos!*

*A los dos hombres más importantes de mi vida Cristian y Erik, sé que estarían muy orgullosos y felices por este logro, a pesar de no tenerlos físicamente a mi lado, en todo momento sus recuerdos, su amor incondicional y todo lo que me enseñaron me han ayudado y lo seguirán haciendo durante el resto de mi vida.*

## AGRADECIMIENTO

*Esta etapa de mi vida me deja grandes aprendizajes y lecciones, así como muchos recuerdos los cuales atesorare el resto de mi existencia, ha sido un largo camino en el cual fui probada en todo sentido muchas veces caí, pero siempre me levante con mucho esfuerzo, y hoy puedo decir que lo he logrado.*

*En este escrito quiero agradecer principalmente a Dios quien me ha sostenido siempre y al que le debo todo, a mis Padres quienes han sido mi motor y mi motivo para este logro su amor, su comprensión y su apoyo me ayudaron en los momentos más difíciles de este proceso.*

*A mis amadas hermanas Cristina y Dayana mis cómplices y compañera de vida cada una de ellas apporto su granito de arena para que logre culminar mis estudios universitarios, en los momentos de mayor oscuridad aparecían con esa luz de esperanza. ¡Gracias por creer en mí, las amo!*

*Quiero agradecer a mi querida amiga Paola Ch., quien ha sido mi hombro amigo en el que he podido sostenerme en todo momento gracias por ayudarme a mantener la cordura, por escucharme y limpiar mis lágrimas.*

*No puedo dejar de agradecer a una persona muy especial Cristian B., quien ha sido mi amigo y compañero de vida con quien he podido llorar y reír, sus palabras de aliento me animaron muchas veces y su asesoría fue fundamental para culminar este trabajo.*

*Con cariño a la Universidad Técnica del Norte y a cada uno de sus docentes, pues mi formación surge a través del conocimiento impartido en calidad profesional y humana. De manera muy especial al director y asesores de este trabajo de investigación, por su valiosa guía durante el desarrollo y ejecución de mi trabajo de titulación. Adicionalmente a mis compañeras de trabajo Nayelly E. y Mayra O., con quienes empezamos juntas esta investigación y nos apoyamos mutuamente.*

*De igual manera agradecer a las instituciones que me ayudaron en la fase experimental de esta investigación, la Asociación de Productores Lita y el Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIAP) Estación Santa Catalina.*

*Finalmente agradecer a todos mis familiares y amigos fraternos quienes me alentaron y apoyaron con sus oraciones cuando mis ánimos y mis fuerzas se agotaban.*

# EVALUACIÓN DE LOS PARÁMETROS TIEMPO Y TEMPERATURA EN EL PROCESO DE TOSTADO DE DOS VARIEDADES DE CACAO SOBRE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE Y ATRIBUTOS SENSORIALES EN PASTA

**Autora:** Jeimy Esthela Pujota Quimbiamba

**Año:** 2023

Altas temperaturas y tiempos prolongados de tostado en cacao provocan disminución en contenido de polifenoles totales responsables de los cambios de color, regusto, astringente y actividad antioxidante, consecuentemente, un inadecuado control de estos factores impide obtener derivados de calidad. Además, la variedad de cacao influye significativamente en la cantidad de compuestos bioactivos. En Ecuador las variedades de cacao más cultivadas son Nacional y clon CCN-51. El estudio tuvo como objetivo evaluar la influencia de los parámetros de tostado sobre el contenido de polifenoles totales, actividad antioxidante, color CieLab y calidad sensorial. Se utilizó el modelo factorial  $2^k$  donde los factores fueron temperatura de tostado (115 y 150 °C), tiempo de tostado (15 y 25 min) y variedad (Nacional y CCN-51), las variables respuestas fueron contenido de polifenoles totales, actividad antioxidante y color CieLab ( $a_{\pm}$ ) en la pasta. El análisis mostró que la variedad tuvo mayor influencia superando al tiempo y temperatura sobre el contenido de compuestos bioactivos. A medida que se incrementaba el tiempo y temperatura de tostado disminuían los polifenoles totales y la actividad antioxidante, luminosidad y hue. El tratamiento T1, que incluía la variedad CCN-51, 115 °C y 15 min, conservó eficazmente los polifenoles (66.29 mg Ac. Gálico/g) y mostró una alta capacidad antioxidante (709.88  $\mu\text{m Trolox/g}$ ). En la evaluación sensorial, no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos, no obstante, T4 (variedad Nacional, 150 °C y 15 min) y el T5 (variedad CCN-51, 115 °C y 25 min) compartieron características de acidez y aroma moderados, así como astringencia y amargo.

**Palabras clave:** Cacao (*Theobroma cacao L*), Actividad Antioxidante, Polifenoles Totales, Variedad Nacional, Variedad CCN-51, Tostado.

## ABSTRACT

High temperatures and prolonged roasting times in cocoa lead to a decrease in the total polyphenol content responsible for color changes, aftertaste, astringency, and antioxidant activity. Consequently, inadequate control of these factors prevents obtaining high-quality derivatives. In addition, the cocoa variety significantly influences the amount of bioactive compounds. In Ecuador, the most cultivated cocoa varieties are Nacional and the CCN-51 clone. The study aimed to evaluate the influence of roasting parameters on the total polyphenol content, antioxidant activity, CieLab color, and sensory quality. A 2k factorial model was used, where the factors were roasting temperature (115 and 150 °C), roasting time (15 and 25 min), and variety (Nacional and CCN-51). The response variables were total polyphenol content, antioxidant activity, and CieLab color ( $a_{\pm}$ ) in the paste. The analysis showed that the variety had a greater influence, surpassing time and temperature, on the content of bioactive compounds. As roasting time and temperature increased, total polyphenols and antioxidant activity decreased, as did brightness and hue. Treatment T1, which included the CCN-51 variety, 115 °C, and 15 min, effectively preserved polyphenols (66.29 mg Gallic Acid/g) and showed high antioxidant capacity (709.88  $\mu\text{m Trolox/g}$ ). In sensory evaluation, no significant differences were found between treatments; however, T4 (Nacional variety, 150 °C, and 15 min) and T5 (CCN-51 variety, 115 °C, and 25 min) shared characteristics of moderate acidity and aroma, as well as astringency and bitterness.

**Keywords:** Cocoa (*Theobroma cacao* L), Antioxidant Activity, Total Polyphenols, Nacional Variety, CCN-51 Variety, Roasted.

**LISTADO DE SIGLAS**

**CCN.** Colección Castro Naranjal

**INIAP.** Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias

**APL.** Asociación de Productores de Lita

**NTE.** Norma Técnica Ecuatoriana

**INEN.** Instituto Ecuatoriano de Normalización

**CIE.** Comisión Internacional de Iluminación

## ÍNDICE DE CONTENIDOS

INTRODUCCIÓN .....	18
Problema .....	18
Justificación .....	19
Objetivos .....	20
Objetivo General .....	20
Objetivos Específicos.....	20
Hipótesis .....	20
Nula.....	20
Alternativa.....	20
CAPITULO I .....	21
MARCO TEÓRICO.....	21
1.1        Cacao.....	21
1.1.1    Origen.....	21
1.1.2    Taxonomía.....	22
1.1.3    Botánica.....	23
1.1.4    Cultivo de Cacao .....	24
1.1.5    Producción de Cacao en el Ecuador .....	25
1.2        Variedades de Cacao .....	27
1.2.1    Cacao Nacional o Arriba.....	27

1.2.2	Clon CCN-51.....	27
1.3	Beneficiado del Cacao.....	28
1.3.1	Recepción.....	28
1.3.2	Fermentado.....	29
1.3.3	Secado.....	30
1.3.4	Tostado.....	30
1.3.5	Descascarillado.....	31
1.3.6	Molienda.....	31
1.3.7	Conchado.....	32
1.3.8	Temperado.....	32
1.4	Composición Físico-Química del grano de cacao.....	32
1.5	Componentes Bioactivos del Grano de Cacao.....	33
1.5.1	Compuestos Fenólicos en el Cacao.....	34
1.5.2	Actividad Antioxidante en el Cacao.....	36
1.6	Tipos de Tostadores.....	37
1.6.1	Tostador con Calor por Conducción.....	37
1.6.2	Tostador por Convección de Aire Caliente.....	38
1.6.3	Tostadores Mixtos.....	38
1.6.4	Tostado por Radiación.....	39
1.7	Efectos de los Parámetros de Tostado Sobre la Calidad Funcional del Grano ...	39

1.7.1	Temperatura Sobre la Actividad Antioxidante y Contenido de Polifenoles .	39
1.7.2	Tiempo Sobre la Actividad Antioxidante y Contenido de Polifenoles .....	41
1.7.3	Variedad Sobre la Actividad Antioxidante y Contenido de Polifenoles.....	43
1.7.4	Productos de la reacción de Maillard .....	45
1.8	Parámetros de Calidad del Cacao.....	47
1.8.1	Grano Seco .....	47
1.8.2	Grano Tostado .....	48
1.8.3	Pasta de Cacao.....	49
1.8.4	Color.....	50
1.9	Calidad Sensorial.....	52
1.9.1	Análisis del Consumidor .....	52
1.9.2	Prueba de Perfil del Sabor.....	53
1.10	Métodos de determinación de actividad antioxidante .....	54
1.10.1	Método ABTS+ .....	54
1.10.2	Método Poder Antioxidante Reductor Férrico (FRAP) .....	55
CAPÍTULO II.....		56
2	MATERIALES Y MÉTODOS.....	56
2.1	Caracterización del Área de Estudio .....	56
2.1.1	Fase de Laboratorio.....	56
2.1.2	Fase de Campo .....	57

2.2	Equipos y Materiales .....	58
2.3	Descripción de la Metodología .....	60
2.3.1	Cuantificación de los Principales Compuestos Fenólicos Responsables de la Actividad Antioxidante en el Cacao. ....	60
2.3.2	Evaluación del Efecto de Tiempo y Temperatura de Tostado en las Variedades de Cacao Sobre la Actividad Antioxidante en la Pasta.....	61
2.3.3	Determinación de los Atributos Sensoriales de Preferencia en la Pasta de Cacao	65
2.4	Manejo Específico del Experimento .....	66
2.4.1	Descripción del Proceso .....	67
CAPÍTULO III.....		72
3	RESULTADOS Y DISCUSIONES .....	72
3.1	Contenido de Polifenoles Totales.....	72
3.2	Actividad Antioxidante .....	73
3.3	Compuestos Fenólicos en Pasta de Cacao.....	75
3.4	Efecto de Tiempo y Temperatura de Tostado en las Variedades de Cacao Sobre la Actividad Antioxidante en la Pasta .....	82
3.5	Colorimetría .....	88
3.6	Determinar los Atributos Sensoriales de Preferencia en la Pasta de Cacao.....	91
3.6.1	Aroma.....	93
3.6.2	Acidez.....	94

3.6.3	Amargor .....	96
3.6.4	Astringencia .....	97
3.6.5	Aceptación General .....	98
CAPITULO IV.....		100
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES .....		100
4.1	Conclusiones .....	100
4.2	Recomendaciones.....	100
BIBLIOGRAFÍA .....		101
ANEXOS .....		112
Anexo 1 .....		112
Anexo 2 .....		120
Anexo 3 .....		123
Anexo 4 .....		124
Anexo 5 .....		126
Anexo 6 .....		127
Anexo 7 .....		129

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> <i>Taxonomía del cacao</i> .....	23
<b>Tabla 2.</b> Composición fisicoquímica del grano de cacao .....	33
<b>Tabla 3.</b> Tabla resumen del contenido de polifenoles en diferentes regiones.....	35
<b>Tabla 4.</b> Condiciones Climatológicas de las Ciudades de Ibarra y Quito.....	56
<b>Tabla 5.</b> <i>Características climatológicas de Lita</i> .....	57
<b>Tabla 6.</b> Materias, instrumentos y equipos de la fase de campo .....	58
<b>Tabla 7.</b> Materiales, equipos y reactivos de laboratorio .....	58
<b>Tabla 8.</b> Factores en estudio.....	62
<b>Tabla 9.</b> Combinación entre tratamientos .....	63
<b>Tabla 10.</b> Modelo de ADEVA .....	64
<b>Tabla 11.</b> Variable- Actividad antioxidante.....	64
<b>Tabla 12.</b> Polifenoles Totales en grano de cacao .....	72
<b>Tabla 13.</b> Actividad Antioxidante en grano de cacao .....	74
<b>Tabla 14.</b> Prueba de Kruskal Wallis para Capacidad Antioxidante.....	84
<b>Tabla 15.</b> Prueba de Kruskal Wallis para Capacidad antioxidante.....	85
<b>Tabla 17.</b> Resumen de las Propiedades Funcionales en Pasta de Cacao.....	87
<b>Tabla 18.</b> Resultados de Color en Pasta de Cacao .....	88

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Cacao ( <i>Theobroma cacao</i> L.) .....	21
<b>Figura 2.</b> Representación Gráfica de los Parámetros de Color en la Escala CIE Lab. ....	50
<b>Figura 3.</b> Zona de mayor producción en la provincia de Imbabura .....	57
<b>Figura 4.</b> Proceso de Obtención de Pasta de Cacao .....	66
<b>Figura 5.</b> Variedades de cacao: a) CCN-51; b) Nacional o Fino de aroma .....	67
<b>Figura 6.</b> Medidor de humedad.....	67
<b>Figura 7.</b> Clasificadora de granos de cacao .....	68
<b>Figura 8.</b> Proceso de tostado: a) Pesado de materia prima; b) Tamaño de muestra; c) Tostador; d) Grano tostado.....	69
<b>Figura 9.</b> Proceso de enfriado: a) Cacao enfriándose en bandejas; b) Muestras almacenadas ....	69
<b>Figura 10.</b> Descascarilladora.....	70
<b>Figura 11.</b> Proceso de molido: a) Temperatura de salida de la pasta: b) Pasta o licor de cacao .	71
<b>Figura 12.</b> Contenido de Polifenoles en Muestras de Cacao Fermentado, Seco y Tostado.....	75
<b>Figura 13.</b> Diagrama de Pareto de los Factores de Estudio Sobre el Contenido de Polifenoles..	76
<b>Figura 14.</b> Interacción Variedad*Temperatura con relación al contenido de polifenoles. ....	78
<b>Figura 15.</b> Interacción Variedad*Tiempo*Temperatura con relación al contenido de polifenoles. .....	79
<b>Figura 16.</b> Prueba de Diferencia Mínima Significativa .....	80
<b>Figura 17.</b> Diferencia Mínima Significativa para Variedades Nacional y CCN-51 .....	81
<b>Figura 18.</b> Actividad Antioxidante en muestra de cacao fermentado, secado y tostado .....	83
<b>Figura 19.</b> Prueba DMS de los niveles del factor Variedad en Actividad Antioxidante. ....	86
<b>Figura 20.</b> Diagrama CIELab Variedad CCN-51 .....	90

<b>Figura 21.</b> Diagrama CIELab Variedad Nacional .....	90
<b>Figura 22.</b> Representación gráfica de la preferencia en pasta de cacao.....	92
<b>Figura 23.</b> <i>Preferencia de Aroma en pasta de cacao.</i> .....	93
<b>Figura 24.</b> Preferencia de acidez en pasta de cacao.....	95
<b>Figura 25.</b> Preferencia de amargor en pasta de cacao.....	96
<b>Figura 26.</b> Preferencia de astringencia en pasta de cacao.....	97
<b>Figura 27.</b> Aceptación general de pasta de cacao .....	98

## INTRODUCCIÓN

### Problema

De acuerdo con el informe del Ministerio de Agricultura y Ganadería (2014), las provincias más destacadas en la producción de cacao en Ecuador son Guayas, Los Ríos, Manabí y Esmeraldas, siendo CCN-51 y Nacional las principales variedades cultivadas, muchos agricultores se inclinan por la primera debido a su alto rendimiento y resistencia a enfermedades, no obstante, la variedad preferida en chocolatería es Nacional o Fino de Aroma debido a las características organolépticas que aporta a los productos derivados que se obtienen de esta variedad de cacao. Cada provincia cacaotera cuentan con centros de acopio encargados de llevar a cabo el beneficiado del grano, desde la recolección, fermentación y secado hasta el almacenamiento y la venta. No obstante, debido al escaso conocimiento técnico en este procedimiento, se limita a la venta de grano sin poder avanzar al tostado y elaboración de productos como chocolate. Como consecuencia, la mayoría de estos centros se encargan exclusivamente del acopio y venta al por mayor, sin agregar valor adicional al producto.

El tostado brinda a la pasta de cacao características sensoriales altamente valoradas, por lo que es importante tener un control de los parámetros de temperatura y tiempo durante esta etapa, ya que se pueden afectar también nutrientes esenciales y fitoquímicos con propiedades antioxidantes, Stanley et al. (2018). Varios estudios han demostrado que las altas temperaturas de tostado provocan una disminución en polifenoles totales. En particular, se ha observado una disminución en los niveles de epicatequina y procianidinas en comparación con los granos de cacao sin tostar, según lo investigado por Oracz, Nebesny, et al. (2015).

## **Justificación**

De acuerdo con Velásquez-Reyes et al. (2023), los granos de cacao y sus derivados son altamente valorados en todo el mundo por sus nutrientes esenciales y fitoquímicos bioactivos. En particular, el cacao en Ecuador es un potencial producto de exportación. No obstante, también existe la oportunidad de transformar esta materia prima y crear una marca reconocida a nivel internacional. Para ello, es crucial implementar procesos estandarizados, en la etapa de tostado, ya que esta operación unitaria determina en gran medida aroma, sabor y color de los productos, Hernández-Ortega et al. (2022).

Investigaciones mencionan que, el consumo de cacao o sus derivados reduce el riesgo de desarrollar enfermedades cardiovasculares, gracias al contenido antioxidantes. De acuerdo con Rojas, Hommes, et al. (2022) los compuestos fenólicos en el cacao contribuyen a reducir el colesterol total y a regular la presión arterial. Por tal razón un correcto manejo de temperaturas y tiempos en el tostado ayuda a mantener una mayor concentración de actividad antioxidante. De acuerdo con Pérez-Burillo et al. (2023), el tostado a alta temperatura y tiempo corto (HTST) es más eficiente para conservar polifenoles presentes en el cacao.

De acuerdo con Oracz & Nebesny (2019) , el proceso de tostado desempeña un papel crucial en el procesamiento del grano de cacao, ya que es responsable de desarrollar su característico color marrón, generar compuestos que contribuyen al aroma y sabor distintivo del chocolate, y crear una textura crujiente. Por otro lado, según la investigación de Andruszkiewicz et al., (2021), se ha estudiado que la aplicación de diferentes condiciones de tostado en relación al tiempo y temperatura, produce resultados variables en cuanto a las propiedades organolépticas.

## **Objetivos**

### ***Objetivo General***

Evaluar los parámetros tiempo y temperatura en el proceso de tostado de dos variedades de cacao sobre la actividad antioxidante y atributos sensoriales en pasta

### ***Objetivos Específicos***

- Cuantificar los principales compuestos fenólicos responsables de la actividad antioxidante en el cacao.
- Evaluar el efecto de tiempo y temperatura de tostado en las variedades de cacao sobre la actividad antioxidante en la pasta.
- Determinar los atributos sensoriales de preferencia en la pasta de cacao.

## **Hipótesis**

### ***Nula***

Los parámetros del proceso de tostado tiempo y temperatura en las variedades de cacao no influyen sobre el contenido de la actividad antioxidante, compuestos fenólicos y atributos sensoriales.

### ***Alternativa***

Los parámetros del proceso de tostado tiempo y temperatura en las variedades de cacao influyen sobre el contenido de la actividad antioxidante, compuestos fenólicos y atributos sensoriales.

# CAPITULO I

## MARCO TEÓRICO

### 1.1 Cacao

El cacao, conocido como el manjar de los dioses (ver Figura 1), representa la materia prima esencial para la producción de chocolate. A lo largo de los tiempos, se le han atribuido propiedades curativas y afrodisíacas. Actualmente, su consumo se centra principalmente en sus beneficios nutritivos y energéticos, así como en sus características sensoriales. Además, este alimento funcional es una fuente rica en antioxidantes, respaldada por diversos estudios científicos que sugieren que sus compuestos bioactivos pueden prevenir enfermedades, Perea Villamil (2019).

#### Figura 1

*Cacao (Theobroma cacao L.)*



Fuente: (Perea Villamil, 2019)

#### 1.1.1 Origen

El cacao, cuyo origen se remonta a la región de la cuenca del alto Amazonas y sus afluentes, como el Putumayo y el Napo. Fue llevado por grupos de culturas humanas nómadas a Mesoamérica en tiempos prehistóricos. En esta nueva tierra, los olmecas fueron los primeros en cultivarlo y domesticarlo, estableciendo así los cimientos para su posterior adopción por parte de

los mayas y los aztecas. Estas culturas lo convirtieron en una bebida conocida como "chocolate", la cual poseía propiedades medicinales y afrodisíacas, y además lo utilizaron como medio de intercambio, Perea Villamil (2019).

En el siglo XVIII, el cacao fue introducido a Brasil, en 1600, los españoles llevaron esta planta a Filipinas. Desde allí, se trasladó a Malasia e Indonesia y se expandió por Papúa Nueva Guinea, China e India en el siglo XVII. Los portugueses llevaron el cacao de Brasil a África, llegando a Santo Tomé y a Ghana. El cultivo de cacao también se extendió a Nigeria a través de los ingleses y a Costa de Marfil gracias a los franceses. Las islas de Trinidad y Tobago, Jamaica, Martinica y Surinam también se suman a la lista de regiones donde el cacao tuvo presencia, Perea Villamil (2019).

En Ecuador, se encuentra una variedad de cacao única en el mundo conocida como "Nacional". Esta distinguida variante se caracteriza por un proceso de fermentación breve, lo que resulta en un chocolate de sabor y aroma excepcionales, lo cual le ha valido reconocimiento internacional como "Cacao Fino de Aroma". A lo largo de los últimos dos siglos, el cacao nacional ha sido cultivado en las áreas elevadas de la cuenca de los ríos cercanos a la ciudad de Guayaquil, el puerto principal de Ecuador y punto desde el cual se exporta al resto del mundo, Quingaísa & Riveros (2007).

### ***1.1.2 Taxonomía***

El cacao es un árbol nativo de la cuenca Amazónica, cuyo nombre científico es *Theobroma cacao* L. (Perea Villamil, 2019), su taxonomía se presenta en la Tabla 1 obtenida de Palma & Olivas (2015).

**Tabla 1***Taxonomía del cacao*

<b>Reino</b>	<i>Vegetal</i>
<b>Subreino</b>	<i>Tracheobionta</i>
<b>División</b>	<i>Magnoliophyta</i>
<b>Clase</b>	<i>Magnoliopsida</i>
<b>Subclase</b>	<i>Dilleniidae</i>
<b>Orden</b>	<i>Malvales</i>
<b>Familia</b>	<i>Esterculiaceae</i>
<b>Subfamilia</b>	<i>Byttnerioideae</i>
<b>Tribu</b>	<i>Theobromeae</i>
<b>Género</b>	<i>Theobroma</i>
<b>Especie</b>	<i>Theobroma cacao</i> L.

Fuente: Palma & Olivas (2015)

**1.1.3 Botánica**

La clasificación botánica indica que las mazorcas del árbol de cacao son consideradas como drupas o bayas. Estos frutos varían en tamaño, con medidas que van desde 10 hasta 42 cm, y presentan una amplia gama de formas, como oblongas, elípticas, esféricas u obladas. Su superficie puede ser lisa o rugosa, su color puede ser violeta o verde, dependiendo del genotipo del árbol. El fruto de cacao presenta diferentes grosores de cáscara (gruesa, delgada o intermedia) con surcos superficiales, intermedios o profundos. Su estructura consta de pulpa blanca o mucílago agridulce que separa epicarpio y endocarpio, ambos carnosos, mediante un mesocarpio delgado y leñoso. El árbol de cacao puede llegar a medir hasta 5 a 7 m, y logra su máximo desarrollo a los 10 años, sin embargo, en el caso del cacao nacional de Ecuador, su altura puede alcanzar hasta 10 m. Las flores son de color rosa pálido, o blancas, según la variedad. Su primera floración ocurre entre los 1.5 y los 2 años. Se produce un alto número de flores, pero solamente entre el 1 y 5 % de ellas son polinizadas, Perea Villamil (2019).

En relación con las semillas, su cantidad varía entre 30 y 60, dependiendo de la variedad, y su tamaño oscila de 15 a 40 mm de longitud, con un diámetro promedio de 10 a 22 mm. La semilla contiene un cotiledón compuesto por dos células de almacenamiento parenquimal: las células polifenólicas, que representan el 10% del grano, y las células lipoproteínicas. El endospermo es muy reducido y adopta la forma de una fina y resistente membrana conocida como testa, la cual está rodeada en su periferia por una pulpa ácida y azucarada llamada mucílago, Batista (2009).

#### ***1.1.4 Cultivo de Cacao***

La temperatura óptima para el cultivo del cacao varía entre 15 y 30 °C, con un promedio ideal de alrededor de 24.5 a 25.5 °C a nivel mundial, durante los meses más cálidos, 22 a 24.5, los frutos maduran entre 140 a 175 días. Existe un debate sobre si mantener una temperatura constante o permitir fluctuaciones controladas es más beneficioso para el desarrollo de las plantas de cacao. La variación térmica de aproximadamente 9 °C desempeña un papel fundamental al permitir la formación de yemas que darán lugar a hojas nuevas y flores, Batista (2009).

En las zonas de cultivo de cacao en todo el mundo, la cantidad de lluvia promedio varía según las condiciones climáticas. En regiones cálidas, la precipitación anual oscila entre 1200 y 2500 mm, mientras que, en áreas más frescas, la cantidad de lluvia se sitúa entre 1000 y 1500 mm bien distribuidas por todo el año. En la mayoría de estas áreas tropicales, la cantidad de lluvia supera la evaporación y la transpiración, lo que requiere la gestión del exceso de agua, ya que el cacao es altamente sensible tanto a la falta como al exceso de este recurso hídrico, Batista (2009).

### ***1.1.5 Producción de Cacao en el Ecuador***

El Ecuador ha sido a lo largo de la historia uno de los principales productores de cacao “Nacional o Fino de Aroma” a escala mundial, es así como ha emergido como un importante foco para los negocios de exportación en la industria cacaotera. Varias empresas chocolateras internacionales están interesadas en la calidad del cacao que se produce en el país, ya que es ampliamente reconocida en todo el mundo por sus destacadas características de aroma, color y sabor, que son altamente valoradas en la elaboración de chocolates finos, coberturas y recubrimientos, Teneda Llerena (2016).

Es de suma importancia mencionar que, gracias a esta apertura y reconocimiento el cacao ecuatoriano, ha adquirido una posición destacada como el tercer rubro más relevante en las exportaciones agrícolas del país. En la actualidad cubre el 60% de producción mundial de la variedad “Nacional o Fino de Aroma”. Además, se ha convertido en una fuente fundamental de ingresos, dentro del PIB agropecuario es aproximadamente 6,7%, para más de 100000 pequeños productores ubicados en distintas regiones de la Amazonía, Esmeraldas, Los Ríos, Guayas y Manabí, Teneda Llerena (2016).

De acuerdo con la estadística del Ministerio de Agricultura y Ganadería del 2018, durante el año 2017, el comportamiento del rendimiento total a nivel nacional fue de 0.52 Tn/ha, por otra parte en el caso de la variedad Nacional o Fino de Aroma este fue de 0.33 Tn/ha y en contraste para la variedad CCN-51 el rendimiento fue 0.65 Tn/ha, adicionalmente, el cacao es uno de los cultivos más importantes del sector agrícola del Ecuador, pues representa el 20% de la superficie total agrícola sembrada en el año 2016, así mismo su aportación en el PIB total promedia el 0.40%, ESPAC (2016).

