



**UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE**  
**FACULTAD INGENIERÍA EN CIENCIAS**  
**AGROPECUARIAS Y AMBIENTALES**

**CARRERA DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL**

**“EVALUACIÓN DE LOS PARÁMETROS TIEMPO, TEMPERATURA Y  
VARIEDAD EN EL PROCESO DE TOSTADO DE CACAO *Theobroma  
cacao* L. PARA LA OBTENCIÓN DE PASTA”**

TESIS PREVIA A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE  
INGENIERA AGROINDUSTRIAL

**AUTORA:** Jhoana Graciela Morales Cacuango

**DIRECTOR:** Ing. Nicolás Sebastián Pinto Mosquera MSc.

**Ibarra- Ecuador**

**2022**

# UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE

## FACULTAD INGENIERÍA EN CIENCIAS AGROPECUARIAS Y AMBIENTALES

### CARRERA DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL

#### “EVALUACIÓN DE LOS PARÁMETROS TIEMPO, TEMPERATURA Y VARIEDAD EN EL PROCESO DE TOSTADO DE CACAO *Theobroma cacao* L. PARA LA OBTENCIÓN DE PASTA”

Tesis revisada por los miembros del tribunal, por lo cual se autoriza su  
presentación como requisito parcial para obtener el título de:

#### INGENIERA AGROINDUSTRIAL

APROBADA

Ing. Nicolás Pinto MSc.  
**DIRECTOR DE TESIS**

  
**FIRMA**

Ing. Luis Manosalvas MSc.  
**OPOSITOR**

  
**FIRMA**

Ing. Juan Pablo Aragón MSc.  
**OPOSITOR**

  
**FIRMA**



# 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			
<b>CÉDULA DE IDENTIDAD:</b>	1724430838		
<b>APELLIDOS Y NOMBRES:</b>	Morales Cacuango Jhoana Graciela		
<b>DIRECCIÓN:</b>	Comunidad San José Chico-Tabacundo		
<b>EMAIL:</b>	jgmorelesc@utn.edu.ec		
<b>TELÉFONO FIJO:</b>		<b>TELÉFONO MÓVIL:</b>	0982530969

DATOS DE LA OBRA	
<b>TÍTULO:</b>	“Evaluación de los parámetros tiempo, temperatura y variedad en el proceso de tostado de cacao <i>Theobroma cacao</i> L. para la obtención de pasta”
<b>AUTOR:</b>	Morales Cacuango Jhoana Graciela
<b>FECHA:</b>	06/10/2022
<b>PROGRAMA:</b>	<input checked="" type="checkbox"/> <b>PREGRADO</b> <input type="checkbox"/> <b>POSGRADO</b>
<b>TITULO POR EL QUE OPTA:</b>	Ingeniera Agroindustrial
<b>ASESOR /DIRECTOR:</b>	Ing. Nicolás Sebastián Pinto Mosquera MSc.

## 2. CONSTANCIAS

El autor 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 de terceros.

Ibarra, a los 6 días del mes de octubre de 2022.

**LA AUTORA:**



---

Morales Cacuango Jhoana Graciela  
CI:1724430838

## **CERTIFICACIÓN DE AUTORÍA**

Certifico que el presente trabajo fue desarrollado por la señorita Morales Cacuango Jhoana Graciela con cédula de identidad 1724430838, bajo mi supervisión.



Ing. Nicolás Pinto Msc.  
**DIRECTOR DE TESIS**

## AGRADECIMIENTO

La culminación de esta etapa me deja grandes experiencias y aprendizajes que quedarán plasmados en mi memoria a lo largo de mi existencia.

En este escrito quiero agradecer fraternalmente a mi familia, por el ser el pilar de cada proceso de formación, por brindarme aliento, ser mi fuerza y soporte en todas las circunstancias que se han presentado, a mi madre en especial, porque sin su ayuda la escalada a los objetivos no tuviera inicio.

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, a mi tribunal asesor, Ing. Nicolás Pinto, Ing. Luis Manosalvas e Ing. Juan Pablo Aragón, por su valiosa guía durante el desarrollo y ejecución de mi trabajo de titulación.

A la Asociación de Productores Lita, muy especialmente a la familia Cuasaluzán García, quienes me han extendido su mano y brindado su ayuda y apoyo durante mi estancia en APL.

A Pame, Cris, Erikita, Pao, Katy mis grandes amigos con quienes he compartido experiencias, consejos, ayuda y buenos momentos, gracias por que hicieron de esta etapa universitaria una de las más memorables y bonitas.

Finalmente, a todos aquellos quienes me dieron ánimos, a aquellos quienes me enseñaron a no desistir frente a las adversidades dolorosas pero pasajeras, a todos aquellos que creyeron en mí, y sembraron esperanzas para tomar acciones y conseguir metas, a todos ustedes, muchas gracias desde el fondo de mi corazón.

**Jhoa**

## DEDICATORIA

Este logro académico se lo dedico:

A Mercedes C., mi madre, mi guerrera incansable, por las innumerables veces que se apretó el corazón para permitirme ser quien soy confiando en mi capacidad para cometer errores y celebrar los aciertos, gracias, madre mía por todo el apoyo desde mi existencialidad. ¡Este es nuestro triunfo!

A mis abuelitos adorados Magdalena y Manuel y a mi tía Rosi, mi inspiración y motivo de perseverancia, quienes a pesar de todos los acontecimientos estarán junto a mi eternamente.

A mi hermana Cinthi, mi cómplice y amiga quien ha permanecido con su ayuda y ánimo en cada proceso vivencial.

Y a mis ángeles de colita L, V, B, J, B, L, que han transmutado mis emociones y han sido la suma de alegría, compañía y amor sin medidas.

¡Los amo!

**Jhoa**

# ÍNDICE DE CONTENIDO

ÍNDICE DE TABLAS .....	vi
ÍNDICE DE FIGURAS.....	viii
ÍNDICE DE ANEXOS .....	x
RESUMEN .....	xi
ABSTRACT.....	xii
CAPÍTULO I .....	1
INTRODUCCIÓN .....	1
1.1. PROBLEMA.....	1
1.2. JUSTIFICACIÓN .....	3
1.3. OBJETIVOS .....	4
1.3.1. Objetivo General.....	4
1.3.2. Objetivos Específicos.....	4
1.4. HIPÓTESIS DE TRABAJO .....	4
1.4.1. Hipótesis Nula.....	4
1.4.2. Hipótesis Alternativa .....	4
CAPÍTULO II .....	5
MARCO TEÓRICO.....	5
2.1. GENERALIDADES DEL CACAO .....	5
2.2. HISTORIA Y ORIGEN .....	6
2.3. PRODUCCIÓN E IMPORTANCIA EN LA ECONOMÍA ECUATORIANA .....	7

2.4.	VARIEDADES .....	8
2.4.1.	Cacao Nacional .....	8
2.4.2.	Cacao CCN- 51 .....	9
2.5.	COMPOSICIÓN FÍSICA DEL FRUTO DE CACAO .....	11
2.6.	COMPONENTES BIOACTIVOS DEL CACAO .....	12
2.6.1.	Fenoles Totales .....	13
2.6.2.	Teobromina .....	13
2.6.3.	Capacidad Antioxidante/ Actividad Antioxidante .....	14
2.7.	COSECHA Y POSCOSECHA DEL CACAO .....	15
2.7.1.	Cosecha .....	15
2.7.2.	Quiebra .....	17
2.7.3.	Prefermentación .....	17
2.7.4.	Fermentación .....	18
2.7.5.	Secado y Almacenamiento .....	22
2.8.	PROCESO DE OBTENCIÓN DE PASTA DE CACAO .....	22
2.8.1.	Selección .....	22
2.8.2.	Limpieza y Clasificación .....	23
2.8.3.	Tostado .....	23
2.8.4.	Descascarillado .....	24
2.8.5.	Triturado y Molienda .....	25

2.8.6. Empacado.....	25
2.9. EFECTOS DE LOS COMPONENTES DEL CACAO FRENTE A LOS PROCESOS DE TRANSFORMACIÓN.....	25
2.10. USOS DEL CACAO.....	26
2.10.1. Elaborados.....	26
2.10.2. Semielaborados.....	26
CAPÍTULO III.....	28
MATERIALES Y MÉTODOS.....	28
3.1. CARACTERIZACIÓN DEL ÁREA DE ESTUDIO.....	28
3.1.1. Fase de Campo.....	28
3.1.2. Fase de Laboratorio.....	28
3.2. MATERIALES Y EQUIPOS.....	29
3.3. DESCRIPCIÓN DE LA METODOLOGÍA.....	31
3.3.1. Determinar las Características Físicoquímicas de las Semillas de Cacao de las Variedades Nacional y CCN-51.....	31
3.3.2. Evaluar los Parámetros de Temperatura y Tiempo en el Proceso de Tostado Sobre la Capacidad Antioxidante, Teobromina y Fenoles Totales de las Dos Variedades de Cacao.....	33
3.3.3. Determinar la Aceptabilidad Sensorial de la Pasta de Cacao.....	35
3.4. MANEJO ESPECÍFICO DEL EXPERIMENTO.....	36
3.4.1. Descripción del Proceso.....	37
CAPÍTULO IV.....	46

RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	46
4.1. DETERMINACIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS FISICOQUÍMICAS DE LAS SEMILLAS DE CACAO DE LAS VARIEDADES NACIONAL Y CCN51 .....	46
4.1.1. Humedad.....	47
4.1.2. Tamaño del Grano.....	47
4.1.3. Porcentaje de Fermentación.....	48
4.1.4. Capacidad Antioxidante.....	49
4.1.5. Fenoles Totales .....	50
4.1.6. Teobromina.....	51
4.2. EVALUACIÓN LOS PARÁMETROS DE TEMPERATURA Y TIEMPO EN EL PROCESO DE TOSTADO SOBRE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE, TEOBROMINA Y FENOLES TOTALES DE LAS DOS VARIEDADES DE CACAO .....	52
4.2.1. Capacidad Antioxidante.....	52
4.2.1. Fenoles Totales .....	60
4.3. DETERMINACIÓN DE LA ACEPTABILIDAD SENSORIAL DE LA PASTA DE CACAO.....	69
4.3.1 Olor .....	71
4.3.2. Color .....	73
4.3.3. Sabor .....	74
4.3.4. Aceptabilidad Global .....	75
CAPÍTULO V.....	78

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES .....	78
5.1 CONCLUSIONES .....	78
5.2 RECOMENDACIONES.....	79
BIBLIOGRAFÍA .....	80
ANEXOS .....	93

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Cambios Bioquímicos en la Fermentación.....	19
Tabla 2 Cambios Físicos Ocurridos en el Proceso de Fermentación.....	20
Tabla 3 Condiciones Climatológicas de la Parroquia Lita- Centro de Acopio de Frutales APL.	28
Tabla 4 Datos Informativos del Área de Estudio.....	29
Tabla 5 Materiales y Equipos Utilizados en el Proyecto de Investigación.....	29
Tabla 6 Métodos Utilizados Para el Estudio de las Semillas de Cacao.....	32
Tabla 7 Factores en Estudio.....	33
Tabla 8 Nomenclatura de los Tratamientos.....	33
Tabla 9 Modelo de ADEVA.....	34
Tabla 10 Caracterización Fisicoquímica de la Materia Prima.....	46
Tabla 11 Análisis de Varianza para Capacidad Antioxidante.....	53
Tabla 12 Prueba de Tukey al 5% para Capacidad Antioxidante.....	54
Tabla 13 Prueba DMS (Diferencia Mínima Significativa) para Factores Tiempo (A) y Variedad (C).....	56
Tabla 14 Prueba de Kruskal-Wallis para Fenoles Totales.....	60
Tabla 15 Prueba de Ranking para Fenoles Totales.....	61
Tabla 16 Prueba de Kruskal Wallis para Factores Tiempo, Temperatura y Variedad en el Contenido de Fenoles Totales.....	62
Tabla 17 Prueba DMS (Diferencia Mínima Significativa) para los Niveles de los Factores Tiempo y Temperatura en el Contenido de Fenoles Totales.....	62
Tabla 18 Prueba de Kruskal-Wallis Para el Contenido de Teobromina.....	65
Tabla 19 Prueba de Ranking para Teobromina.....	66

Tabla 20 Prueba de Kruskal Wallis para los Factores Tiempo, Temperatura y Variedad en el contenido de Teobromina. ....	67
Tabla 21 Prueba DMS (Diferencia Mínima Significativa) para los Niveles de los Factores Tiempo y Temperatura en el Contenido de Teobromina. ....	67
Tabla 22 Resumen de los Compuestos Bioactivos de las Semillas de Cacao Fermentadas, Secas y Tostadas .....	68

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Planta de cacao. A) Tallo y hojas. B) Flores. C) Mazorca. D) Granos .....	5
Figura 2 Vestigio de Cacao Encontrado en el Cantón Palanda. ....	6
Figura 3 Principales Exportadores Mundiales de Cacao en Grano 2020.....	8
Figura 4 Fruto del Cacao Nacional. ....	9
Figura 5 Fruto del Cacao CCN-51. ....	10
Figura 6 Composición de la Mazorca de Cacao. ....	11
Figura 7 Composición Física de la Semilla de Cacao.....	11
Figura 8 Estados de Madurez Fisiológica de las Variedades de Cacao.....	15
Figura 9 Semilla de Cacao Fermentada. ....	21
Figura 10 Proceso de Obtención de Pasta de Cacao. ....	36
Figura 11 Cosecha de Mazorcas de Cacao a) Variedad CCN-51 y b) Variedad Nacional.....	37
Figura 12 Corte de Mazorcas. ....	37
Figura 13 Extracción de Semillas de Cacao. ....	38
Figura 14 Recepción y Pesado de Materia Prima. ....	38
Figura 15 Prefermentación de Cacao Variedad CCN-51.....	39
Figura 16 Proceso de Fermentación a) Cajones de Fermentación Tipo Escalera. b) Colocado de Cacao en Cajones. c) Cubierto de Masa de Cacao con Hojas de Plátano y Sacos de Yute.....	40
Figura 17 Proceso de Fermentación de Cacao- Fase Oxidativa. ....	41
Figura 18 Proceso de Secado de Cacao Bajo Marquesina.....	41
Figura 19 Proceso de Selección y Clasificación a) Selección y Clasificación de Granos de Cacao. b) Cribas de Clasificación. c) Selección de Granos Nivel 2. ....	42
Figura 20 Pesado A) y Almacenado B) de Granos de Cacao. ....	42

Figura 21	Proceso de Tostado de Cacao. a) Pesado de Materia Prima. b) Alimentación del Tostador. c) Ajuste de parámetros. d) Descarga de granos tostados. ....	43
Figura 22	Proceso de Descascarillado. a) Alimentación. b) Nibs. c) Cascarilla .....	44
Figura 23	Triturado de Cacao. a) Alimentación. b) Licor de cacao. ....	45
Figura 24	Moldeado y Empacado de Pasta de Cacao.....	45
Figura 25	Capacidad Antioxidante en Granos de Cacao Fermentado y Tostado. ....	53
Figura 26	Interacción de los Factores A (Tiempo de Tostado) y B (Temperatura de Tostado) Sobre la Capacidad Antioxidante.....	57
Figura 27	Interacción de los Factores A (Tiempo de Tostado) y C (Variedad) Sobre la Capacidad Antioxidante.....	58
Figura 28	Interacción de los Factores B (Temperatura de Tostado) y C (Variedad) Sobre la Capacidad Antioxidante.....	59
Figura 29	Contenido de Fenoles Totales en Muestras de Cacao Fermentado, Seco y Tostado. .	60
Figura 30	Contenido de Teobromina en Muestras de Cacao Fermentado, Seco y Tostado. ....	64
Figura 31	Representación Gráfica de la Aceptabilidad Sensorial de la Pasta de Cacao.....	70
Figura 32	Aceptabilidad Sensorial de Olor en Muestras de Pasta de Cacao. ....	71
Figura 33	Aceptabilidad Sensorial de Color en Muestras de Pasta de Cacao. ....	73
Figura 34	Aceptabilidad Sensorial de Sabor en Muestras de Pasta de Cacao. ....	74
Figura 35	Aceptabilidad Global de la Pasta de Cacao.....	75

## ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1 Normativa INEN 0177:95.....	93
Anexo 2 Normativa INEN 175:1986-12.....	99
Anexo 3 Normativa INEN 176:2018-2.....	102
Anexo 4 Ficha Para la Evaluación de Aceptabilidad Sensorial de la Pasta de Cacao. ....	106
Anexo 5 Resultado de Análisis de Laboratorio. ....	107

# EVALUACIÓN DE LOS PARÁMETROS TIEMPO, TEMPERATURA Y VARIEDAD EN EL PROCESO DE TOSTADO DE CACAO *Theobroma cacao* L. PARA LA OBTENCIÓN DE PASTA

**Autora:** Jhoana Graciela Morales Cacuangó

**Director:** Ing. Nicolás Sebastián Pinto Mosquera

**Año:** 2022

## RESUMEN

La presente investigación tuvo como objetivo evaluar los parámetros tiempo y temperatura en el proceso de tostado de granos de cacao *Theobroma cacao* L. de dos variedades (Nacional y CCN-51) cultivadas en la parroquia Lita provincia de Imbabura, sobre la capacidad antioxidante, fenoles totales y teobromina. El estudio se realizó mediante las fases de campo y laboratorio, mismas que permitieron obtener las muestras de estudio y evaluarlas para analizar la interacción de los factores frente a los compuestos de interés; posteriormente para conocer la aceptabilidad del producto resultante, los granos de cacao fueron transformados en pasta. Los resultados mostraron que el contenido de compuestos bioactivos: polifenoles totales y teobromina de los granos de cacao fermentados y secos de todos los tratamientos fueron superiores en comparación con los granos de cacao tostados. Con respecto a la capacidad antioxidante, las semillas de cacao tostadas mostraron un incremento paulatino conforme la acción del tratamiento térmico, es así como los granos tostados a 130 °C durante 30 minutos mostraron mayor concentración de antioxidantes. Por otro lado, los granos fermentados y secos de la variedad CCN-51 presentaron concentraciones superiores de compuestos bioactivos en comparación con las semillas fermentadas y secas de la variedad Nacional, sin embargo, tras el tostado, se evidenció la resistencia de la variedad Nacional frente a los factores tiempo y temperatura, pues la variedad Nacional presentó contenido de compuestos bioactivos superiores a la variedad CCN-51. Con respecto a la evaluación sensorial, la calificación hedónica mostró que los tratamientos T1 (Variedad Nacional tostado a 120°C por 20 minutos) y T8 (Variedad Nacional, tostado a 130 °C durante 30 minutos) y T5 (Variedad CCN-51, tostado a 130 °C durante 30 minutos), mostraron mejores atributos de olor, sabor, color y aceptabilidad global.

**Palabras clave:** Cacao, compuestos bioactivos, capacidad antioxidante, teobromina, fenoles totales.

# EVALUATION OF TIME, TEMPERATURE AND VARIETY PARAMETERS IN THE COCOA ROASTING PROCESS *Theobroma cacao* L. FOR OBTAINING PASTE

**Author:** Jhoana Graciela Morales Cacuango

**Director:** Ing. Nicolás Sebastián Pinto Mosquera

**Year:** 2022

## ABSTRACT

The objective of this research was to evaluate the time and temperature parameters in the roasting process of cocoa beans *Theobroma cacao* L. of two varieties (Nacional and CCN-51) on the antioxidant capacity, total phenols and theobromine. The study was carried out through the field and laboratory phases, the same ones that allowed obtaining the study samples (fermented and dry seeds and roasted seeds) and evaluating them to analyze the interaction of the factors raised against the bioactive compounds of interest; later, to know the acceptability of the resulting product, the cocoa beans were transformed in paste and evaluated sensorially. The results showed that the content of bioactive compounds: total polyphenols and theobromine of fermented and dried cocoa beans from all treatments were higher compared to roasted cocoa beans. Regarding the antioxidant capacity, the roasted cocoa beans showed a gradual increase according to the action of the heat treatment, so that the beans roasted at 130 °C for 30 minutes showed a higher concentration of antioxidants. On the other hand, the fermented and dry grains of the CCN-51 variety presented higher concentrations of bioactive compounds compared to the fermented and dry seeds of the Nacional variety, however, after roasting, the resistance of the Nacional variety against to the time and temperature factors, since the Nacional variety presented higher content of bioactive than the CCN-51 variety. Regarding sensory evaluation treatments T1 (National Variety roasted at 120°C for 20 minutes) and T8 (National Variety, roasted at 130°C for 30 minutes) showed better attributes in terms of smell, taste, color and overall acceptability.

**Keywords:** Cocoa, bioactive compounds, antioxidant capacity, theobromine, total phenols.

# CAPÍTULO I

## INTRODUCCIÓN

### 1.1.PROBLEMA

El cacao *Theobroma cacao* L. es un producto agroalimentario que se ha caracterizado a lo largo de la historia por constituir una alternativa económica y sostenible para los pequeños productores. “Desde hace más de dos siglos, el cacao en grano se ha destacado como un rubro de gran importancia comercial a nivel mundial por ser utilizado como materia prima para la obtención de confites, bebidas, productos cosmetológicos y farmacéuticos” (Del Rosario Castro et al., 2017).

El cacao en Ecuador se cultiva en distintas provincias, siendo más representativo a nivel del litoral y la Amazonía, convirtiéndose en el tercer rubro agropecuario de exportación más importante, representando una producción anual del Producto Interno Bruto del 6,7% (Quiroz & Agama, 2020).

En la Parroquia Lita perteneciente al cantón Ibarra, provincia de Imbabura, en el año 2007 se inicia el cultivo de cacao; tradicionalmente los productores han establecido nexos de comercialización de cacao directamente con comerciantes intermediarios a nivel de finca y en centros de acopio de la ciudad de San Lorenzo.

No obstante, Torres, (2020) menciona que en el año 2018 con la finalidad de acopiar y acondicionar productos de la zona, la Asociación Integral para el Desarrollo de Productores Lita APL, ejecuta el proyecto denominado implementación de un Centro de Acopio para la poscosecha, comercialización y procesamiento de cacao, con la finalidad de incorporar valor agregado y mejorar los requerimientos económicos de productores de la zona.

Sin embargo, a pesar de contar con un centro de acopio para cacao y el equipamiento para su procesamiento, el desconocimiento de procesos productivos de industrialización han

conllevado a que los productores y miembros de APL, realicen prácticas empíricas de procesamiento obteniendo un producto de características sensoriales poco agradables que no satisfacen el requerimiento para la comercialización, originando con ello pérdidas productivas y a la vez la comercialización directa en mercados informales, los cuales no retribuyen el valor de un producto como comercio justo para los productores.

El cacao para ser comercializado como pasta y ser utilizado como ingrediente en el procesamiento de chocolate es sometido a la operación de tostado, donde el mismo juega un rol importante como precursor de sabor y aroma del producto final debido a la interacción de compuestos químicos asociados al grano.

Dentro de la producción de pasta de cacao existen varios factores que intervienen directamente con la calidad y se consideran de mayor influencia en la adición de valor agregado, por lo tanto, identificar el comportamiento de los parámetros dentro del proceso de tostado es de gran importancia debido a la dependencia de la calidad del producto.

## 1.2. JUSTIFICACIÓN

El Ecuador ha sido reconocido a nivel mundial por poseer el mejor cacao con características distintivas de sabor y aroma muy cotizados entre los fabricantes de chocolate. Continuamente el desarrollo tecnológico y científico se basa en potenciar las propiedades sensoriales y nutricionales que el cacao posee para elaborar productos nutritivos y de excelente calidad (Abad, Salgado, et al., 2020)

El proyecto se enfoca en estudiar como los factores tiempo, temperatura y variedad influyen en el proceso de tostado de cacao *Theobroma cacao* L. para la obtención de una pasta con características aceptables, analizando principalmente el comportamiento de los compuestos químicos como polifenoles y teobromina que son los responsables en gran medida de la organolepsia (acidez, astringencia y amargor) de la pasta de cacao y también su aporte de propiedades antioxidantes.

El trabajo de investigación propuesto pretende dar a conocer a los miembros de APL y productores el proceso de obtención de pasta de cacao, dando una visión más profunda al tostado de los granos, al establecer los parámetros adecuados de tiempo y temperatura para estandarizar un producto que cubra con las necesidades para su comercialización y uso en chocolatería, con el fin de reducir pérdidas productivas y obtener un producto de mejor calidad, mismo que cumpla con las exigencias del mercado a nivel nacional e internacional.

### **1.3.OBJETIVOS**

#### ***1.3.1. Objetivo General***

Evaluar los parámetros tiempo, temperatura y variedad en el proceso de tostado del cacao *Theobroma cacao* L. para la obtención de pasta.

#### ***1.3.2. Objetivos Específicos***

- Determinar las características fisicoquímicas de las semillas de cacao de las variedades Nacional y CCN51.
- Evaluar los parámetros de temperatura y tiempo en el proceso de tostado sobre la capacidad antioxidante, teobromina y fenoles totales de las dos variedades de cacao.
- Determinar la aceptabilidad sensorial de la pasta de cacao.

### **1.4. HIPÓTESIS DE TRABAJO**

#### ***1.4.1. Hipótesis Nula***

**Ho:** El tiempo y temperatura del proceso de tostado no influyen sobre la capacidad antioxidante, teobromina y fenoles totales de las variedades de cacao Nacional y CCN51.

#### ***1.4.2. Hipótesis Alternativa***

**Ha:** El tiempo y temperatura del proceso de tostado influyen sobre la capacidad antioxidante, teobromina y fenoles totales de las variedades de cacao Nacional y CCN51.

## CAPÍTULO II

### MARCO TEÓRICO

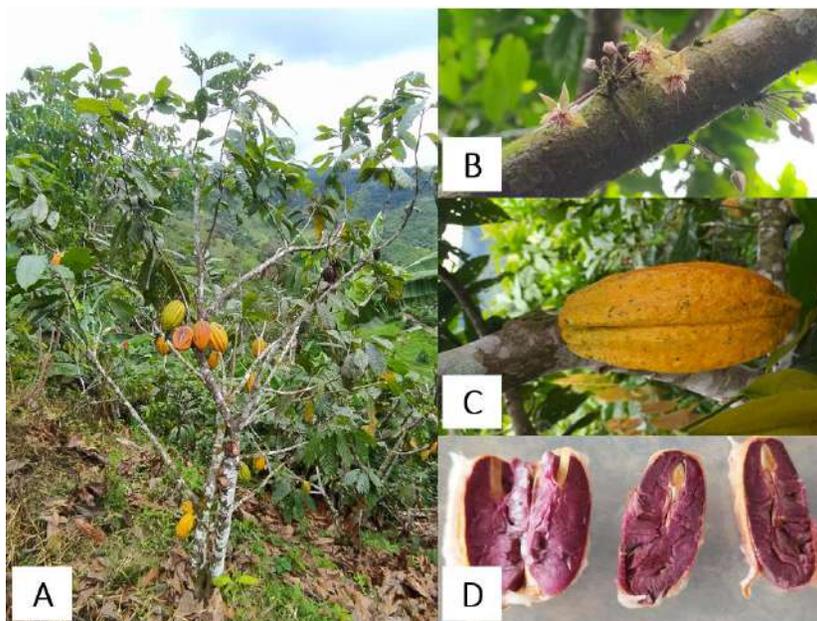
#### 2.1. GENERALIDADES DEL CACAO

El cacao de nombre científico *Theobroma cacao* L., es un árbol proviene de las selvas neotropicales; su cultivo se distribuye en forma natural en los estratos medios de las selvas cálidas húmedas del hemisferio occidental (Chávez et al., 2019).

El árbol de cacao produce un fruto del mismo nombre, el cual encierra en su interior granos o semillas, mismos que son la principal fuente de materia prima para la industria del chocolate y producción de confitería asociados (Wickramasuriya & Dunwell, 2018).

#### Figura 1

*Planta de cacao. A) Tallo y hojas. B) Flores. C) Mazorca. D) Granos*



*Nota:* Fotografías de cacao capturadas en la Parroquia Lita. Fuente: Elaboración propia.

El árbol del cacao es de tamaño mediano con un tallo de entre 4-8 m de altura, sus hojas son coriáceas simples de 17 a 48 cm de largo, en el tallo es común observar pequeñas florecitas que al marchitarse dejan un embrión con el fruto que paulatinamente crece y se convierte en una

baya carnosa. El fruto denominado mazorca, puede alcanzar una longitud de 15 a 25 cm, con 200 a 1000 gr de peso, al abrirlo muestra entre 30 a 40 granos de color café rojizo, ovados, ligeramente comprimidos, que al secarse son empleados en la preparación del chocolate (FAO, 2018).

## **2.2.HISTORIA Y ORIGEN**

La palabra Theobroma al cual atribuye su nombre científico *Theobroma cacao* L. ( Theo +Broma), que en griego significa alimento de Dioses (Cuellar & Ovalles, 2017), fue empleada por Carlos Linneo, como término científico para denominar al árbol del cacao, a raíz de que el famoso gastrónomo holandés Lume de Mireles, al probar el chocolate exclamara la frase “Este es el alimento de los dioses” (Cajas, 2020).

