



UNIVERSIDAD VERACRUZANA
INSTITUTO DE CIENCIAS BASICAS

**Efecto del procesamiento del cacao (*Theobroma cacao L.*)
en la capacidad antioxidante durante la obtención
de licor y cocoa**

Tesis que para obtener el grado de
Maestro en Ciencias Alimentarias

Presenta:

IQ. Andrés Pancardo Lagunas

Director de Tesis:

Dr. Cesar Ignacio Beristaín Guevara

Xalapa, Veracruz

Octubre, 2016



Universidad Venezolana



MAESTRIA EN
CIENCIAS
ALIMENTARIAS

La presente tesis titulada

"Efecto del procesamiento del cacao (*Theobroma cacao* L.) en la capacidad antioxidante durante la obtención de licor y cocoa",

Realizada por el

I.Q. ANDRÉS PANCARDO LAGUNAS

Ha sido aprobada por el comité de evaluación de tesis, y aceptada como requisito parcial para la obtención del grado de:

Maestro en Ciencias Alimentarias

Otorgando su autorización como jurado para ser presentada y defendida oralmente el 14 de octubre de 2016.

Dra. Maribel Jiménez Fernández

Dra. Elia Nora Aquino Bolaños

Dr. Enrique Bonilla Zavaleta

DEDICATORIAS

A mis padres, Andrés y Beatriz por todo su amor y apoyo durante toda mi vida y en esta etapa de estudio, sin duda sin ellos no sería quien soy hoy. También este logro es suyos.

A mis hermanos, Oscar y Beatriz que forman parte importante de mi vida, aunque no siempre tengamos las mismas opiniones, eso no impide sentir cariño por ustedes. Los quiero

A mis tíos, Arnulfo y dany, y primos Sergio y Héctor que durante esta estancia siempre me apoyaron a superarme y me brindaron su cariño sincero. Siempre se los agradeceré, Los quiero mucho.

A mi abuelito Andrés y Tere que siempre han creído en mi e impulsado para lograr mis metas, y como lo prometí abuelito, logré la titulación

A mi primo José Andrés y esposa Cristal porque siempre me apoyaron incansablemente y nunca dudaron que llegaría este día donde culminaría una etapa más. Y por tener unas bellas hijas que sin duda, me hace muy feliz ser su tío,

A mi tío pepe porque siempre brindo la confianza y abrió las puertas de su casa durante mi estadía y siempre me apoyo.

A mi tía Elsa que recién llegó a vivir con nosotros pero que durante muchos años compartimos vivienda, y ahora vuelve a formar parte de mi familia. Te quiero tía.

A Paulina que desde hace 7 años me ha brindado su amistad, su cariño y siempre me ha apoyado en todos mis proyectos y sin duda forma parte importante en ella. Además fue la primera persona en apoyarme a tomar la decisión de estudiar este posgrado.

A Jesús y Mónica por compartir 2 años de sus vidas conmigo, por tantas charlas que sin duda fueron inolvidables e incomparables.

A Erick y Jacquie que desde el inicio de esta etapa me brindaron su amistad y forme parte de su entorno y siempre me brindaron apoyo y no solo académicos sino también como amigos. Se los agradezco eternamente.

A Jaz, Karina, Flor, Anita, Dafne, Rafa, Giovanni, Adrián y Luis por ser mis amigos durante estos 2 años, hemos compartido tantas cosas que me sería imposible externar todas, les agradezco su amistad y apoyo durante esta etapa.

A mis amigos José, Alejandro, Francisco y Jorge que tuvimos la dicha de coincidir durante la licenciatura y que nació una bella e inseparable amistad. Siempre han sido mi apoyo al igual que yo de ustedes. Este logro lo comparto con mucho orgullo con ustedes. Los quiero mis hermanos.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por la beca otorgada para la realización de los estudios de Maestría.

A Dios padre todopoderoso por permitirme la dicha de tener vida y alcanzar mis metas.

Al Dr. Cesar Ignacio Beristaín Guevara por su invaluable asesoría y apoyo durante la elaboración de este proyecto.

A la Dra. Maribel Jiménez Fernández por las facilidades otorgadas para la realización de este proyecto de investigación.

A los investigadores del núcleo académico del Instituto de Ciencias Básicas de la Universidad Veracruzana por sus enseñanzas durante el periodo 2014-2016.



*Arbol de "cacahual" con frutos de "kakau"
"kac" en lengua maya significa rojo...
-en referencia al color de la cáscara del fruto-
"kau" que expresa las ideas de fuerza y fuego...*

ÍNDICE

INDICE DE CUADROS.....	i
INDICE DE FIGURAS	iv
RESUMEN.....	v
SUMMARY	i
1. INTRODUCCION	1
2. MARCO TEORICO	2
2.1. SITUACIÓN DEL CACAO EN EL MERCADO	3
2.2. PRINCIPALES PRODUCTORES MUNDIALES	4
2.3. CACAO EN MÉXICO	6
2.4. FACTORES QUE AFECTAN EL CULTIVO DEL CACAO	7
2.4.1. <i>Clima:</i>	7
2.4.2. <i>Temperatura:</i>	7
2.4.3. <i>Viento</i>	8
2.4.4. <i>Agua</i>	8
2.4.5. <i>Suelos</i>	8
2.4.6. <i>Latitud</i>	8
2.4.7. <i>Altitud:</i>	9
2.5. COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL CACAO	9
2.6. EFECTO ANTIOXIDANTE DEL CACAO	10
2.7. TIPOS DE CACAO	12
2.7.1. <i>Criollo</i>	12
2.7.2. <i>Forastero</i>	13
2.7.3. <i>Trinitario</i>	13
2.8. CUALIDADES ORGANOLÉPTICAS DEL CACAO	14
2.9. SABOR Y AROMA	15
2.9.1. <i>Sabores básicos</i>	15

2.9.2.	<i>Sabores específicos</i>	16
2.9.3.	<i>Sabores adquiridos</i>	16
2.10.	CARACTERÍSTICAS DE LOS TIPOS DE CACAO	17
2.11.	COMPOSICIÓN DEL GRANO DE CACAO FRESCO	23
2.12.	FERMENTACIÓN DEL GRANO DE CACAO	26
2.13.	DESARROLLO DE LA FRACCIÓN VOLÁTIL DEL CACAO DURANTE LA FERMENTACIÓN	30
2.14.	SECADO DEL CACAO	31
2.15.	COMPORTAMIENTO DE LOS COMPUESTOS NO-VOLÁTILES DURANTE EL SECADO	32
2.16.	DESARROLLO DE LA FRACCIÓN VOLÁTIL DEL CACAO DURANTE EL SECADO.	33
2.17.	PROCESAMIENTO DEL CACAO	34
2.17.1.	<i>Aceptación / recepción</i>	38
2.17.2.	<i>Pesado y Limpieza</i>	38
2.17.3.	<i>Clasificación de tamaño</i>	38
2.17.4.	<i>Debacterizado.</i>	38
2.17.5.	<i>Tostado</i>	39
2.17.5.1	COMPORTAMIENTO DE LOS COMPUESTOS VOLÁTILES DURANTE EL TOSTADO	40
2.17.6	<i>Descascarillado</i>	42
2.17.7	<i>Molienda</i>	43
2.17.8	<i>Prensado</i>	44
3.	PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	45
4.	OBJETIVOS E HIPOTESIS	46
4.1.	OBJETIVO GENERAL	46
4.2.	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	46
4.3.	HIPÓTESIS	47
5.	MATERIAL Y METODOS	48
5.1.	MATERIAL BIOLÓGICO	49
5.1.1.	<i>Caracterización física y química de los granos</i>	50
5.1.1.1.	Humedad	50
5.1.1.2.	Potencial de Hidrógeno. La	50
5.1.2.	<i>Polifenoles totales.</i>	50
5.1.3.	<i>Determinación de la actividad antioxidante por el método DPPH</i>	51
5.1.4.	<i>Determinación de la actividad antioxidante por el método FRAP</i>	51
5.1.5.	<i>Análisis estadístico.</i>	52
6.	RESULTADOS Y DISCUSION	53
6.1.	<i>Humedad.</i>	54
6.2.	<i>Potencial de hidrogeno.</i>	55

6.3.	<i>Polifenoles totales.</i>	56
6.3.1.	<i>Polifenoles totales en las etapas de procesamiento</i>	58
6.4.	<i>Actividad antioxidante por DPPH</i>	69
6.5.	<i>Actividad antioxidante por FRAP</i>	79
7.	CONCLUSIONES	91
8.	RECOMENDACIONES	93
9.	BIBLIOGRAFÍA	94
10.	APENDICE	107

INDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Clasificación taxonómica del cacao.	3
Cuadro 2. Productores Mundiales de cacao.	4
Cuadro 3. Producción de cacao molido.	5
Cuadro 4. Producción nacional de cacao.	7
Cuadro 5. Familias de compuestos químicos en el cacao criollo.	20
Cuadro 6. Efecto del origen, la variedad de cacao y el tiempo de fermentación sobre el olor y aroma.	23
Cuadro 7. Composición fisicoquímica promedio en granos frescos de cacao.	24
Cuadro 8. Composición de Ácidos grasos en cacao fresco	25
Cuadro 9. Humedad en granos crudos y tostados.	54
Cuadro 10. Potencial de hidrogeno (pH) en granos crudos y etapas de procesamiento a temperatura de tostado de 140 y 180 °C durante 20 y 30 minutos.	55

INDICE DE FIGURAS

Figura 1 Linalool. Terpeno con un grupo alcohol.	19
Figura 2 Cacao Criollo	19
Figura 3 Cacao Forastero	21
Figura 4 Cacao Trinitario	22
Figura 5. Reacciones en la fermentación	27
Figura 6. Proceso del cacao	35
Figura 7. Diagrama conservador del procesamiento del cacao	37
Figura 8. Diagrama general de trabajo	48
Figura 9. Concentración de polifenoles totales en granos crudos.	57
Figura 10. Porcentaje de cambio en la concentración de polifenoles totales durante el procesamiento bajo una temperatura de tostado de 140 °C durante 20 minutos	58

Figura 11. Porcentaje de cambio en la concentración de polifenoles totales durante el procesamiento bajo una temperatura de tostado de 140 °C durante 30 minutos	. 61
Figura 12. Porcentaje de cambio en la concentración de polifenoles totales durante el procesamiento bajo una temperatura de tostado de 180 °C durante 20 minutos	64
Figura 13. Porcentaje de cambio en la concentración de polifenoles totales durante el procesamiento bajo una temperatura de tostado de 180 °C durante 30 minutos	. 66
Figura 14. Porcentaje de inhibición del radical DPPH en granos crudos Antes del procesamiento	69
Figura 15. Porcentaje de cambio en la inhibición del radical DPPH durante el procesamiento bajo una temperatura de tostado de 140 °C durante 20 minutos.	70
Figura 16. Porcentaje de cambio en la inhibición del radical DPPH durante el procesamiento bajo una temperatura de tostado de 140 °C durante 30 minutos.	72
Figura 17. Porcentaje de cambio en la inhibición del radical DPPH durante el procesamiento bajo una temperatura de tostado de 180 °C durante 20 minutos.	74
Figura 18. Porcentaje de cambio en la inhibición del radical DPPH durante el procesamiento bajo una temperatura de tostado de 180 °C durante 30 minutos.	77
Figura 19. Concentración de micromoles equivalentes de Trolox en granos crudos antes del procesamiento	79

Figura 20. Porcentaje de cambio en la concentración de micromoles equivalentes de Trolox durante el procesamiento bajo una temperatura de tostado de 140 °C durante 20 minutos.	81
Figura 21. Porcentaje de cambio en la concentración de micromoles equivalentes de Trolox durante el procesamiento bajo una temperatura de tostado de 140 °C durante 30 minutos.	84
Figura 22. Porcentaje de cambio en la concentración de micromoles equivalentes de Trolox durante el procesamiento bajo una temperatura de tostado de 180 °C durante 20 minutos	86
Figura 23. Porcentaje de cambio en la concentración de micromoles equivalentes de Trolox durante el procesamiento bajo una temperatura de tostado de 180 °C durante 30 minutos.	88
Figura 24. Curva estándar para la cuantificación de polifenoles totales por el método Folin-Ciocalteu (Singleton y Rossi, 1965).	107
Figura 25. Curva estándar para la cuantificación de μmol de Trolox/L por el método de Benzie y Strain (1996)	108

RESUMEN

El cacao es un fruto de origen tropical con el que se elaboran distintos productos tradicionales en México, dentro de los cuales destacan la cocoa, licor de cacao y chocolate. El principal problema existente en la manufactura del chocolate y productos derivados radica en la pérdida de propiedades antioxidantes durante su manufactura, por lo cual se sabe que el efecto de las etapas de procesamiento modifican sus dichas propiedades, las cuales son las responsables de que el cacao se considere un alimento benéfico para la salud. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto del tiempo y temperatura durante la etapa de tostado, efecto de la molienda y prensado durante el procesamiento y cuantificar la variación de las propiedades antioxidantes de granos fermentados en diferentes grados (0, 53, 75 y 100%), los cuales fueron tostados a temperaturas de 140 y 180 °C durante tiempos de 20 y 30 minutos, molidos en molino de rodillos y prensado en prensa hidráulica bajo presión de 5 Ton. La mayor cuantificación de polifenoles totales correspondió a granos procesados y fermentados a 75% en las etapas de molienda y prensado, obteniéndose valores de 1.45 g EAG/100g y 2.59 g EAG/100g respectivamente. De acuerdo al estudio realizado se observó que las propiedades antioxidantes de inhibición del radical DPPH y reducción del radical FRAP fueron afectadas, siendo el grano fermentado a 75% en etapa de molido y prensado el que presentó la mayor actividad antioxidante en cuanto a dichas evaluaciones, obteniendo valores de 95.5% y 200 μ moles eq. Trolox respectivamente.

Palabras clave: Cacao, fermentación, actividad antioxidante, chocolate

SUMMARY

Cocoa is a fruit of tropical origin with which different traditional products in Mexico, among which include cocoa, cocoa liquor and chocolate are made. The main existing problem in the manufacture of chocolate and derivatives lies in the loss of antioxidant during manufacture, so it is known that the effect of processing steps modify their said properties, which are responsible for the cocoa a beneficial health food is considered. The aim of this study was to evaluate the effect of time and temperature during the roasting step, effect of ground and pressed during processing and quantify the variation of the antioxidant properties of fermented grains in different degrees (0, 53, 75 and 100 %), which were toasted at temperatures of 140 to 180 ° C for times of 20 and 30 minutes, milled roller mill and pressed under pressure of hydraulic press 5 Ton. Most quantification of total polyphenols corresponded to processed and fermented grains to 75% in the stages of grinding and pressing, yielding 1.45 g values EAG / 100g and 2.59 g EAG / 100g respectively. According to the study it conducted it was observed that the antioxidant properties of inhibition of radical DPPH and reducing radical FRAP were affected, being the fermented grain to 75% in stage grinding and pressing which had the highest antioxidant activity regarding these assessments, obtaining values of 95.5% and 200 pmol eq. Trolox respectively.

Keywords: Cocoa, fermentation, antioxidant activity, chocolate

1. INTRODUCCION

El cacao se ha cultivado en el sureste de México desde épocas prehispánicas, siendo los olmecas (400 a. C. a 1500 a. C.) los primeros en domesticarlo y utilizarlo. Los mayas y los aztecas utilizaron el grano de cacao en la preparación de bebidas y como moneda de intercambio (Coe *et al.*, 2013).

En la actualidad, en el sureste del país el cacao se sigue utilizando como ingrediente para bebidas tradicionales como el *pozol*, *téjate*, agua de cacao, el *tescalate* chiapaneco, entre otras (Llamas, 2007). Así como, en la manufactura de productos como chocolate de mesa, de cobertura, chocolate con leche y chocolate blanco, entre otros (Pons y Burelo, 2010).

Por normatividad, el porcentaje de sólidos del cacao es el material más importante en la determinación de la calidad de un chocolate (Codex-alimentarius, 1981). Estos sólidos influyen directamente en la calidad sensorial del chocolate. Entre las propiedades sensoriales se encuentra el sabor, propiedad que está integrada por el gusto, olor y aroma (Belitz *et al.*, 2009; Taylor *et al.*, 2004). El olor y aroma se perciben directamente por el órgano olfativo.

Los compuestos volátiles son los responsables de generar el olor y aroma característico de cada producto. Por lo tanto, para entender las propiedades del olor y el aroma del cacao y sus productos, es necesario conocer la composición de sus compuestos volátiles cuantitativa y cualitativamente (Taylor *et al.*, 2004).

2. MARCO TEORICO

El fruto del cacaotero comúnmente llamado “mazorca de cacao”, es una baya elíptica de color amarillo, rojo, morado o café que puede alcanzar una longitud de 15 a 25 cm y un peso entre 200 g y 1 kg. Cada fruto contiene entre 30 y 40 semillas, con cotiledones de color blanco, púrpura o marrón-rojizo dependiendo del genotipo.

Las semillas se encuentran envueltas en una pulpa o mucílago muy húmedo, blanco y dulce; razón por la cual al cacao fresco o recién extraído de la “mazorca” se le denomina “cacao en baba” (Llamas, 2007). El cuadro 1 muestra la clasificación taxonómica del cacao. El género *Theobroma* de la familia *Sterculiaceae* está integrado por 22 especies reportadas en el mundo y 17 de éstas se encuentran en Suramérica donde existe la mayor diversidad, por lo que se supone es el centro de diversificación y origen (González Y Jiménez, 2007). Sin embargo, sólo algunas pocas han sido cultivadas y solo *Theobroma cacao* L. ha sido ampliamente descrita taxonómicamente (Rondón y Cumana-Campos, 2005). Esta especie presenta la mayor distribución geográfica en Centroamérica. De las 22 especies citadas, actualmente la más conocida es *Theobroma cacao* L. por su importancia económica al ser utilizada para la elaboración de chocolate y otros productos derivados (Rondón y Cumana-Campos, 2005).

Cuadro 1. Clasificación taxonómica del cacao

Clasificación Taxonómica	
División	<i>Magnoliophyta</i>
Clase	<i>Magnoliopsida</i>
Orden	<i>Malvales</i>
Familia	<i>Sterculiaceae</i>
Genero	<i>Theobroma</i>
Especie	<i>Cacao</i>

Fuente: Rondón y Cumana-Campos (2005)

2.1. Situación del cacao en el mercado

Existen dos categorías de calidad reconocidas por el mercado mundial de cacao en grano: cacao “fino o de aroma” y cacao “ordinario”. Las variedades criollo y trinitario se distinguen por poseer las propiedades del cacao fino/aroma contrario al forastero que tiene características de cacao ordinario. Pese a esto, existen excepciones como el cacao denominado Nacional/Arriba de Ecuador que siendo de la variedad forastero registra todas las propiedades del cacao fino y las almendras provenientes de Camerún de la variedad trinitario tienen características de cacao ordinario (Amores *et al.* 2007). La región de mayor producción de cacao Fino/Aroma es América Latina y el Caribe (80%) seguida por Asia y Oceanía (18%), finalmente África (2%). En 1993, 17 países fueron registrados como productores de cacao fino/aroma por el Convenio Internacional del Cacao: Dominica, Granada, Jamaica, Santa Lucía, San Vicente y las Granadinas,

Samoa, Surinam, y Trinidad y Tobago son países que producen únicamente cacao fino/aroma y, Ecuador (75%), el mayor proveedor, Venezuela (50%), Costa Rica (25%) y Colombia (25%) clasificados como productores parciales de cacao fino/aroma (Amores *et al.* 2007)

2.2. Principales productores mundiales

La producción mundial de semilla de cacao se desarrolla en ocho países, que por orden descendente de producción son; En África. Costa Marfil, Ghana, Nigeria y Camerun, de América; Brasil y Ecuador, y de Asia y Oceanía; Indonesia y Papúa Nueva Guinea, la producción de estos países representan el 90% del total mundial.

Cuadro 2. Productores Mundiales de cacao.

País / Continente	2008/09	%	2009/2010	%	2010/11	%
África	25.2	70	24.83	68.4	31.80	74.8
Costa de Marfil	12.2		12.42		15.11	
Ghana	6		6.32		10.25	
Nigeria	62		2.35		2.40	
Camerún	2.50		2.05		2.30	
Otros	2.54		1.68		1.75	
América	4.78	13.3	5.17	14.2	5.40	12.7
Brasil	1.57		1.61		2.00	
Ecuador	1.35		1.50		1.45	
Otros	1.86		2.06		1.95	
Asia y Oceanía	5.98	16.6	6.32	17.4	5.30	12.5
Indonesia	4.90		5.50		4.40	
Papúa Nueva Guinea	0.59		0.39		0.45	
Otros	0.48		0.44		0.45	

Fuente: IICO, 4º Boletín estadístico: producción de semilla cacao (2011).

Empero, a pesar de que el cacao se produce en países en desarrollo el consumo es principalmente en países desarrollados de América, Europa y Asia, en donde los importadores son a la vez los transformadores de la semilla en los diversos derivados. Son pocas compañías, sobre todo multinacionales, las que dominan tanto la

transformación como la producción de chocolate, utilizando para ello variados y sofisticados procesos industriales. Entre los derivados de la semilla de mayor demanda entre los consumidores están el cacao en polvo, chocolate blanco y chocolate oscuro.

Cuadro 3. Producción mundial de cacao molido

País / Continente	2008 / 09	%	2009 / 10	%	2010 / 11	%
Europa	14.56	41.50	15.09	40.60	15.93	41.20
Alemania	3.42		3.61		4.39	
Holanda	4.70		5.15		5.35	
Otros	6.44		6.33		6.19	
África	6.22	17.70	6.85	18.40	6.40	16.60
Costa de Marfil	4.19		4.11		3.60	
Ghana	1.33		2.12		2.20	
Otros	0.70		0.61		0.60	
América	7.80	22.20	8.15	21.90	8.52	22.00
Brasil	2.16		2.26		2.39	
Estados Unidos	3.61		3.82		3.97	
Otros	2.03		2.07		2.15	
Asia y Oceanía	6.55		7.08	19	7.82	20.20
Indonesia	1.20		1.30		1.75	
Malasia	2.78		2.98		3.05	
Otros	2.56		2.80		3.02	
Total Mundial	35.12	100	37.17	100	38.67	100
Molienda Inicial	14.19	40.40	15.27	41.10	15.59	40.30

Fuente: IICO, 4º Boletín estadístico: producción de semilla cacao (2011).

El motivo fundamental de la concentración de la producción mundial en estos países es su clima tropical, que posibilita el crecimiento del “Theobroma cacao” o árbol del cacao. Los países africanos exportan prácticamente la totalidad de las cantidades producidas, pero países como Malasia y Brasil se autoabastecen con su producción, olvidándose de los mercados internacionales. Las cantidades producidas anualmente han ido incrementándose en el tiempo hasta superar la cifra de 4.000.000 de toneladas.

2.3. Cacao en México

El cultivo de cacao tiene una gran tradición e historia en México, se ha cultivado en el sureste del país desde épocas prehispánicas, donde el grano de cacao llegó a tener tal importancia, que se utilizó como moneda por su alto valor. Desde entonces, en estas zonas se ha utilizado como ingrediente para la elaboración de bebidas tradicionales que se sirven calientes y frías. Entre las calientes se encuentra el *champurrado* y *tascalate* tabasqueño, mientras que la frías son: *pozol*, *téjate*, agua de cacao y el *tescalate* chiapaneco (Llamas, 2007). México ocupa el 11vo lugar en la producción de cacao en grano contribuyendo con el 1.2% de la producción mundial. El cacao es cultivado en el sureste del país, en donde destacan los estados de Chiapas, Guerrero, Oaxaca y Tabasco; siendo esta última entidad la que mayor participación tiene en la producción (SIAP/SAGARPA, 2010). La producción de cacao en México en el periodo comprendido entre 2001 a 2009 decreció en un 48.5%, disminuyendo de 46,737.7 toneladas de cacao seco producidas en 2001 a las 22,660.8 toneladas producidas en el año 2009. Es importante resaltar que en el año 2005 se obtuvo la producción más alta de la última década con 49,965 toneladas (SIAP/SAGARPA, 2010). Los últimos reportes del año 2009 indican que Tabasco produjo 14,609 toneladas, Chiapas 7,885.6 toneladas, y Guerrero 169.1 toneladas. En este ciclo Oaxaca no tuvo participación (SIAP/SAGARPA, 2010).

Durante el 2013 la producción nacional concentrada en Chiapas, Guerrero y Tabasco ascendió a 27,844 toneladas de cacao, lo cual representa cerca del 99% de producto generado en el país.

Cuadro 4. Producción nacional de cacao.

Ubicación	Sup. Sembrada (Ha)	Sup. Cosechada (Ha)	Producción (Ton)	Rendimiento (Ton/Ha)	PMR (\$/Ton)	Valor Producción (Miles de Pesos)
Chiapas	20,299.40	20,150.40	9,080.04	0.45	33,792.77	306,839.71
Guerrero	237.00	235.00	213.44	0.91	5,077.45	1,083.73
Tabasco	40,782.70	40,782.70	18,550.64	0.45	38,191.52	708,477.07
	61,319.10	61,168.10	27,844.12	0.46	36,503.24	1,016,400.5

Fuente: SAGARPA, 2010

2.4. Factores que afectan el cultivo del cacao

Existen diversos parámetros que afectan los cultivos de cacao, por lo cual se debe tener en cuenta dichos factores, a continuación se mencionan algunos.

2.4.1. **Clima:** la temperatura y la lluvia son factores críticos que afectan el desarrollo del cacao. También se encuentran en este grupo la luz solar y el viento. Por lo anterior el cacao se debe sembrar bajo sombra y en regiones tropicales, para que no se vea afectado por las inclemencias climáticas, por la humedad relativa para evitarlas enfermedades en el fruto (Vázquez *et al.* 2009).

2.4.2. **Temperatura:** las temperaturas bajas afectan la floración del cacao y temperaturas demasiado altas provocan alteraciones fisiológicas en el árbol, por tal razón la temperatura promedio anual de cultivo es de 21°C, cuando la temperatura alcanza los 25°C, se consigue una floración normal y abundante (Vázquez *et al.* 2009).

- 2.4.3. **Viento:** cuando los vientos son continuos, pueden llegar a ocasionar deshidratación y muerte y caída de las hojas, por lo que se deben sembrar árboles que sirvan de cortavientos para que el cacao no sufra daño alguno, pues cuando la velocidad es mayor a 13 Km/h provoca la caída prematura de las hojas (Paredes., 2000. Comunicación personal).
- 2.4.4. **Agua:** para el cacao todos los excesos son malos, es sensible a la escasez de agua pero también lo es a los encharcamientos, por lo que los suelos deben permitir un buen drenaje. Las necesidades de agua dependen del lugar del cultivo es así que en las zonas cálidas bajas las precipitaciones deben estar entre 1500 –2500 mm y en las zonas más frescas las precipitaciones debe ser de 1200 – 1500mm (Vázquez *et al.* 2004).
- 2.4.5. **Suelos:** los suelos para la siembra del cacao deben tener un buen drenaje, profundos, franco arcillosos, la topografía debe ser regular. Deben ser ricos en nutrientes orgánicos. Es necesario sembrar leguminosas con el fin de proporcionarle sombra, para que la capa húmeda no se degrade si la superficie del suelo queda expuesta al sol, lluvia y vientos directos, también para que le aporte sustancias nitrogenadas constantemente
- 2.4.6. **Latitud:** La mayoría de las plantaciones de cacao están localizadas entre los 10° de latitud norte y sur de la línea ecuatorial; no obstante algunas se han extendido hasta los 20°. López (1984) menciona que los paralelos más apropiados para cacao son entre 22° N y 21° S.