Con relación a la extensión de cultivo de las dos variedades de cacao más producidas en Ecuador, las provincias que cuentan con mayor cantidad de cultivos de la variedad “Nacional Fino de Aroma” son: Manabí, Esmeraldas, Morona Santiago, Napo, Pastaza, Zamora Chinchipe y El Oro. Mientras tanto, las provincias que tienen una superficie más extensa de cultivo de cacao de la variedad “clon CCN-51” son: Azuay, Bolívar, Cañar, Guayas, Chimborazo, Cotopaxi, Imbabura, Los Ríos, Orellana, Sucumbíos, Santo Domingo de los Tsáchilas y Santa Elena, MAG (2018).

En 2017, la producción mundial de almendras de cacao seco alcanzó 289102 toneladas, dividida en un 43 % durante el primer semestre y un 57 % durante el segundo semestre. A nivel nacional, la variedad CCN-51 representó el 72 % de la producción de cacao en almendra seca, mientras que la variedad Nacional (fino de aroma) comprendió el 28 % restante. Esta preferencia por la variedad CCN-51 se debe a su mayor densidad de plantación, productividad de las mazorcas, resistencia a enfermedades y otros factores relacionados con el rendimiento y la salud de los cultivos, MAG (2018).

La edad de las plantas de cacao es un factor altamente significativo para la productividad. Se observa que en la variedad “clon CCN-51”, la mayoría de las plantas se encuentran en el rango de edad de 11 a 30 años. Por otro lado, en la variedad “Nacional o Fino de Aroma”, la mayor proporción de superficie está ocupada por plantas que tienen más de 30 años de cultivo. Este dato sugiere diferencias significativas en la gestión y longevidad de las plantas entre estas dos variedades, lo que puede influir en la productividad y calidad de la cosecha, MAG (2018).

## **1.2 Variedades de Cacao**

El cacao tiene su origen en las regiones cercanas al río Amazonas, en áreas que abarcan Colombia, Ecuador, Perú y Brasil, por lo que se ha generado una diversidad en genotipos de cacao con distintas características tanto en producción como en características específicas de aroma, color y sabor. Debido a su lugar de procedencia y características genéticas, el cacao se clasifica en cuatro tipos principales: Nacional de Ecuador, Forastero Amazónico, Trinitario y Criollo. También existen diferentes clones de cacao como el caso de CCN-51, además de las variedades antes mencionadas, Paredes (2016).

### ***1.2.1 Cacao Nacional o Arriba***

Esta variedad de cacao, aunque similar al Forastero Amelonado, es poco común en plantaciones puras hoy en día. La mayoría de las plantaciones resultan de cruces con materiales de Venezuela y Trinidad, conocidas como "complejo de Cacao Nacional Trinitario". Las mazorcas son amelonadas con surcos y lomos poco profundos, y las almendras tienen tonos violeta pálido o lila, a veces blancas. Este cacao produce uno de los mejores chocolates del mundo, con un sabor y aroma floral, junto con perfiles de frutas y otros sabores, Espín (2016).

### ***1.2.2 Clon CCN-51***

En 2019, el Ministerio de Agricultura y Ganadería certificó el registro del híbrido de cacao conocido como CCN-51, originado en Ecuador en la década de 1960 por Homero Castro Zurita. Este cacao ofrece ventajas como adaptabilidad a diversas condiciones climáticas, alta productividad con una gestión adecuada, así como, resistencia a enfermedades y plagas. Además, cuando se somete a un proceso de postcosecha adecuado, el cacao CCN-51 muestra cualidades organolépticas muy apreciadas en el mercado internacional, MAG (2019).

Esta variante es clasificada como un clon, lo que significa que es una variedad originada mediante ingeniería genética y generalmente se identifica con códigos alfanuméricos que provienen de su investigación, como en el caso del CCN-51. Actualmente, este material se cultiva en una parte de las plantaciones de la Amazonía. Sus vainas son de tonalidad rojizomorada cuando son jóvenes y adquieren un color rojizo anaranjado al madurar. El sabor del cacao que produce es calificado como medio a bajo en intensidad. Su potencial se encuentra en la producción de manteca de cacao, Espín (2016).

### **1.3 Beneficiado del Cacao**

Se conoce como beneficio del grano de cacao al conjunto de prácticas agrícolas que buscan la transformación bioquímica de las almendras después de la cosecha. Estas transformaciones permiten resaltar el potencial de calidad del cacao, especialmente en términos de sabor, aroma y características funcionales. El beneficiado, considerado como un proceso primario, abarca varias etapas, entre las que se incluyen la recolección, despulpado, fermentación, secado, clasificación tostado, para posteriormente poder obtener pasta de cacao, Perea Villamil (2019)

#### **1.3.1 Recepción**

Es necesario realizar el transporte del cacao dentro de 24 horas después de haber cosechado y despulpado, esto se debe ejecutar con extrema precaución, a fin de evitar cualquier tipo de contaminación, ya sea por tierra, hierba, residuos u otros elementos no deseados, por ello se debe hacer en baldes con tapa. Lo más recomendable para la recepción es tener un lugar apropiado, de madera o cemento bien pulido, en el cual no exista peligro de contaminación, así también no debe haber animales alrededor, para evitar otros tipos de contaminación, Teneda Llerena (2016).

Al recibir el cacao, es esencial almacenarlo en recipientes limpios y adecuados, con etiquetado claro que incluya el nombre del productor, certificaciones, tipo de producto y variedad, de esta manera se evita mezclar el cacao que posiblemente ya empezó el proceso de fermentación por demora en el transporte. Para mantener la calidad, se deben emplear herramientas y utensilios exclusivos para la tarea, asegurándose de limpiarlos y desinfectarlos minuciosamente antes y después de su uso, así también el receptor debe mantener su limpieza personal, PROAmazonía (2021).

### ***1.3.2 Fermentado***

Este es un proceso fundamental ya que se modifican los niveles de pH y la temperatura, afectando la estabilidad de los polifenoles, al tiempo que promueven la actividad de la  $\alpha$ -glucosidasa, Gil et al (2021), de esta manera el cacao desarrolla el sabor y aroma requeridos dado que, en esta etapa ocurren los principales cambios bioquímicos como las reacciones de oxidación, tanto enzimáticas como no enzimáticas las cuales tienen el mayor impacto en la reducción de polifenoles, como en el anterior proceso en este también existen parámetros a ser considerados como, el tipo de cacao y las condiciones ambientales que influyen en la temperatura, por otra parte las variedades de cacao se comportan de diferente manera en distintas temperaturas o humedad, del mismo modo, PROAmazonía (2021) manifiesta que el tiempo de fermentación del cacao es un factor que contribuye a desarrollar la calidad integral y por ende para cacao criollo el tiempo de fermentación es de uno a dos días; para el complejo nacional por trinitario de tres a cuatro días; y para el cacao trinitario (clon CCN51) es de cinco a seis días en montones o cajas.

### **1.3.3 Secado**

Gil et al (2021) menciona que el secado es un paso decisivo para garantizar la calidad del cacao en términos de propiedades sensoriales, químicas y microbiológicas, así mismo PROAmazonía (2021) indica que el secado del cacao es un proceso en el cual los granos se exponen directamente al sol o a una fuente de calor con el fin de reducir su contenido de humedad y facilitar la finalización de los cambios bioquímicos que ocurren durante la fermentación. Esto contribuye a la disminución de la acidez y el amargor, dando como resultado el distintivo sabor y aroma del chocolate.

Durante esta etapa el cacao elimina la mayor cantidad de humedad exponiéndolo a altas temperaturas y con una corriente de aire adecuada, para llegar a obtener una almendra con humedad inferior al 7% que es lo ideal ya que, si la humedad es mayor que eso, podría resultar en contaminación microbiana, Gil et al (2021). (INIAP, 2006) manifiesta que al no logra una capa uniforme de secado la testa o cascarilla se puede endurecer, impidiendo la salida de la acidez volátil concentrada en las almendras, es por eso que se debe controlar esta etapa tan importante.

### **1.3.4 Tostado**

El tostado es la principal operación tecnológica en el procesamiento del grano de cacao que conduce al desarrollo del característico color marrón, genera compuestos responsables del aroma y sabor distintivo del chocolate y produce una textura crujiente (Oracz & Nebesny, 2018). El tostado del grano de cacao es una operación que produce cambios en sus características físicas, sensoriales, composición química y valor nutricional. Estos cambios están determinados por el tiempo y la temperatura de tostado, factores clave que afectan las transformaciones físicas y químicas en el grano de cacao.

El tostado del cacao es un paso decisivo en el desarrollo del aroma debido a la interacción de los precursores del sabor resultantes de la fermentación, Gil et al (2021). Durante el proceso de tostado del cacao, se producen reacciones químicas fundamentales, como la de Maillard y la caramelización, que influyen en el sabor y las propiedades químicas del cacao. El tostado se realiza a temperaturas de 130-150 °C durante 15-45 minutos, aunque los cacaos de calidad, como el Criollo, Nacional y Trinitario, requieren temperaturas más bajas que los cacaos comunes del grupo Forastero, Oracz & Nebesny (2019).

### ***1.3.5 Descascarillado***

Esta etapa de procesamiento se encarga de la eliminación de la cascarilla del cacao, la cual suele llevarse a cabo después de que los granos han sido tostados. Consiste en triturar ligeramente la almendra del cacao para desprender la cascarilla, y luego se realiza la separación de los nibs (parte interna comestible) de la testa (cascarilla) utilizando un sistema de circulación de aire, INIAP (2022). Es preferible conservar los cotiledones centrales del grano de cacao en trozos de mayor tamaño, ya que esto facilita su separación de la cáscara, STEPHEN (2000).

### ***1.3.6 Molienda***

La molturación del grano de cacao tiene dos objetivos principales. El primero es reducir el tamaño de las partículas para su uso en la fabricación de chocolate, sin necesidad de una molienda extremadamente fina en esta etapa inicial debido a la posterior molturación. El segundo objetivo, es extraer la máxima cantidad de grasa contenida en las células del cotiledón del cacao. La grasa en el chocolate es esencial para su textura y sabor, facilitando la fluidez y la experiencia en boca. Estas células de grasa tienen un tamaño medio de aproximadamente 20 a 30 micras de longitud y de 5 a 10 micras de ancho/profundo, STEPHEN (2000).

### **1.3.7 Conchado**

La concha de chocolate se inventó en Suiza por Rudi Lindt, quien la nombró así debido a su forma similar a una concha marina, STEPHEN (2000). El proceso busca reducir el tamaño de las partículas a menos de 30  $\mu\text{m}$  utilizando refinadores con 2 a 5 rodillos. La mezcla de ingredientes puede contener entre un 8 % y un 24 % de materia grasa, INIAP (2022). El conchado se enfoca en el desarrollo del sabor del chocolate, eliminando compuestos que pueden causar sabores astringentes o ácidos y transforma una forma inicial de pasta espesa y seca a un estado líquido fluido mediante la incorporación de grasa, STEPHEN (2000).

### **1.3.8 Temperado**

Este proceso es esencial para lograr las propiedades físicas deseadas en la manteca de cacao, que otorgan al chocolate su brillo característico, textura crujiente, contracción y firmeza, junto con la controlada presencia de grasa en la superficie. La forma de cristalización  $\beta$  es la más buscada debido a sus características únicas, y se logra a través de cuatro pasos clave: la fusión completa de la manteca a 50 °C, el enfriamiento hasta el punto de cristalización a 32 °C, la cristalización a 27 °C y la conversión de cristales inestables a 29-31 °C., INIAP (2022).

## **1.4 Composición Físico-Química del grano de cacao**

La comprensión de la composición físico-química del cacao es relevante, ya que desempeña un rol fundamental en la optimización de las condiciones de procesamiento con el propósito de obtener una pasta de cacao de calidad, estas características se describen en la Tabla 2.

**Tabla 2***Composición fisicoquímica del grano de cacao*

<b>Componente</b>	<b>Variedad de Cacao</b>	
	<b>Nacional</b>	<b>CCN-51</b>
Acidez	0.82±0.03	0.61±0.03
pH	5.18±0.04	5.36±0.01
Humedad	6.03±0.10	6.00±0.09
Proteína	8.60±0.20	8.08±0.25
Grasa	50.87±0.19	51.02±0.24
Ceniza	2.23±0.08	2.73±0.08
Carbohidratos totales	32.28±0.46	32.17±0.11
Fibra	4.64±0.47	4.28±0.01

Fuente: Andrade et al. (2019)

### **1.5 Componentes Bioactivos del Grano de Cacao**

El grano de cacao tiene una composición química que incluye compuestos bioactivos derivados del metabolismo secundario de las plantas. Estos compuestos, con diversas estructuras químicas, cumplen varias funciones en las plantas, como pigmentación, generación de aromas, regulación del crecimiento y protección contra parásitos. El cacao ha ganado interés en los últimos años debido a la presencia de antioxidantes naturales, como compuestos fenólicos, tocoferoles y metilxantinas, en su composición, Oracz & Nebesny (2019).

El efecto bioactivo de los granos de cacao y sus productos procesados se debe principalmente a la presencia de polifenoles en su composición. Aunque las almendras también contienen otros ingredientes, como metilxantina principalmente cafeína y teobromina, su contenido es mucho menor. Además, se atribuye a los polifenoles un mayor efecto antioxidante y a favor de la salud, y su composición cualitativa y cuantitativa cambia significativamente bajo la influencia de la alta temperatura, el pH o el contacto con el oxígeno, Urbańska et al. (2019).

El contenido bioactivo de los granos de cacao y los productos elaborados a partir de ellos está determinado por transformaciones complejas y multiorientadas de varios caracteres que se desarrollan en cada etapa del proceso tecnológico de transformación del cacao. La mayoría de estas operaciones contribuyen a la degradación de compuestos bioactivos valiosos, naturales y deseados ya que todos incluyen altas temperaturas, por lo que constantemente se busca implementar tecnologías y soluciones novedosas que permitan minimizar estas pérdidas, Urbańska et al. (2019).

### ***1.5.1 Compuestos Fenólicos en el Cacao***

Los polifenoles son los principales responsables de la actividad antioxidantes y poseen una variedad de acciones biológicas, como actividad anticancerígena, antiinflamatoria y antidiabética, Febrianto & Zhu (2022). El cacao es particularmente rico en polifenoles que son almacenados en las células pigmentarias de los cotiledones y según la cantidad presente, las almendras son de color blanco a violeta intenso, Samaniego et al. (2020). Los granos de cacao son especialmente ricos en fenoles, representando aproximadamente el 10% de su peso seco.

Estos compuestos no solo contribuyen a la astringencia y amargor característicos del cacao, sino que también se les han atribuido numerosos beneficios para la salud asociados a su consumo. Entre estos beneficios se incluyen propiedades antioxidantes y antiinflamatorias, así como la capacidad de modular la aterosclerosis, hipertensión y combatir células cancerígenas. Los polifenoles presentes en el cacao pueden variar en tipo y cantidad debido a diferentes factores, tanto intrínsecos como extrínsecos, Hernández-Hernández et al. (2022)..

Entre los factores intrínsecos se encuentran el genotipo del cacao, mientras que los factores extrínsecos abarcan el lugar de origen del cacao, las épocas de cosecha y los métodos utilizados en el proceso de fermentación, Borja Fajardo et al. (2022). El cacao contiene una

variedad de polifenoles, destacando los flavonoides, que representan el 37% de los polifenoles totales. El 35% de la catequina se encuentra en los taninos del cacao, que afectan al color y sabor astringente. La composición de los polifenoles depende en gran medida de: el origen, el genotipo, el procesamiento de los granos y el grado de madurez (Urbańska et al. 2019).

A continuación, se presenta un resumen de los datos obtenidos en un estudio llevado a cabo por Gil et al. (2021). El propósito principal de esta investigación fue estudiar la cantidad de polifenoles totales presentes en el cacao durante los procesos de postcosecha e industrialización, con el fin de establecer valores de concentración que puedan servir como punto de referencia en investigaciones futuras. La información recopilada en esta investigación literaria se resume en la Tabla 3.

**Tabla 3**

*Tabla resumen del contenido de polifenoles en diferentes regiones*

<b>País</b>	<b>Especificaciones</b>	<b>Polifenoles (mg Ac. Gálico/g)</b>	<b>Referencia</b>
Malasia	Clones mixtos fermentados y secados	69.81	Ooi et al. (2020)
Ecuador		25.42	
Colombia		37.66	
Ghana		25.21	
República Dominicana	Cacao fermentado y seco - Granos de cacao sin tostar	19.65	Urbańska & Kowalska, (2019)
Venezuela		10.34	
Perú		27.78	
Colombia	Cacao fermentado y seco	50.20	Zapata et al. (2013)
Nicaragua	Grano de cacao Trinitario fermentado	43	Suazo et al. (2014)

País	Especificaciones	Polifenoles (mg Ac. Gálico/g)	Referencia
Colombia - Urabá	Mezcla de granos de cacao (FLE-2, FEC-2, ICS-1, CCN-51)	162.90	Gil et al. (2019)

**Fuente:** Gil et al. (2021)

### 1.5.2 Actividad Antioxidante en el Cacao

La actividad antioxidante total (AAT) se define como el potencial de una sustancia o compuesto para inhibir o dificultar la oxidación de un sustrato hasta en cantidades muy pequeñas (< 1%, comúnmente 1-1.000 mg/L). Su medición es útil para valorar la calidad de un alimento procesado sin procesar, la cantidad de antioxidantes en un sistema, o la biodisponibilidad de compuestos antioxidantes en el cuerpo humano, Benítez-Estrada et al. (2020).

De acuerdo con Días et al. (2023) y Batista et al., (2016), los polifenoles han sido asociados con diversas funciones fisiológicas, como la actividad antioxidante y antimutagénica. Estos compuestos han demostrado su capacidad para proteger contra el estrés oxidativo y reducir los daños en el material genético, lo que los convierte en elementos vitales para salvaguardar el bienestar y prevenir patologías. El grano de cacao y sus productos derivados son altamente populares a nivel mundial debido a su contenido de minerales, compuestos funcionales y actividad antioxidante.

Es importante destacar que estos elementos varían en función del proceso al que sean sometidos, Tolentino et al. (2019). Los atributos antioxidantes del cacao se ven influenciados por diversos elementos, tales como la variante genética, condiciones ambientales de cultivo, el procedimiento de beneficio y el proceso de transformación industrial. Durante el beneficio y la subsecuente etapa de tostado, se registra una pérdida sustancial de los componentes fenólicos,

disminuyendo por ende la actividad antioxidante del mismo, afectando la función como agente antioxidante y alimento funcional, Tafurt et al. (2020).

De acuerdo con Becerra et al. (2024), Las metilxantinas como la teobromina y la cafeína, junto con compuestos polifenólicos como la epicatequina, catequina, procianidina B2, quercetina y ácido protocatequico, han sido objeto de investigaciones debido a sus beneficios en la salud. Estos compuestos tienen efectos positivos en la reducción del estrés oxidativo, mejoran la sensibilidad a la insulina y ayudan a prevenir la obesidad. Además, son beneficiosos para la salud cardiovascular, tienen propiedades antiinflamatorias y son antioxidantes, aunque en algunos casos también pueden mostrar efectos citotóxicos, Zhang et al. (2022).

## **1.6 Tipos de Tostadores**

En la industria, se han creado distintos tipos de tostadores con el propósito de reducir los posibles daños en la materia prima y lograr una mayor concentración de componentes bioactivos relevantes para alimentos funcionales. A continuación, se presentan descripciones tanto de los tostadores convencionales como de las últimas innovaciones en este campo.

### ***1.6.1 Tostador con Calor por Conducción***

Esta máquina presenta una distinción respecto a la de aire, ya que, en lugar de tener una tolva, está equipada con un tambor o cilindro giratorio de posición horizontal. En este tambor se depositan los granos de cacao que serán tostados mediante la transmisión de calor proveniente de una llama o mechero y en ciertos modelos eléctricos, a través de una resistencia. Para evitar que los granos se quemen, el tambor tiene distintas velocidades de giro, así como (depende de las marcas o modelos) de doble placas perforadas o no, que permiten una mejor conducción, y algunos más dentro del tambor tienen aspas para permitir una uniformidad en el tueste, además existen 2 sistemas de tambor, abierto y cerrado, Gutiérrez (2019).

### ***1.6.2 Tostador por Convección de Aire Caliente***

Se trata de una máquina que suele estar compuesta por una tolva con diferentes capacidades de carga, dependiendo del fabricante y modelo. En su diseño, incluye una fuente de calor, como una llama o mechero, junto con un ventilador mecánico controlado por un panel que permite regular el flujo de aire hacia el interior del sistema. Los granos de cacao se encuentran en una cámara estática (tolva) con perforaciones solo en la base, por donde se introduce aire caliente a presión, lo que provoca que los granos se mantengan en movimiento suspendidos en el aire.

Gracias a la acción del ventilador, cuya potencia puede ajustarse según la necesidad, los granos se elevan por un lado describiendo una curva o bóveda en la parte superior de la cámara y descienden por el lado opuesto. Durante el proceso, los humos son aspirados y se elimina la cascarilla, que es depositada en un colector, Gutiérrez (2019). Investigaciones previas han evidenciado que este tipo tostado puede tener un impacto significativamente positivo en sus características de calidad, incluyendo la textura, el color, el aroma, así como las propiedades microestructurales, Zzaman & Al-din Sifat (2023)

### ***1.6.3 Tostadores Mixtos***

Estas máquinas poseen un tambor rotatorio de velocidad ajustable, fabricado con materiales de rápida transferencia de calor. Cuentan con un extractor de humos que succiona el aire, lo calienta y luego lo dirige a la cámara de tostado mediante perforaciones en la parte trasera del cilindro. En el frente del tostador, el aire calentado se evacua a diferentes velocidades según la necesidad. Además, cuentan con varias resistencias que pueden regularse según el calor requerido. Estas calientan de manera uniforme el aire, el tambor y los granos, asegurando un tostado homogéneo, Gutiérrez (2019).

#### ***1.6.4 Tostado por Radiación***

Equipo tostador que utiliza tecnología de infrarrojos cercanos y lejanos para su funcionamiento. A diferencia de tostadores convencionales que calientan el aire, este tostador calienta directamente el producto mediante luz infrarrojo fuera del espectro visible detectado por el ojo humano, se dirige a los granos de cacao para tostarlos. Esta tecnología reduce tiempo de tostado ya que no requiere precalentamiento. Algunos fabricantes afirman que el infrarrojo puede reducir el tiempo de tostado de cualquier producto entre 40 a 50% en comparación con los tostadores de tambor, Gutiérrez (2019).

### **1.7 Efectos de los Parámetros de Tostado Sobre la Calidad Funcional del Grano**

Estudios han concluido que los factores críticos de tiempo, temperatura y variedad ejercen una influencia considerable en el proceso de tostado del cacao. Por ende, resulta crucial examinar las variaciones de cada uno de estos parámetros y comprender cómo inciden en la calidad del producto final.

#### ***1.7.1 Temperatura Sobre la Actividad Antioxidante y Contenido de Polifenoles***

En el tostado, se ha observado una reducción de polifenoles y flavonoides. Principalmente por las altas temperaturas y tiempo de exposición al oxígeno durante el tratamiento térmico. A fin de contrarrestar este efecto, se exploran métodos alternativos como tostado al vacío o al vapor sobrecalentado, que tienen como objetivo mitigar los impactos negativos en los compuestos bioactivos en el cacao, Zzaman & Al-din Sifat, (2023). El tostado es el responsable de la reducción de los compuestos fenólicos totales, principalmente hasta 95%, Días et al. (2023).

Asimismo, durante el proceso de tostado, se produce la transformación de la (-)-epicatequina a (+)-catequina mediante un proceso conocido como epimerización, Gil et al.

(2021). La degradación térmica y la oxidación están inversamente relacionadas con el agotamiento de los compuestos fenólicos en el grano de cacao. Está comprobado que las altas temperaturas utilizadas en el tostado por convección no solo disminuyen el contenido de agua, sino también el contenido de polifenoles en las muestras de cacao tostado, Zzaman & Al-din Sifat, (2023).

A pesar de las ventajas de los polifenoles, es crucial considerar su biodisponibilidad. Por ejemplo, la epimerización de la (-)-catequina durante el tostado, lo que resulta en la (-)-epicatequina. Sin embargo, esta última muestra una menor capacidad de absorción en comparación con su isómero natural, la (+)-catequina. La elevada concentración de polifenoles totales provoca el sabor amargo y astringente del cacao sin tostar. Durante el tostado, los niveles de polifenoles suelen disminuir debido a la polimerización y oxidación, lo que reduce la percepción de amargor y astringencia, Lemarcq et al. (2020).

La aplicación de calor seco constituye una técnica convencional para el tostado de granos de cacao, con el objetivo de realzar las cualidades distintivas de su sabor, aroma y color. No solo se persigue la mejora sensorial, sino que el tostado induce cambios estructurales beneficiosos que facilitan el proceso subsecuente de molienda. Estos granos tostados desempeñan un papel crucial en la elaboración de productos finales como el cacao en polvo y el licor de cacao, después de someterse previamente a las etapas de descascarado y molienda de las semillas de cacao, Zzaman & Al-din Sifat (2023).

De acuerdo con Aprotosoai et al. (2016), es recomendable mantener las temperaturas por debajo de 140 °C durante el proceso. La alcalinización tiene un impacto significativo, resultando una disminución del 64% en el contenido fenólico total y modificando la composición de los mismos. En particular, los compuestos epicatequina y catequina muestran las mayores

pérdidas, llegando a 98 y 80%, respectivamente. Además, la quercetina experimenta una reducción significativa del 86%. Un mayor grado de alcalinización conlleva una mayor disminución en el contenido de polifenoles.

El proceso de tostado provoca cambios significativos en los granos de cacao, influenciando sus propiedades físicas, sensoriales, composición química y valor nutricional. La temperatura y la duración del tratamiento térmico desempeñan un papel crucial en la naturaleza de estos cambios. Entre las reacciones químicas más relevantes inducidas por el tostado se encuentran las reacciones de Maillard, la caramelización, la oxidación de lípidos y la degradación oxidativa de compuestos fenólicos, todas las cuales afectan la composición de los granos de cacao, Oracz & Nebesny (2019).

### ***1.7.2 Tiempo Sobre la Actividad Antioxidante y Contenido de Polifenoles***

La aplicación de tiempos prolongados en el tostado del grano de cacao puede ocasionar un sabor amargo, resultado de la creación de compuestos insolubles entre los flavonoides y diversas sustancias como proteínas, péptidos, polisacáridos y productos generados durante la Reacción de Maillard. De acuerdo con el estudio de Lemarcq et al. (2020), el tostado a 130 °C durante 30 min no afecta significativamente los niveles de epicatequina, procianidina B2 y teobromina. Asimismo, existe una reducción en amargor y astringencia, desarrollándose el sabor característico del cacao.

El proceso de tostado de los granos de cacao es crítico en su procesamiento, ya que afecta la composición de las semillas tostadas y, por ende, las cualidades sensoriales y la calidad de los productos finales de cacao. Elegir con cuidado los tiempos de tostado permite conservar los fitoquímicos beneficiosos sin comprometer el sabor, asegurando que tanto los aspectos saludables como el aroma característico se mantengan en el producto final. Por lo general, se

emplean temperaturas de 130 a 150 °C durante 15 a 45 minutos en el proceso de tostado, Borja Fajardo et al. (2022).

De acuerdo con Lemarcq et al. (2020), se han identificado patrones de disminución en la calidad del cacao, especialmente en relación con el tostado convencional a altas temperaturas y tiempos prolongados, lo cual contribuye hasta en un 67% a la reducción total de flavonoides. Además, se observa que a medida que aumentan los tiempos de tostado, tanto en el tostado convencional como en el sobrecalentado, se produce una rápida alteración en ciertas redes citoplasmáticas, afectando la estructura del cacao, disminuyendo el contenido de fenoles totales.