Fernández & Fernández, (2016) señalan que en la época de los Aztecas existían cuatro tipos de semillas de cacao distinguidas por su calidad, el de mejor calidad era utilizado para hacer la bebida chocolatl la que era degustada únicamente por las clases sociales ubicadas en lo más alto de la pirámide. Es probable que las de menor calidad fuera las más utilizadas para el intercambio comercial. La semilla de cacao alcanzó tanta relevancia en la población que llegó a ser falsificada, existiendo jueces en los mercados que evaluaban su autenticidad y calidad.

América Latina es conocida ampliamente por ser cuna del cacao. Varios descubrimientos confirman que por lo menos una variedad de Teobroma cacao tiene su punto de origen en la Amazonía Ecuatoriana. Estudios realizados en la Universidad de Calgari en Canadá, demuestran la evidencia arqueológica hallada en la cultura denominada Mayo Chinchipe donde se comprobó el uso y la domesticación temprana del cacao en el yacimiento Santa Ana-La Florida (Ampuero, 2021).

### **Figura 2**

*Vestigio de Cacao Encontrado en el Cantón Palanda.*



*Nota:* Obtenido de Ministerio de Cultura y Patrimonio EC.

En 1830 tras la constitución del Ecuador, en Vinces y otros cantones de Los Ríos, muchas familias dedicaban sus tierras al cultivo de cacao en grandes haciendas a las que denominaban Grandes Cacao. En el año 1920 Ecuador se convierte en el mayor exportador mundial de cacao, sin embargo, en el mismo año, tras la aparición de enfermedades de la planta se redujo la producción al 30%. Actualmente la mayor parte del cacao ecuatoriano corresponde a una mezcla de nacional y trinitario introducido después del año 1920 por considerarse más resistente a plagas y enfermedades (Abad et al., 2020).

### **2.3. PRODUCCIÓN E IMPORTANCIA EN LA ECONOMÍA ECUATORIANA**

El cultivo de cacao tiene una gran importancia socioeconómica a nivel de América Latina y el Caribe por ser uno de los principales productos de exportación (Vassallo, 2015).

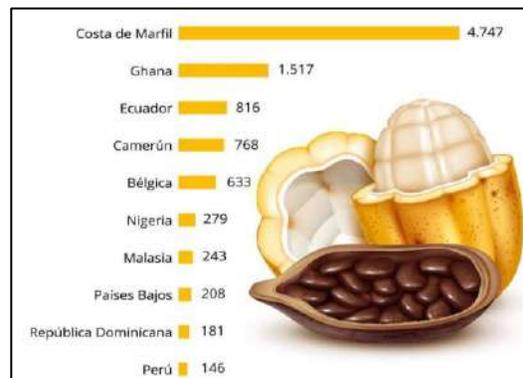
En África se produce la mayor cantidad de cacao en el mundo, siendo Costa de Marfil, Ghana, Nigeria y Camerún los países más representativos con alrededor de 2.752 mil toneladas por año. El continente que le sigue en importancia es el asiático, pues Indonesia produce alrededor de 738 mil toneladas anuales (FAO, 2018).

A nivel de América, históricamente, el Ecuador ha sido uno de los países productores y exportadores más importantes, situándose en 2020 como el tercer principal productor mundial de

cacao en grano. Entre los principales socios comerciales se encuentran: Indonesia, Estados Unidos, Holanda y Malasia (Cobos, 2020).

### Figura 3

#### *Principales Exportadores Mundiales de Cacao en Grano 2020*



*Nota:* Obtenido de (Trade map, 2020)

Ecuador ha sido considerado un país cacaotero, pues las mazorcas se cultivan en 21 provincias, es así que Cobos, (2020) agrega que “el 77% de los cultivos se sitúa en la región costa, 13% en la región sierra y 10% en la región amazónica” cada una con características distintivas que otorgan un gran abanico de variedades, calidad, aroma y sabor.

## 2.4.VARIEDADES

En el Ecuador se cultivan dos especies representativas de *Theobroma cacao*, el Cacao Nacional y el Cacao CCN-51, los cuales se distinguen por características particulares en cuanto a rendimiento, resistencia a plagas y enfermedades, coloración del fruto, cualidades organolépticas, entre otras. A continuación, se describe cada una:

### 2.4.1. *Cacao Nacional*

El cacao Nacional o denominado fino de aroma, constituye una variedad de excelencia, preferida por su deliciosa fragancia e inigualable sabor, siendo de importancia en la economía ecuatoriana de gran representatividad en el mercado mundial (Pesantez & Cabrera, 2021).

#### **Figura 4**

*Fruto del Cacao Nacional.*



*Nota.* Cacao Variedad Nacional fotografiado en la parroquia Lita. Fuente: Elaboración propia.

El cacao nacional presenta mazorcas de color verde cuando se encuentra tierna y se torna amarilla paulatinamente a su maduración. Su forma se asemeja a una papaya con cuello estrecho y bastante redondeada. El tamaño de las almendras por lo general es grande y puede pesar hasta más de 1,5 g, cuando están secas y bien fermentadas (Anecacao, 2015).

Otra característica típica del cacao arriba es que al remover el mucílago de manera adecuada de las semillas al finalizar el secado, estas adquieren un color amarillento, por ello se ganó en el mercado el nombre de la "Pepa de Oro" (FONTAGRO, 2019).

Escobar, (2018) añade que la variedad Nacional tiene características distintivas de aroma y sabor buscadas por los fabricantes de chocolate, sus notas dulces y ácidas sabores tostados delicados, aroma frutal y notas florales convierten a un chocolate en una experiencia sensorial única reconocida por los consumidores de productos premium.

#### **2.4.2. Cacao CCN- 51**

En Ecuador, en el año 1965, luego de varias investigaciones, el agrónomo ambateño Homero Castro Zurita, logró obtener el denominado cacao clonal CCN-51. Castro investigó desde

1952 las diversas variedades del grano y finalmente obtuvo la del tipo 51, la cual se caracteriza por su rendimiento, calidad y tolerancia a las enfermedades, de ahí su nombre Cacao CCN-51 (Andrade et al., 2019).

### **Figura 5**

*Fruto del Cacao CCN-51.*



*Nota.* Cacao Variedad CCN51 fotografiado en la parroquia Lita. Fuente: Elaboración propia.

El fruto del cacao CCN-51 posee una coloración morada rojiza en su estado de desarrollo, adquiriendo una tonalidad rojiza naranja en su estado de madurez, lo que lo distingue de la variedad nacional (Palacios et al., 2021).

Con lo que respecta a las características organolépticas, Jaimez et al., (2022) mencionan que ICCO (Organización Internacional del CACAO) considera que la variedad CCN-51 es un cacao común que carece de muchos atributos florales, afrutados y de frutos secos.

Sin embargo, Teneda, (2016) sostiene que las notas de sabor y aroma que se desarrollan gracias a un adecuado manejo de poscosecha (distinto al proceso del cacao Nacional) y torrefacción hacen que esta variedad sea igual o superior en características sensoriales al cacao Nacional.

## 2.5. COMPOSICIÓN FÍSICA DEL FRUTO DE CACAO

El fruto de cacao posee forma, tamaño y color variable, se compone de cáscara (pericarpio, mesocarpio, endocarpio), semillas recubiertas de mucílago y la placenta (Arvelo Sánchez et al., 2017). En la Figura 6 se aprecia la composición de una mazorca de cacao.

**Figura 6**

*Composición de la Mazorca de Cacao.*

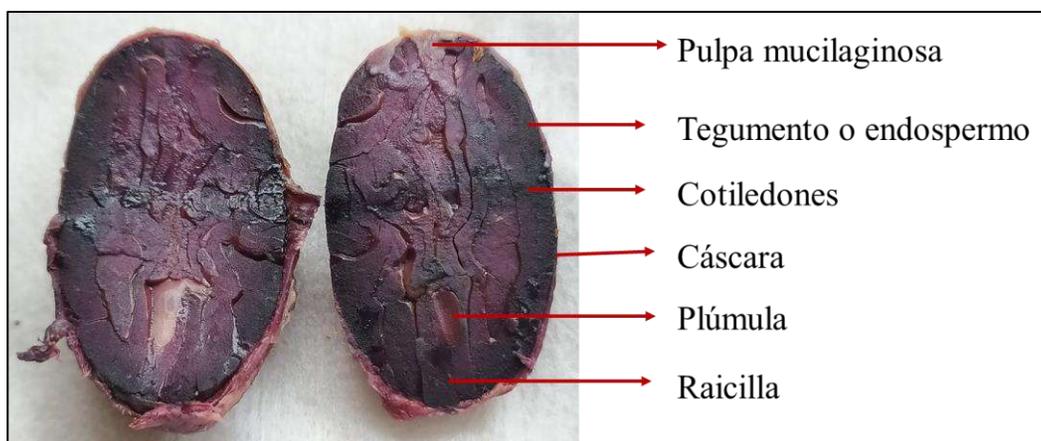


*Nota.* Mazorca de Cacao fotografiado en la parroquia Lita. Fuente: Elaboración propia

La mazorca de cacao en su interior contiene semillas recubiertas de una pulpa aromática la cual procede de sus tegumentos. La pulpa o comúnmente denominada mucílago, está compuesta por células esponjosas parenquimatosas, que contienen células de savia ricas en azúcares (10-13%), pentosas (2-3%), ácido cítrico (1-2%) y sales (8-10%). Durante la fermentación la pulpa provee el sustrato a los microorganismos esenciales para el desarrollo de los precursores de sabor y aroma propios del chocolate, mismos que son expresados en el proceso de tostado (K. Ortiz & Álvarez, 2015).

**Figura 7**

*Composición Física de la Semilla de Cacao.*



*Nota:* Semilla de cacao cortada transversalmente. Fuente: Elaboración propia

## **2.6.COMONENTES BIOACTIVOS DEL CACAO**

El cacao ha sido reconocido a través de la historia por poseer beneficios medicinales tras su ingesta, algunos de los beneficios identificados del cacao y el chocolate incluyen propiedades antioxidantes mismas que de acuerdo con Rawel et al., (2019) aportan en la prevención y tratamiento de alergias, cánceres, lesiones oxidativas, afecciones inflamatorias, ansiedad, hiperglucemia y resistencia a la insulina.

En la antigüedad el cacao fue considerado un producto de muchas virtudes: medicamento, reconstituyente y brebaje de amor; la bebida que se preparaba a base de él resultaba de sabor extraño pero de cualidades notables: excitaba la mente (efecto de la teobromina), brindaba energía (efecto de la cafeína), y generaba una sensación placentera (efecto de la feniletilamina) (Olavarría, 2017).

Por otro lado, los granos de cacao son distinguidos por su composición química compleja, químicamente el mismo está constituido por: grasa (50%), agua (6%), teobromina (1,71%), proteína (9,60%), ceniza (2,5%), carbohidratos totales (30%), fibra (5%) (Andrade et al., 2019).

Factores como la variedad, genética, ambiente, técnicas de cultivo y procesos fermentativos influyen en la composición química (Hernández, 2019).

El cacao además posee componentes con características especiales bioactivas en las que se puede mencionar:

### **2.6.1. Fenoles Totales**

Los fenoles totales o polifenoles son un grupo fitoquímico con efectos potenciales que promueven la salud. Se clasifican en flavonoides (flavonoles, flavanoles, flavonas, flavanonas, isoflavonas, y antocianinas) y moléculas no flavonoides (ácidos fenólicos, ácidos hidroxicinámicos, lignanos, estilbenos, y taninos) (Di Lorenzo et al., 2021).

Los polifenoles presentes en el cacao han sido de gran interés debido a su potencial antioxidante y su posible papel protector en el contexto de enfermedades no transmisibles como la diabetes y las afecciones cardiovasculares. Sin embargo, durante los procesos de poscosecha e industrialización, los compuestos bioactivos se reducen afectando las propiedades promotoras de la salud (Febrianto & Zhu, 2022).

Los principales compuestos fenólicos presentes en las almendras de cacao se localizan en tres grupos, las catequinas o flavan 3-ol que representan el 37% del total; las antocianinas con cerca del 4% y las proantocianidinas con el 58% (J. Ortiz et al., 2019). Los flavanoles, y en particular los flavan-3-oles son los compuestos mas estudiados en el cacao; los principales flavan-3-oles son (-)- epicatequina y (+)-catequina (Di Mattia et al., 2017).

### **2.6.2. Teobromina**

La teobromina es un alcaloide de la familia de las metilxantinas, que también incluyen a la cafeína y a la teofilina, tienen una estructura química similar, de manera pura y es una sustancia incolora a blanca muy amarga (Pareja, 2018).

Los cotiledones de las semillas de cacao representan el 3,7 % de teobromina y cafeína el 0,2% , estas metilxantinas son capaces de alterar el sistema nervioso central de forma moderada,

pero también relaja el músculo liso (los bronquios) por lo cual también ayuda en el tratamiento de enfermedades respiratorias, además son vasodilatadoras lo que quiere decir que mejora la circulación sanguínea (González et al., 2019).

Dentro de la perspectiva de consumo, las semillas de cacao provocan estímulos al sistema nervioso y otros efectos farmacológicos (Vázquez et al., 2016). Sánchez, (2015), menciona que el chocolate está relacionado con la hormona de la felicidad y desde luego el aumento del estado de ánimo. Con lo que respecta a la teobromina López, (2018) agrega que este compuesto produce sensación de bienestar y en comparación con la cafeína, la teobromina no es adictiva y su efecto sobre el cuerpo humano es más duradero.

### ***2.6.3. Capacidad Antioxidante/ Actividad Antioxidante***

Los antioxidantes son compuestos químicos que las células utilizan para neutralizar los radicales libres que se presentan en el cuerpo en forma de moléculas inestables, mismas que constituyen un riesgo por la oxidación de las biomoléculas conduciendo al envejecimiento prematuro y muerte celular, dando paso al apareamiento de enfermedades crónico degenerativas (Vallejo et al., 2017).

Los antioxidantes son lo suficientemente estables como para donar un electrón a un radical libre y neutralizarlo, retardando de esta manera al daño celular eliminando los radicales libres (Serra et al., 2020).

En los alimentos, los antioxidantes se presentan como sustancias naturales, mismos que al ser ingeridos contribuyen con el organismo al retardar la oxidación celular. Estudios muestran que los antioxidantes poseen efectos beneficiosos para el control de enfermedades cardiovasculares, inflamatorias y relacionadas con el estrés oxidativo, particularmente con algunos tipos de cáncer.

El cacao natural es uno de los principales alimentos con mayor capacidad antioxidante debido a su alto contenido de polifenoles entre 10 mg a 50 mg por g (Sáez, 2018).

Desde el punto de vista de la salud humana, la actividad antioxidante ha aportado grandes beneficios ante los radicales libres que incrementan el riesgo al desarrollo de cáncer, enfermedades cardiovasculares y algunas degenerativas. Los antioxidantes desactivan los radicales libres minimizando el daño y protegiendo al organismo de enfermedades, su presencia en los alimentos aporta características funcionales que actúan como agentes quimiopreventivos promoviendo efectos fisiológicos para retardar la propagación del cáncer (Coronado H. et al., 2015).

## **2.7.COSECHA Y POSCOSECHA DEL CACAO**

La transformación industrial de las semillas de cacao consta de una serie de operaciones, las mismas que dependen del producto a obtenerse. La Corporación Nacional Financiera Nacional CFN, (2021) manifiesta que a partir de las semillas del cacao se obtiene cuatro productos intermedios: licor de cacao, pasta de cacao, manteca de cacao y polvo de cacao. A continuación, se detallan cada uno de los procesos productivos de la cadena cacaotera:

### **2.7.1. Cosecha**

La cosecha del cacao consiste en cortar los frutos maduros comúnmente denominados mazorcas, con el fin de extraer las semillas que contienen en su interior. La cosecha se realiza cuando la mazorca ha alcanzado su estado de madurez y el mismo se comprueba por el cambio de pigmentación de morado a rojo anaranjado en el caso de la variedad CCN-51 y de verde a amarillo en el caso de la variedad Nacional (Charris, 2021).

## **Figura 8**

*Estados de Madurez Fisiológica de las Variedades de Cacao.*



*Nota:* Cosecha de cacao basadas en madurez fisiológica (Colorimetría de mazorca). La fotografía de la izquierda corresponde a la variedad CCN-51, su estado de madurez se identifica a partir del color rojo. La fotografía de la derecha corresponde a la Variedad Nacional, su estado de madurez se identifica a partir del color amarillo. Fuente: Autoría propia.

Aguilar, (2017) recomienda que se debe tomar en cuenta los siguientes aspectos a la hora de seleccionar las mazorcas cosechadas para el procesamiento:

- Las mazorcas cosechadas se deben poner en la sombra y en un lugar limpio para evitar que, debido a la exposición al sol, las mismas pierdan humedad y ocurran cambios químicos en su interior siendo aspectos negativos para la fermentación.
- Cosechar frutos verdes o verdes con pintas amarillentas provoca influencias muy desfavorables en la fermentación del cacao, dentro de ellas un alto elevado porcentaje de almendras de cacao pizarrosas y violetas que son indicadoras de una escasa fermentación, además de disminuir el rendimiento en peso y calidad.
- El mucílago del grano de las mazorcas inmaduras y las sobre maduras es menos húmedo, de apariencia seca, con falta de brillo, no fermentan bien y fomentan el crecimiento de hongos o moho indeseable. Posiblemente las mazorcas sobremaduras están propensas a

germinar, el punto negativo de este proceso es que la radícula crece perforando la cutícula del grano siendo una vía de ingreso de microorganismos que producen sabores no deseables en el producto final e incluso toxinas.

- Las mazorcas enfermas deben descartarse por cuanto a que son una fuente de contaminación por microorganismos no deseados. Los granos de mazorcas afectadas por moniliasis se pueden identificar ya que se pegan entre sí y el mucílago se endurece.
- Los hongos productores de compuestos tóxicos (ocratoxina A y aflatoxinas) surgen de las mazorcas y granos dañados, estos hongos en baja concentración comprometen la salud humana, por ello se recomienda separar y descartar las mazorcas dañadas.

### **2.7.2. *Quiebra***

El proceso de quiebra consiste en partir la mazorca y extraer las almendras para llevarlas a fermentación. Alegría, (2015) sostiene que para la extracción de los granos se realiza a través de la quiebra de la mazorca por medio de un machete o tijeras, para ello se efectúa un corte longitudinal a la mazorca cuidadosamente evitando cortar los granos unidos a la placenta. La separación de los granos se realiza de manera manual eliminando aquellos encontrados dañados o enfermos.

### **2.7.3. *Prefermentación***

Consiste en guardar las semillas de cacao de 8 a 12 horas bajo sombra para favorecer los procesos bioquímicos y sobre todo eliminar una parte del mucílago de las semillas del cacao previo a la fermentación. Este proceso se aplica únicamente para variedades las cuales poseen mucha cantidad de mucílago como es el caso de la variedad CCN-51 (Zaavedra & Zaavedra, 2020).

#### **2.7.4. Fermentación**

La fermentación es el proceso bioquímico en el que intervienen bacterias y levaduras que se alimentan de sustratos orgánicos con alto contenido de azúcares, estos microorganismos producen enzimas, y estas enzimas son las que permiten degradar sustratos complejos, durante el proceso de fermentación estos compuestos se convierten en azúcares menos complejos, ácidos orgánicos y alcohol, también se producen sustancias olorosas como aldehídos, ésteres y cetonas (Gomez, 2019).

Durante la fermentación del cacao, existe una relación ordenada entre microorganismos y las variaciones de temperatura, pH y humedad, con la formación de alcoholes, ácidos y compuestos polifenólicos, que matan el embrión, disminuyen el sabor amargo y se producen las reacciones bioquímicas que forman el chocolate (Teneda, 2016).

**2.7.4.1 Etapas de Fermentación.** La etapa de fermentación muchas veces se omite, habiendo plantadores y fabricantes a favor y en contra de ello, sin embargo se debe considerar que la calidad de los granos depende de este proceso (Zaavedra & Zaavedra, 2020), además, como Alfonso, (2018) indica, se debe tomar en cuenta que si la fermentación tiene un tiempo excesivo, el cacao puede arruinarse y si es insuficiente, puede adquirir un sabor de patatas crudas y son atacados por los hongos.

El proceso de fermentación consta de dos etapas:

**2.7.4.1.1. Etapa de hidrólisis o Fase de Fermentación alcohólica.** Las levaduras pertenecientes a los géneros *Cándida*, inician la fermentación alcohólica transformando los azúcares contenidos en el recubrimiento de las semillas denominada pulpa en alcohol etílico, tras esta transformación se desprende anhídrido carbónico y se metaboliza el ácido cítrico elevando el pH e incrementando la temperatura de la masa por la acumulación de las semillas, el proceso se efectúa entre las primeras

24 a 36 horas y la fermentación alcohólica va reduciéndose conforme aumenta la concentración del alcohol alrededor del 10% y entra O<sub>2</sub> a la masa con las remociones (Rosero, 2021).

**2.8.4.1.2. Fermentación acética.** En la segunda fermentación gracias a la remoción que oxigena el ambiente y el descenso del pH, se puede convertir el etanol obtenido en ácido acético; por efecto del aumento de las bacterias lácticas y *Acetobacter aceti*, *Lactobacillus*, *L. plantarum*, *L. collinoides* y *L. fermentum*, el etanol se transforma en ácido acético, es decir se producirá una fermentación oxidativa (Rodríguez, 2016).

La oxidación del etanol a monóxido de carbono (CO) y agua, libera gran cantidad de calor, intensificándose la pérdida de humedad y peso de las almendras. Las temperaturas máximas alcanzadas normalmente se ubican entre 48 y 50°C, debido posiblemente a que este sea el punto térmico de muerte para muchas bacterias. Las bacterias acéticas quedan inactivadas y el ácido acético no se oxida totalmente quedando un remanente (Zaavedra & Zaavedra, 2020).

Las altas temperaturas producidas en los cajones fermentativos detienen el proceso de germinación, los alcoholes y el ácido acético penetran al interior de los granos de cacao y participan en la muerte del embrión, produciéndose la liberación de polifenoles, antioxidantes y proteínas de reserva que reducen el sabor astringente y amargo favoreciendo además la formación de las sustancias precursoras del aroma y sabor a chocolate (Teneda, 2016).

**Tabla 1**

*Cambios Bioquímicos en la Fermentación.*

Días	Ubicación	Participantes	Resultados
Día 1	Mucílago Aumenta la acidez Disminuye el pH Disminuye la concentración de O <sub>2</sub>	Levaduras	Descomposición de la pulpa. Formación de etanol. Exudación.

Día 2	Disminuye la acidez. Aparece el etanol Aumenta la concentración de O <sub>2</sub>	B. Acéticas	Formación de Ac. Acético. Temperatura de 50°C.
Días 2-3	Cotiledones. Sube la temperatura	B. Acéticas	Muerte de las células del cotiledón. Disminución de barreras biológicas.
Días 3-5	Cotiledones Alta concentración de O <sub>2</sub>	E. Hidrolíticas	Oxidación de antocianinas y polifenoles. Disminución de astringencia.

*Nota.* Cambios bioquímicos que ocurren en el proceso de fermentación de las semillas de cacao.

La tabla describe como los agentes microbiológicos actúan con el tiempo y los cambios que se producen a través de él. Fuente: (Teneda, 2016).

**2.8.4.2. Duración de la fermentación.** El tiempo de duración del proceso de fermentación depende de la variedad de cacao con la que se trabaja, variedad criollo tarda de 4-5 días, mientras que la variedad CCN51 tarda de 5 a 6 días debido a que posee mayor cantidad de mucílago (Rojas et al., 2021).

Alegría, (2015) menciona que al final del proceso la pulpa se elimina, se mide el pH alrededor de 4,8 a 5,2 y se aprecia un cambio de color de los cotiledones de rosa o violeta a marrón, se disminuye el amargor y el sabor astringente de los cotiledones y se aumenta el olor y sabor a chocolate.

Teneda, (2016) manifiesta que las alteraciones químicas como formación de alcoholes, ácidos y compuestos polifenólicos dependen de la muerte de las células del cotiledón con la cual sus membranas celulares se degradan y aumentan su permeabilidad permitiendo el contacto entre los diversos componentes celulares, así los polifenoles, pueden difundirse a las células adyacentes donde se encuentran con enzimas que provocan reacciones hidrolíticas por las condiciones anaerobias, si no se degradan, pasan al grano seco provocando el color violeta de la almendra.

## **Tabla 2**

*Cambios Físicos Ocurridos en el Proceso de Fermentación.*

Días	1er y 2do día	3er al 4to día	Del 5to al 7mo día
<b>pH Masa</b>	Pulpa muy ácida (pH 3,5)	Masa fermentada está ácida (pH4,5)	Masa Fermentante está acidulada (pH 5,5)
<b>Color Masa</b>	Masa fermentada de color blanco	Masa Fermentada de color café claro	Masa fermentante de color café
<b>pH interno</b>	pH 6,5 del interior de la semilla	pH 4,5 del interior de la semilla	pH 5,5 del interior de la semilla
<b>Color interno</b>	Interior de la semilla color violeta	Interior de la semilla color violeta, sus bordes color café	Interior de la semilla color café
<b>Temperatura</b>	Ligero desarrollo de calor	Aumento de temperatura de la masa fermentante a 40-50°C	Temperatura de la masa fermentada se reduce a 35°C
<b>Olor</b>	Olor agridulce aromático	Fuerte olor a ácido acético	El olor a ácido acético es menos frecuente

*Nota.* Obtenido de (Augstburger et al., 2000)

### Figura 9

*Semilla de Cacao Fermentada.*



*Nota.* Semillas de cacao después del proceso de fermentación. Las semillas son quebradizas, de color café chocolate o ligeramente violeta, su cáscara se desprende con facilidad, está arriñonado. Su sabor y aroma salen a flote. Obtenido de (PAPÁCACAO, 2019).

### **2.7.5. Secado y Almacenamiento**

La finalidad del secado es disminuir el porcentaje de humedad del 65% hasta un rango del 6,5 a 7,0 % para evitar la presencia de mohos y además eliminar la acidez para su posterior almacenaje y comercialización (Pérez & Contreras, 2017).

Del Aguila, (2017), menciona que es muy importante que la humedad disminuya lentamente, en un lapso de 5 a 7 días, favoreciendo así que los cambios bioquímicos (oxidación) responsables del sabor y aroma se complementen.

Se ha identificado cinco sistemas de secado empleados en el sector del cacao: el secado al aire libre, solar, horno, microondas y liofilización, el más empleado es el secado natural por acción del sol. El tiempo empleado en el secado natural va de 7 a 14 días ya que depende de las condiciones ambientales (Dzelagha et al., 2020).

Si los granos de cacao son inferiores al 6% de humedad se obtiene granos frágiles y quebradizos y si son superiores al 8% los granos son expuestos a proliferación de hongos. Al final del proceso se obtienen cotiledones de color marrón con pH cercano a 5,5 con menor sabor amargo y ácido, con olor y sabor a chocolate (Saza & Jiménez, 2020).

## **2.8. PROCESO DE OBTENCIÓN DE PASTA DE CACAO**

El grano de cacao para convertirse en pasta o licor pasa por una serie de procesos de transformación, a continuación se describe cada uno de ellos:

### **2.8.1. Selección**

La elección de los granos de cacao consiste en evaluar su calidad, para ello se realiza un muestreo aleatorio verificando el tamaño y peso, humedad, sabor, porcentaje de fermentación, cantidad de semillas defectuosas, mohosas e infestadas (Aguilar, 2017).

### **2.8.2. Limpieza y Clasificación**

La limpieza es la primera etapa en el procesamiento del cacao, el cual consiste en eliminar los cuerpos extraños que se encuentran juntamente con las almendras de cacao, tales como metales, piedras, trozos de madera, vidrios entre otros (PAPÁCAO, 2019).

Los materiales extraños que se pueden encontrar con las semillas pueden afectar el funcionamiento de los equipos, por ende, es necesario retirarlos; las semillas pasan por un tamiz vibratorio de aire y luego por un separador magnético. La clasificación consiste en separar las semillas por tamaño mediante el uso de cribas, la uniformidad del tamaño del grano es importante en el proceso de tostado debido al nivel de exposición del calor y el área del grano (Alegría, 2015).

### **2.8.3. Tostado**

El proceso de tostado es una de las operaciones tecnológicas más importantes en el procesamiento de los granos de cacao, este proceso conduce a la formación de los productos de la reacción de Maillard, los cuales son cruciales para el desarrollo de la calidad organoléptica de los granos de cacao y de los productos derivados y asociados (Zapata et al., 2015).

El proceso de tostado tiene como finalidad disminuir la humedad de las semillas por debajo del 2%, en consecuencia, la cascarilla se remueve con facilidad y las semillas son rígidas facilitando su posterior molienda (Cocom, 2021).