2.4.7. **Altitud:** La planta se adapta desde los 4 msnm a los 800 msnm, considerándose idónea aquella entre los 10 msnm y los 400 msnm. El cacao no debería cultivarse por encima de una altura de 700 msnm; sin embargo, existen plantaciones situadas entre 1000 m.n.s.m y 1300 m.s.n.m con buenos resultados económicos pero su potencial óptimo se encuentra por debajo de 600 metros (Paredes., 2000. Comunicación personal).

2.5. Composición química del cacao

El cacao está constituido principalmente por: Grasa (50%), agua (30%), nitrógeno total (2.28%), nitrógeno proteico (1.50%), teobromina (1.71%), cafeína (0.085%), Glucosa (0.30%), Sacarosa (1.58%), Polifenoles (7.54%) entre otros.

El cacao tiene un alto contenido de grasa, que es mayor al 50% después de ser fermentado, tostado y secado). Un 60% de la grasa del cacao es saturada, rica en ácidos grasos como el esteárico (34%) o el palmítico (28%). Pero también contiene ácidos grasos insaturados como el oleico (35%) que juega un papel importante en la protección vascular al disminuir el colesterol y las LDL (Lipoproteínas de Baja Densidad, por sus siglas en inglés) y aumentar las HDL (Lipoproteínas de Alta Densidad o colesterol bueno). Minimiza también la agregación de plaquetas, que es factor de trombos. Además, el ácido esteárico se transforma en oleico en el organismo.

Aunado a todo esto el cacao es un alimento cuya ingestión produce sensación de bienestar en el organismo, esto se fundamenta en los alcaloides que contiene, con efectos tanto en el Sistema Nervioso Central, como en el funcionamiento de los riñones (López-Munguía, 2011)

En particular, contiene moléculas estimulantes como teobromina, metil-xantina y cafeína, alcaloides suaves y muy atractivos por su capacidad para activar el Sistema Nervioso, por ser vasodilatadores y por sus propiedades tonificantes, diuréticas y anti neurálgicas. Contiene también, en pequeñas cantidades, una sustancia a la que se atribuyen propiedades antidepresivas y que tiene una estructura química parecida a la de las anfetaminas: La afenitil-amina se ha descubierto recientemente que el cacao contiene tres sustancias que actúan en el cerebro, estas sustancias inducen una sensación de bienestar y, tomadas en cantidades superiores a las que hay en una tableta de chocolate, provocarían euforia y reducirían la sensibilidad al dolor. Se trata de la anandamida, N-oleoil-etanol-amina y N-linoleoil-etanol-amina (estas dos últimas contienen ácidos grasos de la porción grasa del cacao). La anandamida se acopla en el cerebro a los receptores canabinoides que hay en algunas células y, de este modo, desencadena una cascada de sensaciones placenteras. La N-oleoil-etanol-amina y N-linoleoil-etanol-amina impiden que la anandamida se destruya y, por lo tanto, ayudan a que las sensaciones placenteras se prolonguen. Así mismo el cacao también contienen fenil-etil-amina, una sustancia química (presente en el cerebro humano) del grupo de las endorfinas cuyos efectos son conocidos, ya que al introducirse en la sangre eleva el estado de ánimo, creando una energía altamente positiva, una sensación un tanto euforizante (di Tomaso *et al.*, 1996)

2.6. Efecto antioxidante del cacao

Las enfermedades cardiovasculares son la principal causa de muerte en el mundo. Según datos publicados en septiembre de 2009, por la Organización Mundial de la Salud, en 2005 murieron 17,5 millones de personas como consecuencia de la enfermedad cardiovascular, lo cual representa un 30 % de todas las muertes registradas a nivel mundial. Los compuestos fenólicos son el grupo más extenso de sustancias no energéticas presentes en los alimentos de origen vegetal. En los últimos años se ha demostrado que una dieta rica en polifenoles vegetales puede mejorar la salud y disminuir la incidencia de enfermedades cardiovasculares^{1, 2}. La capacidad de

los polifenoles para modular la actividad de diferentes enzimas, y para interferir consecuentemente en mecanismos de señalización y en distintos procesos celulares, puede deberse, al menos en parte, a las características fisicoquímicas de estos compuestos, que les permiten participar en distintas reacciones metabólicas celulares de óxido-reducción. Sus propiedades antioxidantes justifican muchos de sus efectos beneficiosos (OMS, 2009)

Los flavonoides son un grupo ubicuo y abundante de polifenoles que se consumen en la dieta, principalmente a partir de frutas y verduras, derivados de plantas y actúan como antioxidantes, debido a su capacidad para reducir la formación de radicales libres y su capacidad para estabilizar membranas. Estas propiedades antioxidantes pueden contribuir a la evidencia de que una dieta rica en frutas y verduras reduce el riesgo de enfermedades cardiovasculares. Estudios epidemiológicos y metabólicos indican que el consumo regular de estos productos aumenta el nivel plasmático de antioxidantes, un atributo deseable como defensa contra las especies reactivas de oxígeno (ERO). Además, los antioxidantes en el cacao pueden prevenir la oxidación del colesterol-LDL, en relación con el mecanismo de protección en la enfermedad cardíaca. Estos flavonoides se almacenan en los pigmentos de las células de los cotiledones de las semillas de cacao, se diferencian en tres grandes grupos, en distintos porcentajes: Las catequinas, o flavan 3-oles (~37%), antocianinas (~4%) y proantocianidinas (~58%). Menos abundante es (+)-catequina con sólo trazas de (+)-galocatequina y (+)-epigallocatequina.

La fracción de antocianina está dominada por cianidina-3- α -L-arabinósido y cianidina-3- β -D-galactósido. Las procianidinas son en su mayoría flavan-3,4-dioles, 4-8 o 4-6 unidos para formar dímeros, trímeros u oligómeros con la (-)-epicatequina, como la subunidad principal de la extensión. Existe un consenso de que la actividad antioxidante de los flavonoides resulta de una combinación de sus propiedades quelantes de hierro y sequestradoras de radicales libres. Otros autores se refieren además a la inhibición de oxidasas, como la lipoxigenasa, la ciclooxigenasa, la mieloperoxidasa, la NADPH oxidasa y la xantina oxidasa; evitando la generación de ERO *in vivo*, así como de hidroperóxidos orgánicos (OMS, 2009). Por otra parte, se ha podido conocer que

también inhiben enzimas involucradas indirectamente en los procesos oxidantes, como la fosfolipasa A2 (FLA2), al mismo tiempo que estimulan otras con reconocidas propiedades antioxidantes, la catalasa y la superóxido dismutasa. De esta forma los flavonoides interfieren en las reacciones de propagación de los radicales libres y en la formación de los radicales en sí (OMS, 2009).

2.7. Tipos de cacao

La mayor parte del cacao comercial pertenece a una sola especie (*Theobroma cacao*), que comprende tres complejos genéticos: Criollos, forastero y trinitario. (Anecacao, 2004).

2.7.1. Criollo

Braudeau (1970) y Soria (1966), expresan que en este grupo se unen los cacaos que presentan las características de los antiguos criollos venezolanos y en particular todos los tipos de cotiledones blancos cultivados en América Central, México, parte de Venezuela y Colombia. Además según Arguello, Mejía y Palencia (2000), estos tienen cotiledones violeta pálido, estaminodios de color rosa pálido, las mazorcas de forma alargada con punta muy acentuada en el extremo inferior, marcados con diez surcos muy profundos o a veces en grupos alternos cinco, el pericarpio es rugoso y delgado, el mesocarpio poco lignificado. Siendo estas de color rojo o verde en estado inmaduro, tornándose amarillas y anaranjado rojizas cuando están maduras (Borbor y Vera, 2007). Vera *et al.*, (1993), mencionan que los granos del cacao criollo son gruesos casi redondos, con cotiledones muy ligeramente pigmentados. Estos requieren de dos a tres días para fermentar, es muy aromático y se lo designa comercialmente como “Cacao Fino”, presentando un chocolate apetecido por el sabor a nuez y frutas (Borbor y Vera, 2007).

2.7.2. Forastero

A este grupo se agregan todos los cacaos corrientes del Brasil y del oeste africano, y otros cultivares encontrados en los diferentes países de América Central y del Norte de América del Sur. Los mismos se consideran, son originarios de la alta Amazonía y fueron dispersados, por la cuenca del Amazonas (Enríquez, 2004). Se le atribuye la denominación de “Amazónico”, por estar distribuido en forma natural en la cuenca del río que lleva este nombre, considerando el centro de origen de este complejo genético a la zona localizada entre los ríos Napo, Putumayo y Caquetá, en América del sur (Soria, 1966).

Vera (1993), indica que los forasteros presentan estaminodios de color violeta, las mazorcas son amarillas cuando están maduras, presentan surcos y rugosidad poco notables; son lisas y de extremos redondeados. La cáscara es algo gruesa y el mesocarpio lignificado, los granos son más o menos aplanados con cotiledones de color púrpura. Según Borbor y Vera (2007), de este tipo de cacao se obtiene un chocolate con sabor básico a cacao.

2.7.3. Trinitario

Según Vera (1993), este grupo pertenece botánicamente a un grupo complejo constituido por una población híbrida que se originó en la Isla de Trinidad, cuando la variedad original (Criollo de Trinidad) se cruzó con la variedad introducida de la cuenca del Orinoco para reemplazar las plantaciones que fueron destruidas en 1727 por un ciclón. Braudeau (1970), argumenta que los caracteres botánicos de este grupo son difíciles de definir, ya que son de una población híbrida polimorfa donde se pueden observar todos los tipos intermedios de criollos por un lado y forastero por el otro, con lo cual se puede identificar una disyunción relevante en los descendientes de Trinitarios. Los trinitarios presentan diversas formas de mazorcas, hallándose de colores verdes y rojos cuando están inmaduras,

tornándose en algunos casos anaranjadas y amarillas en la madurez (Borbor y Vera, 2007). Generalmente presenta almendras de tamaño mediano a grande con cotiledones rojizos y desarrolla un aroma a chocolate pronunciado con un sabor adicional definido como frutal. (Anecacao, 2009).

2.8. Cualidades organolépticas del cacao

Un punto dominante en la calificación del cacao de exportación se basa en la características organoléptica (sabor y aroma), tales como el amargor y la astringencia, que están intrínsecas en las almendras de cacao, requisito fundamental para la elaboración de chocolates finos (Armijos, 2002) y (Calderón, 2002). Graziani (2003), expresa que el cacao debe desarrollar el aroma y el característico sabor “arriba”, para que sea calificado como de primera calidad. Estas cualidades se desarrollan solamente cuando las almendras, debidamente fermentadas y secadas son tostadas, (Moreira, 1994).

Navarrete (1992), Moreira (1994), y Pérez (1999), coinciden y resumen las cualidades organolépticas que deben reunir los granos de cacao que son deseados por los fabricantes para procesar un producto de buena calidad, siendo estas las siguientes: 1) capacidad para desarrollar un buen chocolate, aroma (a cacao), y 2) libres de sabores secundarios especialmente humo, moho y acidez excesiva.

Romero (2004), menciona que los fabricantes de chocolate realizan pruebas complejas para determinar las cualidades organolépticas del grano. En los cacaos finos, tratan de encontrar delicados matices de sabor y en los básicos se preocupan más de que no tengan sabores extraños.

Además, describe que los peores defectos que se pueden encontrar en los licores de cacao son el sabor a humo, ocasionado por el secado artificial del cacao y el olor a jamón ahumado ocasionado por una sobre fermentación.

Para el fabricante, la evaluación sensorial es la única prueba confiable para determinar si puede utilizar determinado cacao para sus productos. Esta prueba permite medir, analizar e interpretar reacciones de las características de los alimentos, los cuales son percibidos por los sentidos de la vista, olfato y gusto es decir sabor y aroma (Jiménez, 2003).

2.9. Sabor y aroma

Voltz. (1990), Ramos, G. Ramos, P. y Azócar, A., (2000) y Jiménez (2003), coinciden que el sabor es una sensación que se percibe en las papilas gustativas de la lengua y en la pared de la boca que son estimuladas por ciertas sustancias solubles y permiten encontrar en cada producto los sabores básicos como son: dulce, salado, astringente, ácido y amargo.

Estos mismos autores, manifiestan que los sabores más frecuentes que se pueden encontrar en una degustación en licores de cacao, son los siguientes:

2.9.1. Sabores básicos

- Acido, se la describe como un sabor ácido, debido a la presencia de ácidos volátiles y no volátiles y se la percibe a los lados y al centro de la lengua, se lo puede relacionar con las frutas cítricas y vinagre.
- Amargo, sabor fuerte, generalmente debido a la falta de fermentación. Se percibe en la parte posterior del paladar o en la garganta, se lo relaciona con el café, cerveza caliente y la toronja.
- Dulce, este sabor es percibido en la punta de la lengua.
- Salado, se percibe a los lados de la lengua y produce salivación.

2.9.2. Sabores específicos

- Cacao, describe el sabor típico a granos de cacao bien fermentados, tostados y libre de defectos. Referencia barras de chocolate de cacao fermentado
- Floral, son aquellos licores con sabor y aroma a flores, casi perfumado. Referencia flores de cítricos.
- Frutal, caracterizan licores con sabor a fruta madura. Esto describe una nota de aroma a dulce agradable. Referencia cualquier fruta seca o cacao fresco almacenado.
- Nuez, se describe como un sabor similar a la nuez, característico de los cacaos tipo Criollos y Trinitarios.

2.9.3. Sabores adquiridos

- Moho, describe licores con sabor mohoso, generalmente debido a una sobre fermentación de las almendras o a un incorrecto secado. Referencia sabor a pan viejo o musgo.
- Crudo/verde, se presenta con aroma desagradable, generalmente debido a la falta de fermentación o falta de tostado.

Numerosas investigaciones han determinado la importancia de los compuestos involucrados en la formación del aroma del cacao y por ende el desarrollo de los precursores del sabor a chocolate. En ese sentido; los compuestos volátiles como las pirazinas y los aldehídos representan un sabor básico, los esterres que originan un sabor a fruta. Así mismo el grado de astringencia del chocolate, está determinado

por los compuestos polifenólicos y el amargor por las purinas (cafeína y teobromina), el complejo polipéptidos-fenoles y pirazinas, intervienen en el sabor a dulce y nuez (Jeanjean, 1995).

Saltos (2005), menciona que el sabor “arriba” del cacao Nacional es muy particular y diferente, se lo describe como sabor floral, fuerte, con matices de astringencia, sabor a leguminosas verdes, flores de cítricos, una sensación de frescura que invade la boca y desaparece rápidamente.

La calidad aromática de un chocolate está relacionada con el origen de las almendras, con la fermentación y secado y con el tostado (Cros, 2004 a). El aroma del cacao incluye varias fracciones determinadas en los granos frescos: una fracción constitutiva (presente en la almendra fresca), de una fracción desarrollada durante la fermentación y secado y por último por una fracción formada durante el tostado (Cros, 1997). Según Braudeau (1970), el aroma a chocolate se forma desde el momento en que ocurre la muerte del embrión, al tiempo que se producen la rápida destrucción de las antocianinas, proporcionándole a las almendras de cacao el sabor y aroma característico del chocolate. Es importante señalar que ni las células con pigmentos, ni las células de reserva de los cotiledones de las almendras frescas contienen alguna sustancia que darán el aroma a chocolate, por lo tanto, las almendras no fermentadas son incapaces de producir un aroma tal, incluso después del tostado, lo cual confirma que las sustancias aromáticas del cacao únicamente se crean durante el proceso de fermentación (Braudeau, 1970)

2.10. Características de los tipos de cacao

Las diferencias de composición observadas entre variedades de cacao no pueden ser atribuidas únicamente al genotipo sino que también resultan de la influencia combinada entre la variedad y el tratamiento pos cosecha (Cros *et al.*, 1994). La dificultad de evaluar la influencia de la variedad sobre el aroma final proviene del hecho de que los cacaos no son beneficiados (fermentación, secado y tostado) en condiciones idénticas.

Recientemente, la aplicación del mismo protocolo de preparación de los cacaos permitió poner en evidencia diferencias aromáticas notables entre la variedad Forastero, Trinitario y las variedades híbridas (Cros *et al.*, 1994).

Las almendras frescas se caracterizan por un fuerte contenido de ácido acético y etanol y por la presencia de fenoles, de trimetilpirazina, tetrametilpirazina y 5-metil-2-fenil-2-hexanal. La presencia de aldehídos proviene posiblemente de una reacción de aldocondensación enzimática entre el isovaleraldehído con el fenilacetaldehído (Ziegler, 1991). Gill *et al.*, (1984) señalan que de manera general la fracción volátil de las almendras fermentadas y secadas está constituida globalmente por este tipo de compuesto y otros indican que pueden ser de origen microbiológico.

Según Gill *et al.*, (1984) el aroma de las almendras frescas del cacao es poco desarrollado, tanto cuantitativamente como cualitativamente. El estireno (68 %) y el dimetilformaldehído (8.5 %) son los compuestos principales de la almendra fresca, según los estudios de estos autores. Bajos contenidos de alcoholes, aldehídos y cetonas también han sido puestos en evidencia. Los trabajos de Jeanjean,(1995) realizados sobre almendras de cacao Sánchez de República Dominicana, clones e híbridos de orígenes diversos indicaron que la fracción volátil de los granos no fermentados y secados están mayoritariamente constituidos por los alcoholes (57 %) y ésteres (23 %), ningún contenido de estireno fue detectado.

Según Ziegler (1991), el linalool es un compuesto clave que permite la clasificación de los cacaos en función de su origen. Las almendras de cacaos "finos" que provienen del Ecuador (sabor Arriba), de Trinidad y de Venezuela contienen más de linalool que los cacaos corrientes (Ghana, Costa de Marfil y Brasil). Este contenido de linalool, puede ser hasta ocho veces más elevado, contribuyendo con la calidad aromática de estos orígenes de cacaos y sería responsable de sus notas florales.

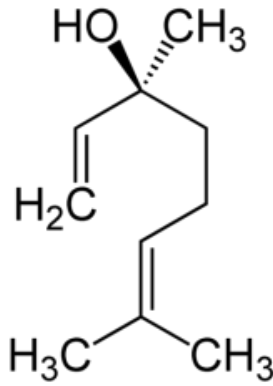


Figura. 1 Linalool. Terpeno con un grupo alcohol.

En el caso de Cacao Criollo también conocido como cacao de Tabasco. Crece en los estados de Tabasco y Chiapas, el color de la almendra es blanco, la cascara tiene un color verde rojizo (Wood, 1982)



Figura. 2 Cacao Criollo

Se dice que los granos de cacao criollo son los de mejor calidad y es la especie menos vigorosa que existe, debido a esto es la especie más propensa a plagas y enfermedades, por esta razón su producción se vuelve reducida. Este tipo de cacao se encuentra principalmente entre Venezuela y Colombia, existiendo el mayor número de variedades Criollas en Venezuela. Su proceso de fermentación es rápido debido a las moléculas de las células del cotiledón que son más grandes y porosas, permitiendo la pérdida de compuestos químicos como polifenoles y purinas (químicos que producen la

astringencia y amargura al cacao) logrando así un proceso de fermentación más rápido. Los Cacaos Criollos contienen más azúcar, químico vital para la fermentación. Representan sólo el 1% de la producción mundial (Wood, 1982).

El cuadro 5 muestra las familias de compuestos químicos presentes en el cacao criollo.

Cuadro 5. Familias de compuestos químicos en el cacao criollo

Familias	Cacao Criollo
Aldehídos	8
Alcoholes	15
Cetonas	9
Esteres	22
Fenoles	4
Furanos	6
Hidrocarburos	3
Pirazinas	3
Pirroles	1
Terpenos	3
Oxoazoles	0

Fuente: Wood, 1982

Por otra parte la especie de cacao Forastero es la especie más robusta y grande que existe, debido a esto y a la facilidad de cultivo es la especie que tiene mayor producción, se cultiva principalmente en América Central, Antillas, Ecuador, Brasil y África Occidental (Wood, 1982).

Estos cacaos contienen el cotiledón violeta o púrpura, generalmente tienen un sabor alto en astringencia y amargura debido a su proceso de fermentación lenta por su característica celular. Tienen una gran potencia aromática, pero sin finura ni diversidad de sabores. Pueden ser ligeramente ácidos. Poco fino (relativo al sabor). Las notas gustativas son a chocolate predominando el sabor a cacao. Comprende el 80% de la producción mundial (Gran Colombia Trading LTDA, 2010).



Figura. 3 Cacao Forastero

La tercera especie de cacao comercializada es la proveniente del cruce de los cacaos Criollos con los Forasteros, denominada Trinitaria. La calidad genética del cacao trinitario dependerá de la mayor o menor cantidad de cacao criollo que éste haya proporcionado al momento de la germinación. Los Cacaos Trinitarios se conocen ya que sus cotiledones son violáceo claro o rosados. Las notas gustativas de estos cacaos son a frutas, principalmente a berries y cereza; también encontramos notas a flores



Figura. 4 Cacao Trinitario

Las variedades de cacao son clasificadas por su calidad aromática de acuerdo a los compuestos aromáticos que presentan, ya que estos a su vez tienen asociación con los descriptores de olor y aroma (Frauendorfer *et al.*, 2008).

Sin embargo, la calidad aromática y los descriptores están en función de la variedad de cacao, su origen y de los días de fermentación. En términos generales, la variedad Forastero ha sido clasificada como de calidad aromática baja, la Trinitario como de calidad intermedia y la Criollo como de calidad alta (Ciferri *et al.*, 1957). Por su parte Beckett (2000), clasificó al cacao Forastero como de grado comercial, mientras que al Criollo y Trinitario lo clasificó como de grado fino.

Cuadro 6. Efecto del origen, la variedad de cacao y el tiempo de fermentación sobre el olor y aroma.

Origen	Tipo de cacao	Fermentación (Días)	Olor y aroma
Ecuador	Nacional (Arriba)	2 (corto)	Floral, herbal
Ecuador	Criollo	2	Acido, poco a cacao
Venezuela	Trinitario	2	Acido, poco a cacao
Venezuela	Criollo	2	Frutal, almendrado
Venezuela	Forastero	5	Frutal caramelo, uva
Ghana	Forastero	5	Frutal, ligero a cacao
Malasia	Forastero/Trinitario	6 (medio)	Acido, fenólico
Trinidad	Trinitario	7-8 (largo)	Uva, Vino
Granada	Trinitario	8-10	Acido, frutal
Congo	Criollo/Forastero	7-10	Acido, fuerte a cacao

Fuente: Afoakwa *et al.* (2008).

2.11. Composición del grano de cacao fresco

Acosta *et al.* (2001), reportaron que los granos de cacao fresco estaban constituidos principalmente por lípidos, cuyo contenido fue significativamente diferente en las tres variedades, Criollo, Forastero y Trinitario. La variedad Forastero presentó el menor contenido de lípidos, mientras que la variedad Trinitario presentó la mayor concentración (Acosta *et al.*, 2001). La grasa de cacao presenta características físicas y químicas que le imparten propiedades funcionales específicas, no comparables con las de otros aceites vegetales, por lo que es muy demandada por la industria alimentaria (Liendo *et al.*, 1997).

Otros componentes importantes en el cacao son las proteínas y los taninos, los cuales de acuerdo a Acosta *et al.*, (2001), no presentaron diferencias en las tres variedades estudiadas. Estos autores postularon que dichos compuestos intervienen en las reacciones bioquímicas que ocurren durante la fermentación y el secado del grano, contribuyendo en la formación de precursores del sabor. Además, el pH, acidez titulable, azúcares totales, azúcares reductores y cenizas no presentaron diferencias significativas en las tres variedades analizadas por Acosta *et al.*, (2001).

Cuadro 7. Composición fisicoquímica promedio en granos frescos de cacao.

Componente (%)	Variedad		
	Criollo	Forastero	Trinitario
Humedad	30.36	30.87	30.86
Acidez Titulable	0.31	0.31	0.35
Taninos	0.68	0.80	0.72
Azúcares reductores	2.02	2.24	2.90
Azúcares totales	7.05	7.07	7.62
Proteínas	12.88	12.59	12.97
Cenizas	3.67	3.59	3.63
Grasas	50.99	49.52	52.24

Fuente: Acosta *et al.*(2001).

El grano de cacao fresco posee una composición aromática cuantitativamente poco importante de compuestos volátiles. Gill *et al.*, (1984), mencionaron que la composición y concentración de los compuestos volátiles del cacao fresco es simple y relativamente baja. Los autores reportaron que el estireno presentó el 68.8% y la dimetilformamida el 8.5% de la fracción volátil total, mientras que alcoholes, aldehídos y cetonas presentaron bajas concentraciones. Contrariamente, Portillo *et al.*, (2004), caracterizaron una fracción volátil cualitativamente importante con 94 compuestos en el cacao Criollo fresco. Además, Cros (2000), encontró diferencias importantes en el perfil

de compuestos volátiles de 9 clones e híbridos de cacao. Donde los principales compuestos pertenecieron a dos grupos funcionales: alcoholes y ésteres, con un promedio del 57% y el 23% respectivamente. Los compuestos comunes en estos cacaos fueron 4 alcoholes (2-metil-1-propanol, 2-metil-1-butanol, 3-metil-1-butanol, feniletanol), 2 derivados con carbonilo (3-metil-1-butanal, acetofenona) y 2 ésteres (acetato de etilo, acetato de 2-metilpropanol).

El Cuadro 8 muestra la composición de ácidos grasos de la grasa del cacao fresco de las tres variedades Criollo, Forastero y Trinitario estudiadas por Acosta *et al.* (2001). El cacao Trinitario presentó el contenido más alto de ácido palmítico (28%) y el más bajo de esteárico (33%). Los principales ácidos grasos fueron el palmítico, esteárico y oleico, los cuales constituyeron el 95.8% del total de los ácidos grasos, mientras que los ácidos linoleico y araquídico representaron sólo el 3.6%. La grasa de cacao presentó en promedio de 63% de ácidos grasos saturados y 37% de insaturados, composición que es señalada por Liendo *et al.* (1997), para cultivos venezolanos de cacao.

Cuadro 8. Composición de Ácidos grasos en cacao fresco

Variedad	Ácido graso (%)				
	Palmítico 16:0	Esteárico 18:0	Oleico 18:1	Linoleico 18:2	Araquidico 20:4
Criollo	27.1	34.9	34.8	2.2	1.3
Forastero	27.2	34	34.9	2.2	1.4
Trinitario	28.0	32.9	34.5	2.34	1.4

Fuente: Liendo *et al.* (1997)

Portillo *et al.* (2009), reportaron para el cacao fresco 92 compuestos volátiles, dentro de los que se encuentran compuestos como: pirazinas, pirroles, furanos y fenoles, que se producen comúnmente por tratamiento térmico.

