



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE CHIAPAS
DES CIENCIAS AGROPECUARIAS
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS
CAMPUS V**



**Contenido de antioxidantes en semillas de clones de cacao del
municipio de Tecpatán, Chiapas durante el beneficio y
transformación a chocolate de mesa**

TESIS

**Que para obtener el grado de
MAESTRA EN CIENCIAS EN PRODUCCIÓN AGROPECUARIA
TROPICAL**

**Presenta
LAURA PATRICIA MESA ENGATIVÁ**

**Director de tesis
Dr. ORLANDO LÓPEZ BÁEZ**

**Villaflores, Chiapas, México
Febrero de 2016**



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE CHIAPAS
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS
CAMPUS V
DIRECCIÓN



VILLAFLORES, CHIAPAS
09 DE FEBRERO DE 2016
OFICIO N° D/166/16

C. LAURA PATRICIA MESA ENGATIVÁ
MAESTRANTE EN CIENCIAS EN PRODUCCIÓN AGROPECUARIA TROPICAL
DE LA FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS
P R E S E N T E.

En atención a que usted ha presentado los votos aprobatorios del Honorable Jurado, designado para su evaluación profesional, de la tesis titulada: "**Contenido de antioxidantes en semillas clones de cacao del municipio de Tecpatán – Chiapas durante el beneficio y transformación a chocolate de mesa**", por este conducto le comunico que se le autoriza la impresión del documento, de acuerdo a los lineamientos vigentes de la Universidad.

Sin otro particular, le envío un cordial saludo.

ATENTAMENTE
"POR LA CONCIENCIA DE LA NECESIDAD DE SERVIR"


M. C. JAIME LLAVÉN MARTÍNEZ
DIRECTOR



C. c. p. Archivo

DEDICATORIA

A Dios...

Por la oportunidad que me ha dado de vivir...
Porque su propósito ha sido que esté hoy, culminando satisfactoriamente mis estudios en otro país, lejos de mi familia pero siempre de su mano y con su bendición.
A él porque es y será siempre el motor y eje fundamental en mi vida y porque sin él, nada de esto hubiera sido posible.

A mis padres Esperanza y Gundisalvo...

Por su apoyo incondicional, sus esfuerzos y sacrificios, su invaluable cariño e inmensa confianza que han depositado siempre en mí. A ellos porque aunque nos separen miles de kilómetros de distancia, nunca me han abandonado y han estado dispuestos a escuchar y aconsejar, a dar ese amor único y verdadero.

A mi hermano y familia...

A Fabio por su confianza y ejemplo, a mi tía Teresa, Pili, Mariana y Emiliano por su apoyo y comprensión y a la familia porque desde Colombia elevan plegarias de bendiciones para mí.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología de México –CONACYT, por el apoyo financiero otorgado a través de la beca de postgrado.

Al comité de selección de la Universidad Autónoma de Chiapas por creer y confiar en mis capacidades al permitirme ingresar y hacer parte de la 7ª generación de la MCPAT. A su cuerpo de docentes por brindar sus conocimientos, experiencias y consejos a fin de formarme como Maestra.

Al Doctor Orlando López Báez, director de tesis, por su apoyo, confianza, orientación y entrega incondicional. Por su amistad y ejemplo de vida.

A la Doctora Sandra Isabel Ramírez González, asesora, por la invitación a emprender este proceso de aprendizaje, por la confianza que aún sin conocerme quiso depositar en mí, por su apoyo y sus consejos. Por su amistad y ejemplo de vida.

Al Doctor Saúl Espinosa Zaragoza, asesor, por su confianza, apoyo y colaboración para el desarrollo de esta investigación, por su amistad.

A la Maestra María de los Ángeles Rosales Esquinca, asesora y coordinadora de investigación y postgrado de la Facultad de ciencias agronómicas por su confianza, comprensión y apoyo brindado a lo largo de este proceso.

A mis amigos, Andrea G., Luz Elena T., Wendy A., Angélica T., Marina Z., Lourdes Z., por brindarme esa amistad y compañía, por sus consejos, sus palabras de aliento y por estar ahí cuando más lo necesité, gracias por todos los recuerdos que dejan en mi mente y mi corazón.

Al grupo AUDES Cacao – Chocolate: Irving M., Eladio P., Isidro Z., Sara J. y Lyda O. quienes con su ayuda, apoyo y compañía hicieron posible culminar esta investigación.

A las familias: Jonapá Domínguez, Castañeda Jonapá, Ramos Jonapá, Jonapá Rincón, Ríos Jonapá y Castañeda Nolasco por ser parte de este logro alcanzado, porque su apoyo, su comprensión y cariño hicieron que mi estadía en este país fuera amena y agradable. Gracias por convertirse en mi “Familia Mexicana”.

A los productores de cacao de la SPR Cacao Tecpateco del municipio de Tecpatán, por compartirme sus experiencias y por facilitarme los frutos de cacao para el desarrollo de esta investigación.

A todos, Gracias...



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE CHIAPAS
DES CIENCIAS AGROPECUARIAS
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS
CAMPUS V**



Esta tesis titulada CONTENIDO DE ANTIOXIDANTES EN SEMILLAS DE CLONES DE CACAO DEL MUNICIPIO DE TECPATÁN – CHIAPAS DURANTE EL BENEFICIO Y TRANSFORMACIÓN A CHOCOLATE DE MESA forma parte del proyecto de investigación caracterización morfológica y molecular y evaluación agronómica preliminar de materiales de zapote mamey (*Pouteria sapota Jacq. Moore & Stearn*) y cacao (*Theobroma cacao L.*) seleccionados en Chiapas con potencial comercial financiado por el CONACYT, la SPR Cacao Tecpateco, la UNACH y el COCYTECH, bajo la dirección del Dr. Orlando López Báez.

Se incluye en la Línea de Generación y Aplicación del Conocimiento de AGROECOLOGÍA Y AGRICULTURA ORGÁNICA del CUERPO ACADÉMICO EN AGRICULTURA TROPICAL ECOLÓGICA.

Se incluye en la Línea de Generación y Aplicación del Conocimiento de SISTEMAS AGRÍCOLAS TROPICALES del Programa de MAESTRÍA EN CIENCIAS EN PRODUCCIÓN AGROPECUARIA TROPICAL.



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE CHIAPAS
DES CIENCIAS AGROPECUARIAS
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS
CAMPUS V**



Esta tesis titulada **CONTENIDO DE ANTIOXIDANTES EN SEMILLAS DE CLONES DE CACAO DEL MUNICIPIO DE TECPATÁN – CHIAPAS DURANTE EL BENEFICIO Y TRANSFORMACIÓN A CHOCOLATE DE MESA**, fue realizada por la Ing. **LAURA PATRICIA MESA ENGATIVÁ**, bajo la dirección y asesoría del Comité Tutorial indicado, como requisito parcial para obtener el grado de **MAESTRA EN CIENCIAS EN PRODUCCIÓN AGROPECUARIA TROPICAL**.

COMITÉ TUTORIAL

DIRECTOR

Dr. ORLANDO LÓPEZ BÁEZ

ASESORES:

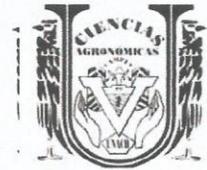
Dra. SANDRA RAMIREZ GONZÁLEZ

Dr. SAUL ESPINOSA ZARAGOZA

M.C. MARÍA DE LOS ÁNGÉLES ROSALES ESQUINCA



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE CHIAPAS
DES CIENCIAS AGROPECUARIAS
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS
CAMPUS V**



Esta tesis titulada **CONTENIDO DE ANTIOXIDANTES EN SEMILLAS DE CLONES DE CACAO DEL MUNICIPIO DE TECPATÁN – CHIAPAS DURANTE EL BENEFICIO Y TRANSFORMACIÓN A CHOCOLATE DE MESA**, realizada por la Ing. LAURA PATRICIA MESA ENGATIVÁ, ha sido aprobada por la Comisión Revisora indicada, como requisito parcial para obtener el grado de MAESTRA EN CIENCIAS EN PRODUCCIÓN AGROPECUARIA TROPICAL.

COMISIÓN REVISORA

Dr. ORLANDO LÓPEZ BÁEZ

Dra. SANDRA RAMIREZ GONZÁLEZ

Dr. SAÚL ESPINOSA ZARAGOZA

CONTENIDO

INDICE DE CUADROS	ix
INDICE DE FIGURAS	x
INDICE DE ANEXOS	xii
RESUMEN	xiii
ABSTRACT	xiv
1. INTRODUCCIÓN	1
1.1 Objetivos.....	2
1.1.1. Objetivo general	2
1.1.2. Objetivos específicos.....	2
2. REVISIÓN DE LITERATURA.....	3
2.1 Producción mundial de cacao.....	3
2.1.1 Producción de cacao en México	3
2.1.2 Comercialización de cacao y productos a base de cacao.....	5
2.2. Procesamiento del cacao	7
2.2.1. Fermentación de semilla de cacao.....	7
2.2.2 Secado de semilla de cacao	11
2.2.3. Tostado de semilla de cacao	12
2.3. Los antioxidantes.....	12
2.3.1 Los antioxidantes en los alimentos	14
2.3.2. Antioxidantes en el cacao	14
2.3.3 Procesos que impactan la concentración de los antioxidantes	16
3. MATERIALES Y MÉTODOS	20
3.1 Ubicación geográfica	20
3.2 Materiales	20
3.2.1 Material vegetal.....	20
3.2.2 Material de laboratorio	20
3.3 Métodos.....	21
3.3.1 Fase I - Estudio y selección de pastas de cacao	21
3.3.2 Fase II - Evaluación del beneficio sobre el contenido de antioxidantes	30
3.3.3 Fase III - Evaluación de la torrefacción durante la elaboración de chocolate de mesa sobre el contenido de antioxidantes	38
3.3.4. Fase IV – Elaboración del chocolate de mesa con alto contenido de antioxidantes.....	40
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	49
4.1 Fase 1: Estudio y selección de pastas de cacao	49
4.2 Fase II - Evaluación del beneficio sobre el contenido de antioxidantes.....	56
4.2.1 Fermentación	56
4.2.2. Análisis de semillas fermentadas y secas al sol	65
4.3. Fase III – Evaluación de la torrefacción sobre la actividad antioxidante.....	69
4.4 Fase IV – Elaboración del chocolate de mesa con actividad antioxidante	72

5. CONCLUSIONES	78
6. LITERATURA CITADA.....	79
APÉNDICE.....	87

INDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Producción de cacao en México para el año 2014.	5
Cuadro 2. Variables cuantificadas en pastas de cacao en la fase I.	23
Cuadro 3. Codificación de las muestras de chocolate prueba de medición del grado de satisfacción en consumidores.	46
Cuadro 4. Resultados de propiedades químicas de pastas de cacao.	49
Cuadro 5. Análisis proximal de 15 pastas de cacao elaboradas con semillas de clones de Tecpatán.	54
Cuadro 6. Temperatura ambiente del recinto donde se desarrolló el proceso de fermentación de los clones de cacao.	58
Cuadro 7. Resultados del índice de fermentación en prueba de corte de semillas de cacao fermentadas y secas.	67
Cuadro 8. Contenido de antioxidantes en semillas de cacao tostadas.	71
Cuadro 9. Contenido de antioxidantes en chocolate de mesa elaborados a partir de semillas de clones de cacao procedentes de Tecpatán, Chiapas.	72
Cuadro 10. Rangos de edades de grupos de personas participantes en la degustación de chocolate de mesa.	75
Cuadro 11. Comparación de medias de grado de satisfacción de chocolates de mesa por consumidores.	77

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Estructura del polifenol antioxidante.....	13
Figura 2. Descripción de actividades de la fase I.	21
Figura 3. Pastas de cacao pulverizadas.....	23
Figura 4. Preparación de las muestras de pasta para determinación del pH y la acidez.....	24
Figura 5. Determinación de pH en pastas de cacao.....	24
Figura 6. Titulación para determinación de acidez.	25
Figura 7. Determinación de humedad. a) Estufa de secado. b) Desecador.....	26
Figura 8. Crisoles con muestra en estufa de secado.	26
Figura 9. Carbonización de pastas de cacao.	27
Figura 10. Determinación de cenizas. a) Calcinación en mufla. b) Ceniza.	27
Figura 11. Equipo Soxhlet para la extracción de grasa.	28
Figura 12. Montaje de muestra para extracción de grasa.	28
Figura 13. Muestras de grasa obtenidas de pastas de cacao.	29
Figura 14. Cocoa obtenida de muestras de pastas de cacao a las cuales se les extrajo la grasa.....	29
Figura 15: Descripción de actividades de la fase II.....	31
Figura 16. Fruto cosechado del clon 233.	32
Figura 17. Frutos descartados (diferente grado de maduración).....	32
Figura 18. Preparación de semillas de clones a fermentar (se aprecia la bolsa de malla para separar las semillas de cada clon).	33
Figura 19. Mazorcas utilizadas como masa global.....	33
Figura 20. Llenado de cajón de fermentación de cacao.....	34
Figura 21. Cajón de fermentación construido con madera.....	34
Figura 22. Secado al sol. a) muestreos para antioxidantes. b) clones y masa global.	35
Figura 23. Determinación de pH. a) Testa. b) pH en cotiledón.....	36
Figura 24. Medición de sólidos solubles (%) a) Refractómetro portátil b) escala de medición de refractómetro (2%).	36
Figura 25. Puntos de medición de temperatura de masa en cajón de fermentación.....	37
Figura 26. Lotes de semillas por clon para tostado.....	38
Figura 27. Grano de cacao para tostar. a) Grano limpio. b) Grano vano e impurezas.....	39
Figura 28. Torrefacción del grano de cacao.....	39
Figura 29. Diagrama del proceso de elaboración del chocolate de mesa.	40
Figura 30. Descascarado del grano. a) grano tostado. b) testa de granos. c) nibs para moler.....	41
Figura 31. Molienda de los nibs.....	42
Figura 32. Refinado de la pasta.	43
Figura 33. Pesado y moldeo de chocolate.	43

Figura 34. Chocolates para refrigeración.	44
Figura 35. Chocolates elaborados con semillas clones de cacao.	44
Figura 36. Selección de códigos para muestras en tabla de números aleatorios.....	45
Figura 37. Preparación de prueba de medición del grado de satisfacción.	46
Figura 38. Grupos de participantes en la prueba de degustación de chocolates.	47
Figura 39. Comportamiento de la temperatura de la masa de cacao durante la fermentación de semillas de cinco clones cacao.	57
Figura 40. Comportamiento de pH en semillas de cinco clones de cacaos producidos en el municipio de Tecpatán, Chiapas durante tres fermentaciones diferentes.	59
Figura 41. Comportamiento de sólidos solubles en semillas de cinco clones de cacaos producidos en el municipio de Tecpatán, Chiapas durante tres fermentaciones diferentes.....	60
Figura 42. Contenido de antioxidantes en la semilla de cinco clones de cacaos producidos en el municipio de Tecpatán, Chiapas durante tres fermentaciones diferentes.	62
Figura 43. Relación del color con el contenido de antioxidantes de los extractos etanólicos de semillas de clones de cacao utilizados para la determinación del contenido de antioxidantes con la técnica de ABTS.	65
Figura 44. Prueba de corte de semillas de cacao fermentadas y secas.	66
Figura 45. Aspectos de granos de clones de cacao durante la prueba de corte.	66
Figura 46. Valores del pH de los granos de cacao de 4 clones antes y después del secado al sol.	69
Figura 47. Efecto de la fermentación y el tostado de granos de cacao de cinco clones sobre el contenido de antioxidantes.	70
Figura 48. Aspecto de las pastas de chocolate después del refinado.....	74
Figura 49. Gráficas de las preferencias por grupos de consumidores.	76

INDICE DE ANEXOS

Cuadro A 1. ANOVA de Sólidos solubles (%) en 15 pastas de cacao	88
Cuadro A 2. ANOVA de pH en 15 pastas de cacao	88
Cuadro A 3. ANOVA de acidez (%) en 15 pastas de cacao.....	88
Cuadro A 4. ANOVA de contenido de antioxidantes (mM de ácido ascórbico·g ⁻¹ de cacao) en 15 pastas de cacao	88
Cuadro A 5. ANOVA de humedad (%) en 15 pastas de cacao	89
Cuadro A 6. ANOVA de cenizas (%) en 15 pastas de cacao.....	89
Cuadro A 7. ANOVA de grasa (%) en 15 pastas de cacao	89
Cuadro A 8. ANOVA para Temperatura (°C), pH de Testa, Sólidos solubles (%) y contenido de Antioxidantes durante las fermentaciones del clon 233.....	90
Cuadro A 9. Temperatura (°C) de masa en cajón de fermentación de cinco clones de cacao	92
Cuadro A 10. Comportamiento del pH de testa de cinco clones de cacao durante la fermentación	93
Cuadro A 11. Comportamiento de los sólidos solubles de cinco clones de cacao durante la fermentación	93
Cuadro A 12. Contenido de antioxidantes en cinco clones de cacao durante el proceso de fermentación.....	94
Cuadro A 13. ANOVA del contenido de antioxidantes en tostado de cinco clones de cacao	94
Cuadro A 14. ANOVA del contenido de antioxidantes en chocolates de mesa.....	94
Cuadro A 15. ANOVA de prueba de medición de grado de satisfacción en chocolate de mesa	95
Figura A 1. Formato para prueba de medición de grado de satisfacción.....	87

RESUMEN

El cacao es una de las principales fuentes de antioxidantes, compuestos relacionados con las características organolépticas del cacao y sus subproductos como el chocolate; generando un interés creciente por el estudio de los compuestos antioxidantes desde el punto de vista nutricional, farmacéutico, industrial y funcional. Durante el manejo poscosecha y elaboración de chocolate, los granos de cacao son sometidos a diferentes procesos que comprenden la fermentación, el secado y la torrefacción, que son cruciales para el desarrollo de la calidad organoléptica pero que pueden afectar el contenido de antioxidantes.

En esta investigación se planteó estudiar el efecto de la fermentación, el secado y la torrefacción de granos de cacao sobre el contenido de antioxidantes durante el proceso de transformación a chocolate de mesa.

Para el estudio se utilizaron semillas de clones de cacao cultivado en Tecpatán, Chiapas, seleccionados por su productividad y calidad, por la Agencia Universitaria para el Desarrollo del Cacao (AUDES Cacao - Chocolate) de la UNACH.

La investigación se desarrolló en cuatro fases, en la primera se estudió el contenido de sólidos solubles, grasa, humedad, ceniza y la actividad antioxidante, en pastas de cacao elaboradas con semillas de 15 clones, para la determinación de la actividad antioxidante se utilizó el método de ABTS. A partir de los resultados obtenidos en esta fase, se seleccionaron cinco clones: uno de mayor contenido, tres de contenido medio y uno de bajo contenido de antioxidantes para el desarrollo de las fases posteriores.

En la fase II, las semillas se fermentaron en un cajón de madera por un periodo de 6 días con remoción de la masa cada 48 horas, momento en los que se les determinó el contenido de antioxidantes, además de otras variables como la temperatura de la masa de fermentación, el pH y el contenido de sólidos solubles. Luego de fermentadas las semillas se secaron al sol hasta alcanzar una humedad del 7%; y se les realizó una prueba de corte para evaluar el índice de fermentación.

En la fase III se estudió el efecto de la torrefacción sobre el contenido de antioxidantes; el tostado de las semillas se realizó a 140°C por un periodo de 20 minutos y se les determinó el contenido de antioxidantes.

En la fase IV se elaboró un chocolate de mesa con semillas de alto contenido de antioxidantes, con base en una formulación de chocolate de mesa dulce tipo artesanal (33,3% cacao y 66,6% azúcar); a los chocolates elaborados se les determinó el contenido de antioxidantes.

Como resultados de este estudio se encontró que el contenido de antioxidantes varía entre los genotipos estudiados, permitiendo identificar al clon 230 con el menor contenido (62,25 mM de ácido ascórbico g-1 de cacao) y el 269 con el de más alto valor (237.68 mM de ácido ascórbico g-1 de cacao).

El efecto de la fermentación en los cinco clones estudiados fue diferente, observándose cambios positivos y negativos en la actividad antioxidante, en dependencia del genotipo y del momento en que se realiza la fermentación.

Se logró determinar que la torrefacción provocó en todos los clones una reducción en el contenido de antioxidantes; en los clones 244 y 266 se observó una reducción del 35.6% del contenido siendo esta la mayor pérdida reflejada en los cinco clones estudiados; concluyendo así que la torrefacción es el punto crítico en la que se presenta una reducción significativa del contenido de antioxidantes.

A pesar de presentarse pérdidas del contenido de antioxidantes en los cinco clones seleccionados durante el proceso de beneficio y elaboración de chocolate de mesa, se puede afirmar que sí es posible elaborar un chocolate de mesa con valor agregado reflejado en un alto contenido de antioxidantes y que éste sobrepase el contenido de antioxidantes de chocolates comerciales.

PALABRAS CLAVE: Fermentación, Secado, Torrefacción, Calidad.

ABSTRACT

Cocoa is one of the main sources of antioxidants, compounds related to the organoleptic characteristics of cocoa and chocolate-products as; generating a growing interest in the study of antioxidant compounds from the point of nutritional, pharmaceutical, industrial and functional.

During the post-harvest handling and processing of chocolate, cocoa beans are subjected to different processes involving fermentation, drying and roasting, which are important for the development of the organoleptic quality but may affect the content of antioxidants.

This research was raised to study the effect of fermentation, drying and roasting of cocoa beans on the content of antioxidants in the chocolate transformation process.

For the study were used seeds of cacao clones cultivated in Tecpatán, Chiapas, selected for their productivity and quality for the University Agency for Cocoa Development (AUDES cacao-chocolate).

The research was conducted in four phases, in the first chocolate pastes elaborated from seeds of 15 clones were analyzed; the soluble solids content, fat and moisture content, ash and antioxidant activity were determined; for the determination of antioxidant activity was studied used the ABTS method. From these results obtained in this stage, five clones were selected; one for the higher antioxidants content, three for the average content and one for the low antioxidant content.

In phase II, the seeds were fermented in a wooden box for a period of 6 days with mass removal every 48 hours, at which they determined the content of antioxidants, and other variables such as temperature fermentation mass, pH and soluble solids content. After fermentation the seeds were sun dried until 7% of humidity content; and they underwent a cutting test to evaluate the rate of fermentation.

In phase III the effect of roasting on the antioxidant content was studied; roasting the seeds it was carried out at 140 °C during 20 minutes and the antioxidant content was analyzed.

In Phase IV a table chocolate was elaborated with seeds high in antioxidants, based on a formulation of chocolate sweet dessert artisan (33.3% cocoa and 66.6% sugar); to processed chocolates they were determined the antioxidant content.

As a result of this studied it was found that the antioxidant content varies between genotypes studied in order to identify the clone 230 with the lower content (62.25 mM ascorbic acid g-1 of cocoa) and 269 with the highest value (237.68 mM ascorbic acid g-1 of cocoa).

The effect of fermentation on five different clones studied was observed positive and negative changes in antioxidant activity, depending on the genotype and the time the fermentation.

It was determined that the roasting provoked in all clones a reduction in the content of antioxidants; in the clones 244 and 266 observed a reduction of 35.6 per cent of the content being this the greatest loss reflected in the five studied clones; thus concluding that the roasting is the critical point in that presented a significant reduction of the content of antioxidants.

Although presented losses of antioxidant content in the five clones selected during the beneficiation process and processing of chocolate table, we can say that it is possible to produce a chocolate table with added value reflected in a high content of antioxidants and this exceeds the antioxidant content of commercial chocolates.

KEYWORDS: Fermentation, Roasting, Drying, Quality.

1. INTRODUCCIÓN

En América Latina, los principales países productores de cacao son: Brasil, Ecuador, República Dominicana, Colombia, México, Venezuela y Perú (Organización Internacional del Cacao, 2003). Como materia prima, el cacao se ha convertido en el tercer producto más importante en el mundo para ser transformado en productos de mayor valor después del café y el azúcar. En la actualidad, el cacao ha tenido gran auge, para ciertos países como un cultivo aliado para combatir cultivos ilícitos como es el caso de Colombia y otros países de Suramérica.

Cada día la demanda de cacao aumenta, a diferencia de la oferta que se ve disminuida debido a factores como el clima, enfermedades, problemas políticos y culturales que ocasionan bajas de producción en el cultivo. La participación de México en el mercado mundial es como importador neto y la falta de producto se deriva de las enfermedades y el abandono del cultivo por parte de los campesinos, reduciendo con ello su producción y la falta de implementación de tecnologías en las plantaciones, las cuales algunas sobre pasan su edad productiva.

A través de los años el gobierno mexicano ha invertido en investigaciones que le permitan fortalecer y mejorar el cultivo, a fin de obtener granos de calidad que garanticen de la misma forma la calidad en el producto después de la transformación. La UNACH a través de la Agencia Universitaria para el Desarrollo del Cacao (AUDES Cacao - Chocolate), ha desarrollado protocolos de selección participativa de clones de cacao mediante la investigación, manejo orgánico de plagas y enfermedades en plantaciones del municipio de Tecpatán, Chiapas encontrando excelentes árboles con gran potencial productivo.

De lo que aún no se tiene conocimiento es de las propiedades químicas y nutricionales de las semillas obtenidas de estos árboles; además de ello, en la región existe un desconocimiento en cuanto a la correcta ejecución y el efecto que tiene el beneficio del grano sobre algunas propiedades nutricionales, siendo explícita para el caso del contenido de antioxidantes.

Debido a que el beneficio no se realiza de la mejor manera y donde las condiciones de clima, orografía y mala infraestructura vial dificultan la venta de la semilla, surge la idea de permitir que la agroindustria se vincule y haga parte de esta cadena, desarrollando técnicas de beneficio de la semilla y elaborando un chocolate de mesa con calidad nutricional que permita direccionar la mirada de los productores a nuevos mercados de alimentos funcionales y con ello la mejora de sus ingresos.

La demanda de alimentos funcionales ricos en sustancias antioxidantes, lleva a que se desarrollen investigaciones en búsqueda de alimentos que naturalmente sean fuentes de sustancias benéficas para el organismo humano. A razón de esto, es que

el cacao y el chocolate se convierten en tema de estudio para contrarrestar enfermedades cardiovasculares a partir de su alto contenido de polifenoles.

Estos contenidos presentes en la semilla, da a los productos derivados de esta un interés particular desde el punto de vista nutricional, farmacéutico y funcional; lo que ha generado un interés creciente por el estudio de los compuestos antioxidantes.

El presente trabajo surge de la necesidad de los productores de cacao de la Sociedad de Producción Rural Cacao Tecpateco por mejorar la calidad de las semillas de cacao producidas, buscando la oportunidad de ser más competitivos en el mercado de grano seco o generando alternativas tecnológicas que permitan darle valor agregado al grano y así transformarlo en un chocolate de mesa artesanal con antioxidantes.

1.1 Objetivos

1.1.1. Objetivo general

Determinar la influencia del beneficio y la elaboración del chocolate de mesa sobre el contenido de antioxidantes, presentes en semillas de clones de cacao de Tecpatán – Chiapas.

1.1.2. Objetivos específicos

- a) Determinar la interacción entre el genotipo y el beneficio sobre el contenido de antioxidantes de las semillas de clones de cacao.
- b) Identificar los puntos en el proceso de beneficio y elaboración de chocolate de mesa que provocan cambios en el contenido de antioxidantes.
- c) Elaborar un chocolate de mesa con valor agregado, reflejando el alto contenido de antioxidantes.

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Producción mundial de cacao

A principios del siglo XVI durante el tiempo de la conquista con la llegada de los españoles, el grado de importancia que se le era dado por parte de los indígenas a la semilla del cacao causa gran asombro entre la tripulación española, aun cuando no es bien percibido en el momento; tuvo que pasar 20 años para que en el regreso de Hernán Cortes, entendieran que el exquisito sabor de la bebida (xocoatl) preparada por los indígenas era una de las tantas razones del valor de la semilla. Es así como proceden a cambiar semillas por oro, y llevarse dicho fruto para España (Ibarra, 2003).

Desde ese entonces esa semilla y esa nueva bebida se propagó por todo el mundo, de la misma forma cada país la iba adoptando y adecuando según sus gustos y preferencias, a tal punto de llegar a convertirse en una bebida única para clases sociales privilegiadas. Ya luego para el siglo XIX es en Francia donde se inicia la industrialización y la transformación de la semilla a novedosas presentaciones (Polvo y pastilla) y se descubren algunas de sus propiedades curativas y medicinales.

Por ese tiempo, los colonizadores de África llevaron algunas semillas de cacao a Ghana, donde se inicia el cultivo para luego extenderse hacia Nigeria, Camerún y Costa de Marfil. Desde ese entonces hasta la fecha, se convierten en los mayores proveedores de la semilla a países Europeos, logrando ubicarse dentro de los 5 países de mayor producción en toneladas de cacao seco en el mundo (FAOSTAT, 2011).

Desde que se desarrolla la industria del chocolate, se dispara la producción del cacao a nivel mundial, centrándose su mayor producción en África (Ghana, Nigeria y Costa de marfil) Sur América (Brasil y Ecuador). Desde ese entonces África se posiciona como el productor número 1 del mundo aportando el 70% de la producción mundial de cacao (ICCO, 2011).