Alegría, (2015) menciona que un buen tostado garantiza la eliminación de microorganismos y ácidos volátiles que generen sabores amargos y ácidos. Las condiciones de operación de este proceso son temperaturas de 110-150 °C y tiempo entre 15-60 minutos. Al tostar las semillas enteras, es indispensable la uniformidad del tamaño de las almendras, puesto que entre más pequeño es el tamaño de la partícula a tostar menor será la exposición a la temperatura y tiempo.

En términos de características sensoriales, los compuestos más importantes formados durante el tostado del cacao vía reacciones de Maillard son las alquilpirazinas, responsables del aroma, la relación entre las cantidades de algunas alquilpirazinas en la fracción volátil del cacao puede adoptarse como un parámetro de aseguramiento de calidad (Rodríguez et al. 2016).

**2.8.3.1. Cambios Químicos Durante el Tostado del Cacao.** El tostado es una operación unitaria que genera cambios importantes en las propiedades, físicas y sensoriales del cacao (Porras et al., 2019).

Durante el tostado la reacción de Maillard o pardeamiento no enzimático se hace presente, esta reacción es de importancia para la calidad de los alimentos por cuanto a que produce ciertas modificaciones organolépticas que los hace apetecibles. La composición química de los granos de cacao en cierta medida se ven afectadas por el tiempo y temperatura que se manejen a la hora de tostar y muchas veces incluso depende del tostador que utilice, pues la transferencia de calor es distinta en cada tostador (Voyer & Alvarado, 2019).

Zapata et al., (2015) señalan que no es posible establecer un efecto general del tostado sobre el contenido de metabolitos secundarios y capacidad antioxidante de los granos de cacao, pues las distintas variedades de cacao poseen comportamientos diferentes.

#### **2.8.4. Descascarillado**

El descascarillado es el proceso en el que se elimina la cascarilla la cual constituye la cubierta exterior de la semilla de cacao, indistintamente de los fines que se persigan con los granos de cacao en la industria, todos deben someterse a un descascarillado antes del procesamiento y transformación de pasta o licor de cacao, el proceso se realiza de manera manual o utilizando tecnología industrial (Arreaga, 2021).

### **2.8.5. Triturado y Molienda**

Los granos de cacao ya limpios de cáscaras, pasan al molino para reducir el tamaño de la partícula de los cotiledones hasta un 2 a 10  $\mu\text{m}$  donde se transforman en pasta de cacao con el 90% de finura, en este proceso se libera la manteca de cacao como producto de las altas temperaturas (Pabón Andrade, 2016).

### **2.8.6. Empacado**

Cuando la pasta se haya obtenido de una finura deseada, la misma debe ser enfriada hasta una temperatura de 41 o 45 °C para su posterior moldeo. El empaque es la última etapa del proceso de producción de la pasta de cacao para posteriormente ser comercializado; para llevar a cabo este proceso se debe garantizar la protección del producto contra agentes externos que pueden dañar sus cualidades, para ello se hace uso de fundas de polietileno (Cabanilla, 2018).

## **2.9.EFECTOS DE LOS COMPONENTES DEL CACAO FRENTE A LOS PROCESOS DE TRANSFORMACIÓN**

García Alamilla et al., (2017) señala que “El proceso de tostado de los granos de cacao modifica la composición química responsables del sabor y aromas originados en el proceso de fermentación y secado (tratamiento poscosecha)”.

No obstante, los compuestos y transformaciones químicas son atribuidos por la Reacción de Maillard, como efecto se produce la caramelización de azúcares, degradación de proteínas y síntesis de compuestos de azufre, dentro de este proceso algunos compuestos pueden aumentar o disminuir su concentración, la fracción volátil se ve afectada y también pueden formarse otros compuestos de interés (Zapata et al., 2015).

La pérdida de humedad y las reacciones químicas que sufren los granos en el proceso de tostado afectan el color, el volumen, la masa, la forma, el estallido, el pH, la densidad y,

especialmente, los compuestos volátiles y el sabor. Los procesos de poscosecha e industriales tienen efecto sobre el contenido de antioxidantes en el cacao, pudiendo incrementarlos o disminuirlos. (Afoakwa, 2013).

## **2.10. USOS DEL CACAO**

“De las almendras de cacao, fermentadas y secas (o sin fermentar) se obtienen elaborados y semielaborados” (Acebo, 2016).

### ***2.10.1. Elaborados***

Los elaborados de cacao se producen a partir de la industrialización del cacao o elaboración artesanal, por lo general, se refiere al chocolate convertido en barras, tabletas, bombones, coberturas, blanco, en polvo, relleno, baños y un sin fin de manufacturas más, obtenidos a partir de mezclas con otros productos o frutos secos (Anecacao, 2015).

### ***2.10.2. Semielaborados***

Los semielaborados corresponden al cacao en una etapa de industrialización, donde se separan las fases sólidas de las líquidas, obteniendo productos que servirán como materia prima para la fabricación de chocolates y derivados (Espinoza & Arteaga, 2015). Los semielaborados que se pueden obtener a partir del cacao los siguientes:

**2.10.2.1. Pasta de Cacao o Licor de Cacao.** La pasta/masa de cacao o licor de cacao es definida por la NTE INEN-3187, (2020) como el producto que se obtiene del cacao sin cáscara ni germen, el cual se obtiene a partir de granos de cacao de calidad comercial, que se han limpiado y de los que se han eliminado las cáscaras de manera técnica posible, tostado o no y sin la extracción o adición. La pasta o licor de cacao es una pasta fluida que es obtenida del cacao tras un proceso de molienda, la misma es utilizada como materia prima en la elaboración de chocolates y bebidas alcohólicas (Cavezas & Eras, 2015) y al someterse al proceso de prensado se obtiene:

**2.10.2.1.1. Manteca de cacao.** se denomina manteca de cacao a la grasa que se extrae a partir de la molienda de granos.

**2.10.2.1.2. Torta de cacao.** Se denomina torta de cacao al sobrante en fase sólida de la extracción de la manteca de cacao

**2.10.2.1.3. Polvo de cacao.** Se denomina polvo de cacao a la torta pulverizada convertida en polvo la cual es utilizada en la elaboración de bebidas de chocolate.

## CAPÍTULO III

### MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1. CARACTERIZACIÓN DEL ÁREA DE ESTUDIO

Para dar cumplimiento a cada uno de los objetivos, el presente estudio fue desarrollado mediante dos fases: Fase de Campo y Fase de Laboratorio.

##### *3.1.1. Fase de Campo*

La fase de campo tuvo lugar en el Centro de Acopio y Acondicionamiento de frutales de la Asociación Integral para el Desarrollo de Productores Lita “APL”, ubicada en la parroquia Lita a 100 Km de la ciudad de Ibarra, y 92 Km de San Lorenzo (Provincia de Esmeraldas). Las condiciones climatológicas se detallan en la Tabla 3.

**Tabla 3**

*Condiciones Climatológicas de la Parroquia Lita- Centro de Acopio de Frutales APL.*

Condiciones Climatológicas	Lita- Centro de Acopio APL
Temperatura	18-23°C
Altitud	571 msnm
Latitud	7° 30” Latitud Norte
Longitud	72° 30” Longitud Oeste
Precipitación anual	3.598,7 mm
HR Promedio	87-89%

*Nota:* Fuente (CONSTRUGRISHA S.A., 2015)

##### *3.1.2. Fase de Laboratorio*

El trabajo de investigación se llevó a cabo en las instalaciones de las Unidades Educativas Productivas de la Universidad Técnica del Norte localizadas en la Parroquia El Sagrario, cantón Ibarra, provincia de Imbabura y en el Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias,

Estación Experimental Santa Catalina (INIAP), Departamento de Nutrición y Calidad, ubicada en el sector de Cutuglagua, Cantón Mejía, Provincia de Pichincha. Los datos informativos se detallan en la Tabla 4.

**Tabla 4**

*Datos Informativos del Área de Estudio.*

<b>Condiciones Climatológicas</b>	<b>U. Edu-productivas</b>	<b>INIAP Sta. Catalina</b>
Temperatura media	17,7 °C	18 °C
Altitud	2226,26 msnm	3050 msnm
Latitud	00° 19'47'' Sur	00° 22'00'' Sur
Longitud	78°07'56'' Oeste	78°33'00'' Oeste
HR Promedio	72%	76%
Precipitación promedio anual	541,6 mm	1127,5 mm

*Nota.* Fuente: (INAMH- Instituto Nacional de Meteorología e Hidrología , 2020)

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

Los materiales, insumos, reactivos y equipos empleados en el desarrollo de la investigación se encuentran detallados a continuación, los mismos sirvieron de instrumento para medir, evaluar y dar cumplimiento a los objetivos planteados en este estudio.

**Tabla 5**

*Materiales y Equipos Utilizados en el Proyecto de Investigación.*

<b>Materia prima</b>	<b>Materiales de campo</b>	<b>Equipos</b>
– Cacao CCN-51	– Bolsas de polietileno	– Balanza
– Cacao Nacional	– Pallets de plástico	– Termómetro eléctrico de sonda
	– Cajones de Fermentación	– Termómetro infrarrojo
	– Sacos de yute	– Medidor de humedad Wile Coffee/Cocoa
	– Marquesina	– Clasificadora de cacao
	– Cuchillo	– Tostadora de laboratorio

- 
- Pala de madera
  - Hojas de plátano
  - Fundas Ziploc
  - Moldes de silicón
  - Cinta adhesiva
  - Cooler
  - Hojas de papel bond
  - Estilete
  - Bandejas plásticas
  - Utensilios de cocina

- Descascarilladora de cacao
- Molino de discos

### **Materiales de laboratorio**

- Balanza analítica
- Balanza electrónica
- Balanza Infrarroja
- Espectrofotómetro UV-VIS
- Cromatografía líquida de alta resolución HPLC
- Centrífuga
- Baño María
- Mufla
- Equipo de proteína Kjeldahl
- Extractor de grasa Soxhlet
- Equipo de extracción de fibra cruda GERHARDT
- Refrigerados
- Baño Ultrasonido
- Agitador magnético VORTEX
- Campana Extractora
- Molino

### **Reactivos**

- Cloruro de aluminio hexahidratado
- Nitrito de sodio
- Hidróxido de sodio
- Catequina hidratante 98%
- Metanol
- Grado reactivo al 99,5%
- Ácido gálico monohidratado
- Reactivo de Folin & Ciocalteu
- Carbonato de sodio al 99,5%
- Agua destilada
- Trolox
- ABTS
- Persulfato de potasio
- Fosfato de sodio monobásico
- Fosfato de sodio monobásico  $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$
- Ferrocianidina de potasio
- Ácido tricloroacético
- Cloruro férrico
- Metanol grado P.A
- Ácido fórmico grado P.A 98-100%
- Acetonitrilo grado HPLC

### **Materiales de oficina**

- Cuaderno
- Calculadora
- Cámara fotográfica
- Esferos
- Fichas de aceptabilidad

- 
- Agua bio destilada
  - Metanol grado HPLC
  - Agua mineral
- 

### **3.3. DESCRIPCIÓN DE LA METODOLOGÍA**

Las mazorcas de cacao de las variedades Nacional y CCN-51, fueron obtenidas en una de las fincas de los socios de la APL, las mismas fueron seleccionadas minuciosamente considerando el estado de madurez fisiológica basada en el color (mazorca de color amarillo en la variedad Nacional y mazorca de color rojo en la variedad CCN-51) y la ausencia de plagas y enfermedades; posteriormente se extrajeron las semillas de las mazorcas para trasladarlas al Centro de Acopio e iniciar el proceso de poscosecha y preparación de la materia prima que se utilizó en la investigación.

Con la finalidad de dar cumplimiento a cada uno de los objetivos específicos definidos, la investigación se desarrolló de acuerdo con la siguiente secuencia de actividades:

#### ***3.3.1. Determinar las Características Físicoquímicas de las Semillas de Cacao de las Variedades Nacional y CCN-51.***

Las semillas de cacao tras haber sido extraídas de las mazorcas fueron fermentadas y secadas hasta llegar a un contenido de humedad inferior al 7%, las mismas fueron analizadas física y químicamente bajo los siguientes criterios:

**3.3.1.1. Características Físicas.** Los análisis físicos que se presentan a continuación se realizaron a las semillas de cacao fermentadas y secas. Con base en la NTE INEN 0177: 1995 (Anexo 1) se tomó una muestra elemental aleatoria.

**3.3.1.1.1. Tamaño del Grano.** Se tomaron 100 semillas de cacao enteras y se midió el largo, ancho, y espesor en la parte central de cada semilla con un calibrador INSIZE. El proceso se realizó para las dos variedades de cacao en estudio por triplicado. Los valores obtenidos se reportaron en cm.

**3.3.1.1.2. Porcentaje de Fermentación.** De acuerdo con la NTE INEN 175 (1987): Cacao en grano. Ensayo en corte (Anexo 2), se realizó el análisis en la muestra tomada con el fin de conocer el porcentaje de fermentación. Se tomaron 100 semillas de cacao tanto para la variedad Nacional y para la variedad CCN-51, y se cortaron a la mitad, los granos se examinaron detenidamente a luz diurna separando cada grano de acuerdo con la clasificación por características internas descrita en base a la NTE INEN 0176: 2018-02 Granos de cacao. Requisitos (Anexo 3).

**3.3.1.1.3. Humedad.** El contenido de humedad de los granos fue analizado por triplicado mediante el medidor de humedad para granos Wile Coffee/ Cocoa, mismo que registra la conductividad eléctrica de los granos de cacao con lo que estima el contenido de humedad de la muestra.

**3.3.1.2. Características Químicas.** Para conocer los componentes químicos (capacidad antioxidante, fenoles totales y teobromina) de las semillas de cacao fermentadas y secas se emplearon los métodos descritos en la Tabla 6.

**Tabla 6**

*Métodos Utilizados Para el Estudio de las Semillas de Cacao.*

<b>Característica Química</b>	<b>Unidad</b>	<b>Método/Equipo</b>
Capacidad antioxidante	µm Trolox/g	ABTS (Re et al. 1999)
Teobromina	%	Cromatografía líquida de Alta resolución HPLC. AOAC Official Method 980.14. Descrito por (Saucedo, 2019).
Fenoles totales	mg Ac. Gálico/ g. muestra	Folin Ciocalteau. AOAC SMPR 2015.009. Descrito por (Zapata et al., 2015) Cross, E. y Maringo, G. 1973/1982

**3.3.2. Evaluar los Parámetros de Temperatura y Tiempo en el Proceso de Tostado Sobre la Capacidad Antioxidante, Teobromina y Fenoles Totales de las Dos Variedades de Cacao**

Para dar respuesta a este objetivo, mismo que se encuentra vinculado con las hipótesis de investigación y por tanto a las variables de respuesta, se ha realizado un diseño experimental utilizando el programa estadístico InfoStat que consistió en:

- Diseño: Diseño Completamente al Azar DCA AxBxC
- Número de Tratamientos: 8
- Repeticiones: 3
- Unidades Experimentales: 24

**3.3.2.1. Factores en Estudio.** Se presentaron tres factores a evaluar, estos son: Tiempo (A), Temperatura (B), Variedad (C), como se muestra a continuación en la Tabla 7.

**Tabla 7**

*Factores en Estudio.*

<b>Factor A: Tiempo (minutos)</b>	<b>Factor B: Temperatura (°C)</b>	<b>Factor C: Variedad de cacao</b>
A1: 20 minutos	B1: 120°C	C1: Nacional
A2: 30 minutos	B2: 130 °C	C2: CCN-51

**3.3.2.2. Tratamientos de Estudio.** A partir de los factores en estudio, mencionados en el apartado anterior, se obtienen los tratamientos que se presentan a continuación en la Tabla 8.

**Tabla 8**

*Nomenclatura de los Tratamientos.*

<b>Tratamientos</b>	<b>Factor A</b>	<b>Factor B</b>	<b>Factor C</b>	<b>Simbología</b>
	<b>Tiempo (minutos)</b>	<b>Temperatura (°C)</b>	<b>Variedad</b>	
T1	A1	B1	C1	A1B1C1

T2	A1	B2	C2	A1B2C2
T3	A1	B2	C1	A1B2C1
T4	A1	B1	C2	A1B1C2
T5	A2	B2	C2	A2B2C2
T6	A2	B1	C1	A2B1C1
T7	A2	B1	C2	A2B1C2
T8	A2	B2	C1	A2B2C1

**3.3.2.2. Esquema del Análisis Estadístico.** En la Tabla 9 se presenta el procedimiento estadístico utilizado en la medición de la variación total del experimento.

**Tabla 9**

*Modelo de ADEVA.*

<b>Fuente de variación (FV)</b>	<b>Grados de libertad (GL)</b>
TOTAL	23
Tratamientos	7
Factor A (Tiempo de tostado min)	1
Factor B (Temperatura de tostado °C)	1
Factor C (Variedad de cacao)	1
Interacción AxB	1
Interacción AxC	1
Interacción BxC	1
Interacción AxBxC	1
Error Experimental	16

Prueba de significancia: En caso de detectarse diferencias significativas se realizará la prueba Tukey (5%) con un nivel de confianza del 5%.

### ***3.3.3. Determinar la Aceptabilidad Sensorial de la Pasta de Cacao***

Los granos de cacao después de haber sido tostados fueron descascarillados y triturados con el fin de obtener pasta para la evaluación sensorial.

Para la determinación de la aceptabilidad de la pasta de cacao, se contó con la colaboración de 30 personas como un panel no entrenado (consumidores habituales de pasta de cacao) a quienes se les entregó 5 g de muestra de cada tratamiento en envases debidamente identificados, agua como medio de neutralización y una ficha de calificación hedónica de 5 puntos descrita en el Anexo 4 tomado como referencia de Iman & Quillilli, (2019).

Los atributos evaluados fueron: olor, color, sabor y aceptabilidad global. Los resultados se contrastaron bajo la prueba Friedman al 5% que es una alternativa no paramétrica a la prueba ANOVA para determinar si existen diferencias significativas.

$$X^2 = \frac{12}{r \cdot t(t + 1)} \sum R^2 - 3r(t + 1)$$

Donde:

X<sup>2</sup> = Chi- Cuadrado

R= Rango

r= Degustadores

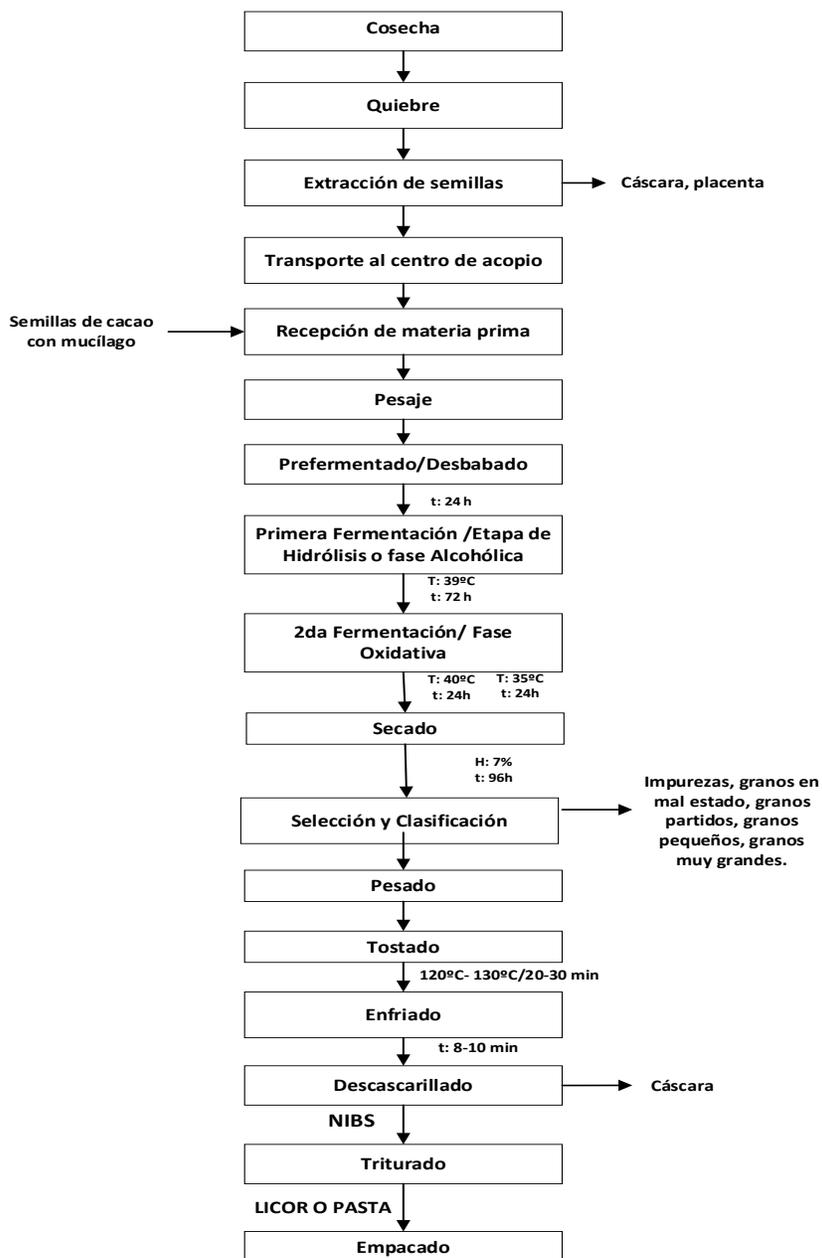
t= Tratamientos

### 3.4. MANEJO ESPECÍFICO DEL EXPERIMENTO

El proceso de cosecha, poscosecha y transformación del grano de cacao se describe en la Figura 10.

**Figura 10**

*Proceso de Obtención de Pasta de Cacao.*



*Nota:* Proceso de obtención de pasta a partir de granos de cacao

### 3.4.1. Descripción del Proceso

El proceso realizado para la obtención de pasta a partir de la mazorca de cacao tuvo el siguiente orden.

#### 3.4.1.1. Cosecha.

Las mazorcas de cacao cultivadas en la parroquia Lita, fueron minuciosamente examinadas y recolectadas de acuerdo con su madurez fisiológica basada en el color (Variedad nacional: mazorca de color amarillo. Variedad CCN-51: mazorca de coloración rojiza) evitando aquellas con enfermedades, mazorcas sobre maduras o demasiado tiernas.

#### Figura 11

*Cosecha de Mazorcas de Cacao a) Variedad CCN-51 y b) Variedad Nacional.*



**3.4.1.2. Quiebre.** Las mazorcas recolectadas fueron cortadas transversalmente con la ayuda de un machete con la finalidad de sacar los granos de cacao.

#### Figura 12

*Corte de Mazorcas.*



**3.4.1.3. Extracción de semillas.** Una vez abierta la mazorca dando visibilidad a los granos de cacao contenidos en su interior, se procedió a desprender la placenta, sacar los granos y colocarlos en recipientes para el posterior traslado al centro de acopio de APL.

**Figura 13**

*Extracción de Semillas de Cacao.*



**3.4.1.4. Recepción y pesado de materia prima.** Los granos de cacao se trasladaron al centro de acopio de la APL; seguidamente las bolsas de granos fueron pesadas. La cantidad recibida correspondió a 50kg de cacao variedad Nacional y 59,5 kg de cacao variedad CCN-51.

**Figura 14**

*Recepción y Pesado de Materia Prima.*



**3.4.1.6. Prefermentado/Desbabado:** El cacao de variedad CCN- 51 al contener más cantidad de mucílago, fue colocado bajo sombra sobre tinajas de escurrido durante 5 horas para permitir la reducción de la pulpa azucarada que rodea al grano de cacao con el propósito de disminuir la acidez acética indeseada.

**Figura 15**

*Prefermentación de Cacao Variedad CCN-51.*



**3.4.1.7. Primera fermentación/ Etapa de hidrólisis o Fase alcohólica.** Las semillas de cacao fueron colocadas dentro de cajones de laurel de dimensiones 69 cm ancho x 87 cm largo x 61 cm alto y fueron cubiertas con hojas de plátano y sacos de yute para generar calor en la masa y propiciar la fermentación. La masa del cacao de variedad Nacional a partir de las 48 horas alcanzó los 38°C, mientras que la masa del cacao de variedad CCN-51 a las 48 horas su temperatura fue

de 40°C. Durante este tiempo se realizaron volteos cada 24 horas y su control se realizó a la misma hora todos los días.

### **Figura 16**

*Proceso de Fermentación a) Cajones de Fermentación Tipo Escalera. b) Colocado de Cacao en Cajones. c) Cubierto de Masa de Cacao con Hojas de Plátano y Sacos de Yute.*



**3.4.1.8. Segunda Fermentación- Fase Oxidativa.** Después de haber transcurrido las 48 horas de fermentación, el cacao se cambió de cajón para airear la masa e incidir en el aumento de temperatura y muerte del embrión. A las 72 horas la temperatura del cacao Nacional fue de 41°C manteniéndose constante hasta las 96 horas, mientras que el cacao CCN-51 a las 72 horas alcanzó una temperatura de 46° y a las 96 horas se mantuvo constante. A los 7 días de fermentación el cacao disminuyó su temperatura por debajo de los 35 °C presentando a la vez una coloración

marrón, forma arriñonada y desprendimiento de la testa, características de la fermentación final para llevarlas al sol.

### **Figura 17**

*Proceso de Fermentación de Cacao- Fase Oxidativa.*



**3.4.1.9. Secado.** Al finalizar la etapa de fermentación, los granos de cacao fueron pesados y colocados bajo la marquesina para de reducir el porcentaje de humedad hasta por debajo del 7% por acción del sol, el proceso de disminución de humedad fue comprobado mediante el Medidor de humedad Wile Coffee/Cocoa. El tiempo empleado hasta que el grano redujo su humedad al 7% fue de 3 días, dentro de este lapso el cacao cambió su coloración a marrón oscuro, e internamente se evidenció la forma arriñonada, muerte del embrión, coloración marrón ligeramente violeta.

### **Figura 18**

*Proceso de Secado de Cacao Bajo Marquesina.*



**3.4.1.10. Selección y Clasificación.** Las semillas de cacao fermentadas y secas fueron colocadas en un tamiz vibratorio de aire para retirar las impurezas y mediante las cribas de clasificación las semillas fueron separadas según su tamaño (nivel 1: 1,8x3cm; nivel 2: 1,5x 3 cm; nivel 3: 0,7x3 cm).

**Figura 19**

*Proceso de Selección y Clasificación a) Selección y Clasificación de Granos de Cacao. b) Cribas de Clasificación. c) Selección de Granos Nivel 2.*



**3.4.1.11. Pesado.** Los granos clasificados fueron pesados para determinar el tamaño promedio para el experimento. La criba de mayor contenido de cacao fue la segunda (nivel 2: 1,5x 3 cm), siendo esta clasificación la utilizada durante el proceso de tostado.

**Figura 20**

*Pesado A) y Almacenado B) de Granos de Cacao.*



**3.4.1.12. Tostado.** El proceso de tostado de los granos de cacao de las dos variedades se realizó en el tostador de laboratorio de las Unidades Eduproductivas de la Universidad Técnica del Norte, para ello se empleó 1000 g de muestra por cada unidad experimental y los parámetros establecidos en la Tabla 8. Previamente al tostado, se realizaron pruebas de carga en el tostador para determinar el tamaño de la muestra y los factores de trabajo que permitirían mantener la estructura y tostado del grano.

Las muestras de cacao tostadas fueron colocadas en fundas zip lock dentro de un cooler para evitar la absorción de humedad ambiental y posteriormente ser utilizadas en el análisis de compuestos químicos y pruebas de aceptación sensorial.

**Figura 21**

*Proceso de Tostado de Cacao. a) Pesado de Materia Prima. b) Alimentación del Tostador. c) Ajuste de parámetros. d) Descarga de granos tostados.*



**3.4.1.13. Descascarillado.** El cacao que sería empleado en las pruebas de aceptabilidad fue separando de la testa por acción de la descascarilladora obteniendo Nibs o trozos de cacao.

**Figura 22**

*Proceso de Descascarillado. a) Alimentación. b) Nibs. c) Cascarilla*



**3.4.1.14. Triturado.** Los nibs fueron colocados en el molino de discos para ser triturados hasta transformarse en una pasta líquida dominada licor o pasta de cacao. Durante este proceso se libera

la manteca y se funde como resultado de la elevación de la temperatura por fricción de los discos del molino.