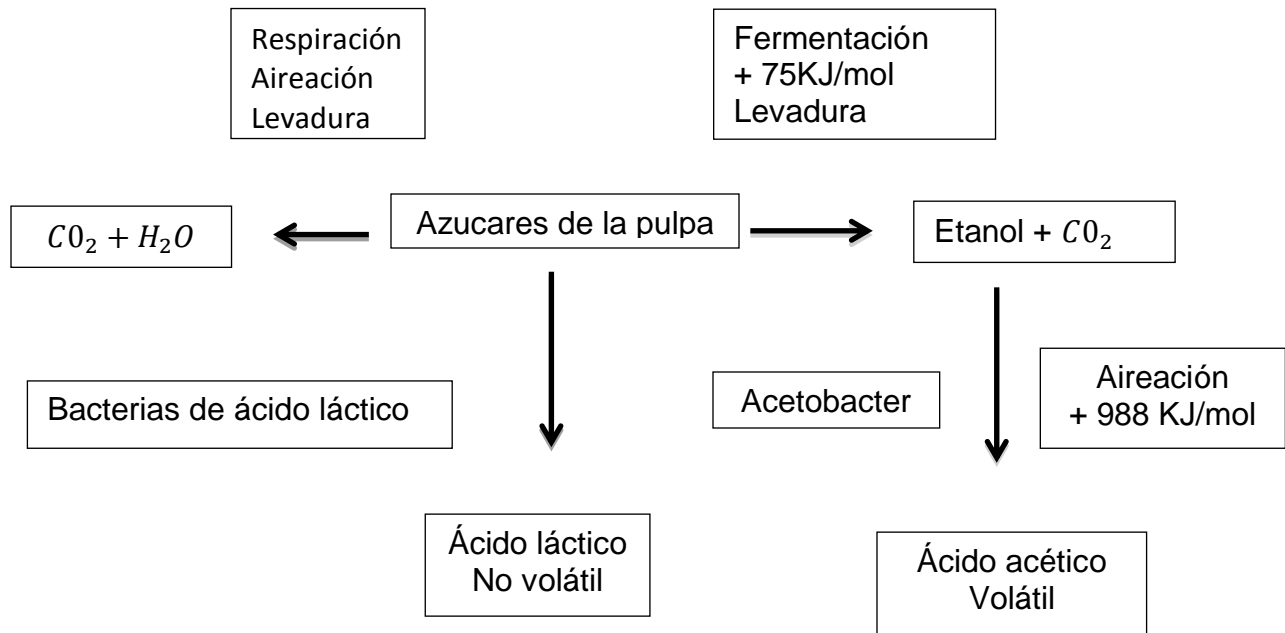
2.12. Fermentación del grano de cacao

El proceso de fermentación inicia con la apertura de la mazorca (“*el quebrado*”) y la extracción de las semillas de cacao (“*la acada*”). Las semillas al momento de ser extraídas están envueltas en una pulpa mucilaginosa de color blanco que comprende el 40% del peso en base húmeda del cacao fresco (Schwan *et al.*, 2004). La pulpa mucilaginosa está compuesta principalmente por 87% de agua, 2.7% pentosas, 0.7% sacarosa, 10% glucosa y fructosa, además de 0.6% de proteínas, 0.7% ácidos y 0.6% de sales inorgánicas. Esta composición hace a la pulpa un excelente sustrato para el crecimiento microbiano (Thompson *et al.*, 2001).

Durante la apertura de la mazorca se transfieren a las semillas diferentes microorganismos, siendo los principales vectores las manos de los trabajadores, la superficie del fruto, los cuchillos, los contenedores usados en el transporte de la semilla al lugar de la fermentación, los insectos que se posan en los granos y los recipientes de fermentación. Entre los microorganismos inoculados se encuentran algunas levaduras, bacterias ácido lácticas y ácido acéticas, entre otros.

La presencia de azúcares en la pulpa y la acidez causada por el ácido cítrico (pH 3.5), proveen las condiciones ideales para el desarrollo de dichos microorganismos (Ardhana *et al.*, 2003; Schwan *et al.*, 2004; Thompson *et al.*, 2001). Los diferentes microorganismos que participan durante la fermentación se desarrollan en sucesión (Schwan *et al.*, 2004).

ACCION MICROBIANA EN LA PULPA



Fuente: Thompson *et al.*, (2001)

Figura 5. Reacciones en la fermentación

Inicialmente las condiciones anaerobias de la masa de los granos favorecen el desarrollo de las levaduras. (Schwan y Wheals (2004), identificaron las siguientes especies de levaduras como responsables de producir compuestos volátiles: *Kloeckera apiculata*, *Saccharomyces Cerevisiae*, *S. cerevisiae var. chevalieri* y *Kluyveromyces marxianus*. Las levaduras metabolizan los carbohidratos de la pulpa produciendo principalmente etanol y dióxido de carbono, además producen enzimas pectinolíticas que rompen las células de la pulpa generándose un exudado que puede representar del 12 al 15% del peso de los granos húmedos.

El flujo de exudado se completa en las primeras 36 horas, al inicio los exudados son ricos en azúcares, mientras que al final contienen alcohol y ácido acético (Schwan et al., 2004). Durante la etapa de fermentación la humedad del grano permanece por encima del 35%, permitiendo la actividad enzimática (Thompson et al., 2001).

Además, las condiciones anaerobias en las que se desarrollan las levaduras son favorable para el crecimiento de bacterias ácido lácticas. (Lagunés et al. (2007), aislaron 4 especies de bacterias ácido lácticas: *Lactobacillus plantarum*, *L.pentosus*, *L. paracasei* sub esp. *paracaseiy* *L. brevis*. Estas bacterias predominan durante el segundo día de fermentación, y su población disminuye cuando las condiciones del medio se vuelven aerobias, al introducir aire a la masa por la remoción del grano de un contenedor a otro (Schwan y Wheals, 2004).

Las bacterias lácticas consumen glucosa y ácido cítrico de la pulpa produciendo ácido láctico. Lagunés et al., (2007), reportan que la concentración más alta de ácido láctico se encontró al día 5 de fermentación. La presencia de ácido láctico no es favorable para la calidad del cacao, debido a que la cantidad de ácido láctico que se difunde al interior del grano permanece en éste hasta la manufactura del chocolate, generando un gusto ácido desagradable, que puede enmascarar el sabor del chocolate (Thompson et al., 2001).

Las condiciones aerobias inducidas por la remoción de la masa del grano favorecen la proliferación de bacterias ácido acéticas. Estas bacterias oxidan el etanol producido durante la fermentación alcohólica a ácido acético y acetato de etilo. Esta reacción es altamente exotérmica, lo cual genera un aumento en la temperatura de la masa del grano que puede llegar hasta los 50 °C (Schwan y Wheals, 2004). Altas concentraciones de ácido acético en el grano de cacao afectan la calidad de los productos finales del cacao, como el chocolate (Brito et al., 2000).

(Schwan y Wheals ,2004; Thompson *et al.*, 2001), identificaron diferentes especies del género *Acetobacter* durante la fermentación del cacao. Además, Lagunés *et al.*, 2007, aislaron la especie *Acetobacter lovanienses* en la fermentación de granos de cacao.

Al final de la fermentación, cuando el proceso se extiende por periodos largos (más de 7 días) con pH de 3.5 a 5.0 en la pulpa y temperaturas cercanas a los 45 °C en el cacao, se presenta el desarrollo de bacterias aerobias formadoras de esporas del genero *Bacillus*. Algunas especies de este género son termotolerantes y pueden desarrollarse a altas temperaturas. Los metabolitos generados por estas bacterias como son algunos ácidos orgánicos de cadena corta, pueden ocasionar un aumento en la acidez y producir olores desagradables en el cacao fermentado (Schwan y Wheals, 2004).

Los ácidos láctico y acético producidos al inicio de la fermentación se difunden al interior del grano provocando un descenso en el pH de 6.5 a 4.5 en el cacao (Thompson *et al.*, 2001). Afoakwa, *et al.*, (2008b), mencionaron que el cacao fermentado con un pH entre 5.5-5.8 es considerado como pobremente fermentado mientras que el cacao con un pH entre 4.75-5.19 se considera que ha sido fermentado adecuadamente.

Por otro lado, la temperatura de la masa del grano al comienzo de la fermentación es usualmente de 25 °C, mientras que al final se alcanzan temperaturas cercanas a 50 °C (Lagunés *et al.*, 2007; Thompson *et al.*, 2001). Hernández (1996), reportó que al inicio de la fermentación la temperatura aumentó lentamente y que después de las primeras 48 h se incrementó de forma rápida hasta alcanzar los 40-45 °C. Además, observó que al remover los granos en este intervalo de tiempo, la temperatura aumentó rápidamente hasta los 48-50 °C. Estos valores concuerdan con lo reportado por Lagunés *et al.*, 2007, quienes encontraron temperaturas de 51 °C a las 48 h de fermentación.

2.13. Desarrollo de la fracción volátil del cacao durante la fermentación

La fermentación es considerada como una etapa clave en la formación de los compuestos volátiles del cacao. Durante este proceso, el grano tiene modificaciones en el contenido de los compuestos implicados en el desarrollo de la fracción volátil de origen térmico. Además, se genera una fracción volátil de origen bioquímico y microbiológico que es cualitativa y cuantitativamente muy importante (Cros, 2000). Portillo *et al.*, (2009), mencionaron que la concentración de la fracción volátil global en el cacao bien fermentado y seco, es 10 veces mayor que la del cacao no fermentado y seco, y tuvo mayor cantidad de compuestos volátiles.

Durante los primeros días de fermentación las levaduras producen compuestos aromáticos, principalmente alcoholes y ésteres de ácidos grasos. Se han identificado 5 especies de levaduras como las responsables de producir estos compuestos volátiles: *Kloeckera apiculata*, *Saccharomyces Cerevisiae*, *S. cerevisiae var chevalieri*, *Candida sp.*, y *Kluyverom cesmarxianus* (Schwan y Wheals, 2004). Dichos microorganismos se estudiaron individualmente, y se encontró que *Kloeckera apiculata* y *S. cerevisiae var chevalieri* generaron la mayor cantidad de compuestos volátiles, como son el acetato de isopropilo, acetato de etilo, metanol, 1-propanol, alcohol isoamílico (3-metil-1-butanol), 2,3-butanediol, dietilsuccinato y feniletanol (Schwan y Wheals, 2004).

Portillo *et al.*, (2009), encontraron que al inicio de la fermentación se desarrollan principalmente alcoholes y ácidos, mientras que aldehídos, pirazinas, furanos y fenoles se desarrollan en menor cantidad. Sin embargo, estas últimas familias de compuestos aumentaron en cantidad y concentración al final del proceso.

Al final de la fermentación y durante la fase aerobia, las bacterias *Bacillus subtilis*, *B. cereus* y *B. megaterium* producen ácidos grasos de cadena corta (C3, C4 y C5). Estos ácidos contribuyen al desarrollo de algunos olores desagradables en el chocolate. Otros compuestos generados por dichos microorganismos con efecto en el olor y aroma del chocolate son: ácido acético, 2,3-butanediol y tetrametilpirazina (Schwan y Wheals, 2004; Thompson *et al.*, 2001).

Algunos compuestos volátiles pueden ser utilizados como indicadores del grado de fermentación del cacao. Oberparleiter y Ziegleder (1997), propusieron una relación entre aldehídos-alcoholes amílicos y acetatos de alcoholes amílicos para evaluar el grado de fermentación. Ellos sugirieron que una relación de metil-1-butanol acetato: metil-1-butanol mayor de 1.5 es indicativo de que el cacao fue sobre fermentado. Además, de que concentraciones altas de ácidos volátiles de cadena corta como: propanoico, isovalérico e isobutírico en el cacao fermentado pueden indicar sobre fermentación. Estos ácidos producen notas aromáticas asociadas a olores desagradables como son: rancidez, humedad, queso madurado, picantes y a grasas. Por tal motivo, su presencia en concentraciones altas es indeseable en el grano de cacao y en sus productos (Acosta *et al.*, 2001).

2.14. Secado del cacao

Después de la fermentación, la siguiente etapa en el procesamiento del grano de cacao es el proceso de secado. Durante el secado continúan las reacciones iniciadas en la fermentación, además se reduce el contenido de humedad del grano, evitando el desarrollo de hongos y facilitando el almacenamiento, manejo y comercialización del cacao (Ortiz *et al.*, 2009). Tradicionalmente, el secado del cacao se lleva a cabo por exposición de los granos al sol o por métodos de secado artificial en secadores tipo Samoa.

El secado al sol es considerado como el mejor método para obtener el máximo desarrollo de sabor (Jinap *et al.*, 1994). Sin embargo, este método presenta desventajas por los tiempos largos y las labores requeridas, además de producir cacao de calidad heterogénea durante la temporada de lluvias (Guehi *et al.*, 2010). Esto ha inducido a buscar algún método de secado alternativo como es el secado artificial (Páramo *et al.*, 2010). Sin embargo, se han encontrado diferencias entre cacao secado al sol y el secado de forma artificial. García *et al.*, (2007), encontraron que el cacao secado de forma artificial presentó mayor acidez que el secado al sol, además de que la reducción del contenido de ácidos grasos volátiles en el secado artificial fue menor que en el secado al sol. Este fenómeno probablemente es debido a que los ácidos grasos volátiles presentan más baja difusividad que el agua y a que la testa del grano se endurece durante el secado, disminuyendo la transferencia de masa.

Sin embargo, otros autores reportaron que en cacao fermentado durante 6 días y posteriormente secado al sol y de forma artificial no se encontraron diferencias significativas en el contenido de acidez volátil y en el pH (Guehi *et al.*, 2010).

El secado artificial se realiza con temperaturas superiores a los 60°C para acelerar el proceso. Además, se ha reportado que con altas temperaturas de secado se producen efectos negativos en la calidad del cacao (Hii *et al.*, 2009).

2.15. Comportamiento de los compuestos no-volátiles durante el secado

El proceso de secado termina cuando el contenido de humedad en el grano es menor al 8%. Durante el secado, el sabor (olor, aroma, gusto y sensaciones trigeminales) y el color continúan desarrollándose. Paralelamente, se presentan reacciones debidas al tratamiento térmico como la degradación de Strecker vía la reacción de Maillard. En las que intervienen compuestos precursores del sabor como los azúcares reductores (glucosa y fructosa) y aminoácidos libres para producir diferentes compuestos como pirazinas y aldehídos (Afoakwa, 2010). Además, se producen reacciones de oxidación de los compuestos fenólicos, causadas por la actividad de la enzima polifenoloxidasas

sobre catequinas y leucocianidinas. Esta oxidación genera una disminución en los niveles de astringencia y del gusto amargo, así como un desarrollo del color café característico del cacao (Jinap *et al.*, 1994). Además, durante este proceso el grado de acidez del grano disminuye y el pH aumenta, debido a que los ácidos volátiles carboxílicos de cadena corta se volatilizan, reduciéndose el gusto ácido (Jinap *et al.*, 1994; Ortiz *et al.*, 2009).

Un color café característico, un bajo nivel de astringencia y de gusto amargo, además de la ausencia de olores desagradables como notas a humo y acidez excesiva, son indicadores de un secado adecuado del grano de cacao (Afoakwa *et al.*, 2008b; Jinap *et al.*, 1994). Contrariamente, un secado incompleto resulta en una alta actividad de agua y en una contaminación por hongos, produciéndose olores desagradables que han sido relacionados con sobre fermentación (Beckett, 2000).

2.16. Desarrollo de la fracción volátil del cacao durante el secado.

Portillo *et al.*, (2009), encontraron 121 compuestos volátiles en el cacao Criollo fermentado y secado al sol. Las familias de ésteres, aldehídos, cetonas, alcoholes y ácidos presentaron la mayor cantidad de compuestos. Por su parte, los hidrocarburos, pirazinas y furanos mostraron 7 compuestos volátiles por cada familia. Finalmente, pirroles, furanos, terpenos, fenoles y oxazoles presentaron menos de 6 compuestos. Frauendorfer y Schieberle, 2008, reportaron cantidades menores de alcoholes (9), aldehídos y cetonas (11), ésteres (4), ácidos (6) y pirazinas (6) en cacao Criollo fermentado y secado.

Aculey *et al.*, (2010), mencionan que cacao con menos de 24 horas de fermentación y secado presentó altas concentraciones de 2-metilpropanal, 2,3-butanediona, 2-pentanol, acetato de metilo, 2-heptanona, 2-pentilpropanoato, 1-pentanol, 2-metilbutanal, 3-metilbutanal, tetrahidro-2-metilfuran, 2-metil-1-propanol y acetato de etilo. Mientras que el cacao con más de 72 horas de fermentación presentó altas concentraciones de ácido propanoico, oxido de linalool (alcohol furfurílico), acetoína, ácido 2-metilpropanico (ácido isobutírico), 1-hidroxi-2-propanona, ácido 3-metilbutanoico (ácido isovalérico), ácido acético, 2-fenietil acetato, 2,3,5,6-tetrametilpirazina, 2-pentil acetato, benzaldehído, 2,3,5-trimetilpirazina, 2-fenietil alcohol, 3-metil-1-butanol acetato y linalool.

2.17. Procesamiento del cacao

La transformación industrial de las almendras de cacao consta de una variedad de operaciones, que persiguen la obtención de diferentes tipos de productos. En este sentido, existen dos clases de procesado del grano de cacao: aquellos que producen productos para la confitería, la fabricación de chocolates y otros subproductos derivados del cacao, y los que se destinan a constituir materia prima para la industria alimentaria y farmacéutica. Otra manera de catalogarlos es como: industriales molineros y fabricantes de chocolate. En el caso específico de la molinera, ésta se dedica a la elaboración únicamente del licor de cacao, manteca de cacao y polvo de cacao (Liendo, Rigel J, 2004). El Beneficio del Cacao. Revista Digital CENIAP HOY No. 5.

La Figura 6 muestra los factores que influyen durante el procesamiento del cacao y a su vez los factores determinantes para su correcta manufactura.

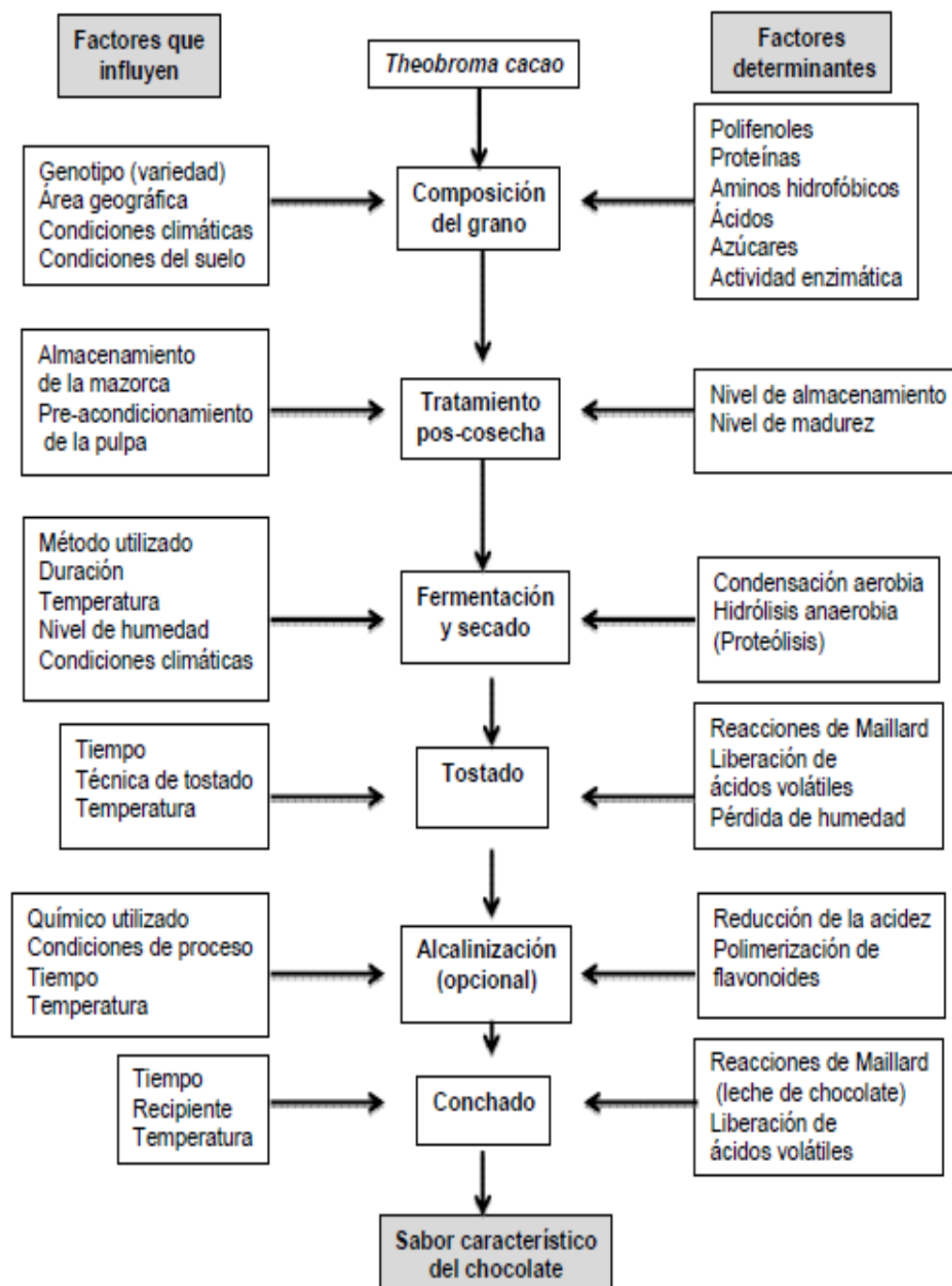


Figura 6. Proceso del cacao

Las tecnologías que existen para la transformación de los granos de cacao en sus diferentes subproductos son diversas, pero muchas de esas tecnologías asociadas al procesamiento del cacao, continúan siendo en algunos aspectos confidenciales. Para la elaboración de chocolate no se ha desarrollado ningún procedimiento completamente uniforme, admitido para todas las empresas. Muchas de las tecnologías de elaboración se encuentran en un estado empírico. Sin embargo, existen rangos operativos comunes y básicos que son compartidos por las empresas molineras de cacao y de manufactura de chocolate.

La Figura 7 muestra un diagrama del proceso, donde destacan sólo las operaciones tradicionales en la manufactura del cacao.

Seguidamente se describen en forma resumida algunas de las operaciones esenciales realizadas en las industrias procesadoras de cacao y sus productos derivados

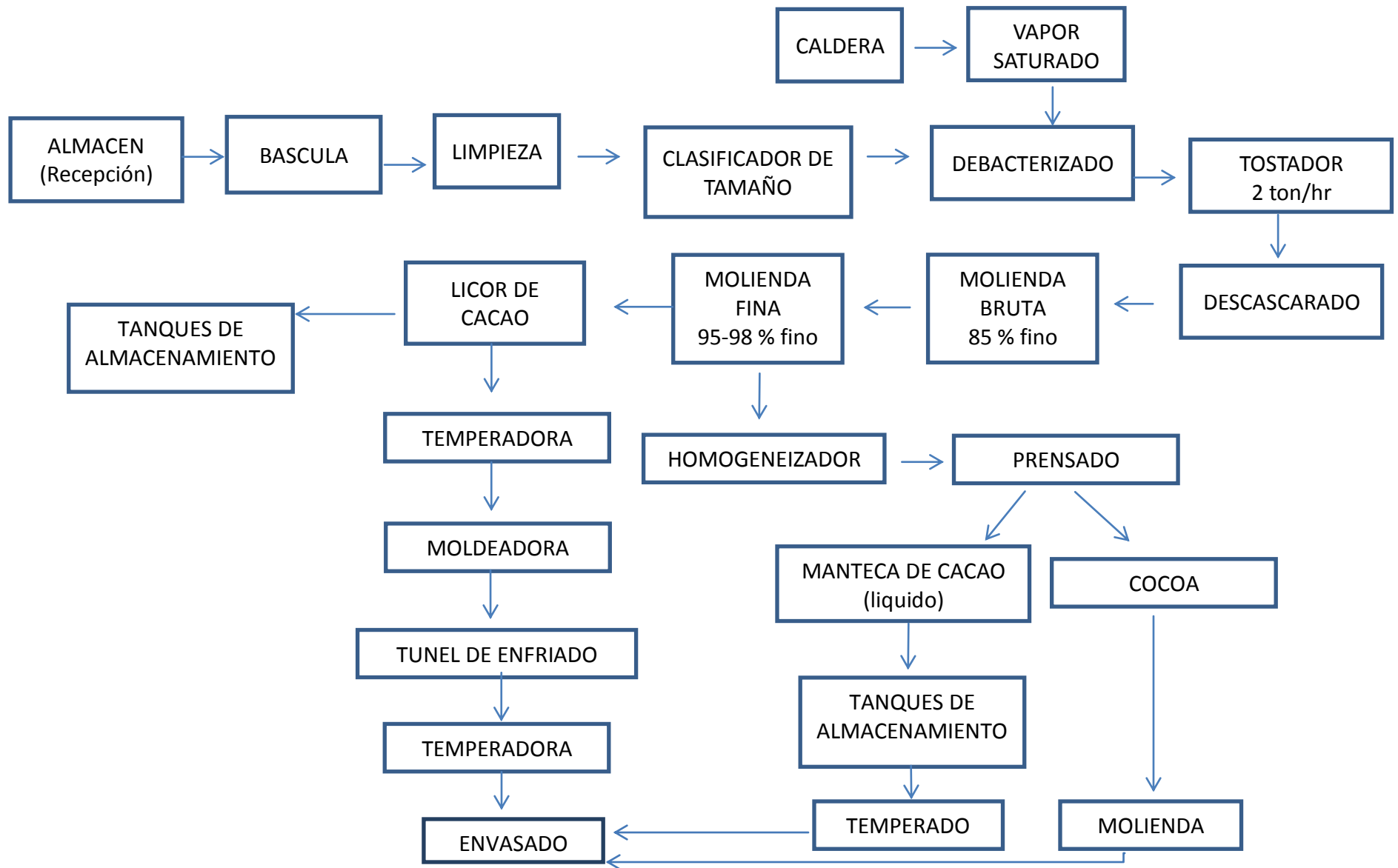


Figura 7. Diagrama de procesamiento del cacao (Afoakwa, 2010).

2.17.1. **Aceptación / recepción**

En esta operación se trata de garantizar que las especificaciones de calidad de la materia prima cumplan con la exigencia de la industria procesadora, antes de ser aceptada para su procesamiento. Las almendras de cacao que superan las pruebas son seleccionadas y, casi inmediatamente, transformadas, o por el contrario se almacenan para un uso posterior. Previo a su almacenamiento, se aplica un tratamiento de fumigación que garantiza su permanencia durante varios meses sin que ocurran alteraciones.