2.1.1 Producción de cacao en México

Así como el maíz, el cacao se ha convertido en la estructura económica y social de México, reconociendo que su domesticación fue dada por las culturas nativas de ese tiempo, hasta ser parte de la cadena productiva del país.

Hoy en día el crecimiento del cultivo se ha dado en los estados de Tabasco y Chiapas, principales productores a nivel nacional. De la misma forma Ibarra (2003) menciona que en gran parte la importancia que alcanzó el cultivo en la región,

permitió que se adoptara dentro de las tradiciones culturales y gastronómicas mexicanas.

Al hablar de México, las estadísticas señalan que el cultivo de cacao tiene gran ascenso para los años 80's y 90's, donde su producción alcanzó las 44.880 Toneladas, situándose en el productor número 9 del mundo, pero a la fecha es difícil mantener esa misma cifra, su liderazgo se vino abajo después de que sus plantaciones envejecieron y bajaron su rendimiento, los agricultores tuvieron que verse enfrentados a enfermedades y plagas que hicieron al cultivo costoso y poco rentable.

El cultivo ha perdido el interés por el agricultor y por el gobierno, lográndose con ello el abandono de algunas plantaciones y en otros casos la sustitución por otras especies.

Quizá el desconocimiento del cultivo y de las prácticas agrícolas necesarias para las plantaciones, las volvieron susceptibles a dichas enfermedades provocando en el mayor de los casos la pérdida de casi el 90 % del cultivo (Ramírez, 2008).

Como llegar a competir con otros países si el Comité Estatal Sistema Producto Cacao en Chiapas (2012), menciona que el área cultivada y la calidad del grano se ha visto afectada por la escasa tecnología, ya que su manejo se hace de forma tradicional, además que existe un desconocimiento por parte del agricultor sobre la aplicación de las prácticas poscosecha que garanticen un buen desarrollo de las propiedades físicas y organolépticas características del grano.

Además de ello, la baja en la producción de cacao ha decrecido en forma tal que ha generado una crisis económica en cerca de 50,000 familias cacaoteras, aumentándose así la pobreza en estas comunidades (González *et al.*, 2009).

Según el Panel AD HOC sobre el cacao Fino/de aroma, el cacao Mexicano se ha catalogado dentro del grupo de los mejores cacaos del mundo. El país cuenta con innumerables características importantes que permite clasificar al grano por su finura y excelente aroma (ICCO, 2011). Esto se convierte en una oportunidad para ingresar a los mercados europeos y asiáticos que demandan gran cantidad de cacao cultivado en sistemas orgánicos y de alta calidad (aroma y sabor).

A medida que se incrementa la demanda de cacao, los países africanos y suramericanos intensifican su producción, convirtiéndose cada vez más en los más fuertes a nivel mundial; para México las estadísticas muestran todo lo contrario, con el tiempo ha presentado un descenso considerable que lleva a ubicar al país en el quinto lugar dentro de los países latinos y el número 13 a nivel mundial, donde su producción no alcanza a ser el 0.5% de la mundial (FAO, 2013).

Según el SIAP, para el año 2011 México contaba con cerca de 61,000 hectáreas sembradas y una producción de 21,387 toneladas. “Actualmente en México existen plantaciones cacaoteras en las que predominan materiales tipo forastero de edad avanzada, los cuales se explotan solos o asociados con diversas especies maderables, frutales u ornamentales, mediante un manejo basado principalmente en fertilizantes inorgánicos y agroquímicos” (Aguirre *et al.*, 2007).

El SIAP reporta que para el 2014, el país tenía una producción de 26,969 toneladas de cacao, distribuidas en los estados de Tabasco, Chiapas y Guerrero. Estas cifras se presentan en el cuadro 1.

Cuadro 1. Producción de cacao en México para el año 2014.

Estado	Superficie sembrada (ha)	Superficie cosechada (ha)	Producción (t)
Tabasco	40,782.70	40,782.70	16,269.56
Chiapas	20,544.40	18,605.90	10,480.21
Guerrero	235.00	235.00	219.59
Total país	61,562.10	59,623.60	26,969.36

Fuente: siap.gob.mx

2.1.2 Comercialización de cacao y productos a base de cacao

Las semillas de cacao son la fuente del cacao comercial: chocolate y manteca de cacao. Las semillas fermentadas son tostadas, rotas y esparcidas para dar un polvo del cual se obtiene la grasa (Garzaro, 1998).

Los principales factores que inciden en la calidad de la semilla del cacao pueden ser abordados desde dos puntos de vista; el primero está relacionado con los factores agronómicos que incluye la variedad cultivada, el manejo de las plantaciones, las características del suelo y la nutrición del cultivo, el control de plagas y enfermedades, la temperatura, la humedad, la altura y la luminosidad de la plantación. El segundo está directamente relacionado con el manejo post-cosecha, proceso llamado “beneficio” el cual comprende la fermentación y el secado de las semillas ya que son las actividades en las que se desarrollan los precursores del sabor del chocolate.

El precio de las semillas de cacao y por ende la rentabilidad del cultivo se incrementan con un buen beneficio ya que este proceso promueve el desarrollo en las almendras de los principios fundamentales del sabor, aroma y calidad del cacao, lo que determina en gran medida su cualidad de grano fino y aromático (Kouakou *et al.*, 2013).

Comercialmente, la norma internacional CODEX STAN 87-1981, Rev.1-2003, establece y define los productos obtenidos del cacao y su composición, así:

- **Chocolate amargo u oscuro y semiamargo:** productos homogéneos elaborados a partir de la mezcla de pasta de cacao, manteca de cacao, cocoa, adicionado de azúcares u otros edulcorantes, así como de otros ingredientes opcionales, tales como productos lácteos y aditivos para alimentos.
- **Chocolate blanco:** producto homogéneo elaborado a partir de manteca de cacao, productos lácteos, azúcares o edulcorantes y/o aromatizantes.
- **Chocolate con leche:** producto homogéneo elaborado a partir de la mezcla de dos o más de los siguientes ingredientes: pasta de cacao, manteca de cacao, cocoa, adicionado de azúcares u otros edulcorantes, extracto seco de leche referido a la adición de ingredientes lácteos en sus proporciones naturales, salvo que la grasa de leche podrá agregarse o eliminarse, así como de otros ingredientes opcionales y aditivos para alimentos.
- **Chocolate en polvo:** producto homogéneo elaborado de la mezcla de cocoa, azúcares y otros ingredientes opcionales
- **Chocolate Gianduja:** producto homogéneo obtenido en primer lugar de sólidos totales de cacao y en un segundo lugar de una sémola fina de avellanas en proporciones que oscilen entre 20 y 40%.
- **Chocolate para mesa:** producto homogéneo elaborado a partir de la pasta de cacao, azúcar sin refinar con un tamaño de partícula mayor de 70 micras con la adición de ingredientes opcionales
- **Chocolate para mesa amargo u obscuro y semiamargo:** producto homogéneo elaborado a partir de la pasta de cacao, azúcar sin refinar con un tamaño de partícula mayor de 70 micras con la adición de ingredientes opcionales
- **Chocolate relleno:** producto homogéneo recubierto, cuyo núcleo se distingue claramente, por su composición del revestimiento. El chocolate relleno no incluye dulces de harina, ni productos de panificación, galletas o helados. La parte de chocolate del revestimiento debe representar al menos 25% del peso total del producto en cuestión. Tratándose de semillas, oleaginosas, malvaviscos, y frutos secos recubiertos de chocolate, no se podrán ostentar como chocolate relleno, aun cuando la presencia de chocolate en estos productos sea mayor o igual al 25% del peso total del producto en cuestión.

Según estimaciones de la secretaria de la ICCO, las moliendas mundiales de cacao se han incrementado en un 5% a lo largo de la campaña 2010/2011 para situarse en 3.923 millones de toneladas, convirtiéndose en cifra record. El gran aumento del consumo de productos a base de cacao, puede deberse en gran medida al cambio en las pautas de consumo del chocolate, ya que lo que antes se comercializaba

como manteca de cacao, hoy en día son cifras superadas por el consumo de cacao en polvo.

Aunque en la actualidad a nivel Nacional, el nivel de transformación a pequeña escala no alcanza a ser del 5% de la producción nacional (Ocampo Brondo, *et al.*, 2012), quizá es la forma en que se puede vincular maquinaria, mano de obra y tecnología para que la agroindustria se haga participe en la cadena productiva, generando valor agregado a la semilla e incrementando los niveles de ganancia de los productores y con ello activando la economía de la región al participar en nuevos mercados.

En los hogares mexicanos el gasto monetario trimestral en cacao está calculado en 438 millones de pesos, establecidos en el periodo de 2000 al 2010 con una tasa de crecimiento del 2.7 (SAGARPA, 2010). Esto indica que a medida que va creciendo el consumo nacional, se requiere de mayor cantidad de materia prima (cacao en grano) de la cual, para el 2010, el 55% de la producción nacional es canalizó para empresas como Nestlé, La azteca S.A y La corona, el 45% restante se exportó a Estados Unidos, Canadá y Europa a través de las comercializadoras Farman y Transmarco (SAGARPA, 2010).

2.2. Procesamiento del cacao

El procesamiento de la semilla de cacao se inicia con las actividades de beneficio, las cuales se desarrollan e inician una vez desgranadas las mazorcas de cacao.

El beneficio del grano consta de actividades de fermentación y secado de la semilla, las cuales son primordiales para el desarrollo del sabor y aroma característico del chocolate, estas actividades se constituyen en la expresión real de la calidad, su valoración y demanda por la industria chocolatera.

La calidad del grano de cacao se considera que obedece a tres factores importantes a considerar como es el tipo de material, el medio ambiente donde se desarrolla y el manejo post-cosecha o de beneficio (ICCO, 2006).

2.2.1. Fermentación de semilla de cacao

Es considerada una de las etapas más importantes, ya que a partir de ella se desarrolla el sabor y el aroma del grano de cacao.

La acumulación de los granos desgranados por un largo periodo de reposo y la participación de microorganismos presentes en el fruto y el aire, genera la descomposición del mucilago (la pulpa blanca que recubre el grano), aumento de la temperatura y con ello la muerte del embrión, esto debido a la actividad de

microorganismos (levaduras y bacterias) que durante el beneficio desarrollan reacciones bioquímicas y enzimáticas dentro del cotiledón y que aportan el aroma y el sabor característico al cacao.

La pulpa está compuesta principalmente por agua (87%), pentosas (2,7%), sacarosa (0,7%), glucosa (10%), proteína (0,6%), convirtiéndose en un buen sustrato para los microorganismos (Thompson *et al.*, 2001).

Estos microorganismos degradan el azúcar y la pectina de la pulpa que recubre el grano, al descomponerse, se libera gran cantidad de calor, que hace que la masa alcance una temperatura cercana a los 50°C.

Cubillos (2008) describe la fermentación en dos fases que hacen de una etapa primordial para la calidad del grano:

1. Hidrolisis o fase alcohólica: en esta fase los azúcares del mucilago se convierten en alcohol que posteriormente es transformado en ácidos, láctico y acético que permeabilizan la membrana del grano y son capaces de matar el embrión, propiciando a su vez la disolución y difusión de los pigmentos (antocianinas) y alcaloides (teobromina y cafeína). El pH en esta fase puede oscilar entre 4 y 5.
2. Oxidación: esta es generada por la gran cantidad de Oxígeno que contiene la almendra, además de la disminución del nivel de humedad del grano.

De la misma forma Portillo *et al.*, (2005), mencionan que dos fenómenos dependientes se desarrollan en la fermentación, los cuales inician con la fermentación microbiana donde se elimina el mucílago y el otro fenómeno ocurre en el interior (cotiledón) con reacciones bioquímicas que aportan el sabor a chocolate.

El tiempo de fermentación depende de las condiciones de temperatura del lugar y la variedad de las semillas, ya que puede oscilar entre 4 y 7 días. Es importante revolver la masa de granos durante la fermentación, ya que esto facilita la aireación y ayuda a prevenir la formación de mohos, lográndose a su vez la uniformidad en el proceso.

Un buen indicativo del desarrollo de la fermentación es la coloración purpura que toma el grano, esta etapa termina cuando los granos toman un color rojizo (Cubillos, 2008).

Durante los primeros días del proceso, los granos pierden volumen y peso debido a la liberación de los exudados ocasionados por la degradación del mucílago y la pérdida de humedad (NMX-FF-118-SCFI-2014).

Existen varios métodos de fermentación, los más usados a nivel mundial son los cajones de madera, montones puestos en piso y cubiertos con hojas de plátano y en sacos de polipropileno. En Venezuela se realiza tradicionalmente en canastos, cajones plásticos, cajas de madera escalonadas y seriadas, cubiertos con hojas de musáceas (Reyes y De Reyes, 2000) mencionado por (Álvarez *et al.*, 2010).

Sin embargo, los cajones de madera son los que han mostrado mejor efectividad y eficiencia en el proceso, la madera utilizada generalmente es resistente a la humedad y no resinosa, libre de olores, con capacidad aproximada de 1m³ de grano en baba además debe contar con perforaciones en el fondo para permitir el drenado de los exudados; estos cajones se ubican en lugares techados y ventilados.

El cubrimiento de los cajones una vez llenados se realiza con plásticos que no permitan la pérdida de calor durante el proceso. Durante las primeras 24 horas la masa se deja en reposo, cumplido el tiempo se remueve la masa o se traspasa a otro cajón para airear y bajar la temperatura, nuevamente a las 24 horas se monitorea la temperatura, para que ésta no alcance los 50°C; si esta elevada, se hace necesario la remoción y cambio de cajón nuevamente a fin de airear y bajar temperaturas. De esta forma hasta alcanzar el grado óptimo de fermentación (Cubillos *et al.*, 2008).

Como parámetro para la evaluación de la fermentación, existe la prueba de agua y la prueba de corte, siendo la segunda la más utilizada en la industria debido a que es más subjetiva y permite evaluar el aspecto físico del grano (Gobierno Regional Piura, Perú, 2007).

Prueba de agua: El grano una vez fermentado, se hincha y se llena de aire en su interior lo cual le permite flotar al suspenderse en el agua. A partir de este comportamiento, surge la prueba de agua como un indicador del desarrollo del proceso de fermentación en las semillas; es un procedimiento sencillo, que no requiere de muchos materiales, y su evaluación es objetiva, y cuantitativa, ya que puede indicar el grado de fermentación en porcentaje.

La prueba de agua, permite de forma rápida identificar los granos que quedaron bien fermentados, ligeramente fermentados y los que no alcanzaron la fermentación (Gobierno Regional Piura, Perú, 2007).

En una fermentación que no ha sido homogénea o no ha alcanzado el nivel óptimo, se puede presentar que a medida que se van depositando los granos en una probeta con agua, algunos tenderán a flotar, otros ligeramente se hundirán y algunos se hundirán por completo quedando en el fondo de la probeta.

El cálculo se realiza a partir de la siguiente ecuación:

$$\%F = \frac{NF \times 100}{100 \text{ granos de cacao}}$$

Dónde:

%F: grado de fermentación en porcentaje (%)

Nf: Número de granos que flotan en la probeta

Prueba de corte longitudinal: muestra determinados defectos que causan sabores negativos y señala el grado de fermentación que tiene efecto sobre el sabor intrínseco de la almendra (Wood y Lass, 1985) mencionado por (Stevenson *et al.*, 1993).

Ésta prueba puede ser utilizada como indicador para interrumpir la fermentación cuando se alcanza el 65% de almendras marrones o después de secas sin que se superen 30 días de finalizado el proceso de secado (Stevenson *et al.*, 1993).

La Norma Oficial Mexicana NMX-FF-118-SCFI-2014 define ciertos defectos que pueden encontrarse cuando se realiza la prueba de corte, estos se describen a continuación:

- **Grano mohoso:** Grano de cacao en cuyas partes internas se aprecian colonias de hongos a simple vista, en la prueba de corte.
- **Grano dañado por insectos:** Es el grano de cacao o sus partes que muestran los daños causados por ellos.
- **Grano pizarroso:** Es el grano de cacao cuya apariencia al momento del corte presenta una textura arenosa y muestra un color opaco u oscuro.
- **Grano quebrado:** Es el grano de cacao al que se le ha fraccionado alguna parte del grano sin que exceda la mitad del mismo.
- **Grano violáceo:** Es el grano de cacao cuyo cambio de color debido a la fermentación no se ha alcanzado completamente, por lo que muestra un color violáceo en la mitad o más de la superficie, expuesta al cortarlo longitudinalmente por el centro.
- **Grano germinado:** Es el grano de cacao cuya cascarilla ha sido perforada o rota por el crecimiento del germen de la semilla, exponiéndola al ataque de mohos e insectos.

2.2.2 Secado de semilla de cacao

Los granos de cacao después del proceso de fermentación inician el secado a una humedad promedio del 55% y el propósito del secado es que el grano alcance humedades del 7%, de forma tal que se garantice la vida útil durante el almacenamiento. Al igual que la fermentación, el secado permite alcanzar ciertas características sensoriales que aportan a la calidad del grano, eso también es una etapa de sumo cuidado para obtener un chocolate de mesa con las características organolépticas ideales para la transformación.

El porcentaje de humedad se convierte en variable importante para el almacenamiento y la calidad del grano, una humedad mayor al 8% favorece el crecimiento de mohos y hongos, una humedad menor al 7% puede generar quebrado con facilidad.

Habitualmente, el secado de las semillas se realiza de forma natural con la exposición al sol, extendiendo los granos de forma uniforme y sobre una superficie plana en la que se reciba la radiación solar.

Al iniciar el proceso de secado, las semillas se revuelven de manera cuidadosa para homogenizar el secado, esta actividad puede incrementarse a medida que se prolonga el tiempo de secado.

Es importante no forzar al grano a la eliminación de agua exponiéndolo a temperaturas mayores a los 65°C, esta actividad debe hacerse de manera lenta; dependiendo de la exposición al sol, el clima y la humedad relativa, pudiendo tardar de 5 a 7 días.

Cuando el tiempo de secado es muy rápido se dificulta la volatilidad del ácido acético elevando la acidez y presentando mayor cantidad de granos violetas (Jinap, 1990).

Además de considerarse el secado importante para prolongar la vida útil del grano, estudios han demostrado que durante este se elimina en gran parte el ácido acético producido durante la fermentación y responsable de la acidez del grano, por lo cual se considera una actividad importante para el desarrollo de propiedades sensoriales y la calidad final del grano y del producto elaborado.

A su vez la baja volatilidad del ácido acético se relaciona al secado del grano a condiciones extremas de temperatura, el secado de la testa se hace más rápido y se endurece generando el encostramiento (Domínguez *et al.*, 2000) y limitando la salida de los ácidos del grano.

A partir de estudios realizados por García-Alamilla (2007) se deduce que es necesario un periodo inicial de secado lento para eliminar de forma eficiente el ácido acético y con ello reducir la acidez del grano.

Estudios recientes han demostrado que el ácido acético es el compuesto volátil que se encuentra en mayor proporción (en un 90-95% sobre los otros compuestos volátiles), por lo cual se le considera responsable de la acidez del grano, jugando un papel determinante debido a su participación en el desarrollo de las propiedades sensoriales, sin embargo, este componente que aparece durante la fermentación, es necesario eliminarlo durante el secado.

Augier (1999) citado por Domínguez *et al.*, (2000) y García-Alamilla (2005) afirman que durante el secado, la velocidad de eliminación de la humedad se hace más rápido comparada con la velocidad de eliminación del ácido acético del grano, a partir de ello se considera importante controlar los tiempos y temperaturas de exposición de los granos durante el secado a fin de permitir una evaporación eficiente del ácido acético y con ello obtener la acidez adecuada.

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 adecuado secado del grano de cacao (Afoakwa *et al.*, 2008; Jinap y Thein, 1994).

2.2.3. Tostado de semilla de cacao

La fermentación (tiempo) y el secado (tipo de secado) aunque participan en el desarrollo de la fracción aromática del cacao, la etapa del tostado llega a intensificarla y desarrollarle las características propias del chocolate, además de facilitar el descascarado del grano.

El tostado es una de las operaciones tecnológicas más importantes en el procesamiento del cacao. Yamaguchi *et al.*, (1981) citado por Bustamante *et al.*, (2015) señalan que durante el tratamiento térmico se producen compuestos derivados de las reacciones entre azúcares reductores y aminoácidos, conocidas comúnmente como las reacciones de Maillard o pardeamiento no enzimático.

2.3. Los antioxidantes

Los antioxidantes son compuestos capaces de retrasar o prevenir la oxidación de lípidos, ácidos nucleicos o de otras moléculas, al inhibir el inicio de reacciones de oxidación en cadena y permitiendo oxidarse ellos mismos (Shi, 2007). La oxidación es una reacción química de transferencia de electrones de una sustancia a un agente oxidante. Durante el proceso de oxidación, se producen radicales libres en cadena,

que dañan a células buenas; estos se producen durante la respiración en un proceso aerobio e induce a la formación de efectos negativos para la salud.

Al hablar de la producción de radicales libres y el estrés oxidativo, fácilmente estos temas son relacionados con las enfermedades cancerígenas, Alzheimer, Parkinson, patologías causadas por la diabetes y artritis reumatoide (Christen, 2000; Wood-Kaczmar *et al.*, 2006; Hitchon *et al.*, 2004) la razón por la que se da esta explicación es debida a que las células cancerosas generan más radicales libres de lo normal. Estudios han demostrado que las sustancias antioxidantes pueden llegar a limitar los efectos que causan el estrés oxidativo, y en ocasiones la alta producción de radicales libres con respecto al consumo de antioxidantes es mayor y no pueden bloquear gran cantidad de los radicales libres; es por ello que la ingesta de antioxidantes en la dieta diaria debe ser elevada a fin de elevar la concentración de los mismos en el organismo y así prevenir el proceso canceroso que se genera (Llacuna *et al.*, 2012).

Se ha establecido que la exposición de los organismos a factores exógenos y endógenos, genera diversas especies oxigenadas reactivas tales como los radicales superóxido (O_2^-) e hidroxilo ($-OH$) y otras especies con radicales no libres como H_2O_2 y el oxígeno singulete (1O_2), que inducen alteraciones en las células, citotoxicidad y/o indirectamente genotoxicidad; favoreciendo la aceleración del envejecimiento y la aparición de cáncer, enfermedades cardiovasculares y degenerativas (Dasgupta y De, 2007; Tripathi *et al.*, 2007).

Dentro del grupo de sustancias antioxidantes se tiene al ácido ascórbico, melatonina, tocoferoles y tocotrienoles, carotenoides y polifenoles.

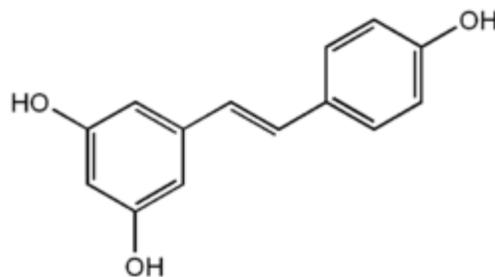


Figura 1. Estructura del polifenol antioxidante

Investigaciones recientes, también han demostrado que la presencia de ácidos reductores relativamente fuertes pueden tener efectos adversos en la nutrición al unirse con minerales como el hierro y el zinc en el tracto intestinal, impidiendo ser absorbidos. Entre los ácidos más comunes está el ácido oxálico, los taninos y el

ácido fítico (Hurrell, 2003). Esto se presenta en dietas vegetarianas, para el caso del chocolate, este cuenta con la presencia del ácido oxálico.

Hurrell, (2003) evalúa en vegetales la presencia de este ácido, concluyendo que puede ser reducido su contenido en el alimento, al someterlo a escaldado y a su vez sugiere una mayor investigación en los tiempos de calentamiento a fin de optimizar el proceso.

A pesar de los efectos benéficos que presentan los agentes antioxidantes para la salud, su aplicación comercial está limitada, ya que factores como la luz, la humedad, el oxígeno y la temperatura afectan su estabilidad. Por esta razón, el uso de tecnologías para preservar estos compuestos, se vuelve una herramienta útil para obtener productos estables (Kuskoski *et al.*, 2005).

2.3.1 Los antioxidantes en los alimentos

Los antioxidantes se encuentran en diferentes cantidades en alimentos como vegetales, frutas, cereales, legumbres y nueces. La función de los antioxidantes de origen natural se asocia, desde hace más de treinta años, con su acción protectora en la prevención y el desarrollo de diversas patologías identificadas colectivamente como “patologías por estrés oxidativo” (Oldman & Bowen, 1998).

Algunos antioxidantes como el ácido ascórbico y los licopenos se pueden destruir por un tiempo prolongado de almacenamiento o por cocción (Xianquan *et al.*, 2005). Los polifenoles presentes en alimentos como cereales, trigo integral y té se consideran sustancias más estables (Rietveld & Wiseman, 2003).

Para el caso de los nopales Sáenz *et al.* (2006), afirma que la cantidad de compuestos fenólicos totales puede variar dependiendo del estado de desarrollo de las pencas así como de la variedad a la que pertenezcan.

2.3.2. Antioxidantes en el cacao

El cacao es uno de los alimentos que se constituye en una gran fuente energética, estudios recientes han demostrado que posee propiedades benéficas para la salud debido a que es una de las principales fuentes de polifenoles, compuestos que se encuentran relacionados con la actividad antioxidante (Zapata *et al.*, 2013).

Por otra parte, el consumo de alimentos con alto contenido de antioxidantes es cada día más trascendente por sus beneficios sobre la salud. Así, dada la creciente demanda de productos alimenticios saludables y el impacto que estos tienen en la

alimentación humana, hacen del cacao un producto de origen vegetal de gran interés en la salud, debido a las propiedades funcionales y nutricionales que ofrece.

Inicialmente, aún sin fundamento científico, se asoció el consumo de chocolate a efectos benéficos para la salud; aunque en la última década, el cacao y el chocolate ha sido objeto de investigaciones que han aportado evidencias para afirmar que por los compuestos que contiene, puede tener efectos benéficos en los procesos asociados con el estrés oxidativo (Wollgast y Anklam, 2000). En otros estudios se ha demostrado el efecto de los polifenoles en los niveles lipídicos, como una disminución en el colesterol total y regulación en la presión arterial sistólica y diastólica. También, inactivan radicales superóxido, hidroxilo y radicales lipídicos; así como inhiben la peroxidación lipídica (LDL) *in vitro* e *in vivo* (Gutiérrez, 2002; Hii *et al.*, 2009).

Los estudios en humanos tras el consumo de chocolate han mostrado que los flavonoides del chocolate tienen una significativa actividad antioxidante que permiten proteger los tejidos del estrés oxidativo (Gómez-Juaristi *et al.*, 2011), así como una disminución de la oxidabilidad de las lipoproteínas de baja densidad y un aumento de la capacidad antioxidante del plasma (Devaraj *et al.*, 2002); también se les atribuye una función antioxidante benéfica para la salud, superando en ocasiones a los niveles reportados para el té y el vino tinto (Subhashini *et al.*, 2010).

El interés por el estudio del contenido de polifenoles en plantas y frutos, ha hecho que se busque su alta concentración ya que su funcionalidad en el organismo humano está encaminada a la propiedad antioxidante. En la semilla de cacao, los polifenoles se encuentran en la testa y en el cotiledón, características que le dan a la semilla un color violeta que pasa de claro a intenso después de la fermentación (Padilla, *et al.*, 2008).

Rusconi *et al.*, (2010) aseguran que la semilla de cacao está constituida aproximadamente entre un 8% y 10% de polifenoles con relación al peso seco de la misma.

Se considera que la pérdida de contenido de polifenoles en el cacao es un producto de la oxidación de compuestos fenólicos, seguido de polimerización y la formación de compuestos de alto peso molecular insolubles (Mohamed, 2012).

Portillo *et al.*, (2009) mencionan que los alcoholes y ácidos se desarrollan al comienzo de la fermentación mientras que los aldehídos, pirazinas, furanos y fenoles (relacionados con los antioxidantes) se desarrollan en menor cantidad al inicio y aumentan al finalizar el proceso.

Perea-Villamil *et al.*, (2007) determinaron el contenido de polifenoles y la actividad antioxidante de productos derivados del cacao obtenidos bajo diferentes condiciones

de procesamiento, encontrado diferencias significativas en el contenido total de polifenoles y la actividad antioxidante entre los productos estudiados; el chocolate amargo presentó el mayor contenido de polifenoles y la mayor actividad antioxidante en relación al chocolate con azúcar, chocolate con clavo y canela, de acuerdo con estos autores el cacao se posiciona como un alimento funcional.

En otro estudio, Jonfia-Essien *et al.*, (2008) compararon una variedad tradicional de cacao con híbridos interclonales de cacao y encontraron una capacidad antioxidante de $12.4 \pm 7.3 \mu\text{mol TE g}^{-1}$ para la variedad tradicional y en los híbridos se cuantificó un rango que va de $21.6 \pm 2.7 \mu\text{mol}$ a $45.5 \pm 2.86 \mu\text{mol TE g}^{-1}$, encontrando un valor más alto en los materiales híbridos que en el tradicional.