Investigaciones anteriores sobre el proceso convencional de tostado del cacao han identificado ciertos inconvenientes, destacando un tiempo prolongado de calentamiento y una duración excesiva de cocción como factores problemáticos. Estos elementos no solo contribuyen a cambios desfavorables en el color del cacao, sino que también intensifican su sabor de manera no deseada. Además, se ha observado que esta práctica conlleva la reducción de valiosas propiedades antioxidantes, aspecto crucial para la calidad nutricional del producto final, Zzaman & Al-din Sifat (2023).

El tiempo de tostado varía entre 5 y 120 minutos, siendo lo más común entre 10 y 35 minutos. La temperatura de tostado abarca desde 110 a 160 °C, con un rango típico de 120 a 140 °C. Es importante destacar que un tostado excesivo, resulta en el desarrollo de un sabor a quemado y sabores desagradables, Aprotosoai et al. (2016). Inicialmente, durante la tostación, se produce disminución en contenido de proantocianidinas de alto peso molecular, seguida de un posterior aumento. Se considera que el tostado a bajas temperaturas durante un período breve es más efectivo para preservar el contenido de polifenoles, Oracz & Nebesny (2019).

### ***1.7.3 Variedad Sobre la Actividad Antioxidante y Contenido de Polifenoles***

La cantidad de polifenoles presente en cacao está fuertemente influenciada por diversos factores, siendo uno de los más destacados la variedad de cacao utilizada. Se ha observado que las variedades como Forastero tienden a presentar una mayor concentración de polifenoles en comparación con la variedad Criollo, la cual tiene un bajo contenido de antocianinas. Además, diversos estudios han reportado una menor presencia de catequinas en las variedades Criollo en comparación con las variedades Lower Amazon Forastero, Upper Amazon Forastero, Nacional y Trinitario, Gil et al. (2021).

Es importante destacar que los granos de cacao de los tipos "Criollo", "Nacional" y "Trinitario", conocidos como "Fino de Aroma", requieren temperaturas más bajas en comparación con las semillas "a granel" del grupo "Forastero". Esta distinción en las temperaturas de tostado se debe a las características propias de cada variedad de cacao y su genotipo, teniendo como objetivo preservar las cualidades específicas, los aromas y los sabores característicos de los granos "fino o de aroma", los cuales son muy apreciados, Oracz, Zyzelewicz, et al., (2015).

El tipo de cacao o su genotipo ejerce un impacto significativo en la composición de proteínas de almacenamiento, polisacáridos y polifenoles presentes en los granos. Este factor, a su vez, influye en la formación de los precursores volátiles que contribuyen a los sabores y aromas característicos del cacao durante las fases de fermentación y secado. Desde una perspectiva comercial e industrial, el cacao se puede categorizar en dos grupos principales: el cacao a granel o convencional (conocido como tipo Forastero) y el cacao de sabor fino, que incluye variedades como el Trinitario, Criollo y Nacional, Moreno-Rojas et al. (2023).

Oracz, Nebesny, et al. (2015) menciona que, el contenido y perfil de polifenoles en los granos de cacao son influenciados por varios factores, como el tipo de cacao, las condiciones climáticas y ambientales, las prácticas agronómicas, el procesamiento y el almacenamiento. Así también, los tipos principales de cacao que incluyen Criollo, Forastero y Trinitario, siendo este último un híbrido natural entre Criollo y Forastero. Recientemente, se han introducido clones híbridos más resistentes en las plantaciones de cacao para enfrentar condiciones adversas.

El proceso de tostado es fundamental en el procesamiento de los granos de cacao, ya que influye en su composición. Esto tiene un impacto significativo en la calidad y las características sensoriales de los productos finales de cacao. Por lo general, se emplean temperaturas de 130 a 150 °C durante un período de 15 a 45 minutos en el tostado. Es importante notar que los granos de cacao finos, como los tipos Criollo, Nacional y Trinitario, requieren temperaturas más bajas en comparación con los del grupo Forastero, que se tuestan a temperaturas más elevadas, (Oracz, Nebesny, et al., 2015).

El contenido de metilxantinas, así como la relación entre teobromina y cafeína, varía según el genotipo del cacao. Por ejemplo, el cacao sin fermentar de África Occidental, conocido como Forastero, presenta un contenido de aproximadamente 3,95% de teobromina y un 0,192% de cafeína, en el material seco sin grasa. En contraste, los cacaos finos de América suelen tener un mayor contenido de cafeína, que varía entre el 0,30% y el 0,60% en semillas secas sin grasa, mientras que el contenido de teobromina se encuentra en el rango de 2,85% a 3,43%, Aprotosoiaie et al. (2016).

#### ***1.7.4 Productos de la reacción de Maillard***

La reacción de Maillard, se trata de una interacción no enzimática que se produce entre los grupos carbonilo de azúcares reductores y los grupos amino presentes en aminoácidos, péptidos o proteínas, desempeña un papel fundamental en la química de los alimentos. Esto se debe a la amplia gama de compuestos generados como resultado de esta reacción, que incluye furanos, pirazinas, pirroles, oxazoles, tiofenos, tiazoles y otros compuestos heterocíclicos, el tostado provoca un aumento en los productos formados en las etapas tempranas y avanzadas de la reacción de Maillard, Zhang et al. (2022).

De acuerdo con Zyzelewicz et al. (2014), las reacciones de Maillard, son procesos de pardeamiento no enzimático que ocurren en los alimentos durante el calentamiento en los granos de cacao o durante su almacenamiento prolongado, pueden tener efectos tanto beneficiosos como perjudiciales. Estas reacciones, que involucran la interacción entre azúcares, aminoácidos y proteínas, pueden resultar en la degradación de aminoácidos esenciales, la disminución de la digestibilidad de las proteínas, la inactivación de enzimas y la reducción de la susceptibilidad de las proteínas a la descomposición enzimática.

Los productos resultantes de estas reacciones pueden presentar propiedades tanto cancerígenas como mutagénicas, pero también exhiben actividades antioxidantes y antibacterianas que podrían tener impactos positivos en la salud humana. En las etapas finales de los procesos de Maillard, se llevan a cabo fenómenos como ciclación, deshidratación y condensación, dando como resultado la formación de pigmentos de bajo peso molecular y sustancias coloreadas de alto peso molecular, conocidas como melanoidinas, Putra et al. (2023).

Durante el procesamiento del cacao, la reacción de Maillard contribuye a la formación de sustancias reductoras (por ejemplo, melanoidinas) cuyo poder reductor es responsable de su

actividad eliminadora de radicales libres, aumentando el efecto antioxidante del grano de cacao lo cual resulta favorable para tratamientos de eliminación de células cancerígenas, así también, la reacción de Maillard también conlleva la pérdida del valor nutricional de las proteínas debido a la modificación de los aminoácidos esenciales, en especial la lisina, Zzaman & Al-din Sifat (2023).

Los compuestos alfa-dicarbonilo, tienen capacidad de interactuar con numerosos componentes celulares causando diversos trastornos metabólicos, son un grupo de moléculas formados tanto a través de la reacción de Maillard como de la caramelización, se generan a partir de la degradación del producto Amadori y la deshidratación de azúcares hexosas, lo que resulta en la formación de 3-desoxiglucosona (3-DG) y 1-desoxiglucosona (1-DG), 3-DG podría deshidratarse formando 3,4-dideoxiglucosona, consecuentemente formará 5-hidroximetilfurfural (HMF) perdiendo de una molécula de H<sub>2</sub>O, Taş & Gökmen (2016).

Durante el tostado de calentamiento, se generan reacciones químicas que producen compuestos volátiles, como aldehídos, cetonas, alquenos, ésteres, pirazinas y fenoles. También se producen cambios en la estructura física del producto, que incluyen la expansión del frijol, la obstrucción de los poros, el oscurecimiento, la reducción de la densidad y la suavización. El oscurecimiento y la formación temprana de gas se atribuyen a la reacción de Maillard, y los compuestos químicos liberados en esta etapa están directamente relacionados con el sabor y el aroma del producto, Rojas, Granados, et al. (2022).

La reacción de Maillard comprende tres etapas consecutivas. En la primera etapa (productos incoloros), se produce la condensación entre azúcares y aminos, así como el reordenamiento de Amadori. En la etapa intermedia (productos incoloros o amarillos), se lleva a cabo la deshidratación de los azúcares, la fragmentación de los azúcares y la eliminación de

aminoácidos (degradación de Strecker). La etapa final (productos altamente coloreados) incluye la condensación aldólica, la condensación entre aldehídos y aminas, y la formación de compuestos nitrogenados heterocíclicos, Rojas, Granados, et al. (2022).

## **1.8 Parámetros de Calidad del Cacao**

Es fundamental definir estándares de calidad que el cacao en grano beneficiado debe satisfacer, así como los criterios que deben aplicarse para su clasificación. Esto contribuirá en la estandarización del proceso postcosecha, garantizando la obtención de productos de calidad destinados a satisfacer las expectativas de los consumidores.

### **1.8.1 Grano Seco**

Las almendras pueden ser secadas de forma natural o artificial hasta alcanzando una humedad del 7%. Este proceso es importante para permitir ciertas reacciones bioquímicas que generan los precursores del sabor característico. Es esencial mantener el porcentaje de humedad en los granos dentro de un rango específico: no debe superar el 8% para evitar la formación de moho, pero tampoco debe estar por debajo del 6% ya que eso haría que las almendras se vuelvan frágiles y quebradizas. Es fundamental encontrar el equilibrio para asegurar la calidad y la textura óptima de las almendras, INIAP (2022).

De acuerdo con la norma INEN 0176, se define como cacao beneficiado al grano completo, sometido a fermentación, secado y limpieza. Se establece que el contenido de granos partidos en el cacao beneficiado no debe exceder el 1% de los granos totales considerados defectuosos. Además, se enfatiza la importancia de que el cacao beneficiado esté libre de olores indeseables, como el moho, el humo o el ácido butírico. Asimismo, se prohíbe la presencia de agroquímicos u otras sustancias que se consideren inaceptables. La información más detallada sobre los requisitos específicos, se encuentran el Anexo 6.

### **1.8.2 Grano Tostado**

El tostado de los granos de cacao es una etapa fundamental en el procesamiento de beneficiado de los frijoles de cacao. Durante este proceso, se desarrolla el característico sabor, aroma tostado y a chocolate, así como la textura específica de los granos, al mismo tiempo que se eliminan compuestos volátiles no deseados, como el ácido acético el cual genera sabores no deseados para el producto final, y se reduce el contenido de humedad de alrededor del 1% al 2%, de esta manera se puede almacenar el grano para una posterior transformación, Aprotosoai et al. (2016).

El proceso de tostado se lleva a cabo normalmente durante períodos de tiempo relativamente cortos, que oscilan entre 5 y 50 minutos, a una temperatura que varía entre 120 °C y 150 °C. Por lo general, se utiliza una temperatura de 130 °C durante 30 a 45 minutos para obtener sabores florales, frutos secos y frutales característicos, el tostado debe lograr reducir la humedad del grano a un 2%, además, sensorialmente se percibe un acidez y amargor leves, puesto que, ocurre la pérdida de ácidos volátiles y otras sustancias que contribuyen a este efecto, (INIAP, 2022).

Los granos de cacao son ricos en polifenoles, que se encuentran principalmente en las células pigmentarias de sus cotiledones, y tienen propiedades antioxidantes para combatir los radicales libres. La cantidad y calidad de estos polifenoles en los granos de cacao dependen del método y las condiciones de tostado utilizados. Sin embargo, debido a su sabor amargo y su susceptibilidad al calor, someterlos a altas temperaturas y tiempos prolongados durante el tostado puede alterar significativamente el sabor, el gusto y la cantidad de polifenoles presentes, Zzaman & Al-din Sifat (2023).

El proceso de tostado es fundamental en la transformación de alimentos como el cacao, el café y los cereales, ya que induce cambios en su composición química. Además, que esta operación unitaria genera cambios estructurales favorables para el proceso de molido. Este proceso desempeña un papel crucial en la adquisición de características organolépticas esenciales, como la textura, el color, el sabor y el aroma, que son altamente valoradas en la experiencia culinaria y en la calidad de los productos y derivados, Rojas, Granados, et al. (2022)

### ***1.8.3 Pasta de Cacao***

Según la norma INEN 0623, la pasta de cacao debe cumplir criterios para garantizar su pureza y calidad. Está prohibido incluir en el producto materias vegetales provenientes de fuentes diferentes, como féculas, harinas o dextrinas, así como grasas de origen animal o vegetal y semillas que no pertenezcan al mismo. Asimismo, queda expresamente vedado el uso de aditivos como cascarilla de cacao, sustancias inactivas, colorantes, conservantes u otros elementos que no formen parte de su composición natural. Los requisitos físicos y microbiológicos se detallan en el Anexo 6.

En el licor de cacao, es posible identificar una amplia gama de sabores y aromas, los cuales se agrupan en categorías básicas y específicas. Entre ellos se encuentran notas ácidas, amargas, astringentes, florales, frutales, a nuez, con toques especiados, así como la presencia de posibles defectos que pueden afectar la calidad del licor de cacao, Vera Romero & Mantilla Pabón (2020).

Entre los defectos más comunes que se consideran en el licor de cacao, se incluyen:

- a) Moho: debido a un almacenamiento inadecuado en condiciones húmedas o en un entorno de sótano.

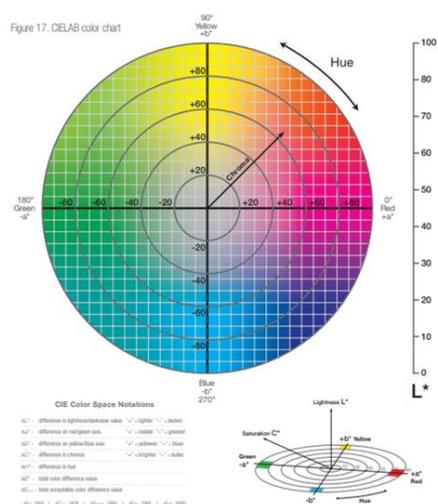
- b) Tierra: con aromas a lodo, tierra mojada, polvo o arcilla, posiblemente debido a contaminación durante la cosecha o procesamiento.
- c) Sabor crudo: con notas verdes, vegetales, a corteza o césped, indicando una fermentación inadecuada o insuficiente.
- d) Contaminantes: como plástico, químicos, humo o metal, que pueden provenir de la manipulación o almacenamiento incorrecto.
- e) Descomposición: con sabores similares a jamón, carne seca, rancio, podrido o compost, indicando una calidad deficiente o deterioro del producto.

#### 1.8.4 Color

La Comisión Internacional de Iluminación (CIE) desarrolló un modelo cromático para representar todos los colores que puede percibir el ojo humano definió un espacio cromático mediante tres coordenadas: CIE XYZ, CIE L\*a\*b\* y CIE L\*C\*h°. Entre estos, el modelo CIE L\*a\*b\* es el más recomendado para mediciones de color en entornos industriales Rettig & Hen (2014). En la Figura 2 se presenta la gráfica del espacio CIE Lab.

#### Figura 2

*Representación Gráfica de los Parámetros de Color en la Escala CIE Lab.*



Fuente: Becerra et al. (2023)

De acuerdo con Becerra et al. (2023), el parámetro  $L^*$  o luminosidad con escala de grises va desde el negro ( $L^*=0$ ) hasta el blanco ( $L^*=100$ ). Por su parte, el parámetro  $a^*$  representa el rango de tonalidades desde verde a rojo, mientras que el parámetro  $b^*$  indica el rango de tonalidades desde azul a amarillo, así también el ángulo del matiz ( $h$ ) expresa la cantidad relativa de enrojecimiento y amarillez esta se representa en una cuadrícula de  $360^\circ$  donde  $0^\circ$  es rojo azulado,  $90^\circ$  es amarillo,  $180^\circ$  es verde y  $270^\circ$  es azul por otra parte, el croma ( $C$ ) representa la cantidad de color y se mide según la distancia al origen de coordenadas.

Putra et al., (2023) menciona que la temperatura de tostado afecta el valor del contenido de humedad, la acidez, la dureza y el color de los granos de cacao, mientras que el tiempo de tostado afecta la dureza de los granos de cacao. La dureza, el contenido de humedad, la luminosidad ( $L^*$ ) y la acidez (pH) de los granos de cacao disminuyeron al aumentar la temperatura y el tiempo de tostado. El enrojecimiento ( $a^*$ ), el color amarillento ( $b^*$ ), el croma ( $C^*$ ) y el tono ( $h$ ) aumentan proporcionalmente a la temperatura y la duración del tostado.

De acuerdo con Zyzelewicz et al. (2014), el color es una de las propiedades fisicoquímicas más críticas de los granos de cacao tostados, ya que tiene un impacto significativo en la calidad de los productos derivados de este ingrediente. Se prefiere un color marrón en lugar de uno rojo-violeta. Este parámetro depende de varios factores, incluyendo el contenido de polifenoles y antocianos, así como sus derivados, además de la presencia de productos resultantes de la reacción de Maillard por la temperatura y tiempo empleados en el tostado.

## **1.9 Calidad Sensorial**

De acuerdo con, INEN (2014) el análisis sensorial es la disciplina que se encarga de la valoración de los atributos que se perciben a través de los sentidos en un producto, es decir, se caracteriza y analiza la aceptación o rechazo en comparación con otros productos similar a determinado alimento por parte de un consumidor o catador de acuerdo con las sensaciones experimentadas como apariencia, olor, aroma, textura y sabor. La calidad sensorial del cacao se determina mediante un proceso que implica convertir las almendras tostadas en una pasta diluida, cuyos análisis incluyen la actividad antioxidante.

La degustación desempeña un papel fundamental en la identificación y medición de las características sensoriales del cacao, previo a la incorporación de ingredientes adicionales como azúcar, leche o manteca, los cuales forman parte de los productos finales diseñados para el consumo masivo. Durante esta evaluación, los sabores, como el cacao, la acidez, el amargor y la astringencia, se cuantifican a través de una escala. Además, este proceso permite detectar la presencia de sabores indeseables que podrían afectar la calidad final del producto, Jiménez et al. (2014).

### ***1.9.1 Análisis del Consumidor***

Conocido también como test hedónico, se trata de evaluar la aceptación de un producto, se realiza una comparación con otros productos similares. Se emplea un panel no entrenado con respuestas lo más espontáneas posibles. Para obtener resultados estadísticos aceptables se realizan encuestas a un grupo de 30 a 100 personas, acercándose a la media poblacional, así también se toma en cuenta que los participantes no tengan alergias alimentarias u otras afecciones médicas, también la disponibilidad para diferentes sesiones de acuerdo al número de muestras, Quintana & García (2021).

Para realizar la degustación de la pasta de cacao de acuerdo con las ISCQF (2017), se preparan muestras de licor de cacao sacándolas en recipientes estériles y llevándolas a temperatura ambiente. Se colocan 1,5 - 2,0 gramos en vasos de plástico etiquetados con números aleatorios de 3 a 4 dígitos evitando que comiencen con cero. Los vasos deben cerrarse herméticamente. Las muestras se calientan a 50 °C durante 15-20 minutos antes de la evaluación. Se recomienda probar un máximo de seis licores por sesión para evitar la fatiga de los panelistas.

Durante la degustación de licor de cacao, se coloca 1 gramo de licor derretido en una espátula y se lleva a la lengua durante 20 segundos. Se identifican tres etapas de sabor: inicial, media y final. Los panelistas deben estar atentos a la evolución de los sabores, ya que algunos son fugaces y otros persisten con regustos distintos. Posteriormente el panelista se encarga de registrar la intensidad de las características sensoriales percibidas de acuerdo a la escala en el formulario que se le facilita, siendo lo más honesto posible, ISCQF (2017) .

### ***1.9.2 Prueba de Perfil del Sabor***

Esta evaluación nos permite identificar los atributos perceptibles y determinar su secuencia de percepción. En la degustación, se registran el orden de presentación de las características y el orden en que el evaluador percibe, mientras se valora la intensidad de cada atributo. Este análisis se apoya en la premisa de que el sabor está compuesto por atributos tanto olfativos como gustativos, los cuales son perceptibles y pueden ser identificados. Además, existen atributos más complejos que no pueden ser desglosados o separados de forma individual, Quintana & García (2021).

Para llevar a cabo un análisis descriptivo, se requiere:

- a) Reconocer los atributos perceptibles.

- b) Establecer el orden en el que se perciben dichos atributos. Durante la degustación, se toma nota tanto del orden en que se presentan las características como del orden en que el evaluador las percibe.
- c) Evaluar la intensidad de cada propiedad. Existen diversas escalas para clasificar la intensidad de las características, y se utiliza aquella que sea más apropiada para el producto evaluado.
- d) Investigar el sabor residual o la permanencia, o ambos.
- e) Valorar la impresión global. Evaluar la impresión general implica realizar una evaluación global del producto, teniendo en cuenta la adecuación de sus aspectos olfativos y gustativos, su intensidad y la armonía percibida en el conjunto.

### **1.10 Métodos de determinación de actividad antioxidante**

Los procedimientos para medir la actividad antioxidante se centran en observar cómo un agente oxidante provoca daño oxidativo en un sustrato susceptible, y cómo dicho daño disminuye o se reduce cuando hay presencia de un antioxidante. La medida de esta reducción está directamente relacionada con la actividad antioxidante del compuesto o muestra analizada.

#### **1.10.1 Método ABTS+**

Según la metodología desarrollada por Re et al. (1999) el radical ABTS•+ se obtiene tras la reacción de ABTS (7mM) con persulfato potásico (2,45mM) incubados a temperatura ambiente ( $\pm 25^{\circ}\text{C}$ ) y en la oscuridad durante 16 h. Una vez formado el radical ABTS•+ se diluye con etanol hasta obtener una absorbancia entre 0,70 ( $\pm 0,1$ ) a 754nm. Las muestras filtradas se diluyen con etanol hasta que se produce una inhibición del 20 al 80%, en comparación con la absorbancia del blanco, tras añadir 20  $\mu\text{L}$  de la muestra. A 980  $\mu\text{L}$  de dilución del radical ABTS•+ así generado se le determina la A754 a 30°C, se añade 20  $\mu\text{L}$  de la muestra y se mide de nuevo la A754 pasado 1 minuto. La absorbancia se mide de forma continua después de 7 minutos. El antioxidante sintético de referencia, Trolox, se ensaya a una concentración de 0-15  $\mu\text{M}$  en etanol, en las mismas condiciones, lo que se hace también con ácido ascórbico (0-20

mg/100 mL). Los resultados se expresan en TEAC (actividad antioxidante equivalente a Trolox) y en VCEAC (actividad antioxidante equivalente a vitamina C), este último caso de alimentos.

### ***1.10.2 Método Poder Antioxidante Reductor Férrico (FRAP)***

De acuerdo con Zzaman & Al-din Sifat, (2023), el ensayo del Poder Antioxidante Reductor Férrico (FRAP) permite determinar el potencial antioxidante total del extracto de una muestra. En presencia de antioxidantes, la forma férrica del compuesto hierro-tripiridyl-triazina ( $\text{Fe}^{3+}$ -TPTZ) se reduce a la forma ferrosa ( $\text{Fe}^{2+}$ -TPTZ). El compuesto  $\text{Fe}^{2+}$ -TPTZ produce una coloración azul intensa con una absorción máxima de 593 nm, utilizando la técnica descrita por Benzie y Strain (1999). La contraparte ferrosa se utiliza para expresar la capacidad antioxidante del férrico (FRAP). Se construye una curva estándar utilizando una solución de  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  (100–1000  $\mu\text{M}$ ) y los resultados se representan como equivalentes ferrosos en  $\mu\text{M/g}$ .

## CAPÍTULO II

### MATERIALES Y MÉTODOS

#### 2.1 Caracterización del Área de Estudio

El desarrollo experimental de esta investigación se realizó en dos fases: Laboratorio y Campo a continuación, se describe cada una de ellas.

##### 2.1.1 Fase de Laboratorio

La investigación se desarrolló tanto en las Unidades Edu-productivas, que se encuentran en la parroquia El Sagrario, cantón Ibarra, provincia de Imbabura, como en el Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIAP), Estación Santa Catalina, ubicado en la ciudad de Quito, provincia de Pichincha. En la Tabla 4 según INAMHI (2020) se proporcionan los datos relacionados con las condiciones climáticas de estos sitios de estudio:

**Tabla 4**

*Condiciones Climatológicas de las Ciudades de Ibarra y Quito*

Condiciones climatológicas	U. Edu-productivas	INIAP
<b>Temperatura:</b>	17.7 °C	18.8 °C
<b>Altitud:</b>	2256 m.s.n.m.	3050 m.s.n.m.
<b>HR promedio:</b>	72%	76%
<b>Latitud:</b>	00°19'47'' Sur	00° 22' 00'' Sur
<b>Longitud:</b>	78°07'56'' Oeste	78° 33' 00'' Oeste
<b>Precipitación Anual Promedio:</b>	541.6 mm	1127.5 mm

Fuente: INAMHI (2020)

### 2.1.2 Fase de Campo

La investigación se realizó con materia prima e información de la zona de mayor producción de cacao de la provincia de Imbabura, siendo esta la parroquia rural de Lita específicamente en la “Asociación Integral para el Desarrollo de Productores Lita (APL)” situada a 95 km al noroccidente de Ibarra, en la Tabla 5 y Figura 3 se describen las condiciones climatológicas del lugar:

**Tabla 5.** Características climatológicas de Lita

Altitud:	571 m.s.n.m
Temperatura promedio:	21°
Humedad relativa promedio:	94%
Longitud:	78°28'1"O
Latitud:	0°52'29"N
Precipitación anual promedio:	3 355.2 mm

Fuente: INAMHI (2020)

### Figura 3

Zona de mayor producción en la provincia de Imbabura



Fuente: MAG (2018)

## 2.2 Equipos y Materiales

Los equipos y materiales que se emplearon en la fase de campo de esta investigación están detallados a continuación en las Tablas 6:

**Tabla 6**

*Materias, instrumentos y equipos de la fase de campo*

<b>Materia Prima</b>	<b>Materiales</b>	<b>Equipos</b>
Cacao CCN-51	Bandejas plásticas	Tostadora existente en las
Cacao Nacional	Balanza gramera	unidades edu-productivas de
	Fundas Ziploc	la carrera de la Agroindustrias
	Utensilios de cocina	
		Clasificadora APL
		Descascarilladora APL
		Molino de discos APL
		Congelador APL
		Balanza digital APL
		Medidor de humedad de APL

Los equipos, materiales y reactivos usados en la fase experimental de esta investigación se detallan a continuación de la Tabla 7:

**Tabla 7**

*Materiales, equipos y reactivos de laboratorio*

<b>Materiales de laboratorio</b>	<b>Equipos de laboratorio</b>	<b>Reactivos</b>
Papel filtro Whatman N°4	Plancha magnética HP 15R	Metanol grado reactivo 99.5%
Balones volumétricos de 100mL	Balanza analítica de precisión 0.1mg	Ácido Gálico Monohidratado
Embudos de vidrio para	Espectrofotómetro UV-VIS	Reactivo de Folin & Ciocalteu

<b>Materiales de laboratorio</b>	<b>Equipos de laboratorio</b>	<b>Reactivos</b>
filtración 12cm de diámetro	Shimadzu	
Agitadores magnéticos	Molino Retch Z200	Carbonato de Sodio 99.5%
Tubos de ensayo 15 mL	Tamiz de malla	Agua destilada
Micropipeta de 100 a 1000 uL	Congelador	Trolox: 6. hidroxy-2,5,7,8-tetramethylcroma-2-carboxylic acido
Puntas para micropipetas	Equipo Extractor Soxhlet de capacidad 250mL, con uniones esmeriladas	ABTS (3-ethylbenzoathiazoline-6-sulfonic acido) diamonium salt
Micropipetas 1000uL y 500uL	Estufa a 105 °C	Persulfato de Potasio $K_2S_2O_8$
Papel parafilm, papel aluminio y papel toalla	Estufa de aire forzado	Fosfato de sodio monobásico $NaH_2PO_4$ grado reactivo
Balos aforados de 25mL		Fosfato de sodio dibásico $Na_2H_2PO_4 \cdot H_2O$ grado reactivo
Vasos de precipitación		Hexano
Papel Whatman 0.45		
Frascos ámbar		
Probetas		
Tubos de ensayo de 10mL		
Matraz Erlenmeyer		
Tamiz de malla		
Estilete		
Brocha		
Algodón libre de grasa		
Papel filtro de 16cm de diámetro		
Dedal de extracción de celulosa de 33mm x 88mm		
Núcleo de ebullición de vidrio		

<b>Materiales de laboratorio</b>	<b>Equipos de laboratorio</b>	<b>Reactivos</b>
Balones de 250mL con uniones esmeriladas		
Espátula plástica		
Recipiente de aluminio para secar muestras		
Desecador de vidrio		

### **2.3 Descripción de la Metodología**

La metodología empleada en este análisis adopta un enfoque cuantitativo, basado en la disposición de un diseño experimental con una perspectiva objetiva hacia el problema en cuestión. La elección de esta metodología se justifica por la necesidad de respaldar los resultados a través de diversas técnicas, incluyendo el uso de herramientas estadísticas. Además, la investigación también abordó una exploración cualitativa de las características organolépticas presentes en la pasta de cacao.