### Figura 23

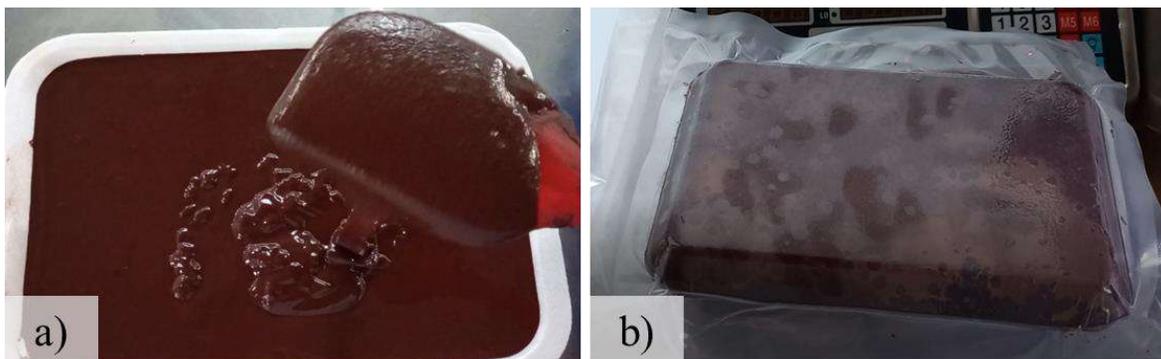
*Triturado de Cacao. a) Alimentación. b) Licor de cacao.*



**3.4.1.15. Moldeado y Empacado.** La pasta de cacao resultante de la molienda tuvo una temperatura de 45°C, la misma que fue temperada para propiciar la formación de cristales de grasa y correcto solidificado. Una vez temperada la pasta de cacao, la misma fue moldeada y empacada en fundas de polietileno.

### Figura 24

*Moldeado y Empacado de Pasta de Cacao.*



## CAPÍTULO IV

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El presente capítulo expone, analiza, evalúa y contrasta los resultados obtenidos durante la presente investigación titulada “Evaluación de los parámetros tiempo, temperatura y variedad en el proceso de tostado de cacao *Theobroma cacao* L. para la obtención de pasta”, con el fin de identificar la incidencia de los factores de estudio sobre los componentes de interés dentro del proceso de tostado.

#### 4.1. DETERMINACIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS FÍSICOQUÍMICAS DE LAS SEMILLAS DE CACAO DE LAS VARIETADES NACIONAL Y CCN51

Los resultados del análisis de las muestras de cacao fermentadas y secas se detallan en la Tabla 10. Estos análisis permitieron conocer la materia prima con la cual se realizó la experimentación como punto de partida del proceso.

**Tabla 10**

*Caracterización Físicoquímica de la Materia Prima.*

Variedad de cacao	Humedad %	Tamaño cm	Fermentación %	Capacidad antioxidante	Polifenoles totales	Teobromina
				µm Trolox/g	mg Ac. Gálico/g	%
Nacional	4,33± 0,09	L: 2,29± 0,23	87	2020,48	82,07	2,52
		A 1,30± 0,16				
		E 0,88± 0,13				
CCN-51	5,31 ± 0,06	L: 2,36± 0,24	84	2082,27	83,93	2,11
		A 1,37± 0,14				
		E 0,95± 0,12				

L (Largo del grano). A (Ancho del grano). E (Espesor del grano). \*Promedio± desviación estándar

#### **4.1.1. Humedad**

El contenido de humedad en base seca registrado según la variedad de cacao muestra un comportamiento homogéneo para Nacional y CCN-51 (CV= 2,59. CV=1,60, respectivamente); la frecuencia de datos proviene de una distribución normal, para la Variedad Nacional  $4,33 \pm 0,09$  % de humedad y para la Variedad CCN-51  $5,31 \pm 0,06$ % de humedad, valores aceptables de acuerdo con la NTE INEN 0176: 2018-02 Granos de cacao. Requisitos (Anexo 3).

Se debe considerar un aspecto muy importante a la hora de trabajar con granos inferiores al 6% de humedad, ya que se corre el riesgo que los mismos se rompan en el proceso de tostado debido a su fragilidad reduciendo el grado de molienda y rendimiento de la manteca de cacao (PERFECT DAILY GRIND., 2018).

Al finalizar el proceso de fermentación, el grano de cacao queda con un contenido de humedad de aproximadamente 60%, que debe ser reducido a un porcentaje inferior al 8% para evitar el desarrollo de mohos que deterioran la calidad del mismo (Aguilar, 2017).

#### **4.1.2. Tamaño del Grano**

La mazorca de cacao encierra en su interior granos de distintos tamaños, no obstante, a la hora de tostarlos, es necesario trabajar con lotes del mismo tamaño para garantizar la uniformidad en la transferencia de calor a través de la estructura del grano.

Los granos de cacao al ser clasificados tuvieron uniformidad en su tamaño (L= Largo, A= ancho y E= espesor) previamente al tostado. Las dimensiones de los granos de cacao de la variedad CCN-51 (L:  $2,36 \pm 0,24$ ; A  $1,37 \pm 0,14$ ; E  $0,95 \pm 0,12$ ) fueron superiores a las dimensiones de los granos de cacao de la variedad Nacional (L:  $2,29 \pm 0,23$ ; A  $1,30 \pm 0,16$ ; E  $0,88 \pm 0,13$ ).

Por ello, Quintana et al., (2015), mencionan que el cacao CCN-51 debido a su tamaño posee mejor rendimiento en índice de mazorca y grano; de la misma manera, las dimensiones

obtenidas en las dos variedades provenientes de la parroquia Lita son superiores a las analizadas por Andrade et al., (2019) quienes reportan 2,19 cm de largo, 1,23 cm de ancho y 0,81 cm de espesor para cacao Nacional y 2,24 cm de largo, 1,27 cm de ancho y 0,82 de espesor para cacao CCN-51, muestras obtenidas de Calceta-Manabí.

#### ***4.1.3. Porcentaje de Fermentación***

Los granos de cacao de la variedad Nacional fueron fermentados durante 7 días, a las 72 horas de haberse colocado en los cajones fermentativos, ser cubiertos con hojas de plátano y sacos de yute y removidos a la misma hora, la masa alcanzó una temperatura de 41°C.

Al realizar la prueba de corte y examinar los cotiledones de 100 granos de cacao que en conjunto pesaron 160 g, se determinó que el porcentaje de fermentación fue del 87% y el 13% correspondió a granos color violeta.

Los granos de cacao de la variedad CCN-51 fueron fermentados durante 7 días, a las 72 horas de fermentación, la masa alcanzó una temperatura de 46 °C. Para realizar la prueba de corte se tomó una muestra de 100 granos, los cuales en conjunto pesaron 165 g y se determinó que el porcentaje de fermentación fue del 84% y el porcentaje de granos color violeta fue de 16% .

Contrastando a ello, la fermentación del cacao es un proceso productivo de importancia, ya que, durante el mismo, se producen reacciones bioquímicas que causan una disminución del amargor y astringencia. Castillo, (2019) señala que el porcentaje que se logre obtener de granos fermentados está influenciado por varios factores como: variación de la temperatura ambiental, frecuencia de remociones, variedad, tipo de fermentación, tiempo de fermentación, tiempo de almacenamiento de la mazorca antes de la apertura, índice de madurez, etc.

Según Rigel, (2015), la masa del cacao debe alcanzar temperaturas superiores a 40°C para incidir en la muerte del embrión y “ser superior al 50 % de fermentación para considerarlos como granos de calidad” (NTE INEN 0176: 2018-02).

Con respecto al resultado obtenido se puede mencionar que el bajo nivel fermentativo para las muestras de las dos variedades en estudio se debe a que en los días de fermentación hubo lluvia constante en la parroquia Lita, provocando cambios de temperatura, además, la masa utilizada en los cajones de fermentación no fue suficiente para incidir en el aumento de temperatura a 50°C a las 72 horas.

#### ***4.1.4. Capacidad Antioxidante***

Para conocer la capacidad antioxidante, los granos de cacao fermentados y secos de las dos variedades fueron analizados mediante la prueba del radical ABTS, el cual se fundamenta en la cuantificación de la decoloración del radical  $ABTS^{\cdot+}$  debido a su reducción a ABTS por la acción de antioxidantes. El radical catiónico  $ABTS^{\cdot+}$  es un cromóforo verde azulado que absorbe la longitud de onda de 734nm y se genera por una reacción de oxidación del ABTS con persulfato de potasio. De esta manera el grado de decoloración como porcentaje de inhibición del radical  $ABTS^{\cdot+}$  está determinado en función a la concentración (J. Ortiz et al., 2019).

La concentración de capacidad antioxidante para los granos fermentados y secos utilizados en la investigación correspondió en promedio a 2020,48  $\mu\text{m Trolox/g}$  en la variedad Nacional y 2082,27  $\mu\text{m Trolox/g}$  en la variedad CCN-51, siendo CCN-51 la variedad que más concentración presentó en comparación con la variedad Nacional.

Por otro lado, los valores obtenidos en el análisis de capacidad antioxidante para las muestras de la variedad Nacional obtenidos en la parroquia Lita fueron superiores a los presentados por Muñoz, (2018) quien reportó un rango de 590 a 1359  $\mu\text{m Trolox/g}$ ; de la misma manera, los

valores obtenidos en el análisis de capacidad antioxidante para las muestras de la variedad CCN-51 obtenidos en la parroquia Lita fueron superiores a los presentados por Zapata et al., (2015) quien reporta 1473,22  $\mu\text{m}$  Trolox/g para la variedad CCN-51.

Por otro lado, Pallares et al., (2016) demuestran en su estudio que las propiedades antioxidantes del cacao son afectadas por factores como el genotipo, condiciones agroclimáticas, el proceso de fermentación, secado y desde luego por el proceso de industrialización, cabiendo recalcar que la etapa de fermentación es de mayor impacto en el contenido de capacidad antioxidante, por ello se puede denotar que el contenido de capacidad antioxidante en las variedades de cacao de distintas zonas es muy diferente.

#### ***4.1.5. Fenoles Totales***

Los fenoles totales de las muestras de cacao fueron analizadas mediante la prueba Folin-Ciocalteu, que se basa en la reacción de los compuestos fenólicos con el reactivo F, a un pH básico dando coloración azul, susceptible a ser determinada espectrofotométricamente en base a una recta patrón del ácido gálico a 725 nanómetros (García et al., 2015). La cantidad de fenoles presentes en las semillas de cacao pueden variar entre 15 y 20%, pero en las fermentadas esta concentración se reduce hasta un 5% (Del Rosario Castro et al., 2017).

Las semillas fermentadas utilizadas en esta investigación presentaron un contenido de polifenoles totales de 82,07 mg Ac. Gálico/g en la variedad Nacional y en la variedad CCN-51 fue de 83,93 mg Ac. Gálico/g. Los resultados fueron superiores a los reportados por Del Rosario Castro et al., (2017) quienes dan a conocer en su estudio que las muestras de cacao fermentado de origen peruano presentaron 53,9 mg Ac. Gálico/g y similares a los resultados obtenidos por Toro et al., (2020) quienes reportan un promedio de 80 mg Ac. Gálico/g para cacao de origen colombiano.

No obstante, Afoakwa, (2013) deduce que la concentración de compuestos fenólicos en las

semillas de cacao es muy variable y depende de la genética y de otros factores como las regiones geográficas de cultivo, prácticas agronómicas y condiciones climáticas.

El cacao en particular es rico en polifenoles, representando el 12 a 18% del peso seco de los granos. Al ingerir estos compuestos, el organismo humano los procesa y aumentan la capacidad de combatir los radicales libres que son los responsables del envejecimiento celular y de la aparición de ciertas enfermedades, además estas sustancias tienen la capacidad de absorber los metales pesados que circulan por el organismo humano y así neutralizarlos (Calderón et al., 2016).

Cabe destacar, que el contenido de polifenoles puede variar por los procesos posteriores a los que los granos pueden ser sometidos, si bien es cierto, no existe un rango establecido en normas para el contenido y consumo de polifenoles en cacao, González et al., (2017), agregan que la ingesta media diaria de fenoles totales por persona corresponde a 1365,1 mg, tomando en cuenta que la ingesta desde valores superiores a 600 mg tiene un efecto protector frente a las enfermedades crónicas.

#### **4.1.6. Teobromina**

La teobromina es una de las principales metilxantinas dentro de los alcaloides en el cacao, al igual que la cafeína, éstas conforman el 3,7 % y 0,2% respectivamente y están directamente asociadas con el sabor amargo del cacao. Su concentración depende de la variedad y se modifica con el procesamiento, particularmente durante el proceso de fermentación y tostado (J. Ortiz et al., 2019).

El resultado para las muestras fermentadas y secas de la variedad Nacional fue de 2,52 % y en la variedad CCN-51 el contenido fue de 2,11%. Estos valores se asemejan a los valores obtenidos por Samaniego et al., (2020) quienes reportan valores entre 2,04 a 2,56 g/100 gr en cacao

de variedad Nacional proveniente de la Amazonía, y superior a los reportados por Saucedo, (2019), quien menciona que la concentración de teobromina en granos secos varía de 0,7 a 2%.

Sánchez, (2015) indica que el contenido de teobromina es variable y está influenciado por características genéticas y no se establece aun un acuerdo a nivel de investigaciones sobre cuál de las variedades o clones tiene mayor concentración de este compuesto.

Si bien es cierto, los productos de cacao, en especial aquellos con alto porcentaje, poseen un efecto antioxidante, estimulante y terapéutico debido a la teobromina, no existen valores de referencia sobre ingestas máximas diarias tolerables para las personas, sin embargo, Méndez, (2020) manifiesta que el contenido de teobromina en el cuerpo humano puede resultar tóxico, para llegar a una dosis letal, se necesitaría consumir hasta 1000 mg/kg de peso corporal.

## **4.2. EVALUACIÓN LOS PARÁMETROS DE TEMPERATURA Y TIEMPO EN EL PROCESO DE TOSTADO SOBRE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE, TEOBROMINA Y FENOLES TOTALES DE LAS DOS VARIEDADES DE CACAO**

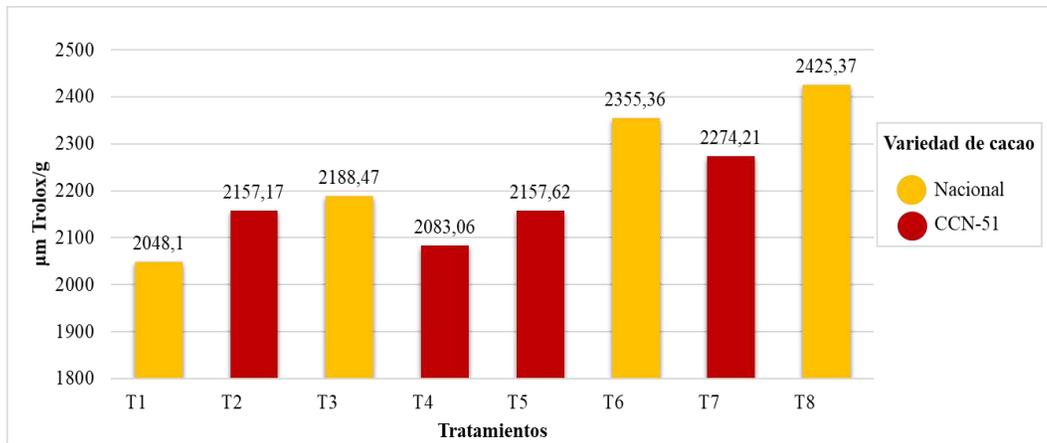
A partir de las condiciones de tiempo y temperatura definidos para el tostado de las dos variedades de cacao (Tabla 7), los ocho tratamientos con sus repeticiones fueron evaluados bajo los compuestos bioactivos de interés: capacidad antioxidante, fenoles totales y teobromina. A continuación, se describen los resultados referentes a las variables antes mencionadas y su incidencia dentro del proceso de tostado.

### ***4.2.1. Capacidad Antioxidante***

En la Figura 25 se muestran los resultados obtenidos en el análisis de capacidad antioxidante para cada uno de los tratamientos, las medias obtenidas se encuentran expresadas en términos equivalentes a  $\mu\text{m Trolox/g}$ .

**Figura 25**

*Capacidad Antioxidante en Granos de Cacao Fermentado y Tostado.*



En promedio la actividad antioxidante para la variedad Nacional oscila entre 2254,32 µm Trolox/g y en la variedad CCN-51 oscila entre 2168,01 µm Trolox/g. Como se puede observar, T8 (variedad Nacional, tostado a 130 °C durante 30 minutos) y T6 (variedad Nacional, tostado a 120 °C durante 30 minutos) tuvieron mayor concentración de capacidad antioxidante entre las muestras, mientras que T1 (variedad Nacional tostado a 120°C por 20 minutos) y T4 (variedad CCN-51, tostado a 120°C durante 20 minutos) mostraron un descenso significativo durante el proceso térmico.

Para comprender las diferencias entre los valores obtenidos, los resultados fueron contrastados en un análisis de varianza (Tabla 11) previamente, tras haberse comprobado la existencia de normalidad de varianzas por la prueba de Shapiro Wilks ( $n= 0,10$ ) y homogeneidad por la prueba de Levene ( $p= 0,76$ ) debido a que el  $p$ - value en las dos pruebas fue mayor al 0,05 (5%) del nivel de significancia.

**Tabla 11**

*Análisis de Varianza para Capacidad Antioxidante.*

<b>Fuentes de Variación</b>	<b>SC</b>	<b>GL</b>	<b>CM</b>	<b>f</b>	<b>p-valor</b>	<b>Sign</b>
Tratamientos	359847,02	7	51406,72	15,13	<0,0001	**
Factor A	203005,38	1	203005,38	59,74	<0,0001	**
Factor B	10570,98	1	10570,98	3,11	0,0968	ns
Factor C	44693,91	1	44693,91	13,15	0,0023	**
Interacción AxB	25559,08	1	25559,08	7,52	0,0145	*
Interacción AxC	46611,08	1	46611,08	13,72	0,0019	**
Interacción BxC	23977,45	1	23977,45	7,06	0,0172	*
Interacción AxBxC	5429,14	1	5429,14	1,6	0,2243	ns
Error	54367,1	16	3397,94			
Total	414214,12	23				

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

El análisis de varianza evidenció diferencias altamente significativas entre tratamientos, Factor A (tiempo de tostado), Factor C (variedad de cacao) y en la interacción AxC (tiempo\*variedad). En cuanto a las interacciones AxB (tiempo\*temperatura) y BxC (temperatura\*variedad) se comprobó que existen diferencias significativas; por otro lado, el Factor B (temperatura de tostado) y la triple interacción AxBxC (tiempo\*temperatura\*variedad) no presentaron diferencias significativas.

Al existir diferencias altamente significativas entre tratamientos se procedió a realizar la prueba Tukey al 5% (Tabla 12).

**Tabla 12**

*Prueba de Tukey al 5% para Capacidad Antioxidante.*

<b>Tratamiento</b>	<b>Medias</b>	<b>n</b>	<b>E.E.</b>	<b>Agrupación</b>	
T8	2425,37	3	33,65	a	
T6	2355,36	3	33,65	a	
T7	2274,21	3	33,65	a	b
T3	2188,47	3	33,65	b	c

T5	2157,62	3	33,65	b	c
T2	2157,17	3	33,65	b	c
T4	2083,06	3	33,65		c
T1	2048,1	3	33,65		c

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

Mediante la prueba Tukey se identificó la agrupación de medias en tres grupos (a, b, c) y se eligió al grupo “a” (T8: variedad Nacional, tostado a 130 °C durante 30 minutos, T6: variedad Nacional, tostado a 120 °C durante 30 minutos y T7: variedad CCN-51, tostado a 120 °C durante 30 minutos) como los mejores tratamientos por cuanto a que demostraron una mayor concentración de capacidad antioxidante.

Evidentemente, los tratamientos con una mayor concentración de capacidad antioxidante fueron aquellos que tuvieron un proceso de tostado con tiempo y temperatura altos establecidos en esta investigación (130°C, 30 minutos), lo que quiere decir que conforme el tiempo y la temperatura ascendieron, la concentración de capacidad antioxidante también lo hizo.

Un comportamiento similar al resultado obtenido en esta investigación fue reportado por Zapata et al., (2015), donde apreciaron efectos similares en el incremento de la actividad antioxidante durante el tostado de clones de cacao, comprobando además que el contenido de antioxidantes no era uniforme en las distintas variedades.

Pareja, (2015) señala que no existe una correlación directa entre la capacidad de inhibición del radical y los compuestos fenólicos totales, e indican además que una alta concentración de antioxidantes no podría deberse a compuestos fenólicos en los extractos de granos de cacao, si no a otros compuestos además de los fenólicos.

En efecto, Rawel et al., (2019) menciona que al someter las semillas de cacao al tratamiento térmico se produce la Reacción de Maillard originada a partir de las interacciones de proteínas,

péptidos y aminoácidos con azúcares reductores; el proceso da como resultado pigmentos marrones denominados melanoidinas que son productos de alto peso molecular que integran compuestos fenólicos y contribuyen a la eliminación de radicales libres y aumento de actividad antioxidante.

Para conocer las diferencias significativas entre los factores tiempo y variedad se realizó la prueba DMS (Diferencia Mínima Significativa) mostrada en la Tabla 13.

**Tabla 13**

*Prueba DMS (Diferencia Mínima Significativa) para Factores Tiempo (A) y Variedad (C).*

	<b>Factor</b>	<b>Medias</b>	<b>Agrupación</b>
Tiempo	A2 (30 min)	2303,14	a
	A1 (20 min)	2119,2	b
Variedad	C1 (Nacional)	2254,33	a
	C2 (CCN-51)	2168,02	b

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

Mediante la prueba DMS (Diferencia Mínima Significativa) se identificó que para el factor tiempo hubo dos grupos (a y b) dentro del cual A2 (30 minutos) permitió concentrar mayor cantidad de capacidad antioxidante en comparación con A1 (20 minutos).

Por otro lado, para el factor variedad se evidenció que presentó dos grupos (a y b) dentro del cual C1 (Variedad Nacional) fue la variedad que demostró aumentar su capacidad antioxidante, pese a que el contenido de antioxidantes en los granos de cacao de la variedad Nacional previo al tostado mostró valores inferiores en comparación con la variedad CCN-51.

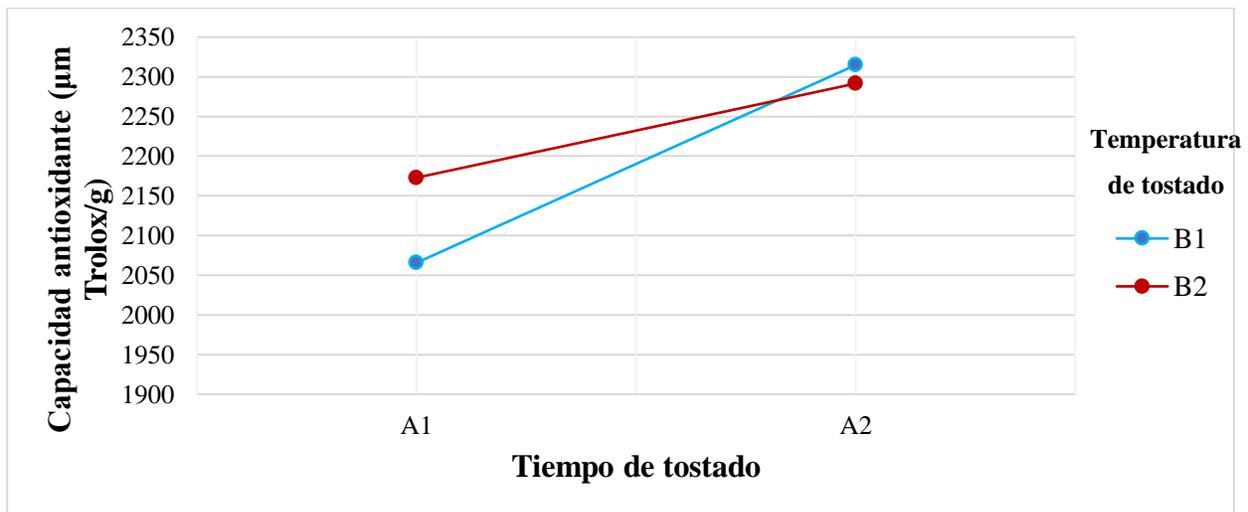
En base a ello, Di Mattia et al., (2017) da a conocer que durante el procesamiento del cacao etapa de torrefacción, los antioxidantes naturales (flavonoides) se pierden, mientras que otros como los productos resultantes de la reacción de Maillard se forman, finalmente el contenido de

compuestos y la actividad antioxidantes es una fusión de varias variables algunas relacionadas con la materia prima y otras relacionadas con el procesamiento.

Para conocer la relación y las diferencias que presentaron los factores durante el proceso de tostado, se procedió a realizar interacciones.

### Figura 26

*Interacción de los Factores A (Tiempo de Tostado) y B (Temperatura de Tostado) Sobre la Capacidad Antioxidante.*



Con relación al tiempo y temperatura de tostado la Figura 26 muestra que el factor A (tiempo de tostado) y el factor B (temperatura de tostado) tienen una relación directa en la concentración de la capacidad antioxidante, sin embargo, el tiempo de exposición a las temperaturas de tostado es el factor que más influencia mostró en el contenido de capacidad antioxidante, verificándose de esta manera que el factor A2 (30 minutos) permitió concentrar mayor capacidad antioxidante en el proceso de tostado de las variedades estudiadas.

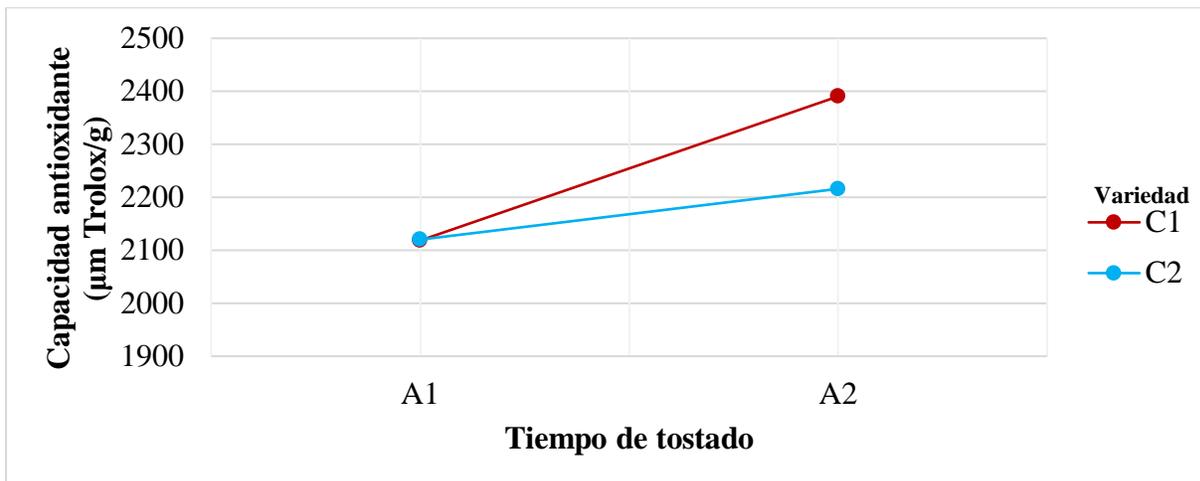
García Alamilla et al., (2017) señalan que, durante el tostado, algunos compuestos aumentan de concentración, la fracción volátil disminuye, se forman nuevos compuestos, la humedad disminuye y los granos al estar sometidos a temperaturas altas atraviesan reacciones

químicas en su interior; Rawel et al., (2019) agrega que la formación de productos de Amadori de etapa temprana, pigmentos marrones avanzados o melanoidinas pueden contribuir a la eliminación de radicales libres en el organismo.

En la interacción tiempo y temperatura se denota que a un contenido de 2270  $\mu\text{m}$  Trolox/g aproximadamente es el punto donde la temperatura y el tiempo presentan un mismo efecto sobre la capacidad antioxidante de las muestras de las variedades de cacao, es decir, la etapa donde se generan compuestos de alta importancia antioxidante.

### Figura 27

*Interacción de los Factores A (Tiempo de Tostado) y C (Variedad) Sobre la Capacidad Antioxidante.*

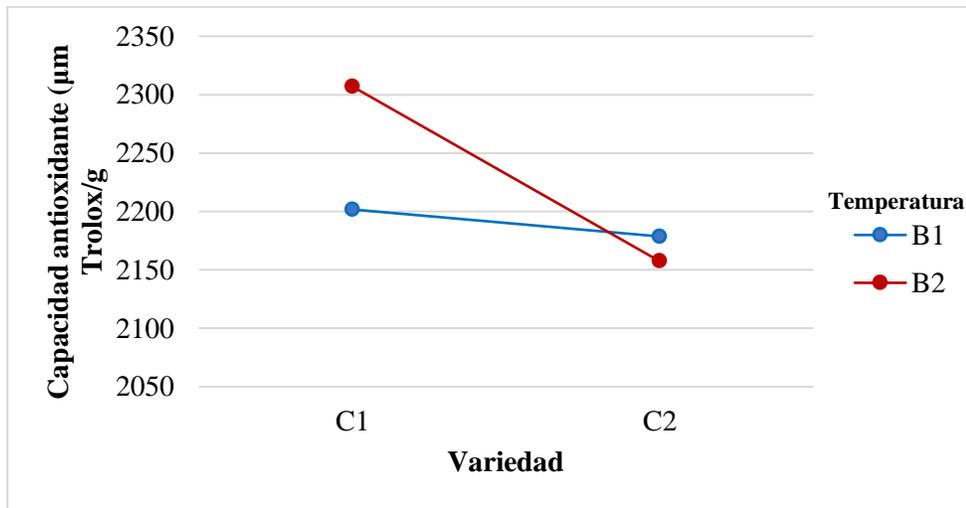


En la interacción Tiempo de tostado\*Variedad (AxC) mostrada en la Figura 27, se observa que a los 20 minutos de tostado (A1) presentó un efecto similar en el contenido de capacidad antioxidante para las dos variedades estudiadas, no obstante, a los 30 minutos de tostado (A2), la variedad Nacional (C1) incrementó su capacidad antioxidante, cabiendo recalcar que antes del proceso de torrefacción su contenido fue de 2020,48  $\mu\text{m}$  Trolox/g inferior a la variedad CCN-51 cuyo contenido fue de 2082,27  $\mu\text{m}$  Trolox/g.