2.17.2. **Pesado y Limpieza**

La primera etapa en el procesamiento del cacao es el pesado, el cual implica garantizar un peso uniforme antes de entrar a ´proceso, inmediatamente se hace una limpieza la cual consiste en eliminar cuerpos extraños, como: metales, piedras, trozos de madera, vidrios, entre otros. Luego de esta operación es posible que aún queden residuos, los cuales se eliminan posteriormente en forma manual.

2.17.3. **Clasificación de tamaño**

Su utilidad radica en separar granos de cacao de acuerdo a su peso por gravedad así mismo separa los defectos de forma rápida y mejorar la calidad del producto.

2.17.4. **Debacterizado.**

Esta operación implica la correcta inocuidad al inicio del proceso dando como resultado una reducción de la carga microbiana lo cual garantiza que los granos serán procesados sin riesgo sanitario utilizando una caldera para generar vapor saturado en un recinto cerrado.

2.17.5. Tostado

El tostado es la operación esencial donde primariamente, a partir del contenido de humedad natural, en combinación con el calentamiento, se promueve un conjunto de reacciones químicas, en las cuales intervienen los compuestos precursores formados durante la fermentación y el secado, que luego darán origen al sabor y aroma inicial del chocolate (Afoakwa *et al.*, 2008b). Luego darán origen al sabor y aroma inicial del chocolate (Afoakwa *et al.*, 2008b). Las condiciones de temperatura-tiempo en esta etapa oscilan de 121 a 200 °C durante 20 y 30 minutos de acuerdo a la NOM-186-SSA1/SCFI-2013 y NMX-F-093-SCFI-2014 para garantizar la eliminación de la bacteria *Clostridium botulinum*. Sin embargo, el buen sabor y aroma depende mucho de la variedad de cacao que proporcionó las almendras y de la manera como se realizó el proceso de fermentación y secado.

Antes del tostado el grano de cacao es ácido, amargo y astringente. Sin embargo, durante el tostado la acidez del grano disminuye al reducirse la concentración de ácidos volátiles tales como el acético (Beckett, 2000). Frauendorfer y Schieberle (2006), encontraron que durante el tostado la concentración de ácido acético disminuyó aproximadamente el 70%, y que el aroma del cacao tostado no fue dominado por la nota a vinagre. Inversamente, la concentración de ácidos no volátiles como son oxálico, cítrico, tartárico, succínico y láctico no es afectada por el proceso de tostado (Jinap *et al.*, 1998). Durante el tostado, el cacao disminuye su humedad hasta el 2%, se hace más quebradizo y de color oscuro, además los aminoácidos y azúcares reductores interactúan en la reacción de Maillard con la consecuente generación del aroma de origen térmico (Afoakwa, 2010; Brito *et al.*, 2000).

En la reacción de Maillard es donde principalmente se forman los compuestos volátiles durante el tostado (Ziegler y Biehl, 1988) que son los precursores de los sabores generados en la fermentación y secado interactúan para producir compuestos volátiles como alcoholes, éteres, furanos, tiazoles, pirones, ésteres, aldehídos, iminas, aminas, oxazoles, pirazinas y pirroles (Noor-Soffalina *et al.*, 2009).

Compuestos amino y carbonilo producidos a partir de aminoácidos y azúcares reductores son precursores del olor y aroma en el cacao (Noor-Soffalina *et al.*, 2009; Ziegleder *et al.*, 1988). Dichos compuestos participan en la degradación de Strecker formando aldehídos y compuestos heterocíclicos como pirazinas (Afoakwa, 2010; Beckett, 2000).

La leucina y glucosa producen compuestos con notas relacionadas a chocolate y dulce; treonina, glutamina y glucosa generan compuestos con notas a chocolate cuando son calentados a 100 °C. La misma nota es producida por valina y glucosa cuando son calentados a 180 °C (Afoakwa, 2010; Beckett *et al.*, 2008). El desarrollo del aroma de origen térmico es un fenómeno complejo que está en función de la relación de las condiciones de tiempo-temperatura y de la composición química del grano.

2.17.5.1 Comportamiento de los compuestos volátiles durante el tostado

El aroma del cacao tostado es producido como resultado de la combinación de 400-500 compuestos volátiles. Éstos pertenecen principalmente a las familias de las pirazinas, aldehídos, éteres, tiazoles, fenoles, cetonas, alcoholes, furanos y ésteres. Las pirazinas y aldehídos son los compuestos que se forman en mayor cantidad durante el tostado del cacao (Nazaruddin *et al.*, 2005). Además de todos estos grupos de compuestos, Serra-Bonvehí (2005), reportó que en el cacao tostado identificó compuestos de la familia de los oxazoles y pirroles. Nazaruddin *et al.* (2005), encontraron 18 compuestos mayoritarios en cacao (SMC1A) tostado de Malasia. El tostado se desarrolló a diferentes condiciones de tiempo-temperatura (20, 30, 40 y 50 min con 120, 130, 140, 150, 160 y 170 °C).

El grupo de las pirazinas participó con 9 compuestos, seguido por los aldehídos con 4, los alcoholes y ésteres presentaron 2 cada grupo y las cetonas 1. La trimetilpirazina y tetrametilpirazina fueron las pirazinas más abundantes en todas las muestras analizadas y la mayor concentración de estas fue encontrada a las condiciones óptimas de 140 y 160 °C con 40 min, respectivamente. Jinap *et al.* (1998), reportaron que en el tostado de granillo de cacao, la formación de pirazinas aumentó cuando las condiciones de tiempo-temperatura aumentaron. Además, encontraron que tiempos mayores de 25 min con temperaturas superiores a 130 °C fueron favorables para la formación de pirazinas.

Las pirazinas se correlacionan con notas aromáticas a chocolate, tostado, nuez y madera. Estos compuestos se forman durante el proceso de tostado, específicamente en la degradación de Strecker (vía la reacción de Maillard), que consiste en la reacción de un aminoácido con un α -dicarbonilo, para la formación de aminocetona. Éstas por su parte se condensan para formar pirazinas y otros compuestos heterocíclicos.

Cros (2000), afirmó que la tetrametilpirazina también tienen un origen microbiológico, al ser un producto metabólico de *Bacillus subtilis*. Microorganismo que en ocasiones muestra actividad durante la fermentación del cacao, de tal manera que este compuesto tiene dos orígenes: microbiológico y térmico. Serra y Bonvehí (2005), concuerdan con Cros (2000), al afirmar que tetrametilpirazina es biosintetizada durante la fermentación y que otras pirazinas son originadas en la reacción de Maillard durante el tostado.

Por otro lado, las condiciones de tostado de cacao óptimas para generar aldehídos fueron 20-40 min con 150-160°C (Nazaruddin *et al.*, 2005).

Sin embargo, Jinap, *et al.*, (1998), mencionan que los compuestos carbonilos presentan las mayores unidades de área (concentración) a bajas temperaturas (110-120 °C) con tiempos largos de tostado (55-65 min). El benzaldehído y 2-fenilacetaldehído han sido reportados como los aldehídos más abundantes en el cacao tostado (Jinap *et al.*, 1998; Nazaruddin *et al.*, 2005). Nazaruddin, *et al.* (2005) y Jinap, *et al.* (1998), encontraron concentraciones altas de alcoholes a temperaturas bajas de tostado (110-140 °C), sin

embargo, estas concentraciones disminuyeron a temperaturas altas en combinación con tiempos largos de tostado (45-65 min). En el grupo de compuestos identificados como mayoritarios por estos autores, se encuentran dos alcoholes: el linalool y el 2-heptanol. Los alcoholes le proporcionan al cacao tostado notas florales y herbales. Estos compuestos odoríferos son producidos por la degradación térmica de aminoácidos y por la reducción de aldehídos y cetonas (Serra y Bonvehí, 2005).

El grupo funcional de los ésteres es uno de los grupos más importantes en el cacao tostado. Éstos presentan las mayores unidades de área (concentración) a temperaturas altas (160-170 °C) con tiempos cortos (5-15 min) de tostado (Jinap *et al.*, 1998).

Por su parte, Nazaruddin *et al.* (2005), encontraron que la concentración de los ésteres aumentó cuando la relación tiempo-temperatura excedió las condiciones óptimas (sobre tostado). Los ésteres se correlacionan con las notas frutales del cacao tostado (Serra y Bonvehí, 2005).

La calidad aromática del cacao como ya se mencionó anteriormente, depende de diferentes factores y de las condiciones de las etapas de su procesamiento. Todo esto en conjunto genera el perfil de compuestos volátiles que el de cacao aportará al producto final en la etapa de manufactura del chocolate y sus derivados. Durante todas esas etapas, se busca obtener la mayor cantidad y concentración de compuestos volátiles deseables como son: pirazinas, aldehídos, ésteres y alcoholes principalmente y con una menor cantidad de compuestos no deseables como son ácidos de cadena corta y compuestos fenólicos (Serra y Bonvehí, 2005).

2.17.6 Descascarillado

Es el proceso en el que se elimina la cáscara, la cual constituye la cubierta exterior de la semilla del cacao. Indiferentemente de los distintos fines que se persigan con los granos del cacao en la industria, todos deben someterse primero a un proceso de descascarillado antes de que se transformen en pasta o licor de cacao. Existen dos variantes importantes de este proceso. El primero consiste en el tostado previo del

grano junto con su cáscara, a bajas temperaturas, y después, se procede con la eliminación de esta última. En la segunda variante se realiza el descascarillado previo, el secado de los granos, el descascarillado y el proceso de tostado de los cotiledones hasta el punto deseado. Este último proceso se considera más adecuado para el procesamiento de grandes volúmenes de cacao debido a su alta rentabilidad (Beckett ST, 2008).

2.17.7 Molienda

En esta etapa se utiliza un molino de rodillos de entre 10000-12000 rpm para facilitar que las almendras de cacao se muelan para producir el licor de cacao; luego las partículas del cacao son suspendidas en manteca de cacao fundida. La temperatura y la intensidad de la molienda fluctúan, según el tipo de semilla de cacao empleada y de las especificaciones del diseño exigidos para el producto final. El cacao tostado y limpio se muele mediante rodillos; anteriormente se empleaban rodillos fabricados de granito, pero ahora los de acero se usan con mayor regularidad.

Para separar el germen se emplean dispositivos especiales, porque éste tiene un sabor amargo que puede afectar su calidad. La masa o licor de cacao pasa luego a prensas; en esta etapa es cuando se separa la grasa de la masa o licor hasta el porcentaje deseado, y el residuo que se forma durante este proceso es lo que constituye la torta de cacao.

Para producir la torta con diversas proporciones de grasa, el fabricante controla la cantidad de manteca que se extrae del licor. La torta se pulveriza con la finalidad de preparar el polvo de cacao, el cual tiene un uso de muy amplio en la industria alimentaria. Usualmente, el polvo de cacao es saborizado con vainilla, canela, cassia y otras especias en polvo o resinas oleosas. Estos saborizantes se agregan en forma de polvo; sin embargo, el tamaño de sus partículas debe ser mucho menor a las partículas que constituyen el polvo de cacao (Liendo, Rigel J, 2004). El Beneficio del Cacao. Revista Digital CENIAP HOY No. 5.

2.17.8 Prensado

El prensado es una operación mecánica de separación que consiste en aplicar presión sobre la masa de licor para obtener la cocoa, el cual es el producto final en el procesamiento. En esta etapa se utilizan presiones de compresión que van desde 3 -10 toneladas/cm² dependiendo de la cantidad de materia a separar. Se utiliza convencionalmente prensas hidráulicas motorizadas de pistón para ejercer la presión deseada y así garantizar la correcta operación (Liendo, Rigel J, 2004). El Beneficio del Cacao. Revista Digital CENIAP HOY No. 5.

3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La diversificación de productos de cacao como licor, chocolate y cocoa es muy importante para darle valor agregado, sin embargo no existen estudios que potencialicen sus características antioxidantes durante su procesamiento, es por eso que se requiere evaluar el efecto de dicho procesamiento mediante la modificación de las variables de operación en cada una de las etapas de proceso, siendo la temperatura y tiempo de tostado las variables que se consideran con mayor impacto negativo sobre la calidad y actividad antioxidante de los granos de cacao y sus productos, lo cual al conocer las mejores condiciones de proceso, puede ayudar a obtener productos con mayor capacidad antioxidante y un mejor beneficio para el consumidor

4. OBJETIVOS E HIPOTESIS

4.1. Objetivo general

- Evaluar el efecto de las etapas y variables de procesamiento del cacao en la concentración de polifenoles y actividad antioxidante, durante la obtención de licor y cocoa.

4.2. Objetivos específicos

- Obtener a escala de laboratorio a partir del cacao beneficiado licor de cacao y cocoa.
- Evaluar a partir de cacao con diferentes grados de fermentación su efecto en la concentración de polifenoles
- Evaluar la actividad antioxidante por el método de DPPH y FRAP de los diferentes grados de fermentación de los granos durante el procesamiento.
- Seleccionar las variables de procesamiento más importantes para la obtención de productos de cacao con mejor actividad antioxidante.

4.3. Hipótesis

Controlando las variables de procesamiento del cacao en las diferentes etapas del proceso, se puede minimizar la pérdida de polifenoles y disminución o aumento de la actividad antioxidante de la cocoa y licor.

5. MATERIAL Y METODOS

En la figura 8 se presenta el diagrama de trabajo.

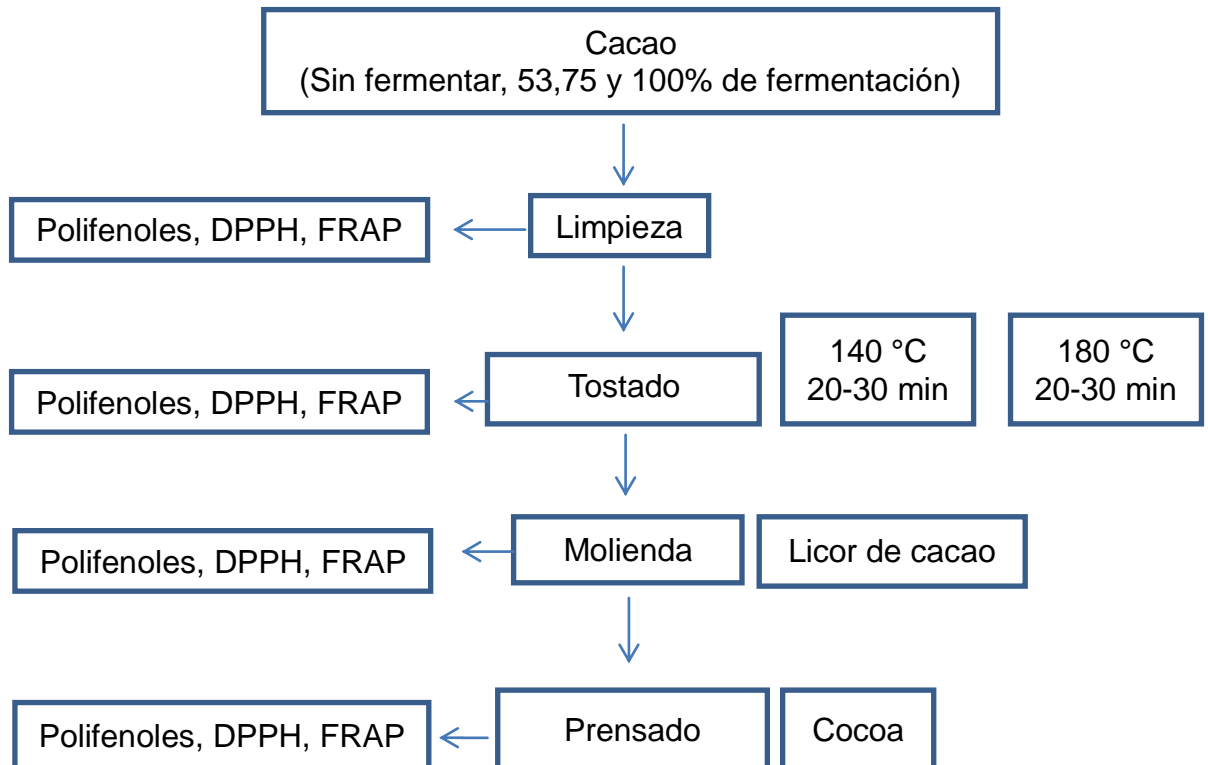


Figura. 8. Diagrama general de trabajo

5.1. MATERIAL BIOLÓGICO

Las muestras de cacao fueron proporcionadas con distintos grados de fermentación (sin fermentar, fermentado a 53, 75 y 100%) por una empresa de la región y trasladados al laboratorio de tecnología de alimentos del Instituto de Ciencias Básicas de la Universidad Veracruzana Campus Xalapa para su posterior procesamiento. Los granos fueron limpiados manualmente para evitar la presencia de impurezas previo al procesamiento. Posteriormente se llevó a cabo el tostado de los granos de los diferentes grados de fermentación bajo las condiciones descritas anteriormente. Seguido se procedió a descascarar los granos tostados y se elaboró el licor mediante el uso de un molino de rodillos a 10000 rpm con un tiempo de 5 minutos aproximadamente. Finalmente, el licor obtenido se depositó en una prensa hidráulica marca Controls® bajo una presión de 5 ton/cm² obteniendo la cocoa como producto final

5.1.1. Caracterización física y química de los granos

5.1.1.1. Humedad. Se determinó por el método gravimétrico (931.04) descrito por la metodología AOAC 1995.

5.1.1.2. Potencial de Hidrógeno. La medición del pH se determinó en un potenciómetro marca OAKTON® de los granos previo y posterior al procesamiento siguiendo los lineamiento de la norma NMX-F-317-S-1978.

5.1.2. Polifenoles totales. De acuerdo al método de Singleton y Rossi, (1965) modificado por Pulido, Bravo y Saura-Calixto, (2000). Se tomaron 1g de muestra y se homogeneizó con una mezcla acidificada de metanol-agua (50:50 v/v) durante 1h con agitación constante, se centrifugó a 3000 rpm y filtró, el residuo se extrajo con una mezcla acetona-agua (70:30 v/v), se centrifugó y filtró, los filtrados se combinaron en un matraz aforado y se llevaron a un volumen de 100 mL con una mezcla (50:50 v/v) de las dos soluciones extractivas. 100 µL del extracto se hicieron reaccionar con 500 µL de reactivo de Folin-Ciocalteu y 500 µL de Na₂CO₃ al 7.5% (p/v) dejándose incubar durante un periodo de 5 minutos en un ambiente ausente de luz. Después se añadieron 3.5 mL de agua destilada y se agitó para posteriormente dejar reposar durante 1 h.

Transcurrido el reposo, se procedió a leer su absorbancia en un espectrofotómetro a una longitud de onda de 760 nm, utilizando como blanco 100 µL de agua destilada, 500 µL de reactivo de Folin-Ciocalteu, 500 µL de Na₂CO₃ al 7.5% (p/v) y 3.5 mL de agua destilada. La cuantificación de polifenoles totales se realizó mediante una curva patrón de ácido gálico en un rango de concentración de 0.1 a 1 mg mL⁻¹. Los resultados se expresaron como equivalentes de ácido gálico (EAG) g/100g de muestra seca.

5.1.3. Determinación de la actividad antioxidante por el método DPPH. Este método evalúa la capacidad antioxidante de la muestra mediante la inhibición del radical DPPH. Su mecanismo de acción consiste en que este radical tiene un electrón desapareado y la sustancia presenta color azul-violeta, decolorándose hacia amarillo pálido por la reacción de la presencia de una sustancia antioxidante, siendo medida espectrofotométricamente a 517 nm. Se tomó como referencia el método descrito por Brand y Williams *et al.* (1995) modificado por Bravo y Saura-Calixto, 2000. Se pesó 24 mg del reactivo DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo) y se diluyó en 100 mL de metanol e incubó por 30 minutos en ausencia de luz. Para el análisis se tomaron los extractos polifenólicos descritos anteriormente. Se ajustó la absorbancia de la solución DPPH a $1.1 \pm .02$ con metanol (solución ST). Después se tomaron 150 μ L de extracto polifenólico y se adicionó 2850 μ L de la solución ST para llevar a volumen de 3 mL y se dejó incubar por 30 minutos. Finalmente se mide la absorbancia de la solución ST al inicio y al término de 30 minutos. Los resultados se reportaron mediante la siguiente ecuación.

$$\% \text{ inhibicion} = \frac{\text{absorbancia inicial} - \text{absorbancia final}}{\text{absorbancia inicial}} \times 100$$

5.1.4. Determinación de la actividad antioxidante por el método FRAP. Este método evalúa la capacidad antioxidante de una muestra de acuerdo con su capacidad para reducir el hierro férrico (Fe^{+3}) presente en un complejo con la 2,4,6-tri(2-piridil)-s-triazina (TPTZ) hasta la forma ferrosa (Fe^{+2}). De acuerdo al método de Benzie y Strain, (1996), para determinar la actividad antioxidante total se tomarán 100 μ L de extracto y se colocan en tubos de ensayo, se mezclan con 3 mL de reactivo de FRAP y se incuban en un baño maría a 37 °C durante 30 min en ausencia total de luz. Posterior a la incubación se determinará su absorbancia a una longitud de onda de 593 nm. Para la preparación del reactivo

de FRAP se mezclan: a) 300 mM de búfer de acetato a pH 3.6 (Pesar 3.1 g de Acetato de Sodio trihidratado y añadir 16 mL de ácido acético glacial y aforar a 1L con agua destilada), b) 10 mM de TPTZ (2, 4, 6-tripiryridyl-s- triazine) en 40 mM de HCl y c) 20 mM $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (Cloruro Férrico hexahidratado) en una relación 10:1:1 respectivamente.

La cuantificación de la actividad antioxidante se realizará mediante una curva estándar de Trolox ($0-1 \mu\text{mol Eq. trolox mL}^{-1}$). El resultado se expresó como micromoles equivalentes de Trolox por gramo en base seca ($\mu\text{mol Eq. Trolox g}^{-1}$ b.s.).

5.1.5. Análisis estadístico.

Se analizaron los datos obtenidos de los diferentes grados de fermentación de los granos en la cuantificación de polifenoles totales y actividad antioxidante por los métodos de DPPH y FRAP mediante anovas de dos vías con prueba de Tukey ($P < 0.05$) en los procesamientos bajo temperaturas de tostado de 140 y 180 °C durante 20 y 30 minutos mediante el software SigmaStat ® 3.5.

6. RESULTADOS Y DISCUSION

Los resultados obtenidos para la caracterización física se muestran en los siguientes cuadros. El cuadro 9 muestra los valores de humedades para granos crudos y tostados a 140 y 180 ° C durante 20 y 30 minutos en los distintos grados de fermentación.

6.1. Humedad.

Cuadro 9. Humedad en granos crudos y tostados a 140 y 180°C durante 20 y 30 minutos.

% Fermentación	% Humedad Crudo	% Humedad Tostado
0	7.8 ± .13 ^a	1.90± .21 ^b
53	7.2 ± .16 ^a	2.18± .17 ^b
75	7.1 ± .18 ^a	2.18± .23 ^b
100	5.4 ± .17 ^c	2.10± .09 ^b

Los datos incluyen el promedio de ambas temperaturas y DE. Letras diferentes indican diferencia significativa entre columnas

El cuadro anterior muestra los valores de humedad en granos crudos y tostados donde no se presentaron diferencias significativas ($P > 0.05$) entre temperaturas de 140 y 180 °C. Se observa que el contenido de humedad en los granos crudos en lo general disminuye con el aumento del grado de fermentación, obteniéndose la menor humedad de 5.4 ± 0.17 g H₂O/g s.s en los granos fermentados al 100% sin embargo, en los granos tostados se observa que la humedad no tuvo diferencia significativa en los diferentes grados de fermentación.

Este parámetro es importante en la calidad del grano ya que una humedad elevada implicaría problemas en la etapa de molido y el producto presentaría propiedades de emulsión, ya que la molienda libera la parte lipófilica del grano

6.2. Potencial de hidrogeno.

El potencial de hidrogeno (pH) indica la acidez o basicidad de una muestra. En el caso del cacao este parámetro indica el poder aromático, es decir, revela si la fermentación se llevó a cabo correctamente dando así una mayor concentración de compuestos volátiles (en su mayoría pirazinas) que al someterse al tostado éstos darán el aroma característico a chocolate, el cual es de importancia en el mercado, ya que al poseer un aroma adecuado eleva la aceptabilidad del producto dándole una categoría de mayor calidad (Meyer *et al.*, 1989). El cuadro 10 muestra los valores de pH en granos crudos y tostados.

Cuadro 10. Potencial de hidrogeno (pH) en granos crudos y etapas de procesamiento a temperatura de tostado de 140 y 180 °C durante 20 y 30 minutos.

Productos	0% fermentación	53% fermentación	75% fermentación	100% fermentación
Crudo	6.70a	6.00b	6.22b	6.09b
Tostado	6.54a	6.04b	5.90c	5.69c
Licor	6.74a	6.07b	6.13b	5.82c
Cocoa	6.72a	6.05b	6.14b	5.80c

Los datos incluyen el promedio de ambas temperaturas. Letras diferentes indican diferencia significativa entre columnas.

El cuadro anterior muestra los valores de pH en granos crudos, granos tostados y licor de granos tostados, donde no se presentaron diferencias significativas ($P > .05$) entre temperaturas de 140 y 180 °C. Los valores de pH varían de acuerdo al grado de fermentación, esto se debe al proceso fermentativo en el cual los azúcares se sintetizan en alcoholes y a su vez en ácido acético, lo cual el producto presenta mayor acidez. (Schwan *et al.*, 1990). Los granos fermentados al 100% presentaron mayor acidez en

comparación con los demás grados de fermentación, esto se atribuye a que en una fermentación completa se genera mayor cantidad de ácido acético y la testa o cascara es permeable a este compuesto que modifica la estructura interna del embrión concordando con Schwan *et al.*, (1990) que reportó que el descenso del pH es atribuible a la oxidación del etanol a ácido acético. Los granos sin fermentar cuantificaron un valor de pH alrededor de 6.7, esto se debe a que un grano sin fermentar no genera ácido acético y su acidez se mantiene estable durante el procesamiento. Los granos fermentados al 53 y 75% obtuvieron valores intermedios de 5.9- 6.0 en la escala de pH atribuyéndose una mayor calidad aromática, esto concuerda con Meyer *et al.*,(1989) que estudiaron que el poder aromático del cacao se incrementa en el intervalo de pH 5.6 - 6.0.

6.3. Polifenoles totales.

La cuantificación de polifenoles totales en los granos crudos se presentó con mayor cantidad en granos con 100% de fermentación, seguido por granos al 75 % y sin fermentar. Los granos con 53% de fermentación cuantificaron el valor más bajo. La Figura 9 muestra la relación de la fermentación y la concentración de polifenoles totales en granos crudos.