Se formuló una hipótesis con el propósito de evaluar el impacto del estudio propuesto y se llevaron a cabo controles sobre los factores bajo investigación, analizando con precisión el problema desde sus fundamentos hasta su aplicación. A continuación, se detalla la metodología diseñada para abordar de manera objetiva la investigación, con el objetivo de brindar una respuesta a la hipótesis planteada.

#### ***2.3.1 Cuantificación de los Principales Compuestos Fenólicos Responsables de la Actividad Antioxidante en el Cacao.***

La materia prima que se empleó en el desarrollo del presente estudio fue cacao de las variedades CCN-51 y Fino de Aroma o Nacional procedentes de la parroquia de Lita, se receiptó las muestras previamente fermentadas y secadas, posteriormente se procedió a realizar una selección, esto con el fin de descartar muestras en mal estado o sin la humedad requerida (7-8 %)

que afectarían los resultados. A continuación, se cuantifico el contenido de polifenoles totales responsables de la actividad antioxidante en el cacao antes y después del tostado mediante el Método Folin-Ciocalteu Cros et al., (1982), descrito en el Anexo 1.

### ***2.3.2 Evaluación del Efecto de Tiempo y Temperatura de Tostado en las Variedades de Cacao Sobre la Actividad Antioxidante en la Pasta***

Tomando en consideración investigaciones previas, se ha observado que el tratamiento de tostado aplicado a altas temperaturas durante un periodo breve (HTST) muestra una capacidad superior para mantener la cantidad de polifenoles en comparación al tostado a temperaturas bajas durante periodos prolongados (LTLT) Rojas, Granados, et al. (2022), se plantea los factores en estudio descritos en la Tabla 8, además, la evaluación se realizó utilizando una muestra que previamente pasó por el proceso de fermentación y secado bajo condiciones controladas minimizando alteraciones, para posteriormente obtener la pasta en la cual se efectuó el análisis de la actividad antioxidante.

Se realizó el tostado siguiendo un esquema de diseño experimental factorial  $2^k$  que permite analizar eficientemente los efectos de dos factores en una respuesta, ya sea cuantitativa o cualitativa. Con este tipo de diseño, es posible identificar las interacciones entre los factores, lo que indica que los efectos de un factor pueden variar según los niveles del otro factor. Este enfoque experimental es utilizado cuando se estudian  $k$  factores, y cada uno de ellos solo puede adoptar dos niveles, según Fernández & Buenestado (2020). A continuación, se enlista el diseño experimental, los tratamientos con sus repeticiones y el total de unidades experimentales:

- **Diseño:** Factorial  $2^k$
- **Tratamientos:** 8
- **Repeticiones:** 3
- **Unidades experimentales:** 24

### 2.3.2.1 Factores de Estudio

A continuación, en la Tabla 8 se detallan los tres factores evaluados: Tiempo (A), Temperatura de tostado (B) y Variedades (C).

**Tabla 8**

*Factores en estudio*

<b>FACTOR A:</b> Tiempo de tostado	<b>FACTOR B:</b> Temperaturas de tostado	<b>FACTOR C:</b> Variedad
<b>A1:</b> 15 min	<b>B1:</b> 115 °C	<b>C1:</b> CCN 51
<b>A2:</b> 25 min	<b>B2:</b> 150 °C	<b>C2:</b> Nacional

### 2.3.2.2 Tamaño de Unidad Experimental

Se realizó un estudio de carga con el propósito de determinar el tamaño óptimo de la unidad experimental. Este análisis se centró en definir la cantidad apropiada de cacao para el proceso de tostado, asegurando la preservación óptima de los granos y logrando una uniformidad en el tostado final. Como resultado de este estudio, se estableció la cantidad de 1.2 kg de granos de cacao secos y fermentados para cada tratamiento, dando lugar a un total de 24 unidades experimentales y sumando un peso total de 28.8 kg para ambas variedades.

### 2.3.2.3 Combinaciones entre Tratamientos

En base a los factores de estudio mencionados en la Tabla 8, continuación en la Tabla 9 se presentan los tratamientos aplicados.

**Tabla 9***Combinación entre tratamientos*

Factores	Factor A	Factor B	Factor C
	Tiempo (min)	Temperatura (°C)	Variedad de cacao
T1	A1	B1	C1
T2	A1	B1	C2
T3	A1	B2	C1
T4	A1	B2	C2
T5	A2	B1	C1
T6	A2	B1	C2
T7	A2	B2	C1
T8	A2	B2	C2

#### 2.3.2.4 Análisis Estadístico

Se aplicaron pruebas específicas para verificar la normalidad y homogeneidad de los datos, Shapiro-Wilks y la Prueba F para igualdad de varianzas, respectivamente. Para los datos paramétricos, se aplicó el análisis de varianza (ADEVA), mientras que para los datos no paramétricos se empleó el método de Kruskal-Wallis. En casos de diferencias significativas se realizaron pruebas de Tukey al 5% y DMS para los factores. Las variables no paramétricas, como aroma, acidez, amargor, astringencia y aceptabilidad, fueron evaluadas mediante la prueba de Friedman al 5%. Se utilizó el software estadístico InfoStat y Excel para comparar los resultados y generar gráficos.

En la Tabla 10, se detalla el análisis de varianza (ADEVA) relativo a los tratamientos, factores e interacciones examinados en la presente investigación.

**Tabla 10***Modelo de ADEVA*

<b>Fuente de Variación</b>	<b>GL</b>
Total	23
Tratamientos	7
Variedad	1
Tiempo	1
Temperatura	1
Variedad*Tiempo	1
Variedad*Temperatura	1
Tiempo*Temperatura	1
Variedad*Tiempo*Temperatura	1
Error	16

### 2.3.2.5 Variables Evaluadas

La Tabla 11 muestra las medidas cuantitativas (ABTS) que se utilizaron para analizar la capacidad de la pasta de cacao para capturar los radicales libres generados y determinar su actividad antioxidante.

**Tabla 11***Variable- Actividad antioxidante*

<b>VARIABLES</b>	<b>Unidad</b>	<b>MÉTODOS DE ANÁLISIS</b>
Actividad antioxidante	$\mu\text{m Trolox/g}$	Método ABTS (Re et al., 1999)
Humedad	%	Estufa (INIAP MO-LSAIA-01.01)
Color	$L^*a^*b^*$	Colorímetro digital

### ***2.3.3 Determinación de los Atributos Sensoriales de Preferencia en la Pasta de Cacao***

Para esta investigación la metodología empleada fue lo que se conoce como test hedónico, el cual consiste en trabajar con evaluadores no entrenados quienes responderán si les agrada o no el producto, es decir, será una prueba básica de aceptación, de acuerdo con (Barda, 2006). Además se aplicó la prueba de perfil de sabor para determinar el orden en el cual estos atributos son percibidos, así también se registra el orden de presentación de las características en la degustación y el orden de percepción por parte del evaluador Quintana & García (2021). La correspondiente metodología referente a la evaluación de calidad sensorial en pasta de cacao se detalla a continuación:

#### **2.3.3.1 Pasos Para la Evaluación Sensorial de Pasta de Cacao**

Para iniciar la sesión, las muestras permanecieron en un baño maría manteniendo la pasta líquida. La prueba hedónica se realizó en la Universidad Técnica del Norte con la participación de 30 estudiantes, las muestras se colocaron en vasitos identificados con numeración aleatoria y acompañado de una cuchara para tomar la muestra. En la evaluación, el aroma y la acidez, amargor y astringencia fueron cuantificados utilizando una escala hedónica de 5 puntos. El valor 0 correspondió a la calificación "ausencia total", y el valor de 5 a la categoría "muy intensa".

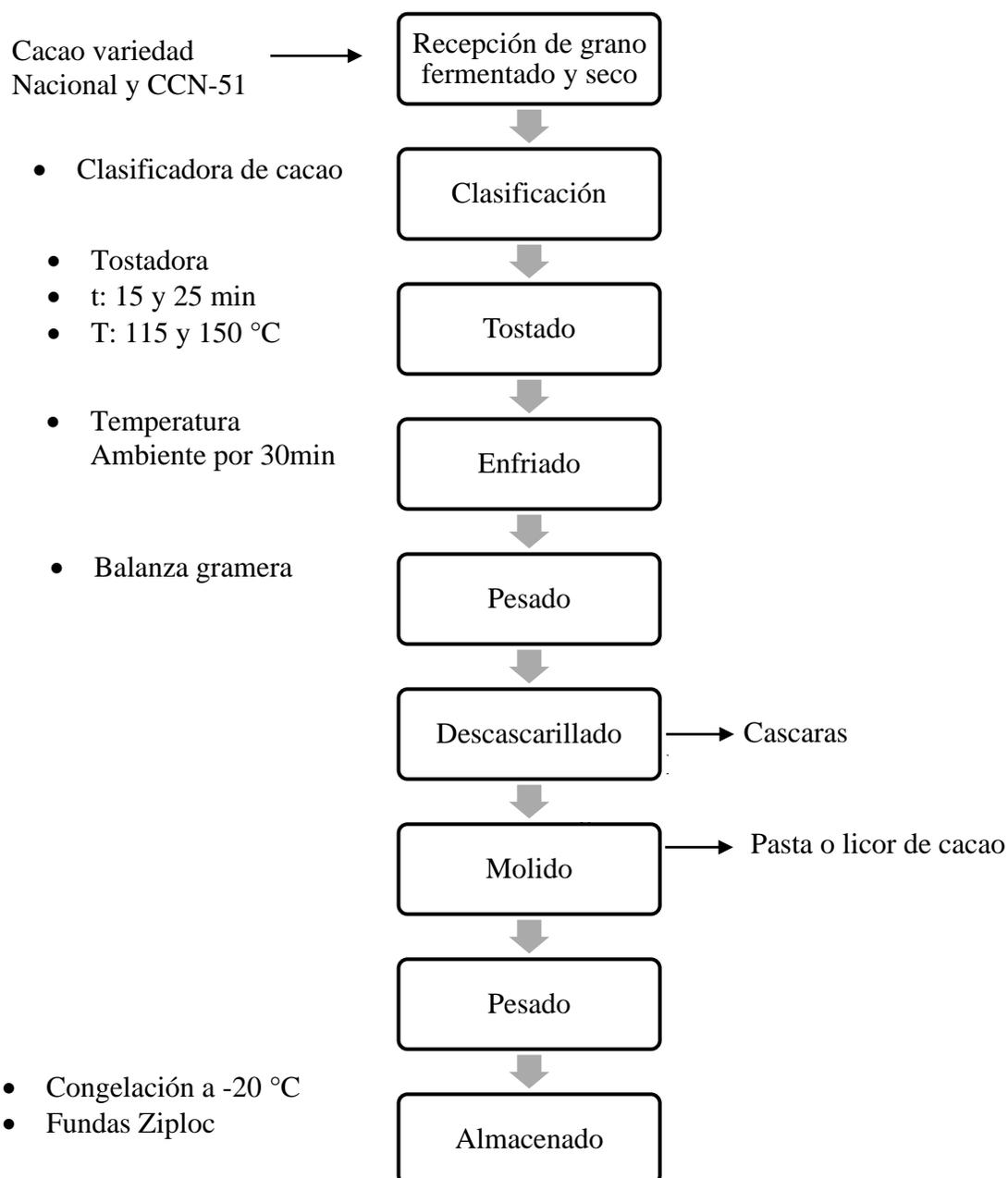
Los participantes vertieron la muestra de forma uniforme sobre la lengua y la mantuvieron en la boca durante 15 a 20 segundos, permitiendo la degustación del sabor. Durante este tiempo, inhalaban y exhalaban suavemente por la vía retronasal para facilitar la percepción de sabores y aromas. Probaron las cuatro muestras al mismo tiempo comparando los parámetros de evaluación. Posteriormente, tomaron una pausa para comer una galleta y beber agua, a fin de eliminar cualquier sabor residual y estar listos para degustar nuevamente de ser necesario. El formulario de evaluación se muestra en el Anexo 5.

## 2.4 Manejo Específico del Experimento

El proceso para obtención de pasta y los parámetros usados en el tostado se describe en el siguiente diagrama, Figura 4.

**Figura 4**

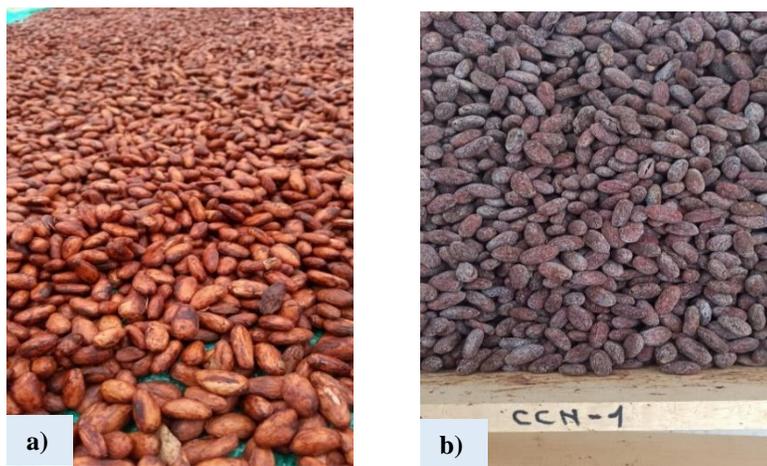
*Proceso de Obtención de Pasta de Cacao*



### 2.4.1 Descripción del Proceso

La etapa inicial en la obtención de la pasta involucró la recepción de la materia prima, en este caso granos de cacao que habían sido fermentados y secados previamente, provenientes de las variedades Nacional (Figura 5a) y CCN-51 (Figura 5b).

**Figura 5.** Variedades de cacao: a) CCN-51; b) Nacional o Fino de aroma



**Recepción:** en esta operación es necesario hacer un control de humedad ya que el grano debe estar entre 7 y 8%, esto se realizó con un medidor de humedad existente en APL, como muestra la Figura 6.

**Figura 6.** Medidor de humedad



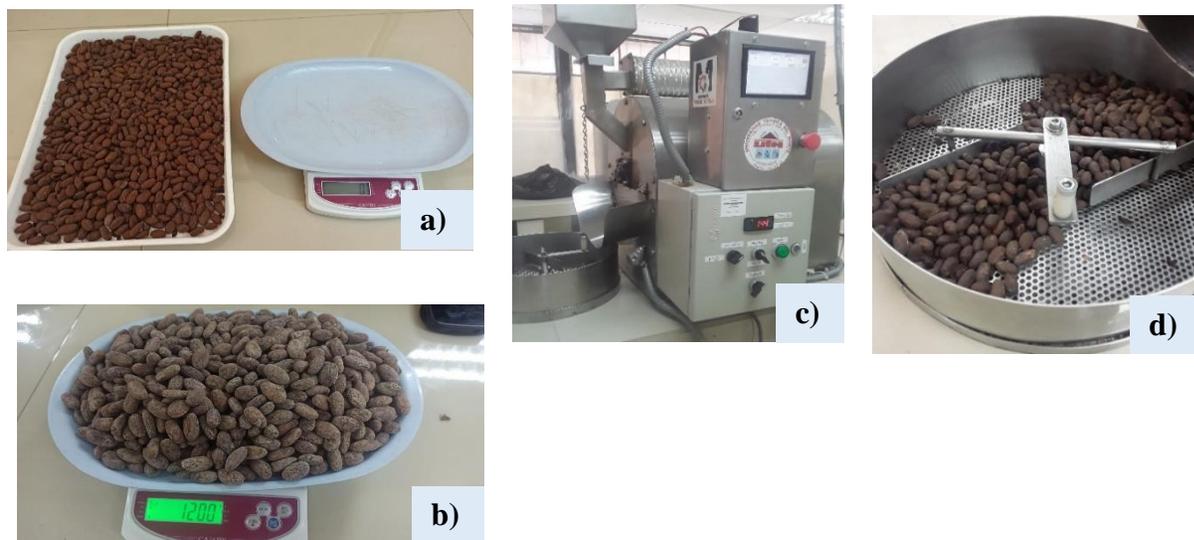
**Clasificación:** tras el proceso de fermentación y secado, las semillas de cacao se sometieron a un tamiz vibratorio de aire para eliminar cualquier impureza. Así mismo, se llevó a cabo una clasificación por tamaño utilizando cribas, dividiendo las semillas en tres niveles con las siguientes dimensiones: Nivel 1 - 1.8x3 cm, Nivel 2 - 1.5x3 cm, Nivel 3 - 0.7x3 cm. El equipo usado se muestra en la Figura 7.

**Figura 7.** *Clasificadora de granos de cacao*



**Tostado:** antes de llevar a cabo esta operación unitaria, se realizó un análisis exhaustivo de las capacidades del tostador en el laboratorio de las Unidades Eduproductivas de la Universidad Técnica del Norte. Esto se hizo para establecer el tamaño de la muestra y los parámetros operativos que garantizarían la integridad del grano y minimizarían las pérdidas. Después de completar el estudio, se definió una carga de 1200 g (Figura 8b) de muestra para cada unidad experimental, conforme a los parámetros establecidos en la Tabla 7. Las especificaciones del tostador incluyen características notables, como su alimentador manual, control de flujo de aire, barril giratorio, filtro de aire y gases. Es importante destacar que el modelo en cuestión está equipado con un sistema de control electrónico avanzado, diseñado para gestionar de manera precisa las temperaturas, los tiempos, las recetas y las distintas fases de trabajo, se puede visualizar en la Figura 8c.

**Figura 8.** *Proceso de tostado: a) Pesado de materia prima; b) Tamaño de muestra; c) Tostador; d) Grano tostado*



**Enfriado:** después de la fase de tostado, los granos fueron extendidos en bandejas de plástico para permitir un enfriamiento total (Figura 9a). Posteriormente, se pesó y almaceno en bolsas ziploc (Figura 9b), con el propósito de prevenir la absorción de humedad ambiental. Estas muestras se conservaron para ser utilizadas en el análisis de compuestos bioquímicos y en las pruebas de aceptación sensorial.

**Figura 9.** *Proceso de enfriado: a) Cacao enfriándose en bandejas; b) Muestras almacenadas*



**Descascarillado:** el cacao se colocó en la maquina descascarilladora que se puede observar en la Figura 10, de la cual por un lado se obtuvo nibs de cacao y por el otro cascaras o residuos.

**Figura 10.** *Descascarilladora*



**Molido y Almacenado:** se introdujeron los granos de cacao en el molino de discos (Figura 11b), con el propósito de molerlos hasta lograr una textura líquida, que se denomina licor o pasta de cacao (Figura 11a). Durante esta etapa, se libera la manteca de cacao y esta se funde debido al calor generado por la fricción en el disco del molino. Finalmente la pasta fue pesada y rotulada de acuerdo al requerimiento de tamaño de muestra que se pedía en el laboratorio y se colocó en fundas de polietileno o envases para ser almacenada en congelación a  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

**Figura 11.** *Proceso de molido: a) Temperatura de salida de la pasta: b) Pasta o licor de cacao*



## CAPÍTULO III

### RESULTADOS Y DISCUSIONES

El objetivo de este capítulo es exponer, examinar, valorar y comparar los resultados derivados de la investigación titulada "Evaluación de los efectos del tiempo y la temperatura en el proceso de tostado de dos variedades de cacao sobre la actividad antioxidante y las cualidades sensoriales en pasta". El propósito es determinar cómo los factores estudiados afectan las variables de respuesta significativas del proceso de tostado.

#### 3.1 Contenido de Polifenoles Totales

Las muestras de grano de cacao de las variedades Nacional y CCN-51, obtenidas de un proceso previo de fermentación y secado, fueron sometidas al tostado a condiciones definidas de temperatura y tiempo (115 °C; 150 °C y 15 min; 25 min), los componentes bioactivos determinados fueron: polifenoles totales y actividad antioxidante (método Folin-Ciocalteu y ABTS). En el caso de polifenoles, la Tabla 12 muestra los resultados, donde la variedad CCN-51 presenta un mayor contenido de polifenoles totales con relación a la variedad Nacional.

**Tabla 12**

*Polifenoles Totales en grano de cacao*

<b>Variedad de Cacao</b>	<b>Polifenoles Totales (mg Ac. Gálico/g)</b>
Nacional	61.42±0.52
CCN-51	96±0.62

Nota. Promedio±Desviación estándar

De acuerdo con Febrianto & Zhu (2022), la composición química de los granos de cacao puede ser directamente afectada por las condiciones ambientales, tales como: genotipo, origen geográfico, grado de madurez, fermentación, secado y nivel de procesamiento, que afectan al

contenido de polifenoles totales y actividad antioxidante del grano. Por otra parte, durante el proceso de tostado del grano de cacao, se ha notado una pérdida en los niveles de polifenoles y flavonoides, esto se debe principalmente a las altas temperaturas y a largos tiempos del tratamiento térmico, Zzaman & Al-din Sifat, (2023).

En los resultados de esta investigación se registró un contenido de polifenoles totales superior con relación a los encontrados por Urbańska & Kowalska, (2019), donde utilizó muestras de cacao ecuatoriano fermentado y seco, registrando un contenido de polifenoles totales de 25.42 mg Ac. Gálico/g. Además, los resultados de la variedad Nacional muestran estar dentro del rango de contenido de polifenoles totales de 34.67 a 100.05 mg Ac. Gálico/g, similar a los valores encontrados en la investigación realizada por Jiménez et al., (2014).

Mientras, Samaniego et al. (2020), analizaron muestras de cacao de la variedad Nacional recolectadas de 17 cantones tanto de la Costa Pacífica como de la región Amazónica y los datos variaron en el rango de  $33.55 \pm 5.74$  a  $71.66 \pm 3.94$  mg Ac. Gálico/g. Por otro lado, en la variedad CCN-51 los datos obtenidos están dentro del rango encontrado por Borja Fajardo et al. (2022) quienes reporta un contenido de  $44.51 \pm 0.90$  a  $106.77 \pm 5.21$  mg Ac. Gálico/g en polifenoles totales, es posible que tanto las condiciones climáticas como los genotipos contribuyan en estos resultados.

### **3.2 Actividad Antioxidante**

Antes de obtener la pasta de cacao, se evaluó la actividad antioxidante mediante el método ABTS+ en los granos previamente fermentados y secados, los resultados se pueden observar en la Tabla 13, donde se muestra una alta diferencia en la actividad antioxidante del cacao variedad CCN-51 con relación a la variedad Nacional, siendo la primera la que presenta niveles más altos.

**Tabla 13***Actividad Antioxidante en grano de cacao*

<b>Variedad de Cacao</b>	<b>Actividad Antioxidante (<math>\mu\text{m Trolox/g}</math>)</b>
Nacional	611.17 $\pm$ 1.21
CCN-51	777.69 $\pm$ 1.34

Nota. Promedio  $\pm$  Desviación estándar

De acuerdo con Tafurt et al. (2020), el tratamiento posterior a la recolección, que incluye la fermentación y el tostado, tiene un efecto conocido en las cantidades de polifenoles y metilxantinas, así como en la actividad antioxidante en el cacao. Estos procesos influyen de manera directa en la calidad del producto final. Así también, Días et al. (2023) menciona que la actividad antioxidante de los granos de cacao puede variar significativamente por factores genéticos, así como por una serie de otros factores, como ubicación geográfica de cultivo prácticas agronómicas y condiciones climáticas.

Los datos de actividad antioxidante alcanzados en este estudio resultan inferiores a los encontrados en la investigación de Tolentino et al. (2019) realizado en diferentes variedades de cacao de distintas localidades mediante el método ABTS+, ya que sus resultados oscilaron entre  $293.31 \pm 2.99$  y  $591.50 \pm 3.76 \mu\text{m Trolox/g}$  correspondientes a la variedad Criollo. Esto se debe a que tanto el contenido de polifenoles totales como la concentración de actividad antioxidante pueden experimentar variaciones como resultado de factores tales como las condiciones de cultivo, la ubicación geográfica de cultivo y la variedad específica utilizada.

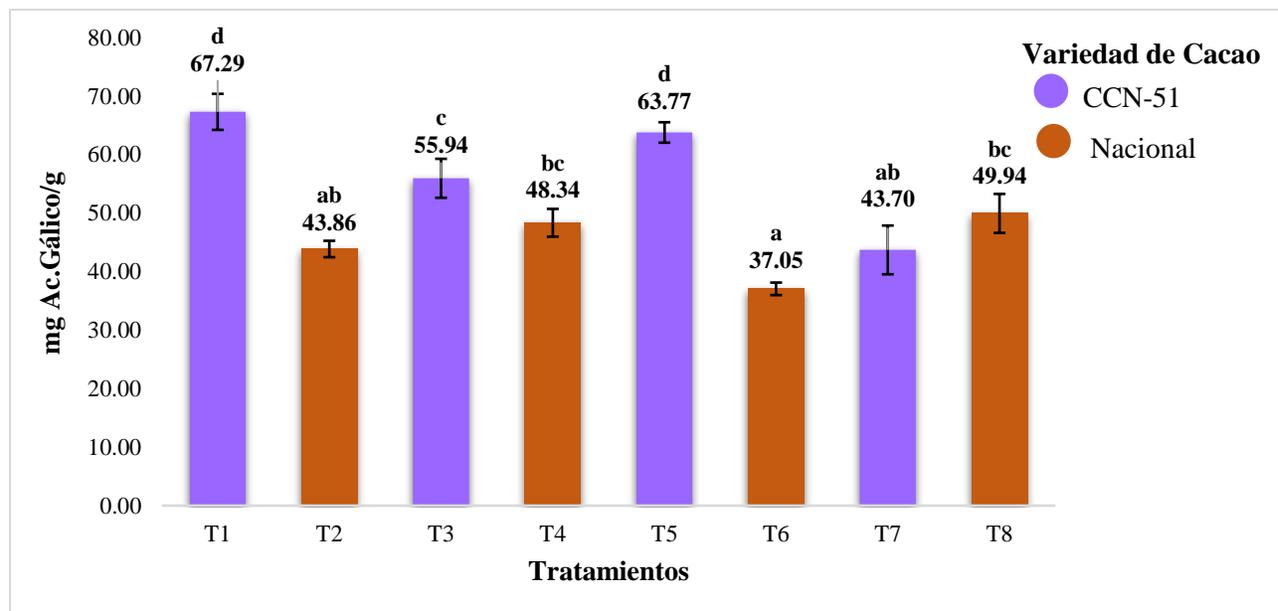
### 3.3 Compuestos Fenólicos en Pasta de Cacao

Por otra parte, el estudio realizado en pasta de cacao evaluó los efectos de ocho tratamientos de dos variedades de cacao tostadas bajo condiciones específicas de tiempo y temperatura (Tabla 8), los ocho tratamientos con sus repeticiones fueron evaluados bajo los compuestos bioactivos de interés: actividad antioxidante y polifenoles totales. Los resultados relacionados con las variables mencionadas anteriormente y su impacto en el proceso de tostado se describen a continuación.