Ramírez *et al.*, (2013) en un estudio de la actividad antioxidante de clones de cacao finos y aromáticos cultivados en el estado de Chiapas, México, encontraron que el grupo que presentó el menor pH de las semillas, resultó ser el de mayor concentración de antioxidantes.

Por otro lado Sujung, *et al.*, (2016), encontraron mayor valor de la capacidad antioxidante en granos de cacao desgrasados al compararlos con granos ricos en grasa, esto después de realizar un hinchado del grano.; argumentando que este fenómeno se debe a que los compuestos como los polifenoles y flavonoides se encuentran principalmente en cacao sin grasa sólida.

Cabe resaltar que existen factores internos y externos que afectan la calidad y/o cantidad de los compuestos fenólicos en las plantas, como la diversidad genética (variedad y origen de la muestra), etapa de madurez, variables ambientales (intensidad de la luz, clima, temperatura, uso de fertilizantes, heridas), método de extracción, procesamiento y almacenamiento (Vallejo *et al.*, 2003; Niemenak *et al.*, 2006; Schinella *et al.*, 2010).

2.3.3 Procesos que impactan la concentración de los antioxidantes

En los alimentos, el procesamiento y el almacenamiento pueden provocar cambios en la composición de nutrientes que para el caso de los antioxidantes, estos procesos podrían ocasionar efectos distintos u opuestos.

El tratamiento del grano de cacao durante el proceso de beneficio y transformación industrial puede afectar el contenido de polifenoles y por tanto la funcionalidad del grano como agente antioxidante (Perea Villamil *et al.*, 2009).

Gran parte de los cambios que se generan se deben a las reacciones de oxidación que son producidas por el calentamiento o de manera lenta por el almacenamiento (Pokorný & Schmidt, 2001).

En el caso del cacao, inicialmente las investigaciones se enfocaron en descubrir si existía o no un alto contenido de antioxidantes en las semillas; en la actualidad, después de conocer que el cacao supera en ese aspecto al té y al vino tinto (Subhashini *et al.*, 2010), se hizo necesario un nuevo enfoque para descubrir cómo son alterados estos contenidos durante el beneficio y la transformación.

Algunas investigaciones recientes han demostrado que el cacao se considera una buena fuente de polifenoles, aportando al organismo entre 10 y 50 mg de polifenoles totales g^{-1} dependiendo del origen y el estado de transformación; se ha demostrado que una fuerte disminución de la cantidad de polifenoles se produce durante la fermentación y secado del cacao en grano y mayor retención durante el tostado (Wollgast & Anklam, 2000).

Fermentación y secado

La fermentación es iniciada por la flora microbiana asociada al fruto y por microorganismos que se encuentran en el sitio donde la fermentación se lleva a cabo, incluyendo levaduras y bacterias que utilizan los nutrientes de la pulpa o mucilago (Cros y Jeanjean, 1995; Barel, 2013). La actividad secuencial de estos microorganismos transforma el mucílago de las semillas en alcohol y ácido láctico, consecuentemente, la reacción biológica eleva la temperatura de la masa de semillas.

La acción combinada y balanceada de la temperatura, los alcoholes, los azúcares, los ácidos y la humedad genera cambios bioquímicos en la semilla afectando a la manteca del cacao, el color de la semilla, disminuye el sabor amargo y se altera el contenido de compuestos fenólicos relacionados con la actividad antioxidante del chocolate; una cantidad considerable de calor se desprende durante la fermentación que es manejado a través de la remoción de la masa. Estos cambios bioquímicos de la semilla se relacionan con la disminución del sabor amargo y el desarrollo de los sabores precursores del chocolate.

Al finalizar la fermentación, los granos de cacao aun contienen aproximadamente 60% de humedad, que debe reducirse hasta un valor del 6 a 8%, para su comercialización.

Recientes investigaciones han demostrado que el cacao aporta al organismo en una proporción de 10 a 50 mg de polifenoles totales g^{-1} dependiendo del origen y el estado de transformación. De la misma forma, una fuerte disminución de la cantidad de estas sustancias se produce durante la fermentación y secado del cacao en grano y mayor retención durante el tostado (Wollgast & Anklam, 2000).

Zapata *et al.*, (2013) evaluaron el efecto de la fermentación sobre el contenido de metabolitos secundarios y la actividad antioxidante de cinco clones de cacao

colombianos, evaluándose la actividad antioxidante mediante cuatro metodologías distintas (DPPH, FRAP, ORAC y la capacidad atrapadora de radicales superóxido); encontrando que dependiendo de la variedad, los cambios en actividad antioxidante pueden ser positivos o negativos. De los cinco clones analizados, dos de ellos presentaron un aumento del 42% y el 54% de fenoles luego de la fermentación; en otros dos clones, el comportamiento fue inverso encontrando una disminución del 20% al 35%. Los cambios en la composición después de la fermentación no son iguales entre los mismos clones.

Efraim *et al.*, (2010) evaluaron los efectos del tiempo de fermentación y el tipo de secado de semillas de cacao en cuanto al contenido de compuestos fenólicos, las características físicas, químicas y sensoriales, encontrando que durante la fermentación ocurre una pérdida de polifenoles totales desde del 35% de su estado inicial hasta el tercer día y un 55% al séptimo día. Para el caso del secado, se referenció una mayor pérdida de polifenoles en los dos distintos tipos de secado (estufa y sol). Para el caso de las semillas con tres días de fermentación y secadas en estufa presentaron pérdidas del 19% y las semillas secas al sol un 10.8%, para las semillas con siete días de fermentación y secadas en estufa presentaron pérdidas del 11.6% (38.47 mg g^{-1}) y un 2.8% (43.10 mg g^{-1}) de las secadas al sol.

Al estar relacionados de forma directa los polifenoles con la actividad antioxidante, se cree que es importante mantener alto el contenido de polifenoles para hacer del cacao un alimento saludable; la controversia llega al descubrir que durante la fermentación se presenta una pérdida sustancial de polifenoles, básicamente porque durante este proceso se están desarrollando reacciones que generan características organolépticas (color, olor y sabor) esenciales y básicos del chocolate.

La fermentación es esencial para el desarrollo de sabores deseables y precursores del sabor. Sin embargo, algunos polifenoles (más de 80% de la catequina y la epicatequina) se pierde en este proceso Payne *et al.*, (2010) mencionado por Sujung *et al.*, (2016).

El secado constituye una parte complementaria de la fermentación al interior de los granos, provocando la disminución de la astringencia, del sabor amargo y de la acidez del grano, así como en el desarrollo del color marrón a partir de los compuestos fenólicos (Cros y Jeanjean, 1995; Barel, 2013; Kouakou *et al.*, 2013).

Pese a la importancia del beneficio sobre la calidad del cacao comercializable, en México es una práctica que se aplica de manera irregular, dependiendo de la región de producción. En el caso particular de la región centro norte del estado de Chiapas, tradicionalmente, el cacao no es fermentado y esta ausencia de beneficio, provoca la pérdida de la calidad del grano y en consecuencia afecta negativamente el precio, a

pesar de que el cacao de esta región reúne genéticamente las características necesarias para desarrollar un producto de alta calidad.

Tostado

El tostado se considera una de las actividades de gran importancia durante la transformación de las semillas de cacao a chocolate, durante esta operación se desarrollan ciertas reacciones químicas como oxidaciones, polimerizaciones y las reacciones de Maillard; todas en conjunto generan cambios de color y ciertas características de calidad que se ven reflejadas en el aroma y sabor especial del chocolate (Yamaguchi *et al.*, 1981; Summa *et al.*, 2006; Oliviero *et al.*, 2009); además de lo anterior, el tostado también facilita el desprendimiento de la testa de la semilla.

Para desarrollar ciertas características especiales en el aroma y el sabor de un chocolate de calidad, estas están definidas por la temperatura y el tiempo al que se somete la semilla en el momento del tostado (Ramlli, *et al.*, 2006). Algunos autores aseguran que el cambio de color generado en la semilla tostada, se logra a temperaturas cercanas a los 134°C y va disminuyendo si la temperatura aumenta, lo anterior lo evidencia Martins *et al.*, (2001) quienes observaron el desarrollo de la reacción de Maillard; por otra parte Krysiak, (2006) observó que a mayor temperatura de tostado, mayor era el efecto de pardeamiento.

En la industria el método más utilizado para el tostado del grano de cacao es el de convección, el cual se realiza mediante la circulación de aire caliente a temperaturas que pueden ir desde los 130°C por 15 minutos hasta los 150°C por 45 minutos. Temperaturas menores a 70°C podrían garantizar la mayor retención de flavonoides, pero no son muy usadas en la actualidad ya que demandan mayor tiempo de ejecución y alza en los costos de producción (Hurst *et al.*, 2009).

Durante el tostado, el sabor del cacao se desarrolla más a partir de los compuestos precursores que se formaron durante la fermentación y el secado de los granos de cacao crudo.

En particular, el proceso de tostado conduce a la pérdida y modificación de flavanol, lo que conduce a una pérdida de 14% del contenido total de compuestos fenólicos, así como epimerización de Epicatequina a catequina (Kothe *et al.*, 2013; Mazor *et al.*, 2011).

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Ubicación geográfica

En esta investigación se desarrollaron visitas de campo al municipio de Tecpatán – Chiapas a tres parcelas de productores de la Sociedad de Producción Rural Cacao Tecpateco, donde se realizó la inspección y recolección de frutos de cacao maduros necesarios para realizar la fase dos de esta investigación.

El municipio de Tecpatán está ubicado en el noreste del estado de Chiapas y limita con los municipios de Ostuacán, Francisco León, Ocoatepec, Copainalá, Cintalapa y Ocozocoautla de Espinosa. Está ubicado a una altitud de 1.200 msnm, con coordenadas geográficas de longitud de 17° 8' 0" y latitud de 93° 19' 0". Presenta un clima cálido húmedo con abundantes lluvias en verano. Tiene una temperatura media anual que va de 24°C a 26°C, y en la mayor parte del territorio mantiene una precipitación media anual de 3.000 a 2.000mm, la zona del sur mantiene una precipitación de 2.000 a 1.000mm y la zona de los límites con el estado de Veracruz la precipitación es de 4.000 a 3.000mm (Pueblos América, 2016).

Este municipio llega a considerarse como el de mayor precipitación en todo el país.

Lo que corresponde al trabajo de laboratorio, este se desarrolló en el laboratorio del instituto de Ciencias Agropecuarias (ICAp) de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, ubicado en la ciudad de Tulancingo de Bravo – Hidalgo y en el laboratorio de Agrotecnologías de la AUDES Cacao-chocolate de la Universidad Autónoma de Chiapas, ubicado en la ciudad de Tuxtla Gutiérrez - Chiapas.

3.2 Materiales

3.2.1 Material vegetal

Se utilizaron frutos de cacao (*Theobroma cacao* L.) de 15 clones selectos (230, 233, 235, 236, 240, 243, 244, 246, 253, 256, 259, 260, 266, 268 y 269) producidos en el municipio de Tecpatán Chiapas, estos clones son producto de un trabajo de selección participativa desarrollado por la Agencia Universitaria para el Desarrollo de Cacao (AUDES Cacao – Chocolate) de la UNACH.

3.2.2 Material de laboratorio

Para el desarrollo del trabajo de laboratorio, se utilizaron equipos como balanza analítica, estufa de secado, digestor y destilador Kjendahl, extractor Soxhelt, mufla,

espectrofotómetro, estereoscopio, termómetro, potenciómetro, reactivos (ácido sulfúrico, éter de petróleo, sulfato de potasio, sulfato cúprico pentahidratado, hidróxido de sodio, ácido bórico, Indicador rojo de metilo, ácido ascórbico, agua para HPLC, etanol al 70%, acetato de sodio, ácido acético, radical libre ABTS y persulfato de potasio) y otros materiales como cápsulas de aluminio, crisoles, desecadores, morteros, pinzas para crisol, mechero de Bunsen, Tripie, triangulo de porcelana, espátulas, cartuchos de celulosa, algodón, probetas, matraces Erlenmeyer, buretas, pinzas para bureta, soporte universal, matraz aforado, papel aluminio, papel libre de nitrógeno (Egapack) entre otros.

3.3 Métodos

Con el fin de dar cumplimiento a los objetivos propuestos, la investigación se desarrolló en cuatro fases, las cuales se mencionan y se describen a continuación.

3.3.1 Fase I - Estudio y selección de pastas de cacao

En la figura 2 se representan las actividades desarrolladas en esta fase.

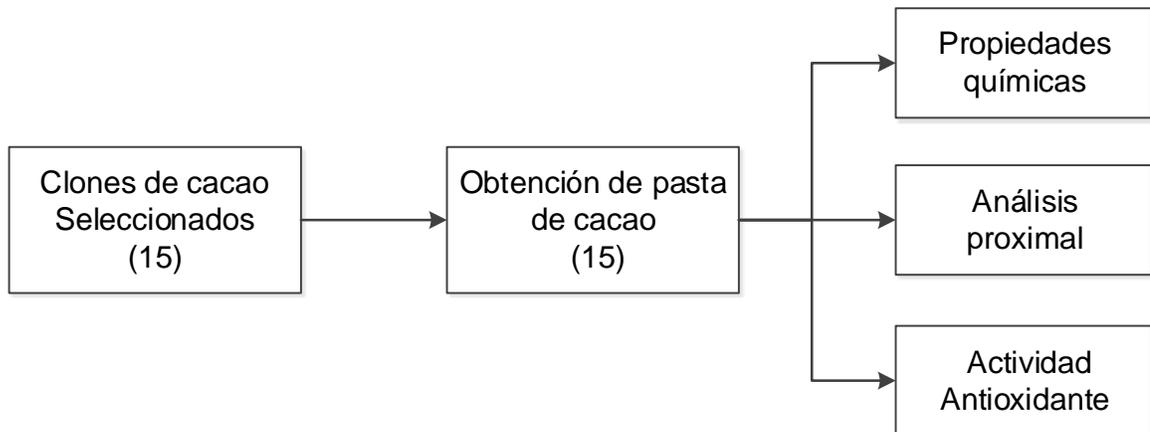


Figura 2. Descripción de actividades de la fase I.

Selección de los clones

En estudios previos a esta investigación y desarrollados por la AUDES Cacao – Chocolate, se obtuvo un grupo de árboles agrónomicamente productivos y con características de calidad en semilla y en campo a partir de una selección participativa desarrollada con productores pertenecientes a la Sociedad Productora Rural de cacao Tecpateco del municipio de Tecpatán, Chiapas.

A partir de esto, se seleccionaron 15 clones, se cosecharon los frutos en los meses de octubre y noviembre del 2013 y se llevaron a actividades de beneficio y posterior obtención de la pasta de cacao.

Obtención de pasta de cacao

Las actividades de beneficio y transformación para obtener la pasta de manera artesanal, se describen a continuación:

1. Cosecha: los frutos se colectaron identificando que su grado de madurez fuera el correspondiente según el criterio del productor, basándose en la coloración del fruto (de verde a amarillo o rojo) según la variedad.
2. Partido y desgrane: los frutos cosechados se abrieron por la mitad y se sacó las semillas en baba, las cuales fueron puestas en bolsas de malla previamente identificadas con el número de clon.
3. Fermentación: desarrollando el método de micro fermentación, utilizándose los 15 clones a la vez, a fin de generar el calor necesario para optimizar el proceso y alcanzar las temperaturas ideales. Una vez puestas las semillas, las bolsas se pusieron en cubeta plástica y ésta se cubrió con plástico para evitar las pérdidas de calor dentro del recipiente. La fermentación tardó 6 días con volteos cada 2 días.
4. Secado: El secado de las semillas fermentadas se realizó exponiéndolas al sol durante 5 días, hasta alcanzar el sonido de cascabel, generado al mover las semillas, característica tradicional de los productores para saber el punto final del secado.
5. Torrefacción: Las semillas secas fueron sometidas a torrefacción en sartén de aluminio a calor constante con estufa eléctrica por 15 minutos o alcanzar el descascare del de la semilla.
6. Molienda: Obtenidas las semillas tostadas, estas se descascararon para obtener los nibs cacao, los cuales fueron triturados con un molino eléctrico para granos.

Cada una de las pastas se empacó, se identificó y se puso en refrigeración a 4°C aproximadamente y por un tiempo de 4 meses.

Variables cuantificadas

En las 15 pastas se determinaron propiedades químicas (pH, acidez y sólidos solubles), se realizó un análisis proximal (contenido de humedad, grasa y ceniza cruda) y determinó el contenido de antioxidantes. Cada análisis se realizó de forma separada, siguiendo las técnicas para cada variable, como se muestra en el cuadro 2.

Cuadro 2. Variables cuantificadas en pastas de cacao en la fase I.

Variable	Referencia
pH	Método 970.21 de la AOAC
Acidez	Método 942.15 de la AOAC
Sólidos solubles (%)	Método 932.12 de la AOAC
Humedad	Método 931.04 de la AOAC
Cenizas	Método 972.15 de la AOAC
Grasa	Método 925.07 de la AOAC
Contenido de antioxidante	Inhibición de ABTS

Para ser analizadas, las pastas de cacao se transportaron desde el laboratorio de agrotecnologías de la UNACH al laboratorio del Instituto de Ciencias Agropecuarias ICAp de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo ubicado en el municipio de Tulancingo de Bravo – Hidalgo.

Técnicas de análisis

Previo a cada una de las determinaciones, las pastas se pulverizaron por separado para facilitar el pesaje y dosificación, tal como se aprecia en la figura 3.



Figura 3. Pastas de cacao pulverizadas.

Para el caso de pH y acidez, se tomó 1 gramo de la pasta en polvo y se disolvió en 9 mL de agua destilada caliente (a punto de ebullición), se agitó por aproximadamente 30 segundos y se filtró para realizar las determinaciones, como se ilustra en la figura 4.



Figura 4. Preparación de las muestras de pasta para determinación del pH y la acidez.

- **pH:** se determinó según el método 970.21 para productos de cacao, descrito por la AOAC (1995) y usando un potenciómetro digital marca Hanna Instruments pH209, los resultados se expresaron con dos decimales como lo indicó la pantalla del equipo. Como se observa en la figura 5.



Figura 5. Determinación de pH en pastas de cacao.

- **Acidez:** se determinó siguiendo lo establecido por el método 942.15 de la AOAC (1995), titulando con NaOH 0.1N hasta alcanzar un pH de 7.0 por 30 segundos, aun cuando no se haya presentado un cambio de café a rosado tenue (Stevenson *et al.*, 1993).

La figura 6 muestra la titulación de las muestras de las pastas para la determinación de la acidez.



Figura 6. Titulación para determinación de acidez.

Los valores de acidez se expresaron en porcentaje (%) de ácido acético y se determinó por medio de la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Ácido Acético} = \frac{G \times N \times \text{meq.} \times \text{Vol. Total}}{P \times A} \times 100$$

Dónde:

G = ml NaOH 0.1 N usados en la titulación.

N = Normalidad química de NaOH.

meq. = Mili equivalente de ácido acético.

Vol. Total = Volumen total.

P = Peso de la muestra utilizada expresada en gramos.

A = Alícuota de la muestra utilizada, expresada en ml.

- **Sólidos solubles:** se determinaron según el método 932.12 de la AOAC (1995), utilizando un refractómetro digital marca Palette PR-101ATAGO; los resultados se expresaron en porcentaje (%).
- **Humedad:** se realizó siguiendo el método 931.04, humedad de productos de cacao por método gravimétrico (AOAC, 1995). De la muestra se pesaron 5 gramos y se pusieron en una cápsula metálica puesta a peso constante previamente, la capsula con la muestra húmeda fue llevada a una estufa de secado marca SCORPION CIENTIFIC modelo A50980 serie 509072; programada a temperatura de 125 °C por 12 horas. Como se ilustra en la figura 7. Cumplido el tiempo, se sacó la capsula de la estufa y se puso en el desecador por 30 minutos para que se enfriara y luego se procedió a pesar.



a)



b)

Figura 7. Determinación de humedad. a) Estufa de secado. b) Desecador.

El porcentaje de humedad se determinó a partir de la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Humedad} = \frac{\text{PCMH} - \text{PCMS}}{\text{PMH}} * 100$$

Dónde:

PCMH = Peso de la capsula con la muestra húmeda.

PCMS = Peso de la capsula con la muestra seca.

PMH = Peso de la muestra húmeda.

- **Ceniza cruda:** se realizó a partir del método 972.15 cenizas en cacao y productos AOAC, (1995).

Se pesó 1 gramo de pasta de cacao en polvo en un crisol de porcelana, puesto previamente a peso constante, esta muestra se dejó durante 8 horas en la estufa de secado marca SCORPION CIENTIFICO modelo A50980 serie 509072; programada a temperatura de 125°C, como se muestra en la figura 8.



Figura 8. Crisoles con muestra en estufa de secado.

Cumplido el tiempo, se procedió a carbonizar la muestra lentamente bajo flama de un mechero tipo bunsen, a fin de evitar pérdidas por arrastre de humo y proyecciones de la muestra fuera del crisol, como se ilustra en la figura 9. La muestra se retiró de la llama cuando ya no se observó desprendimiento de humo del crisol.



Figura 9. Carbonización de pastas de cacao.

La muestra carbonizada se llevó luego a calcinar en una mufla marca FELISA Modelo FE-361 serie 0707086 programada a una temperatura de 550°C, durante 12 horas o hasta que las cenizas cambiaran la tonalidad de gris a blanca; como se ilustra en la figura 10.

Alcanzado dicho punto, los crisoles se dejaron enfriar en un desecador por un tiempo aproximado de dos horas y se pesó el contenido.



Figura 10. Determinación de cenizas. a) Calcinación en mufla. b) Ceniza.

Los valores se expresan en % de cenizas y estos se calculan por medio de la siguiente formula:

$$\% \text{ Cenizas} = \frac{\text{PCC-PCV}}{\text{PM}} * 100$$

Dónde:

PCC = Peso del crisol con cenizas.

PCV = Peso del crisol vacío.

PM = Peso de la muestra.

- **Grasa:** se realizó por el método 963.15 grasa en productos de cacao - método Soxhlet (AOAC, 1995).

Se utilizó un equipo de extracción de grasa por método Soxhlet marca BÜCHI modelo BUL 3668, como se muestra en la figura 11.

Se programó para que realizara la extracción en 3 pasos; extracción en un tiempo de 3 horas y media, lavado de 10 minutos y Secado de 10 minutos.



Figura 11. Equipo Soxhlet para la extracción de grasa.

La muestra previamente seca (4 gramos), fue puesta en un cartucho de celulosa, tapado con algodón y puesto en las boquillas de vidrio del equipo, como se ilustra en la figura 12.



Figura 12. Montaje de muestra para extracción de grasa.

Previo a la determinación se pusieron a peso constante los vasos büchi en los cuales se les adicionó 160 mL de éter de petróleo. Transcurrido el tiempo de la extracción, se retiraron los vasos y se llevaron a la estufa de secado durante 5 minutos aproximadamente a fin de evaporar algún resto de éter que pudiera contener la muestra de grasa obtenida.

Después se dejaron enfriar en el desecador y se realizó el pesaje respectivo, como se observa en la figura 13.



Figura 13. Muestras de grasa obtenidas de pastas de cacao.

En la figura 14, se muestra el residuo de la pasta desgrasada (cocoa) contenida en los cartuchos de celulosa.



Figura 14. Cocoa obtenida de muestras de pastas de cacao a las cuales se les extrajo la grasa.

El valor del contenido de grasa de cada uno de los clones se determinó a partir de la siguiente formula:

$$\% \text{ Grasa} = \frac{\text{Peso de vaso con grasa} - \text{Peso de vaso vacío}}{\text{Peso de la muestra}} * 100$$

- **Contenido de Antioxidantes:** se empleó el método de ABTS (ácido 2,2-azino-bis (3-etilbenzotiazolin)-6-sulfónico), que consistió en preparar en vasos de vidrio pequeños, extractos de las pastas con etanol al 70%, basados en una relación de 0.1 g de pasta en 5 mL de etanol, esta mezcla se tapó y se dejó reposar en refrigeración y a oscuridad por 24 horas. Transcurrido este tiempo, cada uno de los extractos se filtró.

En una celda de cuarzo se adicionaron 3.99 mL de reactivo ABTS estabilizado y 10 µL del extracto de cacao.

Las lecturas de absorbancia se realizaron en un espectrofotómetro marca Thermo Fisher Scientific modelo Genesys 10S VIS calibrado a una longitud de onda de 754 nm, estas se registraron al transcurrir el minuto uno y el minuto siete de haber llenado la celda de cuarzo. La determinación se realizó en condiciones de oscuridad y los valores se expresaron en mM de ácido ascórbico g⁻¹ de cacao.

Diseño experimental y análisis estadístico

Para todas las variables se estudiaron por triplicado y los datos fueron analizados usando el paquete estadístico SAS ® Versión 2000, realizando a cada variable un análisis de varianza y la comparación de medias mediante la prueba de Tukey al (P>0.05).

3.3.2 Fase II - Evaluación del beneficio sobre el contenido de antioxidantes

Con base en la disponibilidad de frutos sanos, semillas en campo y de los resultados obtenidos de la fase I, se realizó una clasificación de cinco clones de cacao, uno con el más bajo (256), tres con medio (243, 244 y 266) y uno con el más alto (233) contenido de antioxidantes. En la figura 15 se representan las actividades desarrolladas en esta fase.

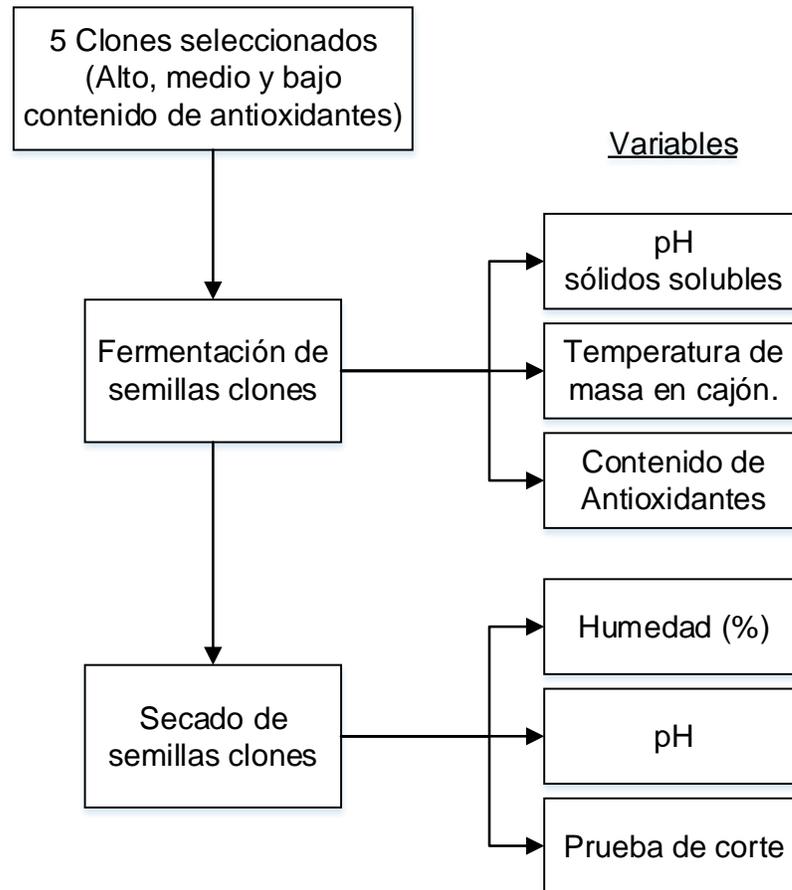


Figura 15: Descripción de actividades de la fase II.

Fermentación de semillas de clones

Durante la fermentación se tomaron muestras de semillas desde el día 0 hasta el día 6 en las cuales se determinó el pH de la testa y de cotiledones, sólidos solubles y el contenido de antioxidantes.

Las tres primeras variables se obtuvieron de semillas frescas y en el caso del contenido de antioxidantes, estas fueron secadas al sol hasta alcanzar una humedad del 7%. A cada clon, se le dio seguimiento durante los meses de septiembre, octubre, noviembre y diciembre de 2014 donde se observó la floración, presencia de chilillos y frutos verdes y maduros con el fin de programar las actividades de beneficio para los cinco clones escogidos (233, 243, 244, 256 y 266).

De acuerdo con la disponibilidad de frutos en los clones seleccionados, se realizaron tres fermentaciones de forma separada, durante los meses octubre y noviembre del 2014.

En cada fermentación, se realizaron las siguientes actividades:

1. Cosecha: Una vez alcanzado el grado óptimo de maduración y teniendo en cuenta como índice de cosecha los criterios de los productores de la región (cambio de

color y sonido que emiten las semillas al ser golpeado el fruto con los dedos). Los frutos cosechados se identificaron según el número del clon para hacer el seguimiento de cada árbol. Para la fermentación se utilizaron únicamente frutos sanos y maduros (figura 16) retirando aquellos que presentaban un daño o defecto visible, a fin de garantizar homogeneidad en la fermentación.



Figura 16. Fruto cosechado del clon 233.