Concentración de polifenoles totales

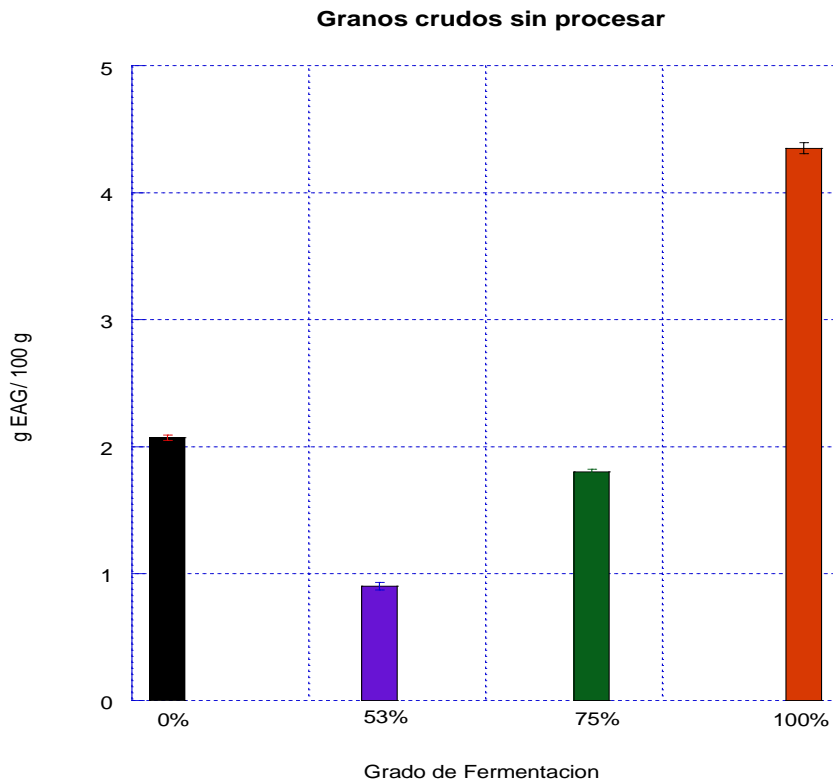


Figura 9. Concentración de polifenoles totales en granos crudos.

El efecto de la fermentación sobre la concentración de polifenoles totales no fue uniforme, se observaron cambios positivos y negativos dependiendo del grado al que fueron sometidos los granos. Como se observa en la Figura 9, la mayor concentración de polifenoles correspondió a granos 100% fermentados cuantificando un valor de 4.35 g EAG/ 100g, seguido por granos 75% fermentados con 1.8 g EAG/100g, granos sin fermentar con 2.07 g EAG/100g y por último granos 53% fermentados con 1.18 g EAG/100g, no presentando diferencias significativas ($P < .05$) entre granos sin fermentar y fermentados a 75%. Estos resultados indican que una fermentación al 53% es perjudicial a la concentración de polifenoles, ya que al fermentar a este grado no permite que la hidrólisis se lleve a cabo y se presenta polimerización oxidativa que reduce la disponibilidad de los compuestos fenólicos presentes en el grano (Thompson *et al.*, 2001). Ramírez *et al.*, (2013) reportaron valores de $6.6 \pm .03$ g EAG/100g para

granos con valor de pH entre 5.5 -5.9 que corresponde a un alto grado de fermentación lo que conlleva a presentar mayor cantidad de polifenoles totales debido a la hidrólisis que sufre el grano durante el proceso de fermentación y es punto de partida para conocer el comportamiento de dichos compuestos.

6.3.1. Polifenoles totales en las etapas de procesamiento

Durante la etapa de tostado la cuantificación de polifenoles se vio afectada, esta atribución es debido a la temperatura y el tiempo que son expuestos los granos. La Figura 10 muestra el porcentaje de cambio en la concentración de polifenoles totales durante el procesamiento bajo una temperatura de tostado de 140 °C durante 20 minutos.

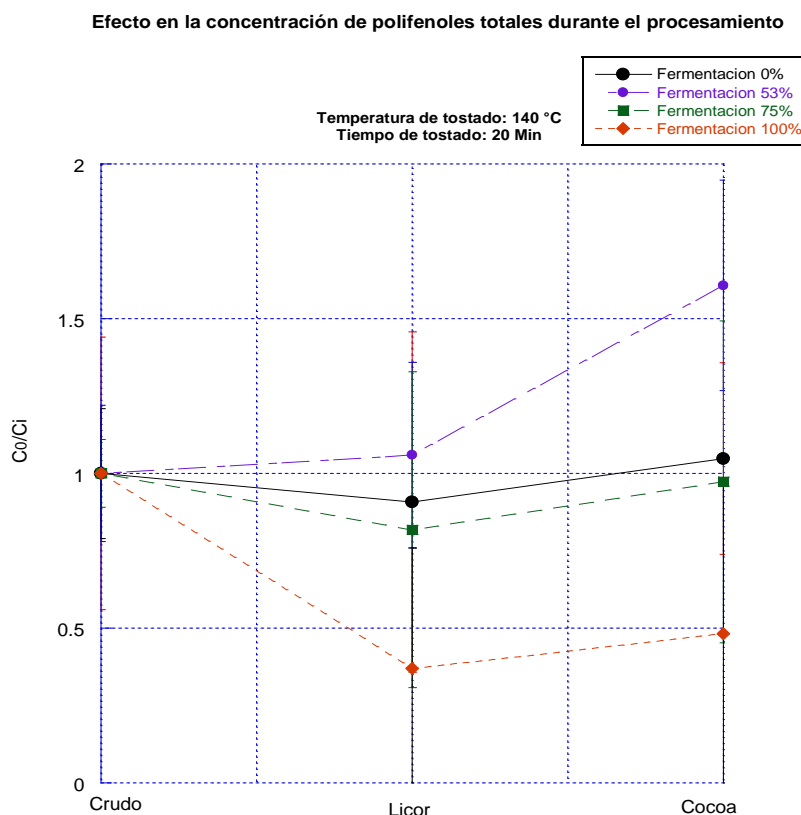


Figura 10. . Porcentaje de cambio en la concentración de polifenoles totales durante el procesamiento bajo una temperatura de tostado de 140 °C durante 20 minutos.

En la Figura 10 se muestra el efecto del grado de fermentación con respecto al porcentaje de cambio en la concentración de polifenoles totales durante el procesamiento efectuado bajo temperatura de tostado de 140 °C y tiempo de 20 minutos. Se aprecia que el efecto del procesamiento no fue homogéneo para los distintos grados de fermentación de los granos. Se observa que el grano fermentado a 53% presentó una correlación positiva ($R=0.90686$) entre etapa de grano crudo, molienda (licor) y prensado (cocoa) con la concentración de polifenoles totales en comparación de los demás grados de fermentación, esto se traduce que durante el procesamiento la concentración de polifenoles totales del grano fermentado a 53% aumenta hasta en un 60% con respecto al grano crudo, sin embargo presentó la más baja concentración durante el procesamiento con respecto a los demás grados de fermentación.

En la etapa de tostado, el contenido de polifenoles osciló en un rango de 0.94 a 1.46 g EAG/100g. La mayor concentración la exhibieron los granos fermentados a 75% con $1.46 \pm .002$ g EAG/100g, seguidos por granos fermentados a 100% con $1.44 \pm .004$ g EAG/100g, granos sin fermentar con $1.32 \pm .005$ g EAG/100g, y granos fermentados a 53 % con $0.94 \pm .004$ g EAG/ 100g. No presentaron diferencias significativas ($P>.05$) los granos tostados sin fermentar y fermentados a 100%, en comparación con los granos tostados a 53 y 75% que presentaron diferencias significativas ($P<.05$) con respecto a los anteriores. Estos resultados presentan una similitud a los reportados por Chávez y Ordoñez, (2013) que encontraron que el contenido de polifenoles totales en granos crudos es superior que en los granos tostados, la cual fue de 6,394 g EAG/100 g en granos crudos y en granos tostados a 120 °C fue de 4,036 g EAG/100 g, los cuales presentaron una degradación menor durante el tostado y por ende mayor concentración de polifenoles debido a que fueron sometidos a una temperatura inferior a la utilizada en este proyecto. Estos también concuerdan con Arlorio *et al.*, (2007) que encontraron que el contenido de polifenoles disminuye en la etapa de tostado a 100 y 130 °C en un rango de 32 y 55 % respectivamente.

Esta disminución se debe al efecto de la temperatura en los compuestos fenólicos, ya que son susceptibles a altas temperaturas y presentan degradaciones que reducen la disponibilidad de éstos (Suazo *et al.*, 2014).

En la etapa de molienda (licor), la mayor concentración la presentaron los granos sin fermentar y fermentados a 75% con 1.80 y 1.88 ± .004 g EAG/100 g respectivamente, seguidos por granos fermentados a 100% con 1.61 ± .002 g EAG/100 g y granos fermentados a 53% con 1.25 ± .007 g EAG/100 g, no presentando diferencias significativas ($P>0.05$) los granos molidos a 75 % con respecto a granos sin fermentar. Se presentaron diferencias significativas ($P<0.05$) entre granos molidos sin fermentar con molidos a 53 y 100% de fermentación, entre granos molidos a 53 % con granos molidos a 75 y 100% de fermentación.

Estos resultados presentaron una tendencia similar encontrada por Wollgast y Anklam (2004) que reportaron que el contenido de polifenoles después del tostado es inferior al presente en el licor. Los valores obtenidos en este proyecto fueron superiores a los reportados por Miller., (2006) para licor (1.2 -1.5 g EAG/100g), similares a los encontrados por Vinson *et al.*, (1999) (3 g EAG/100 g) pero inferiores a los obtenidos por Luna. (2002) (5.3-6.6 g EAG/100g).

En la etapa de prensado se observó un ligero incremento en la concentración de polifenoles totales con respecto a la etapa de molienda (licor), esto debido a que este producto representa la parte soluble del grano y facilita la cuantificación de polifenoles totales. En todos los grados de fermentación, excepto los granos fermentados a 100%, se observó la mayor concentración de polifenoles totales con valores de entre 2.01 y 2.17 g EAG/100 g, siendo la cocoa del grano fermentado a 75% quien obtuvo la mayor concentración de polifenoles totales, no se presentando diferencias significativas ($P>0.05$).

Vertuani *et al.*, (2013) reportaron valores para cocoas de diferentes países que son Costa Rica con $3.09 \pm 1.49\text{g EAG}/100\text{g}$, Ecuador con $3.67 \pm 1.54\text{g EAG}/100\text{g}$ y Perú con $3.21 \pm 1.32\text{g EAG}/100\text{g}$, reflejando que la cantidad de polifenoles totales varia en el país de cultivo del cacao aun procesando bajo condiciones similares, siendo estos valores superiores a los encontrados en esta investigación

La Figura 11 muestra el porcentaje de cambio en la concentración de polifenoles totales durante el procesamiento bajo una temperatura de tostado de $140\text{ }^\circ\text{C}$ durante 30 minutos.

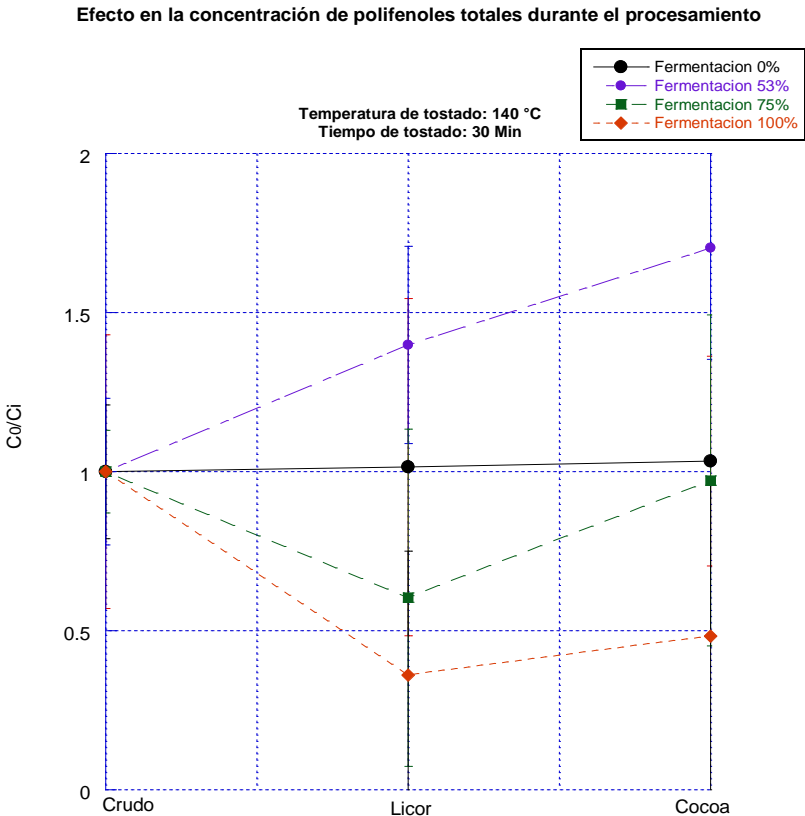


Figura 11. . Porcentaje de cambio en la concentración de polifenoles totales durante el procesamiento bajo una temperatura de tostado de $140\text{ }^\circ\text{C}$ durante 30 minutos.

En la Figura 11 se muestra el efecto del grado de fermentación con respecto al porcentaje de cambio en la concentración de polifenoles totales durante el procesamiento efectuado bajo temperatura de tostado de 140 °C y tiempo de 30 minutos. Se aprecia que los granos sin fermentar y fermentados a 53% presentaron correlación positiva entre etapa de grano crudo, molienda (licor) y prensado (cocoa) con la concentración de polifenoles totales en comparación con los granos fermentados a 75 y 100%. Esto se traduce que durante el procesamiento la concentración de polifenoles totales del grano fermentado a 53% aumenta hasta en un 60% con respecto al grano crudo. El grano sin fermentar presentó un mínimo aumento con respecto al grano crudo durante el procesamiento, no presentando diferencias significativas ($P > 0.05$) entre grano crudo, licor y cocoa.

La concentración de polifenoles totales durante el tostado osciló entre 0.68 y 0.86 g EAG/ 100 g. La mayor concentración la obtuvieron los granos sin fermentar y fermentado a 100% con valores de 0.86 y $0.83 \pm .001$ g EAG/ 100 g respectivamente. No presentaron diferencias significativas ($P > .05$) los granos fermentados a 53 y 75% pero si en comparación con granos sin fermentar y fermentados a 100%. Estos valores son muy inferiores a los reportados por Chávez y Ordoñez, (2013) que cuantificaron para granos tostados a 120° C un valor de $4.036 \pm 0,105$ g EAG/100 g. En la etapa de molienda se apreció una mayor concentración de polifenoles con respecto a la etapa de tostado.

En la etapa de molienda se cuantificó un aumento en la concentración de polifenoles con respecto a la etapa de tostado. La mayor concentración la presentaron los granos sin fermentar con $2.10 \pm .005$ g EAG/100 g, seguidos por granos fermentados a 53 y 100% con 1.65 y $1.57 \pm .010$ g EAG/100 g respectivamente, y por ultimo granos fermentados a 75% con $1.33 \pm .009$ g EAG/100 g. Estos valores son muy inferiores a los reportados por Chávez y Ordoñez, (2013) que cuantificaron para en la etapa de molienda (licor) $5,689 \pm 0,153$ g EAG/100 g. Esta tendencia coincide nuevamente con la tendencia encontrada por Wollgast y Anklam, (2004) que cuantificaron mayor concentración de polifenoles que en la etapa de tostado. Se presentaron diferencias significativas ($P < .05$) entre los diversos grados de fermentación de los granos.

En la etapa de prensado se cuantificaron valores ligeramente superiores a los registrados en la etapa de molienda, esto se puede deber a que durante el prensado se separa la parte soluble del grano y presenta una mayor concentración de polifenoles. Los granos sin fermentar y fermentados a 75% presentaron la mayor cuantificación con valores de 2.17 y $2.14 \pm .002$ g EAG/100 g respectivamente, seguidos por granos fermentados a 100 y 53% con 2.10 y $2.01 \pm .001$ g EAG/100 g respectivamente. No presentaron diferencias significativas ($P > 0.05$) en esta etapa de procesamiento. Comparando nuevamente estos valores con Vertuani *et al.*, (2013) que reportaron valores para cocoas de diferentes países que son Costa Rica con 3.09 ± 1.49 g EAG/100g, Ecuador con 3.67 ± 1.54 g EAG/100g y Perú con 3.21 ± 1.32 g EAG/100g, reflejando que la cantidad de polifenoles totales varía en el país de cultivo del cacao aun procesando bajo condiciones similares siendo estos valores superiores a los encontrados en esta investigación.

La Figura 12 muestra el porcentaje de cambio en la concentración de polifenoles totales durante el procesamiento bajo una temperatura de tostado de 180 °C durante 20 minutos.

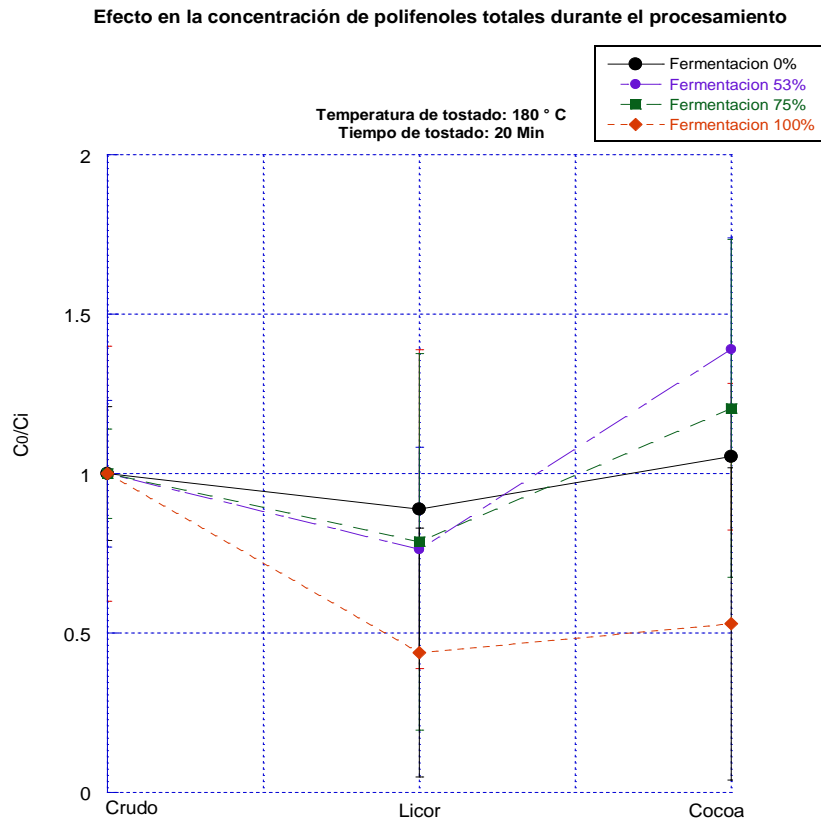


Figura 12. . Porcentaje de cambio en la concentración de polifenoles totales durante el procesamiento bajo una temperatura de tostado de 180 °C durante 20 minutos.

En la Figura 12 se muestra el efecto del grado de fermentación con respecto al porcentaje de cambio en la concentración de polifenoles totales durante el procesamiento efectuado bajo temperatura de tostado de 180 °C y tiempo de 20 minutos, la cual muestra que durante la etapa de molienda (licor) la concentración de polifenoles totales se ve disminuida en todos los grados de fermentación y no presentando diferencias significativas ($P > 0.05$) entre granos sin fermentar, fermentados a 53 y 75%.

Los valores máximos en la etapa de tostado lo obtuvieron los granos fermentado a 100% con $1.57 \pm .008$ g EAG/100 g, seguido por los granos fermentado a 75% con $1.01 \pm .003$ g EAG/100 g y finalmente con 0.88 y $0.63 \pm .001$ g EAG/100 g los granos sin fermentar y fermentados a 53% respectivamente. Todos los grados de fermentación de los granos tostados presentaron diferencias significativas ($P < .05$) durante esta etapa de procesamiento. Cadena y Herrera (2008) cuantificaron valores de 2.9 g EAG/ 100g para granos tostados a 160 °C. Estos autores concluyen que este efecto se puede deber a que durante el tostado de los granos sufren degradación debido al efecto de la temperatura.

En la etapa de molienda, los valores de polifenoles totales se incrementaron en comparación con la etapa de tostado, evidenciando una tendencia de degradación e incremento. Los granos fermentados a 100% cuantificaron la mayor concentración de polifenoles totales con $1.91 \pm .007$ g EAG/100 g, los granos sin fermentar con $1.84 \pm .005$ g EAG/ 100 g, granos fermentado a 75% con $1.73 \pm .005$ g EAG/ 100 g y con la menor cuantificación los granos sin fermentar con $0.90 \pm .010$ g EAG/ 100 g. No se presentaron diferencias significativas ($P > 0.05$) para granos sin fermentar, fermentados a 53 y 100%. Estos valores son menores a los reportados por Cadena y Herrera (2008) que obtuvieron en la etapa de molienda (licor) 3.5 ± 0.21 g EAG/100g. Los diferentes grados de fermentación de los granos tostados y molidos presentaron diferencias significativas ($P < .05$) durante estas etapas de procesamiento. Adamson *et al.*, (1999) indicaron que las diferencias en la composición y cantidad de polifenoles puede explicarse por las diferencias en los métodos de manufactura que pueden causar alteraciones químicas en el contenido de antioxidantes.

En la etapa de prensado se cuantificaron valores mayores en la concentración de polifenoles totales con respecto a la etapa de molienda polifenoles. En esta etapa los granos fermentados a 75% cuantificaron un valor de $2.64 \pm .001$ g EAG/100 g siendo estos lo de mayor concentración, seguidos por los granos fermentados a 100% con $2.3 \pm .002$ g EAG/100 g, con $2.18 \pm .003$ g EAG/100 g se muestran los granos sin fermentar y presentando la menor concentración los granos fermentados a 53% con $1.64 \pm .001$ g EAG/100 g. Los diferentes grados de fermentación de los granos molidos y prensados

presentaron diferencias significativas ($P < .05$) durante estas etapas. No se presentaron diferencias significativas ($P > 0.05$) de los diferentes grados de fermentación de los granos durante la etapa de prensado.

Estos resultados de incremento se pueden atribuir a los compuestos solubles, ya que al ser separados de la matriz del grano tostado y molido favorecen la cuantificación de polifenoles totales presentes dando como resultado una mejor evaluación de dichos compuestos presentes al final del proceso. No hay reportes de evaluación de polifenoles en la etapa de prensado bajo estas condiciones.

La Figura 13 muestra el porcentaje de cambio en la concentración de polifenoles totales durante el procesamiento bajo una temperatura de tostado de 180 °C durante 30 minutos.

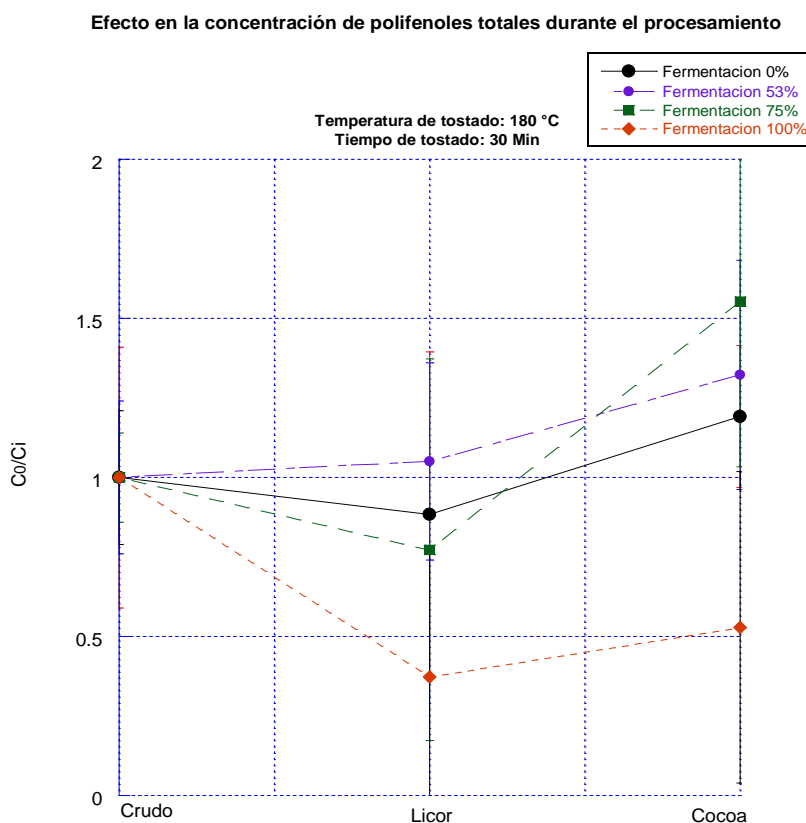


Figura 13. Porcentaje de cambio en la concentración de polifenoles totales durante el procesamiento bajo una temperatura de tostado de 180 °C durante 30 minutos.

En la Figura 13 se muestra el efecto del grado de fermentación con respecto al porcentaje de cambio en la concentración de polifenoles totales durante el procesamiento efectuado bajo temperatura de tostado de 180 °C y tiempo de 30 minutos.

Se puede apreciar que el grano fermentado a 53% presenta una correlación positiva ($R=0.92992$) entre etapa de grano crudo, molienda (licor) y prensado (cocoa) con la concentración de polifenoles totales en comparación con los demás grados de fermentación. Sin embargo cuantificó la más baja concentración en comparación con los demás grados de fermentación en las etapas del procesamiento.

Durante la etapa de tostado la concentración de polifenoles totales se ve disminuida debido al tratamiento. Los valores fueron similares entre los diferentes grados de fermentación de los granos. La mayor concentración de polifenoles se reportó para granos sin fermentar y fermentados a 100% con valores de 1.17 y $1.15 \pm .002$ g EAG/100 g respectivamente. No se presentaron diferencias significativas ($P>0.05$) entre los granos sin fermentar y fermentados a 100%, pero si se presentaron diferencias significativas ($P<0.05$) entre granos fermentados a 53%, granos fermentados sin fermentar, fermentados a 75% y 100%.

En la etapa de molienda los valores fueron superiores con respecto a los obtenidos en la etapa de tostado. Con $1.83 \pm .005$ g EAG/100 g se cuantificó la mayor concentración perteneciente a los granos sin fermentar, seguido con $1.70 \pm .009$ g EAG/100 g los granos fermentados a 75%, los granos fermentados a 100% con $1.62 \pm .007$ g EAG/100 g y finalmente con $1.24 \pm .010$ g EAG/100 g los granos fermentados a 53%. Estos valores son menores a los reportados por Cadena y Herrera (2008) que obtuvieron en la etapa de molienda (licor) 3.5 ± 0.21 g EAG/100g. Se presentaron diferencias significativas ($P<0.05$) entre los diferentes grados de fermentación de los granos durante esta etapa de procesamiento.

Esta tendencia de incremento nuevamente coincide con Wollgast y Anklam (2004) que reportaron incremento en la cuantificación de polifenoles totales entre la etapa de tostado y molienda. Este efecto se debe a que al moler los granos los compuestos inmersos dentro del cotiledón se liberan hacia el exterior favoreciendo una mayor cuantificación de polifenoles.