A los 30 minutos de tostado (A2), la gráfica evidencia la resistencia de la variedad Nacional (C1), al tiempo de tostado, concentrando mayor contenido de capacidad antioxidante en comparación con la variedad CCN-51 (C2) la cual mostró concentraciones inferiores.

### Figura 28

*Interacción de los Factores B (Temperatura de Tostado) y C (Variedad) Sobre la Capacidad Antioxidante.*



En la interacción de los factores B (Temperatura de tostado) y C (Variedad) mostrada en la Figura 28, se pudo identificar que la temperatura B2 (130°C) permitió concentrar mayor contenido de capacidad antioxidante en comparación con B1 (120°C).

Con respecto a la variedad, la figura 28 muestra que C1 (Variedad Nacional) tuvo mejor resistencia a la temperatura de tostado, incrementando su capacidad antioxidante en función del tiempo de tostado en comparación con C2 (variedad Nacional).

Sunaharum et al., (2019), agrega que la razón probablemente de concentración de la capacidad antioxidante durante el tostado se debe a la degradación de los componentes producidos por una reacción química inducida por el calentamiento que aumenta o disminuye la disponibilidad de compuestos antioxidantes. Además, Rawel et al., (2019) afirma que la proteína también

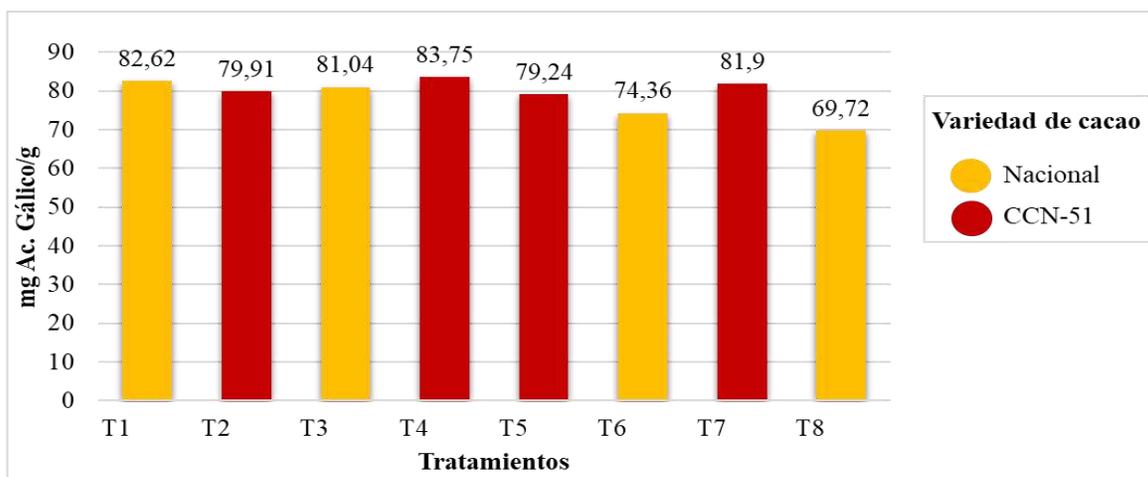
participa en la concentración de antioxidantes, pues la misma influye en el potencial bioactivo como en las propiedades sensoriales del producto final.

#### 4.2.1. Fenoles Totales

Los valores obtenidos tras el análisis de fenoles totales se presentan en la Figura 29. Las medias obtenidas se expresan en mg Ac. Gálico/g.

**Figura 29**

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



Como se visualiza en la Figura 29, T4 (variedad CCN-51, tostado a 120°C durante 20 minutos) es el tratamiento que mayor contenido de fenoles totales presentó y T8 (variedad Nacional, tostado a 130 °C durante 30 minutos) fue el tratamiento al cual los parámetros de tostado afectaron en gran medida.

Por otra parte, el análisis estadístico para los fenoles totales (mg AG/g) se realizó mediante la prueba no paramétrica de Kruskal Wallis (Tabla 14), debido a que el conjunto de datos evaluados no cumplió con los requisitos de normalidad y homogeneidad (P-value inferior al 5%).

**Tabla 14**

*Prueba de Kruskal-Wallis para Fenoles Totales.*

Tratamiento	Medias	D.E.	Medianas	H	p
T1	82,62	0,29	82,56	22,68	0,0019
T2	79,91	0,23	79,8		
T3	81,04	0,14	81,07		
T4	83,75	0,16	83,68		
T5	79,24	0,1	79,29		
T6	74,36	0,38	74,36		
T7	81,9	0,26	81,89		
T8	69,72	0,34	69,79		

El análisis no paramétrico mostrado en la Tabla 13, determina que al menos uno de los tratamientos es distinto al resto, por cuanto a que el p-value es menor de 0,05 ( $0,0019 < 0,05$ ).

Para argumentar estos resultados, se realizó una prueba de Ranking como se muestra en la Tabla 15.

**Tabla 15**

*Prueba de Ranking para Fenoles Totales.*

Tratamiento	Medias	Agrupación				
T8	69,72	a				
T6	74,36	a	b			
T5	79,24	a	b	c		
T2	79,91	a	b	c	d	
T3	81,04		b	c	d	e
T7	81,9			c	d	e
T1	82,62				d	e
T4	83,75					e

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

Mediante la prueba de ranking se pudieron diferenciar 5 grupos (a, b, c, d, e), identificándose que el grupo “e” donde se encuentra T4 (Variedad CCN-51, tostado a 120°C durante 20 minutos) fue el grupo que mayor contenido de polifenoles presentó y el grupo “a” T8 (Variedad Nacional, tostado a 130 °C durante 30 minutos) concentró la menor cantidad de fenoles totales a diferencia del resto.

Evidentemente los polifenoles se vieron reducidos al incrementar los factores de tostado tiempo y temperatura, por lo cual el incremento de estos durante el proceso de torrefacción hace

que la concentración de polifenoles sea afectada. Calderón et al., (2016), señalan que la etapa de tostado tiene mayor influencia sobre el contenido de polifenoles, pues su reducción se debe a la reacción con las proteínas debido a la variación del pH y temperatura producidos en el horno tostador.

Para determinar las diferencias mínimas significativas entre los factores Tiempo, Temperatura y Variedad se realizó la prueba de Kruskal Wallis mostrado en la Tabla 16.

**Tabla 16**

*Prueba de Kruskal Wallis para Factores Tiempo, Temperatura y Variedad en el Contenido de Fenoles Totales.*

<b>Factores</b>		<b>Medias</b>	<b>D.E.</b>	<b>Medianas</b>	<b>H</b>	<b>p</b>	<b>Significancia</b>
Tiempo	A1	81,83	1,54	81,76	9,72	0,0018	*
	A2	76,31	4,88	76,93			
Temperatura	B1	80,66	3,86	82,26	6,75	0,0094	*
	B2	77,48	4,73	79,53			
Variedad	C1	76,94	5,43	77,82	2,43	0,119	NS
	C2	81,2	1,86	80,91			

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

Mediante la prueba de Kruskal Wallis se identificó diferencias significativas para los factores Tiempo y Temperatura, es decir que los dos factores afectaron significativamente el contenido de fenoles totales durante el proceso de tostado por lo que se procedió a realizar una prueba DMS (Diferencia Mínima Significativa) para los niveles de los factores Tiempo y Temperatura (Tabla 17).

**Tabla 17**

*Prueba DMS (Diferencia Mínima Significativa) para los Niveles de los Factores Tiempo y Temperatura en el Contenido de Fenoles Totales.*

<b>Factor</b>	<b>Medias</b>	<b>Agrupación</b>
Tiempo	A2	a
	A1	b

Temperatura	B2	77,48	a
	B1	80,66	b

A través de la prueba DMS (Diferencia Mínima Significativa) aplicada a los niveles de los factores A (Tiempo) y B (Temperatura), se determinó que el tiempo adecuado para conservar mayor cantidad de fenoles durante el proceso de tostado fue A1 (20 minutos) y en cuanto a la temperatura de tostado que permitió conservar los fenoles totales en mayor cantidad fue B1 (120°C).

Calderón et al., (2016) afirma que la temperatura es la variable que más afecta al contenido polifenólico de la semilla de cacao, ya que con un aumento mayor a 110°C el porcentaje de polifenoles se ve reducido. Esto comprueba que el tiempo y la temperatura del proceso de tostado y procesos térmicos influyen sobre el contenido de fenoles totales por la susceptibilidad de estos a la oxidación. De acuerdo con Sabahannur et al., (2018), a medida que el tiempo y temperatura de tostado incrementan, el contenido de fenoles de las muestras de cacao disminuyen hasta un 98%, reduciendo a la vez el sabor amargo y astringente.

En los resultados obtenidos tras el análisis químico de los tratamientos, se obtuvo un promedio de 79,0675 mg Ac. Gálico/g, contenido superior al reportado por Aldave, (2016), quien obtuvo 18,50 mg de Ac. Gálico/g para granos de cacao sometidos al proceso de tostado y por Zapata et al., (2015), quienes señalan que obtuvieron 20,60 mg de Ac. Gálico/g para cacao CCN-51 e inferior a la concentración obtenida por Santacruz & Mantuano, (2021) quienes obtuvieron 94,66 mg Ac. Gálico/g en nibs de cacao y 79,81 mg Ac. Gálico/g en licor de cacao.

Sabahannur et al., (2018) agrega que, durante el proceso de tostado, los polifenoles cambiarán mucho debido a la exposición al oxígeno y a la temperatura, provocando cambios estructurales de los estereoisómeros flavonoides evidenciados en la capacidad antioxidante. Por

ello se considera que el contenido de polifenoles de cada grano de cacao tostado individualmente pudo verse afectado después del proceso de torrefacción.

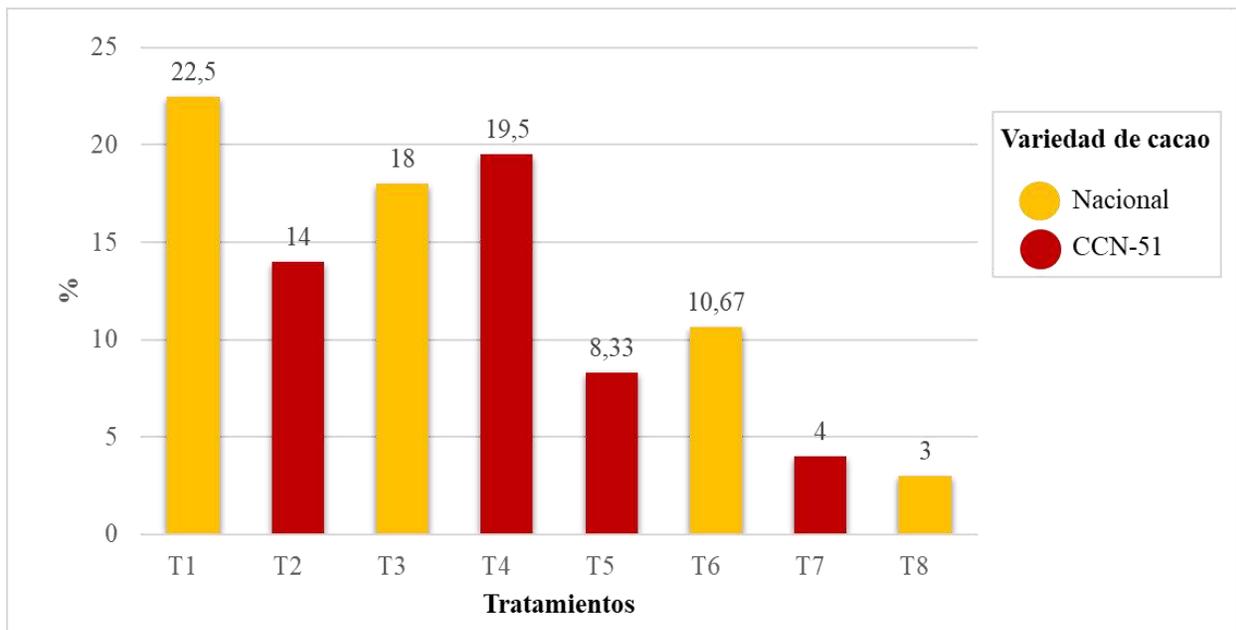
Por otro lado, los polifenoles se encuentran almacenados en células distribuidas en grupos a través de los cotiledones (Castro et al., 2017), por lo que al ser sometidos al proceso de tostado en el horno rotatorio de café de las Unidades Eduproductivas el mismo provocó que los granos golpeen con las paredes del mismo al caer tras la rotación del tambor fragmentando la estructura de los cotiledones, mismos que se fragiliza por el contenido de ácidos grasos 50% (ácido oleico (33%), ácido palmítico (25%) y ácido esteárico (33%) en el cacao) (Negro & Williner, 2019) incidiendo a la oxidación de los compuestos fenólicos que son susceptibles a la luz y temperatura.

#### 4.2.2. Teobromina

Los valores obtenidos tras el análisis de teobromina se presentan en la Figura 30. Las medias obtenidas se expresan en porcentaje (%).

**Figura 30**

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



Como se visualiza T1 (variedad Nacional tostado a 120°C por 20 minutos) seguido por T4 (variedad CCN-51, tostado a 120°C durante 20 minutos) fueron los dos tratamientos que conservaron mayor porcentaje de teobromina, evidentemente los dos tratamientos conservaron mayor porcentaje de teobromina por cuanto a que recibieron un tiempo y temperatura de tostado con parámetros bajos establecidos en la investigación.

Sin embargo, T8 (variedad Nacional, tostado a 130 °C durante 30 minutos) y T7 (variedad CCN-51, tostado a 120 °C durante 30 minutos) fueron los tratamientos que perdieron mayor porcentaje de teobromina.

Por otro lado, mediante la prueba de normalidad (Shapiro Wilks) y homogeneidad (prueba de Levene) los datos no presentaron una distribución normal (P-value inferior al 5%); el análisis estadístico se realizó a partir de la prueba no paramétrica de Kruskal Wallis con base en la Tabla 18 en el cual se determinó que al menos uno de los tratamientos es distinto al resto debido a que el p-value (0,0024) es menor a 0,05.

**Tabla 18**

*Prueba de Kruskal-Wallis Para el Contenido de Teobromina.*

Tratamiento	Medias	D.E.	Medianas	H	P
T1	2,5	0,06	2,47	21,88	0,0024
T2	2,22	0,08	2,2		
T3	2,44	0,01	2,43		
T4	2,45	0,02	2,44		
T5	2,01	0,06	2,04		
T6	2,08	0,03	2,09		
T7	0,35	0,61	0		
T8	0	0	0		

Para establecer de una manera más clara la diferencia que existió entre los tratamientos y conocer el mejor, se realizó una prueba de ranking mostrada en la Tabla 19.

**Tabla 19***Prueba de Ranking para Teobromina.*

<b>Tratamientos</b>	<b>Medias</b>	<b>Agrupaciones</b>		
T8	0	a		
T7	0,35	a		
T5	2,01	a	b	
T6	2,08	a	b	
T2	2,22	a	b	c
T3	2,44		b	c
T4	2,45		b	c
T1	2,5			c

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

En la prueba de ranking, se determinaron 3 grupos (a, b, c) con diferentes comportamientos, dentro de los cuales, el grupo c (T1: variedad Nacional tostado a 120°C por 20 minutos, T4: variedad CCN-51, tostado a 120°C durante 20 minutos, T3: variedad Nacional, tostado a 130°C durante 20 minutos. T2: variedad CCN-51, tostado a 130°C durante 20 minutos), conservó un porcentaje más alto de teobromina después de haber sido sometido al tostado, cabiendo destacar que T1(variedad Nacional tostado a 120°C por 20 minutos) fue el tratamiento que permitió conservar mayor porcentaje de teobromina a diferencia del resto de tratamientos.

El grupo a (T7: variedad CCN-51, tostado a 120 °C durante 30 minutos y T8: variedad Nacional, tostado a 130 °C durante 30 minutos) perdió gran porcentaje de teobromina durante el tostado, ciertamente a medida que se incrementó la temperatura y tiempo de tostado el contenido de teobromina disminuyó.

Vázquez et al., (2016) considera que el contenido de alcaloides como la teobromina y cafeína propios del cacao se ve disminuido durante las fases de procesamiento primario, dando a los productos tostados el balance adecuado de amargor deseable en los cacaos finos. Saucedo, (2019) afirma que el contenido de metilxantinas en los granos de cacao disminuye después del proceso de tostado, ya que, durante el mismo, hay un incremento en el contenido de algunas

sustancias relacionadas con dicetopiperazinas, influenciando negativamente en la calidad sensorial del cacao. Estos compuestos interactúan con alcaloides de purinas, disminuyendo las metilxantinas originándose además un sabor amargo metálico.

Para identificar el nivel de significancia con el cual los factores afectaron al contenido de teobromina se realizó una prueba de Kruskal Wallis mostrada en la Tabla 20.

**Tabla 20**

*Prueba de Kruskal Wallis para los Factores Tiempo, Temperatura y Variedad en el contenido de Teobromina.*

Factores		Medias	D.E.	Medianas	H	P	Significancia
Tiempo	A1	2,4	0,12	2,44	17,28	<0,0001	*
	A2	1,11	1,02	1,5			
Temperatura	B1	1,79	0,92	2,13	0,04	0,8389	NS
	B2	1,72	1,06	2,24			
Variedad	C1	1,75	1,07	2,27	0,52	0,4677	NS
	C2	1,76	0,9	2,1			

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

Al efectuar el análisis no paramétrico a cada uno de los factores se identificó diferencias altamente significativas en el factor A (tiempo), mientras que en los factores B (temperatura) y C (variedad) no se evidenció la existencia de diferencias significativas. Es decir que en este estudio el contenido de teobromina se vio afectado significativamente por el tiempo de tostado.

Posterior a ello se realizó una prueba DMS (Diferencia Mínima Significativa) (Tabla 21) para determinar el tiempo que permitió concentrar mayor contenido de teobromina.

**Tabla 21**

*Prueba DMS (Diferencia Mínima Significativa) para los Niveles de los Factores Tiempo y Temperatura en el Contenido de Teobromina.*

Factor	Medias	Agrupación
Tiempo A2	1,11	a

A1	2,40	b
----	------	---

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

Mediante el análisis de la prueba DMS se determinó que el tiempo el cual permitió conservar una mayor cantidad de teobromina en las muestras de cacao fue A1 (20 minutos), mientras que con A2 (30 minutos) se evidenciaron pérdidas representativas.

Estudios realizados por López & Giner, (2013) reportan un contenido de teobromina del 2,2% a 2,8 % en semillas de cacao tostado, sin embargo, el contenido de teobromina en las semillas de cacao fermentado y seco de la variedad CCN-51 fue de 2,11 % y en la variedad Nacional el porcentaje fue de 2,52, valores superiores a los obtenidos en este estudio, los cuales en efecto del tiempo y temperatura durante el proceso de tostado disminuyeron paulatinamente hasta llegar a 0 con el tiempo y temperatura altos.

Resultados aparentemente distintos, se encontró en el estudio de Saucedo, (2019), quien señala que la elevación de temperatura (de 120 °C a 140°C ) produjo mayor contenido de teobromina en los clones de cacao.

Mediante la Tabla 22 se resume las medias obtenidas tras el análisis de los compuestos bioactivos al aplicar los parámetros de tostado en las dos variedades de cacao.

### **Tabla 22**

*Resumen de los Compuestos Bioactivos de las Semillas de Cacao Fermentadas, Secas y Tostadas*

<b>Tratamiento</b>	<b>Descripción</b>	<b>Capacidad antioxidante <math>\mu\text{m Trolox/g}</math></b>	<b>Polifenoles mg Ac. Gálico/g</b>	<b>Teobromina %</b>
T1	Variedad Nacional tostado a 120°C por 20 minutos	2048,1 <b>c</b>	82,62 <b>de</b>	2,5 <b>c</b>
T2	Variedad CCN-51, tostado a 130°C durante 20 minutos	2157,17 <b>bc</b>	79,91 <b>abcd</b>	2,22 <b>abc</b>

T3	Variedad Nacional, tostado a 130°C durante 20 minutos	2188,47 <b>bc</b>	81,04 <b>bcde</b>	2,44 <b>bc</b>
T4	Variedad CCN-51, tostado a 120°C durante 20 minutos	2083,06 <b>c</b>	83,75 <b>e</b>	2,45 <b>bc</b>
T5	Variedad CCN-51, tostado a 130 °C durante 30 minutos	2157,62 <b>bc</b>	79,24 <b>abc</b>	2,01 <b>ab</b>
T6	Variedad Nacional, tostado a 120 °C durante 30 minutos	2355,36 <b>a</b>	74,36 <b>ab</b>	2,08 <b>ab</b>
T7	Variedad CCN-51, tostado a 120 °C durante 30 minutos	2274,21 <b>ab</b>	81,9 <b>cde</b>	0,35 <b>a</b>
T8	Variedad Nacional, tostado a 130 °C durante 30 minutos	2425,37 <b>a</b>	69,72 <b>a</b>	0 <b>a</b>
C.V.	%	2,64	0,30	1,31

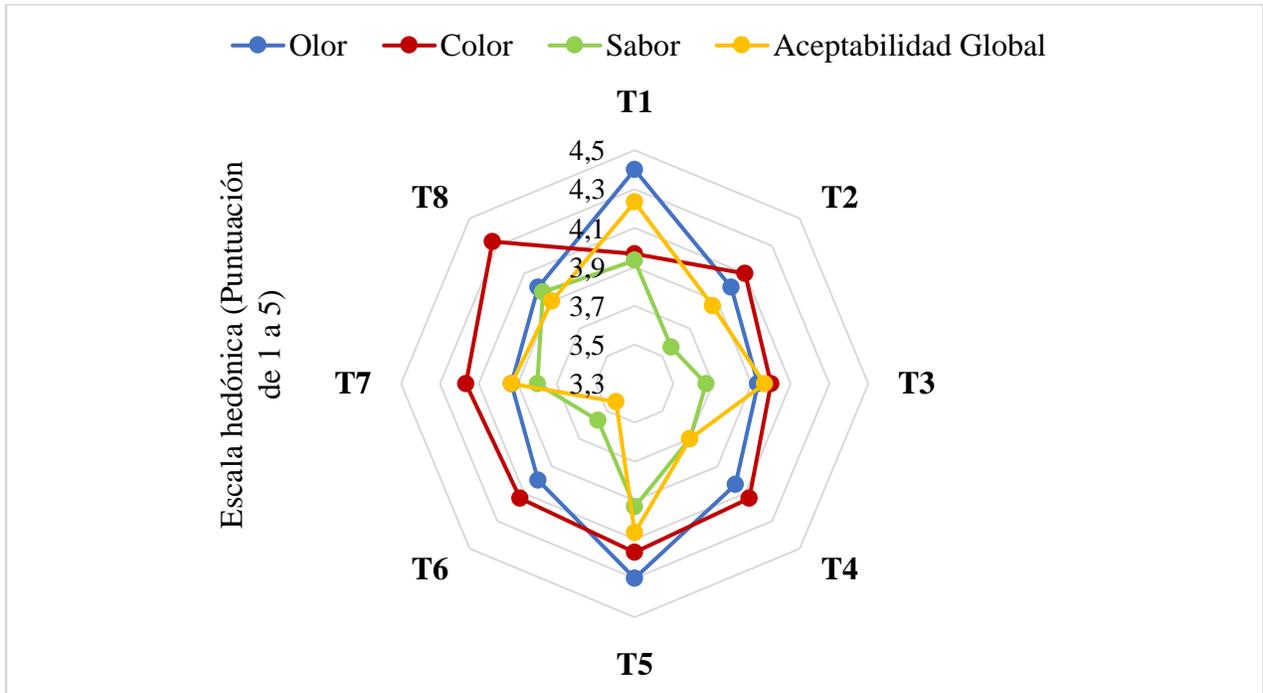
### 4.3. DETERMINACIÓN DE LA ACEPTABILIDAD SENSORIAL DE LA PASTA DE CACAO

Se evaluó la aceptabilidad sensorial de la pasta de cacao a fin de conocer las características (olor, color, sabor y aceptabilidad global), para ello se contó con la colaboración de 30 personas como panelistas no entrenados (consumidores habituales de pasta de cacao) y un formato diseñado para el efecto (Anexo 4) mediante una escala hedónica de 5 puntos para cada característica sensorial, donde 5 significa que gusta mucho, 4 que gusta moderadamente, 3 que no gusta ni disgusta, 2 que disgusta moderadamente y 1 que disgusta mucho.

De los resultados obtenidos, se calcularon los promedios de cada atributo sensorial y se realizó el análisis estadístico a partir de la prueba de Friedman al 5%.

**Figura 31**

*Representación Gráfica de la Aceptabilidad Sensorial de la Pasta de Cacao.*



La Figura 31 muestra los promedios de puntuación hedónica (1 a 5) de las características (olor, color, sabor y aceptabilidad global) evaluadas por los panelistas. La cercanía de las líneas de tendencia de las medias (correspondientes a las características sensoriales) a cada uno de los tratamientos, denotan que los tratamientos de mayor aceptabilidad en cuanto a aroma, color, sabor y aceptabilidad global son T1 (Variedad Nacional tostado a 120° C por 20 minutos), T8 (Variedad Nacional tostado a 130°C por 30 minutos) y T5 (Variedad CCN51, tostado a 130°C durante 30 minutos).

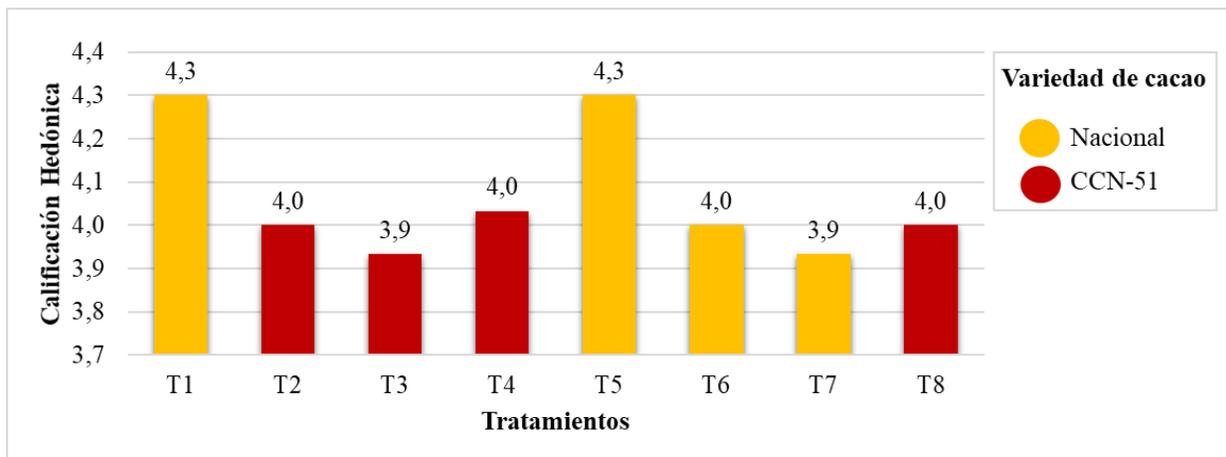
Sin embargo, para conocer a más detalle la percepción de cada tratamiento se analizaron las puntuaciones medias otorgadas por los panelistas en cada característica sensorial.

### 4.3.1 Olor

En la Figura 32 se muestran los resultados del análisis sensorial para la variable olor aplicados a las muestras de cacao mediante la prueba de Friedman donde los panelistas calificaron a los tratamientos bajo una puntuación hedónica de 1 a 5. La prueba estadística realizada, permitió verificar que no existen diferencias mínimas significativas entre los tratamientos.

**Figura 32**

*Aceptabilidad Sensorial de Olor en Muestras de Pasta de Cacao.*



Sin embargo, por criterio de los catadores, los tratamientos de mayor aceptabilidad en cuanto al olor fueron T1 (variedad Nacional, tostado a 120°C por 20 minutos) y T5 (variedad CCN-51, tostado a 130 °C durante 30 minutos).