En la Figura 12 se puede observar los resultados del análisis de polifenoles, donde el tratamiento T1 (variedad CCN-51, tostado a 115 °C por 15 min), presenta una mayor concentración de polifenoles, mientras que el tratamiento T6 (variedad Nacional, tostado a 115 °C por 25 min) se ve más afectado por los parámetros de tostado, con una diferencia bastante notable. Las medias obtenidas se expresan en mg Ac. Gálico/g.

**Figura 12**

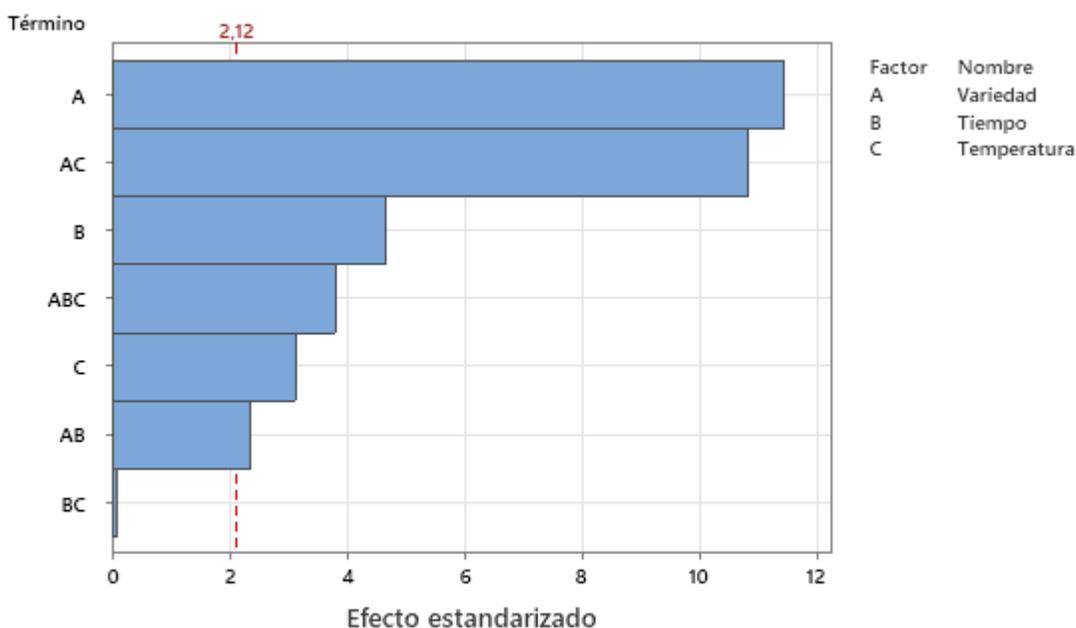
*Contenido de Polifenoles en Muestras de Cacao Fermentado, Seco y Tostado.*



Además, el análisis estadístico para los polifenoles totales (mg AG/g) se realizó mediante la prueba paramétrica de Análisis de Varianza (Anexo 2), debido a que el conjunto de datos evaluados cumplió con los requisitos de normalidad y homogeneidad. Seguidamente, en la Figura 13 se muestran los resultados del análisis (ADEVA) mediante un Diagrama de Pareto.

### Figura 13

*Diagrama de Pareto de los Factores de Estudio Sobre el Contenido de Polifenoles*



En la figura anterior, se puede observar de manera clara que el factor que tuvo el impacto más significativo en el contenido de polifenoles fue la Variedad, así como también se destaca la influencia de la interacción AC (Variedad\*Temperatura), el factor Tiempo, la interacción ABC (Variedad\* Tiempo\*Temperatura), el factor Temperatura y la interacción AB (Variedad\*Tiempo). Por otra parte, es muy claro que la interacción BC (Tiempo\*Temperatura) no tiene ningún efecto sobre el contenido de polifenoles.

Se realizó la prueba de Tukey al 5 % (Anexo 2) para los tratamientos, donde se clasificó la agrupación de medias en cuatro grupos (a, b, c, d) y se identificó al grupo “d” (T1: variedad

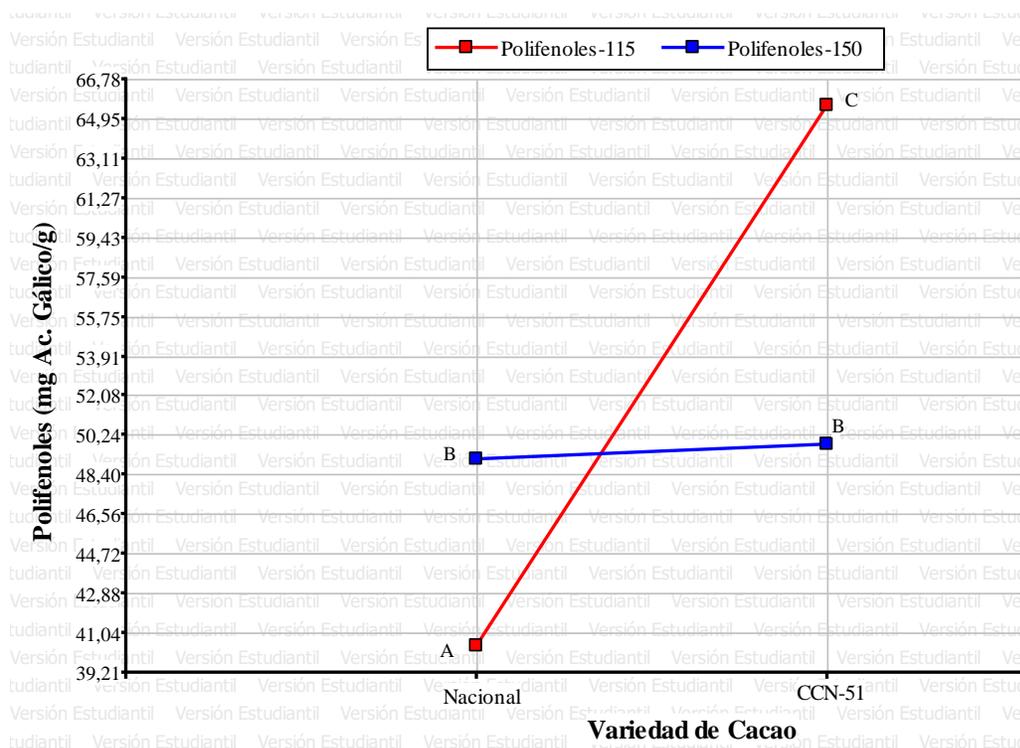
CCN-51, tostado a 115°C durante 15 minutos y T5: variedad CCN-51, tostado a 115°C durante 25 minutos) como el grupo que demostró una mayor concentración de polifenoles y al grupo “a” (T2: variedad Nacional, tostado a 115°C durante 15 minutos, T6: variedad Nacional, tostado a 115°C durante 25 minutos y T7: variedad CCN-51, tostado a 150°C durante 25 minutos) como el grupo de menor concentración de polifenoles totales a diferencia del resto.

En base a los resultados se observa que el factor variedad presenta diferencias significativas en el contenido de polifenoles totales, puesto que se puede determinar que los tiempos y temperaturas son los mismos en los tratamientos T1 en comparación con T2 y T5 en comparación con T6. Algo similar pasa en un estudio realizado por Borja Fajardo et al. (2022), el cual menciona que al evaluar cuatro clones de cacao junto al clon CCN-51 se encontró un contenido total de polifenoles que va desde  $44.51 \pm 0.90$  hasta  $106.77 \pm 5.21$  mg Ac. Gálico/g con diferencia significativa ( $p < 0,05$ ) entre los clones evaluados.

A continuación, para conocer la relación y diferencia en la interacción Variedad \*Temperatura, se realizó una gráfica que se muestra en la Figura 14.

**Figura 14**

*Interacción Variedad\*Temperatura con relación al contenido de polifenoles.*



Se observa una relación directa entre el factor de Variedad y Temperatura, la cual influye en la concentración de polifenoles. Además, se evidencia que la variedad de cacao ejerce la mayor influencia en el contenido de polifenoles. De esta manera, se confirma que la Variedad CCN-51 permite una mayor concentración de polifenoles durante el proceso de tostado, en comparación con los demás factores examinados. De acuerdo con Gil et al. (2021) un aumento de 115 °C a 135 °C en la temperatura de tostado disminuye el contenido de polifenoles en ~14 % y también reduce el contenido de flavonoides.

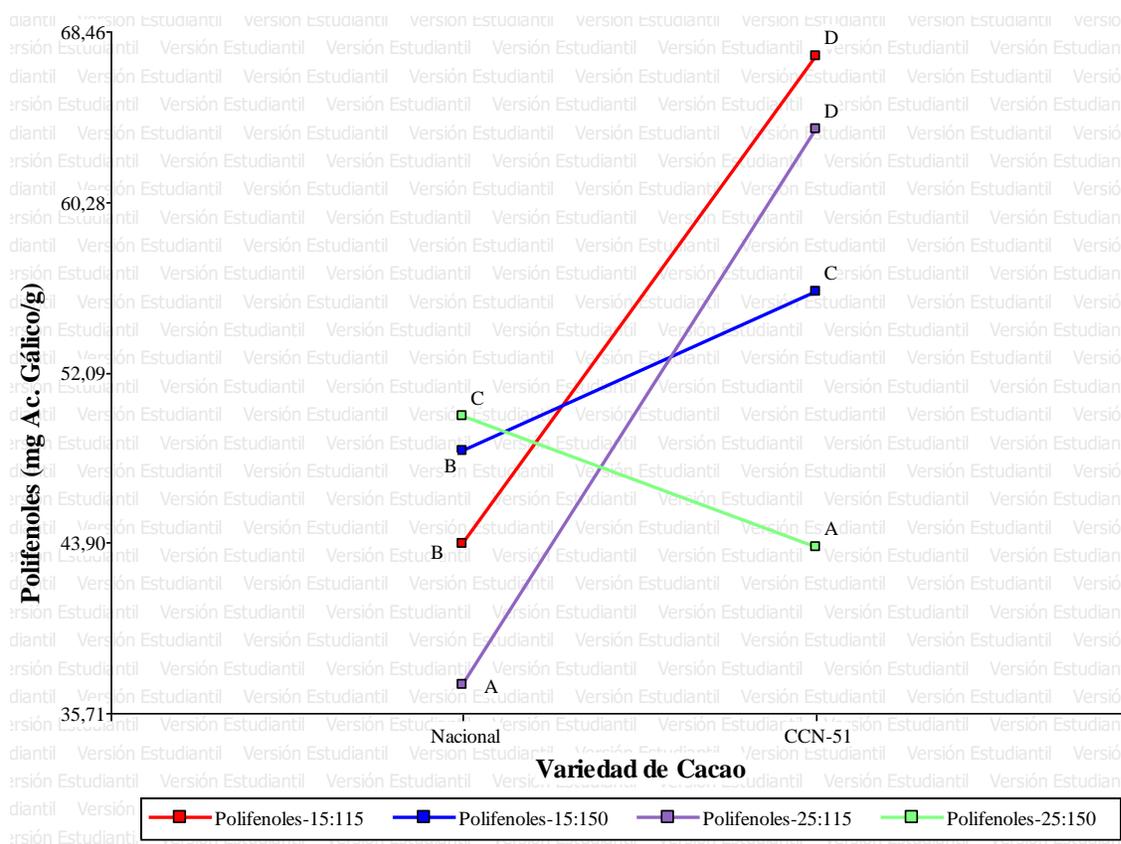
Zyzelewicz et al. (2014), mencionan en su estudio que la variedad de cacao es un factor importante para determinar la temperatura de tostado ya que las variedades nobles de cacao suelen ser sometidas a un proceso de tostado a temperaturas más bajas con el fin de preservar en mayor cantidad sus deseables componentes aromáticos. En el caso de la variedad Forastero, se

lleva a cabo un proceso de tostado en un rango de temperatura que oscila entre 130 y 150 °C, aunque se considera que 130 °C puede ser una temperatura demasiado baja para este propósito

De igual manera se realizó una gráfica para la interacción Variedad\*Tiempo\*Temperatura y se muestra en la Figura 15.

**Figura 15.**

*Interacción Variedad\*Tiempo\*Temperatura con relación al contenido de polifenoles.*



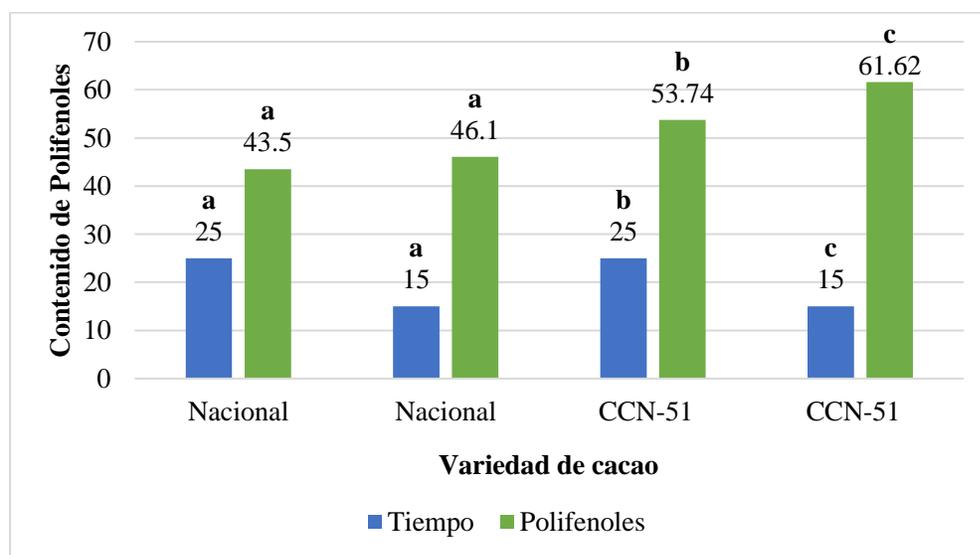
La gráfica nos muestra que existe una relación directa entre los factores tiempo, temperatura y variedad donde se evidencia que la variedad CCN-51 tostada a 115 °C por 15 minutos logro conservar una mayor concentración en el contenido de polifenoles totales. Estudios anteriores indican que el tostado a alta temperatura y tiempo corto (HTST) es más efectivo para preservar el contenido de polifenoles en comparación con el tostado a baja temperatura y tiempo largo (LTLT). Asimismo, Lemarc et al. (2020) indican que el tostado a 160

°C durante 30 min tiene un impacto negativo en el perfil fitoquímico, así mismo, Yang et al. (2022) mencionan que un tiempo de tostado de 10 a 20 minutos no produce una descomposición y sublimación significativa de sustancias químicas como la cafeína ni genera de manera apreciable la reacción de Maillard la ayuda a desarrollar características apreciables en productos como el chocolate. Por otra parte, al comparar el factor variedad es evidente que CCN-51 conserva más contenido de polifenoles que la variedad Nacional, aplicando las mismas temperaturas y tiempos.

Finalmente, en la Figura 16 se observa la prueba DMS para la interacción Variedad\*Tiempo que en la prueba ADEVA resulto con diferencia significativa.

**Figura 16**

*Prueba de Diferencia Mínima Significativa*

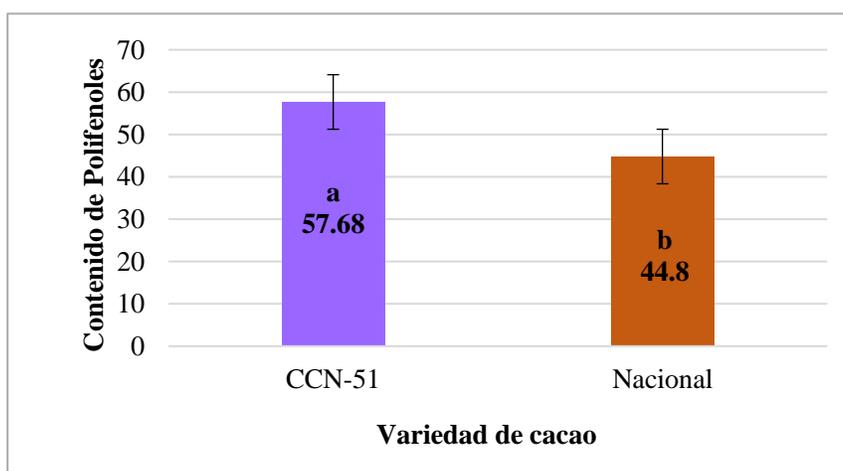


Se destacan notables diferencias tanto en los tiempos de tostado como en las variedades examinadas. Es evidente que un periodo de tostado de 25 minutos provoca una marcada disminución en la concentración total de polifenoles, afectando ambas variedades. De acuerdo con Lemarcq et al. (2020), se han identificado patrones de disminución en la calidad del cacao, especialmente en relación con el tostado convencional a altas temperaturas y tiempos

prolongados, lo cual contribuye hasta en un 67% a la reducción total de flavonoides. Por otro lado, al analizar un tiempo de tostado de 15 minutos en las dos variedades, se corrobora una vez más que la variedad CCN-51 exhibe una concentración más elevada de polifenoles en comparación con la variedad Nacional. La confirmación de una diferencia significativa en el factor de Variedad valida la hipótesis de que este factor influyó de manera notable en la concentración de polifenoles totales durante el proceso de tostado. En consecuencia, se llevó a cabo una prueba de DMS específicamente para el factor de variedad, los resultados se muestran en la Figura 17.

**Figura 17**

*Diferencia Mínima Significativa para Variedades Nacional y CCN-51*



La variedad CCN-51 muestra una mayor concentración de polifenoles según los valores medios obtenidos. Es relevante destacar el estudio realizado por Oracz, Zyzelewicz, et al. (2015), el cual señala que la concentración de compuestos fenólicos está principalmente determinada por factores genéticos y variedad de cacao. Asimismo, la investigación realizada por Urbańska & Kowalska (2019) concluye que el contenido de polifenoles depende de una variedad de factores, tales como el genotipo, variedad y región de cultivo de la materia prima, así como los procesos tecnológicos y parámetros utilizados.

En cuanto a los porcentajes, la variedad Nacional mostró una reducción del 27.06% en el contenido de polifenoles, mientras que la variedad CC-51 experimentó una disminución del 39.92%. Estos valores son inferiores a los mencionados en el estudio de Zzaman & Al-din Sifat, (2023), donde se observó que el tostado tradicional de los granos de cacao llevó a una reducción del contenido de fenoles en un rango del 32.63% (para los granos de cacao de Arriba) al 54.74% (para los granos de cacao de Ghana), estos datos sugieren que el factor variedad sigue influyente.

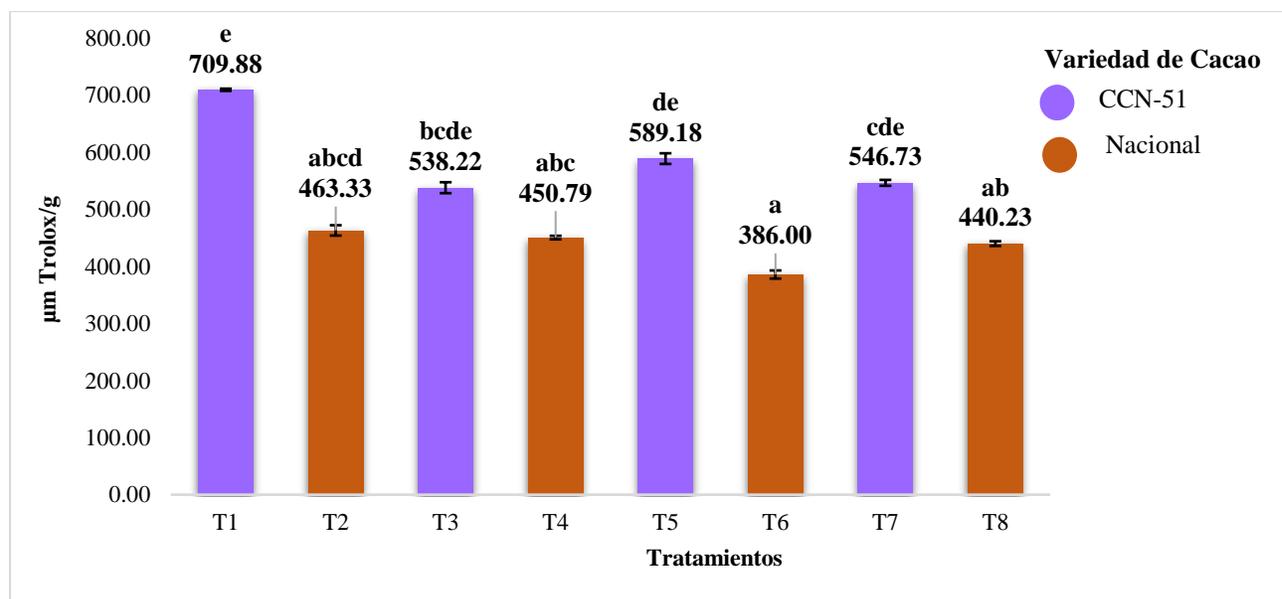
En un estudio realizado por Perea-Villamil et al. (2010) se menciona que existe una conexión fundamental entre la cantidad de polifenoles y la actividad antioxidante; no obstante, estas características se ven alteradas por el proceso de transformación del grano, sobre todo durante la etapa de tostado. Durante esta fase, se produce una disminución de aproximadamente el 23% en los niveles de polifenoles y actividad antioxidante en relación con la materia prima sin tratar, estas pérdidas tienen relación principalmente con el proceso de obtención de pasta empezando por las temperaturas y tiempo de tostado.

### **3.4 Efecto de Tiempo y Temperatura de Tostado en las Variedades de Cacao Sobre la Actividad Antioxidante en la Pasta**

El estudio de actividad antioxidante se realizó en pasta de cacao y seguidamente en la Figura 18, se muestran los resultados de esta investigación, las medias conseguidas se presentan en unidades equivalentes a  $\mu\text{m Trolox/g}$ , es evidente que el T1 resultó con mayor contenido de actividad antioxidante en relación a los demás tratamientos.

**Figura 18**

*Actividad Antioxidante en muestra de cacao fermentado, secado y tostado*



La figura anterior muestra una disminución en la actividad antioxidante al comparar los tratamientos aplicados en este estudio con el cacao sin procesar. Esto se atribuye a los cambios químicos durante las etapas de postcosecha. Empezando por el proceso de fermentación, en el cual se reduce amargor y astringencia de los granos de cacao, por la disminución del contenido fenólico causada por la enzima polifenol oxidasa. Además, las reacciones microbianas que tienen lugar en la pulpa provocan cambios bioquímicos, alterando la composición fenólica y otros compuestos bioactivos, Cortez et al. (2023).

En la etapa de secado, los flavonoles simples se degradan debido a la enzima polifenol oxidasa y a la migración en la eliminación del agua, Gil et al. (2021). Finalmente, el tostado afecta los polifenoles, en particular los flavonoides y las catequinas. Altas temperaturas y largos periodos de tostado conllevan un sabor amargo, por de la formación de compuestos insolubles entre los flavonoides y las proteínas, péptidos, polisacáridos y productos de la Reacción de

Maillard. Asimismo, el tostado promueve la conversión de la (-)-epicatequina en (+)-catequina mediante la epimerización Gil et al. (2021).

Los resultados de esta investigación resultaron superiores en la variedad CCN-51 en comparación con el estudio de Tolentino et al. (2019) donde se menciona que el mayor contenido de actividad antioxidante por la prueba ABTS en pasta de cacao fue en la variedad Criollo con un valor de  $412.34 \pm 2.26 \mu\text{m Trolox/g}$ . Por otra parte, el análisis estadístico para actividad antioxidante ( $\mu\text{m Trolox/g}$ ) en pasta se realizó mediante la prueba no paramétrica de Kruskal Wallis (Tabla 14), ya a que el conjunto de datos evaluados no cumplió con los requisitos de normalidad y homogeneidad (p-valor inferior al 5%).

**Tabla 14**

*Prueba de Kruskal Wallis para Capacidad Antioxidante.*

<b>Tratamientos</b>	<b>N</b>	<b>Medias</b>	<b>D.E.</b>	<b>H</b>	<b>p</b>
T1	3	709.88	1.94	22.49	0.0021
T2	3	463.33	9.07		
T3	3	538.22	9.57		
T4	3	450.79	3.09		
T5	3	589.18	9.38		
T6	3	386	7.13		
T7	3	546.73	5.14		
T8	3	440.23	4.09		

Nota: Al menos uno de los tratamientos es diferente al resto, ya que el p-valor es menor a 0.05.

Mediante la prueba de Rangos (Anexo 2) se pueden diferenciar cinco grupos (a, b, c, d, e) de los cuales se puede identificar el grupo “e” donde se encuentra el tratamiento T1 (variedad CCN-51, tostado a  $115^{\circ}\text{C}$  por 15 min) como el grupo que tiene mayor capacidad antioxidante, así también, se determina el grupo “a” donde se encuentra el tratamiento T6 (variedad Nacional tostado a  $115^{\circ}\text{C}$  durante 25 minutos) como el grupo que tiene menor capacidad antioxidante.

Para los factores de Tiempo, Temperatura y Variedad, se aplicó la prueba de Kruskal-Wallis, cuyos resultados se presentan en la Tabla 15.

**Tabla 15**

*Prueba de Kruskal Wallis para Capacidad antioxidante.*

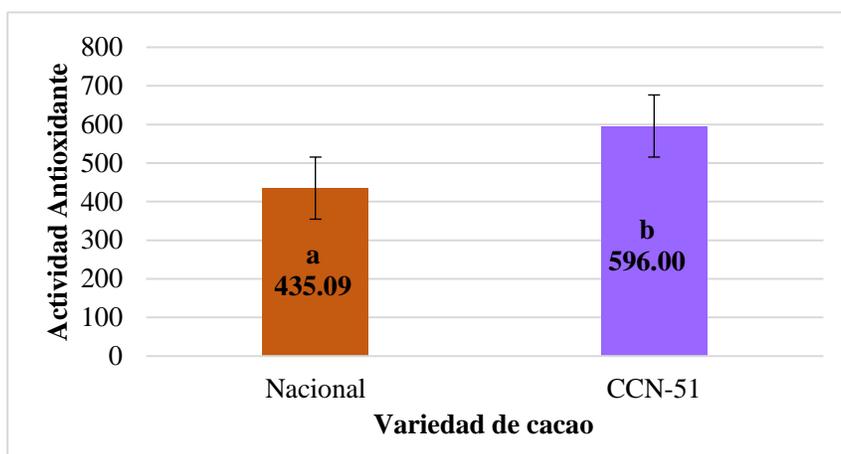
<b>Factores</b>		<b>Medias</b>	<b>D.E.</b>	<b>H</b>	<b>p</b>	<b>Sign</b>
Variedad	CCN-51	596.00	71.83	17.28	<0.0001	*
	Nacional	435.09	31.27			
Temperatura	115	537.10	128.97	1.08	0.2987	ns
	150	493.99	51.14			
Tiempo	15	540.55	108.07	1.33	0.2482	ns
	25	490.54	84.96			

Nota: \*Significativo. \*\*Altamente Significativo. ns: No significativo

Se encontró diferencia significativa en el factor Variedad, esto indica que el contenido de actividad antioxidante durante el proceso de tostado fue afectado por el mismo. De acuerdo con Moreno-Rojas et al. (2023), la variedad de cacao tiene impacto significativo en composición de proteínas, polisacáridos y polifenoles presentes en los granos. Influye en la formación de los precursores volátiles que contribuyen a los sabores y aromas característicos del cacao durante las fases de fermentación y secado. Se realizó una prueba DMS en los niveles del factor Variedad, y se muestran a detalle en la Figura 19.