Durante la etapa de prensado se ve más favorecida la liberación de polifenoles totales provenientes de la etapa de molienda, ya que existe una separación de los compuestos solubles, dando como resultado un incremento en la cuantificación de polifenoles totales. En esta etapa los granos fermentados a 75% obtuvieron la mayor concentración con $2.64 \pm .009$ g EAG/100 g, los granos fermentados a 100% y sin fermentar cuantificaron valores similares de 2.3 y $2.18 \pm .004$ g EAG/100 g respectivamente.

Los granos fermentados a 53% obtuvieron la cuantificación más baja en esta etapa con $1.24 \pm .010$ g EAG/ 100 g. No se presentaron diferencias significativas ($P > 0.05$) entre granos sin fermentar y fermentados a 100%, pero si se presentaron diferencias significativas ($P < 0.05$) con respecto a granos fermentados a 53 y 75% durante esta etapa de procesamiento. No hay reportes sobre cuantificación de polifenoles totales en etapa de prensado bajo estas condiciones.

6.4. Actividad antioxidante por DPPH

La Figura 14 muestra el porcentaje de inhibición del radical DPPH en granos crudos antes del procesamiento

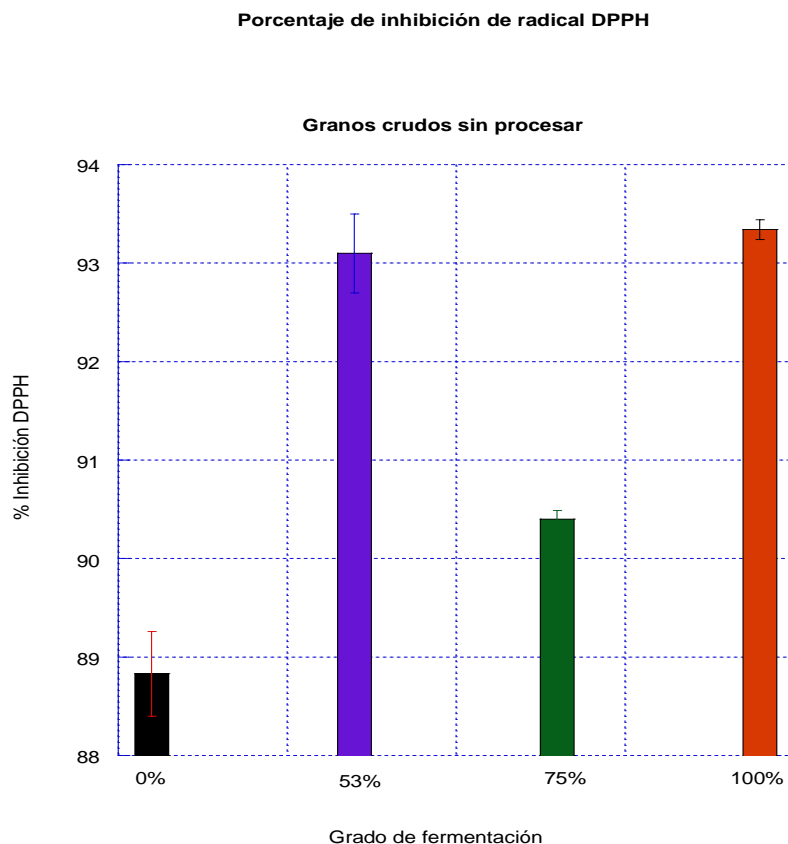


Figura 14. Porcentaje de inhibición del radical DPPH en granos crudos antes del procesamiento

Se puede observar en la Figura anterior que el grado de fermentación tuvo influencia en la inhibición del radical DPPH. Se aprecia que el grano fermentado a 53 y 100% presentaron la mayor inhibición del radical, esto se puede deber a que el grano fermentado a 53% presenta fermentación anaerobia, la cual condensa a los compuestos fenólicos otorgar mayor capacidad antioxidante. El grano fermentado a 100% fue sometido a fermentación anaerobia y aerobia completa, la cual favorece una actividad antioxidante alta, esto debido a que en la fermentación aerobia se presenta hidrólisis de

los compuestos condensados, la cual degrada dichos compuestos otorgándole mayor poder antioxidante. Estos valores son punto de partida para evaluar el efecto de la temperatura y tiempo en la capacidad antioxidante del cacao.

La Figura 15 muestra el porcentaje de cambio en la inhibición del radical DPPH durante el procesamiento bajo una temperatura de tostado de 140 °C durante 20 minutos.

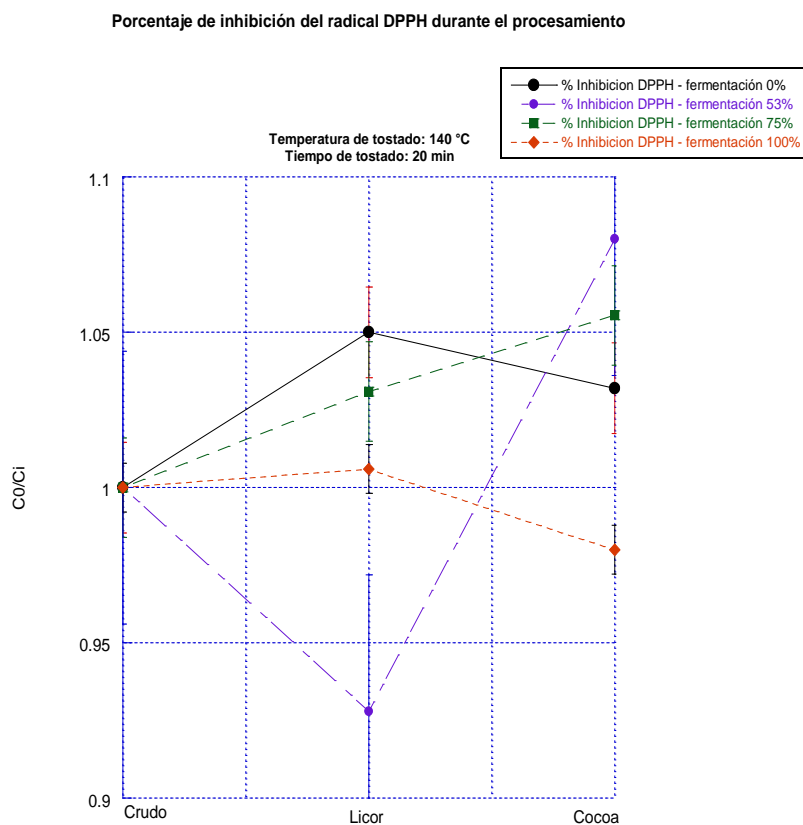


Figura 15. Porcentaje de cambio en la inhibición del radical DPPH durante el procesamiento bajo una temperatura de tostado de 140 °C durante 20 minutos

En la Figura 15 se muestra el efecto del grado de fermentación con respecto al porcentaje de cambio en la inhibición del radical DPPH durante el procesamiento efectuado bajo temperatura de tostado de 140 °C y tiempo de 20 minutos. Se aprecia que el grano fermentado a 75% presentó una correlación positiva ($R= 0.99778$) entre etapa de grano crudo, molienda (licor) y prensado (cocoa) con el porcentaje de inhibición del radical DPPH en comparación con los demás grados fermentación. Siendo éste grado de fermentación el que presentó mayor inhibición en etapas de molienda y prensado.

Los granos tostados cuantificaron el menor porcentaje de inhibición del radical DPPH, con $13 \pm .010\%$ se encuentran los granos sin fermentar, con $21 \pm .008\%$ los granos fermentados a 53%, los granos fermentados a 100% con $38 \pm .011\%$ y los granos fermentados a 75% con $76 \pm .009\%$. Los diferentes grados de fermentación de los granos en la etapa de tostado presentaron diferencias significativas ($P<0.05$). Esta tendencia se asemeja a lo reportado por Hii *et al.*, (2009) donde menciona que la capacidad antioxidante puede ser afectada por muchos factores como el tostado y proceso de fermentación.

La mayores inhibiciones se obtuvieron a concentraciones de entre 2.0 y 2.2 g EAG/100 g con valores de entre 90 y 95% respectivamente, las cuales pertenecen a los productos (licor y cocoa) de los diferentes grados de fermentación. No se reportaron diferencias significativas ($P>0.05$) entre productos.

Por su parte Ovaco y Pineda (2011) indicaron que la molienda incrementa la cuantificación de los compuestos fenólicos, relacionando el rompimiento de la piel en una mayor liberación de fitoquímicos responsables de la actividad antioxidante. Y a lo encontrado por Chávez y Ordoñez., (2013) que reportaron que la mayor actividad antioxidante se encontró en las etapas de prensado y molienda, seguida por el grano crudo y finalmente el grano tostado.

La Figura 16 muestra el porcentaje de inhibición del radical DPPH durante el procesamiento bajo una temperatura de tostado de 140 °C durante 30 minutos

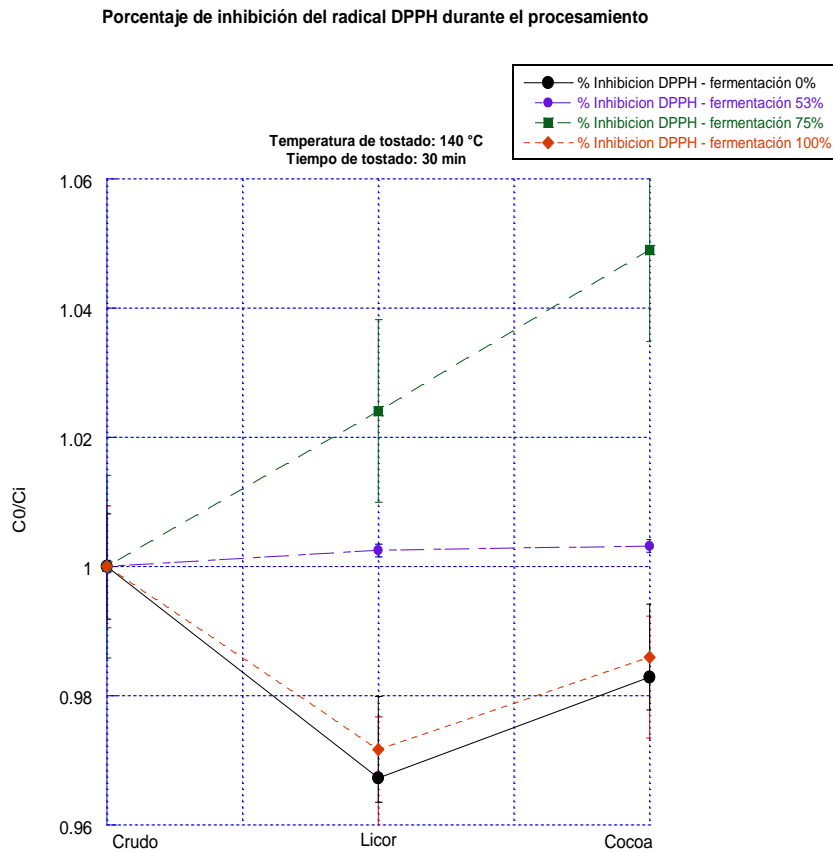


Figura 16. Porcentaje de cambio en la inhibición del radical DPPH durante el procesamiento bajo una temperatura de tostado de 140 °C durante 30 minutos

En la Figura 16 se muestra el efecto del grado de fermentación con respecto al porcentaje de cambio en la inhibición del radical DPPH durante el procesamiento efectuado bajo temperatura de tostado de 140 °C y tiempo de 30 minutos. Se aprecia que los granos fermentados a 53% ($R=0.9511$) y 75% ($R= 0.9999$) presentaron correlación positiva entre etapa de grano crudo, molienda (licor) y prensado (cocoa) con el porcentaje de inhibición del radical DPPH en comparación con los demás grados

fermentación. Siendo éstos grados de fermentación los que presentaron mayor inhibición en etapas de molienda y prensado.

Los valores máximos de inhibición se presentaron a concentraciones de entre 2.0 y 2.2 g EAG/100 g con 93 y 95% respectivamente. Los granos sin fermentar cuantificaron valores de inhibición del radical DPPH de entre 90 y 93 % con concentraciones de polifenoles totales de entre 2.07 y 2.17 g EAG/100g, no presentando diferencias significativas ($P>0.05$) entre sí durante el procesamiento.

Los granos fermentados a 53% no presentaron diferencias significativas ($P>.05$) en el porcentaje de inhibición del radical DPPH durante el procesamiento con valor de $93 \pm .005$ %. Los granos fermentados a 75% presentaron una tendencia de incremento en la inhibición del radical DPPH y la mayor inhibición fue de 95.5% en concentración de 2.2 g EAG/100 g, siendo ésta la mayor inhibición cuantificada durante el procesamiento bajo estas condiciones. Los valores que se encontraron fueron de 1.33, 2.14 y 2.2 g EAG/100 g con inhibiciones de 91,93 y 95% respectivamente. Se presentaron diferencias significativas ($P<0.05$). Por último, los granos fermentados a 100% presentaron valores la inhibición del radical DPPH de 91,92,93% con valores de polifenoles totales de 1.57, 2.11 y 4.35 g EAG/100 g respectivamente y no se presentaron diferencias significativas ($P>0.05$) durante su procesamiento. Estos resultados se asemejan con lo reportado por Miller *et al.*, (2007) que describen que la cantidad de polifenoles y la actividad antioxidante parecen depender del contenido de sólidos no grasos presentes en los productos finales.

Los porcentajes de inhibición más bajos correspondieron a granos tostados fermentados a 75% con $12 \pm .007$ %, con $32 \pm .007$ % los granos fermentados a 53%, los granos fermentados a 100% con $44 \pm .004$ % y los granos sin fermentar con valor de $62 \pm .002$ %. Se presentaron diferencias significativas ($P<.05$) entre granos fermentados a 53 % con respecto a granos sin fermentar, fermentados a 75 y 100%.

La Figura 17 muestra el porcentaje de cambio en la inhibición del radical DPPH durante el procesamiento bajo una temperatura de tostado de 180 °C durante 20 minutos

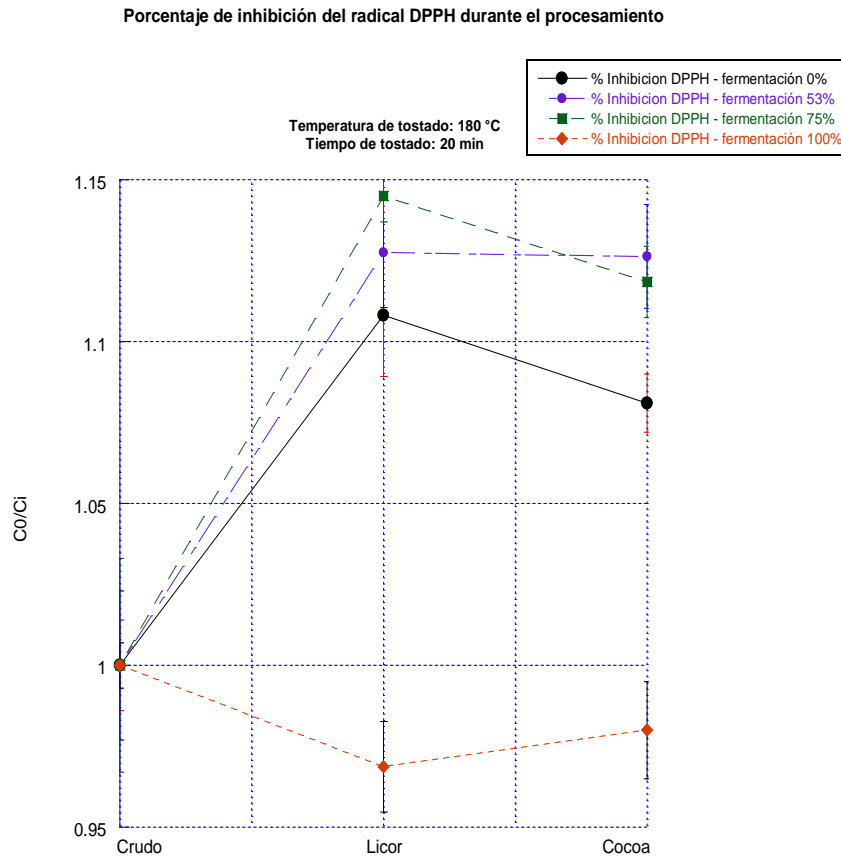


Figura 17. Porcentaje de cambio en la inhibición del radical DPPH durante el procesamiento bajo una temperatura de tostado de 180 °C durante 20 minutos.

En la Figura 17 se muestra el efecto del grado de fermentación con respecto al porcentaje de cambio en la inhibición del radical DPPH durante el procesamiento efectuado bajo temperatura de tostado de 180 °C y tiempo de 20 minutos. Se aprecia que los granos fermentados a 53% presentaron correlación positiva ($R=0.8619$) entre etapa de grano crudo, molienda (licor) y prensado (cocoa) con el porcentaje de inhibición del radical DPPH en comparación con los demás grados fermentación. Los granos sin fermentar, fermentados a 53,75 % presentaron incremento en la etapa de

molienda (licor) con respecto a la etapa de grano crudo. En la etapa de prensado (cocoa) estos mismos granos presentaron ligera disminución en el porcentaje de inhibición del radical DPPH.

Los granos sin fermentar presentaron diferencias significativas ($P < 0.05$) durante el procesamiento, siendo el licor el producto que presentó mayor inhibición del radical DPPH con valor de $93 \pm .005$ % y una concentración de 2.07 g EAG/100 g.

Los granos fermentados a 53% presentaron la máxima inhibición del radical con valor de $93 \pm .003$ % a concentraciones de 1.18 y 1.64 g EAG/100 g durante la etapa de molienda (licor) y prensado (cocoa), no presentando diferencias significativas ($P > 0.05$) en ambas etapas de procesamiento.

Los granos fermentados a 75% no presentaron diferencias significativas ($P > 0.05$) durante las etapas de molienda y prensado, donde la mayor inhibición del radical DPPH tuvo valor de 95% a una concentración de 2.2 g EAG/100 g en la etapa de molienda (licor). Estos resultados se asemejan a los reportados por Chávez y Ordoñez (2013) que reportaron inhibiciones superiores a 90% para productos de cacao resaltando que no existía diferencia entre la etapa de molienda y prensado.

Los granos fermentados a 100% presentaron valores la inhibición del radical DPPH de 91, 92,93% con valores de polifenoles totales de 1.91, 2.3 y 4.35 g EAG/100 g respectivamente y no se presentaron diferencias significativas ($P > 0.05$) durante su procesamiento. La mayor inhibición del radical con valor de 93% perteneció al grano crudo con una concentración de 4.35 g EAG/100 g, esto indica que el comportamiento de la actividad antioxidante de este grado de fermentación se ve disminuida durante el procesamiento bajo estas condiciones de operación.

Los granos tostados de los diferentes grados de fermentación presentaron diferencias significativas ($P < 0.05$) entre sí. Los granos fermentados a 53 y 75% obtuvieron la menor inhibición de $35 \pm .006$ y $30 \pm .002$ % respectivamente. Los granos tostados sin fermentar y fermentado a 100% presentaron valores de $82.5 \pm .003$ y $86.8 \pm .004$ % respectivamente, siendo los valores más altos en esta etapa de procesamiento. Estos resultados se traducen en una mejor estabilidad durante el procesamiento bajo estas condiciones debido a que los productos de los granos no minimizaron su capacidad antioxidante dando como resultado un proceso idóneo para conservar las propiedades innatas del cacao. Otham *et al.* (2005) y Arlorio *et al.* (2007) hallaron en sus estudios valores similares a los encontrados en esta investigación, reportando valores de entre 87 y 93% de inhibición del radical DPPH.

La Figura 18 muestra el porcentaje de cambio en la inhibición del radical DPPH durante el procesamiento bajo una temperatura de tostado de 180 °C durante 30 minutos.

Porcentaje de inhibición del radical DPPH durante el procesamiento

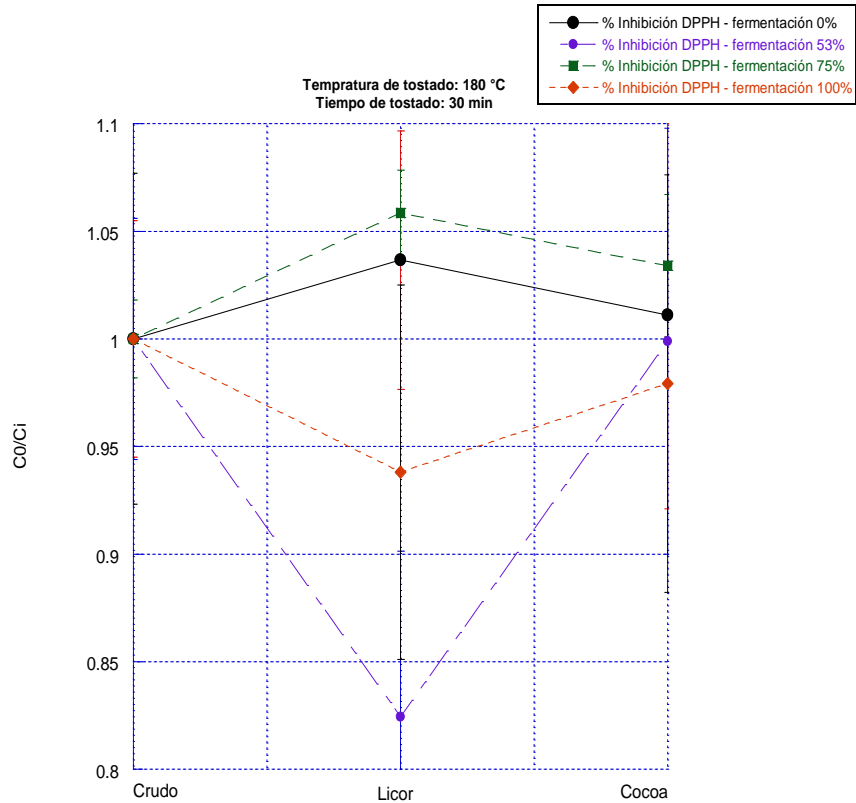


Figura 18. Porcentaje de cambio en la inhibición del radical DPPH durante el procesamiento bajo una temperatura de tostado de 180 °C durante 30 minutos.

En la Figura 18 se muestra el efecto del grado de fermentación con respecto al porcentaje de cambio en la inhibición del radical DPPH durante el procesamiento efectuado bajo temperatura de tostado de 180 °C y tiempo de 30 minutos. Se aprecia que durante la etapa de molienda (licor) los granos sin fermentar y fermentados a 75% presentaron incremento con respecto a la etapa de grano crudo, y los granos fermentados a 53 y 100% presentaron disminución.

La mayor inhibición del radical DPPH se presentó en 2.2 g EAG/100g perteneciente a granos fermentados a 75% con valor de $95 \pm .004$ % en la etapa de molienda (licor) y no se presentaron diferencias significativas ($P > 0.05$) entre la etapa de molienda y prensado. Los granos sin fermentar no presentaron diferencias significativas ($P > 0.05$) durante el procesamiento, obteniendo valores de inhibición de $90 \pm .001$, $93 \pm .002$ y $91 \pm .005$ % con concentraciones de 1.83, 2.07 y 2.18 g EAG/100g respectivamente, siendo en la etapa de molienda la que presentó el máximo porcentaje de inhibición del radical.

Los granos fermentados a 53% no presentaron diferencias significativas ($P > 0.05$) en la etapa de crudo y prensado (cocoa) obteniendo valores de $93 \pm .003$ % de inhibición del radical con concentraciones de 1.18 y 1.64 g EAG/100 g. Los granos fermentados a 75% presentaron inhibiciones del radical DPPH de $95 \pm .006$ % y $93 \pm .003$ % en etapas de molienda (licor) y prensado (cocoa) respectivamente, siendo a 2.2 g EAG/100 g la mayor inhibición de 95% perteneciente al licor. No se observan diferencias significativas ($P > 0.05$) entre las etapas de molienda y prensado.

Los granos fermentados a 100% no presentaron diferencias significativas ($P > 0.05$) en la etapa de grano crudo y prensado, pero si con la etapa de molienda. Las mayores inhibiciones tuvieron valores de $91 \pm .001$ y $93 \pm .002$ % en concentraciones de 2.3 y 4.35 g EAG/100 g respectivamente. Los granos crudos presentaron la mayor inhibición.

Durante la etapa de tostado, se encontraron diferencias significativas ($P < .05$) en los diferentes grados de fermentación. Los granos tostados y fermentados a 75% presentaron la menor inhibición con valor de $38 \pm .007$ %. Los granos tostados sin fermentar y fermentados a 53% presentaron valores similares con inhibición de $76 \pm .004$ %, los granos tostados y fermentados a 100% obtuvieron una inhibición del radical de $82 \pm .003$ %. Estos resultados se pueden deber a que durante el tostado a altas temperaturas los polifenoles totales sufran monomerización, lo cual favorece a una mayor actividad antioxidante con respecto a compuestos polimerizados Otham *et al.*, (2005). Estos resultados nuevamente coinciden con Otham *et al.* (2005) y Arlorio *et al.* (2007) que reportaron valores de entre 87 y 93% de inhibición del radical DPPH.

6.5. Actividad antioxidante por FRAP

La Figura 19 muestra la concentración de micromoles equivalentes de Trolox en granos crudos antes del procesamiento. Se puede apreciar que el grado de fermentación influyó en la capacidad antioxidante evaluada por este método.

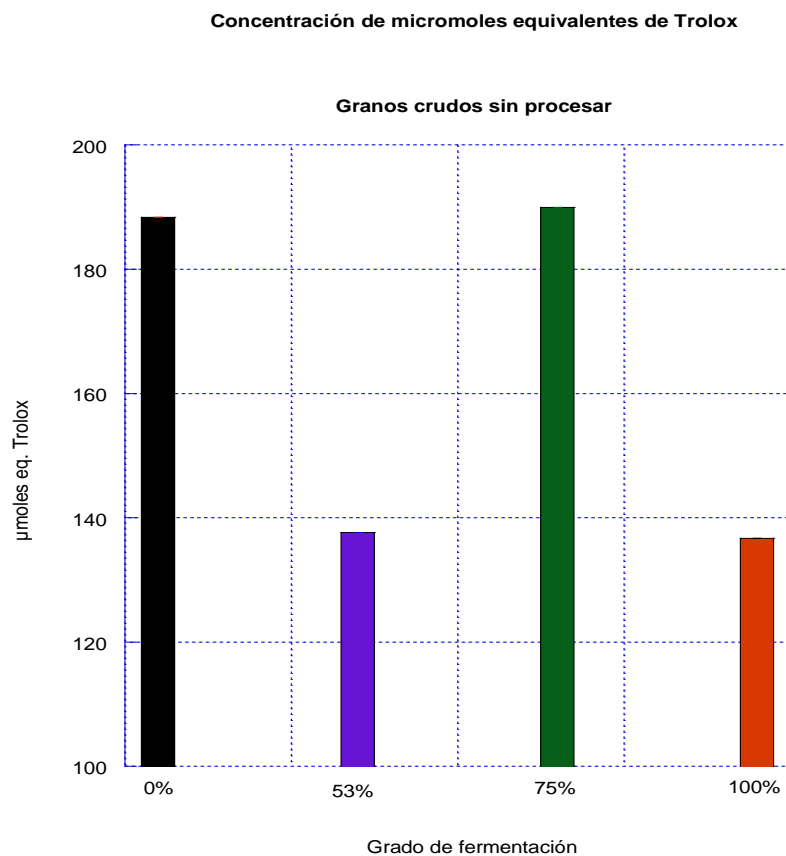


Figura 19. Concentración de micromoles equivalentes de Trolox en granos crudos antes del procesamiento.