Los tratamientos T4 (variedad CCN-51, tostado a 120°C durante 20 minutos), T2 (variedad CCN-51, tostado a 130°C durante 20 minutos), T8 (variedad Nacional, tostado a 130 °C durante 30 minutos) y T6 (variedad Nacional, tostado a 120 °C durante 30 minutos), tuvieron una preferencia con puntuaciones promedio entre 4 no tan alejadas de la puntuación más alta 4,3.

Por otro lado, los tratamientos T3 (variedad Nacional, tostado a 130°C durante 20 minutos) y T7 (variedad CCN-51, tostado a 120 °C durante 30 minutos) fueron los menos aceptados por los degustadores.

Pese a que Vega et al., (2016) en su estudio para “Optimización del proceso de tostado de cacao en función del perfil cromatográfico” menciona que las mejores concentraciones de compuestos en la fracción volátil se obtiene con temperaturas superiores a los 120°C y tiempos mayores a 30 minutos, los panelistas no distinguieron diferencias significativas en el olor de los tratamientos.

Vega et al., (2016) atribuye el desarrollo de aroma y calidad al proceso de tostado, enfatizando que el manejo de temperaturas y tiempos son de importancia si se quiere lograr calidad aromática en el producto final, concluyendo además mediante su investigación que los tiempos cortos (15 minutos) de torrefacción no son suficientes para la formación efectiva de compuestos aromáticos aún a temperaturas elevadas (130°C), es por ello que se requiere un proceso en el que involucre el manejo de temperaturas superiores a 120°C y tiempos mayores a 30 minutos para garantizar la concentración máxima de compuestos de fracción volátil.

González et al., (2012) mencionan que las diferencias entre el olor de las muestras de cacao pueden atribuirse a la variación de la composición del grano, desde el origen botánico, lugar de crecimiento, condiciones agrícolas, proceso de poscosecha y procesamiento. Durante el beneficiado y tostado, ocurren varios cambios como la reducción del contenido de agua hasta un 2,5 %, eliminación parcial del ácido acético y desarrollo de los compuestos aromáticos de origen térmico (pirazinas, furanos e hidrocarburos).

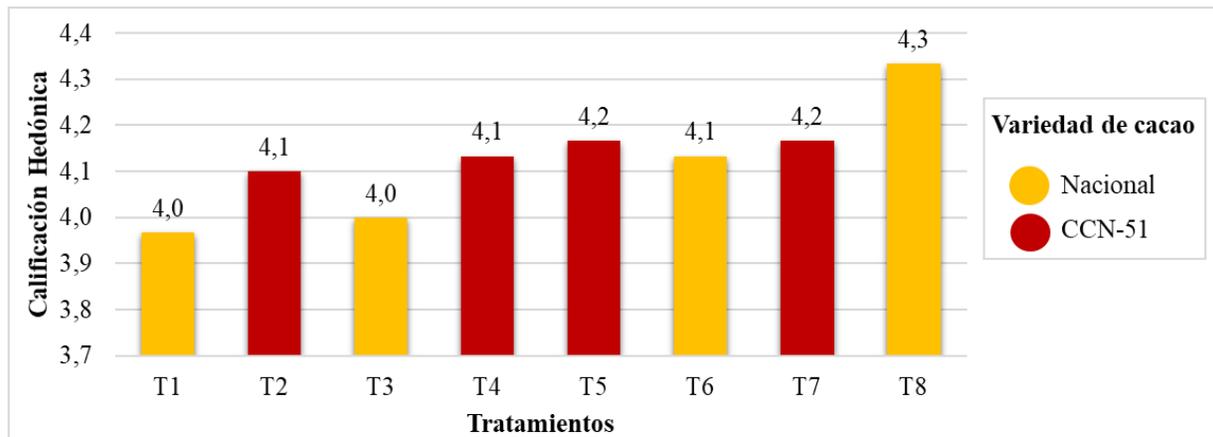
El desarrollo del aroma es un fenómeno complejo que depende de los parámetros del mismo y de la composición química del grano, por ende, los compuestos perdidos durante la torrefacción están implicados en las particularidades aromáticas del cacao (Alvarado et al., 2014).

### 4.3.2. Color

Los resultados obtenidos en la evaluación del color de los tratamientos en estudio se encuentran representados en la Figura 33.

**Figura 33**

*Aceptabilidad Sensorial de Color en Muestras de Pasta de Cacao.*



A través de la prueba no paramétrica Friedman, lo cual arroja un  $p 0,49 > 0,05$ , se comprobó que no existen diferencias significativas en los tratamientos; es decir, estadísticamente el color de los tratamientos evaluados es igual. Alegría, (2015), menciona que en evaluaciones sensoriales con respecto al color de la pasta de cacao es muy difícil establecer diferencias significativas a simple vista.

El hecho de que los granos de cacao oscurezcan después de tostados puede ser atributo a un aumento de los pigmentos cafés (Bonilla, 2014). Durante el tratamiento térmico, se producen compuestos derivados de las reacciones entre azúcares reductores y aminoácidos, conocidas como Reacciones de Maillard las cuales generan pigmentos marrones denominadas melanoidinas (Zapata et al., 2015).

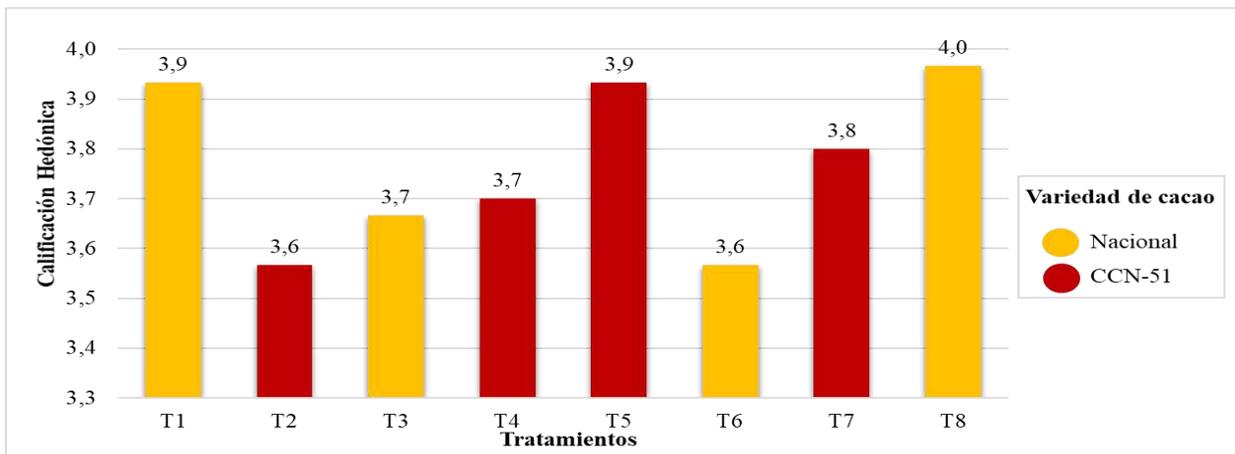
No obstante, los panelistas dieron una puntuación más alta a T8 (variedad Nacional, tostado a 130 °C, durante 30 minutos), cabiendo recalcar que el promedio de puntuaciones de los demás tratamientos no se aleja de la máxima puntuación.

#### 4.3.3. Sabor

En la Figura 34 se puede apreciar los promedios de la calificación hedónica realizada para el sabor de cada uno de los tratamientos en estudio. La prueba no paramétrica de Friedman empleada en el análisis de la variable sabor permitió identificar que no existen diferencias mínimas significativas por cuanto a que el p- value 0,9989 fue mayor a 5%.

**Figura 34**

*Aceptabilidad Sensorial de Sabor en Muestras de Pasta de Cacao.*



Al tabular los resultados de esta variable se establece que el tratamientos más aceptado por el panel degustador fue T8 (variedad Nacional, tostado a 130 °C durante 30 minutos) y los tratamientos que tuvieron un grado de aceptación inferior fueron T6 (variedad Nacional, tostado a 120 °C durante 30 minutos) y T2 (variedad CCN-51, tostado a 130°C durante 20 minutos) a los cuales se les puede atribuir la poca disminución de fenoles totales y teobromina (relacionados con el amargor) por efecto de la temperatura y tiempo de tostado.

Desde la perspectiva del consumo, Vázquez et al., (2016) afirman que las semillas de cacao deben su amargor en mayor medida a los alcaloides presentes, y se ha comprobado además que otras moléculas de naturaleza diferente a los alcaloides (dicetopiperazinas, L-aminoácidos libres o péptidos) contribuyen a la percepción de amargor, o que pueden generar confusión en la percepción entre amargo- astringente (taninos de bajo peso molecular como epicatequina, catequina, procianidinas).

Antes del tostado, los granos de cacao presentan un contenido amargo, ácido y astringente. Sin embargo tras el proceso de torrefacción, los compuestos precursores de sabor y aromas se ven modificados, algunos aumentan de concentración, la fracción volátil disminuye o se forman nuevos compuestos (Gutiérrez, 2020).

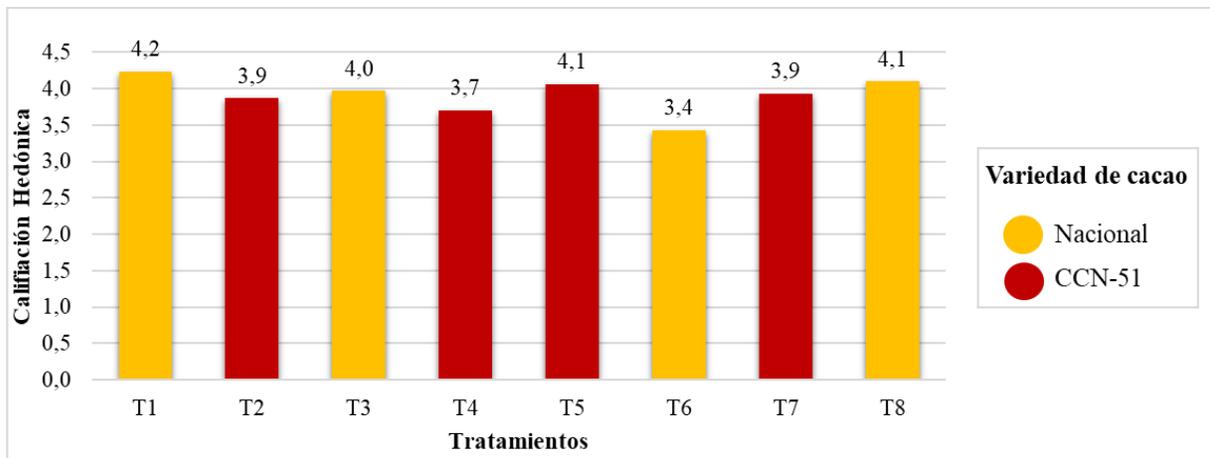
En la evaluación sensorial realizada, se debe tomar en cuenta que, al contar con un panel no entrenado, difícilmente se puede diferenciar sabores específicos en los tratamientos; tras la degustación, el único sabor percibido fue el básico relacionado directamente con el amargor y astringencia. Es por ello por lo que los catadores detallaron como observación que el puntaje más alto en la escala hedónica se lo atribuían al tratamiento con menor amargor.

#### ***4.3.4. Aceptabilidad Global***

En la Figura 35 se muestran los promedios de la calificación hedónica para la aceptabilidad global de las muestras de pasta de cacao en estudio.

#### **Figura 35**

*Aceptabilidad Global de la Pasta de Cacao.*



Por criterio del panel degustador, los tratamientos más agradables y aceptados fueron T1 (variedad Nacional, tostado a 120°C por 20 minutos), seguido por T8 (variedad Nacional, tostado a 130 °C durante 30 minutos) y T5 (variedad CCN-51, tostado a 130 °C durante 30 minutos); el tratamiento de menor puntuación fue T6 (variedad Nacional, tostado a 120 °C durante 30 minutos).

Evidentemente los dos tratamientos con mayor puntuación corresponden a la variedad Nacional, cabe destacar, que la variedad Nacional es caracterizada por su agradable sabor y aroma, categorizándola dentro de los cacaos finos, que con el adecuado proceso de poscosecha y tostado, el mismo es materia prima de calidad. El cacao CCN-51 fue considerado una variedad con características poco agradables en el mercado europeo, no obstante, Bustamante, (2014) agrega que el mal sabor del cacao no es debido a su genética, de lo contrario, depende de las labores de poscosecha y torrefacción.

El tratamiento T5 (variedad CCN-51, tostado a 130 °C durante 30 minutos) fue el más aceptado en cuanto a los tratamientos con la misma variedad, mencionando que el tiempo y temperatura empleados en la torrefacción lograron realzar ciertas características en la pasta, mismas que fueron de agrado para el panel sensorial.

El camino hacia un buen producto comienza con el árbol de cacao, continúa en la cosecha, el beneficio y las distintas fases de procesamiento involucradas en el desarrollo de este. Durante

estas etapas actúan diferentes factores que inciden en su calidad sensorial. De hecho, el carácter sensorial no sólo se origina a partir de los precursores del sabor y el aroma inherentes al grano de cacao, también se generan durante los tratamientos postcosecha, al transformarse en notas deseables durante el proceso de manufactura.

Además, Gonzáles et al., (2012) menciona que complejas modificaciones bioquímicas de los constituyentes del grano se alteran debido a reacciones térmicas dadas durante el tostado. Según Krysiak (2005) citado por (Aldave, 2016) menciona que los cacaos tostados a temperaturas altas alcanzan los mejores atributos sensoriales, estudio comprobado mediante granos tostados a temperaturas de 110, 135 y 150°C por 35 y 45 minutos, obteniéndose los mejores resultados en las muestras tratadas a 135 y 150°C.

## CAPÍTULO V

### 5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

#### 5.1 CONCLUSIONES

- Se identificó el alto potencial de compuestos bioactivos en las semillas fermentadas y secas, la variedad CNN-51 destacó por su tamaño, alto contenido de capacidad antioxidante y fenoles totales, mientras que la variedad Nacional presentó una concentración superior en teobromina.
- Los factores tiempo y temperatura, empleados en el proceso de tostado afectaron significativamente al contenido de fenoles totales y teobromina en las dos variedades de cacao estudiadas, a medida que los factores incrementaron, la concentración de compuestos bioactivos disminuyó, por lo tanto, se puede concluir, que el tostado a 120°C durante 20 minutos permitió concentrar mayor cantidad de fenoles totales y teobromina.
- Los factores tiempo y temperatura de 130°C y 30 minutos utilizados en el proceso de tostado de las dos variedades de cacao dieron como resultado la formación de melanoidinas debido a la Reacción de Maillard, por lo tanto, el potencial antioxidante incrementó.
- La variedad Nacional tras el proceso de tostado mostró mayor contenido de capacidad antioxidante, polifenoles totales y teobromina en comparación con la variedad CCN-51.
- A través de la prueba de aceptabilidad, se identificó que los mejores tratamientos fueron T1 (Variedad Nacional tostado a 120°C por 20 minutos), T8 (Variedad Nacional, tostado a 130 °C durante 30 minutos) y T5 (Variedad CCN-51, tostado a 130 °C durante 30 minutos), esto debido a que presentaron un sabor, color y olor agradables.
- Los parámetros del proceso de tostado, tiempo y temperatura influyeron de manera significativa sobre la capacidad antioxidante, teobromina y fenoles totales de las variedades

de cacao Nacional y CCN51, por lo tanto, se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alternativa planteada en esta investigación.

## **5.2 RECOMENDACIONES**

- Estudiar los compuestos bioactivos (capacidad antioxidante, fenoles totales y teobromina) de los granos de cacao de las variedades CCN-51 y Nacional y su comportamiento frente a los procesos de cosecha, poscosecha y procesamiento.
- Realizar una evaluación sensorial de la pasta de cacao resultante de este estudio con la ayuda de un panel entrenado (catadores de cacao) para conocer el perfil sensorial asociado a cada uno de los factores empleados.
- Realizar un estudio del perfil sensorial del cacao en distintas altitudes dentro de zonas productoras de la parroquia Lita para identificar particularidades de sabor y aroma.
- Evaluar el efecto de los parámetros de tostado en las variedades Nacional y CCN-51 sobre el contenido de ácidos grasos y proteína y su relación con la capacidad antioxidante.
- Realizar pruebas de tostado en el tostador tipo rotatorio de las Unidades Eduproductivas utilizando otros intervalos de tiempo y temperatura en donde se determine el aumento del tamaño de la muestra, sin que éstas sufran daños en su estructura.

## BIBLIOGRAFÍA

- Abad, A., Acuña, C., & Naranjo, E. (2020). El cacao en la Costa ecuatoriana: estudio de su dimensión cultural y económica. *Estudios de La Gestión. Revista Internacional de Administración*, 7(7), 59–83. <https://doi.org/10.32719/25506641.2020.7.3>
- Abad, A., Salgado, F., Acuña, C., & Naranjo, K. (2020). El rol de la tecnología en el proceso productivo del cacao y chocolate en una organización de desarrollo. *Revista Amazónica-Ciencia y Tecnología*, 9. [https://www.researchgate.net/publication/348755833\\_El\\_rol\\_de\\_la\\_tecnologia\\_en\\_el\\_proceso\\_productivo\\_del\\_cacao\\_y\\_chocolate\\_en\\_una\\_organizacion\\_de\\_desarrollo\\_The\\_role\\_of\\_techonology\\_in\\_the\\_cocoa\\_and\\_chocolate\\_production\\_process\\_in\\_a\\_development\\_organizat](https://www.researchgate.net/publication/348755833_El_rol_de_la_tecnologia_en_el_proceso_productivo_del_cacao_y_chocolate_en_una_organizacion_de_desarrollo_The_role_of_techonology_in_the_cocoa_and_chocolate_production_process_in_a_development_organizat)
- Acebo, M. (2016). Estudios industriales y orientación estratégica para la toma de decisiones para la Industria de cacao. *Escuela Politécnica Del Litoral*, 42. <https://url2.cl/1Ug8n>
- Afoakwa, E. (2013). Chocolate Science and Technology. In *Science and Technology of Enrobed and Filled Chocolate, Confectionery and Bakery Products*. <https://doi.org/10.1533/9781845696436>
- Aguilar, H. (2017). *Actividades de poscosecha para lograr cacao de calidad* (Issue 14). [http://www.fhia.org.hn/downloads/cacao\\_pdfs/infocacao/InfoCacao\\_No14\\_Sept\\_2017.pdf](http://www.fhia.org.hn/downloads/cacao_pdfs/infocacao/InfoCacao_No14_Sept_2017.pdf)
- Aldave, G. (2016). *Efecto de la temperatura y tiempo de tostado en los caracteres sensoriales y en las propiedades químicas de granos de cacao (Theobroma cacao L.) procedente de Uchiza , San Martín – Perú para la obtención de NIBS* (Vol. 121, Issue 7). Universidad Nacional Mayor de San Marcos.
- Alegría, E. (2015). *Evaluación de tratamientos previos al proceso de tostado de semillas de cacao para el diseño del área de producción de pasta de cacao (Theobroma cacao)*. Escuela

Politécnica Nacional.

Alfonso, A. (2018). *Diagnostico actual en el cambio de casa elbas por marquesinas para el proceso de fermentación y secado de cacao en el municipio de Cubarral Meta* [Universidad Nacional Abierta y a Distancia UNAD]. chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcgclefindmkaj/https://repository.unad.edu.co/bitstream/handle/10596/21079/52481244.pdf?sequence=1&isAllowed=y

Alvarado, M., Portillo, E., Bolanger, R., Bastide, F., & Macía, I. (2014). Sustancias aromáticas en el cacao cosechado en la zona de Río Anus, municipio sucre, estado portuguesa, Venezuela. *Revista UNELLEZ de Ciencia y Tecnologia*, 32, 38–43. [https://agritrop.cirad.fr/579086/1/Alvarado et al\\_2014\\_Rev Unel Cienc Tec.pdf](https://agritrop.cirad.fr/579086/1/Alvarado%20et%20al_2014_Rev%20Unel%20Cienc%20Tec.pdf)

Ampuero, D. (2021). *Bean to Bar*. 14.

Andrade, J., Rivera, J., Chire, G., & Ureña, M. (2019). Propiedades físicas y químicas de cultivares de cacao (*Theobroma cacao* L.) de Ecuador y Perú. *Enfoque UTE*, 10(4), 1–12. <https://doi.org/10.29019/enfoque.v10n4.462>

Anecacao. (2015). *El Cacao Nacional*. <http://www.anecacao.com/es/quienes-somos/cacao-nacional.html#:~:text=Semielaborados,fabricación de chocolates y derivados>.

Arreaga, J. (2021). *Diseño de un molino industrial para la molienda y descascarado del cacao* (Vol. 1). Universidad Politécnica Salesiana.

Arvelo Sánchez, M. A., González León, D., Maroto Arce, S., Delgado López, T., & Montoya López, P. (2017). Manual técnico del cultivo de cacao Buenas prácticas para América Latina. In *Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA)*. file:///C:/Users/usuario/Downloads/BVE17089191e.pdf

Augstburger, F., Berger, J., Censkowsky, U., Heid, P., Milz, J., & Streit, C. (2000). *Agricultura*

*Orgánica en el Trópico y Subtrópico.*

- Bonilla, J. (2014). Evaluación de tostado y desarrollo de chocolate con leche a partir de cacao (*Theobroma cacao*) var. Trinitario. *Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano Honduras*, 1–26.
- Cabanilla, K. (2018). Emprendimiento de una microempresa para la producción y comercialización de pasta de cacao en la ciudad de Machala. [Universidad Técnica de Machala]. In *Utmach* (Vol. 1, Issue 2). <http://repositorio.utmachala.edu.ec/handle/48000/12149>
- Cajas, I. (2020). *Análisis sobre el proceso de producción de cacao en las 8 fincas de mayor rendimiento en el cantón Balao, provincia del Guayas*. Universidad Tecnológica Ecuatoriana.
- Calderón, R., Chaurán, Y., Mendoza, N., Vega, C., Rojas, J., & Manganiello, L. (2016). Parámetros de operación más adecuados para el proceso de tostado de almendras de cacao. *Revista INGENIERÍA UC*, 23(1), 67–80. <https://www.redalyc.org/pdf/707/70745478009.pdf>
- Castillo, J. (2019). *ORIENTADO A MEJORAR EL CACAO CRIOLLO BLANCO DE PIURA* José Castillo-Ramos. [https://pirhua.udep.edu.pe/bitstream/handle/11042/4017/MAS\\_IME\\_AUT\\_033.pdf?sequence=2&isAllowed=y](https://pirhua.udep.edu.pe/bitstream/handle/11042/4017/MAS_IME_AUT_033.pdf?sequence=2&isAllowed=y)
- Castro, M., Hernández, J. A., Marcilla, S., Córdova, J. S., Solari, F. A., & Chire, G. C. (2017). Efecto del contenido de grasa en la concentración de polifenoles y capacidad antioxidante de *Theobroma cacao* L. “Cacao.” *Ciencia e Investigación*, 19(1), 19–23. <https://doi.org/10.15381/ci.v19i1.13623>
- Cavezas, S., & Eras, V. (2015). *Mejora del perfil sensorial de un semielaborado (licor de cacao) en una industria chocolatera aplicando un proceso térmico desbacterizado* [Escuela Superior

- Politécnica del Litoral]. <https://www.dspace.espol.edu.ec/retrieve/91627/D-CD88207.pdf>
- CFN (Corporación Financiera Nacional). (2021). *Ficha Sectorial Cacao y Chocolate*. chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/<https://www.cfn.fin.ec/wp-content/uploads/downloads/biblioteca/2021/fichas-sectoriales-2-trimestre/Ficha-Sectorial-Cacao.pdf>
- Charris, E. (2021). Manejo agronómico de un sistema productivo de cacao *Theobroma cacao* L. en el corregimiento de Villa Germania municipio de Valledupar Cesar. In *Ciencia Unisalle*. [https://ciencia.lasalle.edu.co/ingenieria\\_agronomica/204](https://ciencia.lasalle.edu.co/ingenieria_agronomica/204)
- Chávez, R., Carbo, S., Lombeida, E., & Cobos, F. (2019). Estudios socioeconómicos del cultivo de cacao (*Theobroma cacao* L.) en la parroquia Febrés Cordero Cantón Babahoyo Los Rios -Ecuador. *Observatorio de La Economía Latinoamericana*.
- Cobos, E. (2020). Ecuador tiene en el cacao una oportunidad de oro. *Revista Gestión Ec*. <https://www.revistagestion.ec/economia-y-finanzas-analisis/ecuador-tiene-en-el-cacao-una-oportunidad-de-oro>
- Cocom, B. (2021). *Estudio del Proceso de Fermentación de los Granos de Cacao (Theobroma cacao) en México*. Universidad de Almería.
- CONSTRUGRISHA S.A. (2015). *Estudio de mercado y dimensionamiento de centro de acopio para la Asociación de productores de Lita*.
- Coronado H., M., Vega Y León, S., Gutiérrez T., R., Marcela, V. F., & Radilla V., C. (2015). Antioxidants: Present perspective for the human health. *Revista Chilena de Nutricion*, 42(2), 206–212. <https://doi.org/10.4067/S0717-75182015000200014>
- Cuellar, L., & Ovalles, L. (2017). Chocolate: más que un dulce. *Convicciones*.
- Del Aguila, E. (2017). Determinación de cadmio y plomo en granos de cacao, frescos, secos y en

- licor de cacao (*Theobroma cacao*). *Universidad Nacional Agraria de La Selva*, 71.  
<http://repositorio.unas.edu.pe/handle/UNAS/1269>
- Del Rosario Castro, M., Hernández, J. A., Marcilla, S., Córdova, J. S., Solari, F. A., & Chire, G. C. (2017). Efecto del contenido de grasa en la concentración de polifenoles y capacidad antioxidante de *Theobroma cacao* L. “cacao.” *Ciencia e Investigación*, 19(1), 19–23.  
<https://doi.org/10.15381/ci.v19i1.13623>
- Di Lorenzo, C., Colombo, F., Biella, S., Stockley, C., & Restani, P. (2021). Polyphenols and human health: The role of bioavailability. *Nutrients*, 13(1), 1–30.  
<https://doi.org/10.3390/nu13010273>
- Di Mattia, C., Sacchetti, G., Mastrocola, D., & Serafini, M. (2017). From cocoa to chocolate: The impact of processing on in vitro antioxidant activity and the effects of chocolate on antioxidant markers in vivo. *Frontiers in Immunology*, 8(SEP), 1–7.  
<https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.01207>
- Dzelagha, B., Ngwa, N., & Bup, D. (2020). A review of cocoa drying technologies and the effect on bean quality parameters. *International Journal of Food Science*, 2020.  
<https://doi.org/10.1155/2020/8830127>
- Escobar, P. (2018). Plan de negocio para la implementación de una planta de producción de pasta de cacao fino de aroma en la ciudad de Latacunga. In *Universidad Técnica de Ambato*.
- Espinoza, E., & Arteaga, Y. (2015). Diagnóstico de los Procesos de Asociatividad y la Producción de Cacao en Milagro y sus sectores aledaños / Diagnosis of the Process of Partnership and Cocoa Production and Milagro surrounding areas. *Ciencia Unemi*, 8(14), 105–112.  
<https://doi.org/10.29076/issn.2528-7737vol8iss14.2015pp105-112p>
- FAO. (2018). *Cacao*. FAO. <http://www.fao.org/3/y5143s/y5143s0w.htm>

- 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(July 2021), 112395. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112395>
- Fernández, S., & Fernández, Y. (2016). *Los aztecas y el uso del cacao como moneda*. 12.
- FONTAGRO. (2019). *Informe\_CACAO\_linea\_base*.  
[https://www.fontagro.org/new/uploads/adjuntos/Informe\\_CACAO\\_linea\\_base.pdf](https://www.fontagro.org/new/uploads/adjuntos/Informe_CACAO_linea_base.pdf)
- García Alamilla, P., Lagunes Gálvez, L. M., Barajas Fernández, J., & García Alamilla, R. (2017). Physicochemical changes of cocoa beans during roasting process. *Journal of Food Quality*, 2017. <https://doi.org/10.1155/2017/2969324>
- García, E., Fernández, I., & Fuentes, A. (2015). Determinación de polifenoles totales por el método de Folin- Ciocalteu. *Etsiamn. Universidad Politécnica de Valencia*, 9.
- Gomez, S. (2019). *Fermentación del café: El secreto de la calidad en taza*.
- González, F., Barajas, J., & García, P. (2019). Extracción de compuestos solubles de la cascarilla de cacao con CO2 supercrítico. Caso de metilxantinas y grasa. *CienciaUAT*, 13(2), 128. <https://doi.org/10.29059/cienciauat.v13i2.1073>
- González, I. N., Periago, M. J., & Alonso, F. J. G. (2017). Estimación de la ingesta diaria de compuestos fenólicos en la población española. *Revista Espanola de Nutricion Humana y Dietetica*, 21(4), 320–326. <https://doi.org/10.14306/renhyd.21.4.357>
- González, Y., Pérez, E., & Palomino, C. (2012). Factores que Inciden en la Calidad Sensorial del Chocolate. *Revista Oficial de La Sociedad Argentina de Nutrición*, 13, 314–331.
- Gutiérrez, M. (2020). *Tecnología de tostado del grano de cacao*.
- Hernández, C. (2019). Análisis de la composición química del cacao, extracción y estudio de compuestos antioxidantes en genotipos del banco de germoplasma de México. *Universidad*

de Sevilla. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/tesis?codigo=212620>

Iman, A., & Quillilli, J. (2019). *Elaboración y caracterización fisicoquímica y organoléptica de la pasta de cacao (Theobroma cacao L.) a partir de los granos de cacao secos y tostados de la variedad Chuncho- Cusco*. Universidad Nacional de Piura.