2. Partido y desgrane: Al día siguiente de cosechados los frutos, se abrieron por la mitad golpeando el fruto con un machete y dividiéndolo en dos partes para extraer las semillas de la mazorca procurando dejar la placenta pegada a la cascara; durante el desgrane se separaron los granos que presentaban daños visibles o presentaban un grado mayor de madurez, así como se muestra en la figura 17.



Figura 17. Frutos descartados (diferente grado de maduración).

Debido al bajo volumen de semillas por clon obtenido en cada cosecha, se hizo necesario utilizar la técnica de micro fermentación, en la que se utiliza cierta cantidad de grano en baba adicional para alcanzar la relación de masa y volumen necesaria para proporcionar las condiciones óptimas de temperatura dentro del cajón y así, facilitar la fermentación de muestras pequeñas.

3. **Fermentación:** se desarrolló en un cajón de madera (25 cm x 50 cm x 50 cm) con ocho perforaciones de 0.5 cm de diámetro en la base para facilitar la salida de los exudados del mucílago.

Las semillas se agruparon por clon y se depositaron en bolsas de tela malla previamente identificada y marcada según el número de clon, así como lo muestra la figura 18, esto con el fin de no mezclar las semillas entre clones y con las semillas de la masa global.



Figura 18. Preparación de semillas de clones a fermentar (se aprecia la bolsa de malla para separar las semillas de cada clon).

El llenado del cajón de fermentación se realiza inicialmente con las semillas adicionales (que no son de interés de estudio) que llamaremos masa global, el volumen de semillas usadas en cada fermentación fue lo obtenido en 50 mazorcas maduras de cacao (figura 19).



Figura 19. Mazorcas utilizadas como masa global.

Las muestras de los clones fueron puestas en el cajón cuando este llevaba un llenado aproximado de 10 cm de espesor; como se ilustra en la figura 20, las bolsas de malla selladas se extendieron sobre las semillas depositadas inicialmente y luego se continuó el llenado sobre estas, de 5 cm de espesor de la

masa global; de esta manera se continuó poniendo los clones faltantes y se finalizó con el cubrimiento total de los clones por parte de la masa global restante.



Figura 20. Llenado de cajón de fermentación de cacao.

Una vez lleno el cajón, este se cubrió con un plástico a fin de evitar pérdidas de calor y bajas de temperatura, como se ilustra en la figura 21.



Figura 21. Cajón de fermentación construido con madera.

Antes de realizar los muestreos, se midió y se registró la temperatura de la masa del cajón en los cinco puntos establecidos; en cada uno de los muestreos (día 0, 2, 4 y 6). Durante la fermentación se realizaron 2 remociones de la masa de semillas, la primera a las 48 y la segunda a las 96 horas, esto con la finalidad de homogeneizar el proceso y dispersar la temperatura de la masa.

Secado de semillas

Una vez concluido el proceso de fermentación, las semillas de cacao se sometieron a un secado al sol para reducir el contenido de humedad a valores aproximados del 7%, valor considerado para la comercialización de los granos de cacao.

El secado al sol duró 6 días, las semillas se expusieron sobre superficies planas y se mantuvo la correspondiente separación e identificación de las muestras. Cada 2

horas se realizó un volteo de los granos a fin de homogenizar el secado y en horas de ausencia de sol, las semillas se cubrieron a fin de que no absorbieran humedad del ambiente (figura 22).



a)

b)

Figura 22. Secado al sol. a) muestreos para antioxidantes. b) clones y masa global.

Como control de calidad de la fermentación y secado, se realizó la prueba de corte longitudinal que permitió evaluar el aspecto físico del grano.

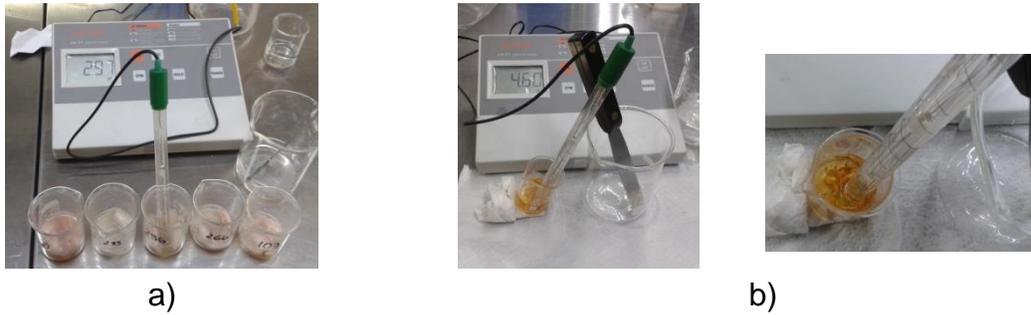
Variables cuantificadas

En esta fase se analizaron los procesos de fermentación y secado correspondientes al beneficio del cacao.

- a. **Fermentación:** se midió la temperatura de la masa de cacao en fermentación y se determinó el pH de testa, sólidos solubles y el contenido de antioxidantes.
- b. **Secado:** a los granos fermentados y secos se les determinó humedad (%), prueba de corte y pH de cotiledón a fin de evaluar la calidad final obtenida de cada una de las etapas del proceso, ya que estos granos se consideran materia prima para la elaboración de chocolate de mesa.

Técnicas de análisis

- **Contenido de antioxidantes:** se evaluó en las semillas secas según la técnica descrita en la fase I.
- **pH:** el pH de las muestras en fermentación se tomaron inmediatamente se inicia el proceso fermentativo (día 0) y cada día que se realiza el volteo y aireación de la masa hasta finalizar el proceso (día 6).
El análisis se hizo en el mismo momento de la toma de muestra, tal como se ilustra en la imagen de la figura 23.



a) b)
Figura 23. Determinación de pH. a) Testa. b) pH en cotiledón.

En cada muestreo se tomaron dos semillas por clon y se le adicionó 10 mL de agua destilada para determinar con el potenciómetro el pH de testa. Una vez tomada esta lectura, a las almendras se les retiró la testa y se trituraron para obtener trozos del cotiledón; para hacer la determinación de pH de cotiledón se pesó 1 gramo de muestra en 10 mL de agua destilada y se hizo la lectura con el electrodo del potenciómetro.

- **Sólidos solubles:** Los sólidos solubles se determinaron con un refractómetro portátil marca SPER SCIENTIFIC modelo 300003 de escala 0-80%.

Las muestras a analizar se exprimieron para obtener el jugo de pulpa, una gota de esta se colocó sobre la plataforma del prisma de refracción y se cerró la tapa de cubierta, a fin de que la solución se extendiera uniformemente sobre el prisma. La luz refleja sobre la escala de lectura, la línea fronteriza que indica la concentración de azúcares de la muestra, así como se indica en la figura 24.



a) b)
Figura 24. Medición de solidos solubles (%) a) Refractómetro portátil
 b) escala de medición de refractómetro (2%).

- **Temperatura de masa en el cajón de fermentación:** la temperatura de la masa se midió con un termómetro de mercurio que se introdujo en cinco puntos del cajón (cuatro extremos y centro) de fermentación. La medición se realizó cada 12 horas y antes de realizar el volteo de la masa. En la figura 25, se ilustran los puntos de medición de temperatura en el cajón de fermentación.

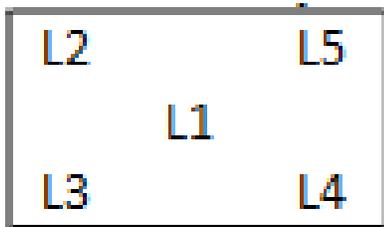


Figura 25. Puntos de medición de temperatura de masa en cajón de fermentación.

- **Prueba de corte:** Se tomaron al azar 10 semillas secas de cada clon y se les realizaron cortes longitudinales por la parte central a fin de exponer la máxima superficie de corte de los cotiledones (Enríquez, 1985). Se examinaron visualmente las dos mitades de cada grano, con la ayuda de un estereoscopio y se observó el interior de las almendras para clasificar los granos según los siguientes criterios (Stevenson *et al.*, 1993; Enríquez, 1985):
 1. Almendras con buena fermentación (Marrones): cotiledones de coloración café marrón o rojiza, estrías bien abiertas, cotiledones no tan compactos y testa suelta.
 2. Almendras con mediana fermentación (Parcial Violeta): cotiledones de color café violáceo y presentan estrías menos abiertas, los cotiledones no son compactos, testa relativamente suelta que las anteriores.
 3. Almendras con mala fermentación (Total Violeta): se presentan almendras totalmente violetas, apariencia compacta y ausente de grietas.
 4. Almendras pizarrosas: apariencia de cotiledones color gris negruzco y de aspecto compacto.
 5. Almendras mohosas: cotiledones con presencia de hongos, con tonalidades que depende del organismo (Blanco, amarillo, gris entre otros).

El valor del Índice de fermentación se obtuvo según la siguiente ecuación:

Índice de Fermentación (IF)=% Almendras marrones + % Almendras parcial violeta

Diseño experimental y análisis estadístico

En esta fase los datos se analizaron en un diseño completamente al azar con 20 tratamientos (cinco clones y cuatro tiempos de fermentación) y tres réplicas de cada uno; se realizó un análisis de varianza y la comparación de medias mediante la prueba de Tukey al ($P < 0.05$), usando el paquete estadístico SPSS® versión 17.

3.3.3 Fase III - Evaluación de la torrefacción durante la elaboración de chocolate de mesa sobre el contenido de antioxidantes

La torrefacción es considerada también una de las etapas importantes para el desarrollo de las propiedades organolépticas del chocolate, además es también considerada una de las etapas críticas para la pérdida de antioxidantes.

De cada fermentación por clon se reunieron todas las semillas para hacer un solo lote y realizar una sola torrefacción, así como se ilustra en la figura 26.

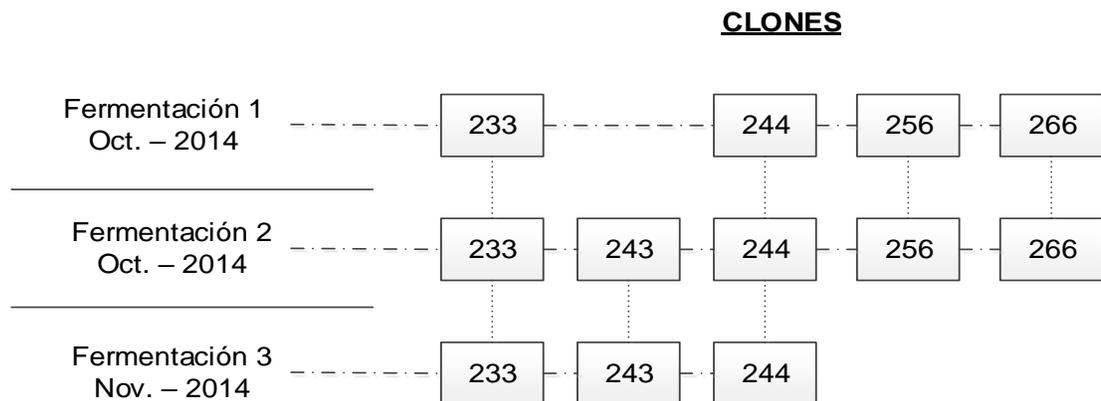


Figura 26. Lotes de semillas por clon para tostado.

Una vez obtenido el lote por clon, se tomó la mitad para procesar y la otra mitad para almacenar, a fin de tener una contra muestra; a las semillas destinadas a transformación se les eliminó todos los granos vanos presentes, y aquellas impurezas producto del secado; así como se ilustra en la figura 27.

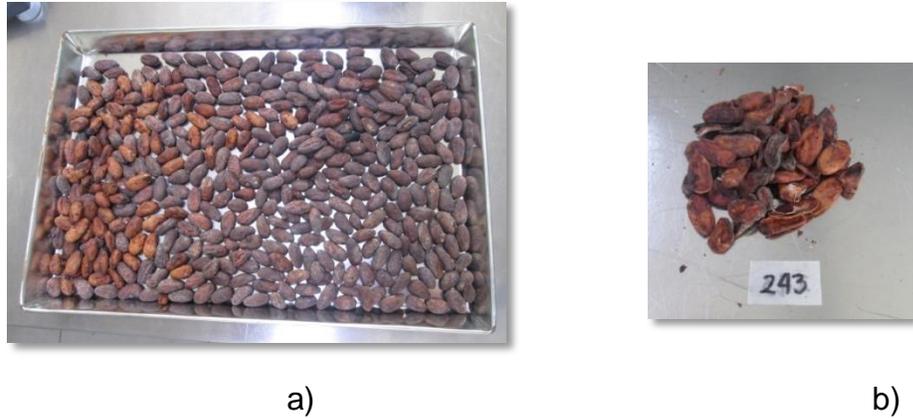


Figura 27. Grano de cacao para tostar. a) Grano limpio. b) Grano vano e impurezas.

La torrefacción de los clones se realizó en una olla de acero puesta en estufa eléctrica como se muestra en la figura 27, esta actividad se realizó durante un tiempo de 20 minutos a una temperatura de 140°C con agitación continua, evaluando a su vez el cambio de color que se va generando en el grano sin que tome una coloración muy oscura o quemada y observar que no se genere el desgrane.

De cada una de las torrefacciones realizadas, se tomó una muestra de dos granos sin descascarar para la evaluación de antioxidantes, estas se identificaron y se guardaron en un lugar seco y fresco.

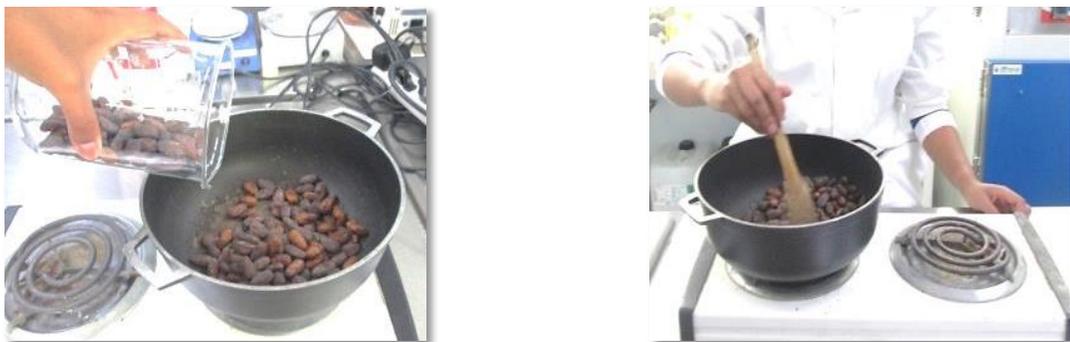


Figura 28. Torrefacción del grano de cacao.

Variables cuantificadas

En esta fase se evaluó el contenido de antioxidantes presentes en las semillas tostadas, según la técnica descrita en la fase I.

Diseño experimental y análisis estadístico

En esta fase los datos se analizaron en un diseño completamente al azar con 5 tratamientos y tres réplicas de cada uno; se realizó un análisis de varianza y la comparación de medias mediante la prueba de Tukey al ($P < 0.05$), usando paquete estadístico SPSS® versión 17.

3.3.4. Fase IV – Elaboración del chocolate de mesa con alto contenido de antioxidantes

Esta fase contempla actividades de transformación donde se generó valor agregado al grano de cacao obtenido en la fase III, a fin de convertirlo en un chocolate de mesa dulce tipo artesanal.

Partiendo del hecho de que los granos ya estaban tostados, la elaboración de cada uno de los prototipos se desarrolló siguiendo el siguiente procedimiento, como se ilustra en la figura 29.

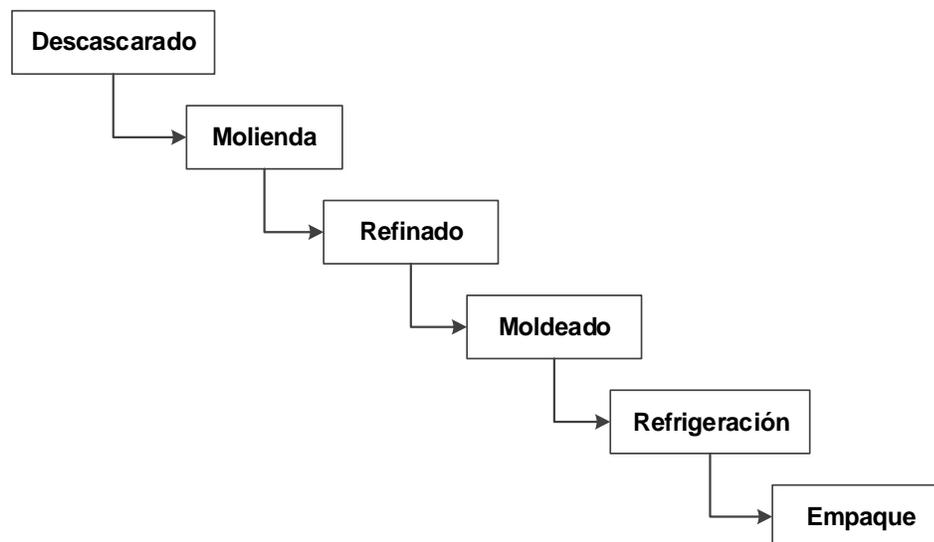


Figura 29. Diagrama del proceso de elaboración del chocolate de mesa.

- Descascarado: de forma manual se eliminó la testa del grano a fin de obtener el nibs o almendras, que luego se pesaron, como se ilustra en la figura 30. En base a la cantidad de nibs obtenidos, se pesó el azúcar necesario para la formulación del chocolate de mesa dulce tipo artesanal (33.3% cacao y 66.6% azúcar).

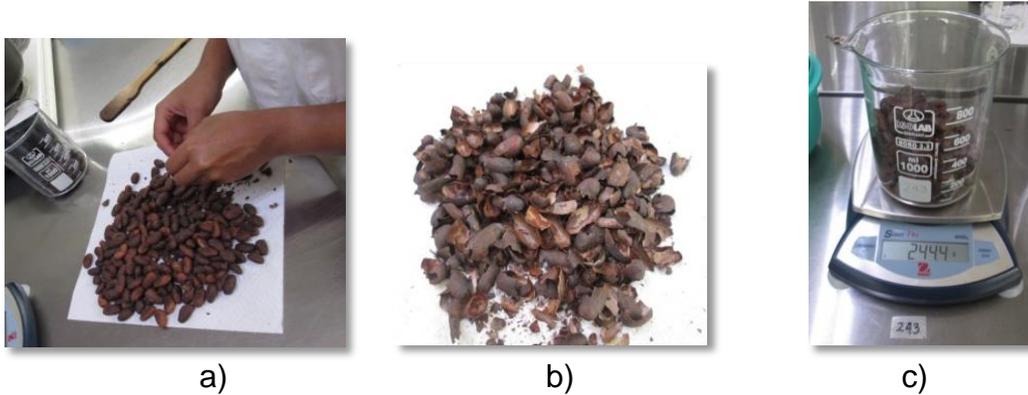


Figura 30. Descascarado del grano. a) grano tostado. b) testa de granos. c) nibs para moler.

Molienda: se realizó en un molino de disco, eléctrico de marca el rey y equipado con un motor eléctrico marca siemens de 0.5 HP. Para obtener una pasta fina se debió pasar la pasta tres veces por el molino, de las cuales las dos primeras se realizaron de manera individual y la tercera ya con la mezcla del azúcar, como se muestra en la figura 31.



1



2



3

Figura 31. Molienda de los nibs.

- Refinado: La mezcla obtenida se pasó a calentamiento a baño de maría por un lapso de 30 minutos con agitación permanente como se muestra en la figura 32. El refinado de la pasta permite que se funda la grasa de cacao y obtener una masa acuosa que facilita el moldeado.



Figura 32. Refinado de la pasta.

- Moldeado: En cada molde de plástico transparente se depositaron 60 gramos de pasta; para eliminar las burbujas de aire generadas durante el llenado del molde, fue necesario golpear suavemente cada molde, como se muestra en la Figura 33.



Figura 33. Pesado y moldeo de chocolate.

- Refrigeración: permitió que la pasta de chocolate adquiriera consistencia y quedara definida la forma del molde para su presentación final. Se mantuvo a temperatura aproximada de 4°C durante un periodo de 24 horas (figura 34).



Figura 34. Chocolates para refrigeración.

- Empaque: se empaquetaron 4 bloques de chocolate para completar un peso de 240 gramos al empaquetar (figura 35). De manera individual, se empaquetaron en bolsa plástica de polipropileno ya que es reciclable, apta para alimentos, tiene baja permeabilidad al vapor de agua.



Figura 35. Chocolates elaborados con semillas clones de cacao.

Para la presentación final y utilizando el fomento de la marca establecida por la Universidad Autónoma de Chiapas, el chocolate se presentó en una bolsa de tela identificada con la marca UNACH, vinculando de esta manera el trabajo

desarrollado con la comunidad productora de cacao del municipio de Tecpatán – Chiapas.

Obtenidos los prototipos, se realizó una prueba de medición del grado de satisfacción entre consumidores a fin de establecer de los cinco clones cual era de agrado.

Para llevar a cabo la prueba se utilizó una escala hedónica verbal (Anzaldúa Morales *et al.*, 1983) ya que presentan a los jueces una descripción verbal de la sensación que les puede producir la muestra al degustar. En este caso se utilizó una escala de 5 puntos incluyendo el punto central “Ni me gusta ni me disgusta”, el formato utilizado en la prueba se muestra en la figura A1 del apéndice.

Las muestras se prepararon con leche de vaca ultrapasteurizada y se utilizó en proporción de un bloque (60 g) de chocolate para dos tazas.

Cada muestra fue identificada con un número de tres cifras, escogido de forma aleatoria en una tabla de números aleatorios.

El uso de la tabla de números aleatorios no está determinado, lo importante es que partiendo de un punto al azar, se siga una dirección coherente y que pueda aportar números de tres (3) dígitos, como se muestra en la figura 36.

TABLA DE NUMEROS ALEATORIOS

6224	3500	3831	5590	3749	6934
8261	9512	6386	7969	3173	3662
9421	5438	8389	1013	3212	9914
2082	5683	6553	9265	6330	6455
5770	0772	0813	7361	4227	0906
0802	9477	6458	3684	5954	9961
4027	5923	1430	9965	6966	7021
3199	5961	1703	5947	4258	6152
7686	9235	7379	6239	9440	3265
8239	4158	6588	4626	6377	6247
7463	3284	6007	3101	8721	9707
8396	7547	3679	6814	3966	9402

Figura 36. Selección de códigos para muestras en tabla de números aleatorios.

Fuente: Anzaldúa-Morales, (2005)

A partir del punto de partida seleccionado (Primer columna y sexta fila), se ubica el número 0802, del cual se toma los tres últimos dígitos (802) y se usa para asignarlo a la primer muestra o tratamiento (Chocolate 233).

De la misma forma, se continuó el recorrido hacia la derecha sobre la misma fila, encontrando el número 9477 y se tomó los tres primeros dígitos para obtener el número 947 el cual fue usado para nombrar la segunda muestra (Chocolate 243), así sucesivamente hasta conseguir los cinco códigos.

Los chocolates a evaluar quedaron identificados como se muestran en el cuadro 3.

Cuadro 3. Codificación de las muestras de chocolate prueba de medición del grado de satisfacción en consumidores.

Muestra	Código
Chocolate 233	802
Chocolate 243	947
Chocolate 244	764
Chocolate 256	583
Chocolate 266	684



a)



b)

Figura 37. Preparación de prueba de medición del grado de satisfacción.

a) Chocolates. b) presentación de muestras para consumidores.

Previo a la prueba, se citaron a los consumidores y se les explicó el procedimiento para el correcto desarrollo de la prueba, a fin de minimizar errores en los resultados, fue necesario decirles que disponían de un vaso de agua para que jugaran su boca antes y después de degustar cada muestra a fin de disminuir sesgos en la preferencia por residuos de la muestra anterior.

El formato además de ser una herramienta para instruir al consumidor en la prueba de degustación y que él pueda plasmar la respuesta, se utilizó también como medio para conocer el nombre, la edad, el sexo y algunos gustos y preferencias que éste tiene en el consumo de bebidas como el chocolate. Las preguntas debieron ser respondidas antes de la degustación; al finalizar la degustación el consumidor debía de elegir cual chocolate degustado fue de su preferencia y algún comentario (si lo había) con respecto al desarrollo de la prueba. El formato de la prueba puede verse en la figura A1 del apéndice.

La prueba se desarrolló en cinco espacios diferentes, que permitió que se conformaran cinco paneles de consumidores en los que participaron estudiantes de gastronomía e ingeniería de alimentos de la universidad de Ciencias y Artes de Chiapas – UNICACH, estudiantes de Maestría en Ciencias de la Universidad Autónoma de Chiapas – UNACH, empresas privadas, amas de casa estudiantes de alta costura del DIF, grupos familiares, personal administrativo de la Secretaría de Educación de la ciudad de Tuxtla Gutiérrez y personal administrativo del CEUNE de la Universidad Autónoma de Chiapas. La figura 37 ilustra los grupos de consumidores participantes en la prueba.



Figura 38. Grupos de participantes en la prueba de degustación de chocolates.

Variables cuantificadas

Una vez elaborados los chocolates de mesa, se tomaron muestras de los mismos para hacer determinación de actividad antioxidante de cada uno a fin de establecer si se presentan cambios durante el beneficio y transformación.

Para establecer un patrón de comparación del contenido de antioxidantes presentes en los diferentes chocolates de mesa elaborados, se tendrán dos muestras de chocolates comerciales, uno artesanal y el otro industrial.

Se evaluó el grado de satisfacción en los cinco chocolates elaborados y se determinó si existieron diferencias en la preferencia de las personas en relación a los chocolates evaluados.

Diseño experimental y análisis estadístico

En el caso del contenido de antioxidantes, se definieron 7 tratamientos correspondientes a los cinco clones y las dos marcas comerciales, se estudiaron tres réplicas de cada uno; se realizó un análisis de varianza y la comparación de medias mediante la prueba de Tukey al ($P < 0.05$), usando el paquete estadístico SPSS® versión 17.

Los resultados de la prueba de grado de satisfacción se analizaron estadísticamente según lo describe Anzaldúa Morales (2005).

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Fase 1: Estudio y selección de pastas de cacao

En el cuadro 4, se presentan los resultados obtenidos del análisis químico y actividad antioxidante de las 15 pastas de cacao.

Cuadro 4. Resultados de propiedades químicas de pastas de cacao.

Clon	Sólidos Solubles (%)	pH	Acidez (% Ácido Acético)	Contenido de antioxidantes (mM de ácido ascórbico g ⁻¹ de cacao)
230	1.9 f	5.45 e	0.40 bcd	62.25 h
233	1.74 f	5.50 e	0.52 ab	164.50 cd
235	4.13 bcd	5.52 e	0.58 a	86.40 gh
236	1.92 f	6.04 ab	0.35 d	106.40 fg
240	3.81 bcde	5.99 ab	0.37 d	148.75 cde
243	5.21 ab	5.69 bcde	0.51 abc	106.64 fg
244	5.32 ab	5.76 bcde	0.34 d	121.98 ef
246	2.67 def	4.88 f	0.62 a	197.43 b
253	2.20 f	6.03 ab	0.39 cd	89.34 gh
256	2.33 ef	5.56 cde	0.41 bcd	68.84 h
259	4.47 bc	6.19 a	0.40 bcd	130.69 ef
260	4.08 bcd	5.93 abcd	0.39 cd	141.28 de
266	6.5 a	5.73 bcde	0.38 d	126.17 ef
268	3.03 cdef	5.96 abc	0.35 d	175.23 bc
269	2.71 def	5.54 de	0.43 bcd	237.68 a
CV	15.18	2.33	9.62	7.84

Nota: Promedios con la misma letra no presentan diferencias estadísticamente significativas en la prueba de comparación de medias de Tukey ($P \leq 0.05$).

- Sólidos solubles (%)

Los resultados de los porcentajes de sólidos solubles de las pastas que se presentan en el cuadro 4, muestran que el valor más alto se observó en el clon 266 con valor de 6.5%, la media de la población analizada esta en 3.47% y se encontraron ocho clones: 230, 233, 236, 246, 253, 256, 268 y 269 con valores que están por debajo de la media poblacional, el resto de las muestras analizadas presentaron valores por encima del valor promedio. El análisis estadístico practicado a los datos permitió detectar diferencias significativas entre las 15 muestras, en el cuadro A1 del apéndice se presentan los resultados obtenidos en este análisis.

La importancia de determinar el contenido de sólidos solubles en las pastas de cacao podría ser una medida indirecta del contenido de azúcares presentes en las pastas al asumir el porcentaje de sólidos solubles expresado en el refractómetro como el contenido de azúcares de sacarosa presentes en la muestra.

Es de hacer notar que en la búsqueda de material bibliográfico relacionado con esta variable en pastas de cacao, no se encontraron reportes de investigaciones que permitan una comparación con los resultados obtenidos en esta investigación.

El análisis estadístico de esta variable se presenta en el cuadro 1A del apéndice.

- pH

Los resultados del pH de las pastas se presentan en el cuadro 4, en el que se observa un rango que va desde 4.88 para el clon 246 hasta el valor de 6.19 para el clon 259. El valor promedio estimado de las muestras es de 5.72 y se puede observar que los clones 246, 230, 233, 235, 269, 256 y 243 se encuentran por debajo de la media; sin embargo, se encontró que ocho clones el 266, 244, 236, 240, 253, 259, 260 y el 268 tienen valores que los ubican por encima del valor promedio.