Los granos sin fermentar y fermentados a 75% presentaron la mayor actividad antioxidante y no presentaron diferencia significativa ($P>0.05$). Por su parte los granos fermentados a 53 y 100% cuantificaron la menor actividad antioxidante sin presentar diferencias significativas ($P>0.05$) entre ellos. Estos resultados se pueden explicar con base en las reacciones ocasionadas por la fermentación.

El grano sin fermentar no sufre cambios químicos por lo cual se infiere que sus compuestos fenólicos presentes naturalmente, pueden resultar con mayor actividad antioxidante en comparación con granos fermentados. El grano fermentado a 75% presenta una fermentación anaerobia y aerobia parcial (4 días), esto favorece a la actividad antioxidante, ya que al presentarse dicha fermentación aerobia los compuestos fenólicos sufren hidrólisis, y esto potencializa dicha capacidad antioxidante del cacao.

La Figura 20 muestra el porcentaje de cambio en la concentración de micromoles equivalentes de Trolox durante el procesamiento bajo una temperatura de tostado de 140 °C durante 20 minutos.

Concentración de micromoles equivalentes de Trolox durante el procesamiento

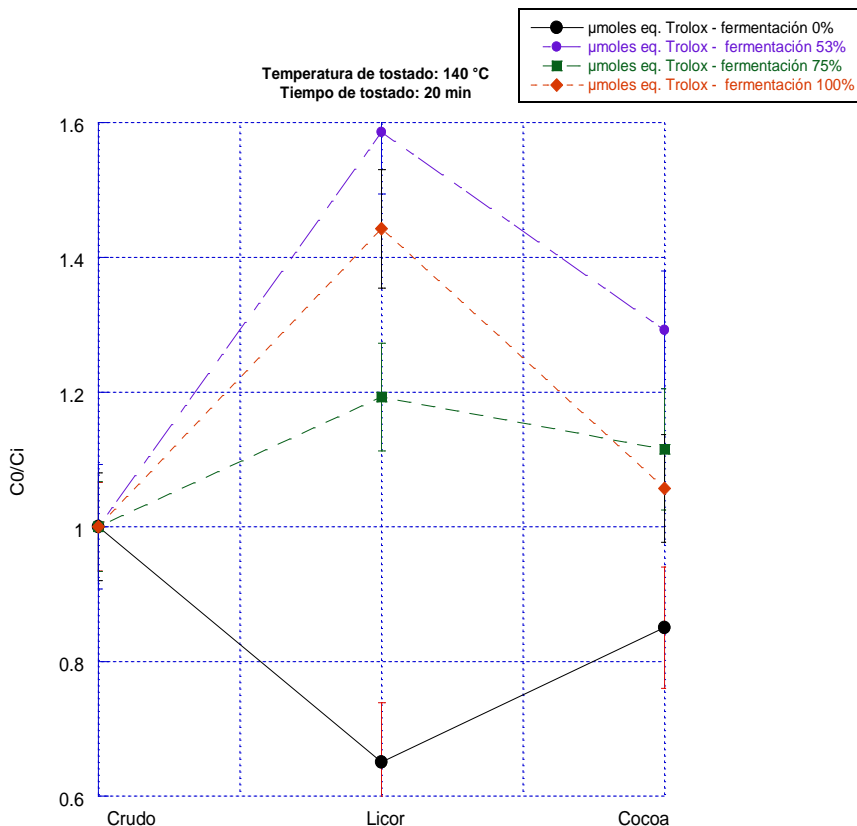


Figura 20. Porcentaje de cambio en la concentración de micromoles equivalentes de Trolox durante el procesamiento bajo una temperatura de tostado de 140 °C durante 20 minutos.

En la Figura 20 se muestra el efecto del grado de fermentación con respecto al porcentaje de cambio en la concentración de micromoles equivalentes de Trolox durante el procesamiento efectuado bajo temperatura de tostado de 140 °C y tiempo de 20 minutos. Se aprecia que los granos fermentados a 53,75 y 100% presentaron aumento en la concentración de micromoles equivalentes de Trolox en la etapa de molienda (licor) con respecto a la etapa de grano crudo, pero los granos sin fermentar presentaron disminución.

Posteriormente en la etapa de prensado (cocoa) se observa una disminución con respecto a la etapa de molienda, se cuantificó una mayor concentración que en la etapa de grano crudo, y en el grano sin fermentar se observa un incremento con respecto a la etapa de molienda pero se cuantificó menor que en la etapa de grano crudo.

Los valores varían entre 110.11 – 197.20 micromoles equivalentes de Trolox. Los granos sin fermentar presentaron disminución en la etapa de molienda (licor) con respecto a la etapa de grano crudo y un aumento en la etapa de prensado (cocoa) con respecto a la etapa de molienda, pero se cuantificó menor que en la etapa de grano crudo. Se presentaron diferencias significativas ($P < 0.05$) entre etapas del procesamiento, con valor máximo de $185.5 \pm .08$ micromoles equivalentes de Trolox y $1.88 \pm .003$ g EAG/100 g siendo ésta la menor concentración de polifenoles totales en dicho grado de fermentación correspondiente a la etapa de grano crudo.

Los granos fermentados a 53% presentaron diferencias significativas ($P < 0.05$) entre etapas del procesamiento y a una concentración de $1.25 \pm .004$ g EAG/100 g se obtuvo la mayor concentración micromoles equivalentes de Trolox con valor de $179.30 \pm .04$, siendo el licor el producto con mayor actividad antioxidante.

Los granos fermentados a 75% presentaron diferencias significativas ($P < 0.05$) entre las etapas de molienda y prensado. La mayor concentración de actividad antioxidante tuvo valor de $190.1 \pm .04$ micromoles equivalentes de Trolox correspondiente a una concentración de polifenoles totales de $1.8 \pm .004$ g EAG/100 g en la etapa de molienda (licor) de este grano.

En granos fermentados a 100% se obtuvo la mayor actividad antioxidante en la etapa de molienda con valor de $197.20 \pm .05$ micromoles equivalentes de Trolox en concentración de $1.61 \pm .005$ g EAG/100 g siendo el licor el producto con la mayor actividad y siendo ésta la mayor actividad registrada de los diferentes grados de fermentación durante el procesamiento bajo estas condiciones. No se presentaron diferencias significativas ($P > 0.05$) en etapas de granos crudos y prensado (cocoa), pero

si existe diferencia significativa ($P < 0.05$) entre éstas y la etapa de molienda (licor). Estos valores concuerdan con Suazo *et al.* (2014) que reportaron actividad antioxidante por el método FRAP con valores de 124.1 -154.2 micromoles equivalentes de Trolox para productos de cacao de diferentes grados de fermentación.

En la etapa de tostado, el grano fermentado a 75% obtuvo un valor de $160.1 \pm .03$ micromoles equivalentes de Trolox, siendo éste el que presentó la mayor concentración, y presentando diferencias significativas ($P > 0.05$) con respecto a los demás granos tostado de los distintos grados de fermentación. No se presentaron diferencias significativas ($P > 0.05$) entre granos tostados sin fermentar y granos tostados fermentados a 100% con valores de $93.03 \pm .003$ y $100.70 \pm .005$ micromoles equivalentes de Trolox, respectivamente. Los granos tostados fermentados a 53% cuantificaron un valor de 70.03 micromoles equivalentes de Trolox, siendo la más baja concentración durante esta etapa.

Estas tendencias se pueden explicar con lo reportado por Bustamante (2014) que evaluó la capacidad antioxidante por el método de FRAP y describe que durante el procesamiento de los granos los compuestos fenólicos pueden sufrir degradación y poseer mayor capacidad antioxidante, esto sin minimizar su concentración presente.

En la Figura 21 se muestra el porcentaje de cambio en la concentración de micromoles equivalentes de Trolox durante el procesamiento bajo una temperatura de tostado de 140 °C durante 30 minutos.

Concentración de micromoles equivalentes de Trolox durante el procesamiento

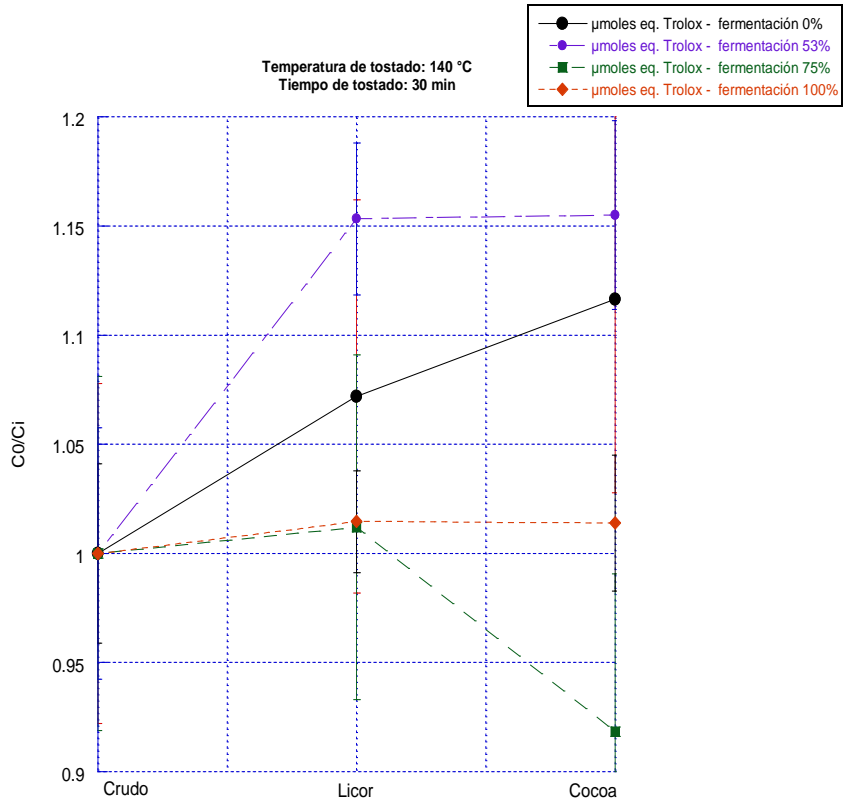


Figura 21. Porcentaje de cambio en la concentración micromoles equivalentes de Trolox durante el procesamiento bajo una temperatura de tostado de 140 °C durante 30 minutos.

En la Figura 21 se muestra el efecto del grado de fermentación con respecto al porcentaje de cambio en la concentración de micromoles equivalentes de Trolox durante el procesamiento efectuado bajo temperatura de tostado de 140 °C y tiempo de 30 minutos. Se puede observar que los granos sin fermentar, fermentados a 53 y 100% presentaron correlaciones positivas ($R= 0.99097$), ($R=0.87076$), ($R=0.84399$) respectivamente, entre etapa de grano crudo, molienda (licor) y prensado (cocoa) en la concentración de micromoles equivalentes de Trolox en comparación con granos fermentados a 75% donde se aprecia una disminución de micromoles equivalentes de Trolox en la etapa de prensado con respecto a las etapas de molienda y grano crudo.

Los granos sin fermentar presentaron las máximas concentraciones de micromoles equivalentes de Trolox durante las etapas de molienda y prensado del procesamiento, con valores de $153.56 \pm .03$ y $160.3 \pm .04$, en concentración de polifenoles totales de 2.1 y 2.17 g EAG/100 g en la etapa de molienda y prensado respectivamente, siendo la cocoa el producto con mayor concentración de micromoles equivalentes de Trolox y polifenoles totales. No se presentaron diferencias significativas ($P>0.05$) en dichas etapas de procesamiento. Los granos sin fermentar, fermentados a 75 y 100% no presentaron diferencias significativas ($P>0.05$) en la etapa de grano crudo cuantificando valores de $143.26 \pm .02$, $143.58 \pm .01$, $144.96 \pm .05$ micromoles equivalentes de Trolox, respectivamente.

En la etapa de molienda no se presentaron diferencias significativas ($P>0.05$) para los diferentes grados de fermentación, obteniendo un valor promedio de 145.2 micromoles equivalentes de Trolox en concentraciones de polifenoles totales en rango desde 1.65 a 2.14 g EAG/100 g. Se puede inferir que el grado de fermentación no tuvo influencia en la concentración de micromoles equivalentes de Trolox durante esta etapa del procesamiento.

En la etapa de prensado, los granos fermentados a 53 y 100% cuantificaron valores de $144.86 \pm .02$ y $144.96 \pm .07$ micromoles equivalentes de Trolox, respectivamente. No presentaron diferencias significativas ($P>0.05$) entre sí, pero si existieron con respecto al grano fermentado a 75%, siendo éste producto el que presentó la más baja concentración con valor de $131.61 \pm .04$ micromoles equivalentes de Trolox.

Los granos tostados presentaron valores de entre 93.29 – 139.21 micromoles equivalentes de Trolox, siendo los más bajos durante el procesamiento, y similares a los granos tostados obtenidos durante el procesamiento bajo una temperatura de tostado de 140 °C durante 20 minutos (Fig. 20). Los granos tostados sin fermentar y fermentados a 100% no presentaron diferencias significativas ($P>.05$) entre sí, con valores de $138.76 \pm .06$ y $139.21 \pm .004$ micromoles equivalentes de Trolox, respectivamente.

Los granos tostados y fermentados a 75 y 53% presentaron diferencias significativas ($P < 0.05$) y obtuvieron valores de 93.29 y $114.68 \pm .003$ micromoles equivalentes de Trolox, respectivamente, siendo las menores concentraciones presentes. Se puede inferir que los polifenoles totales sufren degradación en su estructura pero conservan su capacidad antioxidante, esto ha sido reportado por diversos autores que explicaron el comportamiento a altas temperaturas.

La Figura 22 se muestra el porcentaje de cambio en la concentración de micromoles equivalentes de Trolox durante el procesamiento bajo una temperatura de tostado de $180\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 20 minutos.

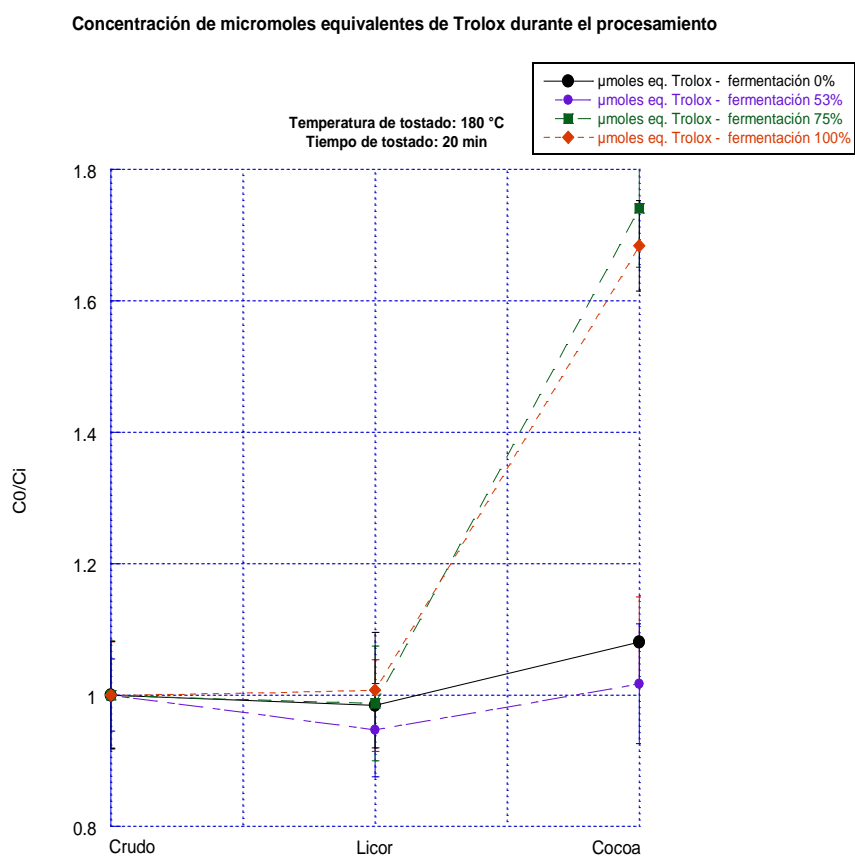


Figura 22. Porcentaje de cambio en la concentración de micromoles equivalentes de Trolox durante el procesamiento bajo una temperatura de tostado de $180\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 20 minutos.

En la Figura 22 se muestra el efecto del grado de fermentación con respecto al porcentaje de cambio en la concentración de micromoles equivalentes de Trolox durante el procesamiento efectuado bajo temperatura de tostado de 180 °C y tiempo de 20 minutos. Se puede observar que los granos sin fermentar, fermentados a 75 y 100% presentaron correlación positiva ($R= 0.77793$), ($R= 0.85851$), ($R= 0.87057$) respectivamente, con las etapas de procesamiento.

Las mayores concentraciones se presentaron para granos sin fermentar, fermentados a 75 y 100% en la etapa de prensado (cocoa) con valores de 149.96, 149.96 y 150.46 micromoles equivalentes de Trolox respectivamente, en concentraciones de polifenoles totales de 2.18, 2.64 y 2.3 g EAG/ 100 g respectivamente. No se presentaron diferencias significativas ($P>0.05$) entre éstos grados de fermentación durante la etapa de prensado. En la etapa de prensado (cocoa) se obtuvieron los valores máximos de micromoles equivalentes de Trolox para todos los grados de fermentación de los granos, siendo el grano fermentado a 53% quien cuantificó la menor concentración en dicha etapa de procesamiento con valor de $139.96 \pm .05$ micromoles equivalentes de Trolox. Presentando diferencia significativa ($P<0.05$) con respecto a los demás grados fermentación.

En las etapas de grano crudo y molienda (licor), los granos sin fermentar y fermentados a 53% no presentaron diferencias significativas ($P>0.05$) entre sí y cuantificaron valores promedios de 139.96 y 133.894 micromoles equivalentes de Trolox respectivamente. Los granos fermentados a 75 y 100% cuantificaron las más bajas concentraciones con valores promedios de 85.61 y 89.68 micromoles equivalentes de Trolox. No presentaron diferencias significativas ($P>0.05$) entre sí, pero existieron diferencias significativas ($P<0.05$) con respecto a granos sin fermentar y fermentados a 53%.

Esto indica que un mayor grado de fermentación puede ocasionar pérdida en la capacidad antioxidante del cacao y sus productos. Esta tendencia es similar con lo reportado por Cadena y Herrera (2008) que describe que para productos con alto grado de fermentación del grano se presentan valores de entre 90 y 100 micromoles equivalentes de Trolox.

La Figura 23 muestra el porcentaje de cambio en la concentración de micromoles equivalentes de Trolox durante el procesamiento bajo una temperatura de tostado de 180 °C durante 30 minutos.

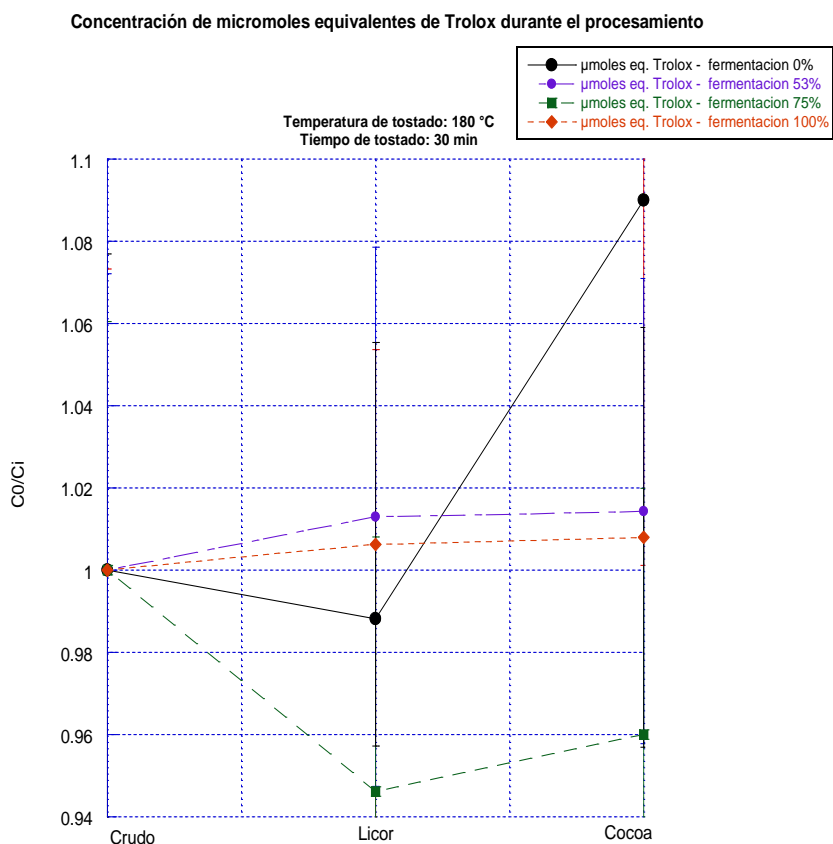


Figura 23. Porcentaje de cambio en la concentración de micromoles equivalentes de Trolox durante el procesamiento bajo una temperatura de tostado de 180 °C durante 30 minutos.

En la Figura 23 se muestra el efecto del grado de fermentación con respecto al porcentaje de cambio en la concentración de micromoles equivalentes de Trolox durante el procesamiento efectuado bajo temperatura de tostado de 180 °C y tiempo de 30 minutos. Se observa que los granos fermentados a 53 y 100% presentaron

correlación positiva ($R= 0.90673$), ($R= 0.94907$) respectivamente, con las etapas de procesamiento.

Las mayores concentraciones se presentaron en granos fermentados a 75 y 100% durante las etapas de grano crudo, molienda y prensado. Se cuantificaron valores promedios de 191.84 y 197.9 micromoles equivalentes de Trolox, no se presentaron diferencias significativas ($P>0.05$) durante el procesamiento. Los granos sin fermentar y fermentados a 53% presentaron las concentraciones más bajas durante el procesamiento, no se presentaron diferencias significativas ($P>0.05$) entre granos y productos, a excepción de la cocoa del grano sin fermentar que obtuvo valor de $149.96 \pm .06$ micromoles equivalentes de Trolox, siendo la concentración más alta para éstos grados de fermentación.

Estos resultados se atribuyen al grado de fermentación, ya que al someter los granos al procesamiento bajo una temperatura de tostado de 180 °C durante 30 minutos puede favorecer la capacidad antioxidante, es decir, se llevan a cabo degradaciones de compuestos en formas más simples sin alterar la concentración de polifenoles totales que se generan durante la fermentación anaerobia y aerobia.

Las Figuras anteriores muestran el comportamiento del cacao con diferentes grados de fermentación, revelando que el grano fermentado a 75% resultó ser el más apropiado en la obtención de licor y cocoa. Éste grado de fermentación potencializó las propiedades antioxidantes del cacao durante el procesamiento reflejando que tanto la fermentación anaerobia y aerobia resultan indispensables para obtener los mejores beneficios del fruto.

Durante el proceso de fermentación a este grado, el grano sufrió cambios químicos que favorecieron sus propiedades antioxidantes, se puede inferir que al someter al grano al proceso de fermentación anaerobia y aerobia parcial (4 días) las reacciones de condensación de compuestos fenólicos, polimerización e hidrólisis resultaron apropiadas para maximizar la actividad antioxidante del grano crudo.

Analizando el efecto de la ausencia de fermentación y demás grados, se puede observar y diferenciar que la actividad antioxidante se vio, en algunos casos, disminuida durante las etapas de proceso. La ausencia de fermentación resultó ser más favorable para procesamiento a temperatura de 140 °C, esto debido que, al someter los granos sin fermentar sus compuestos antioxidantes naturales (sin sufrir modificación) conservan el efecto antioxidante innato del cacao, pero no resalta la mayor capacidad que pudiera tener si se somete a fermentación.

Cuando se efectúa la fermentación intermedia, es decir, fermentación anaerobia (53%) los granos sufren modificaciones parciales, como son la condensación de compuestos fenólicos, los cuales pueden incrementar la actividad antioxidante con respecto a granos sin fermentación. Estos compuestos condensados presentan mayor actividad antioxidante nuevamente a procesamientos de 140 °C, esto debido a que al someter los granos al tratamiento térmico del tostado, se presentaron reacciones de monomerización lo cual incrementa la capacidad antioxidante de los compuestos fenólicos.

Durante la fermentación completa (100%), el grano se somete nuevamente a la fermentación anaerobia, pero la fermentación aerobia se lleva a cabo completamente (5 días) y a diferencia de la fermentación a 75% (4 días), la fermentación aerobia resulta un poco desfavorable para la capacidad antioxidante, debido a que al llevar a cabo esta fase en su totalidad se presentó un exceso de hidrólisis, la cual degrada los compuestos fenólicos disminuyendo su actividad como agentes antioxidantes.

7. CONCLUSIONES

- El grado de fermentación del grano de cacao tuvo influencia en el contenido de polifenoles totales. Los granos fermentados a 53% presentaron la menor concentración de polifenoles totales durante los procesamientos.
- En la etapa de tostado se tuvo la menor concentración de polifenoles totales y actividad antioxidante para los diversos grados de fermentación. Durante la obtención de licor se presentó un aumento de entre el 20 y 30% en concentración de polifenoles totales y actividad antioxidante respecto a la etapa de tostado.
- La temperatura de tostado modifica las propiedades antioxidantes del cacao, por lo cual se deben establecer parámetros para minimizar las pérdidas de contenido de polifenoles totales y degradación de capacidad antioxidante.
- El tiempo de tostado tuvo influencia en la capacidad antioxidante, favoreciendo una mayor cuantificación en los procesamientos con tiempo de tostado de 30 minutos

- Los granos sin fermentar y fermentados a 53% presentaron mayor actividad antioxidante durante el procesamiento con temperatura de tostado de 180 °C y tiempo de tostado de 20 minutos en la etapa de molienda.

- Los granos con grado de fermentación de 75 y 100% presentaron mayor actividad antioxidante durante los procesamientos con temperatura de tostado de 140 con tiempos de tostado de 20 y 30 minutos, y 180 °C con tiempo de tostado de 30 minutos en las etapas de molienda y prensado.

- Las cocoas de los diferentes grados de fermentación de los granos presentaron la mayor concentración de polifenoles totales y actividad antioxidante en los procesamientos bajo temperaturas de tostado de 180 °C durante los tiempos de 20 y 30 minutos, siendo éste producto el más factible para la obtención de dichos compuestos.

- El grano fermentado a 75% presentó la mayor estabilidad al obtener la menor degradación de contenido de polifenoles totales y mayor actividad antioxidante durante los procesamientos bajo temperaturas de tostado de 140 y 180 °C durante los tiempos de tostado de 20 y 30 minutos, resultando así ser el grado de fermentación más favorable para la obtención de productos tales como licor y cocoa.