**Figura 19**

*Prueba DMS de los niveles del factor Variedad en Actividad Antioxidante.*



La prueba DMS de los niveles del factor "Variedad" indicó que la variedad CCN-51 conservar de manera más efectiva el contenido de actividad antioxidante durante el tostado. De acuerdo con Gil et al. (2021), la actividad antioxidante, se ve afectada por la variedad de cacao. Las variedades como Forastero presentan mayor concentración de polifenoles en comparación con la variedad Criollo, que tiene un bajo contenido de antocianinas. Además, se reporta que esta variedad contiene menos catequinas al comparar con las variedades Lower Amazon Forastero, Upper Amazon Forastero, Nacional y Trinitario.

Por otra parte, de acuerdo Gil et al. (2021) quienes cita a Elwers et al., (2009), en su estudio concluyen que no se encontraron diferencias determinadas genéticamente en las cantidades de compuestos bioactivos responsables de la capacidad antioxidante. Por el contrario, encontraron que la fertilización del suelo puede contribuir a que las semillas de cacao presenten cantidades significativamente menores de polifenoles totales, flavan-3-oles y antocianinas, pero mayores cantidades de aspartato de ácido cafeico que las de los lugares que no han sido fertilizados.

En términos de porcentaje, la variedad Nacional sufrió una reducción del contenido de actividad antioxidante en un 28.81%, mientras que la variedad CC-51 experimentó una disminución del 23.36%, estos porcentajes resultan similares al estudio de Perea-Villamil et al. (2010), donde la fermentación, tostado y molienda disminuyó un 24% la actividad antioxidante. Así también Gil et al. (2021) señalan que el contenido de polifenoles totales, que desempeñan un papel fundamental en la actividad antioxidante, se reduce a medida que se transforma el cacao para obtener los distintos derivados.

A continuación, en la Tabla 16, se muestra un resumen de las variables en estudio por tratamientos.

**Tabla 16**

*Resumen de las Propiedades Funcionales en Pasta de Cacao*

<b>Tratamientos</b>	<b>Polifenoles Totales</b>	<b>Actividad Antioxidante</b>
T1	67.29±3.08 <b>d</b>	709.88±1.94 <b>e</b>
T2	43.86±1.40 <b>ab</b>	463.33±9.07 <b>abcd</b>
T3	55.94±3.33 <b>c</b>	538.22±9.57 <b>bcde</b>
T4	48.34±2.37 <b>bc</b>	450.79±3.09 <b>abc</b>
T5	63.77±1.75 <b>d</b>	589.18±9.38 <b>de</b>
T6	37.05±1.07 <b>a</b>	386.00±7.13 <b>a</b>
T7	43.70±4.17 <b>ab</b>	546.73±5.14 <b>cde</b>
T8	49.94±3.33 <b>bc</b>	440.23±4.09 <b>ab</b>
CV (%)	5.38	1.32

Medias ± desviación estándar.

T1: CCN-51, a 115 °C por 15 min; T2: Nacional, a 115 °C por 15 min; T3: CCN-51, a 150 °C por 15 min; T4: Nacional, a 150 °C por 15 min; T5: CCN-51, a 115 °C por 25 min; T6: Nacional, a 115 °C por 25 min; T7: CCN-51, a 150 °C por 25 min; T8: CCN-51, a 150 °C por 25 min

Se resalta que el tratamiento T1 presenta un contenido mayor de polifenoles totales y una concentración significativa de capacidad antioxidante. Al analizar todos los factores, se observa que este desempeño se debe a la variedad aplicada en dicho tratamiento. Además, la

combinación específica de temperatura y tiempo de tostado contribuyó positivamente a este resultado. Cabe destacar que el coeficiente de variación es menor al 10%, lo cual indica una confiabilidad y precisión adecuadas en los experimentos, tanto en Polifenoles Totales como en Actividad Antioxidante.

### 3.5 Colorimetría

Los resultados de la medición de color se expresan en los parámetros CIELab ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ). De acuerdo con Becerra et al. (2023), el parámetro  $L^*$  se refiere a la luminosidad de la muestra, con un valor de escala de grises que va desde el negro ( $L^*=0$ ) hasta el blanco ( $L^*=100$ ). Por su parte, el parámetro  $a^*$  representa el rango de tonalidades desde el verde hasta el rojo, mientras que el parámetro  $b^*$  indica el rango de tonalidades desde el azul hasta el amarillo. Se realizaron tres mediciones para cada tratamiento, y los resultados se presentan en la Tabla 17, mostrando la media y la desviación estándar.

**Tabla 17**

*Resultados de Color en Pasta de Cacao*

	$L^*$	$a^*$	$b^*$	C	h
<b>T1</b>	32.44±0.60 <sup>b</sup>	0.73±0.06 <sup>a</sup>	12.73±0.16 <sup>a</sup>	12.95±0.25 <sup>a</sup>	80.74±2.77 <sup>a</sup>
<b>T2</b>	30.95±0.10 <sup>ab</sup>	0.69±0.07 <sup>a</sup>	12.53±0.03 <sup>a</sup>	12.54±0.04 <sup>a</sup>	86.85±0.29 <sup>ab</sup>
<b>T3</b>	30.82±0.13 <sup>a</sup>	0.57±0.03 <sup>a</sup>	12.45±0.09 <sup>a</sup>	12.46±0.09 <sup>a</sup>	87.37±0.13 <sup>b</sup>
<b>T4</b>	30.77±0.25 <sup>a</sup>	0.58±0.08 <sup>a</sup>	12.40±0.12 <sup>a</sup>	12.42±0.12 <sup>a</sup>	87.32±0.37 <sup>b</sup>
<b>T5</b>	31.00±0.18 <sup>ab</sup>	0.71±0.12 <sup>a</sup>	12.45±0.06 <sup>a</sup>	12.47±0.06 <sup>a</sup>	86.75±0.54 <sup>ab</sup>
<b>T6</b>	30.98±0.41 <sup>ab</sup>	0.66±0.12 <sup>a</sup>	12.39±0.09 <sup>a</sup>	12.41±0.10 <sup>a</sup>	86.94±0.53 <sup>ab</sup>
<b>T7</b>	31.08±0.20 <sup>ab</sup>	0.81±0.15 <sup>a</sup>	12.63±0.16 <sup>a</sup>	12.65±0.17 <sup>a</sup>	86.32±0.62 <sup>ab</sup>
<b>T8</b>	31.07±0.35 <sup>ab</sup>	0.70±0.13 <sup>a</sup>	12.52±0.13 <sup>a</sup>	12.54±0.14 <sup>a</sup>	86.84±0.55 <sup>ab</sup>

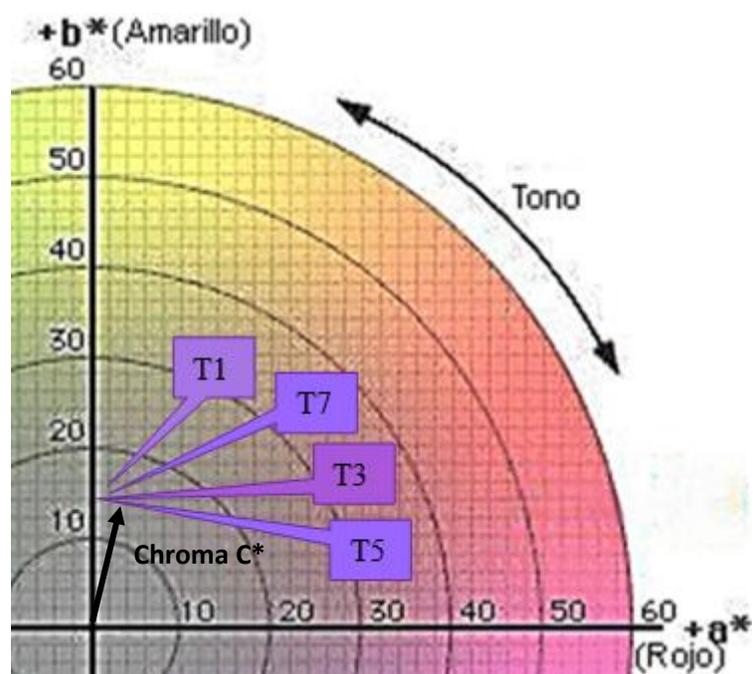
Nota. Promedio ± Desviación estándar

En los datos anteriores se puede observar que el parámetro  $L^*$  está en el rango de 30.77 - 32.44. El análisis de significancia ADEVA (Anexo 4) muestra que los valores de luminosidad no responden a las variables Variedad, Tiempo y Temperatura, sin embargo, al realizar la prueba Tukey al 5% (Anexo 4) se evidencia una diferencia significativa en la interacción Variedad\*Tiempo\*Temperatura. Putra et al. (2023) mencionan que la duración del tostado en el cacao impacta negativamente en la luminosidad ( $L^*$ ), ya que a temperaturas altas y con mayor tiempo, el cacao se vuelve más oscuro.

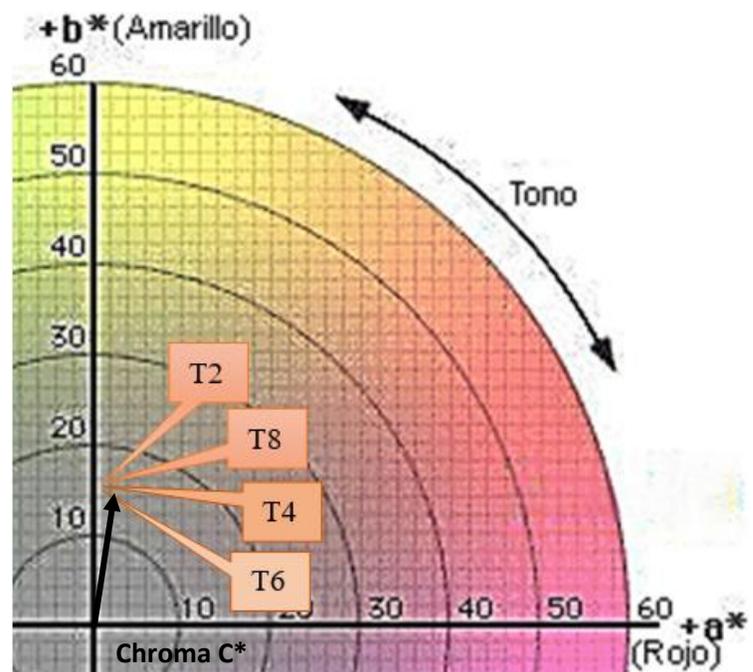
En términos de tratamientos T1 (variedad CCN-51, tostado a 115 °C por 15 min) presentó mayor luminosidad con un valor de  $32.44 \pm 0.60$ , mientras que los tratamientos T3 (variedad CCN-51, tostado a 150 °C durante 15 minutos) y T4 (variedad Nacional, tostado a 150 °C durante 15 minutos) presentaron los valores más bajos, es decir que estas muestras presentaron menor luminosidad. Este fenómeno podría atribuirse a la aplicación de una temperatura de tostado más elevada en estos casos. A continuación, en las Figuras 20 y 21 se presentan los tratamientos dentro de un diagrama CIELab.

**Figura 20**

*Diagrama CIELab Variedad CCN-51*



**Figura 21.** *Diagrama CIELab Variedad Nacional*



Con respecto al parámetro matiz (h) denominado también como tono, tinte, color, “hue”, Rettig & Hen (2014) sugiere que, se distingue por la longitud de onda de la radiación, lo que genera la variación entre colores. Esto se refleja en un espacio dentro del diagrama de cromaticidad. Los datos obtenidos al calcular dicho parámetro están entre 87.37 y 80.74 lo cual sugiere coloraciones hacia tonos rojo-naranja, adicional, en el ADEVA resulto ser significativo, de acuerdo con Putra et al. (2023) el tono (h) aumenta en presencia de temperaturas altas y tiempos prolongados de tostado.

En términos de tratamientos al realizar la prueba Tukey arrojó que T3 (variedad CCN-51, tostado a 150 °C durante 15 minutos) y T4 (variedad Nacional, tostado a 150 °C durante 15 minutos) presentan valores más altos en (h), mientras que, T1 (variedad CCN-51, tostado a 115 °C durante 15 minutos) presenta el valor más bajo, de acuerdo con Zyzelewicz et al. (2014) , un tostado prolongado puede afectar negativamente el color del producto final debido a la pérdida de pigmentos marrones por la quema de los granos de cacao o la formación de sustancias insolubles en agua debido a la polimerización de estos pigmentos.

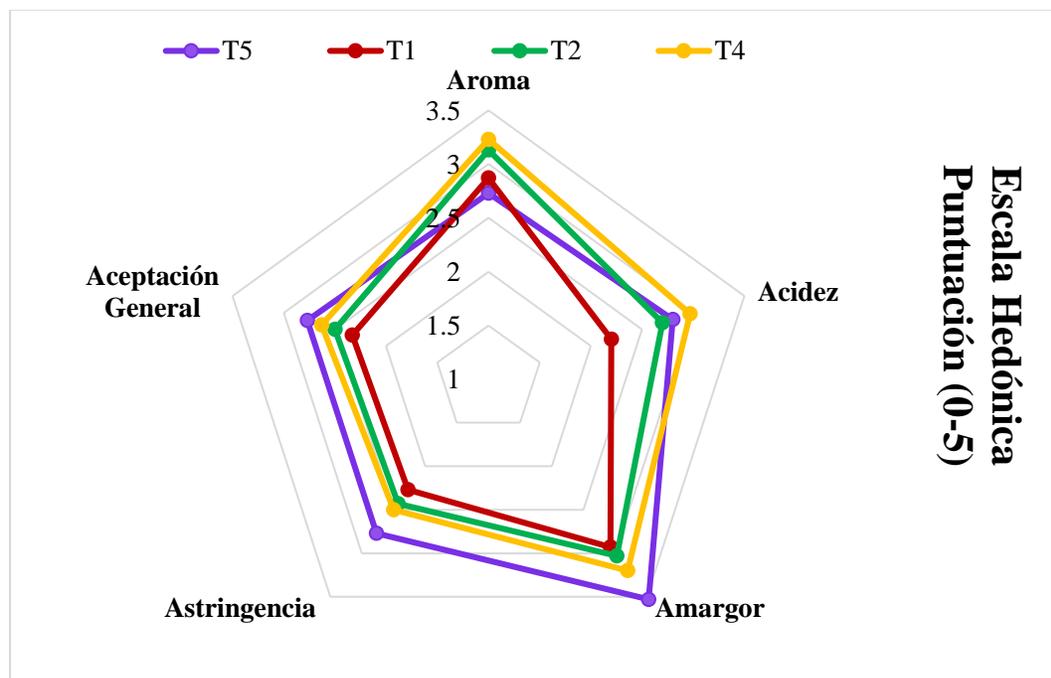
### **3.6 Determinar los Atributos Sensoriales de Preferencia en la Pasta de Cacao.**

Se evaluaron los atributos sensoriales en pasta de cacao, incluyendo su aroma, acidez, amargor, astringencia y aceptación general. Para este análisis, fueron seleccionados dos tratamientos de la variedad CCN-51 y dos tratamientos de la variedad Nacional es decir un total de cuatro muestras analizadas. Para este estudio se formó un panel no entrenado de 30 personas, a quienes se les administró un test diseñado específicamente para este propósito (Anexo 5). A partir de los resultados del test, se determinaron los valores promedio de cada atributo sensorial y se llevó a cabo la prueba de Friedman con un nivel de significancia del 5%.

La Figura 22 muestra los promedios de puntuación hedónica (en una escala de 0 a 5) para diferentes características sensoriales, como aroma, acidez, amargor, astringencia y aceptación general, evaluadas por los panelistas.

### Figura 22

*Representación gráfica de la preferencia en pasta de cacao.*



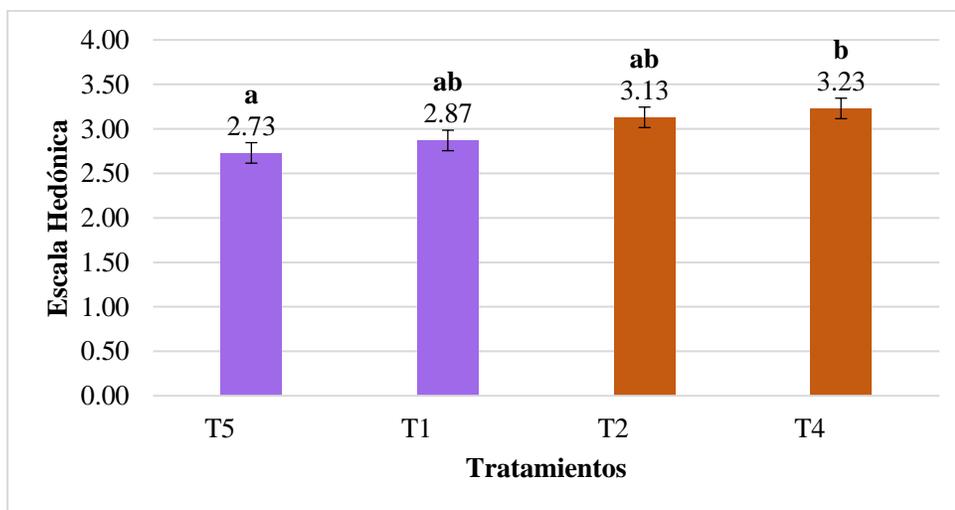
Las líneas de tendencia en el gráfico representan las medias de estas características y nos permiten observar la relación entre cada tratamiento. Es importante resaltar que el tratamiento T5 (variedad CCN-51, tostado a 115 °C durante 25 minutos) obtuvo la puntuación más alta en amargor, astringencia y aceptación general, superando a los demás tratamientos. Por otro lado, en cuanto a aroma y acidez, T4 (variedad Nacional, tostado a 150 °C durante 15 minutos) recibió la puntuación más alta. Con el propósito de lograr una comprensión clara de la percepción en cada tratamiento, se examinaron las calificaciones promedio otorgadas por los panelistas para cada característica sensorial.

### 3.6.1 Aroma

En la Figura 23 se muestran los resultados del análisis sensorial realizado para evaluar la característica del aroma en las muestras de pasta de cacao. Se aplicó la prueba Friedman para el análisis estadístico el cual reveló la existencia de diferencias mínimas significativas entre los tratamientos T5 (variedad CCN-51, tostado a 115 °C durante 25 minutos) y T4 (variedad Nacional, tostado a 150 °C durante 15 minutos). Sin embargo, no se encontraron diferencias significativas en los demás tratamientos.

**Figura 23**

*Preferencia de Aroma en pasta de cacao.*



En la gráfica anterior se observa que, el tratamiento T4 obtuvo mayor puntuación, esto quiere decir que, fue más perceptible para los catadores, en la característica de aroma este corresponde a la variedad Nacional, el dato obtenido tras el test hedónico concuerda con investigaciones en las cuales esta variedad destaca por su aroma bastante característico, Colonges et al. (2022) mencionan que Nacional es una variedad de árbol de cacao conocida por su aroma "Arriba" caracterizado principalmente por notas aromáticas frutales, florales y especiadas.

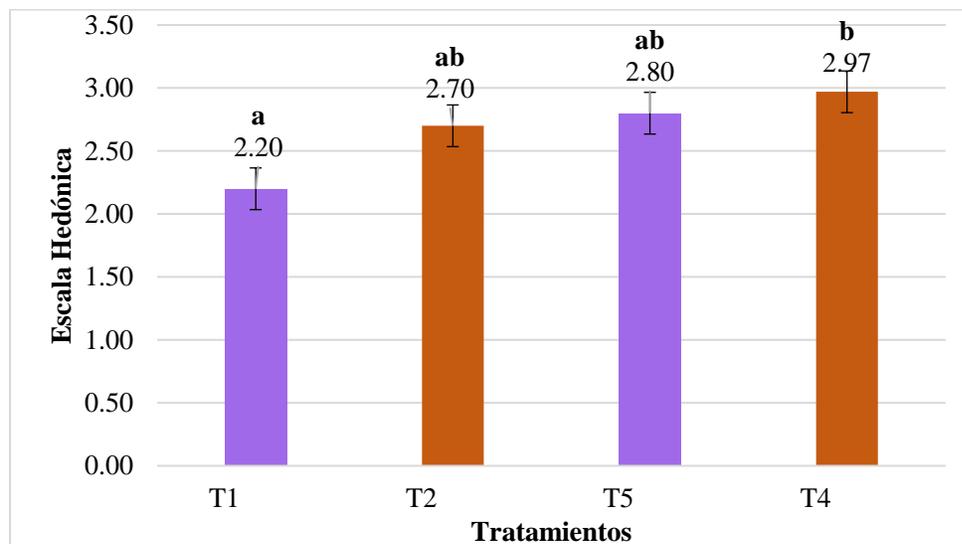
De acuerdo con Colonges et al. (2022), el cacao se clasifica en dos tipos de productos: el llamado estándar o a granel, que tiene un sabor a cacao pronunciado, y el llamado fino aromático, que se caracteriza por notas florales y afrutadas, la variedad Nacional se encuentra dentro de esta categoría gracias sus características cotizadas por los chocolateros. El tostado tiene influencia significativa en el desarrollo de aromas, de acuerdo con Velásquez-Reyes et al. (2023), la reacción de Maillard producida en el tostado comienza con la condensación de un azúcar reductor y un aminoácido y luego a través de diferentes rutas como la degradación de Strecker se generan compuestos aromáticos como pirazinas, aldehídos, ésteres y cetonas, produciendo los aromas característicos del chocolate. Zyzelewicz et al. (2014), mencionan que las temperaturas de tostado hasta 135 °C tienen un impacto beneficioso en los granos de cacao, mejorando su sabor, aroma y aumentando la intensidad del color marrón. Sin embargo, tostar a temperaturas más altas, no superiores a 150 °C deteriora su sabor, aroma y color, debido al sobre tostado de los granos.

### **3.6.2 Acidez**

En la Figura 24 se presentan los resultados al evaluar la variable de acidez en los tratamientos en estudio.

**Figura 24**

*Preferencia de acidez en pasta de cacao.*



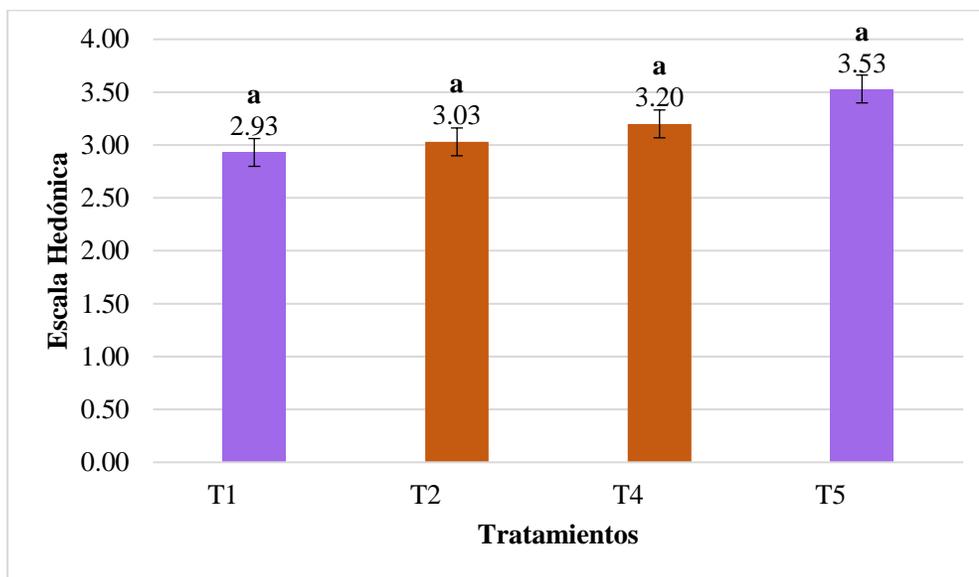
Se puede observar diferencia significativa entre T4 (variedad Nacional, tostado a 150 °C durante 15 minutos) que obtuvo mayores puntajes y T1 (variedad CCN-51, tostado a 115 °C durante 15 minutos) el cual tuvo menor puntaje, sin embargo, en T2 y T5 no hay diferencia significativa, se puede decir que los panelistas sintieron la misma intensidad de acidez en estos dos tratamientos. Vera Romero & Mantilla Pabón (2020) mencionan que la acidez fuerte puede deberse a malas prácticas en postcosecha; sin embargo, la presencia de sabor ácido está relacionada al componente de secado (métodos artificiales), a su vez Gil et al. (2021) afirman que un buen tueste previene defectos sensoriales como sabores amargos, ácidos, astringentes y de nuez, no obstante, existe mayor pérdida de compuestos fenólicos y por ende menor actividad antioxidante. Por otra parte Velásquez-Reyes et al. (2023) mencionan que los ácidos orgánicos como el ácido láctico y acético pueden permanecer hasta la etapa de licor de cacao, y debido a que su sabor es muy agrio y ácido, el producto final como el chocolate, requiere la adición de otros ingredientes para suavizar su sabor.

### 3.6.3 Amargor

Los resultados que se obtuvieron en el análisis sensorial para la variable amargor se presentan en la Figura 25.

#### Figura 25

*Preferencia de amargor en pasta de cacao.*



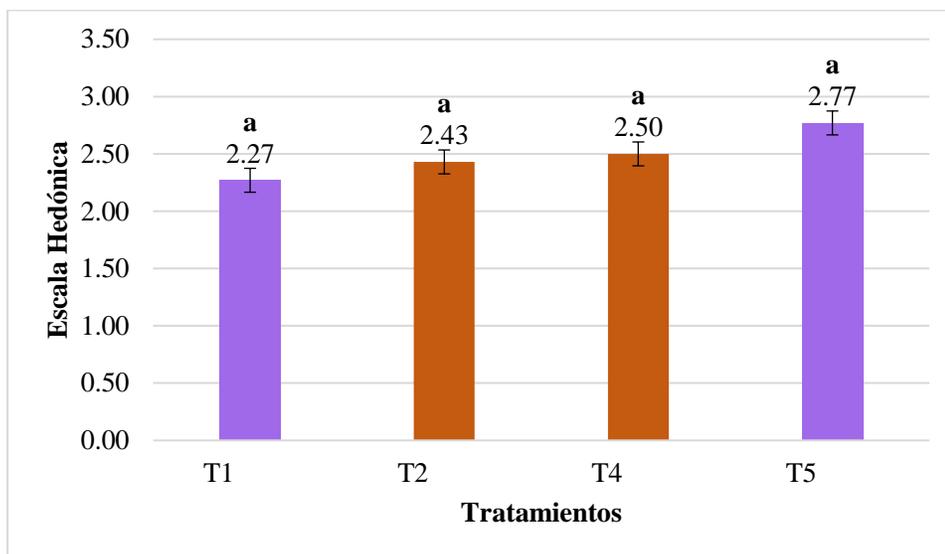
Se puede observar que no existe diferencia significativa en tratamientos, lo cual sugiere que los panelistas sintieron la misma intensidad de amargor en todas las muestras. (Gil et al., 2021) mencionan que el tostado afecta los polifenoles por altas temperaturas y largos periodos produciendo un sabor amargo resultado de compuestos insolubles entre flavonoides y proteínas, péptidos, polisacáridos y productos de la Reacción de Maillard. Lemarcq et al. (2020) añade que la percepción del amargor se altera con el tostado. El sabor típico del cacao tostado se debe a la formación de aductos entre metilxantinas y dicetopiperazinas.