Estadísticamente, los valores de pH encontrados muestran que existen diferencias significativas entre los 15 clones; los resultados del análisis estadístico se presentan en el cuadro 2A del apéndice.

En lo referente a la calidad exigida por el mercado y la comercialización de grano de cacao seco, la norma mexicana NMX-FF-118-SCFI-2014 establece para cacao en grano seco y fermentado valores normales que van en un rango de 4.8 a 5.5, con lo que podemos indicar que aquellos que se encuentran por debajo de la media a excepción del clon 243, estarían cumpliendo con lo exigido por la norma mexicana.

Sin embargo a nivel mundial esos rangos pueden variar dependiendo las exigencias del mercado o la procedencia del mismo; para el caso de Colombia, algunas industrias transformadoras exigen valores de pH de 5.0 a 5.5 (FEDECACAO, 2004), de la misma manera Perea *et al.*, (2011) ubicaron ocho clones de 12 analizados dentro del rango de pH medio establecido con valores que van de 5.3 a 5.6; cumpliendo con los exigidos por la industria colombiana. Puede entonces asegurarse de esta manera que estas pastas de cacao analizadas tienen valores de pH que se consideran normales y aceptados por la industria, reflejándose en el cumplimiento de las normas de calidad.

Es de observar también que de acuerdo al rango de la norma mexicana y anteriormente nombrado, existen dentro de las muestras analizadas nueve clones

que están por encima del límite mayor del rango, y que presentan valores que van de 5.69 a 6.19.

Los clones 243, 266, 244, 236, 240, 253, 259, 260 y 268 están por encima de los valores de la norma lo que beneficia a la industria, al estar en un rango más cercano para la estabilización de las pastas en la elaboración de chocolates.

De acuerdo a cada investigación y según los valores de pH encontrados, cada autor los clasifica de manera diferente. Para clones provenientes de Chiapas, Ramírez *et al.*, (2013) conformaron tres grupos, relacionando el pH con la Acidez y estableciendo; Grupo I: pH 5.5 - 5.9 (Alta acidez), Grupo II: pH 5.9 - 6.3 (Media acidez) y Grupo III: pH 6.3 - 6.7 (baja acidez).

Teniendo en cuenta esta clasificación al tratarse de clones provenientes de la misma región, se encontraron dos genotipos (230 y 246) con valores más ácidos a los agrupados por estos autores, siendo el clon 246 el que presenta el valor más bajo de 4.88 y ubicándose por debajo del rango del grupo I (Alta acidez); los demás genotipos se agrupan dentro del grupo II y no se encontraron clones que ingresen al grupo de baja acidez.

Los resultados encontrados en esta investigación en pastas de cacao con semillas fermentadas, difieren de los publicados por Graziani de Fariñas *et al.*, (2003) ya que reportan valores de pH con un rango que va de 6.33 a 6.40 en cotiledón de semillas secas sin fermentar.

Los reportes de Pérez *et al.*, (2002) en granos de cacao fermentados secos y tostados de la región de Chuao son similares a los encontrados en esta investigación ya que presentan valores de pH que van en un rango de 4.81 a 5.55.

- **Acidez (% ácido acético)**

Los valores de la acidez presente en las pastas analizadas se muestran en el cuadro 4 y se expresan en porcentaje de ácido acético, el rango de valores osciló entre 0.34 y 0.62%; el análisis estadístico reportó que hubo diferencia significativa entre las pastas analizadas reportando el valor más alto para el clon 246 y el valor más bajo en el clon 244, el promedio de los valores es de 0.421 donde se observó que la mayoría de los clones se encuentran en valores que se ubican por debajo de la media y que solo cinco clones, el 269, 243, 233, 235 y 246 presentaron valores por encima de este.

El pH al estar relacionado con la acidez, permite identificar que para el clon 246 que presenta menor valor de pH su acidez se ve expresada con el valor más alto de 0.62.

Los resultados del análisis estadístico se presentan en el cuadro 3A del apéndice.

Los resultados obtenidos en esta investigación son similares a los obtenidos por Perea *et al.*, (2011) donde registran valores de acidez que van de 0.3 al 0.4% para el grupo de los materiales analizados por ellos.

Graziani de Fariñas, *et al.*, (2003) reportan valores de acidez en un rango de 0.31 a 0.35 en cotiledones de semillas sin fermentar, dichos resultados difieren con lo encontrado en esta investigación, y puede deberse a las condiciones del material (sin fermentar) que ellos analizaron.

Los valores de acidez de los granos de cacao pueden llegar a variar de acuerdo al procedimiento y al lugar en que se realizan las actividades de fermentación y secado, aunque no existen estudios que confirmen este criterio evidentemente las variedades y el contenido de mucílago presente en las semillas también deben provocar efectos en las variables indicadoras de calidad.

- **Contenido de antioxidante (mM Ácido ascórbico g⁻¹ de cacao)**

Los resultados del contenido de antioxidantes de las pastas de cacao estudiadas se presentan en el cuadro 4, en el cual se observa una gran variabilidad en las muestras; observándose que el valor más alto fue obtenido para el clon 269 con 237.68 mM de ácido ascórbico g⁻¹ de cacao y el más bajo para el clon 230 con valor de 62.25 mM de ácido ascórbico g⁻¹ de cacao. El análisis de los datos permitió detectar diferencias estadísticas significativas entre el contenido de antioxidantes de las pastas estudiadas. El ANOVA se presenta en el cuadro 4A del apéndice.

El valor promedio de antioxidantes cuantificado en las pastas resulto en 130.91 mM de ácido ascórbico g⁻¹ de cacao, destacan los clones 230, 256, 235, 253, 236, 243, 244, 266 y 259 en los que el contenido de antioxidante determinado resulto inferior al contenido medio. A diferencia, los clones 260, 240 233, 268, 246 y 269 se ubicaron con valores por encima de la media.

Los resultados encontrados se asemejan a los reportados para clones de la misma región por Ramírez *et al.*, (2013) donde utiliza el método DPPH y reporta un alto contenido de antioxidantes mayor que lo reportado en la literatura de clones procedentes de países asiáticos como Malasia, Ghana y Costa de Marfil; mostrando que existen variedades chiapanecas que poseen un alto contenido de antioxidantes al igual que las analizadas en esta investigación.

La determinación y la forma de expresar la actividad antioxidante, puede variar según los métodos utilizados, muchos difieren en cuanto a su mecanismo, sustrato, tiempos de medición y expresión de resultados y sin embargo todos indican la eficacia de las sustancias que impiden la oxidación de un sustrato bajo condiciones específicas.

La mayoría de los métodos utilizados para la determinación de la actividad antioxidante se basan en técnicas de procedimientos comunes como son: ABTS,

radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH), FRAP y DMPD; cada una de ellas puede estar expresada en equivalentes de vitamina C (VCEAC), equivalentes trolox (TEAC); así como lo muestra Kuskoski *et al.*, (2005) en la aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos, encontrando que entre los métodos utilizados para determinar la capacidad antioxidante, el radical ABTS es uno de los más aplicados, al considerarse un método de más elevada sensibilidad, práctico, rápido y muy estable.

El tiempo de medida necesario para cada uno de los métodos difiere según el investigador, aunque estudios han demostrado que el tiempo de determinación con el ABTS es de uno y siete minutos, ya que la reacción del radical ABTS no se completa hasta pasado el primer minuto, otros autores como Re *et al.*, (1999) reportan que el tiempo más apropiado para la lectura es de cuatro minutos.

Para el caso de cacao Jonia-Essien *et al.*, (2008), compararon una variedad tradicional con unos híbridos, utilizando el potencial (FRAP) ensayo de reducción férrico antioxidante y Trolox como un estándar, encontraron una capacidad antioxidante de $12.4 \pm 7.3 \mu\text{mol TE g}^{-1}$ para una variedad tradicional y los híbridos con un rango que va de $21.6 \pm 2.7 \mu\text{mol}$ a $45.5 \pm 2.86 \mu\text{mol TE g}^{-1}$, encontrando un valor más alto en los híbridos que en el tradicional.

Azizah *et al.*, (2007) realizaron un estudio para determinar la capacidad antioxidante y el contenido de fenólico en cacaos de Malasia, Costa de Marfil, Ghana y Sulawesi; utilizando los métodos de blanqueo de β -caroteno, DPPH y FRAP; usando para cada uno de ellos un extracto acuoso y uno etanólico para cada una de las muestras analizadas, encontrando la mayor actividad antioxidante en los extractos etanólicos cuando esta se determina por el método de DPPH y FRAP. Por el contrario para el método de blanqueo de β -caroteno, la mayor actividad antioxidante se encontró en los extractos acuosos. Lo anterior indica que los métodos utilizados para expresar la actividad antioxidante presente en diversos genotipos de cacao son eficientes, bien entendido cada método permite identificar las diferencias significativas en las muestras analizadas.

Viluzca *et al.*, (2012) reportan un alto contenido de antioxidantes para el chocolate oscuro al 70% de cacao luego de hacer un estudio de la actividad antioxidante en chocolates comerciales venezolanos. La actividad antioxidante se evaluó por el método de ABTS empleando Trolox como patrón de referencia, encontrando que el mayor contenido lo posee el chocolate oscuro con un valor de $3.95 \pm 2.80 \mu\text{mol Trolox}$ y el menor contenido los chocolates blancos con un valor de $0.023 \pm 1.62 \mu\text{mol Trolox}$; aunque se reporten en unidades de medida diferentes a las reportadas en esta investigación, se puede observar que este método permite diferenciar el contenido de antioxidantes en productos de cacao.

Para el estudio de los antioxidantes en cacao, se han utilizado diversos métodos lo que dificulta la comparación de los resultados obtenidos; sin embargo, independientemente de la técnica ha sido posible evidenciar diversidad en el contenido de antioxidantes de los materiales estudiados en diversos países. Los resultados de esta investigación utilizando el método de ABTS permitieron en la población de 15 clones estudiados identificar material con un alto contenido de antioxidantes para materiales de origen mexicano, que confirma lo reportado por Ramírez *et al.*, (2013) utilizando el método de DPPH.

Investigaciones previas Gómez *et al.*, (2011) señalan los efectos benéficos para la salud de los agentes antioxidantes presentes en el cacao y en el chocolate, no obstante se considera necesario investigar los posibles efectos de las actividades de fermentación, secado y la transformación a chocolate a fin de asegurar que el contenido de antioxidantes presentes en las semillas, no sea degradado o afectado de manera negativa.

En el cuadro 5, se muestran los resultados obtenidos del análisis proximal de las 15 pastas de cacao.

Cuadro 5. Análisis proximal de 15 pastas de cacao elaboradas con semillas de clones de Tecpatán.

Clon	Humedad (%)	Ceniza (%)	Grasa (%)
230	1.65 fg	3.70 abc	46.40 cde
233	1.50 g	3.75 abc	46.87 bcde
235	2.76 bcd	3.57 bc	50.70 abc
236	2.37 cde	3.46 cde	51.90 a
240	1.76 fg	3.74 abc	47.91 abcde
243	3.42 a	4.22 a	45.62 ed
244	2.37 cde	3.88 abc	46.59 cde
246	2.77 bcd	2.97 de	43.05 e
253	1.80 efg	3.45 cde	51.64 ab
256	1.42 g	3.64 abc	51.78 ab
259	1.50 g	4.06 ab	45.69 de
260	2.18 def	3.50 bcd	50.0 abcd
266	2.84 abc	3.45 cde	47.67 abcde
268	2.14 ef	2.89 e	47.72 abcde
269	3.2 ab		46.00 cde
CV	8.94	5.50	3.47

Nota: Promedios con la misma letra no presentan diferencias estadísticamente significativas en la prueba de medias de Tukey ($P \leq 0.05$).

- **Humedad (%)**

Dentro de los resultados encontrados en las pastas de cacao presentados en el cuadro 5, para la humedad se presentaron diferencias significativas dentro de los tratamientos, mostrando valores que van desde 1.42 para el clon 256 hasta 3.42 para el clon 243. Aunque pueden considerarse valores muy bajos al compararse con la humedad de los granos secos y exigidos por la norma, estos se consideran como productos seguros con prolongada vida de almacenamiento. Los resultados del análisis estadístico se presentan en el cuadro 5A del apéndice. Al respecto, Fernández *et al.*, (2014) reportan un rango de humedad de 1.23 a 2.41% en muestras de chocolates comerciales venezolanos; de la misma forma Pons (2010) encontró en un rango de humedad de 0.5 a 2.4% en chocolates de mesa locales del estado de Tabasco, México; que al ser comparados con los encontrados en este estudio, entran en el mismo rango y hay similitud en el tipo de muestras estudiadas. Existen escasas investigaciones en las que se reporten valores del contenido de humedad en pastas de cacao, lo que no permite generar una discusión al respecto.

- **Cenizas (%)**

En el cuadro 5 se muestran los datos obtenidos de las 15 pastas de cacao analizadas, éstas presentan un rango de variabilidad comprendido entre 2.89% y 4.22%; al comparar estos resultados con los obtenidos por Pérez *et al.*, (2002) en cacaos fermentados secos y tostados, se encuentra que 10 de las 14 pastas analizadas ingresan en el rango reportado por ellos (3.32% – 3.93%).

Los clones 268 y 246 se sitúan por fuera del rango con valores de 2.89 y 2.97% respectivamente, a su vez las pastas de los clones 259 y 243 presentan valores por encima del rango superior al reportado por Pérez *et al.*, (2002), lo que indica que posiblemente los últimos clones (259 y 243) contendrían un mayor contenido de minerales a los reportados, que aun entran dentro de los valores aceptables de cenizas en cacao.

El ANOVA para esta variable se presenta en el cuadro 6A del apéndice.

De la misma forma Álvarez *et al.*, (2007) reportaron para cacaos procedentes de Cuyagua en el estado de Aragua, Venezuela, cenizas con un rango de valores de 2.86% a 3.32% que coinciden con lo encontrado en esta investigación, a diferencia de lo encontrado por Pérez *et al.*, (2002), en el que el límite inferior del rango de valores es más bajo de lo encontrado para el clon 268 (2.89%).

Otros estudios realizados por Graziani de Fariñas *et al.*, (2003) indicaron que para cacaos sin fermentar, los valores de las cenizas estuvieron en un rango de 3.62% a 3.65%, corroborando que gran parte de las pastas analizadas en esta investigación, están dentro de ese rango.

- Grasa (%)

En la industria del chocolate, el contenido de grasa es uno de los componentes más importantes del grano de cacao, debido a las características físicas y químicas.

Los datos del análisis estadístico para esta variable se presentan en el cuadro 5, encontrando un rango de 43% a 51.9%. El ANOVA se presenta en el cuadro 7A del apéndice.

Al relacionar los contenidos de grasa con el contenido de antioxidantes encontrados en las pastas de cacao, se observó que los clones de mayor contenido de grasa, eran aquellos con bajo contenido de antioxidante, confirmando lo mencionado por Miller *et al.*, (2009) al afirmar que la cantidad de polifenoles y la actividad antioxidante parecen depender del contenido de sólidos no grasos presentes en los productos debido a que son de naturaleza hidrofílica.

La bibliografía reporta contenidos similares aunque al tratarse de diferentes variedades estos pueden cambiar; algunas de las pastas entran en el rango de valores reportado por Graziani de Fariñas *et al.*, (2003) con contenidos oscilan en 49.34 y 52.02% en semillas sin fermentar procedentes de Aragua Venezuela.

A diferencia de lo anterior, Álvarez *et al.*, (2007) encontraron contenidos de grasa más altos a los encontrados en esta investigación con valores de 54.61 a 56.07% para genotipos venezolanos.

Liendo *et al.*, (1997) afirma que granos de cacao con contenidos de grasa mayores o iguales a 53% son considerados de buena calidad para la industria chocolatera, en esta investigación los encontrados no llegan a este valor; esto podría confirmar lo expuesto por Sunjung *et al.*, (2016) al identificar mayor valor de capacidad antioxidante en granos de cacao desgrasados, ya que las pastas estudiadas se consideran con alto contenido de antioxidantes.

4.2 Fase II - Evaluación del beneficio sobre el contenido de antioxidantes

4.2.1 Fermentación

Los resultados de las variables cuantificadas se presentan y se describen a continuación.

- Temperatura (°C)

Los resultados comparativos de la figura 39 muestran las temperaturas alcanzadas en la masa de cacao en cada una de las fermentaciones realizadas. Durante la toma de datos de temperatura de la masa en el cajón, se consideró importante registrar la temperatura ambiente del lugar donde se desarrolló el proceso fermentativo.

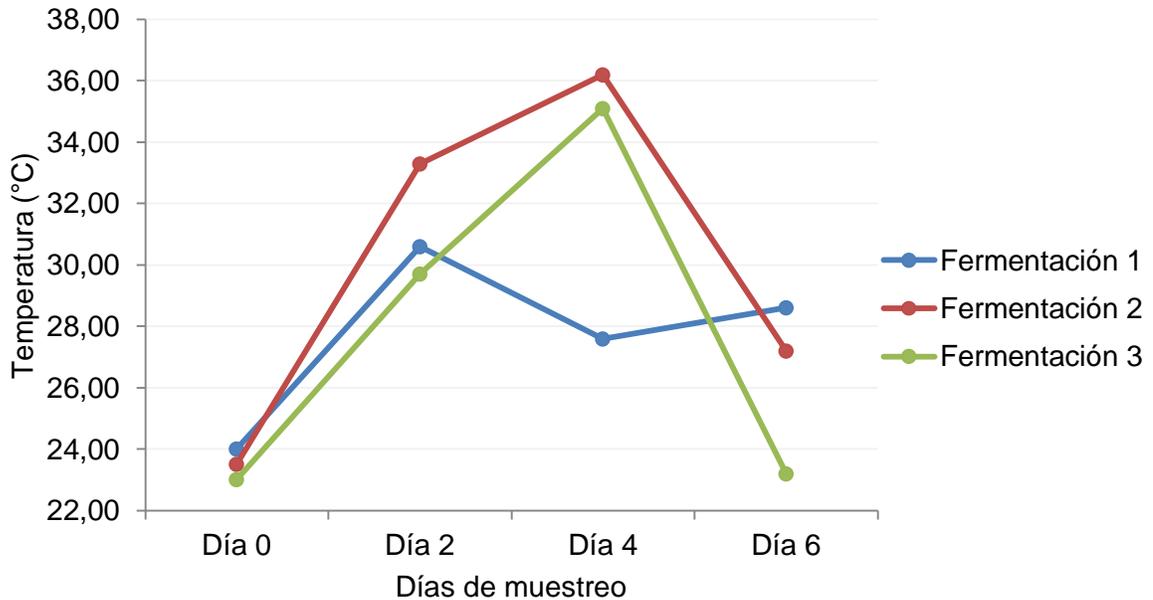


Figura 39. Comportamiento de la temperatura de la masa de cacao durante la fermentación de semillas de cinco clones cacao.

Debido a que los registros de temperatura se realizaron cada 12 horas, para facilitar el análisis de la información en relación con los días de muestreo (día 0, día 2, día 4 y día 6) se consideraron los valores de temperatura del cajón y ambiental en los mismos cuatro momentos.

Al comparar las temperaturas de las fermentaciones, se puede observar que la fermentación 1, presenta un aumento de temperatura del día 0 al día 2 hasta alcanzar un valor de 30.60 °C, luego para el día 4 la temperatura desciende hasta llegar a 27.6 °C y finalizar en el día 6 con un valor de 28.6 °C. Comportamiento diferente al presentado en las fermentaciones (2 y 3), el cual puede atribuirse a la cantidad de azúcares presentes en el mucílago y/o la temperatura ambiental para ese momento de muestreo.

El análisis de varianza de cada clon se presenta en el cuadro A8 del apéndice, así como la comparación de medias de la prueba de Tukey ($P < 0.05$) en el cuadro A9 del apéndice.

Dado que las tres fermentaciones se desarrollaron en diferentes fechas y con situaciones climáticas diferentes, se considera relevante ser tenidas en cuenta para el análisis del proceso fermentativo. En el cuadro 6, se presentan las fermentaciones con sus respectivas fechas y los registros de la temperatura ambiental durante el proceso. Se observa que en la fermentación 1, las temperaturas que se registraron son inferiores a las presentadas en las fermentaciones 2 y 3. La fermentación 2 presenta las mayores temperaturas en todo el proceso.

Cuadro 6. Temperatura ambiente del recinto donde se desarrolló el proceso de fermentación de los clones de cacao.

Fermentación	Periodo (Fecha 2014)	Temperatura ambiente del recinto (°C)			
		día 0	día 2	día 4	día 6
1	17 – 23 oct	24	26	23	23
2	27 oct – 2 de nov	26	29	27	24
3	12 nov – 19 nov	27	25	21	20

Para el periodo fermentativo, en los tres casos se presenta un incremento de la temperatura en el día 2, producto de las actividades exotérmicas relacionadas con la actividad microbiana y la degradación de los azúcares presentes en el mucílago (Cubillos, 2008) sin dejar de considerar el aumento de la temperatura generado por el calor que produce el proceso de respiración de las almendras (Portillo *et al.*, 2005). A medida que pasa el tiempo, los azúcares presentes en la pulpa actúan como combustible para la reacción y se van reduciendo hasta ocasionar una inactivación de la micro flora y con ello un descenso de temperatura que se ve al finalizar el proceso (día 6).

La bibliografía señala una variación con respecto al día en el que se alcanza mayor temperatura dentro del cajón; los resultados obtenidos difieren con los encontrados en cacaos venezolanos por Lemus *et al.*, (2002); Portillo (2005); Pineda *et al.*, (2012) y Contreras (2004), quienes señalan que el máximo incremento de la temperatura se alcanza en el tercer día. A al igual que ellos, Torres (2000) reporta que en cacao desgranado recién cosechado la máxima temperatura se alcanza el segundo día.

Reportes de Lagunes-Galvez *et al.*, (2007); Thompson *et al.*, (2001); Portillo *et al.*, (2005) mencionan que la temperatura al inicio de la fermentación usualmente es de 25°C hasta alcanzar temperaturas cercanas a los 50°C, estos autores mostraron temperaturas máximas alcanzadas (44.7 - 45.5°C) en fermentación de semillas con 5 días de reposo después de cosechadas y con una remoción de masa cada 24 horas. Con respecto a lo anterior, los valores máximos alcanzados en este estudio difieren ya que la temperatura máxima se alcanzó en el día 4 y con valor de 36°C en la fermentación 2; y las remociones o volteos de masa se realizaron cada 48 horas, considerándose este un factor por el cual según lo encontrado por Portillo *et al.*, (2005), la temperatura en este estudio no alcanzó valores cercanos a lo reportado en la bibliografía.

Se debe mencionar que según los estudios encontrados en fermentaciones de cacao, las condiciones ambientales del lugar donde se desarrollan y la relación masa/volumen de las semillas en el cajón pueden llegar a influir en la temperatura de la masa durante el proceso, lo que infiere a lo encontrado en esta investigación, ya que la cantidad de semilla utilizada está por debajo de los 10 Kg de cacao en baba y las condiciones ambientales variaron (Wollgast y Anklam, 2000).

De forma general, al igual que Enríquez (1985) mencionado por Gutiérrez Seijas (2012), se puede decir que la fermentación realizada a los cinco clones de cacao se vio afectada por el origen genético del fruto, intervalos entre cosechas, cantidad de cacao a fermentar, cantidad de pulpa en la semilla y las condiciones del medio donde se realiza el proceso.

- pH

La figura 40 muestra que el pH inicial en todas las fermentaciones estuvo en un rango de 2.93 a 3.13, el cual presentó un ascenso para el segundo día, esto con excepción en la fermentación 3, que presenta una baja en los tres clones a un rango de pH de 2.52 a 2.55; valores que pueden estar relacionados con la rápida producción de alcohol y ácido acético.

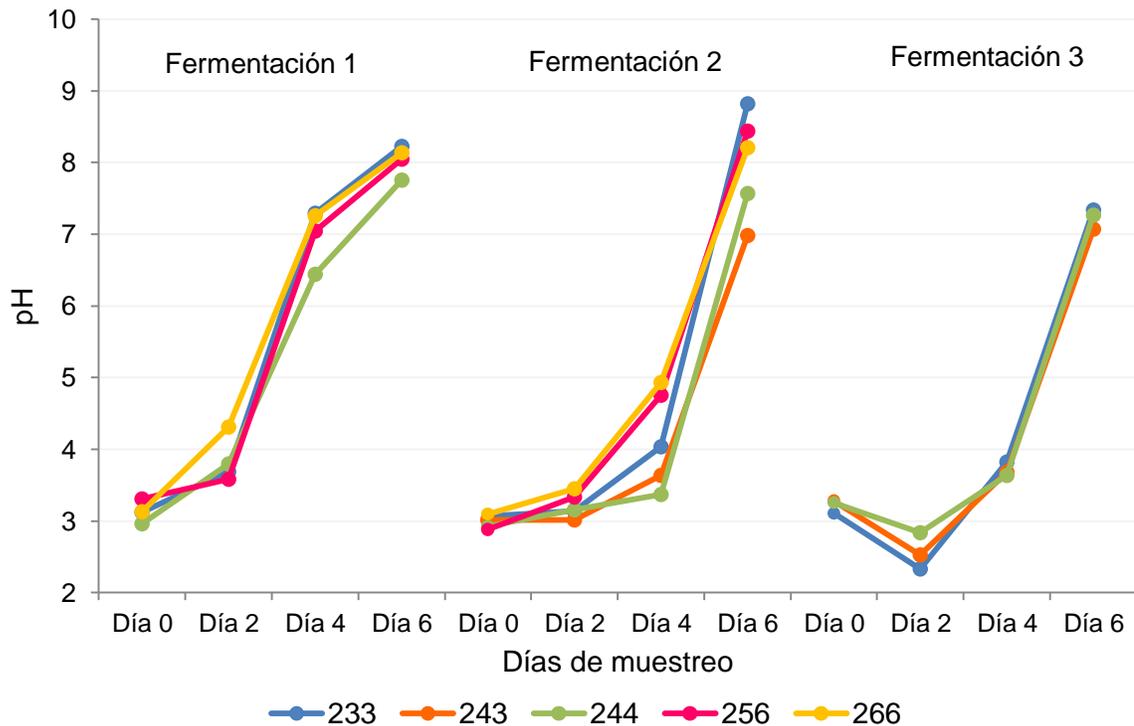


Figura 40. Comportamiento de pH en semillas de cinco clones de cacaos producidos en el municipio de Tecpatán, Chiapas durante tres fermentaciones diferentes.

En todos los clones y todas las fermentaciones, el comportamiento del pH se incrementó al transcurrir el tiempo y conforme avanzó el proceso; cada clon alcanzó su máximo en el día 6 presentando valores de 8.23 para el clon 233, 7.07 para el clon 243, 7.76 para el clon 244, 8.44 para el clon 256 y 8.21 para el 266; resaltando que en todas las fermentaciones el pH en testa más alto fue presentado por el con 266.

En general para las tres fermentaciones, el comportamiento del pH en testa es de valores bajos al iniciar el proceso y a medida que transcurre el tiempo, se presenta un ascenso hasta alcanzar valores considerados en un rango de 7.2 a 8.21. Estos resultados coinciden con los presentados por Yusep *et al.*, (2002) y Torres, (2000) que reportaron este mismo comportamiento con valores de pH bajos al iniciar el proceso y un incremento de estos al finalizar.

El análisis de varianza de cada clon se presenta en el cuadro A8 del apéndice, de la misma forma los resultados de la prueba de comparación de medias de Tukey ($P \leq 0.05$) en los cinco clones estudiados durante el proceso de fermentación se presentan en el cuadro A10 del apéndice.

- Sólidos solubles (%)

En la figura 41 se ilustra el comparativo del contenido de sólidos solubles (%) en todos los clones durante las tres fermentaciones, donde se observa que para el día 2 el 90 % de los azúcares ya se había degradado y se observa un descenso durante todo el proceso; resultados que confirman la degradación de los azúcares después de que muere el embrión (Hashim *et al.*, 1998).