INAMHI. (2020). *Servicio Meteorológico del Ecuador*. <https://inamhi.wixsite.com/inamhi>

International Trade Centre (ITC). (2020). *Trade Map - Cacao y sus preparaciones*. [https://www.trademap.org/Country\\_SelProductCountry\\_TS\\_Graph.aspx?nvpm=3%7C218%7C%7C%7C%7C18%7C%7C%7C2%7C1%7C1%7C2%7C2%7C1%7C2%7C1%7C1%7C2](https://www.trademap.org/Country_SelProductCountry_TS_Graph.aspx?nvpm=3%7C218%7C%7C%7C%7C18%7C%7C%7C2%7C1%7C1%7C2%7C2%7C1%7C2%7C1%7C1%7C2)  
C2

Jaimez, R., Barragan, L., Fernandez, M., Wessjohann, L., Cedeño, G., Sotomayor, I., & Arteaga, F. (2022). *Theobroma cacao L. cultivar CCN 51: a comprehensive review on origin, genetics, sensory properties, production dynamics, and physiological aspects*. *Peer J*. <https://doi.org/10.7717/peerj.12676>

López, D. (2018). *Identificación y cuantificación de teobromina como estimulante natural del chocolate*. <https://tesis.ipn.mx/bitstream/handle/123456789/17310/25-1-16716.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

López, E., & Giner, R. (2013). Chocolate, café, té y otros estimulantes: bebidas energéticas avant la lettre (I). *Revista Española de Drogodependencias*, 38(4), 391–409.

Méndez, R. (2020). *Esta es la cantidad de chocolate que tendrías que tomar para morir por una intoxicación*. [https://www.elespanol.com/ciencia/nutricion/20200213/cantidad-chocolate-tomar-morir-intoxicacion/465953783\\_0.html](https://www.elespanol.com/ciencia/nutricion/20200213/cantidad-chocolate-tomar-morir-intoxicacion/465953783_0.html)

Muñoz, G. (2018). *Evaluación de la capacidad antioxidante en cacao Nacional fino de aroma (Theobroma cacao L.), de las principales zonas productoras del Ecuador*. chrome-

extension://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/viewer.html?pdfurl=http%3A%2F%2Fwww.dspace.uce.edu.ec%2Fbitstream%2F25000%2F16722%2F1%2FT-UCE-0008-CQU-050.pdf&cflen=1604799

Negro, E., & Williner, M. R. (2019). Calidad nutricional y origen de los ácidos grasos en chocolates y baños de repostería producidos en Argentina. Cumplimiento de la legislación. *Nutricion Clinica y Dietetica Hospitalaria*, 39(3), 129–137. <https://doi.org/10.12873/393negro>

NTE INEN 3187. (2020). *ECUATORIANA NTE INEN 3187*.

Olavarría, D. (2017). Oro negro, oro dulce | Letras Libres. *Letras Libres*, 40–44. <https://letraslibres.com/revista/oro-negro-oro-dulce/>

Ortiz, J., Chungara, M., Ibieta, G., Alej, I., Tejeda, L., Peralta, C., Rossel, E., Mollinedo, P., & Peñarrieta, M. (2019). Deterinación de teobromina, catequina, capacidad antioxidante total y contenido fenólico en muestras representativas de cacao Boliviano y su comparación antes y despues del proceso de fermentación. *Revista Boliviana de Química*, 36, 40–50. <https://www.redalyc.org/journal/4263/426360099004/html/>

Ortiz, K., & Álvarez, R. (2015). Efecto del vertimiento de subproductos del beneficio de cacao (*Theobroma cacao* L.) sobre algunas pro piedades químicas y biológicas en los suelos de una finca cacaotera, municipio de Yaguará (Huila, Colombia). *Boletin Cientifico Del Centro de Museos*, 19(1), 65–84. <https://doi.org/10.17151/bccm.2015.19.1.5>

Pabón Andrade, J. G. (2016). *Procesadora y comercializadora de pasta de Cacao y sus derivados en Ecuador* [Universidad Internacional de la Rioja]. [https://reunir.unir.net/bitstream/handle/123456789/3711/PABON ANDRADE%2C JOHANA GABRIELA.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://reunir.unir.net/bitstream/handle/123456789/3711/PABON_ANDRADE%2C%20JOHANA%20GABRIELA.pdf?sequence=1&isAllowed=y)

- Palacios, A., Quevedo, J., & Rodríguez, I. (2021). FETENSECA: An alternative to improve the sensory quality of cocoa (*Theobroma cacao* L.) cultivar ccn-51. *Manglar*, 18(4), 411–417. <https://doi.org/10.17268/manglar.2021.053>
- Pallares, A., Estupiñán, M., Perea, J., & López, L. (2016). Impact of fermentation and drying in polyphenol content and antioxidant capacity of cocoa variety CCN-51. *Ion*, 29, 7–21. <http://www.redalyc.org/pdf/3420/342050982002.pdf>
- PAPÁCACAO. (2019). *Un grano de cacao bien fermentado*. PAPÁCACAO. <https://www.facebook.com/cursosdebomboneriaguayaquilpapacacao/posts/2079203108829275/>
- Pareja, A. (2018). *Estudio de la cinetica de degradacion de la actividad antioxidante y fenoles en el tostado de cacao (Theobroma cacao L.) variedad*. Instituto Politécnico Nacional.
- Pérez, M., & Contreras, J. (2017). Guía de buenas prácticas de cosecha, fermentación y secado para la producción de cacaos especiales. *Coexca Cacao Fino y de Aroma*, 22–41. [https://www.swisscontact.org/fileadmin/user\\_upload/COUNTRIES/Colombia/Documents/Guia\\_de\\_buenas\\_practicas\\_de\\_poscosecha.pdf](https://www.swisscontact.org/fileadmin/user_upload/COUNTRIES/Colombia/Documents/Guia_de_buenas_practicas_de_poscosecha.pdf)
- PERFECT DAILY GRIND. (2018). *Una Guía Para Principiantes: Cómo Tostar Cacao de Calidad*. <https://perfectdailygrind.com/es/2018/03/29/una-guia-para-principiantes-como-tostar-cacao-de-calidad/>
- Pesantez, Z., & Cabrera, E. (2021). Análisis del plan estratégico del cacao fino y de aroma ecuatoriano, periodo 2013-2017. *ECA Sinergia*, 12(3), 135. [https://doi.org/10.33936/eca\\_sinergia.v12i3.3207](https://doi.org/10.33936/eca_sinergia.v12i3.3207)
- Porras, M., Vargas, G., Araúz, L., & Abarca, Y. (2019). Efecto de la temperatura en la rapidez del tostado de café. *Revista Tecnología En Marcha*, 32, 20–27.

<https://doi.org/10.18845/tm.v32i7.4255>

- Quintana, L., Gómez, S., García, A., & Martínez, N. (2015). de cacao de los clones CCN51 , ICS60 e ICS 95 , en la montaña santandereana , Colombia Characterization of three indexes of cocoa harvest of the clones CCN51 , ICS60 and ICS 95 in the santandereana mountain , Colombia. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*, 6(Volumen 6 Número 1 – enero-junio), 253–266. <http://hemeroteca.unad.edu.co/index.php/riaa/article/view/1284/1620>
- Rawel, H., Huschek, G., Sagu, S., & Homann, T. (2019). Cocoa bean proteins-Characterization, changes and modifications due to ripening and post-harvest processing. *Nutrients*, 11(2). <https://doi.org/10.3390/nu11020428>
- Rodriguez, M. (2016). *¿Cacao? Fermentado, por favor*. Viva El Cacao. Nuestra Ruta Es Venezuela. <https://vivaelcacao.com/cacao-fermentado-por-favor/>
- Rojas, K., Hernández, C., & Mencía, A. (2021). Transformaciones bioquímicas del cacao (*Theobroma cacao* L.) durante un proceso de fermentación controlada. *Agronomía Costarricense*, 45(1), 53–65. <https://doi.org/10.15517/rac.v45i1.45694>
- Rosero, L. (2021). *Optimización de la fermentación de cacao (Theobroma cacao) de especies cultivadas en los departamentos de Meta y Guaviare Colombia. Revisión de Literatura*. 7, 6.
- Sabahannur, S., Alimuddin, S., & Rahmawati. (2018). Changes in Phenol Level and Antioxidant Activity of Cocoa Beans During Fermentation and Roasting. *Journal of Food Research*, 7(4), 23. <https://doi.org/10.5539/jfr.v7n4p23>
- 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(November 2019), 103448. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2020.103448>

- Sánchez, J. (2015). *Extracción y cuantificación de teobromina existente en las semillas de cuatro variedades de cacao (Theobroma cacao L.) producidas en la provincia de el Oro, 2014*. 72. [http://repositorio.utmachala.edu.ec/bitstream/48000/4485/1/CD00736-2015-TRABAJO COMPLETO.pdf](http://repositorio.utmachala.edu.ec/bitstream/48000/4485/1/CD00736-2015-TRABAJO%20COMPLETO.pdf)
- Santacruz, S., & Mantuano, W. (2021). Efecto del procesamiento de cacao negro en el contenido y actividad antioxidante de compuestos fenólicos. *Revista ESPAMCIENCIA*, 12(1), 41–45. [https://doi.org/10.51260/revista\\_espamciencia.v12i1.221](https://doi.org/10.51260/revista_espamciencia.v12i1.221)
- Saucedo, J. (2019). Determinación del contenido de teobromina en licor de cacao (*Theobroma cacao* L.) de los clones ICS-95 y CCN-51. In *Journal of Chemical Information and Modeling* (Vol. 53, Issue 9).
- Saza, J., & Jiménez, J. (2020). *Determinación de condiciones ambientales para la conservación de granos de cacao (Theobroma cacao L.) deshidratado durante el almacenamiento*. 97–125.
- Serra, J. J., Melero, J., Martínez, G., & Fagoaga, C. (2020). Especies vegetales como antioxidantes de alimentos. *Nereis. Interdisciplinary Ibero-American Journal of Methods, Modelling and Simulation.*, 12, 71–90. [https://doi.org/10.46583/nereis\\_2020.12.577](https://doi.org/10.46583/nereis_2020.12.577)
- Teneda, W. (2016). Mejoramiento del Proceso de Fermentación del Cacao (*Theobroma cacao* L.) Variedad Nacional y Variedad CCN51. *Universidad Internacional de Andalucía*, 140. <https://url2.cl/VB8Tk>
- Toro, S., Godoy, J., Renévillamizar, A., Perea, M. de J., & López, L. J. (2020). Insight of polyphenol oxidase enzyme inhibition and total polyphenol recovery from cocoa beans. *Antioxidants*, 9(6), 1–13. <https://doi.org/10.3390/antiox9060458>
- Torres, D. (2020). *Centro de Acopio ASPL*.
- Vallejo, E., Rojas, A., & Torres, O. (2017). Una poderosa herramienta en la medicina preventiva

- del cáncer: los antioxidantes. *El Residente*, 12(3), 104–111.  
<https://www.medigraphic.com/pdfs/residente/rr-2017/rr173d.pdf>
- Vassallo, M. (2015). Cadena del cacao en Ecuador. In *Journal of Chemical Information and Modeling* (Vol. 53, Issue 9). <https://editorial.iaen.edu.ec/wp-content/uploads/2016/06/Cadena-del-cacao-en-Ecuador.pdf>
- Vázquez, A., Obando, I., Adriano, L., Betancur, D., & Salvador, M. (2016). Alcaloides y polifenoles del cacao, mecanismos que regulan su biosíntesis y sus implicaciones en el sabor y aroma. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 66(3), 236.  
[http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0004-06222016000300010&lng=es&nrm=iso&tlng=en](http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-06222016000300010&lng=es&nrm=iso&tlng=en)
- Vega, F., Rodríguez, J., Escalona, H., & Lugo, E. (2016). Optimización del proceso de tostado de *Theobroma cacao* variedad criollo en la función del perfil cromatográfico. *Academia Mexicana de Investigación y Docencia En Ingeniería Química*, 181–186.  
<https://www.mendeley.com/catalogue/cd459504-f811-3f80-b649-65fde8c6be84/>
- Voyer, L., & Alvarado, C. (2019). Reacción de Maillard. Efectos patogénicos-. *Medicina Buenos Aires*.
- Wickramasuriya, A. M., & Dunwell, J. M. (2018). Cacao biotechnology: current status and future prospects. *Plant Biotechnology Journal*, 16(1), 4–17. <https://doi.org/10.1111/pbi.12848>
- Zaavedra, S., & Zaavedra, L. (2020). *Importancia de la calidad de los granos de cacao y aguas mieles*.
- Zapata, S., Tamayo, A., & Alberto, B. (2013). Efecto de la fermentación sobre la actividad antioxidante de diferentes clones de cacao Colombiano. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 18(3), 391–404.

Zapata, S., Tamayo, A., & Alberto, B. (2015). Efecto del Tostado Sobre los Metabolitos Secundarios y la Actividad Antioxidante de Clones de Cacao Colombiano. *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín*, 68(1), 7497–7507.  
<https://doi.org/10.15446/rfnam.v68n1.47836>

# ANEXOS

## Anexo 1 Normativa INEN 0177:95.

CDU: 633.91  
ICS: 67.140



CIIU: 1110  
AL 02.06-201

Norma Técnica Ecuatoriana Obligatoria	CACAO EN GRANO. MUESTREO.	NTE INEN 177-95 Segunda revisión 1995-09
<p style="text-align: center;"><b>1. OBJ ETO</b></p> <p>1.1 Esta norma establece el procedimiento para la toma de muestras del cacao en grano.</p> <p style="text-align: center;"><b>2. DEFINICIONES</b></p> <p>2.1 Lote. Es la cantidad específica de cacao en grano con características similares, que se somete a inspección como un conjunto unitario.</p> <p>2.2 Muestra. Es un grupo de granos extraído de un lote, que sirve para obtener la información necesaria que permite apreciar una o más características de ese lote, lo cual servirá de base para tomar una decisión sobre dicho lote.</p> <p>2.3 Muestra elemental. Es la cantidad de granos lomada de una sola vez y de un solo punto del lote determinado.</p> <p>2.4 Muestra global o total. Es el conjunto de las muestras elementales.</p> <p>2.5 Muestra reducida (porción). Es la cantidad de cacao en grano que se obtiene al reducir de tamaño la muestra global.</p> <p>2.6 Muestra de laboratorio. Es la cantidad de cacao en grano obtenida de la muestra reducida, que está en condiciones de ser enviada al laboratorio, para en ella efectuar los ensayos correspondientes.</p> <p>2.7 Muestra de ensayo. Es la parte de la muestra de laboratorio destinada a un análisis o ensayo.</p> <p>2.8 Nivel de calidad aceptable (AQL). Es el máximo porcentaje defectuoso, o el mayor número de defectos en 100 unidades, que debe tener el producto para que el plan de muestreo de por resultado la aceptación de la mayoría de lotes sometidos a inspección</p> <p>2.9 Nivel de Inspección. Es el número que identifica la relación entre el tamaño del lote y el tamaño de la muestra.</p> <p>2.10 Envase (saco). Es el recipiente que contiene cacao en grano y que está destinado a protegerlo del deterioro, contaminación y a facilitar su manipulación.</p> <p>2.11 Sacamuestras. Instrumento que se utiliza para extraer el producto de un embalaje.</p> <p>2.12 Producto granel. El que no está envasado.</p> <p style="text-align: right;">(Continúa)</p> <hr/> <p>DESCRIPTORES: Productos avícolas, granos, cacao, muestreo.</p>		

Instituto Ecuatoriano de Normalización, INEN - Cañilla 17-01-3999 - Baquerizo Moreno ES-29 y Almagro - Quito-Ecuador - Prohibida la reproducción

### 3. DISPOSICIONES GENERALES

3.1 Se deberá tomar todo tipo de precauciones para evitar la contaminación del cacao en grano durante el muestreo.

3.2 Las muestras serán identificadas consecutivamente según hayan sido tomadas.

3.3 Las muestras se protegerán contra los cambios en su composición, pérdidas y contaminación por impurezas, suciedad, etc.

### 4. MUESTREO

#### 4.1 Toma de muestras.

4.1.1 Si el cacao en grano que se va a muestrear se presenta en envases de distintos tamaños se deberá agrupar en lotes de acuerdo con la capacidad de los envases, es decir en cada lote deberá haber envases de una misma capacidad.

4.1.2 El número de muestras elementales extraídas completamente al azar, estarán en función de lo indicado en la tabla 1, y serán tomadas en gramos.

4.1.3 Las muestras elementales que en conjunto forman la muestra global, podrán ser de aproximadamente 100 a 1 000 gramos, las mismas que serán divididas de acuerdo a lo indicado en el numeral 4.4.1, hasta obtener una muestra reducida de 1 500 gramos.

4.1.4 Las muestras en los lotes para producto envasado o empacado se obtendrán: realizando un muestreo al azar, para lo cual: se enumerarán las unidades del lote, se utilizarán los números aleatorios, y el número de muestras según lo establecido en la tabla 1. En los envases la muestra se obtendrá introduciendo el catador (Ejemplo: Fig.1) en un solo punto, este deberá penetrar por lo menos hasta la mitad diagonal del saco; y por lo menos en tres puntos seleccionados al azar: cuando se utilice uno de los caladores que se indican como ejemplo en tres figuras 2, 3, 4.

Cuando por condiciones del sitio de almacenamiento no sea posible movilizar el producto se podrá muestrear las caras visibles del lote.

Cuando las partes interesadas consideren conveniente se hará un corte longitudinal el mismo que deberá llegar hasta el fondo del lote, con lo cual se tendrá dos caras adicionales para muestrear.

Siempre se utilizará un sistema de muestreo aleatorio, para lo cual el número de muestras elementales establecidos en la tabla 1, serán divididas para el número de caras visibles del lote.

4.1.5 Para muestreo de productos a granel y para obtener una muestra verdaderamente representativa, éste deberá efectuarse en el lugar y momento adecuado, que será de preferencia en el momento de la carga, descarga o empaque del producto; cuando no se pueda aplicar los criterios anteriormente indicados las muestras elementales serán tomadas en forma aleatoria o completamente al azar y a diferentes profundidades, y con uno de los caladores que se indican como ejemplo en las figuras 1 y 5.

El lote de productos a granel se reducirá matemáticamente a sacos de (n) kilogramos, y se aplicará la tabla 1.

4.1.6 Cuando el producto esté en movimiento, durante las operaciones de carga y descarga, la toma de unidades de muestreo se hará a base del tiempo que va durar el producto en movimiento, y se dividirá dicho tiempo para el número de muestras elementales que se deben tomar de acuerdo a lo establecido en la tabla 1. El resultado indica la frecuencia de la extracción. En la figura 6 se indica un ejemplo de muestreador para productos en movimiento.

El lote de productos a granel se reducirán matemáticamente a sacos de (n) kilogramos y se aplicará la tabla 1.

**TABLA 1. Número de muestras elementales de cacao en grano.**

Tamaño del lote (número de sacos)	Número mínimo de muestras elementales *
2 - 8	2
9 - 15	3
16 - 25	5
26 - 50	8
51 - 90	13
91 - 150	20
151 - 280	32
281 - 500	50
501 - 1 200	80
1 201 - 3 200	125
3 201 - 10 000	200
10 001 - 35 000	315
35 001 - 150 000	500
150 001 - 500 000	800
mayor a 500 001	1 250

\* El tamaño de la muestra puede cambiar dependiendo del nivel de inspección acordado entre comprador y vendedor. Muestreo por atributos.

#### 4.2 Secamuestras

Dependiendo de la forma de presentación se podrá utilizar:

Calador sacamuestras de compartimiento de doble tubo. Compuesto de dos tubos metálicos concéntricos, ambos con aberturas que coinciden entre sí. El diámetro del tubo Interior es ligeramente menor al del tubo exterior, lo cual hace posible la rotación mediante el uso de la manivela. La forma y dimensiones del calador sacamuestras de compartimiento se indican en el ejemplo de la figura 1.

Sacamuestras de los ejemplos de las figuras 2 a 5, y para productos en movimiento ejemplo figura 6.

#### 4.3 Divisores

Divisor tipo boerner. Aparato constituido por un alimentador (A) una serie de tubos distribuidores (B) y un recipiente (C) Sirve para distribuir el producto, dividiendo la muestra en dos porciones representativas, y también para homogenizar la muestra haciéndola pasar varias veces por el aparato ejemplo figura 7.

Cuarteador que consta en el ejemplo de la figura 8.

#### 4.4 Reducción por cuarteo

4.4.1 Tanto para el cuarteo que se efectúe en forma manual o mecánicamente, la cantidad del producto de la recolección de las muestras elementales se mezclará muy bien para formar la muestra global, par luego dividirla en 4 partes iguales; se eliminarán dos porciones diagonalmente opuestas, las otras dos se mezclarán de nuevo y se repetirá sucesivamente la operación hasta obtener el tamaño requerido de muestra reducida (1 500 gramos) según lo establecido en el numeral 4.1.3

#### 4.5 Condiciones posteriores al muestreo

4.5.1 La muestra reducida (1 500 gramos) se dividirá en tres muestras iguales, destinadas; una al vendedor, otra al comprador para destinarla al laboratorio de análisis y la tercera a la entidad que debe actuar en casos de discrepancia.

4.5.2 La muestra reducida y dividida según se indica en el numeral anterior (4.5.1) se distribuirá en recipientes adecuados (envases plásticos, etc.), limpios y secos, que se cerrarán herméticamente, se les pondrá los sellos o firmas de las partes interesadas.

4.5.3 Se deberá suscribir un acta de muestreo que incluya te siguiente información:

- a) número de la Norma INEN de referencia: NTEINEN 177,
- b) dirección donde se realizó el muestreo,
- c) lugar y fecha donde se realizó el muestreo (Establecimiento, bodega, etc.),
- d) nombre de la compañía comercializadora del cacao en grano y nombre del comprador,
- e) nombre comercial del cacao en grano. (Clasificación-tiopo. nombre científico),
- f) número de lote,
- g) capacidad de tos envases del lote, o cantidad a granel.
- h) número de envases y/o empaques muestreados,
- i) tamaño de la muestra en gramos del cacao en grano muestreado,
- j) Observaciones sobre condiciones en que se encuentra el cacao en grano,
- k) nombre y firma de la persona que realizó el muestreo.
- l) nombre y dirección de las partes interesadas.

4.5.4 La muestra (500 gramos) destinada al análisis deberá enviarse al laboratorio tan pronto como se haya tomado, si no es posible hacer ésto, se deberá guardar de tal modo que no se altere la calidad del caco en grano, el tiempo que dure guardado no deberá ser mayor de 15 días. Las dos muestras restantes se almacenarán por el término de 30 días para electos de discrepancia entre los interesados, y en condiciones que no afecta la calidad del cacao en grano.

**APÉNDICE Z****Z.1 DOCUMENTOS NORMATIVOS A CONSULTAR**

No requiere de otros documentos normativos para su aplicación.

**Z.2 BASES DE ESTUDIO**

Norma Colombiana ICONTEC 1252. *industrias alimentarias. Cacao*. Bogotá 1 988.

Norma Cubana NC 87-05:1987 *Cacao beneficiado. Especificaciones de calidad*. La Habana. 1982.

Norma Ecuatoriana INEN 255:1976 *Control de Calidad. Procedimientos de muestreo y tablas para la inspección por atributos*. Quito. 1976.

International Standard ISO 960. *Cocoa beans-sampling*. Genova, 1973.

Datos proporcionados por varias empresas en la fase de estudio a nivel de campo.

## INFORMACIÓN COMPLEMENTARIA

<b>Documento:</b> NTE INEN 177 Segunda revisión	<b>TÍTULO: CACAO EN GRANO. MUESTREO</b>	<b>Código:</b> <b>AL 02.06-201</b>
---	---	---------------------------------------

<b>ORIGINAL:</b> Fecha de iniciación del estudio:	<b>REVISIÓN:</b> Fecha de aprobación anterior por Consejo Directivo 1986-12-18 Oficialización con el Carácter de Obligatoria por Acuerdo No. 49 de 1987-01-16 publicado en el Registro Oficial No. 618 de 1987-02-04  Fecha de iniciación del estudio: 1994-10-01
--	---

Fechas de consulta pública:

<b>Subcomité Técnico:</b> Fecha de iniciación: 1994-10-13 Integrantes del Subcomité Técnico:	<b>Fecha de aprobación:</b> 1995-03-02
--	--

**NOMBRES:**

Ing. Nicolás Fuentes (Presidente)  
Ing. Roberto Y caza  
Eco. José Ampuero B.  
Sr. Jorge Gómez  
Sr. Fernando Noboa  
Ing. Noris Rizzo  
Ing. María Cerezo  
Ing. Alvaro Martínez  
Sr. Jaime Zea  
Sr. Jorge Vaca  
Ing. César Mayorga  
Eco. Fernando García  
Sr. Benigno Robles  
Abg. Ángel Noboa N.  
Sr. Germán Jiménez  
Ing. Manuel Moreira  
Ing. Miguel Barcia  
Ing. Gustavo Enriquez  
Abg. Carlos Zúñiga R.  
Ing. Alfredo Villavicencio  
Ing. Pedro Martinetti  
Ing. Mathias Moyersoén  
Ing. Guido Zurita Z. (Secretario Técnico)

**INSTITUCIÓN REPRESENTADA:**

CORPORACIÓN SANTA FE  
SUBSECRETARÍA LITORAL - MAG  
TRANSAGRO  
NESTLE  
COMERCIAL NOBOA  
MICIP  
MICIP  
EDECA  
GRUPO CHORRERA  
MICIP - QUITO  
MAG - DIRECCIÓN AGROPECUARIA  
MICIP  
ASO NACIONAL DE CACAOTEROS  
ASO DE CACAO NARANJAL  
MICIP-QUITO  
INIAP  
RECORINZA  
INIAP  
ANECACAO  
PROGRAMA NACIONAL DEL CACAO  
EXPORTADORA MARTINETTI  
FUNDACIÓN MCCH  
INEN

Otros trámites: ♦ Esta norma sin ningún cambio en su contenido fue **DESREGULARIZADA**, pasando de **OBLIGATORIA-EMERGENTE** a **VOLUNTARIA**, según Resolución de Consejo Directivo de 1998-01-08 y oficializada mediante Acuerdo Ministerial No. 236 de 1998-01-08 publicado en el Registro Oficial No. 321 de 1998-05-20

El Consejo Directivo del INEN aprobó este proyecto de norma en sesión de 1995-07-04

Oficializada como: **OBLIGATORIA**  
Registro Oficial No. 790 de 1995-09-27

Por Acuerdo Ministerial No. 0249 de 1995-09-05

## Anexo 2 Normativa INEN 175:1986-12

CDU: 663.91		AL 02.06-303
<b>Norma Técnica Ecuatoriana Obligatoria y Emergente</b>	<b>CACAO EN GRAMO. ENSAYO DE CORTE</b>	<b>INEN 175 Primera revisión 1986-12</b>
<p><b>1. OBJETO</b></p> <p>1.1 Esta norma tiene por objeto establecer el método para realizar el ensayo de corte en una muestra de cacao en grano.</p> <p><b>2. PREPARACION DE LA MUESTRA</b></p> <p>2.1 Se mezcla cuidadosamente la muestra para ensayo, obtenida según la Norma INEN 177 y, mediante reducciones sucesivas, aplicando un procedimiento de cuarteo o un aparato adecuado, se obtiene una muestra representativa de 500 gramos de cacao.</p> <p><b>3. PROCEDIMIENTO</b></p> <p>3.1 Se cortan los 500 gramos longitudinalmente por la mitad, de tal manera que quede expuesta la máxima superficie de los cotiledones. Se examina visualmente las dos mitades de cada grano a plena luz del día o bajo una luz artificial equivalente.</p> <p>3.2 Se cuenta separadamente, el número de granos correspondientes a cada tipo de defecto, de acuerdo con los criterios establecidos en la respectiva Norma de clasificación (INEN 176).</p> <p>3.3 Cuando un grano presente más de un defecto, se considerará una sola vez con respecto al orden establecido en la norma de clasificación y requisitos.</p> <p><b>4. INFORME DE RESULTADOS EXPERIMENTALES</b></p> <p>4.1 En el informe de resultados experimentales, deberá indicarse el porcentaje de granos defectuosos correspondiente a cada tipo de defecto considerado, calculado con respecto a los 500 gramos examinados.</p> <p>4.2 Debe indicarse, además, el método utilizado y cualquier condición no especificada por esta Norma que pueda haber influido sobre los resultados.</p> <p>4.3 Debe incluirse todas las indicaciones necesarias para la completa identificación de la muestra.</p>		

## APENDICE Z

### Z.1 NORMAS A CONSULTAR

INEN 176 *Cacao en grano. Requisitos y Clasificación.*

INEN 177 *Cacao en grano. Muestreo.*

### Z.2 BASES DE ESTUDIO

Recomendación ISO R. 1114. *Cocoa Beans Cut Test.* International Organization for Standardization. Suiza 1969.