8. RECOMENDACIONES

El procesamiento bajo temperatura de tostado de 180 °C durante el tiempo 30 minutos resulta ser el más factible para la obtención de licor y cocoa, ya minimiza la degradación de polifenoles totales y potencializa la actividad antioxidante. Por lo tanto, se recomienda procesar bajo éstas condiciones de operación para aumentar la actividad antioxidante de los granos de cacao y obtener productos con valor agregado para el consumidor.

9. BIBLIOGRAFÍA

Acosta R, Ortiz L, Graziani L, Parra P, Trujillo A. 2001. Estudio de algunas características físicas y químicas de la grasa de los cotiledones de tres tipos de cacao de la localidad de Cumboto. *Agronomía Tropical* **51**: 119-131.

Aculey P, Snitkjaer P, Owusu M, Bassompierre M, Takrama J, Nørgaard L. 2010. Ghanaian cocoa bean fermentation characterized by spectroscopic and chromatographic methods and chemometrics. *Journal of Food Science* **75**: S300-S307.

Adamson GE, Lazarus SA, Mitchell AE, Prior RL, Cao G, Jacobs PH, Kremers BG, Hammerstone JF, Rucker RB, Ritter KA, Schmitz HH. 1999. HPLC method for the quantification of procyanidins in cocoa and chocolate samples and correlation to total antioxidant capacity. *J. Agric. Food Chem.* **47**, 4184-4188.

Afoakwa EO, Paterson A, Fowler M (2008a). Effects of particle size distribution and composition on rheological properties of dark chocolate. *European Food Research and Technology* **226**: 1259-1268.

Afoakwa EO, Paterson A, Fowler M, Ryan A (2008b). Flavor formation and character in cocoa and chocolate: A critical review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* **48**: 1-18

Afoakwa E (2010). *Chocolate Science and Technology*. edn. John Wiley & Sons: New Delhi, India.

ANECACAO. 2009. Definición de conceptos de la NTE-INEN-176 (en línea). Asociación Nacional de Exportadores de Cacao (Ecuador).

Disponible en: <http://www.anecacao.com/Descargas/NTE-INEN-176.pdf>

Ardhana MM, Fleet GH (2003). The microbial ecology of cocoa bean fermentations in Indonesia. *International Journal of Food Microbiology* **86**: 87-99.

Arguello, O., Mejía, A., Palencia, G. Clasificación de especies cultivares de *Theobroma cacao* L. para el mejoramiento del sistema de multiplicación de cacao. Corpoica-Colombia, 2000, p. 11.

Arlorio, M., Coisson, J. D., Travaglia, F., Locatelli, M., Bottini, C., Tessitore, L. 2007. Melanoidin extracts from not-roasted and roasted cocoa beans (*Theobroma cacao* L.): antioxidant and protective properties on stress-induced cell death. In R. Carle, A. Schieber, & F. C. Stintzing (Eds.), *Pigments in Food, a challenge to life sciences* (pp. 167–169). Aachen (D): Shaker Verlag

Armijos, A. 2002. Características de acidez como parámetro químico de calidad en muestras de cacao (*Theobroma cacao* L.) fino y ordinario de producción nacional durante la fermentación (en línea).

Beckett ST (2000). *The Science of Chocolate*. edn: Cambridge, UK.

Beckett ST (2008). *The Science of Chocolate*. 2nd edn. The Royal Society of Chemistry: Cambridge, UK.

Belitz HD, Grosch W, Schieberle P (2009). *Food Chemistry*. edn. Springer: Munich, Germany.

Benzie, IFF. Strain, JJ. 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power: The FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, 239: 70–76

Brand-Williams, W.; Cuvelier, M. E.; Berset, C. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel Wissenschaft und Technologie*, 28: 25-30

Braudeau, J. 1970. *El Cacao*, Traducido por A. Hernández C., Barcelona, España, Editorial Blumé, 185 234 p.

Brito ES, Pezoa-García NH, Gallão MI, Cortelazzo AL, Feveireiro PS, Braga MR (2000). Structural and chemical changes in cocoa (*Theobroma cacao* L) during fermentation, drying and roasting. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **81**: 281-288.

Borbor. F., Vera, M. Manual del cultivo del cacao para productores. Unidad Ejecutora del Programa Corporación de Promoción de Exportaciones e Inversiones CORPEI, y Co-Ejecutor Asociación Nacional de Exportaciones de cacao ANECACACO, Quito-Ecuador, pág. 47.

Bustamante, D. 2014. Determinación de compuestos antioxidantes en subproductos de cacao “testa”. Tesis Lic. Ing. Quim. Universidad Técnica Particular de Loja, Ecuador.

Cadena, C., Herrera, A., 2008. Evaluación del efecto del procesamiento del cacao sobre el contenido de polifenoles y su actividad antioxidante. Trabajo de grado para obtener título en Química. Universidad Industrial de Santander, Colombia

Calderón, L. 2002. Evaluación de los compuestos fenólicos del cacao (*Theobroma cacao* L.) de tipo fino y ordinario de producción Nacional durante la fermentación en relación con la calidad.

Chávez, R., Ordoñez, E. Polifenoles Totales, Antocianinas y Capacidad Antioxidante (DPPH y ABTS) durante el procesamiento del licor y polvo de cacao. *Rev. ECI Perú* **2013**, 10, 42-49.

Ciferri R, Ciferri F (1957). The evolution of cultivated cacao. *Evolution* **11**: 381-397.

Codex-alimentarius (1981). Norma para el chocolate y los productos del chocolate Vol. CODEX STAN 87-1981, p 12.

Coe Michael D, Coe Sophie D. (2013). The True History of Chocolate. Thames and Hudson, Third edition, p 280. New York.

Cros, E.; Mermet G.; Jeanjean N.; y Georges G. 1994. Relation précurseurs développement de l'arôme cacao. In 11° Conferencia Internacional de Investigación en Cacao, (11, 1993, Coted' Ivoire) Memorias, Lagos, Nigeria, Cocoa Producer's Alliance. 723 – 726 p.

Cros, E. 1997. Torréfaction. In: Cacao et Chocolat Production et caractéristiques. Lavoisier (Paris), à paraître. Disponible en www.redcacao.info.ve/memorias/pdf/11:pdf

Cros, E. 2000. Factores condicionantes de la calidad del cacao (en línea). CIRAD-CP, Maison de la Technologie, BP 5035, 34032 Montpellier Cedex 1, Francia. Disponible en: <http://www.redcacao.info.ve/memorias/html/02.html>.

Cros, E. 2004. Factores que afectan el desarrollo del sabor a cacao, bases Bioquímicas del perfil aromático. In Taller Internacional de Calidad Integral de cacao Teoría y Práctica (15 17 nov. / 2004). Memorias INIAP. Quevedo, Ecuador, 20 p.

di Tomaso E, Beltramo M, Piomelli D. Brain cannabinoids in chocolate. *Nature*. 1996; **382**, 677-678.

Enríquez (2004). Cacao orgánico, Guía para productores Ecuatorianos. INIAP. Manual No. 54, Quito – Ecuador, 2004, pág. 39-294.

Fraundorfer F, Schieberle P. 2006. Identification of the key aroma compounds in cocoa powder based on molecular sensory correlations. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **54**: 5521-5529.

Fraundorfer F, Schieberle P. 2008. Changes in Key Aroma Compounds of Criollo Cocoa Beans During Roasting. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*.

Gill M, MacLeod AJ, Moreau M. 1984. Volatile components of cocoa with particular reference to glucosinolate products. *Phytochemistry* **23** (9): 1937-1942.

García-Alamilla P, Salgado-Cervantes MA, Barel M, Berthomieu G, Rodríguez-Jiménez GC, García-Alvarado MA (2007). Moisture, acidity and temperatura evolution during cacao drying. *Journal of Food Engineering* **79**: 1159-1165.

Gill, M. MacLeo, AJ. Moreau, M. 1984. Volatile components of cocoa with particular reference to glucosinolate products. *Phytochemistry* **23**(9): 1937-1942.

González, Jiménez, E. 2007. Denominación de origen Cacao Chuao, (FAO) OdINuplAylA (ed), pp 1-62: FAO y IICA.

Graziani, L. F. 2003. Calidad del cacao, Memorias del Primer Congreso Venezolano del Cacao y su Industria, Instituto de Química y Tecnología, Facultad de Agronomía. UCV.

Guehi, TG. Zahouli, IB. Ban-Koffi, L. Fae, MA. Nemlin, JG. 2010. Performance of different drying methods and their effects on the chemical quality attributes of raw cocoa material. *International Journal of Food Science and Technology* **45**: 1564-1571.

Hii, CL. Law, CL. Cloke, M. Suzannah, S. 2009. Thin layer drying kinetics of cocoa and dried product quality. *Biosystems Engineering* **102**: 153-161.

Jeanjean N. 1995. Influence du génotype, de la fermentation et de la torréfaction sur le développement de l'arôme cacao. Rôle des précurseurs d'arôme. Thèse de Doctorat, Université de Montpellier II, p. 200.

Jinap, S. Thien, J. 1994. Effect of drying on acidity and volatile fatty acids content of cocoa beans. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **65**: 67-75.

Jinap, S. Wan-Rosli, WI. Russly, AR. Nordin, LM. 1998. Effect of roasting time and temperature on volatile component profiles during nib roasting of cocoa beans (*Theobroma cacao*). *Journal of the Science of Food Agriculture* **77**: 441-448.

Jiménez, J.C. 2003. Prácticas del Beneficio del Cacao y su Calidad Organoléptica, 12 p. mimeografiado.

Lagunes-Galvez, S. Loiseau, G. Paredes, JL. Barel, M. Guiraud, JP. 2007. Study on the microflora and biochemistry of cocoa fermentation in the Dominican Republic. *International Journal of Food Microbiology* **114**: 124-130.

Liendo, R. Padilla, F. Quintana, A. 1997. Characterization of cocoa butter extracted from criollo cultivars of *Theobroma cacao* L. *Food Research International* **30**(9): 727-731.

Liendo, Rigel J. 2004. El Beneficio del Cacao. Revista Digital CENIAP HOY No. 5,. Maracay, Aragua, Venezuela. Disponible en www.ceniap.gov.ve/ceniaphoy/articulos/ns/arti/rliendo2.htm

Llamas O, J. (2007). El cacao. *Revista de la Asociación Nacional de Tiendas de Autoservicio y Departamentales, A. C. (ANTAD)*

López, B. O. 1984. Herencia de los caracteres de la semilla de cacao (*Theobroma cacao*, L.). Tesis Ms. Sc. Turrialba Costa Rica. IICA 74 p.

López-Munguía Canales, A. El Chocolate: un arsenal de sustancias químicas. *Revista Digital Universitaria*. 2011; 12 (4): 3-10.

Luna, F. Crouzillat, D. Cirou, L. Bucheli, P. 2002. Chemical Composition and Flavor of Ecuadorian Cocoa Liquor. *J. Agric. Food Chem*, 50, p. 3527_3532.

Meyer, B. Biehl, B. Bin Said, M. Samarakoddy, R. 1989. Post-harvest pod storage: A method for pulp preconditioning to impair strong nib acidification during cocoa fermentation in Malaysia. *J. Sci. Food Agric*. 48:285-304.

Miller, K.B. Stuart, D.A. Smith, N.L. Lee, C.Y. McHale, N.L. Flanagan, J.A. Ou, B. Hurst W.J. 2006. Antioxidant activity and polyphenol and procyanidin contents of selected commercially available cocoa containing and chocolate products in the United States. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **54**(11): 4062-4068.

Moreira, D. M. 1994. La Calidad del Cacao, *Revista INIAP* No 4, 24 26.

Navarrete, J. 1992. Evaluación de tiempos y métodos de fermentación con diferentes volúmenes de cacao (*Theobroma cacao* L.) de ascendencia nacional, para condiciones tropicales húmedas.

Nazaruddin, R. Hassan, O Said, M. Samsudin, W. Idris, NA. 2005. Influence of roasting conditions on volatile flavor of roasted malaysian cocoa beans. *Journal of Food Processing and Preservation* **30**: 280-298.

Nazaruddin, R. Seng, L. Hassan, O. Said, M. 2006. Effect of pulp preconditioning on the content of polyphenols in cocoa beans (*Theobroma cacao*) during fermentation. *Industrial Crops and Products* **24**: 87-94.

Nogales, J. Graziani, L. Ortiz-Bertorelli, L. 2006. Cambios físicos y químicos durante el secado al sol del grano de cacao fermentado en dos diseños de cajones de madera. *Agronomía Tropical* **56**: 5–20.

NMX-F-093-SCFI-2014, Alimentos-Manteca de cacao-Especificaciones.

Noor-Soffalina, SS. Jinap, S. Nazamid, S. Nazimah, SAH. 2009. Effect of polyphenol and pH on cocoa Maillard-related flavour precursors in a lipidic model system. *International Journal of Food Science and Technology* **44**: 168-180.

Norma Oficial Mexicana NOM-186-SSA1/SCFI-2002, Productos y servicios. Cacao, productos y derivados. I Cacao. II Chocolate. III Derivados. Especificaciones sanitarias. Denominación comercial.

Oberparleiter, S. Ziegleder, G. 1997. Amyl alcohols as compounds indicative of raw cocoa bean quality. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und-Forschung A* **204**: 156-160.

Organización Mundial de la Salud (2009). Enfermedades Cardiovasculares.

Ortiz, L. Graziani, L. Rovedas, L. 2009. Influencia de varios factores sobre características del grano de cacao fermentado y secado al sol. *Agronomía Tropical* **59**(2): 119-127.

Otham, A. Ismail, A. Ghani, N. Adenan, I. Antioxidant capacity and phenolic content of cocoa beans. *Food Chemistry*. Vol. 100 (2005); p. 1523-1530.

Ovaco, V. Pineda, LL. Los residuos de cacao (*Theobroma cacao* L.) como fuente alternativa de antioxidantes. (Tesis Ing. Industrias Agropecuarias. Loja, Ecuador. Universidad Católica de Loja, 2011. 42p.

Paredes, A. M. Rehabilitación – Renovación en Cacao, Convenio USAID/CONTRADROGAS, Lima – 2000

Páramo, D. García-Alamilla, P. Salgado-Cervantes, MA. Robles-Olvera, VJ. Rodríguez-Jiménez, GC. García-Alvarado, MA. 2010. Mass transfer of water and volatile fatty acids in cocoa beans during drying. *Journal of Food Engineering* **99**: 276-283.

Pérez, R. 1999. Manejo postcosecha del Cacao, INIAP, Quevedo, Ecuador. 12 p. mimeografiado.

Pulido, R. Bravo, L. Saura-Calixto, F. 2000. Antioxidant activity of dietary polyphenols as determined by a modified ferric reducing/ antioxidant power assay. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 48: 3396-3402

Pons-Burelo, CI. Evaluación mediante la tecnología NIRS de los insumos, su transformación y el chocolate elaborado con cacao (*Theobroma cacao* L.) de Tabasco. Maestro en Ciencias, Colegio de Postgraduados, H. Cárdenas, Tabasco, 2010.

Portillo, E. Graziani, L. Betancourt, E. 2004. Influence of drying on cocoa aroma development. *Chocolate Technology International ZDS Symposium*, Köln, Germany. p12.

Portillo E, Graziani L, Betancourt E (2007). Análisis químico del cacao criollo porcelana (*Theobroma cacao* L.) en el sur del lago de Maracaibo. *Revista de la Facultad de Agronomía (LUZ)* **24**: 522-546.

Portillo, E. Labarca, M. Grazziani, L. Cros, E. Assemat, S. Davrieux, F. 2009. Aroma formation of criollo cocoa (*Theobroma cacao* L.) in function of the postharvest treatment in Venezuela. *Revista Científica UDO Agrícola* **9(2)**: 458-468.

Ramírez, MB. Cely, VH. Ramírez, SI. Actividad antioxidante de clones de cacao (*Theobroma cacao* L.) finos y aromáticos cultivados en el estado de Chiapas-México. *Perspect Nutr Humana*. 2013; 15: 27-40.

Ramos, G. Ramos, P. Azócar, A. 2000. Beneficio del Cacao, Manual del Productor de cacao, Mérida Venezuela, p. 58 69.

Rodríguez-Campos, J. Escalona-Buendía, HB. Orozco-Avila, I. Lugo-Cervantes, E. Jaramillo-Flores, E. (2011). Dynamics of volatile and non-volatile compounds in cocoa (*Theobroma cacao* L.) during fermentation and drying processes using principal components analysis. *Food Research International* **44**: 250-258.

Romero, G. 2004. Mercadeo nacional e internacional del cacao. Taller Internacional de Calidad Integral de cacao Teoría y Práctica (15-17 nov. / 2004, Quevedo – Ecuador). Memorias INAP. Quevedo, Ecuador. 20 p.

Rondón, JB. Cumana-Campos, LJ. 2005. Revisión Taxonómica del género *Theobroma* (*Sterculiaceae*) en Venezuela. *Acta Botánica Venezolánica* **28** (1): 113-134.

Saltos, A. 2005. Efecto de métodos de fermentación, frecuencias de remoción y volúmenes variables de masa fresca de cacao sobre la calidad física y organoléptica del “Complejo Nacional Trinitario”. Tesis Ing. Agr. Universidad de Guayaquil, Vines – Ecuador. 59 p.

Schnermann, P. Schieberle, P. 1997. Evaluation of key odorants in milk chocolate and cocoa mass by aroma extract dilution analyses. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **45**: 867-872.

Schwan, R. López, A. Silva, D. Vanetti, M. 1990. Influencia de frecuencia e intervalos de revolventos sobre a fermentação e qualidade do chocolate. *Agrotropica* 2(1):22-31.

Schwan, RF. Wheals, AE. 2004. The microbiology of cocoa fermentation and its role in chocolate quality. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* **44**: 205-221.

Serra-Bonvehí, J. 2005. Investigation of aromatic compounds in roasted cocoa powder. *European Food Research and Technology* **221**: 19-29.

SIAP/SAGARPA (2010). Sistema de Información Agrícola y Pesquera: Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación.

Singleton, VL. Rossi, JAJr. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Amer. J. Enol. Viticult.* **16**:144-58, 1965.

Soria, V. Principales Variedades de Cacaco Cultivadas en América Tropical. Primera Edición, Editorial Orton IICA/CATIE, Turrialba-Costa Rica, 1966, pág. 261-266.

Suazo, Y. Davidov-Pardo, G. Arozarena, I. 2014. Effect of fermentation and roasting on the phenolic concentration and antioxidant activity of cocoa from Nicaragua. *Journal of Food Quality* 37(1): 50-56.

Taylor, AJ Roberts, DD. 2004. *Flavor Perception*. edn: Oxford, UK.

Thompson, SS. Miller, KB. Lopez, AS. 2001. Cocoa and coffee. In: Doyle, M.J., Beuchat, Wollgast, J. and Anklam, E. 2000. Polyphenols in chocolate: is there a contribution to human health? *Food Research International* ,**33**, 449– 459.

Vázquez-López, A. Mora-Aguilera, JA. Cárdenas-Soriano, E. Téliz-Ortiz, D. 2009. Etiología e histopatología de la muerte descendente de árboles en el estado de Guerrero, México. *Agrociencia* **43**:717-728.

Vera, J. Suárez, C. Moreira, M. 1993. Beneficio del cacao, Ed. Suárez, C. Manual del cultivo de cacao. Quevedo Ec. p. 125128.

Vertuani, S. Scalambra, E. Vittorio, T. Bino, A. Malisardi, G. Baldisserotto, A. Manfredini, S. 2013. Evaluation of Antiradical Activity of Different Cocoa and Chocolate Products: Relation with Lipid and Protein Composition. *Journal of Medicinal Food* **17** (4), 512–516

Vinson, JA. Proch, J. Zubik, L. Fenol Antioxidant Quantity and Quality in Foods: cocoa, dark chocolate, and milk chocolate. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 1999. **47**: 4821-4824.

Voltz, M. 1990. Glossary of terms for sensory evaluation of cocoa materials, NESTLE Research Center Lausaune. 12 p.

Weissberger, W. Kavanagh, TE. Keeney, PG. 1971. Identification and quantitation of several nonvolatile organic acids of cocoa beans. *Journal of Food Science* **36**(6): 877

Wollgast, J. Anklam, E. Review on polyphenols in Theobroma cacao: changes in composition during the manufacture of chocolate and methodology for identification and quantification. *Food Research International* **2000**, 33 (6), 423-447.

Wood, G. 1982. Cacao, Trad. por Marino, Primera edición en español, Compañía Editorial Continental S.A. , México D.F. p. 255-274.

Ziegleder, G. Biehl, B. 1988. Analysis of cocoa flavour components and flavor precursors. In: Lickens HF, Jackson JF (ed)(eds). *Analysis of Non Alcoholic*

Beverages, Methods of Plant Analysis, edn. Heidelberg, Germany: Springer Verlag. p. 321-393.

Ziegleder, G. 1991. Composition of flavor extracts of raw and roasted cocoas. *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und-Forschung A* **192**: 521-525.

10. APENDICE

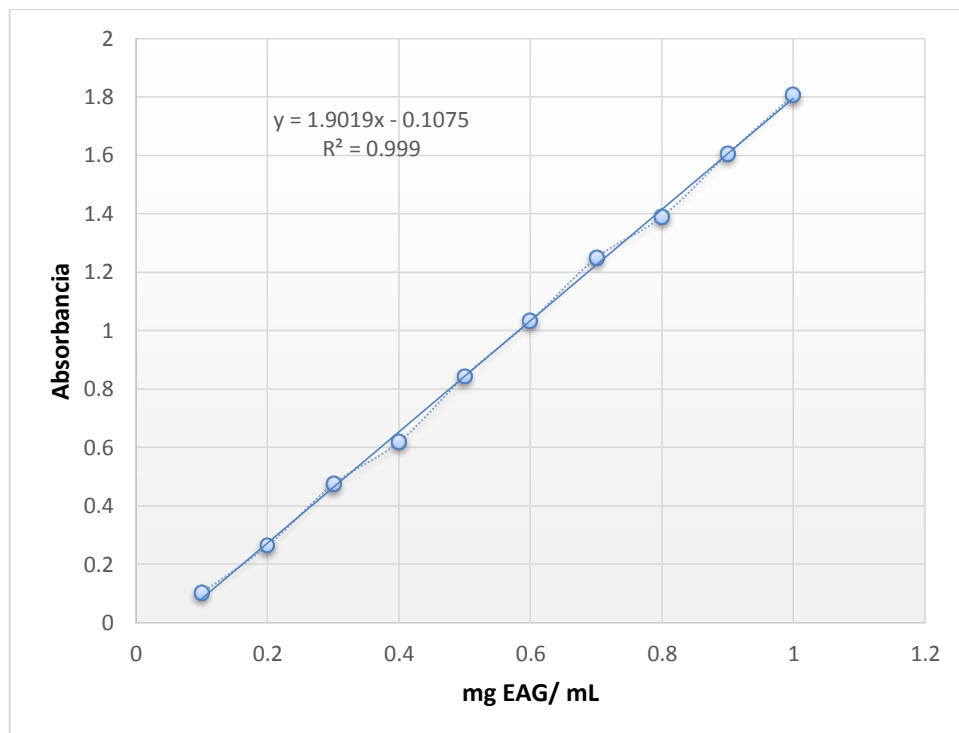


Figura 24. Curva estándar para la cuantificación de polifenoles totales por el método Folin-Ciocalteu (Singleton y Rossi, 1965).

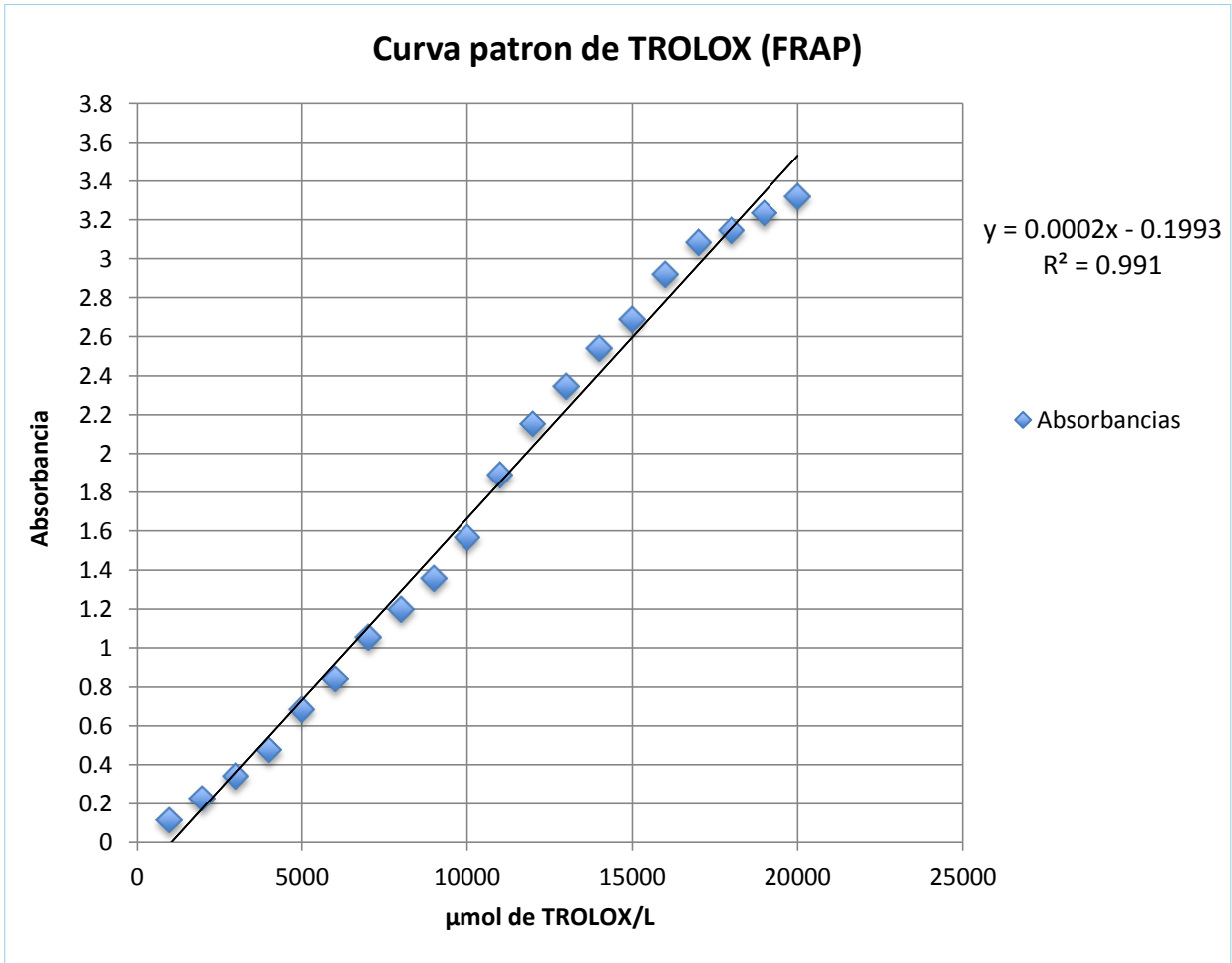


Figura 25. Curva estándar para la cuantificación de μmol de TROLOX/L por el método de Benzie y Strain (1996).