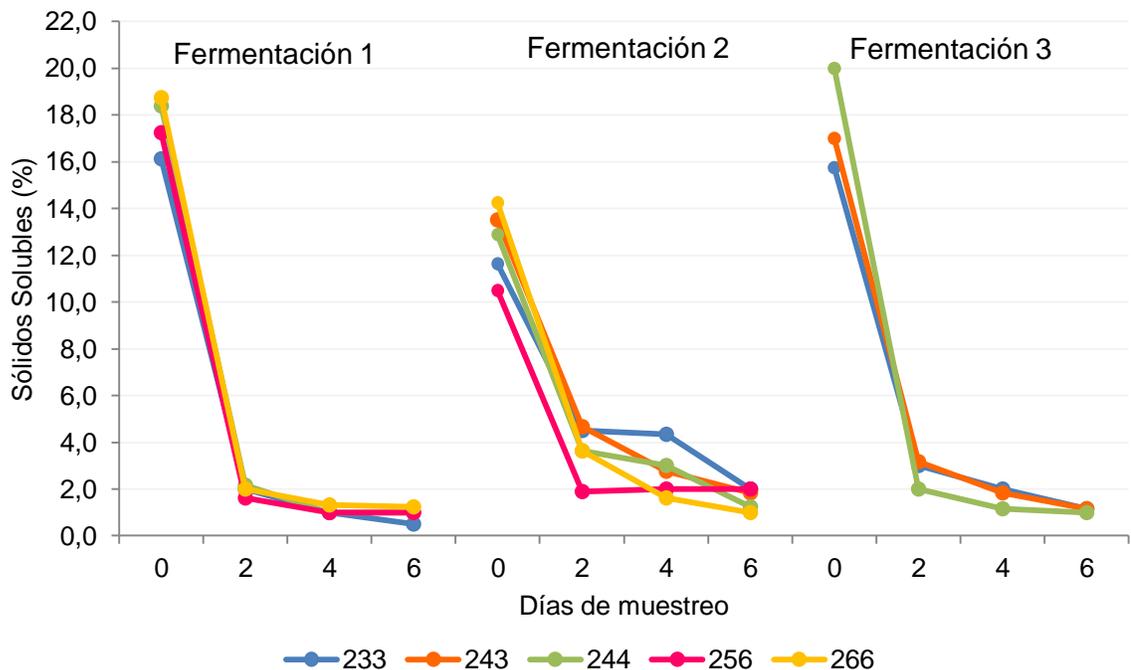


Figura 41. Comportamiento de sólidos solubles en semillas de cinco clones de cacao producidos en el municipio de Tecpatán, Chiapas durante tres fermentaciones diferentes.

Los valores iniciales más altos se presentaron en la fermentación 3, por parte del clon 244 con un 20% seguido de un 18.28% para el mismo clon pero en la fermentación 1. La tendencia de las curvas es similar para los clones estudiados en los tres casos. Es de resaltar que se presentó una diferencia notable en los valores iniciales de la fermentación 2 con respecto a las demás ya que presentó un rango de 10.50 a 14.25%.

De acuerdo con el reporte de Graziani de Fariñas *et al.*, (2003) quienes determinaron Sólidos solubles expresados en °Brix a pulpa y testa de semillas de cacao frescas, encontraron valores que están entre 12.47 y 14.98 °Brix, valores que coinciden con los encontrados al inicio de la fermentación 2.

Para la fermentación 2, los cinco clones en estudio cosechados en la misma fecha, presentaron valores de azúcares muy similares en su pulpa, pudiéndose considerar que las condiciones del clima donde se desarrolló el fruto, pueden influir en que sus valores estuvieran más bajos a comparación de los valores encontrados en los clones al inicio de las fermentaciones 1 y 3.

El análisis de varianza de cada clon se presenta en el cuadro A8 del apéndice, reveló que existen diferencias significativas entre cada uno de los muestreos realizados en cada fermentación. Los resultados de la prueba de comparación de medias de Tukey ($P < 0,05$) se presentan en el cuadro A11 del apéndice.

Durante la fermentación 2, en la mayoría de los clones la degradación de los azúcares se hizo más lenta, la tasa de reducción para el día 2 estuvo en promedio del 8.8% a comparación de las demás fermentaciones que para este mismo día ya presentaban en promedio una tasa de reducción del 15%.

Al relacionar este fenómeno con las temperaturas ambientales y del cajón es en la fermentación 2 donde se presentan los valores más altos, atribuyéndole a esto que se generó ahorro de energía de las actividades microbianas por parte de la microflora presente en la masa, debido al rápido calentamiento de la masa.

La determinación del contenido de sólidos solubles se convierte en una herramienta útil para evaluar o predecir el desarrollo de la fermentación, ya que indica la cantidad de azúcares presentes en el mucílago al iniciar la fermentación.

- **Contenido de antioxidantes (mM de Ácido ascórbico g⁻¹ de cacao)**

El comportamiento del contenido de antioxidantes de las semillas de los cinco clones de cacao durante tres procesos fermentativos se representa en la figura 42, donde se observan diferencias en cada una de las fermentaciones.

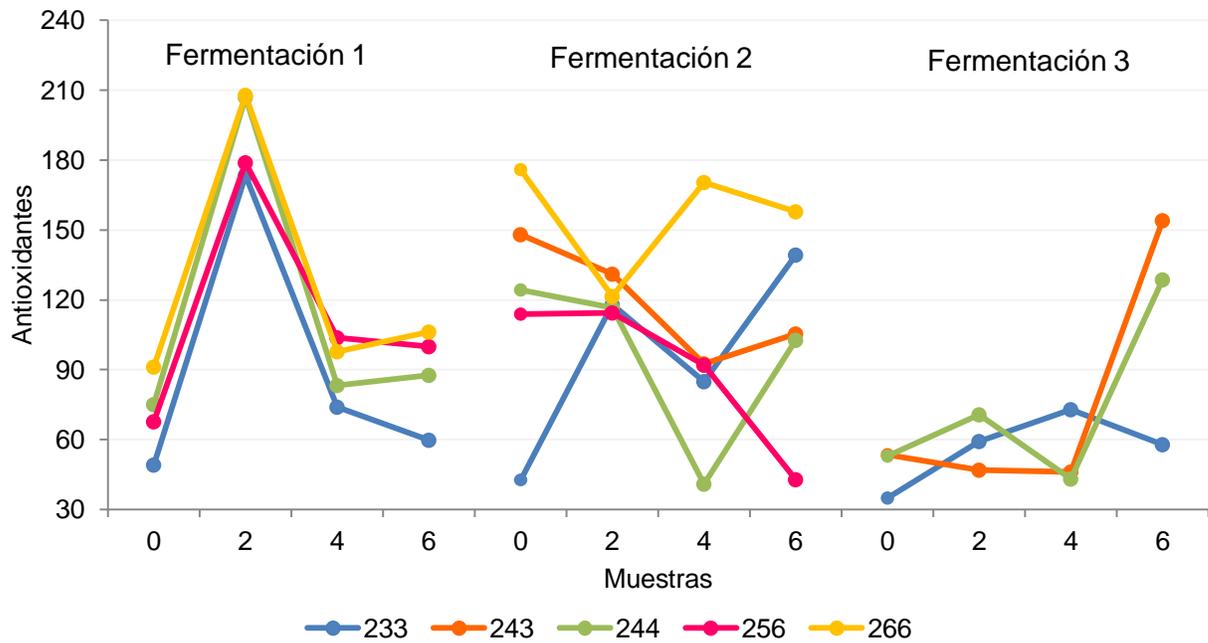


Figura 42. Contenido de antioxidantes en la semilla de cinco clones de cacao producidos en el municipio de Tecpatán, Chiapas durante tres fermentaciones diferentes.

De acuerdo con la figura 42 en la fermentación 1 el contenido de antioxidantes en las semillas varía durante el proceso, ésta es la única de las tres que presenta un comportamiento similar en todos los clones estudiados, donde se ve reflejado un ascenso del contenido de antioxidantes desde el día 0 al día 2, momento en el que se alcanza su valor máximo; a partir de allí se inicia el descenso hasta el día 4, alcanzando valores bajos que superan a los iniciales.

Es ésta fermentación los clones que presentaron el mayor contenido de antioxidantes fue el 266 con un máximo de 207.76 mM de ácido ascórbico g^{-1} de cacao seguido del clon 256 con un valor de 207.03 mM de ácido ascórbico g^{-1} de cacao.

En el caso particular de la fermentación 2, cada clon difiere en su comportamiento a lo largo del proceso y aunque todos parten con contenidos iniciales muy diferentes, en el día dos, todos se acercan a valores que están en un rango de 114 a 121 mM de ácido ascórbico g^{-1} de cacao; es en éste punto donde todos a excepción del clon 266, inician un descenso hasta llegar al día 4 y mostrando entre sí un rango más amplio que va de valores de 40.93 mM de ácido ascórbico g^{-1} de cacao para el clon 244 a 170.44 mM de ácido ascórbico g^{-1} de cacao para el clon 266.

En el día 6, dos de los cinco clones, 266 y 233, resultaron los del mayor contenido de antioxidantes con valores de 157.73 mM de ácido ascórbico g^{-1} de cacao y 139.33 mM de ácido ascórbico g^{-1} de cacao respectivamente; solo el 233 llega a superar el contenido de antioxidantes que tenía al inicio del proceso, los demás clones en estudio al finalizar el proceso de fermentación presentaron valores por

debajo de los contenidos iniciales. El clon 256 resultó el de menor contenido de antioxidantes en esta fermentación con un valor de 42.68 mM de ácido ascórbico g^{-1} de cacao.

De lo anterior se puede decir que las condiciones desarrolladas durante esta fermentación a diferencia de las otras dos, ocasionaron un deterioro de los antioxidantes. Al relacionar estos resultados con las temperaturas alcanzadas dentro del cajón se observa que en esta fermentación fue donde se registraron las temperaturas más altas.

La sensibilidad de estos compuestos al calor pudo ocasionar un deterioro significativo; por lo que se hace necesario profundizar investigaciones en este sentido a fin de determinar la relación de la temperatura durante el proceso de fermentación y su efecto sobre el contenido de antioxidantes.

En la fermentación 3 se incluyen 3 clones y al finalizar el proceso se alcanza el valor máximo de 153.99 mM de ácido ascórbico g^{-1} de cacao para el clon 243, reflejando un incremento del 58% sobre su valor inicial, seguido de 128.59 mM de ácido ascórbico g^{-1} de cacao para el clon 244 que presentó un incremento del 65% sobre su contenido de antioxidantes inicial. El clon 233 para el día 4 alcanza su valor máximo de 72.91 mM de ácido ascórbico g^{-1} de cacao y a partir de ahí éste inicia un descenso hasta el final de la fermentación terminado con un valor de 57.86 mM de ácido ascórbico g^{-1} de cacao; valor que se ubica por encima de su contenido al iniciar el proceso, pero superado en un 37.5% por los otros dos clones.

Los resultados del ANOVA se presentan en el cuadro A8 del apéndice y al encontrar diferencias significativas en los tratamientos se realizó una prueba de comparación de medias de Tukey ($P < 0.05$) que se muestran en el cuadro A12 del apéndice.

Al respecto Portillo *et al.*, (2009), mencionan que los alcoholes y ácidos se desarrollan al comienzo de la fermentación mientras que los aldehídos, pirazinas, furanos y fenoles (relacionados con los antioxidantes) se desarrollan en menor cantidad al inicio y aumentan al finalizar el proceso. Lo anterior se pudo observar únicamente en la fermentación 3 especialmente en los clones 243 y 244; en las demás fermentaciones el desarrollo de estas sustancias se mostró en los primeros días y en algunos casos se encontró un descenso considerable después del día 4.

Efraim *et al.*, (2010) evaluaron los efectos del tiempo de fermentación y el tipo de secado de semillas de cacao en cuanto al contenido de compuestos fenólicos, las características físicas, químicas y sensoriales, encontrando que durante la fermentación ocurre una pérdida de polifenoles totales desde del 35% de su estado inicial hasta el tercer día y un 55% al séptimo día. Para el caso del secado, referenció una mayor pérdida de polifenoles en los dos distintos tipos de secado

(estufa y sol). Para el caso de las semillas con tres días de fermentación y secadas en estufa presentaron pérdidas del 19% de polifenoles mientras que las semillas secadas al sol presentaron un 10.8%; en el caso de semillas con siete días de fermentación y secadas en estufa presentaron pérdidas del 11.6% (38.47 mg.g^{-1}) y un 2.8% (43.10 mg.g^{-1}) de las secadas al sol.

Al estar relacionados de forma directa los polifenoles con la actividad antioxidante, se cree que es importante mantener alto el contenido estos y hacer del cacao un alimento saludable; la controversia llega al descubrir que durante la fermentación se presenta una pérdida sustancial de polifenoles, básicamente porque durante este proceso se están desarrollando reacciones que se generan características organolépticas (color, olor y sabor) esenciales y básicos del chocolate.

De manera general, se puede decir que los cambios en los contenidos de antioxidantes después de la fermentación no son iguales entre los mismos clones, coincidiendo con lo reportado por Zapata *et al.*, (2013) quienes evaluaron el efecto de la fermentación sobre el contenido de metabolitos secundarios y la actividad antioxidante de cinco clones de cacao colombianos, encontrando que dependiendo de la variedad, los cambios en actividad antioxidante pueden ser positivos o negativo. De los cinco clones analizados, dos de ellos presentaron un aumento de fenoles luego de la fermentación; en otros dos clones, el comportamiento fue inverso encontrando una disminución.

De la misma forma Bustamante *et al.*, (2013) después de analizar la actividad antioxidante de cinco clones de cacao colombiano por tres metodologías distintas, evidenciaron un incremento de esta propiedad después de la fermentación.

De acuerdo con la bibliografía encontrada, es evidente ver que existen varias metodologías que permiten la determinación del contenido de antioxidantes, cada una expresada en unidades diferentes, que no permiten su comparación, pero si una identificación para diferenciar ciertos materiales.

El color violeta de las semillas se ha venido relacionando con el contenido de antioxidantes de las semillas a lo cual Osman *et al.*, (2004) mencionado por Bustamante *et al.*, (2013) afirman que los polifenoles en los granos de cacao son almacenados en las células pigmentarias de los cotiledones, y le aportan colores que van desde el blanco hasta un morado oscuro, dependiendo de la cantidad de antocianinas almacenadas.

Lo anterior se pudo observar durante la determinación del contenido de antioxidantes, en los extractos etanólicos obtenidos a partir de cada una de las semillas, ya que estos presentaron una variación en el color, algunos de coloraciones claras casi transparentes y otros de color café y violeta.

Al momento de hacer la lectura de absorbancia en el espectrofotómetro, se encontró que aquellos de coloraciones claras presentaban una lectura de absorbancia baja y durante el tiempo de medición la degradación del radical ABTS,

se hizo más lenta, comportamiento que se vio reflejado en el bajo contenido de antioxidantes en esas muestras. De forma diferente ocurrió con aquellos extractos oscuros, los cuales presentaron una degradación rápida del radical ABTS, reflejando así un alto contenido de antioxidante para esas muestras.

En la figura 43 se muestra las tonalidades encontradas en los extractos y la degradación del ABTS trascurridos el minuto uno y siete de lectura.

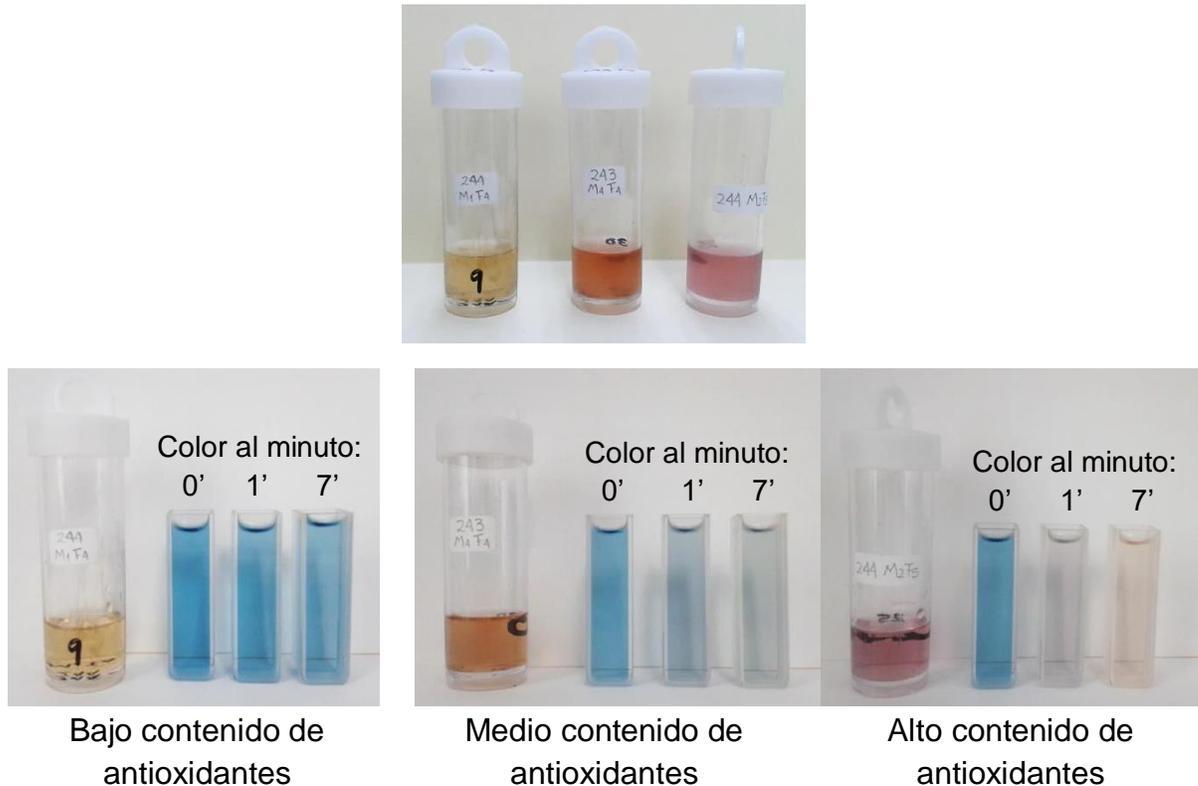


Figura 43. Relación del color con el contenido de antioxidantes de los extractos etanólicos de semillas de clones de cacao utilizados para la determinación del contenido de antioxidantes con la técnica de ABTS.

La diferencia en el comportamiento irregular que presentaron los clones durante la fermentación, se da respuesta con lo mencionado por (Vallejo *et al.*, 2003; Niemenak *et al.*, 2006; Schinella *et al.*, 2010) quienes explican que existen factores internos y externos que afectan la calidad y/o cantidad de los compuestos fenólicos en las plantas, como la diversidad genética (variedad y origen de la muestra), etapa de madurez, variables ambientales (intensidad de la luz, clima, temperatura, uso de fertilizantes, heridas), método de extracción, procesamiento y almacenamiento.

4.2.2. Análisis de semillas fermentadas y secadas al sol

Una vez terminado el proceso de fermentación y secado al sol, a los granos de cacao se les hizo la prueba de corte y se les determinó pH.

- Prueba de corte

La prueba de corte permitió observar en el cotiledón los cambios en la tonalidad y el agrietamiento producto del hinchamiento generado durante la fermentación. En la figura 44 se ilustra el aspecto final de los cotiledones luego de la fermentación y el secado del grano cuando se realizó la prueba de corte.



Figura 44. Prueba de corte de semillas de cacao fermentadas y secas.

Con el propósito de ver el cambio en la tonalidad producto del proceso de fermentación y evaluar la calidad del proceso de fermentación, los clones en estudio se observaron a través del estereoscopio, y así determinar el Índice de Fermentación (IF). En la figura 45 se presentan algunos de los aspectos encontrados en los granos.

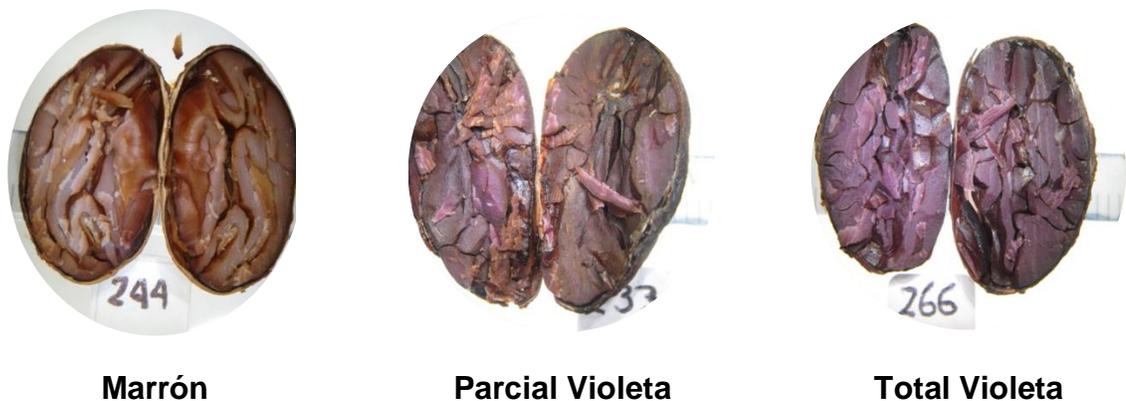


Figura 45. Aspectos de granos de clones de cacao durante la prueba de corte.

Los resultados de la prueba de corte y el respectivo Índice de fermentación de las semillas clones se presentan en el cuadro 7.

Cuadro 7. Resultados del índice de fermentación en prueba de corte de semillas de cacao fermentadas y secas.

Clon	Marrones	Parcial Violeta	Total Violeta	Índice de fermentación (I.F.)
233	55.56	33.33	11.11	88.89
243	58.18	30.20	14.65	88.38
244	50.00	27.50	22.50	77.50
256	100.00			100.00
266	36.19	43.81	20.00	80.00

Stevenson *et al.*, (1993) afirma que una fermentación normal debe contener aproximadamente de 0-2% de almendras pizarrosas, máximo el 35% de almendras totalmente violetas y máximo el 65% de almendras marrones; valores superiores al 65% indica riesgo de sobre-fermentación, considerada ésta como un defecto.

Al comparar los datos encontrados con lo antes mencionado, se encontró una diferencia notoria para el clon 256, que presentó un 100% de semillas marrones, lo que permite afirmar que para alcanzar la calidad en el proceso de fermentación, el tiempo para éste debe ser menor a 6 días. De la misma forma, Nogales *et al.*, (2006) observaron un incremento en el índice de fermentación por encima de 90% en granos fermentados en dos diseños de cajones de madera y secados al sol; valores que según Graziani de Fariñas *et al.*, (2003) haría referencia a un cacao sobre-fermentado.

Los demás clones en estudio ingresaron dentro de los parámetros de una buena fermentación y se alcanzó la calidad esperada para la materia prima en la elaboración de chocolate de mesa.

Algunos autores difieren en cuanto al valor del índice de fermentación, Barel *et al.*, (1985) aseguran que el índice óptimo se alcanza con un porcentaje mayor de 60%, infiriendo con Ramos *et al.*, (2000) quienes lo definen con valores superiores al 75%.

Portillo *et al.*, (2005), encontraron que el mayor índice de fermentación se alcanzó en cajones de madera cuadrados obteniendo un valor del 65.41% a diferencia del cajón rectangular con un índice del 54.47%; por otra parte, Gutiérrez Seijas (2012) reportó índices de fermentación de 68.67 a 80.67% al evaluar días de fermentación y tiempos de remoción de la masa de cacao, afirmando que hay una tendencia

creciente del índice de fermentación a pesar la baja de temperatura al finalizar el proceso fermentativo. Ambos aunque difieren entre sí con los valores encontrados, aseguran que para alcanzar un buen índice de fermentación se deben establecer condiciones para el proceso basadas en la variedad del fruto, tiempos de duración de la fermentación, tiempo y frecuencia de remoción de masa, tipo de fermentador, entre otras. Del mismo modo, Álvarez *et al.*, (2010) reportaron un 80% de granos fermentados después de realizar la prueba de corte, al comparar dos tipos de fermentadores (plástico y de madera).

Los valores encontrados en esta investigación difieren entre lo reportado, pero si se puede afirmar al igual que ellos, que el índice de fermentación es una variable dependiente del tiempo, la cual incrementa a medida que evoluciona el proceso fermentativo y que para alcanzar un grado óptimo de calidad se hace necesario estudiar el proceso para cada variedad de fruto. Es así como para los materiales estudiados, especialmente el clon 256, se requerirá un protocolo de manejo diferente a fin de garantizar la calidad del grano y evitar sobre-fermentación y con ello defectos.

La calidad del cacao, es un término demasiado subjetivo, ya que de acuerdo del ángulo o la necesidad que se tenga de éste se evaluará la calidad; es decir, para el comerciante del grano es de vital importancia su aspecto físico exterior aunque no necesariamente tenga las mejores características sensoriales. Por el contrario para la industria chocolatera o transformadora, las características físicas en rendimiento, porcentaje de grasa y sabor se convierten en fundamentales para definir la calidad.

- pH

Los granos de cacao fermentados, antes de iniciar el proceso de secado presentaron valores de pH en cotiledón que estuvieron en el rango de 5.2 a 5.3 como se muestra en la figura 46. Finalizado el proceso, todos presentaron un incremento obteniendo valores de pH de 5.4 a 5.5.

Se hace evidente el incremento de pH debido a la pérdida de ácidos en conjunto con la evaporación de agua que se alcanza durante el secado, coincidiendo con lo mencionado por Rodríguez y Rojas (2000), además esa disminución en el pH llega a influir en la calidad final del grano usado como materia prima para la elaboración del chocolate.

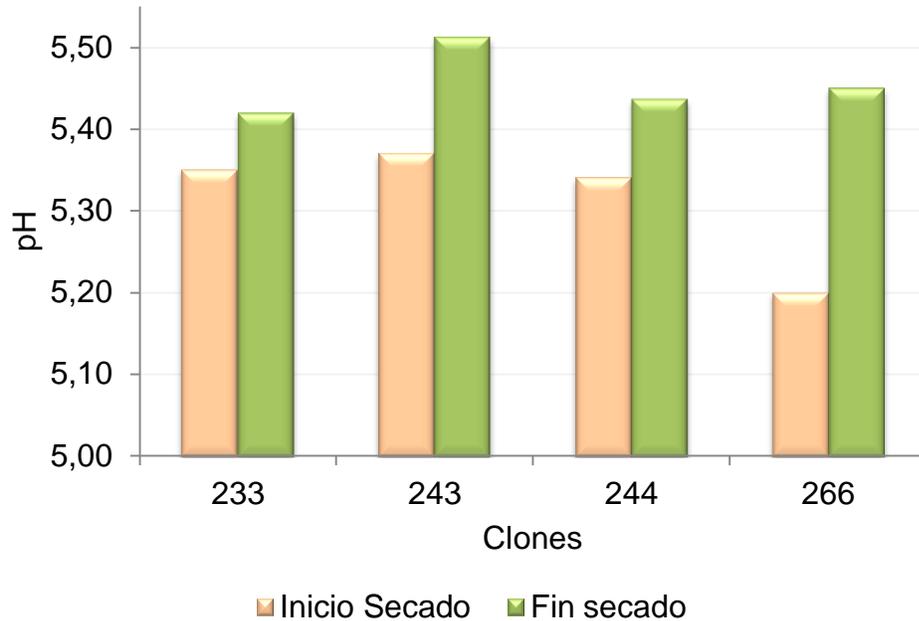


Figura 46. Valores del pH de los granos de cacao de 4 clones antes y después del secado al sol.

Al aumentar el pH, también disminuye la acidez debido a que los ácidos volátiles de cadena corta se volatilizan y se reduce el gusto ácido del grano Ortiz *et al.*, (2009), condición que se evidencia en esta investigación al incrementarse el pH después del secado al sol.

Portillo *et al.*, (2007), mencionaron que granos de cacao con valores bajos de pH (≤ 4.5) presentan una disminución del potencial aromático y aumentan la astringencia, en cambio granos con valores más altos y que estén en un rango de 5,0 a 5,5 presentan un mejor sabor y calidad.

La Norma mexicana NMX-FF-118-SCFI-2014, presenta una clasificación según el tratamiento del grano denominando al tipo 1 el grano lavado y secado y el tipo 2 al fermentado y secado; con respecto a lo anterior, los granos en estudio se clasifican en el cacao tipo 1 y con un pH que ingresa en el rango exigido por la norma, además de cumplir con lo mencionado por Portillo *et al.*, (2007).

4.3. Fase III – Evaluación de la torrefacción sobre la actividad antioxidante

En la figura 47 se muestra el efecto de la torrefacción sobre el contenido de antioxidantes en semillas al inicio del proceso (granos frescos), fermentados y tostados de cinco clones de cacao.

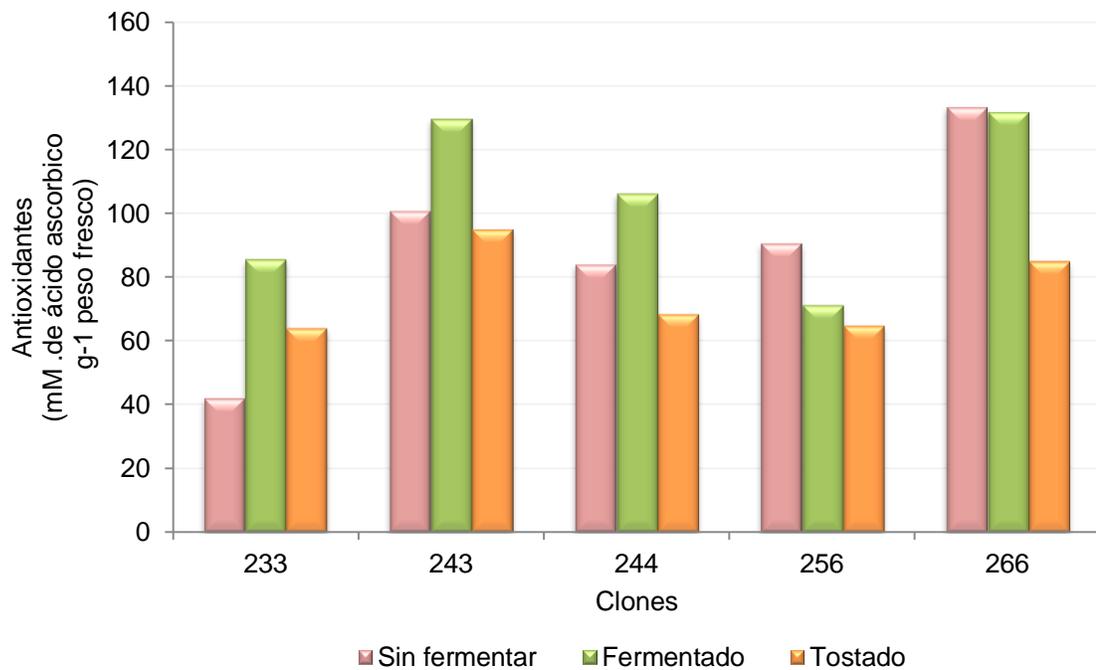


Figura 47. Efecto de la fermentación y el tostado de granos de cacao de cinco clones sobre el contenido de antioxidantes.