Estudio sobre la Normalización del Cacao en el Ecuador. Ing. Vicente Illingworth C. Instituto Ecuatoriano de Normalización, Quito, Febrero 1973.

## INFORMACIÓN COMPLEMENTARIA

<b>Documento:</b> TITULO: CACAO EN GRANO. ENSAYO DE CORTE		<b>Código:</b> AL 02.06-303
NTE INEN 175		
Primera revisión		
<b>ORIGINAL:</b> Fecha de iniciación del estudio:	<b>REVISION:</b> Fecha de aprobación anterior por Consejo Directivo 1975-03-08 Oficialización con el Carácter de Obligatoria por Acuerdo No. 613 de 1975-05-08 publicado en el Registro Oficial No. 818 de 1975-06-05  Fecha de iniciación del estudio:	
Fechas de consulta pública:		
Subcomité Técnico: <b>Grano en Grano</b>		
Fecha de iniciación:		Fecha de aprobación: 1986-12-11
Integrantes del Subcomité Técnico:		
<b>NOMBRES:</b> Ing. Juan Ramírez Ing. Nicolás Fuentes Econ. Gonzalo Varas Srta. Martha Ledesma Sr. Jorge Sotomayor Omg. Helmut Nickel Sr. Miguel Merchán Econ. Pablo Garaycoa Sr. Luis Paulson Amador Econ. Juan Zevallos Ch.  Sr. José Ordóñez M.  Agr. Víctor Chacón  Sr. Benigno Robles A.  Sr. Alejandro Orellana Sr. Vicente Zeller Ing. Miguel Barcia Lodo. Johnny Arévalo Ing. Galo Serrano Sr. Fernando Martínez Dra. Leonor Orozco L.	<b>INSTITUCIÓN REPRESENTADA:</b> PROGRAMA NACIONAL DEL CACAO. MAG PROGRAMA NACIONAL DEL CACAO. MAG MICIP INEDECA SECTOR INDUSTRIAL SECTOR INDUSTRIAL AGROIN S. A. LAFEICA PROCOA S. A. CORP. BOLSA NACIONAL DE PRODUCTOS AGROPECUARIOS ASOC. NACIONAL DE CACAOTEROS DEL ECUADOR ASOC. NACIONAL DE CACAOTEROS DEL ECUADOR ASOC. NACIONAL DE CACAOTEROS DEL ECUADOR CAFEICA GRANEX COEXCA COPROA ALMACAO COLCACAO INEN	
Otros trámites: * <sup>4</sup> Esta norma sin ningún cambio en su contenido fue <b>DESREGULARIZADA</b> , pasando de <b>OBLIGATORIA</b> a <b>VOLUNTARIA</b> , según Resolución de Consejo Directivo de 1998-01-08 y oficializada mediante Acuerdo Ministerial No. 235 de 1998-05-04 publicado en el Registro Oficial No. 321 del 1998-05-20		
El Consejo Directivo del INEN aprobó este proyecto de norma en sesión de 1986-12-18		
Oficializada como: <b>Obligatoria</b>		Por Acuerdo Ministerial No. 47 DE 1987-01-16
Registro Oficial No. 620 de 1987-02-06		

## GRANOS DE CACAO REQUISITOS

### 1. OBJETO Y CAMPO DE APLICACIÓN

Esta norma establece los requisitos de calidad para los granos de cacao y los criterios para su clasificación.

### 2. REFERENCIAS NORMATIVAS

Los siguientes documentos, en su totalidad o en parte, son indispensables para la aplicación de este documento. Para referencias fechadas, solamente aplica la edición citada. Para referencias sin fecha, aplica la última edición (incluyendo cualquier enmienda).

NTE INEN-ISO 1114, *Granos de cacao. Prueba de corte*

NTE INEN-ISO 2291, *Granos de cacao. Determinación del contenido de humedad (Método de rutina)*

NTE INEN 177, *Cacao en grano. Muestreo*

### 3. TÉRMINOS Y DEFINICIONES

Para los efectos de esta norma, se adoptan las siguientes definiciones:

#### 3.1

##### **granos de cacao**

Semillas provenientes del fruto del árbol *Theobroma cacao* L.

NOTA. El grano de cacao fermentado y seco también es conocido con el nombre de "cacao beneficiado".

#### 3.2

##### **cacao fino**

Granos de cacao que se caracterizan por tener sabores y aromas florales, frutales y otros especiales.

NOTA. "amba" denominación reconocida en el comercio internacional.

#### 3.3

##### **cacao CCN51**

Granos de cacao que se caracterizan por tener sabores frutales (nuez y cítricos) y distintivo sabor a chocolate. Las siglas CCN51 significan "Colección Castro Naranja" y el número "51" se refiere al cruce de la semilla de la cual se obtuvo esta variedad.

#### 3.4

##### **granos de cacao fermentados**

Granos cuyos cotiledones presentan una coloración marrón o marrón rojiza y estrías profundas, o también cotiledones de una ligera coloración violeta y estrías profundas.

#### 3.5

##### **granos de cacao violetas**

Granos que presentan un color violeta, en al menos, la mitad de la superficie expuesta de los cotiledones.

**3.6****granos de cacao pizarrosos (pastosos)**

Granos sin fermentar que presenta en su interior un color gris negruzco o verdoso y de aspecto compacto por sobre la mitad o más de la superficie expuesta.

**3.7****granos de cacao mohosos (con mohos)**

Granos que han sufrido deterioro parcial o total en su estructura interna debido a la acción de mohos

**3.8****granos de cacao defectuosos**

Granos que presentan los siguientes defectos:

**3.8.1****granos de cacao dañados por insectos**

Granos que han sufrido deterioro en su estructura (perforaciones) debido a la acción de insectos.

**3.8.2****granos de cacao germinados**

Granos que han sufrido deterioro en su calidad debido a un cambio evidente en su estructura por el proceso de germinación (presencia de germen o agujero).

**3.8.3****granos de cacao múltiples o pelota**

Unión de dos o más granos por restos de mucílago.

**3.8.4****granos de cacao negros**

Granos que se producen por enfermedades o por mal manejo postcosecha.

**3.8.5****granos de cacao planos-vano o granza**

Granos cuyos cotiledones se han atrofiado hasta tal punto que cortando la semilla no es posible obtener una superficie completa de los cotiledones.

**3.9****material relacionado al cacao**

Corresponde a los granos quebrados (fragmentos de granos que tienen menos de la mitad del grano entero), cascarillas, placenta y venas.

**3.10****material extraño**

Sustancias o materiales distintos al grano de cacao.

**3.11****granos infestados**

Granos que contienen insectos vivos o muertos o sus fragmentos, en cualquiera de sus estados biológicos.

#### 4. CLASIFICACIÓN

Los granos de cacao se clasifica en:

**4.1 Cacao fino****4.1.1 Arriba Superior Summer Selecto (A.S.S.S)****4.1.2 Arriba Superior Selecto (A.S.S)**

## 4.1.3 Arriba Superior Época (A.S.E)

## 4.2 Cacao CCN51

## 4.2.1 Cacao Superior Selecto (C.S.S)

## 4.2.2 Cacao Superior Corriente (C.S.C)

## 5. REQUISITOS

Los granos de cacao deben cumplir con los siguientes requisitos:

5.1 Los granos de cacao no deben presentar olor o sabor a humo, o que muestren signos de contaminación por humo;

5.2 Los granos de cacao no deben estar infestados;

5.3 Los granos de cacao deben cumplir con los requisitos físicos y de calidad indicados en la Tabla 1.

**TABLA 1. Requisitos físicos y calidad para los granos de cacao**

Requisitos	Cacao Fino			Cacao CCN51		Método de ensayo
	A.S.S.S	A.S.S	A.S.E	C.S.S	C.S.C	
Humedad, máximo, % <sup>a</sup>	7	7	7	7	7	NTE INEN-ISO 2291
Peso de 100 granos, g	> 130	> 120 a 130	100 a 120	> 125	110-125	<sup>a</sup>
Granos fermentados, mínimo, %	75	65	53	68	55	NTE INEN-ISO 1114
Granos violetas, máximo, %	15	21	25	18	26	NTE INEN-ISO 1114
Granos pizarrosos, máximo, %	9	12	18	12	15	NTE INEN-ISO 1114
Granos mohosos, máximo, %	1	2	4	2	4	NTE INEN-ISO 1114
TOTALES (análisis sobre 100 granos), mínimo	100	100	100	100	100	
Granos defectuosos, máximo, %	0	1	3	1	3	<sup>b</sup>
Material relacionado al cacao, máximo, %	1	1	1	1	1	<sup>b</sup>
Material extraño, máximo, %	0	0	0	0	0	<sup>b</sup>

<sup>a</sup> El símbolo % (por ciento) representa al número 0,01, que expresa a la fracción másica.

<sup>a</sup> masa determinada por medio de una balanza u otro instrumento equivalente.

<sup>b</sup> determinado en 500 g de muestra.

NOTA. Se permite la presencia de granza solo en el Cacao A.S.E y en el Cacao C.S.C en un máximo del 1,5 %

**BIBLIOGRAFÍA**

ISO-DIS 2451:2015, *Cocoa beans — Specification and quality requirements*.

Vicente Illingworth Carrasco. *Estudio sobre la normalización del cacao en el Ecuador. Tesis previa a la obtención del título de ingeniero en alimentos*. UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO. Ambato. 1973.

*Cacao en Grano: Requisitos de Calidad de la Industria del Chocolate y del Cacao*. CHOCOLATE, BISCUITS & CONFETIONERY OF EUROPE (CAOBISCO), EUROPEAN COCOA ASSOCIATION (ECA) AND FEDERATION OF COCOA COMMERCE LTD. (FCC).

Susanne van der Kooij, *Market study of fine flavour cocoa in 11 selected countries – revised version*. ROYAL TROPICAL INSTITUTE. Amsterdam, October 2013.

ICC/REP/83:2011 Meeting of the Ad hoc Panel on Fine or Flavour Cocoa 18 September 2015. DELIBERATIONS OF THE 2010 AD HOC PANEL ON THE REVIEW OF ANNEX "C" OF THE INTERNATIONAL COCOA AGREEMENT, 2001.

Freddy Amores. *Proyecto para establecer parámetros físicos, químicos y organolépticos que permitan diferenciar entre cacao fino y ordinario. Evaluación de parámetros físicos*. INIAP. TALLER INTERNACIONAL PARA PRESENTACION DE RESULTADOS. Guayaquil, Abril 3-5/2008.

**Anexo 4** Ficha Para la Evaluación de Aceptabilidad Sensorial de la Pasta de Cacao.

 <p><b>UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE</b></p> <p><b>FACULTAD DE INGENIERÍA EN CIENCIAS AGROPECUARIAS Y AMBIENTALES</b></p> <p><b>CARRERA DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL</b></p>										
Nombre: _____					Edad: _____					
Fecha: _____										
<p><b>EVALUACIÓN DE ACEPTABILIDAD SENSORIAL DE PASTA DE CACAO</b></p> <p><b>Instrucciones:</b> Frente a usted se encuentran muestras de pasta de cacao, de acuerdo a los atributos a evaluar, deguste y marque con una <b>X</b> el grado de intensidad según la escala descrita por tratamiento correspondiente.</p>										
Característica	Alternativa	Valoración	Muestras							
			T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8
<b>OLOR</b>	Me gusta mucho	5								
	Me gusta moderadamente	4								
	No me gusta, ni me disgusta	3								
	Me disgusta moderadamente	2								
	Me disgusta mucho	1								
<b>COLOR</b>	Me gusta mucho	5								
	Me gusta moderadamente	4								
	No me gusta, ni me disgusta	3								
	Me disgusta moderadamente	2								
	Me disgusta mucho	1								
<b>SABOR</b>	Me gusta mucho	5								
	Me gusta moderadamente	4								
	No me gusta, ni me disgusta	3								
	Me disgusta moderadamente	2								
	Me disgusta mucho	1								
<b>ACEPTABILIDAD GLOBAL</b>	Me gusta mucho	5								
	Me gusta moderadamente	4								
	No me gusta, ni me disgusta	3								
	Me disgusta moderadamente	2								
	Me disgusta mucho	1								
<b>OBSERVACIONES</b> _____										
Gracias por su colaboración										
_____ Firma del degustador										

## Anexo 5 Resultado de Análisis de Laboratorio.

MC-LSAIA-2201-06

	<p><b>INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACIONES AGROPECUARIAS</b>  <b>ESTACIÓN EXPERIMENTAL SANTA CATALINA</b>  <b>DEPARTAMENTO DE NUTRICIÓN Y CALIDAD</b>  <b>LABORATORIO DE SERVICIO DE ANÁLISIS E INVESTIGACIÓN EN ALIMENTOS</b>                  Panamericana Sur Km. 1. CutugaguaTifs. 2690691-3007134. Fax 3007134                  Casilla postal 17-01-340</p>	
---	--	---

**NOMBRE PETICIONARIO:	Srta. Morales Jhoana	**INSTITUCIÓN:	Universidad Técnica del Norte
**DIRECCIÓN:	Tabacundo	**ATENCIÓN:	Srta. Morales Jhoana
FECHA DE EMISIÓN:	25/11/2021	FECHA DE RECEPCIÓN.:	05/10/2021
FECHA DE ANÁLISIS:	Del 6 de septiembre al 25 de noviembre del 2021	HORA DE RECEPCIÓN:	15h00
		ANÁLISIS SOLICITADO	Polifenoles ,capacidad antioxidante y Teobromina

ANÁLISIS	HUMEDAD	POLIFENOLES Ω	CAPACIDAD ANTIOXIDANTE Ω	TEOBROMINA Ω	***IDENTIFICACIÓN
MÉTODO	MO-LSAIA-01.01	MO-LSAIA-31	MO-L-SAIA-16	MO-LSAIA-28/30/31	
METODO REF.	U. FLORIDA 1970	Cross, E. y Maringo, G. 1973/1982	ABTS	IOCC 37 1990/ADAC 980.14 1998/Cross.E.Y Maringo.G.1973/1982	
UNIDAD	%	mg Ac. Gálico/g	µm Trolox/g	%	
21-1067	4,33	83,07	2020,48	2,52	Muestra 1 Cacao fermentado y Seco Variedad Nacional
21-1068	2,55	82,93	2027,35	2,57	Cacao Nacional T1- A1 B1 C1 Repetición 1
21-1069	2,36	82,56	2027,46	2,47	Cacao Nacional T1- A1 B1 C1 Repetición 2
21-1070	2,26	82,36	2089,48	2,46	Cacao Nacional T1- A1 B1 C1 Repetición 3
21-1071	2,65	81,16	2304,46	2,43	Cacao Nacional T3-A1 B2 C1 Repetición 1
21-1072	2,28	81,07	2141,58	2,45	Cacao Nacional T3-A1 B2 C1 Repetición 2
21-1073	2,25	80,89	2119,38	2,43	Cacao Nacional T3-A1 B2 C1 Repetición 3
21-1074	1,73	74,74	2249,01	2,10	Cacao Nacional T6- A2 B1 C1 Repetición 1
21-1075	1,63	74,36	2429,03	2,04	Cacao Nacional T6- A2 B1 C1 Repetición 2
21-1076	1,29	73,99	2388,05	2,09	Cacao Nacional T6- A2 B1 C1 Repetición 3
21-1077	1,65	70,02	2384,53	0	Cacao Nacional T8- A2 B2 C1 Repetición 1
21-1078	1,52	69,79	2385,97	0	Cacao Nacional T8- A2 B2 C1 Repetición 2
21-1079	0,94	69,36	2505,60	0	Cacao Nacional T8- A2 B2 C1 Repetición 3
21-1080	5,31	83,93	2082,27	2,11	Muestra 2 Cacao Fermentado y Seco Variedad CCN-51
21-1081	3,01	80,17	2136,19	2,30	Cacao CCN-51 T2- A1 B2 C2 Repetición 1
21-1082	3,21	79,8	2183,95	2,20	Cacao CCN-51 T2- A1 B2 C2 Repetición 2
21-1083	2,51	79,75	2151,37	2,15	Cacao CCN-51 T2- A1 B2 C2 Repetición 3
21-1084	3,29	83,93	2136,19	2,43	Cacao CCN-51 T4- A1 B1 C2 Repetición 1
21-1085	3,33	83,68	2183,95	2,44	Cacao CCN-51 T4- A1 B1 C2 Repetición 2
21-1086	3,28	83,64	2111,37	2,47	Cacao CCN-51 T4- A1 B1 C2 Repetición 3
21-1087	1,35	79,3	2193,99	2,04	Cacao CCN-51 T5- A2 B2 C2 Repetición 1
21-1088	2,23	79,29	2217,90	1,94	Cacao CCN-51 T5- A2 B2 C2 Repetición 2
21-1089	1,56	79,12	2140,98	2,04	Cacao CCN-51 T5- A2 B2 C2 Repetición 3
21-1090	1,60	82,16	2257,66	1,05	Cacao CCN-51 T7- A2 B1 C2 Repetición 1
21-1091	2,41	81,89	2270,84	0	Cacao CCN-51 T7- A2 B1 C2 Repetición 2
21-1092	2,93	81,65	2294,14	0	Cacao CCN-51 T7- A2 B1 C2 Repetición 3

Los ensayos marcados con Ω se reportan en base seca.

OBSERVACIONES: Muestra entregada por el cliente

### RESPONSABLES DEL INFORME



Elaborado e identificado por:  
**IVÁN RODRIGO SAMANIEGO HAIGUA**

Dr. Iván Samaniego, MSc.  
**RESPONSABLE TÉCNICO**



Elaborado e identificado por:  
**BLADIMIR EFRAIN 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 dirigido 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, esta 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.

## **Anexo 6** Descripción de Métodos Analíticos.

### **Capacidad Antioxidante**

#### **Fundamento Teórico**

La técnica para la generación del radical catión  $ABTS^{\cdot+}$  implica la producción directa del cromóforo  $ABTS^{\cdot+}$  verde-azul a través de la reacción entre ABTS y persulfato de potasio. La adición de los antioxidantes al radical pre-formado lo reduce a ABTS. De esta manera el grado de decoloración como porcentaje de inhibición del radical catión  $ABTS^{\cdot+}$  está determinado en función de la concentración y el tiempo; así como del valor correspondiente usando Trolox como estándar, bajo las mismas condiciones.

#### **Equipos y Materiales**

- ✓ Balanza analítica
- ✓ Mezclador Vórtex
- ✓ Centrífuga
- ✓ Tubos de plástico
- ✓ Tubos de vidrio
- ✓ Vasos de precipitación
- ✓ Balones aforados

#### **Reactivos**

- ✓ Metanol
- ✓ Solución ABTS
- ✓ Trólox
- ✓ Metanol 80%

- ✓ Tableta AZBTS
- ✓ 2,45 nM  $K_2S_2O_8$
- ✓ Etanol

### **Extracción**

- ✓ Se pesó 0,08 g de muestra seca triturada a la cual se adicionó 5 ml de metanol al 80%.
- ✓ Se llevó a agitador Vórtex durante 30 minutos.
- ✓ Se centrifugó durante 10 minutos a 500 rpm.
- ✓ Se separó el sobrenadante en un tubo de plástico (Primera extracción).
- ✓ Al pellet se adicionó 5 ml de la solución extractante, se agitó en el vórtex y zonificó por 30 min. (Segunda extracción).
- ✓ Se dejó reposar las muestras, debidamente protegidas a la luz, durante toda la noche a temperatura ambiente.
- ✓ Al día siguiente se centrifugó a 5000 rpm por 10 min.
- ✓ Finalmente, se adicionó el sobrenadante al tubo de plástico de la primera extracción y se aforó a 10 ml.

### **Determinación**

- ✓ En un tubo de vidrio se transfirió 150  $\mu$ l de la muestra y se adicionó 2850  $\mu$ l de la solución ABTS diluida.
- ✓ Del mismo modo se transfirió en otro tubo 150  $\mu$ l de metanol al 80% y se adicionó 2850  $\mu$ l de la solución ABTS diluida, lo cual representó el blanco de la muestra.
- ✓ Se llevó los tubos al vórtex y se los agitó 10 min hasta que se produzca la reacción.

- ✓ Pasado el tiempo se pudo leer cada tubo a 734 nm. Si las absorbancias fueran menores a 0,2 realizar diluciones y repetir las lecturas de modo que se obtengan resultados dentro del rango.
- ✓ Se calculó la concentración final en comparación con la curva estándar de Trólox y los resultados se expresaron en  $\mu\text{g}$  Trólox equiv/g de muestra.

### **Preparación de la curva Estándar de Trólox**

- ✓ Se preparó una solución stock de Trólox a una concentración de 2000  $\mu\text{M}$  de Trólox/l, considerando que el peso molecular del Trólox es de 250,29. Para ello se debió pesar 0,025 g de Trólox y diluir en 50 ml de metanol puro.
- ✓ Se colocó 150  $\mu\text{l}$  de cada estándar en un tubo y se procedió a la evaluación de la actividad antioxidante tal y como se describe para las muestras. En este caso el blanco de muestras se denomina blanco estándar.

### **Preparación de Reactivos**

#### Solución extractante de Metanol al 80%

- ✓ En una probeta de vidrio, se midió 50 ml de agua destilada y se transfirió a un balón para mezclarlos completamente.

#### Solución Stock de Colorante (Reactivo “A” y “B”)

- ✓ Reactivo A (7Nm abts): En un tubo tapa rosca protegido de la luz, se agregó una tableta (0,01g) de ABTS y se disolvió en 2,8 ml de agua destilada agitar hasta disolver completamente.
- ✓ Reactivo B (2,45 mM  $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ ): Se agregó 10 ml de agua destilada hasta disolver completamente para transferirlo a un frasco tapa rosca.

#### Solución madre (Radical Cromógeno ABTS<sup>2+</sup>)

- ✓ Se mezcló el reactivo “A” con el “B” en igual proporción (1:1) y se agitó fuertemente en el vórtex y se dejó reaccionar por 16 horas a temperatura ambiente y en condiciones de oscuridad. El volumen de la solución madre dependerá de la cantidad de muestra que se requiera analizar.

#### Solución diluida de ABTS<sup>2+</sup> (Etanol al 96%)

- ✓ En un frasco protegido a la luz, se tomó 9,9 ml de la solución madre de ABTS, se diluyó en 110 l de etanol al 96% y finalmente se homogenizó en un agitador magnético.

#### **Cálculos**

$$A = \frac{\text{Interpolación de la curva} * V}{100}$$

$$N = A * Pm \text{ Trólox}$$

$$\frac{\text{ug Trólox eq}}{\text{g}} = \frac{N}{Pm}$$

#### **Donde:**

Concentración: Cálculos de la ecuación de las líneas de tendencia

Pm= Peso Molecular del Trólox 250,29 g

V= Volumen de enrase

Pm= Peso de la muestra

#### **Fenoles Totales**

#### **Fundamento Teórico**

Los polifenoles totales se determinan mediante el método colorimétrico desarrollado por Folin - Ciocalteu, el cual produce una coloración azul susceptible de ser determinada espectrofotométricamente a 760 nm en reacción polifenoles más reactivo F a pH básico. El contenido total de polifenoles se expresa en mg de ácido gálico sobre 100 gramos de muestra.

## **Equipo y materiales**

### Mortero

- ✓ Espectrofotometro UV visible
- ✓ Balanza Analítica
- ✓ Centrífuga
- ✓ Papel Filtro cualitativo
- ✓ Balones Aforados
- ✓ Pipetas volumétricas
- ✓ Frascos Erlenmeyer con tapa rosca
- ✓ Vasos de precipitación

### **Reactivos**

- ✓ Ácido gálico 100mg/L
- ✓ Reactivo de Folin Ciocalteau
- ✓ Carbonato de sodio al 20%
- ✓ Metanol al 70%
- ✓ Agua destilada

### **Procedimiento**

- ✓ Se pesó 0,50 g de muestra seca y triturada y se colocó en un tubo falcom de 25 ml.
- ✓ Se añadió 20 ml de solución de extracción (metanol).
- ✓ Se agitó por 15 min, se filtró y se centrifugó a 10000 rpm/10 min a 4°C.
- ✓ Para la curva patrón se utilizó ácido gálico entre 0,10 a 1,00mg/mL.
- ✓ 0,5 mL de extracto fueron mezclados con 1580 uL de agua destilada

- ✓ Se adicionó 0,25ml de solución Folin Ciocalteu a 0,5N, después de 1 min se mezcló con 1,25 de NaCO<sub>3</sub> al 20% y se almacenó por 2 horas a temperatura ambiente y sin luz .
- ✓ La absorbancia se registró a 700nm y el contenido de polifenoles totales se reportó en g de ácido gálico/100 g de muestra seca.

### **Determinación de alcaloides en cacao (Teobromina)**

El método usado está basado en los métodos de la AOAC Método Oficial 980.14 Theobromine and Caffeine in cacao products (1995), adaptado y modificado por el departamento de Nutrición y Calidad de la Estación Experimental Santa Catalina del INIAP. Los alcaloides son extraídos en medio acuoso de una manera previamente desengrasada y separados y cuantificados por cromatografía líquida de alta resolución con un detector UV-VIS, empleando el método del estándar interno.

### **Muestras**

- ✓ Granos de cacao frescos, desengrasados y secos.

### **Equipos y Materiales:**

- ✓ Plancha de calentamiento
- ✓ Balanza analítica Shimadzu, Libror AEG-220
- ✓ Baño ultrasonido, coleParmer 8892
- ✓ Equipo de filtración Millipore con membranas: 0,45 µm, Millipore HVLPO04700; 0,22 µm, Millipore GVVPO2500.
- ✓ Equipo HPLC Shimadzu Modular con:
  - Detector UV-VIS Shimadzu, SPD-10<sup>a</sup>.
  - Bomba binaria Shimadzu, LC-10AS.
  - Inyector Manual del 20 ul.

- Horno de columna Shimadzu, CTO-10<sup>a</sup>
  - Integrador Chromatopac, C-R7A
- ✓ Columna STR ODS II, ID 4,6 mm de 15 cm, con precolumna STR ODS II de 4,6 mm

### Reactivos

- ✓ Metanol grado HPLC Fisher A452-4
- ✓ Agua Grado HPLC
- ✓ Fase móvil: metanol- agua (25-75) v/v

### Método

- ✓ Pesar con precisión de 0,1 mg, aproximadamente 0,3 g de la muestra de cacao, previamente tamizada y desengrasada en un Erlenmeyer de 250 ml
- ✓ Añadir 10 ml de estándar interno y 90 ml de agua.
- ✓ Realizar la extracción de los alcaloides, llevando a ebullición la muestra hasta que el volumen se reduzca aproximadamente a la mitad.
- ✓ Filtrar cuantitativamente en balones aforados de 100 ml, enjuagar y aforar con agua.
- ✓ Filtrar por membranas de 0,22 µm.
- ✓ Inyectar las muestras estándar.
- ✓ Inyectar las muestras por duplicado en el cromatógrafo líquido de alta resolución. Si el número de muestras es mayor a 5 reinyectar nuevamente los estándares.
- ✓ Reportar los resultados como g de teobromina en 100 g de muestra.

### Cálculos

$$x = a * \frac{b}{1000} * \frac{20}{c} * \frac{100}{p} * \frac{1}{1000}$$

Donde:

X= alcaloide en g/100g

a= concentración de la solución de la muestra (mg/l), obtenida a partir de la curva de estándares.

b= volumen de balón aforado (100 ml)

1000=ml dentro de un litro o mg dentro de gramo

C= Volumen de muestra inyectada en ul.

20= Volumen de estándar inyectado en ul.

100=Factor que permite la expresión de los resultados por 100 g de muestra.

p= peso de la muestra en gramos.

### **Condiciones cromatográficas**

Flujo: 1ml/min

Fase móvil: Metanol-agua (25-75) v/v

Volumen de inyección: 20 ul

Temperatura ambiente

Longitud de onda 273 nm

Tiempo de retención de alcaloides: 3, 8 min para teobromina