### 3.6.4 Astringencia

Los resultados obtenidos de la prueba estadística para la variable astringencia se representan a continuación en la Figura 26.

**Figura 26**

*Preferencia de astringencia en pasta de cacao.*



Es apreciable que no existe diferencia significativa entre los distintos tratamientos, es decir, que de acuerdo con la percepción de los panelistas todos tienen la misma astringencia. En la investigación realizada por Aprotosoai et al. (2016) se menciona que el tostado afecta la capacidad de los polifenoles para interactuar con las proteínas, lo que provoca una disminución de la astringencia. Los compuestos fenólicos son responsables de proporcionar sensaciones astringentes y amargas, además, desempeñan un papel importante en la creación de los sabores verdes y afrutados presentes en los licores de cacao.

De acuerdo con Solórzano Chavez et al. (2015), sabores básicos como la acidez y la astringencia, son menos familiares que el del cacao, influyendo sobre la precisión con que se cuantifica la intensidad sensorial de ambos, aún más en el caso de una degustación con personas que no tienen entrenamiento o no tienen la sensibilidad ante estos sabores; con frecuencia su

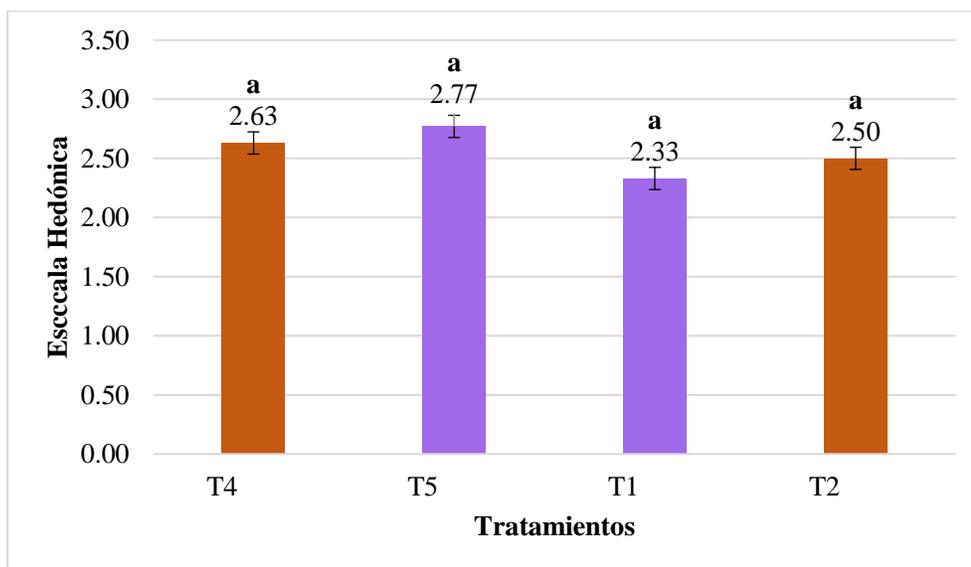
descripción es más compleja. En base a esta afirmación se puede decir que el desconocimiento de la sensación de astringencia influyó en la respuesta de los panelistas que participaron en el análisis sensorial.

### 3.6.5 Aceptación General

Al final se evaluó la aceptación general entre tratamientos, es decir, que tratamientos resulta ser de la preferencia de los panelistas de acuerdo con las diferentes características evaluadas anteriormente, los resultados estadísticos de esta evaluación se representan a continuación en la Figura 27.

**Figura 27**

*Aceptación general de pasta de cacao*



Se puede observar que no existe una diferencia estadísticamente significativa, esto sugiere que los parámetros aplicados en los tratamientos no afectaron las características sensoriales para los consumidores. Los factores Aroma y Acidez en T4 (variedad Nacional, 150 °C y 15 min) con actividad antioxidante 450.79  $\mu\text{m}$  Trolox/g presentan una leve diferencia. Así también en la Figura 22 se observa las líneas de tendencia de Aceptación General, Amargor y

Astringencia hacia T5 (variedad CCN-51, 115 °C y 25 min) con actividad antioxidante 589.18  $\mu\text{m Trolox/g}$ , pero al final estadísticamente resulta no tener diferencia.

La combinación de las características evaluadas anteriormente define el perfil de aceptación de la pasta de cacao. De acuerdo con Vera Romero & Mantilla Pabón (2020), los productos derivados del cacao exhiben variaciones según el genotipo, así como la influencia del clima y el momento de la cosecha. Esta diversidad puede explicar la disparidad en la calidad del licor de cacao y sus características aromáticas. Con frecuencia, los productores de chocolate combinan distintas variedades de granos de cacao para alcanzar la calidad, aroma y sabor deseados.

## CAPITULO IV

### CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

#### 4.1 Conclusiones

- Se determinó un mayor contenido de polifenoles y actividad antioxidante en los granos secos de la variedad CCN-51 con relación a la variedad Nacional, siendo el principal factor el genotipo de dicha variedad.
- Se determinaron efectos altamente significativos de los factores como: variedad, tiempo y temperatura sobre la disminución del contenido de polifenoles totales y actividad antioxidante durante el proceso de tostado de cacao.
- Se determinó que los atributos sensoriales aroma y acidez se inclinaron a la variedad Nacional, sin embargo el panel de evaluadores no estableció preferencia en ningún tratamiento.
- Los parámetros del proceso de tostado de cacao influyeron significativamente sobre el contenido de la actividad antioxidante, compuestos fenólicos y en los atributos sensoriales aroma y acidez, por lo que se acepta la hipótesis alternativa.

#### 4.2 Recomendaciones

- Desarrollar una fórmula para la industrialización del cacao estandarizando los procesos postcosecha.
- Realizar un análisis de perfil sensorial con panelista entrenados.

## BIBLIOGRAFÍA

- Andrade, J. A., Rivera-García, J., Chire-Fajardo, G. C., & Ureña-Peralta, M. O. (2019). Physical and chemical properties of cacao cultivars (*Theobroma cacao* L.) from Ecuador and Peru. *Enfoque UTE*, 10(4), 1–12. <https://doi.org/10.29019/ENFOQUE.V10N4.462>
- Andruszkiewicz, P. J., Corno, M., & Kuhnert, N. (2021). HPLC-MS-based design of experiments approach on cocoa roasting. *Food Chemistry*, 360, 129694. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2021.129694>
- AOAC (Association of Official Analytical Chemist, U. (1997). *Offial Mthods of Analysis of AOAC International: Cacao beans & its product*.
- Aprotosoai, A. C., Luca, S. V., & Miron, A. (2016). Flavor Chemistry of Cocoa and Cocoa Products—An Overview. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 15(1), 73–91. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12180>
- Batista, L. (2009). *El Cultivo de Cacao*. <http://www.cedaf.org.do>
- Becerra, L. D., Quintanilla-Carvajal, M. X., Escobar, S., & Ruiz Pardo, R. Y. (2024). From controlled transformed cocoa beans to chocolate: Bioactive properties, metabolomic profile, and in vitro bioaccessibility. *Food Chemistry*, 433, 137321. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2023.137321>
- Becerra, L. D., Quintanilla-Carvajal, M. X., Escobar, S., & Ruiz, R. Y. (2023). Correlation between color parameters and bioactive compound content during cocoa seed transformation under controlled process conditions. *Food Bioscience*, 53, 102526. <https://doi.org/10.1016/J.FBIO.2023.102526>

- Benítez-Estrada, A., Villanueva-Sánchez, J., González-Rosendo, G., Alcántar-Rodríguez, V. E., Puga-Díaz, R., Quintero-Gutiérrez, A. G., Benítez-Estrada, A., Villanueva-Sánchez, J., González-Rosendo, G., Alcántar-Rodríguez, V. E., Puga-Díaz, R., & Quintero-Gutiérrez, A. G. (2020). Determinación de la capacidad antioxidante total de alimentos y plasma humano por fotoquimioluminiscencia: Correlación con ensayos fluorométricos (ORAC) y espectrofotométricos (FRAP). *TIP. Revista Especializada En Ciencias Químico-Biológicas*, 23, 1–9. <https://doi.org/10.22201/FESZ.23958723E.2020.0.244>
- Borja Fajardo, J. G., Horta Tellez, H. B., Peñaloza Atuesta, G. C., Sandoval Aldana, A. P., & Mendez Arteaga, J. J. (2022). Antioxidant activity, total polyphenol content and methylxantine ratio in four materials of *Theobroma cacao* L. from Tolima, Colombia. *Heliyon*, 8(5), e09402. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e09402>
- Colonges, K., Jimenez, J. C., Saltos, A., Seguire, E., Loor Solorzano, R. G., Fouet, O., Argout, X., Assemat, S., Davrieux, F., Cros, E., Lanaud, C., & Boulanger, R. (2022). Integration of GWAS, metabolomics, and sensorial analyses to reveal novel metabolic pathways involved in cocoa fruity aroma GWAS of fruity aroma in *Theobroma cacao*. *Plant Physiology and Biochemistry*, 171, 213–225. <https://doi.org/10.1016/J.PLAPHY.2021.11.006>
- Cortez, D., Quispe-Sanchez, L., Mestanza, M., Oliva-Cruz, M., Yoplac, I., Torres, C., & Chavez, S. G. (2023). Changes in bioactive compounds during fermentation of cocoa (*Theobroma cacao*) harvested in Amazonas-Peru. *Current Research in Food Science*, 6, 100494. <https://doi.org/10.1016/J.CRFS.2023.100494>

- Cros, E., Rouly, M., Villeneuve, F., & Vincent, J.-C. (1982). Recherche d'un indice de fermentation du cacao. II. Estimation de la matière colorante rouge des fèves de cacao. *Café, Cacao, Thé*.
- Dias, A. L. de S., Fenger, J.-A., Meudec, E., Verbaere, A., Costet, P., Hue, C., Coste, F., Lair, S., Cheynier, V., Boulet, J.-C., & Sommerer, N. (2023). Shades of Fine Dark Chocolate Colors: Polyphenol Metabolomics and Molecular Networking to Enlighten the Brown from the Black. *Metabolites*, 13(5), 667. <https://doi.org/10.3390/METABO13050667>
- Elwers, S., Zambrano, A., Rohsius, C., & Lieberei, R. (2009). Differences between the content of phenolic compounds in Criollo, Forastero and Trinitario cocoa seed (*Theobroma cacao* L.). *European Food Research and Technology*, 229(6), 937–948. <https://doi.org/10.1007/S00217-009-1132-Y/METRICS>
- Espín, S., & Samaniego, I. (2016). *MANUAL PARA EL ANÁLISIS DE PARÁMETROS QUÍMICOS ASOCIADOS A LA CALIDAD DEL CACAO*.
- Febrianto, N. A., & Zhu, F. (2022). Composition of methylxanthines, polyphenols, key odorant volatiles and minerals in 22 cocoa beans obtained from different geographic origins. *LWT*, 153, 112395. <https://doi.org/10.1016/J.LWT.2021.112395>
- Fernández, S., & Buenestado, P. (2020). *DISEÑO DE EXPERIMENTOS: DISEÑO FACTORIAL*.
- Gil, M., Jaramillo, Y., Bedoya, C., Llano, S. M., Gallego, V., Quijano, J., & Londono-Londono, J. (2019). Chemometric approaches for postharvest quality tracing of cocoa: An efficient method to distinguish plant material origin. *Heliyon*, 5(5), e01650. <https://doi.org/10.1016/J.HELIYON.2019.E01650>

- Gil, M., Uribe, D., Gallego, V., Bedoya, C., & Arango-Varela, S. (2021). Traceability of polyphenols in cocoa during the postharvest and industrialization processes and their biological antioxidant potential. *Heliyon*, 7(8), e07738. <https://doi.org/10.1016/J.HELIYON.2021.E07738>
- Gutiérrez, M. (2019). *TECNOLOGÍA DE TOSTADO DEL GRANO DE CACAO*.
- Hernández-Hernández, C., Fernández-Cabanás, V. M., Rodríguez-Gutiérrez, G., Fernández-Prior, Á., & Morales-Sillero, A. (2022). Rapid screening of unground cocoa beans based on their content of bioactive compounds by NIR spectroscopy. *Food Control*, 131, 108347. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCONT.2021.108347>
- Hernández-Ortega, M., Plazola-Jacinto, C. P., & Valadez-Carmona, L. (2022). State-of-the-Art Chocolate Manufacture. *Trends in Sustainable Chocolate Production*, 1–39. [https://doi.org/10.1007/978-3-030-90169-1\\_1](https://doi.org/10.1007/978-3-030-90169-1_1)
- INAMHI. (2020). *Servicio Meteorológico del Ecuador*. Instituto Nacional de Meteorología e Hidrología. <https://inamhi.wixsite.com/inamhi/novedades>
- INEN. (1998). NTE INEN 0623: Pasta (Masa, licor) de cacao. Requisitos. *Instituto Ecuatoriano de Normalización*, 1–2.
- INEN. (2006). *NTE INEN 0176: Cacao en grano. Requisitos*.
- INEN. (2014). *ANÁLISIS SENSORIAL. VOCABULARIO (ISO 5492:2008, IDT) NTE INEN-ISO 5492*.
- INIAP. (2022). *MANUAL DEL CULTIVO DE CACAO SOSTENIBLE PARA LA AMAZONÍA ECUATORIANA*.

- ISCQF. (2017). *Elements of harmonized international standards for cocoa quality and flavour assessment*. <http://www.cocoaofexcellence.org/contacts/quality-and-flavour-working-group/>
- Jiménez, J., Amores, F., & Solórzano, E. (2014). *Componentes de identidad para reconocer las diferencias del cacao que se produce en varias regiones del Ecuador*.
- Lemarcq, V., Tuentler, E., Bondarenko, A., Van de Walle, D., De Vuyst, L., Pieters, L., Sioriki, E., & Dewettinck, K. (2020). Roasting-induced changes in cocoa beans with respect to the mood pyramid. *Food Chemistry*, 332. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2020.127467>
- MAG. (2014). *ZONIFICACIÓN AGROECOLÓGICA ECONÓMICA DEL CULTIVO DE CACAO (Theobroma cacao L.) EN EL ECUADOR CONTINENTAL*.
- MAG. (2018). *RENDIMIENTOS DE CACAO ALMENDRA SECA (Theobroma cacao)*.
- MAG. (2019). *Cacao Híbrido CCN-51 cuenta con certificación de calidad*. Ministerio de Agricultura y Ganadería. <https://www.agricultura.gob.ec/cacao-hibrido-ccn-51-cuenta-con-certificacion-de-calidad/>
- Mathias-Rettig, K., & Ah-Hen, K. (2014). El color en los alimentos un criterio de calidad medible. *Agro Sur*, 42(2), 57–66. <https://doi.org/10.4206/agrosur.2014.v42n2-07>
- Moreno-Rojas, J. M., Yadira Erazo Solorzano, C., Tuárez García, D. A., Pereira-Caro, G., Ordóñez Díaz, J. L., Muñoz-Redondo, J. M., & Rodríguez-Solana, R. (2023). Impact of the pre-drying process on the volatile profile of on-farm processed Ecuadorian bulk and fine-flavour cocoa varieties. *Food Research International*, 169, 112938. <https://doi.org/10.1016/J.FOODRES.2023.112938>

- Ooi, T. S., Ting, A. S. Y., & Siow, L. F. (2020). Influence of selected native yeast starter cultures on the antioxidant activities, fermentation index and total soluble solids of Malaysia cocoa beans: A simulation study. *LWT*, *122*, 108977. <https://doi.org/10.1016/J.LWT.2019.108977>
- Oracz, J., & Nebesny, E. (2019). Effect of roasting parameters on the physicochemical characteristics of high-molecular-weight Maillard reaction products isolated from cocoa beans of different *Theobroma cacao* L. groups. *European Food Research and Technology*, *245*(1), 111–128. <https://doi.org/10.1007/S00217-018-3144-Y/FIGURES/6>
- Oracz, J., Nebesny, E., & Żyzelewicz, D. (2015). Changes in the flavan-3-ols, anthocyanins, and flavanols composition of cocoa beans of different *Theobroma cacao* L. groups affected by roasting conditions. *European Food Research and Technology*, *241*(5), 663–681. <https://doi.org/10.1007/S00217-015-2494-Y/TABLES/4>
- Oracz, J., Zyzelewicz, D., & Nebesny, E. (2015). The Content of Polyphenolic Compounds in Cocoa Beans (*Theobroma cacao* L.), Depending on Variety, Growing Region, and Processing Operations: A Review. <https://doi.org/10.1080/10408398.2012.686934>, *55*(9), 1176–1192. <https://doi.org/10.1080/10408398.2012.686934>
- Palma, J., & Olivas, R. (2015). *Manejo integrado de Moniliasis (Moniliophthora roreri) en cacao (Theobroma cacao) y su impacto en el rendimiento, Cooperativa Flor de Pancasán 2014-2015*.
- Paredes, N. (2016). *Manual de cacao para la Amazonía ecuatoriana*. [www.iniap-ecuador.org.ec](http://www.iniap-ecuador.org.ec)

- Perea Villamil, J. A. (2019). El cacao desde la ciencia: de la semilla al chocolate. *Portal de Publicaciones UIS*, 173. <https://doi.org/10.0/CSS/ALL.MIN.D74D1A5D029B.CSS>
- Perea-Villamil, J. A., Cadena-Cala, T., & Herrera-Ardila, J. (2010). *El cacao y sus productos como fuente de antioxidantes: Efecto del procesamiento*.
- Pérez-Burillo, S., Hinojosa-Nogueira, D., Rufián-Henares, J. Á., & Pastoriza, S. (2023). Effect of in vitro digestion and fermentation on antioxidant capacity of weight loss foods and Maillard reaction products content. *Food Research International*, 166. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2023.112616>
- PROAmazonía, & MAG. (2021). Manual de Procesos de Centro de Acopio de Cacao. *PNUD*, 1, 13–29.
- Putra, H. A., Saputro, A. D., Efryla, N. D., Fadilah, M. A. N., Bintoro, N., & Karyadi, J. N. W. (2023). Impact of roasting duration and temperature on the properties of fully fermented cocoa beans (*Theobroma cacao* L.). *AIP Conference Proceedings*, 2596(1). <https://doi.org/10.1063/5.0119862/2893362>
- Quingaísa, E., & Riveros, H. (2007). ESTUDIO DE CASO: DENOMINACION DE ORIGEN “CACAO ARRIBA” Noviembre, 2007 Quito-Ecuador. *La FAO y El IICA*, 3–4.
- Quintana, L., & García, A. (2021a). *EVALUACIÓN INTEGRAL DE LA CALIDAD SENSORIAL DEL CACAO*.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). *Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay*.

- Rojas, M., Granados, D., Osorio, J., & Chejne, F. (2022). Analysis of cocoa particle roasting process in a  $\mu$ -reactor. *Journal of Food Engineering*, 330, 111102. <https://doi.org/10.1016/J.JFOODENG.2022.111102>
- Rojas, M., Hommes, A., Heeres, H. J., & Chejne, F. (2022). Physicochemical Phenomena in the Roasting of Cocoa (*Theobroma cacao* L.). *Food Engineering Reviews* 2021 14:3, 14(3), 509–533. <https://doi.org/10.1007/S12393-021-09301-Z>
- Samaniego, I., Espín, S., Quiroz, J., Ortiz, B., Carrillo, W., García-Viguera, C., & Mena, P. (2020). Effect of the growing area on the methylxanthines and flavan-3-ols content in cocoa beans from Ecuador. *Journal of Food Composition and Analysis*, 88, 103448. <https://doi.org/10.1016/J.JFCA.2020.103448>
- Solórzano Chavez, E., Puyutaxi, F. A., Jiménez Barragan, J., Nicklin, C., & Miranda, S. B. (2015). Comparación sensorial del cacao (*Theobroma cacao* L.) Nacional fino de aroma cultivado en diferentes zonas del Ecuador. *Ciencia y Tecnología*, 8(1), 37–47.
- Stanley, T. H., Van Buiten, C. B., Baker, S. A., Elias, R. J., Anantheswaran, R. C., & Lambert, J. D. (2018). Impact of roasting on the flavan-3-ol composition, sensory-related chemistry, and in vitro pancreatic lipase inhibitory activity of cocoa beans. *Food Chemistry*, 255, 414–420. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2018.02.036>
- STEPHEN, T. B. (2000). *LA CIENCIA DEL CHOCOLATE* (G. H. Thomas, S. Park, & M. Road, Eds.; ACRIBIA, S.A., Vol. 1).
- Suazo, Y., Davidov-Pardo, G., & Arozarena, I. (2014). Effect of Fermentation and Roasting on the Phenolic Concentration and Antioxidant Activity of Cocoa from Nicaragua. *Journal of Food Quality*, 37(1), 50–56. <https://doi.org/10.1111/JFQ.12070>

- Tafurt, G., Suarez, O., Lares, M. del C., Álvarez, C., & Liconte, N. (2020). Capacidad antioxidante de un chocolate oscuro de granos cacao orgánico sin fermentar. *Revista Digital de Postgrado*, *10*(1). <https://doi.org/10.37910/rdp.2021.10.1.e280>
- Taş, N. G., & Gökmen, V. (2016). Effect of alkalization on the Maillard reaction products formed in cocoa during roasting. *Food Research International*, *89*, 930–936. <https://doi.org/10.1016/J.FOODRES.2015.12.021>
- Teneda Llerena, W. F. (2016). Mejoramiento del proceso de fermentación del cacao (*Theobroma cacao* L.): variedad nacional y variedad CCN51. *Variedad Nacional y Variedad CCN51*, *140*. <https://doi.org/10.0/CSS/ALL.MIN.D74D1A5D029B.CSS>
- Tolentino, M. E., Camasca, P., & Peláez, P. P. (2019). Macro and microelements, lead, cadmium, functional compounds, antioxidant capacity in fresh, dry cocoa beans and cocoa paste. *Scientia Agropecuaria*, *10*(4), 521–530. <https://doi.org/10.17268/SCI.AGROPECU.2019.04.09>
- Urbańska, B., Derewiaka, D., Lenart, A., & Kowalska, J. (2019). Changes in the composition and content of polyphenols in chocolate resulting from pre-treatment method of cocoa beans and technological process. *European Food Research and Technology*, *245*(10), 2101–2112. <https://doi.org/10.1007/S00217-019-03333-W/METRICS>
- Urbańska, B., & Kowalska, J. (2019). Comparison of the total polyphenol content and antioxidant activity of chocolate obtained from roasted and unroasted cocoa beans from different regions of the world. *Antioxidants*, *8*(8). <https://doi.org/10.3390/antiox8080283>

- Velásquez-Reyes, D., Rodríguez-Campos, J., Avendaño-Arrazate, C., Gschaedler, A., Alcázar-Valle, M., & Lugo-Cervantes, E. (2023). Forastero and Criollo cocoa beans, differences on the profile of volatile and non-volatile compounds in the process from fermentation to liquor. *Heliyon*, 9(4). <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e15129>
- Vera Romero, J. M., & Mantilla Pabón, Y. T. (2020). Características sensoriales de granos y licor de cacao por un panel de jueces en entrenamiento. *Revista Sennova: Revista Del Sistema de Ciencia, Tecnología e Innovación*, 5(1), 27–42. <https://doi.org/10.23850/23899573.3232>
- Yang, Y., Darwish, A. G., El-Sharkawy, I., Zhu, Q., Sun, S., & Tan, J. (2022). Rapid determination of the roasting degree of cocoa beans by extreme learning machine (ELM)-based imaging analysis. *Journal of Agriculture and Food Research*, 10, 100437. <https://doi.org/10.1016/J.JAFR.2022.100437>
- Zapata, S., Tamayo, A., & Rojano, B. (2013). *Efecto de la fermentación sobre la actividad antioxidante de diferentes clones de cacao colombiano*. Rev Cubana Plant Med Vol.18 No.3 Ciudad de La Habana. [http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S1028-47962013000300007&script=sci\\_arttext&tlng=pt](http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S1028-47962013000300007&script=sci_arttext&tlng=pt)
- Zhang, L., Chen, J., Zhao, X., Chen, W., Du, S., & Yu, X. (2022). Key volatile compound formation of rapeseed oil induced via the Maillard reaction during seed roasting. *Food Chemistry*, 388, 132992. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2022.132992>
- Zyzelewicz, D., Krysiak, W., Nebesny, E., & Budryn, G. (2014). Application of various methods for determination of the color of cocoa beans roasted under variable process parameters. *European Food Research and Technology*, 238(4), 549–563. <https://doi.org/10.1007/S00217-013-2123-6/FIGURES/7>

Zzaman, W., & Al-din Sifat, S. (2023). Impact of superheated steam roasting on changes in antioxidant and microstructure properties of raw and processed cocoa cotyledon. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 30(2), 103562. <https://doi.org/10.1016/J.SJBS.2023.103562>

## ANEXOS

### Anexo 1

#### DESCRIPCIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS

##### Preparación de la Muestra

En el laboratorio, la preparación de la muestra es trascendental para obtener resultados analíticos confiables, por lo tanto, se deben seguir procedimientos adecuados para su procesamiento y almacenamiento, los mismos que dependerán de la naturaleza de las muestras, así como de los parámetros que se analicen.

Para la preparación del cacao en grano, los pasos básicos a seguir son los siguientes:

- 1) Separación de la cascarilla, manual o utilizando un equipo descasrillador.
- 2) Molienda de las almendras.
- 3) Separación de partículas de 0.38 y 0.149 mm (42 y 100 mesh respectivamente) utilizando un tamiz.
- 4) Desengrasado de muestras, utilizando solventes.
- 5) Almacenamiento de muestras molidas y desengrasadas.

##### Principio del método

Mediante procesos de descasrillado, molienda, tamizaje y desengrasado se obtiene la matriz adecuada, reducida a un tamaño de partícula que asegure homogenización para el análisis en el laboratorio.

##### Campo de aplicación

Este procedimiento se aplica a muestra de almendras, licor y polvo de cacao, para el análisis de parámetros químicos.

##### Descasrillado y Molienda

- a) Remover manualmente la cascarilla que protege las almendras de cacao, utilizando un bisturí. Se puede también emplear un equipo descasrillador que facilita este proceso.

- b) Tomar un frasco de plástico limpio y rotular con el código de laboratorio correspondiente a la muestra.
- c) Pasar las almendras peladas a un recipiente plástico, tapar y poner en congelación.
- d) Pasar las almendras congeladas al molino
- e) Pasar el polvo de cacao obtenido de la molienda por un tamiz
- f) Recolectar en un frasco de plástico e polvo de cacao tamizado con el tamaño de partícula requerido. El residuo que no pasa por el tamiz, vuelva a moler siguiendo los pasos c, d y e, hasta finalizar toda la muestra.
- g) Cerrar herméticamente el frasco que contiene la muestra molida y tamizada, colocar en el congelador a  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ , en caso de no procesar inmediatamente las muestras.

### **Desengrasado de la Muestra por el Método de Soxhlet**

Se parte de la muestra molida y tamizada, aplicando el siguiente procedimiento:

- a) Doblar el papel filtro de 16cm formando un sobre e introducir en el dedal de extracción.
- b) Pesar 10 gramos de polvo de cacao y transferir al dedal de extracción.
- c) Cerrar el sobre de papel filtro, cubrir el dedal de extracción con algodón y colocar dentro del extractor Soxhlet de capacidad 250 mL.
- d) Medir en una probeta graduada 120 mL de Hexano y transferir al balón de destilación.
- e) Unir el Soxhlet con el balón de destilación y conectar al refrigerante.
- f) Colocar el equipo completo sobre el dispositivo de calentamiento, abrir el paso de agua para el refrigerante y extraer por ocho horas.
- g) Retirar el polvo desengrasado de dedal de extracción y colocar en una bandeja para que se seque
- h) Transferir el polvo desengrasado en viales de vidrio provistos de tapa rosca hermética y almacenar.