En los clones 233, 243 y 244 se observa que por efecto de la fermentación se incrementa el contenido de antioxidantes, coincidiendo con lo reportado por Portillo *et al.*, (2009) quienes mencionan que los polifenoles se desarrollan a final del proceso de fermentación. Diferente es el comportamiento del contenido de antioxidantes en estos clones durante la torrefacción, donde se presenta una pérdida que a excepción del clon 233, llega a valores que están por debajo de los iniciales, coincidiendo con Wollgast y Anklam (2000) quienes afirman que los altos niveles de flavonoides (relacionados con los antioxidantes) en los granos de cacao se reducen drásticamente durante el tostado y la alcalinización.

En el caso de los clones 256 y 266, no se observa efecto positivo de incremento en el contenido de los antioxidantes durante la fermentación pero si al igual que los demás, es visible la pérdida durante la torrefacción.

El Análisis de varianza realizado a esta variable se presenta en el cuadro A 13 del apéndice. Los valores del contenido de antioxidantes en las semillas tostadas, se presentan en el cuadro 8 mostrando que existieron diferencias significativas dentro de los tratamientos.

Cuadro 8. Contenido de antioxidantes en semillas de cacao tostadas.

Clon	Contenido de Antioxidantes (mM de ácido ascórbico g ⁻¹ de cacao)
233	64,130 a
243	95,120 c
244	68,487 a
256	65,043 a
266	85,043 b
C.V.	0,172

Nota: Promedios con la misma letra no presentan diferencias estadísticamente significativas en la prueba de comparación de medias de Tukey ($P \leq 0.05$).

El efecto del proceso de tostado sobre clones de cacao colombiano no tuvo un comportamiento definido, se observaron cambios positivos como negativos en la actividad antioxidante de los granos de cacao dependiendo de la variedad, al analizarse en tres metodologías distintas (Bustamante *et al.*, 2015). Los comportamientos encontrados en los clones estudiados en esta investigación difieren a lo reportado por los autores antes citados, ya que la torrefacción en todos los cinco clones les afectó de manera negativa al contenido de antioxidantes.

De la misma forma se difiere con Suazo *et al.*, (2014) que reportan un efecto positivo de la torrefacción sobre clones de cacao Nicaragüense comparando diferentes temperaturas, y encontrando que el efecto positivo se vio reflejado en temperaturas de 150°C.

De forma general, se pudo establecer que durante el tostado se presentó un efecto negativo sobre el contenido de antioxidante de las semillas de cacao de los cinco clones estudiados. Estos resultados coinciden con lo reportado por Perea Villamil *et al.*, (2009), quienes observaron que el tostado y la molienda disminuyen la actividad antioxidante en un 24%, y con Arlorio *et al.*, (2007) que reportan pérdidas durante los procesos de pre-tostado (100°C) y tostado (130°C), en un rango de 32.6 a 54.7%, atribuyéndole al efecto de la temperatura y a la posible formación de otros compuestos en la reacción de Maillard.

Para los clones de Tecpatán estudiados, la mayor pérdida se presentó en los clones 244 y 266 con un 35.6% en los dos casos.

Vallejo *et al.*, (2003); Niemenak *et al.*, (2006); Schinella *et al.*, (2010) explican que existen factores internos y externos que afectan la calidad y/o cantidad de los compuestos fenólicos en las plantas, como la diversidad genética (variedad y origen de la muestra), etapa de madurez, variables ambientales (intensidad de la luz, clima,

temperatura, uso de fertilizantes, heridas), método de extracción, procesamiento y almacenamiento

4.4 Fase IV – Elaboración del chocolate de mesa con actividad antioxidante

Los datos obtenidos de contenido de antioxidantes en los chocolates de mesa, elaborados con semillas de los cinco clones estudiados, se presentan en el cuadro 9, en el cual se observa que los chocolates elaborados con los clones estudiados superan en contenido de antioxidantes a los chocolates utilizados como testigos. Se observa además que los chocolates elaborados con semillas de clones 243 y 244 presentan los valores más altos.

Los resultados del Análisis de Varianza se muestran en el cuadro A 14 del apéndice.

Cuadro 9. Contenido de antioxidantes en chocolate de mesa elaborados a partir de semillas de clones de cacao procedentes de Tecpatán, Chiapas

Chocolate	Contenido de Antioxidantes (mM de ácido ascórbico g ⁻¹ de cacao)
233	49,985 bc
243	61,837 e
244	61,649 de
256	53,325 bcd
266	57,118 cde
Testigo 1: Artesanal (Casero)	48,364 b
Testigo 2: Industrial (Abuelita)	33,733 a
C.V.	0.183

Nota: Promedios con la misma letra no presentan diferencias estadísticamente significativas en la prueba de comparación de medias de Tukey ($P \leq 0.05$).

La proporción cacao:azúcar en la formulación del chocolate de mesa, puede llegar a influir en el contenido de antioxidantes en el producto final. Este criterio es reafirmado por Perea-Villamil *et al.*, (2009) quienes encontraron mayor contenido de polifenoles y actividad antioxidante en el chocolate amargo (270.11 mmol Trolox g⁻¹) en relación al chocolate con azúcar, chocolate con clavo y canela, presentando una actividad antioxidante 2.5 veces menor, debido a que los chocolates contienen solo aproximadamente el 30% de licor de cacao. Coinciden a su vez con lo reportado por Perea *et al.*, (2009) quienes reportaron una disminución de la cantidad de polifenoles presentes en muestras extraídas en la etapa de mezclado durante el proceso de elaboración de chocolate de mesa, fenómeno que le atribuyen a la dilución que se presenta al adicionarle al licor de cacao azúcar y lecitina.

A su vez, Fernández *et al.*, (2014) afirman que el contenido de polifenoles y la actividad antioxidante de chocolates, fue mayor a medida que se incrementó el

contenido de sólidos de cacao presente en el producto. El mayor contenido de polifenoles lo presentó el chocolate oscuro con 70% de cacao, lo cual le atribuye al contenido de sólidos de cacao (Pimentel et al., 2010).

Los resultados encontrados permiten afirmar que aun cuando hay una proporción baja de cacao en los chocolates elaborados (33% de cacao), se mantiene una proporción considerable que supera a los chocolates comerciales y permite catalogar así al cacao como un alimento funcional.

Cidell y Alberts (2006) señalan que las características de un chocolate se basan en las transformaciones que sufre la materia prima durante la fabricación incluyendo mezcla y proporción de ingredientes en referencia a las cantidades de cacao o leche. Por lo que cabe mencionar que pueden existir diferencias entre los resultados obtenidos en esta investigación y los reportados por los autores.

Un estudio similar realizaron Miller *et al.*, (2006) en Estados Unidos en cacao y productos que contienen chocolate comercializado en ese país, para determinar la actividad antioxidante y contenido de polifenoles y procianidinas; encontrando que los más altos niveles de actividad antioxidante, polifenoles totales, y procianidinas se presentó en los cacaos naturales, seguido de los bombones, chocolates oscuros para hornear y chips para hornear. Estos resultados coinciden con lo encontrado en esta investigación, donde se puede ver que los mayores contenidos de antioxidantes se presentaron en los cacaos sin procesar, pero aún al compararlos con los procesados, los clones estudiados presentan mayor con respecto a los comerciales.

Como una observación adicional en la elaboración de los chocolates de mesa se presentaron diferencias en la pasta obtenida a partir de las semillas, cada clon presentó un comportamiento distinto en el refinado; para el caso de los clon 243, 256 y 266; durante la molienda fácilmente se mezcló con el azúcar, pero presentó dificultad para el moldeado, fenómeno que puede atribuírsele a que durante el refinado, no alcanzó a obtener una emulsión que permitiera tener una mezcla fluida y se hizo necesario presionar la pasta en el molde para evitar burbujas y espacios de aire en el momento del moldeado.

La diferencia en la fluidez de la mezcla no fue muy marcada con el resto de clones ya que con el 244 y 233, aunque se obtiene una mezcla más fluida, es de resaltar que los contenidos de grasa no son los más altos, esto les otorga una baja calidad al grano para la industria chocolatera según lo mencionado por Liendo *et al.*, (1997), quienes afirman que granos de cacao con contenidos de grasa mayores o iguales a 53% son considerados de buena calidad para la industria chocolatera.

Afirmación a considerar importante, según el mercado objetivo que tenga cada uno de los clones estudiados.

En la figura 48 se ilustra el aspecto de las pastas después del proceso de refinado, antes del moldeado.

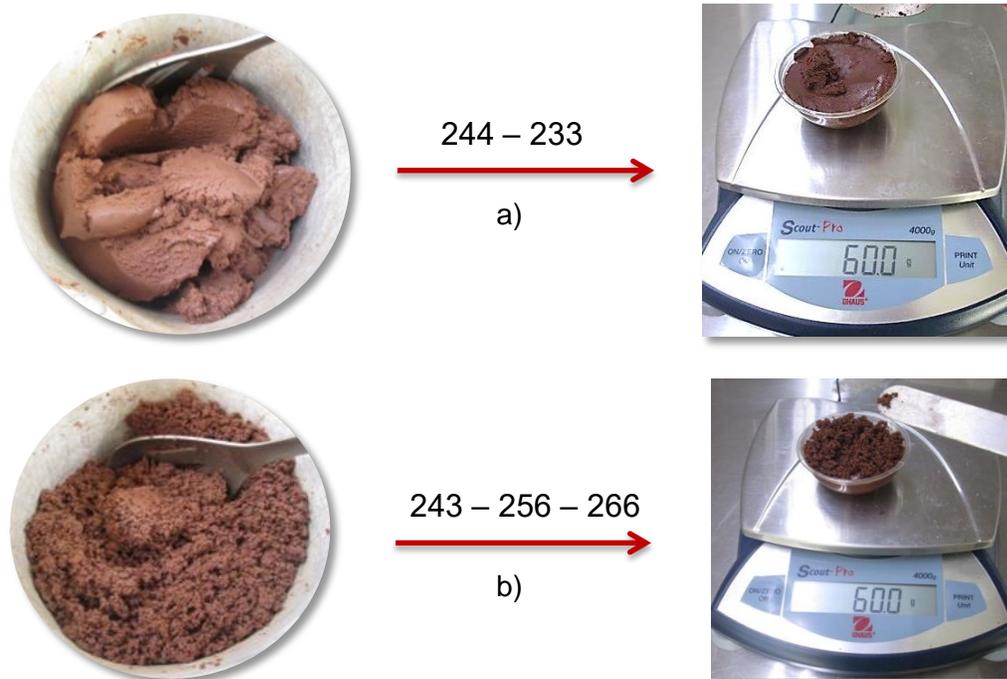


Figura 48. Aspecto de las pastas de chocolate después del refinado.

a) buena emulsión. b) poca emulsión.

Prueba de medición de grado de satisfacción de chocolate de mesa

Dentro de las 130 personas convocadas para que realizaran la degustación, se encontraron personas que no eran consumidores habituales de chocolate, pero que decidieron desarrollar la prueba, al igual, se descartaron 15 cuestionarios para evitar sesgos ocasionados por las respuestas, ya que no dieron como respuesta la preferencia por uno en especial y los seleccionaron todos; mostrando con ello que no encontraron diferencia alguna en el paladar al momento de la degustación.

De las 130 personas, 115 participaron en la degustación y se encontró que el 23% de los entrevistados, declararon no ser consumidores habituales de chocolate pero aun así decidieron participar en la prueba.

El grupo se conformó con personas de ambos sexos (femenino y masculino) con un rango de edad que va desde los 12 hasta los 60 años; el 59% eran de sexo femenino y el 41% de sexo masculino.

En lo que respecta a las preguntas sobre gustos en el consumo de la bebida, se encontró que el 64% de las personas consumen chocolate una vez a la semana, el

34% lo consumen de dos a tres veces por semana y tan solo el 2% lo consume todos los días.

El 69% de reporta que prefieren la bebida preparada en leche, el 26% preparado en mezcla de agua y leche, y solo el 5% lo toma preparado en agua.

En cuanto a la temperatura de la bebida, el 66% prefiere la bebida caliente y el 34% como bebida fría. El aspecto también fue tenido en cuenta, y en lo que respondieron que el 71% consumen la bebida espesa y el 29% la prefieren aguada.

En el cuadro 10 se muestran los rangos de edades de cada uno de los cinco grupos de consumidores.

Cuadro 10. Rangos de edades de grupos de personas participantes en la degustación de chocolate de mesa.

	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Grupo 4	Grupo 5
Entidad	UNICACH ¹	UNACH ²	Empresas privadas	SEECH ³	CEUNE ⁴ y otros
Rango de Edades	18-33	16-56	17-55	21-59	18-60

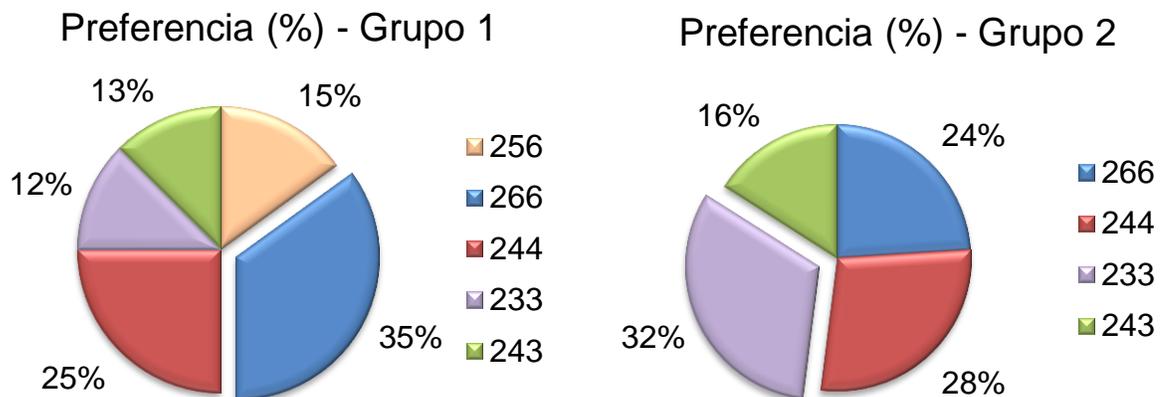
¹Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas.

²Universidad Autónoma de Chiapas.

³Secretaría de Educación del Estado de Chiapas.

⁴Centro Universidad Empresa de la Universidad Autónoma de Chiapas.

La degustación por grupos, permitió un análisis separado que se muestra en la figura 49 donde se ilustra en porcentaje la preferencia que tuvieron los consumidores.



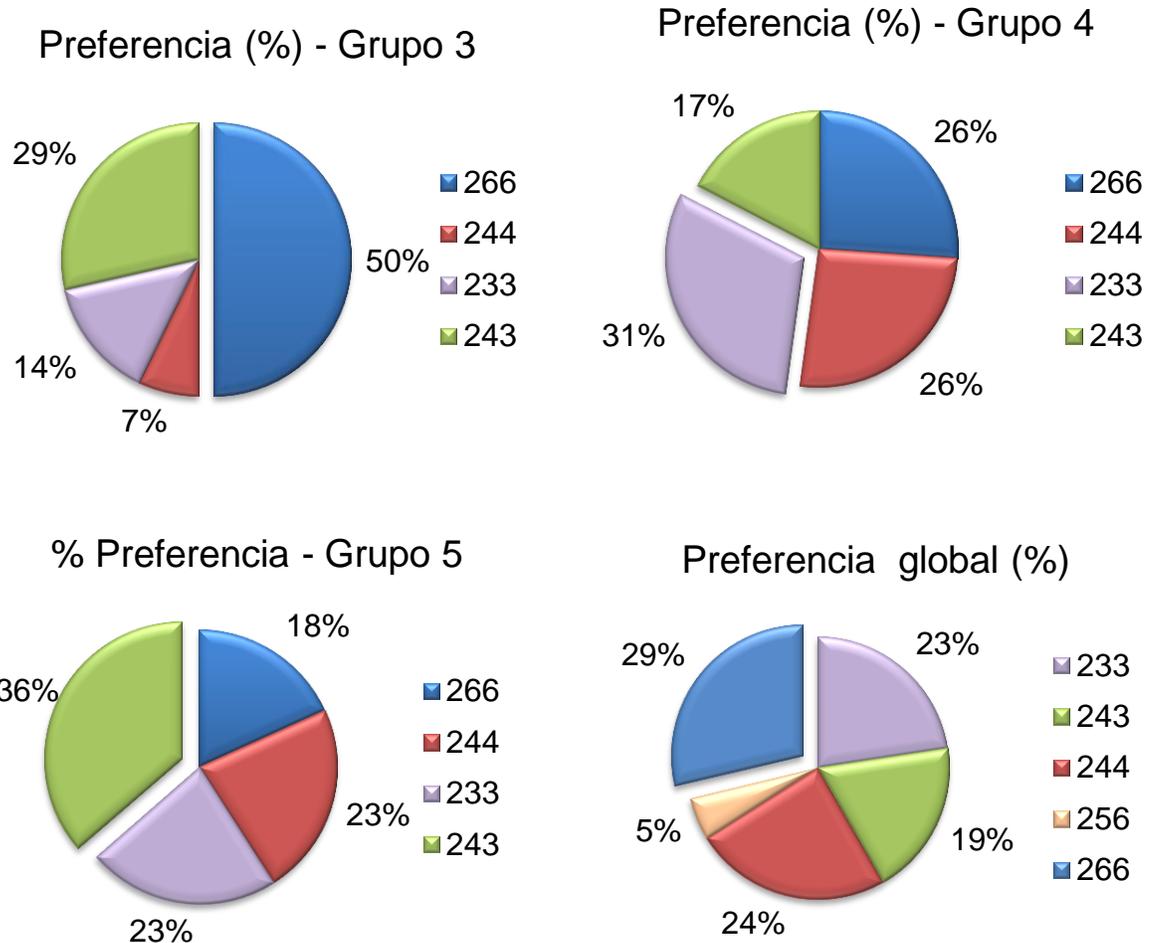


Figura 49. Gráficas de las preferencias por grupos de consumidores.

El grupo 1 manifestó una mayor preferencia con un 35% por el chocolate del clon 266 seguido del 244 con un 25%; en el grupo 2 la preferencia se dirigió hacia el chocolate del clon 233 con un 32% seguido del 244 con un 28%. En el grupo 3 se observa una marcada preferencia hacia los chocolates 266 con el 50% seguido del 243 con un 29%; en el grupo 4 el 31% prefirió el chocolate del clon 233; en el grupo 5 la tendencia fue hacia el chocolate del clon 243.

En los 115 consumidores la mayor preferencia se presentó con un 19% para el chocolate del clon 266; los demás chocolates 244 y 233 presentan una preferencia casi similar con valores del 23 y 25% que no difieren mucho entre sí con el chocolate del clon 266.

En el cuadro A15 se presenta el ANOVA para los resultados de la prueba de grado de satisfacción, donde se logró identificar que no hubo diferencias significativas entre las cinco muestras analizadas, es decir que no hubo efecto marcado por parte de los consumidores en el sabor y la preferencia de un chocolate y otro.

Dentro de los cinco chocolates evaluados, ninguno tuvo rechazo por parte de los consumidores

En el cuadro 11, se presenta las medias de los tratamientos, obtenidas después del análisis de varianza.

Cuadro 11. Comparación de medias de grado de satisfacción de chocolates de mesa por consumidores

Tratamiento	Medias
Chocolate 266	0,744 NS
Chocolate 244	0,672 NS
Chocolate 233	0,536 NS
Chocolate 256	0,504 NS
Chocolate 243	0,480 NS

Nota: no hubo diferencias significativas en el ANOVA.

De acuerdo a lo anterior, con los resultados obtenidos de la prueba de satisfacción se puede decir que el contenido de antioxidantes no influye en el sabor del producto elaborado, ya que aunque se presentara diferencia del contenido de antioxidantes en los clones, su aceptación de forma general fue buena.

El manejo que se le dio a las semillas durante el beneficio fue el adecuado, ya que permitió un correcto desarrollo de sabores y características propias del chocolate, esto reflejado en las observaciones entregadas por parte de los consumidores después de la prueba.

En cuanto a la preferencia por edades se logró encontrar que en edades de 16 a 30 años y de 30 a 45 años la preferencia estuvo marcada por el chocolate del clon 266 con un 33% y un 31% respectivamente, el chocolate del clon 233 fue el preferido en el rango de edad de 46 a 60 años reflejado en un 33%.

5. CONCLUSIONES

- Se puede concluir que en los clones procedentes del municipio de Tecpatán, Chiapas, México, el contenido de antioxidantes varía según el genotipo. Se pudo identificar aquellos clones que tenían alto, medio y bajo contenido de antioxidantes, catalogando así al clon 230 como aquel con el menor contenido (62,25 mM de ácido ascórbico g⁻¹de cacao) y el 269 con el de más alto valor (237.68 mM de ácido ascórbico g⁻¹de cacao).
- En los cinco clones estudiados, el efecto de la fermentación sobre el contenido de antioxidantes fue diferente para cada uno, encontrándose cambios favorables y desfavorables en dependencia con el genotipo y el momento en el que se desarrolló la fermentación. Esta influencia (positiva o negativa) ejercida sobre el contenido de antioxidantes, permitió identificar los comportamientos y momentos en los cuales cada genotipo alcanzó su máximo valor.
- Se logró identificar que la torrefacción provocó una disminución en el contenido de antioxidantes en todos los clones estudiados, en un rango de valores de 8.9% para el clon 256 a 35.6% para los clones 244 y 266, siendo ésta última la mayor pérdida observada en los cinco clones; concluyendo así que la torrefacción es el punto crítico en el cual se presenta una pérdida significativa del contenido de antioxidantes.
- A pesar de presentarse pérdidas del contenido de antioxidantes durante el beneficio y la torrefacción en los cinco clones estudiados, se puede afirmar que fue posible elaborar un chocolate de mesa con valor agregado reflejado en un alto contenido de antioxidantes, identificando que éstos sobrepasaron el contenido de antioxidantes de chocolates comerciales. Además se tuvo gran aceptación de las bebidas de chocolate elaboradas y no se encontró rechazo hacia los chocolates, en la mayoría de los casos el juez consumidor resaltó las características de la preferencia.

6. LITERATURA CITADA

- Afoakwa, E., Paterson, A., Fowler, M., & Ryan, A. (2008). Flavor formation and character composition on rheological properties of dark chocolate. *European Food Research and Technology* 1259-1268.
- Aguirre, J., Mendoza, A., Cadena, J., & Avendaño, C. (2007). Efecto de la biofertilización en vivero del cacao (*Theobroma cacao* L.) con *Azospirillum brasilense* Tarrand, Krieg et Döbereiner y *Glomus intraradices* Schenk et Smith. *Interciencia* 32(8): 541-546.
- Álvarez, C., Pérez, E., & Lares, M. C. (2007). Caracterización física y química de almendras de cacao fermentadas, secas y tostadas cultivadas en la región de Cuyagua, estado Aragua. *Agronomía Trop.*, 57(4): 249-256.
- Álvarez, C., Tovar, L., García, H., Morillo, F., Sánchez, P., Girón, C., & De Farias, A. (2010). Evaluación de la calidad del grano de cacao (*Theobroma cacao* L.) usando dos tipos de fermentadores. *Revista científica UDO Agrícola* 10(1): 76-87.
- Anzaldúa Morales, A., Léver, C., & Vernon, E. J. (1983). Nuevos métodos de evaluación sensorial y su aplicación en reología y textura. *Tecnología de Alimentos* 18(5): 4-11
- Anzaldúa-Morales, A. (2005). La evaluación sensorial de los alimentos en la teoría y la práctica. España: Acribia. pp. 67-77.
- AOAC . (1995). *Methods of Analysis - Cacao Bean and Its Products* (Vol. 2). (J. R. Flanyack, Ed.) Minnesota, USA.
- Arlorio M, L. M. (2007). Roasting impact on the contents of clovamide (N-caffeoyl-L-DOPA) and the Antioxidant Activity of cocoa beans. *Food Chem.* Arlorio M, Locatelli M, Travaglia F, Coisson J, Grosso E, Appendino G, et al. Roasting impact on the Food Chem., 967-975.
- Augier, F., Nganhou, J., Benet, J. C., Berthomieu, G., & Barel, M. (1999). Experimental study of matter transfer in cocoa beans during fermentation and drying. *Drying Technology* 17(6): 1027–1042.
- Azizah, O., Amin, I., Nawalyah, A. G., & Ilham, A. (2007). Antioxidant capacity and phenolic content of cocoa beans. *Food Chemistry* 100(4): 1523-1530.
- Barel, M., Leon, D., & Vincent, C. (1985). Influence du temps de fermentation du cacao sur la production des pyrazines du chocolat. *Café Cacao The*, 277-286.
- Barel, M. (2013). *Qualité du cacao: l'impact du traitement post-recolte*. Versailles, Cedex, France: Editions Quai.
- Bradley, R. L. (2003). Moisture and Total Solids Analysis. In: Nielsen SS editor. *Food Analysis*. pp: 119-140.
- Bustamante Zapata, S., Tamayo Tenorio, A., & Rojano, B. A. (2015). Efecto del tostado sobre los metabolitos secundarios y la actividad antioxidante de clones de cacao colombiano. *Rev. Fac. Nal. Agr. Medellín* 68(1): 7497-7507.

- Bustamante Zapata, S., Tamayo Tenorio, A., & Rojano, B. A. (2013). Efecto de la fermentación sobre la actividad antioxidante de diferentes clones de cacao colombiano. *Revista Cubana de Plantas Medicinales* 18(3): 391-404.
- Christen , Y. (2000). Oxidative Stress and Alzheimer disease. *Clinical Nutrition* 71(2): 621-629.
- Cidell, J., & Alberts, H. (2006). Constructing quality: the multinational histories of chocolate. *Geoforum* 37(6): 999-1007.
- CODEX ALIMENTARIUS. (31 de 03 de 2014). Normas Internacionales de los Alimentos. Recuperado el 2014, de <http://www.codexalimentarius.org/normas-oficiales/lista-de-las-normas/es/?provide=standards&orderField=fullReference&sort=asc&num1=C> ODEX
- Comite Estatal Sistema Producto Cacao en Chiapas. (2012). Plan Rector Cacao en Chiapas. México.
- Contreras, C., Ortiz de Bertorelli, L., & Graziani de Fariñas, L. P. (2004). Fermentadores para cacao usados por los productores de la localidad de Cumboto, Venezuela. *Agronomía Trop.*, 52(2): 219-232.
- Cros, E., & Jeanjean, N. (1995). Qualité du cacao: influence de la fermentation et du séchage. *Plantations, Recherche et Développement*, 2(3): 21-27.
- Cubillos, G., Merizalde , G. J., & Correa, E. (2008). Manual de beneficio de cacao - 2008. Medellín, Colombia. 29p. Obtenido de www.chocolates.com.co/sites/default/files/default_images/manual_beneficio_cacao.pdf
- Dominguez Hernández, C., García Alvarado , M. A., & Salgado Cervantes , M. A. (2000). Análisis de la eliminación del ácido acético durante el secado del cacao. V Congreso Internacional de Ingeniería Bioquímica.
- Efraim, P., Pezoa-García , N. H., Jardim Pereira, D. C., Nishikawa, A., Haddad , R., & Eberlin , M. N. (2010). Influência da fermentação e secagem de amêndoas de cacau no teor de compostos fenólicos e na aceitação sensorial. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 30(suppl. 1): 142-150. ISSN 0101-2061. <http://dx.doi.org/10.1590/S0101-20612010000500022>.
- Enríquez, G. A. (1985). Curso sobre el cultivo del cacao. Costa Rica: Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza CATIE.
- FAOSTAT. (2011). Food and Agriculture Organization of the United Nations .
- Federación Nacional de Cacaoteros - FEDECACAO. (2004). El beneficio y características físico químicas del cacao (*Theobroma cacao* L.). *Produmedios*, 32p.
- Fernández, V., Yee, A., Sulbarán , B., & Peña, J. (2014). Actividad antioxidante y contenido de polifenoles en chocolates comerciales venezolanos. *Rev. Fac. Agron. (LUZ)* 31: 129-144.

- García-Alamilla, P., Salgado-Cervantes, M., Barel, M., Berthomieu, G., Rodríguez-Jimenes, G., & García-Alvarado, M. (2007). Moisture, acidity and temperature evolution during cacao drying. *Journal of Food Engineering*, 79(4): 1159-1165.
- Garzaro, D., Kalvatchev, Z., & Guerra Cedezo, F. (1998). *Theobroma cacao L.: Un nuevo enfoque para la nutrición y salud*. *Agroalimentaria* (6): 23-25.
- Gobierno Regional Piura. (2007). <http://www.pdrs.org.pe>. Recuperado el 2013, de http://www.pdrs.org.pe/img_upload_pdrs/36c22b17acbae902af95f805cbae1ec5/Pr_cticas_de_control_de_calidad_de_cacao.pdf
- Gómez Juaristi, M., González Torres, L., Bravo, L., Vaquero, M. P., & Bastida, S. (2011). Efectos beneficiosos del chocolate en la salud cardiovascular. *Nutrición Hospitalaria*, 26(2): 289-292.
- González, S., López Báez, O., & Ruiz Rojas, J. (2009). Agencias Universitarias para el desarrollo e innovación: Propuesta de la UNACH ante los problemas del sector agropecuario Chiapaneco. México.
- Graziani de Fariñas, L., Ortiz de Bert, L., & Parra, P. (2003). características químicas de diferentes tipos de cacao de la localidad de Cumboto, Aragua. *Agronomía Tropical*, 53(2): 133-144.
- Gutiérrez M., A. B. (2002). Chocolate, Polifenoles y Protección a la Salud. *Acta Farm. Bonaerense*, 21(2): 149-52.
- Gutiérrez Seijas, M. (2012). Efecto de la frecuencia de remoción y tiempo de fermentación en cajón cuadrado sobre la temperatura y el índice de fermentación del cacao (*Theobroma cacao L.*). *Revista Científica UDO Agrícola*, 12(4): 914-918.
- Hashim, P., Jinap, S., Muhammad, S., & Ali, A. (1998). Effect of mass and turning time on free amino acid, peptide-N sugar and pyrazine concentration during cocoa fermentation. *Journal of the Science of food and agricultural*, 78(4): 543-550.
- Hii, C. L., Law, C. L., Suzannah, S., Misnawi, M., & Cloke. (2009). Polyphenols in cocoa (*Theobroma cacao L.*). *Asian Journal of Food and Agro-Industry*, 2(04): 702-722.
- Hitchon, C. A., & El-Gabalawy, H. S. (2004). Oxidation in rheumatoid arthritis. *Arthritis Research & Therapy*, 6(6): 265–278. <http://doi.org/10.1186/ar1447>.
- Hurrell, R. (2003). Influence of vegetable protein sources on trace element and mineral bioavailability. *The Journal of Nutrition* 29(3): 2973S-2977S.
- Hurst, W., Payne, M., Miller, K., & Stuart, D. (2009). Stability of cocoa antioxidants and flavan-3-ols over time. *Journal Agr Food Chem*, 57(20): 9547-9550.
- Ibarra, S. (2003). *El Chocolate es Cacao, Herencia de México al Mundo. El arte al plato - 1a Muestra sobre alimentación en el arte*. Argentina. Obtenido de: <http://www.elportaldemexico.com/cultura/culinaria/chocolateescacao.htm>.
- ICCO. (2006). A study on the Market for organic cocoa. London: executive Committee, One hundred and thirtieth meeting.
- ICCO. (2011). Informe Anual 2010/2011 - International Cocoa Organization. Londres.

- Jinap, S., & Dimick, P. S. (1990). Acidic Characteristics of Fermented and Dried Cocoa Beans from Different Countries of Origin. *Food Science*, 55(2): 547-550.
- 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(1): 67-75.
- Jonfia-Essien, W., West, G., Alderson, P., & Tucker, G. (2008). Phenolic content and antioxidant capacity of hybrid variety cocoa beans. *Food Chemistry*, 108(3): 1155-1159.
- Kothe, L., Zimmermann, B., & Galensa, R. (2013). Temperature influences epimerization and composition of flavonol monomers, dimers and trimers during cocoa bean roasting. *Food Chemistry*, 141(4): 3656-3663.
- Kouakou, B. J., Bi Zahouli, I., Dick, E. M., Nemlin, G., & Bomisso, L. E. (2013). Caractérisation des techniques de séchage du cacao et influence sur la qualité de fèves commercialisées. *Journal of Applied Biosciences*, 64: 4797 – 4812.
- Krysiak, W. (2006). Influence of roasting conditions on coloration of roasted cocoa beans. *J Food Engineering*, 77(3): 449-453.
- Kuskoski, M., Asuero, A., Troncoso, A., Mancini-Filho, J., & Fett, R. (2005). Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, 25(4): 726-732.
- Lagunes-Galvez, S., Loiseau, G., Paredes, J., Barel, M., & Guiraud, J. (2007). Study on the microflora and biochemistry of cocoa fermentation in the Dominican Republic. *International Journal of Food Microbiology*, 114(1): 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.
- Martins, S., Jongen, W., & VanBoeckel, M. (2001). A review of Maillard reaction in food and implications to kinetic modelling. *Trends in Food Science and Technology*, 11(9-10): 364-373.
- Mazor Jolic, S., Radojčić Redovniković, I., Marković, K., Ivanec Šipušić, Đ., & Delonga, K. (2011). Changes of phenolic compounds and antioxidant capacity in cocoa beans processing. *International Journal of Food Science & Technology*, 46(9): 1793-1800.
- Miller, K. B., Hurst, W. J., Flannigan, N., Ou, B., Lee, C. Y., Smith, N., & Stuart, D. (2009). Survey of commercially available chocolate- and cocoa-containing products in the United States 2 comparison of flavan-3-ol content with nonfat cocoa solids, total polyphenols, and percent cacao. *Journal Agricultural and Food Chemistry*, 57(19): 9169-9180.
- Miller, K. B., Stuart, D. A., Smith, N. L., Lee, C. Y., McHale, N. L., Flanagan, J. A., . . . Hurst, J. W. (2006). Antioxidant Activity and Polyphenol and Procyanidin Contents of Selected Commercially Available Cocoa-Containing and Chocolate Products in the United States. Miller K, Stuart D, Smith N, Lee C, Mchale N,

- Flanagan J, et al. Antioxidant Activity and Polyphenol and Procyanidin Contents of Selected J Agr Food Chem, 54: 4062-4068.
- Mohamed, G. & Irina, I., (2012). Biological activities and effects of food processing on flavonoids as phenolic antioxidants. *Advances in applied Biotechnology*, pp. 101-124. Prof. Marian Petre (Ed.), ISBN: 978-953-307-820-5, InTech, Available from: <http://www.intechopen.com/books/advances-in-appliedbiotechnology/biological-activities-and-effects-of-food-processing-on-flavonoids-as-phenolic-antioxidants>.
- Niemenak, N., Rohsius, C., Elwers, S., Omokolo, D., Lieberei, R., (2006). Comparative study of different cocoa (*Theobroma cacao* L.) clones in terms of their phenolics and anthocyanins contents. *Journal of Food Composition and Analysis*, 19(6-7): 612–619.
- 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(1): 5–20.
- Ocampo Brondo , E. G., Rios Barba , J. I., & Soria Luna, Z. B. (2012). La Producción de Cacao en México. México: FCA UNAM.
- Oldman, K., & Bowen, P. (1998). Oxidative stress in critical care: Is antioxidant supplementation beneficial? *J Am Diet Assoc*, 98(9): 1001-1008.
- Oliviero, T., Capuano, E., Cämmerer, B., Fogliano, V. (2009). Influence of roasting on the antioxidant activity and HMF formation of a cocoa bean model systems. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(1): 147-152.
- Ortiz de Bertorelli, L., Graziani de F, L., & Rovedas, L. G. (2009). Influencia de varios factores sobre características del grano de cacao fermentado y secado al sol. *Agronomía Tropical*, 59(2): 119-127.
- Osman , H., Nasarudin , R., & Lee, S. (2004). Extracts of cacao (*Theobroma cacao* L.) leaves and their antioxidation potentials. *Food Chemistry*, 86(1): 41-46.
- Payne, M. J., Hurst, W. J., Miller, K. B., Rank , C., & Stuart, D. A. (2010). Impact of fermentation, drying, roasting, and dutch processing on epicatechin and catechin content of cacao beans and cocoa ingredients. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(19): 10518-10527.
- Perea Villamil, J. A., Cadena Cala, T., & Herrera Ardila , J. (2009). El cacao y sus productos como fuente de antioxidantes: Efecto del procesamiento. *Rev. Univ. Santander. Salud*, 41(2): 128-134.
- Perea, J. A., Ramirez, O., & Villamizar, A. (2011). Caracterización fisicoquímica de materiales regionales de cacao colombiano. *Biología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 9(1): 35-42.
- Perea, J., Espinosa , A., & Otero , V. (2000). Fermentación y secado de los granos de cacao. *Tecnología para el mejoramiento del sistema de producción de cacao* , 123.
- Pérez, E., Álvarez, C., & Lares, M. (2002). Caracterización física y química de granos de cacao fermentados, secos y tostados de la región de Chuao. *Agronomía Tropical*, 52(2): 161-172.

- Pimentel, F., Nitzke, J., Klipel, C., & Jong, E. (2010). Chocolate and red wine- A comparison between flavonoids content. *Food Chem*, 120(1): 109-112.
- Pineda, R. d., Chica, M. J., Echeverri, L. F., Ortíz, A., & Olarte, H. H. (2012). Influencia de la fermentación y el secado al sol sobre las características del grano de cacao TSH 565 e ICS 60. *Vitae*, 19(1): S288-S290.
- Pokorný, J., & Schmidt, S. (2001). Funcionalidad de los antioxidantes naturales durante el procesamiento de alimentos. In: J. Pokorný, N. Yanishlieva, & M. Gordon. *Antioxidantes de los alimentos*. España: Acribia. pp: 331-330.
- Portillo, E., Graziani de Fariñas, L., & Betancourt, E. (2005). Efecto de los Tratamientos post-cosecha sobre la temperatura y el Índice de fermentación en la calidad de cacao criollo Porcelana (*Theobroma cacao* L.) en el sur del lago de Maracaibo. *Rev. Fac. Agron.*, 22(4): 388-399.
- 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*, 24(3): 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. *Revista Científica UDO Agrícola*, 9(2): 458-468.
- PueblosAmérica (2016). obtenido de: <http://mexico.pueblosamerica.com/i/tecpatan/>
- Ramírez, M. B., Cely, V. H., & Ramírez, S. I. (2013). Actividad antioxidante de clones de cacao (*Theobroma cacao* L.) finos y aromáticos cultivados en el estado de Chiapas. *Perspectivas en Nutrición Humana*, 15(1): 27-40.
- Ramírez, S. (2008). La moniliasis un desafío para lograr la sustentabilidad del cacao en México. *Tecnología en Marcha*, 21(1): 97-110.
- Ramlli, N., Hassan, O., Said, M., Samsudin, W., & Idris, N. (2006). Influence of roasting conditions on volatile flavor of roasted Malaysian cocoa beans. *Journal of Food Processing and preservation*, 30(3): 280-298.
- Ramos, G., Ramos, P., & Azócar, A. (2000). Beneficio del cacao. En FONAIAP-FUNDACITE-FONCACAO, *Manual del productor de cacao* (págs. 58-69). Mérida, Venezuela.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology & Medicine*, 16(9-10): 1231-1237.
- Rietveld, A., & Wiseman, S. (2003). Antioxidant effects of tea: evidence from human clinical trials. *Journal of Nutrition*, 133(10): 3285S-3292S.
- SAGARPA. (2010). Consulta de información sistema producto - CACAO. Obtenido de <http://www.cacao.gob.mx/index.php?portal=cacao>
- Schinella, G. S.-J. (2010). Antioxidant properties of polyphenol-rich cocoa products industrially processed. *Food Research International*, 43(6): 1614-1623.
- Secretaría de Economía. México. (2014). Norma mexicana NMX-FF-118-SCFI-2014 *Productos agrícolas no industrializados – cacao en grano (Theobroma cacao L) – especificaciones y Métodos de prueba*. México: 35p.

- Shi, J. (2007). *Functional food ingredients and nutraceuticals: processing technologies*. CRC Press, EEUU, 427p.
- SIAP. (2013). Servicio de Información Agroalimentaria y pesquera . Recuperado el Julio de 2014, de <http://www.siap.gob.mx/cierre-de-la-produccion-agricola-por-cultivo/>
- Stevenson, C., Corven, J., & Villanueva , G. (1993). *Manual para análisis de cacao en laboratorio* . San José, Costa Rica: Serie Publicaciones Miscelaneas.
- Suazo, Y. G.-P. (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.
- Subhashini, R., Mahadeva Rao, U., Sumathi, P., & Gunalan, G. (2010). A comparative phytochemical analysis of cocoa and green tea. *Indian Journal of Science and Technology*, 3(2): 188 – 102.
- Sujung, H., Byung-yong, K., & Moo-Yeol , B. (2016). Physicochemical properties and antioxidant capacity of raw, roasted and puffed cacao beans. *Food Chemistry*, 194: 1089–1094.
- Summa, C. F. (2006). Effect of roasting on the radical scavenging activity of cocoa beans. *Journal European Food Research and Technology*, 222(3): 368–375.
- Thompson, S., Miller, K., & López, A. (2001). Cocoa and coffee. In: Doyle MP, Beuchat MP, Montville TJ (ed)^(eds). *Food microbiology, fundamentals and frontiers*, 721-733.
- Torres, O., Graziani de Fariñas, L., Ortiz de Bertorelli, L., & Trujillo, A. (2004). Efecto del tiempo transcurrido entre la cosecha y el desgrane de la mazorca del cacao tipo forastero de Cuyagua sobre características del grano en fermentación. *Agronomía Trop.*, 54(4): 481-495.
- Vallejo, F. F. (2003). Effect of climatic and sulphur fertilisation conditions, on phenolic compounds and vitamin C, in the inflorescences of eight broccoli cultivars. *European Food Research and Technology*, 216(5): 395-401.
- Viluzca, F., Yee, A., Sulbarán, B., & Berradre, M. (2012). Actividad antioxidante de chocolates comerciales venezolanos. *Vitae*, 19(1): S448-S450.
- Wollgast, J., & Anklam, E. (2000). Review on polyphenols in Theobroma cacao: changes in composition during the manufacture of chocolate and methodology for identification and quantification. *Food Research International*, 33(6): 423-447.
- Wood-Kaczmar, A., Gandhi, S., & Wood, N. (2006). Understanding the molecular causes of parkinson's disease. *Trends Mol Med.*, 12(11): 521-528.
- Xianquan, S., Shi, J., Kakuda , Y., & Yueming, J. (2005). Stability of lycopene during food processing and storage. *Journal Med Food*, 8(4): 413-422.
- Yamaguchi, N. Y. (1981). Fractionation and antioxidative activity of browning reaction products between D-xylose and glycine. *Progress in Food and Nutrition Science*, 5(1-6): 429–439.

- Yusep, I., Jinap, S., Jamilah, B., & Nazamid, S. (2002). Influence of carboxypeptidases on free amino acid, peptide and methylpyrazine contents of Ander - fermented cocoa beans. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 82: 1584-1592.
- Zapata Bustamante, S., Tamayo Tenorio, A., & Rojano, B. A. (2013). Efecto de la fermentación sobre la actividad antioxidante de diferentes clones de cacao colombiano. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 18(3): 391-404.

APÉNDICE

Figura A 1. Formato para prueba de medición de grado de satisfacción.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE CHIAPAS
AGENCIA UNIVERSITARIA PARA EL DESARROLLO DEL CACAO
CHOCOLATE
FORMATO PARA LA EVALUACIÓN DE CHOCOLATE DE MESA



NOMBRE: _____ **FECHA:** _____

SEXO: F ___ M ___ **EDAD:** _____

1. ¿Usted es consumidor habitual de chocolate?
 SI ___ NO ___
2. De qué forma consume el chocolate
 Bebida ___ Caramelos ___ Postres ___
3. Con que frecuencia usted toma chocolate
 1 vez en la semana ___ 2 a 3 veces en la semana ___ Todos los días ___
4. De qué modo de preparación le agrada el chocolate
 Leche ___ Agua-leche ___ Agua ___
5. Como prefiere el consumo de la bebida
 Fría ___ Caliente ___
6. Le agrada la presencia de espuma en la taza
 SI ___ NO ___ ¿Por qué? _____
7. Prefiere una bebida de chocolate
 Espeso ___ Aguado ___
8. Considera importante el color de la bebida
 SI ___ NO ___ ¿Por qué? _____

Usted encontrará cinco muestras de chocolate de mesa para que sean evaluadas de izquierda a derecha y marque con una X según su evaluación de sabor y dulzor de cada muestra.

ESCALA	802	947	764	583	684
Me disgusta mucho	_____	_____	_____	_____	_____
Me disgusta	_____	_____	_____	_____	_____
Ni me gusta ni me disgusta	_____	_____	_____	_____	_____
Me gusta	_____	_____	_____	_____	_____
Me gusta muchísimo	_____	_____	_____	_____	_____

De las muestras evaluadas, diga cuál fue la de su preferencia y ¿Por qué?

Comentarios:

¡Muchas Gracias!

Cuadro A 1. ANOVA de Sólidos solubles (%) en 15 pastas de cacao.

		Suma de cuadrados	DF	Cuadrado de media	F	Sig.
Sólidos solubles	Modelo	89.14	14	6.37	22.96	<.0001
	Error	8.32	30	0.28		
	Total correcto	97.47	44			

C.V = 15.182

Cuadro A 2. ANOVA de pH en 15 pastas de cacao.

		Suma de cuadrados	DF	Cuadrado de media	F	Sig.
pH	Modelo	4.58	14	0.32	18.41	<.0001
	Error	0.53	30	0.017		
	Total correcto	5.11	44			

C.V = 2.33

Cuadro A 3. ANOVA de acidez (%) en 15 pastas de cacao.

		Suma de cuadrados	DF	Cuadrado de media	F	Sig.
Acidez	Modelo	0.324	14	0.023	13.41	<.0001
	Error	0.051	30	0.0017		
	Total correcto	0.38	44			

C.V = 9.62

Cuadro A 4. ANOVA de contenido de antioxidantes (mM de ácido ascórbico·g⁻¹ de cacao) en 15 pastas de cacao.

		Suma de cuadrados	DF	Cuadrado de media	F	Sig.
Antioxidantes	Modelo	98331.59	14	7023.68	66.52	<.0001
	Error	3167.795	30	105.59		
	Total correcto		44			

C.V = 7.84

Cuadro A 5. ANOVA de humedad (%) en 15 pastas de cacao.

		Suma de cuadrados	DF	Cuadrado de media	F	Sig.
Humedad (%)	Modelo	15.52	14	1.25	30.97	<.0001
	Error	1.21	30	0.040		
	Total correcto	18.73	44			

C.V = 8.94

Cuadro A 6. ANOVA de cenizas (%) en 15 pastas de cacao.

		Suma de cuadrados	DF	Cuadrado de media	F	Sig.
Cenizas	Modelo	5.131	13	0.394	10.11	<.0001
	Error	1.092	28	0.039		
	Total correcto	6.223	41			

C.V = 5.50

Cuadro A 7. ANOVA de grasa (%) en 15 pastas de cacao.

		Suma de cuadrados	DF	Cuadrado de media	F	Sig.
Grasa	Modelo	298.31	14	21.31	7.69	<.0001
	Error	83.16	30	2.77		
	Total correcto	381.47	44			

C.V = 3.47

Cuadro A 8. ANOVA para Temperatura (°C), pH de Testa, Sólidos solubles (%) y contenido de Antioxidantes durante las fermentaciones del clon 233.

ANOVA PARA FERMENTACIONES DE CLON 233						
		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Temp	Between Groups	1189.20	11	108.10	46.834	0.000
	Within Groups	110.80	48	2.30		
	Total	1300.00	59			
pH Tes	Between Groups	205.84	11	18.71	4604.924	0.000
	Within Groups	0.11	28	0.004		
	Total	205.95	39			
S.S	Between Groups	1341.04	11	121.913	311.504	0.000
	Within Groups	10.95	28	0.391		
	Total	1352.00	39			
Antiox	Between Groups	58469.77	11	5315.434	90.201	0.000
	Within Groups	1414.29	24	58.929		
	Total	59884.06	35			

ANOVA PARA FERMENTACIONES DEL CLON 243						
		Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Temp	Between Groups	1055.400	7	150.771	68.242	0.000
	Within Groups	70.700	32	2.209		
	Total	1126.100	39			
pH Testa	Between Groups	85.618	7	12.231	5585.250	0.000
	Within Groups	0.042	19	0.002		
	Total	85.660	26			
S.S	Between Groups	833.763	7	119.109	82.197	0.000
	Within Groups	26.083	18	1.449		
	Total	859.846	25			
Antiox	Between Groups	42217.504	7	6031.072	95.382	0.000
	Within Groups	1011.687	16	63.230		
	Total	43229.191	23			

ANOVA PARA FERMENTACIONES DEL CLON 244

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Temp	Between Groups	1189.200	11	108.109	46.834	0.000
	Within Groups	110.800	48	2.308		
	Total	1300.000	59			
pH Testa	Between Groups	157.292	11	14.299	1833.234	0.000
	Within Groups	0.226	29	0.008		
	Total	157.518	40			
S.S	Between Groups	1925.110	11	175.010	1918.220	0.000
	Within Groups	2.646	29	0.091		
	Total	1927.756	40			
Antiox	Between Groups	70876.939	11	6443.358	130.354	0.000
	Within Groups	1186.313	24	49.430		
	Total	72063.252	35			

ANOVA PARA FERMENTACIONES DEL CLON 256

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Temp	Between Groups	666.875	7	95.268	35.244	0.000
	Within Groups	86.500	32	2.703		
	Total	753.375	39			
pH Tes	Between Groups	136.419	7	19.488	637.952	0.000
	Within Groups	0.611	20	0.031		
	Total	137.030	27			
S.S	Between Groups	971.841	7	138.834	123.408	0.000
	Within Groups	23.625	21	1.125		
	Total	995.466	28			
Antiox	Between Groups	32975.163	7	4710.738	109.723	0.000
	Within Groups	686.928	16	42.933		
	Total	33662.091	23			

ANOVA PARA FERMENTACIONES DEL CLON 266

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Temp	Between Groups	666.875	7	95.268	35.244	0.000
	Within Groups	86.500	32	2.703		
	Total	753.375	39			
pH	Between Groups	106.913	7	15.273	4703.019	0.000
	Within Groups	0.055	17	0.003		
	Total	106.968	24			
S.S	Between Groups	1314.575	7	187.796	310.835	0.000
	Within Groups	13.292	22	0.604		
	Total	1327.867	29			
Antiox	Between Groups	38298.599	7	5471.228	71.648	0.000
	Within Groups	1221.801	16	76.363		
	Total	39520.399	23			

Cuadro A 9. Temperatura (°C) de masa en cajón de fermentación de cinco clones de cacao.

Ferment.	Muestra (día)	Temperatura de masa de cacao en cajón (°C)									
		233	243	244	256	266					
1	Día 0	24,00	ab	24,00	ab	24,00	ab	24	ab		
	Día 2	30,60	de	30,60	de	30,60	de	30,6	de		
	Día 4	27,60	cd	27,60	cd	27,60	cd	27,6	cd		
	Día 6	28,60	cd	28,60	cd	28,60	cd	28,6	cd		
2	Día 0	23,50	ab	23,5	a	23,50	ab	23,50	a	23,5	a
	Día 2	33,30	ef	33,3	c	33,30	ef	33,30	ef	33,3	ef
	Día 4	36,20	f	36,2	c	36,20	f	36,20	f	36,2	f
	Día 6	27,20	bc	27,2	b	27,20	bc	27,20	bc	27,2	bc
3	Día 0	23,00	a	23	a	23,00	a				
	Día 2	29,70	cd	29,7	b	29,70	cd				
	Día 4	35,10	f	35,1	c	35,10	f				
	Día 6	23,20	a	23,2	a	23,20	a				
C.V		0,164		0,185		0,164		0,152		0,152	

Nota: Promedios con la misma letra no presentan diferencias estadísticamente significativas de acuerdo con la prueba de comparación de medias de Tukey ($P \leq 0.05$)

Cuadro A 10. Comportamiento del pH de testa de cinco clones de cacao durante la fermentación.

Fermentación	Muestra (Día)	pH - Testa en fermentación									
		233	243	244	256	266					
1	día 0	3,12	b		2,96	ab	3,31	ab	3,13	a	
	día 2	3,69	c		3,8	d	3,58	b	4,31	c	
	día 4	7,29	e		6,44	e	7,05	d	7,26	e	
	día 6	8,23	f		7,76	g	8,05	e	8,14	f	
2	día 0	3,07	b	3,02	b	2,93	ab	2,88	a	3,1	a
	día 2	3,14	b	3,02	b	3,16	bc	3,34	b	3,45	b
	día 4	4,04	d	3,64	d	3,37	c	4,76	c	4,93	d
	día 6	8,82	g	6,98	e	7,57	g	8,44	e	8,21	f
3	día 0	3,11	b	3,28	c	3,26	c				
	día 2	2,33	a	2,53	a	2,84	a				
	día 4	3,82	c	3,68	d	3,64	d				
	día 6	7,34	e	7,07	e	7,27	f				
C.V		0,464		0,419		0,426		0,427		0,391	

Nota: Promedios con la misma letra no presentan diferencias estadísticamente significativas de acuerdo con la prueba de comparación de medias de Tukey ($P \leq 0.05$)

Cuadro A 11. Comportamiento de los sólidos solubles de cinco clones de cacao durante la fermentación.

Fermentación	Muestra (Día)	Sólidos solubles durante la fermentación (%)									
		233	243	244	256	266					
1	Día 0	16,13	e		18,38	f	17,25	c	18,75	d	
	Día 2	2,00	ab		2,17	c	1,63	a	2	ab	
	Día 4	1,00	a		1	a	1,00	a	1,33	a	
	Día 6	0,50	a		1	a	1,00	a	1,25	a	
2	Día 0	11,63	d	13,5	c	12,88	e	10,50	b	14,25	c
	Día 2	4,50	c	4,67	b	3,63	d	1,88	a	3,63	b
	Día 4	4,33	c	2,75	ab	3	d	2,00	a	1,63	a
	Día 6	2,00	ab	1,83	ab	1,25	ab	2,00	a	1	a
3	Día 0	15,75	e	17	d	20	g				
	Día 2	3,00	bc	3,17	ab	2	bc				
	Día 4	2,00	ab	1,83	ab	1,17	a				
	Día 6	1,17	a	1,17	a	1	a				
C.V		0,464		0,419		0,426		0,427		0,391	

Nota: Promedios con la misma letra no presentan diferencias estadísticamente significativas de acuerdo con la prueba de comparación de medias de Tukey ($P \leq 0.05$)

Cuadro A 12. Contenido de antioxidantes en cinco clones de cacao durante el proceso de fermentación.

Ferm.	Muestra (Día)	Sólidos solubles durante la fermentación (%)									
		233		243		244		256		266	
1	Día 0	49,17	ab			75,09	c	67,747	b	91,064	a
	Día 2	173,28	f			207,035	g	178,825	f	207,760	d
	Día 4	73,92	cd			83,263	cd	103,878	cd	97,830	ab
	Día 6	59,85	bc			87,678	cd	100,041	cd	106,209	ab
2	Día 0	42,657	ab	148,13	cd	124,35	f	113,811	e	175,843	c
	Día 2	117,89	e	130,95	cd	116,575	ef	114,393	e	121,488	b
	Día 4	84,99	d	92,45	b	40,939	a	92,084	c	170,440	c
	Día 6	139,33	e	105,50	b	102,669	de	42,684	a	157,737	c
3	Día 0	34,80	a	53,56	a	52,967	ab				
	Día 2	59,07	bc	47,02	a	70,754	bc				
	Día 4	72,91	cd	46,20	a	43,049	a				
	Día 6	57,85	bc	153,99	d	128,592	f				
C.V		0,513		0,445		0,48		0,376		0,293	

Nota: Promedios con la misma letra no presentan diferencias estadísticamente significativas de acuerdo con la prueba de comparación de medias de Tukey ($P \leq 0.05$)

Cuadro A 13. ANOVA del contenido de antioxidantes en tostado de cinco clones de cacao.

		Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Contenido de Antioxidantes	Between Groups	2291.408	4	572.852	65.721	.000
	Within Groups	87.164	10	8.716		
	Total	2378.572	14			

Cuadro A 14. ANOVA del contenido de antioxidantes en chocolates de mesa.

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups		1704.642	6	284.107	30.749	.000
Within Groups		129.354	14	9.240		
Total		1833.996	20			

Cuadro A 15. ANOVA de prueba de medición de grado de satisfacción en chocolate de mesa.

Fuente de Variación	gl	Suma de cuadrados	Varianza estimada	F calculada Fc	F tablas	Ft
Tratamientos	4	7,18	1,79	2,26	2,39	NS
Jueces	114	115,56	1,01	1,28	1,28	NS
Residual	456	362,02	0,79			
Total	574	484,76				