## **Determinación de Humedad (Método INIAP MO-LSAIA-01.01)**

### Principio del método

La humedad contenida en las almendras y nibs de cacao, se determina por diferencia de pesos de las muestras luego de ser sometidas a un proceso de secado en una estufa de aire forzado a 105 °C por 12 horas.

### **Campo de aplicación**

Este método es aplicable para polvos de almendra de cacao secas, fermentadas, no fermentadas y licor de cacao.

### **Equipo y material**

- Estufa
- Balanza analítica digital de precisión 0,1 mg
- Recipientes de aluminio para secar muestra
- Pinza metálica
- Desecador

### **Cálculos**

El cálculo de los resultados se realiza utilizando la siguiente fórmula:

$$\text{Humedad (\%)} = \left( \frac{(P_2 - P_1) - (P_3 - P_1)}{(P_2 - P_1)} \right) * 100$$

Donde:

P<sub>1</sub>= Peso de la lata vacía (g)

P<sub>2</sub>= Peso de la lata con la muestra fresca (g)

P<sub>3</sub>= Peso de la lata con la muestra seca (g)

(AOAC (Association of Official Analytical Chemist, 1997) adaptado por (Espín & Samaniego, 2016)

### **Procedimiento**

- a. Pesar 2 g de polvo de cacao y colocar en latas de aluminio previamente taradas
- b. Colocar en la estufa a 105 °C durante 12 horas (o por una noche)
- c. Enfriar en un desecador y pesar la muestra seca

### **Método Folin & Ciocalteu Determinación para Determinación Compuestos Fenólicos**

Los Polifenoles Totales del polvo de cacao son extraídos con una solución acuosa de metanol al 70% mediante agitación magnética continua por una hora, el extracto obtenido se filtra, se toma una alícuota del mismo y se realiza una reacción colorimétrica con el reactivo de Folin & Ciocalteu obteniendo una coloración azul, la misma que es cuantificada en un Espectrofotómetro UV-VIS a una longitud de Onda de 760 nm.

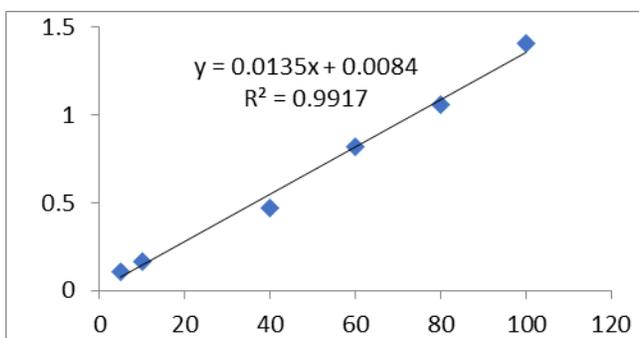
#### **Preparación de reactivos**

- *Solución carbonato de Sodio al 20%:* Transferir cuantitativamente 20 g de Carbonato de Sodio en un balón volumétrico de 100 mL disolver y completar a volumen con agua bidestilada.
- *Solución Acuosa de Metanol:* Transferir cuantitativamente 700 mL de metanol en una probeta de 1000 mL completar con agua destilada.
- *Solución estándar primario de ácido gálico (200 ppm):* Transferir 0.020 g de ácido gálico en un balón volumétrico de 100 ml, disolver y aforar con agua destilada.

#### **Procedimiento para obtener la curva de calibración para polifenoles**

Se procede a preparar las soluciones estándar, Se pesa 1 gramo de muestra, que posteriormente es diluida en 100ml de agua destilada, esta dilución es denominada muestra madre.

A partir de la solución estándar primaria de 200 ppm se realiza la curva de calibración diluyendo el estándar en 5 concentraciones: 10, 40, 80, 100 y 140 ppm respectivamente como se muestra en la siguiente figura.



**Figura 1.** Curva de calibración con ácido gálico – Polifenoles totales

### **Extracción de la muestra**

- a) En un erlemeyer de 125 mL pesar 1 g de polvo de muestra
- b) Adicionar 75 mL de solución acuosa de metanol al 70% y colocar un agitador magnético
- c) Conducir la muestra a la plancha de agitación y agitar por una hora a temperatura ambiente
- d) Filtrar el extracto a través del papel Whatman N°4 en un balón volumétrico de 100 mL, lavar el filtrado y aforar con solución acuosa de metanol al 70%

### **Cuantificación en el espectrofotómetro UV-VIS**

En un tubo de ensayo colocar 1 ml del extracto, añadir 6ml de agua destilada y 1 ml de reactivo de Folin & Ciocalteu, luego de 3 minutos añadir 2ml de solución de carbonato de sodio al 20%, inmediatamente agitar en un vortex y calentar a baño maría a 40 °C por dos minutos. Realizar el mismo procedimiento para cada concentración, los resultados se expresaron en mg equivalente de ácido gálico por gramo de muestra (mg ácido gálico/g).

Pasar la solución a una cubeta de vidrio y cuantificar en el espectrofotómetro UV-VIS bajo las siguientes condiciones:

- a. Longitud de onda: 760 nm
- b. Temperatura: ambiente
- c. Slit: 0.2 nm

### **Cálculos y expresión de los resultados**

La cuantificación se realizó utilizando una curva de calibración realizada previamente en el equipo y utilizando la siguiente fórmula:

$$\frac{mg}{g} \text{ÁcidoGálico} = \frac{a*b*d*f}{p}$$

**Donde:**

a = Concentración de ácido gálico obtenida a partir de la curva de calibración (mg/g)

b = Volumen total de extracto (100 ml)

d = Factor de dilución

f = Factor para transformar unidades (f = 0.001)

p = peso de la muestra g.

### **Método ABTS para Determinación de Actividad Antioxidante**

**Preparación de reactivos:**

**Solución amortiguadora de fosfatos 75 mmol/L (pH=7)**

- **Solución A (0.2 mol/L):** Pesar 1.037 g de fosfato de sodio monobásico y llevar a 100 ml de agua destilada en un balón aforado
- **Solución B (0.02 mol/L):** Pesar 5.33 de fosfato de sodio di básico y llevar a 500 ml con agua destilada en un balón de aforo.

Mezclar 95 ml de solución A con 405 ml de la solución B, llevar a 900 ml con agua destilada y medir el pH. Ajustar el pH con las soluciones A y B sobrantes de acuerdo con lo necesario hasta alcanzar un valor de pH = 7.0 y llevar a un litro en el balón aforado.

Envasar la disolución en una botella y almacenar a 4 °C por un periodo máximo de un mes.

**Solución Stock de ABTS**

**Solución de ABTS (7 mM):** pesar 0.0960 g de ABTS (548.68 g/mol), disolver en agua ultrapura completamente y aforar a un volumen de 25 ml. Almacenar a temperatura de refrigeración 4 °C. La solución dura un mes a estas condiciones.

**Solución de Per sulfato  $K_2S_2O_8$  (2,45 mM):** Pesar 0.01655 g de  $K_2S_2O_8$ , disolver en agua ultrapura y aforar a 25 ml. Conservar la solución en refrigeración 4 °C.

**Solución Activada de ABTS. +**

Mezclar en proporción 1:1 la solución ABTS (7 mM) con la de  $K_2S_2O_8$  (2.45 mM) y dejar reposando 16 horas antes de su uso. Filtrar la solución por un papel filtro watman 0.4 y envasar en un frasco ámbar. La solución se mantiene estable 24 h, por lo que se recomienda realizarla el día del análisis.

**Solución de trabajo ABTS. +**

En un frasco ámbar diluir la solución activada de ABTS. + con un buffer fosfato hasta obtener una lectura de absorbancia de  $1.1 \pm 0.01$  a una longitud de onda de 734 nm.

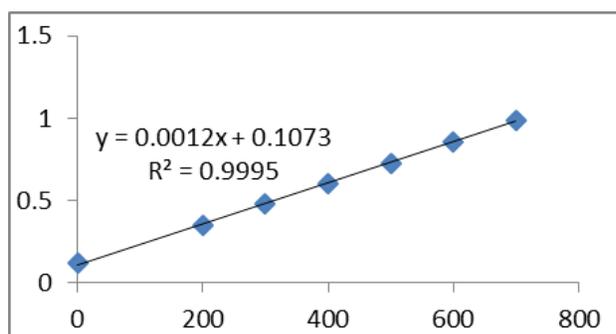
**Preparación de la curva de calibración**

**Solución madre de Trolox**

**Solución madre (2000  $\mu\text{mol/L}$ ):** Pesar 0.050g de Trolox (PM 250.32 g), adicionar de 15 a 20 gotas de etanol al 95% para disolver todos los cristales y llevar a 100ml con la solución amortiguadora en un balón aforado ámbar. La preparación y manipulación del Trolox se realiza en obscuridad o con la ayuda de luz amarilla para evitar su degradación. Envasar la dilución en una botella ámbar

NOTA: Solo preparar para usar el día del análisis y luego descartarlo.

- **Curva de calibración (0-800  $\mu\text{mol/L}$ ).** - Se preparó la solución patrón con Trolox, en concentraciones de 0, 200, 300, 400, 500, 600 y 700  $\mu\text{MTrolox}$  y un blanco, como se detalla en la figura.



**Figura 2.** Curva de calibración con Trolox – Capacidad Antioxidante - Método ABTS

**Procedimiento.** – Se colocó en un tubo de ensayo 200  $\mu\text{L}$  de muestra debidamente diluida con buffer fosfato con pH 7, se añadió 3800  $\mu\text{L}$  de la solución de trabajo de **ABTS**. + estabilizada y se procedió agitar en vortex durante 30 segundos, se dejó en reposo durante de 45 minutos en un lugar oscuro, transcurrido este tiempo se midió la absorbancia final de cada muestra por triplicado a una longitud de onda de 734 nm.

#### **Determinación de la absorbancia neta**

Para la curva de calibración se calcula la absorbancia neta como se indica en la ecuación y se grafica en función de la concentración.

$$ABTS \text{ muestra } \frac{y}{o} \text{ patrón trolox} = ABS \text{ solución de trabajo inicial} - ABS \text{ muestra } 45 \text{ min} - ABS \text{ blanco}$$

El valor obtenido se interpola en la curva de calibración y se interpreta los resultados en  $\mu\text{MTrolox/mL}$  o  $\mu\text{MTrolox/g}$  muestra.

#### **Determinación de la actividad antioxidante**

Transferir a un tubo de vidrio un volumen de 200 uL de muestra debidamente diluida en solución amortiguadora (buffer fosfato) y adicionar 3800 de la solución de trabajo de ABTS. + (A734= 1.1 + 0.001). Se hace tres repeticiones por cada concentración.

Agitar los tubos y dejar reposar por un tiempo de 45 min.

Medir la absorbancia final.

## Anexo 2

### RESULTADOS DE PRUEBAS DMS PARA LAS INTERACCIONES SIGNIFICATIVAS EN EL CONTENIDO DE POLIFENOLES TOTALES Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE

#### *Análisis de Varianza de polifenoles totales*

Fuente de Variación	SC	GL	CM	F	p-valor	Sign
Tratamientos	2278.9	7	325.56	42.80	<0.0001	**
Variedad	995.24	1	995.24	130.84	<0.0001	**
Tiempo	164.8	1	164.80	21.67	0.0003	**
Temperatura	74.03	1	74.03	9.73	0.0066	**
Variedad*Tiempo	41.84	1	41.84	5.50	0.0322	*
Variedad*Temperatura	892.92	1	892.92	117.39	<0.0001	**
Tiempo*Temperatura	0.04	1	0.04	4.90E-03	0.9448	Ns
Variedad*Tiempo*Temperatura	110.04	1	110.04	14.47	0.0016	**
Error	121.7	16	7.61			
Total	2400.6	23				

Nota: \*Significativo. \*\*Altamente Significativo. ns: No significativo

#### *Prueba de Tukey al 5% para Polifenoles Totales*

Tratamientos	Medias	Agrupación	
T6	37.05	a	
T7	43.70	a	b
T2	43.86	a	b
T4	48.34	b	c

T8	49.94	b	c
T3	55.94		c
T5	63.77		d
T1	67.29		d

Nota: Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0.05$ )

*Diferencia Mínima Significativa de Variedades Nacional y CCN-51 en contenido de polifenoles totales*

Variedades	Medias	Agrupación
CCN-51	57,68	a
Nacional	44,8	b

Nota: Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

*Prueba DMS de interacción Variedad\*Tiempo*

Variedad	Tiempo	Medias	Agrupación
Nacional	25	43,5	a
Nacional	15	46,1	a
CCN-51	25	53,74	b
CCN-51	15	61,62	c

Nota: Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

*Prueba DMS para interacción Variedad\*Tiempo\*Temperatura*

Variedad	Tiempo	Temperatura	Medias	Agrupación	
Nacional	25	115	37,05	a	
CCN-51	25	150	43,7	a	b
Nacional	15	115	43,86	a	b
Nacional	15	150	48,34	b	c
Nacional	25	150	49,94	b	c
CCN-51	15	150	55,94	c	
CCN-51	25	115	63,77	d	
CCN-51	15	115	67,29	d	

Nota: Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

*Prueba de Rangos para Capacidad Antioxidante.*

<b>Tratamientos</b>	<b>Medias</b>	<b>Agrupación</b>		
T6	386.00			
T8	440.23	b		
T4	450.79	b	c	
T2	463.33	b	c	
T3	538.22	b	c	e
T7	546.73		c	e
T5	589.18			e
T1	709.88			e

Nota. Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0.05$ )

*Prueba de DMS para la interacción Variedad\*Temperatura*

<b>Variedad</b>	<b>Temperatura</b>	<b>Medias</b>	<b>Agrupación</b>
Nacional	115	40,46	a
Nacional	150	49,14	b
CCN-51	150	49,82	b
CCN-51	115	65,53	c

Nota: Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

*Prueba DMS para los niveles del factor Variedad en Capacidad Antioxidante.*

<b>Factor</b>	<b>Medias</b>	<b>Agrupación</b>
Nacional	435,09	a
CCN-51	596,00	b

### Anexo 3

#### COLORIMETRÍA

A partir de estos valores, el croma ( $C^*ab$ ), ángulo de matiz ( $h^*ab$ ) y diferencia de color ( $\Delta E$ ) se calcularon de acuerdo con las Ecuaciones 1, 2, 3, respectivamente, Becerra et al. (2023).

El ángulo de matiz ( $h^*ab$ ) expresa la cantidad relativa de enrojecimiento y amarillez en una muestra,  $h^*ab$  se representa en una cuadrícula de  $360^\circ$  donde  $0^\circ$  es rojo azulado,  $90^\circ$  es amarillo,  $180^\circ$  es verde y  $270^\circ$  es azul. El croma ( $C^*ab$ ) representa la cantidad de color y se mide según la distancia al origen de coordenadas.

$$H = \arctg(b^*/a^*) \quad (1)$$

$$C^* = \sqrt{a^{*2} + b^{*2}} \quad (2)$$

$$\Delta E = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2} \quad (3)$$

Dónde:

H: ángulo Hue

$C^*$ : Cromaticidad

$\Delta E$ : Cambio de color total

$L^*$ : Luminosidad

$a^*$ : Coloración verde

$b^*$ : Coloración amarilla.

**Anexo 4****Análisis Estadísticos de los Parámetros De Color  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$** *ADEVA para  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$* 

		<b><math>L^*</math></b>	<b><math>a^*</math></b>	<b><math>b^*</math></b>	<b><math>C^*ab</math></b>	<b><math>h^*ab</math></b>
<b>Fuente de Variación</b>	GL	p-valor	p-valor	p-valor	p-valor	p-valor
Total	23					
Tratamientos	7	0.04*	0.46ns	0.20ns	0.11ns	0.03*
Variedad	1	0.11ns	0.40ns	0.12ns	0.09ns	0.08ns
Tiempo	1	0.37ns	0.19ns	0.63ns	0.40ns	0.23ns
Temperatura	1	0.10ns	0.56ns	0.72ns	0.42ns	0.09ns
Variedad*Tiempo	1	0.12ns	0.56ns	0.76ns	0.44ns	0.16ns
Variedad*Temperatura	1	0.14ns	0.94ns	0.70ns	0.40ns	0.13ns
Tiempo*Temperatura	1	0.05ns	0.08ns	0.01*	0.02*	0.05ns
Variedad*Tiempo*Temperatura	1	0.14ns	0.60ns	0.45ns	0.24ns	0.09ns
Error	16					
CV%		1.81	19.89	1.27	1.72	2.58

Nota: \*Significativo. \*\*Altamente Significativo. ns: No significativo, no son significativamente diferentes si  $p > 0.05$

*Tukey al 5% para  $L^*$* 

<b>Variedad</b>	<b>Tiempo</b>	<b>Temperatura</b>	<b>Medias</b>		
Nacional	15	150	30.77	a	
CCN-51	15	150	30.82	a	
Nacional	15	115	30.95	a	b
Nacional	25	115	30.98	a	b
CCN-51	25	115	31.00	a	b
Nacional	25	150	31.07	a	b
CCN-51	25	150	31.08	a	b
CCN-51	15	115	32.44		b

Nota: Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

*Tukey para h\*ab*

<b>Variedad</b>	<b>Tiempo</b>	<b>Temperatura</b>	<b>Medias</b>	<b>Agrupación</b>	
CCN-51	15	115	80.74	a	
CCN-51	25	150	86.32	a	b
CCN-51	25	115	86.75	a	b
Nacional	25	150	86.84	a	b
Nacional	15	115	86.85	a	b
Nacional	25	115	86.93	a	b
Nacional	15	150	87.32		b
CCN-51	15	150	87.37		b

Nota: Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

## Anexo 5

### *Determinación de Atributos Sensoriales en Pasta de Cacao*

Instrucciones:

Por favor, pruebe las muestras e indique su nivel de intensidad marcando con el número que corresponda según la escala de la parte izquierda. Su sinceridad es muy importante, hágalo con total honestidad.

Nota: Comer una galleta y beber agua al terminar de evaluar cada muestra, con el fin de que no exista combinación de muestras anteriores.

Sabor	Descripción
Acidez	Sabor ácido, que se relaciona con frutas cítricas y vinagre.
Amargor	Sabor fuerte, que se relaciona con el café, cerveza caliente y la toronja.
Astringencia	Provoca sequedad en la boca y aumento de salivación.

Puntaje	Intensidad
5	Muy intensa
4	Intensa
3	Moderado
2	Débil
1	Muy débil
0	Ausente

Categoría	Muestras			
	630	527	994	925
Aroma				
Acidez				
Amargor				
Astringencia				

Ordene de mayor a menor las muestras, en cuanto a sus categorías:

Aroma	Acidez	Amargor	Astringencia

Ordene de acuerdo con su preferencia:

Puntaje	Intensidad
4	Me gusta mucho
3	Me gusta moderadamente
2	Me disgusta moderadamente
1	Me disgusta mucho

630 _____ 527 _____ 994 _____ 925 _____
---

¡Gracias por su colaboración!

## Anexo 6

*Requisitos de Calidad para Grano de Cacao de Acuerdo a la Norma INEN 0176*

NTE INEN 176

2006-10

**TABLA 1. Requisitos de calidad del cacao en grano beneficiado**

REQUISITOS	UNIDAD	ARRIBA					CCN51
		A.S.S.P.S	A.S.S.S	A.S.S	A.S.N.	A.S.E.	
Cien granos pesan	g	135-140	130-135	120-125	110-115	105-110	135-140
Buena fermentación (mín.)	%	75	65	60	44	26	***65
Ligera fermentación* (mín.)	%	10	10	5	10	27	11
Violeta (máx.)	%	10	15	21	25	25	18
Pizarroso (pastoso) (máx)	%	4	9	12	18	18	5
Moho (máx.)	%	1	1	2	3	4	1
TOTALES ( análisis sobre 100 pepas)	%	100	100	100	100	100	100
Defectuosos ( análisis sobre 500 gramos) (máx).	%	0	0	1	3	**4	1
TOTAL FERMENTADO (mín.)	%	85	75	65	54	53	76
A.S.S.P.S	Arriba Superior Summer Plantación selecta						
A.S.S.S	Arriba Superior Summer Selecto						
A.S.S.	Arriba Superior Selecto						
A.S.N.	Arriba Superior Navidad						
A.S.E.	Arriba superior Época						
* Coloración marrón violeta							
** Se permite la presencia de granza solamente para el tipo A.S.E.							
*** La coloración varía de marrón a violeta							

**Requisitos de Calidad para Pasta de Cacao de Acuerdo a la Norma INEN 0623**

**5. REQUISITOS DEL PRODUCTO**

**5.1** La pasta de cacao sometida a ensayos, de acuerdo a las normas ecuatorianas correspondientes, deberá cumplir con los requisitos establecidos en las Tablas 1 y 2.

**TABLA 1. Requisitos para pasta de cacao**

REQUISITOS	Unidad	Mínimo	Máximo	Método de Ensayo
Grasa	%	48	54	INEN 535
Humedad	%	—	3	INEN 1 676
Almidón natural de cacao	%	8,5	9,0	INEN 636
Fibra cruda	%	—	4,7	INEN 534
Cenizas totales	%	—	7,5 alcalinizada 5 normal	INEN 533

**TABLA 2. Requisitos microbiológicos**

REQUISITOS	UNIDAD	MÁXIMO	MÉTODO DE ENSAYO
Mohos y levaduras	u.f.c*/g	100	INEN 1 529
Coniformes	u.f.c*/g	10	INEN 1 529
E. Coli	u.f.c*/g	1	INEN 1 529
Salmonella	u.f.c*en 25 g	0	INEN 1 529

u.f.c. = unidades formadoras de colonias

## Anexo 7

MC-LSAIA-2201-07



**INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACIONES AGROPECUARIAS**  
**ESTACIÓN EXPERIMENTAL SANTA CATALINA**  
**DEPARTAMENTO DE NUTRICIÓN Y CALIDAD**  
**LABORATORIO DE SERVICIO DE ANÁLISIS E INVESTIGACIÓN EN ALIMENTOS**  
 Panamericana Sur Km. 1, Cutuglagua Tlts. 2690691-3007134. Fax 3007134  
 Casilla postal 17-01-340



**INFORME DE ENSAYO No: 23-035**

<b>**NOMBRE PETICIONARIO:</b>	Srta. Jeimy Pujota	<b>**INSTITUCIÓN:</b>	Universidad Técnica del Norte
<b>**DIRECCIÓN:</b>	Srta. Jeimy Pujota	<b>**ATENCIÓN:</b>	Srta. Jeimy Pujota
<b>FECHA DE EMISIÓN:</b>	Juan Montalvo/ Cayambe	<b>FECHA DE RECEPCIÓN:</b>	03/03/2023
<b>FECHA DE ANÁLISIS:</b>	27/03/2023	<b>HORA DE RECEPCIÓN:</b>	10h15
	Del 03 al 27 de marzo del 2023	<b>ANÁLISIS SOLICITADO</b>	Poli fenoles Capacidad Antioxidante (ABTS)

ANÁLISIS	HUMEDAD	POLIFENOLES Ω	CAPACIDAD ANTIOXIDANTE Ω	**IDENTIFICACIÓN
MÉTODO	MO-LSAIA-01.01	MO-LSAIA-31	MO-LSAIA-33	
METODO REF.	U. FLORIDA 1970	Cross, E. y Maringo, G. 1973/1982	ABTS	
UNIDAD	%	mg Ac. Gálico/g	µm Trolox/g	
23-0268	3.52	98.07	811.32	Grano de Cacao MI 1
23-0269	4.27	62.49	616.83	Grano de Cacao MI 2
23-0270	3.31	68.14	710.01	Pasta de Cacao T1 R1
23-0271	2.88	63.88	707.87	Pasta de Cacao T1 R2
23-0272	2.94	69.86	662.21	Pasta de Cacao T1 R3
23-0273	3.46	45.05	473.74	Pasta de Cacao T2 R1
23-0274	3.36	42.47	460.97	Pasta de Cacao T2 R2
23-0275	2.65	43.53	435.69	Pasta de Cacao T8 R2
23-0276	2.88	52.57	548.77	Pasta de Cacao T3 R1
23-0277	2.45	56.03	535.77	Pasta de Cacao T3 R2
23-0278	2.36	59.23	530.11	Pasta de Cacao T3 R3
23-0279	3.09	45.61	448.68	Pasta de Cacao T4 R1
23-0280	2.65	49.92	449.34	Pasta de Cacao T4 R2
23-0281	3.24	62.18	578.64	Pasta de Cacao T5 R1

Página 1 de 2

MC-LSAIA-2201-07



**INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACIONES AGROPECUARIAS**  
**ESTACIÓN EXPERIMENTAL SANTA CATALINA**  
**DEPARTAMENTO DE NUTRICIÓN Y CALIDAD**  
**LABORATORIO DE SERVICIO DE ANÁLISIS E INVESTIGACIÓN EN ALIMENTOS**  
 Panamericana Sur Km. 1, Cutuglagua Tlts. 2690691-3007134. Fax 3007134  
 Casilla postal 17-01-340



**INFORME DE ENSAYO No: 23-035**

ANÁLISIS	HUMEDAD	POLIFENOLES Ω	CAPACIDAD ANTIOXIDANTE Ω	**IDENTIFICACIÓN
MÉTODO	MO-LSAIA-01.01	MO-LSAIA-31	MO-LSAIA-33	
METODO REF.	U. FLORIDA 1970	CROS E Y MARIGO G. (1982/1973)	ABTS	
UNIDAD	%	mg Ac. Gálico/L	µm Trolox/g	
23-0282	3.16	65.64	592.27	Pasta de Cacao T5 R2
23-0283	2.40	63.50	596.63	Pasta de Cacao T5 R3
23-0284	2.48	36.58	378.04	Pasta de Cacao T6 R1
23-0285	2.37	38.28	407.67	Pasta de Cacao T6 R2
23-0286	2.32	40.15	552.66	Pasta de Cacao T7 R1
23-0287	2.14	42.66	544.06	Pasta de Cacao T7 R2
23-0288	2.27	48.29	492.32	Pasta de Cacao T7 R3
23-0289	3.36	52.77	549.62	Pasta de Cacao T8 R1

Los ensayos marcados con Ω se reportan en base seca.

OBSERVACIONES: Muestra entregada por el cliente

## RESPONSABLES DEL INFORME



VERÓNICA ALBAERDA  
ARIAS BUSTOS  
Quim. Verónica Arias  
RESPONSABLE TÉCNICO



BLADIMIR ESPAIN  
ORTIZ RAMOS  
Ing. Bladimir Ortiz  
RESPONSABLE CALIDAD

Este documento no puede ser reproducido ni total ni parcialmente sin la aprobación escrita del laboratorio.

Los resultados arriba indicados solo están relacionados con el objeto de ensayo.

**NOTA DE DESCARGO:** La información contenida en este informe de ensayo es de carácter confidencial, está dirigida únicamente al destinatario de la misma y solo podrá ser usada por este. Si el lector de este correo electrónico o fax no es el destinatario del mismo, se le notifica que cualquier copia o distribución de este se encuentra totalmente prohibido. Si usted ha recibido este informe de ensayo por error por favor notifique inmediatamente al remitente por este mismo medio y elimine la información. La información entregada por el cliente y generada durante las actividades de laboratorio es de carácter confidencial, está dirigida únicamente al destinatario de la misma y solo puede ser usada por este. Los datos marcados con Ω son suministrados por el cliente. El laboratorio no se responsabiliza por esta información.

Página 2 de 2