

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA

LA MOLINA

ESCUELA DE POSGRADO

MAESTRÍA EN TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS



**“OPTIMIZACIÓN DEL TOSTADO DE CACAO (*Theobroma cacao* L.)
EN ESTUFA Y TAMBOR PARA RETENCIÓN DE POLIFENOLES
APLICANDO SUPERFICIE DE RESPUESTA”**

Presentada por:

BEETHSSY ZZUSSY HURTADO SORIA

**TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE MAESTRO
MAGISTER SCIENTIAE EN TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS**

Lima – Perú

2023

Document Information

Analyzed document	Borrador de tesis- Beetthssy Z. Hurtado Soria-2022-V°B°- Diciembre.pdf (D153342929)
Submitted	12/14/2022 12:07:00 PM
Submitted by	Milber Oswaldo Ureña Peralta
Submitter email	moup@lamolina.edu.pe
Similarity	9%
Analysis address	moup.unalm@analysis.arkund.com

Sources included in the report

SA	TESIS.docx Document TESIS.docx (D20877243)	 7
SA	1A_Otárola_Gamarra_Antonio_Doctorado_2018.doc.docx Document 1A_Otárola_Gamarra_Antonio_Doctorado_2018.doc.docx (D40410187)	 13
W	URL: http://repositorio.ual.es/bitstream/handle/10835/9936/01.%20Tesis.pdf?sequence=1&isAllowed=y Fetched: 6/17/2022 7:12:22 AM	 14
SA	Trabajo de Fin de Titulación MAVL.docx Document Trabajo de Fin de Titulación MAVL.docx (D29805488)	 4
W	URL: http://repositorio.unas.edu.pe/bitstream/handle/UNAS/200/FIA122.pdf?sequence=1&isAllowed=y Fetched: 12/14/2022 12:11:00 PM	 1
SA	Seminario de titulación Cifuentes. F y Garrido. A (1).pdf Document Seminario de titulación Cifuentes. F y Garrido. A (1).pdf (D141716873)	 3
W	URL: https://repositorio.uam.es/bitstream/handle/10486/1671/6494_perez_jimenez_jara.pdf?sequence=1 Fetched: 12/14/2022 12:12:00 PM	 5
SA	TESIS PODER ANTIOXIDANTE DEL CACAO VALDIVIEZO SIERRA-ZURITA BORJA.docx Document TESIS PODER ANTIOXIDANTE DEL CACAO VALDIVIEZO SIERRA-ZURITA BORJA.docx (D130625569)	 2
SA	Valeria Toaquiza.pdf Document Valeria Toaquiza.pdf (D127284042)	 13
SA	Tesis Daniela 21 noviembre.docx Document Tesis Daniela 21 noviembre.docx (D44335846)	 1
SA	PLAN DE TRABAJO DE INVESTIGACIÓN - REYES NEVADO RICHARD DANIEL.docx Document PLAN DE TRABAJO DE INVESTIGACIÓN - REYES NEVADO RICHARD DANIEL.docx (D110456459)	 17
SA	Urkund TFT Carlos Alberto Vicente Quille.pdf Document Urkund TFT Carlos Alberto Vicente Quille.pdf (D44007806)	 13
W	URL: https://1library.co/title/degradacion-de-polifenoles-del-cacao-theobroma-cacao-l-criollo-de-am... Fetched: 7/14/2021 5:02:27 PM	 4

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA
ESCUELA DE POSGRADO
MAESTRÍA EN TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

**“OPTIMIZACIÓN DEL TOSTADO DE CACAO (*Theobroma cacao* L.)
EN ESTUFA Y TAMBOR PARA RETENCIÓN DE POLIFENOLES
APLICANDO SUPERFICIE DE RESPUESTA”**

Presentada por:

BEETHSSY ZZUSSY HURTADO SORIA

TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE MAESTRO
MAGISTER SCIENTIAE EN TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

Sustentada y aprobada por el siguiente jurado:

Dr. Eduardo Morales Soriano

PRESIDENTE

Dr. Milber Oswaldo Ureña Peralta

ASESOR

Ph.D. Gabriela Cristina Chire Fajardo

CO-ASESOR

Dr. Edwin Baldeón Chamorro

MIEMBRO

Dra. Rosana Chirinos Gallardo

MIEMBRO

DEDICATORIA

Con mucho cariño y amor dedico este logro:

A mis padres Olga y Ever

A mis hermanos, Estefani,

Francisco y Alfonso

A mí, por no rendirme

AGRADECIMIENTO

- A Dios por brindarme la oportunidad de seguir alcanzando mis metas en la vida.
- A mis asesores Dr. Milber Oswaldo Ureña Peralta y Ph.D. Gabriela Cristina Chire Fajardo, quienes, con sus sabias enseñanzas, sugerencias, paciencia y apoyo constante durante este proceso, fortalecieron mis conocimientos para la culminación de este trabajo de investigación.
- A mis jurados Dr. Eduardo Morales Soriano, Dra. Rosana Chirinos Gallardo y Dr. Edwin Baldeón Chamorro por el tiempo dedicado en revisar esta investigación, sus consejos y motivación dieron lo mejor de mí a lo largo de la maestría.
- A mis padres Olga y Ever, a mis hermanos Francisco y Alfonso por su amor y apoyo incondicional.
- A mi hermana Estefani por confiar siempre en mí y darme fortaleza para poder culminar una de mis metas, que fue este trabajo de investigación.
- A John por apoyarme y darme motivación durante la elaboración de esta investigación.
- A la Mg. Sc. Nubia Martínez Guerrero por estar siempre dispuesta a apoyarme y ser mi jurado evaluador de la evaluación sensorial de los nibs y chocolates de la presente investigación.
- Al Mg. Sc. Clodomiro Miranda Villagomez por sus enseñanzas, sugerencias y tiempo brindado en la parte estadística de la presente investigación y clases de maestría.
- A las Sras. Luchi y Silvia por facilitarme desinteresadamente sus tostadores de cacao y poder desarrollar mi trabajo de investigación de la mejor manera.
- Al Sr. Mario Jaulis, quien me atendió con su particular alegría en la sala de tesis de la BAN y por ser un amigo para mí; y ahora descansa en paz.
- Al Programa Nacional de Innovación Agraria (PNIA) por el financiamiento para el desarrollo de la presente investigación (contrato N° 03-2017-INIA-PNIA-MAESTRÍA)
- A mis amigos, compañeros de estudio y todas aquellas personas que de una u otra forma participaron y aportaron en el desarrollo de la investigación.

ÍNDICE GENERAL

I.	INTRODUCCIÓN	1
II.	REVISIÓN DE LITERATURA	3
2.1.	Cacao	3
2.1.1.	Producción y exportación de cacao en el Perú	4
2.1.2.	Características botánicas.....	6
2.1.3.	Variedades del cacao	6
2.1.4.	Cacao chuncho.....	7
2.1.5.	Composición química del cacao	9
2.2.	Antioxidantes y capacidad antioxidante	10
2.2.1.	Antioxidantes.....	10
2.2.2.	Capacidad antioxidante.....	10
2.2.3.	Determinación de la actividad antioxidante	11
2.3.	Polifenoles	13
2.3.1.	Determinación de polifenoles con el método Folin-Ciocalteu	13
2.3.2.	Polifenoles en el cacao	14
2.3.3.	Polifenoles del cacao en la salud	15
2.4.	Beneficio del cacao	17
2.4.1.	Quiebre de la mazorca	17
2.4.2.	Fermentación	17
2.4.3.	Secado.....	18
2.4.4.	Almacenamiento	19
2.4.5.	Prueba de corte del grano de cacao	19
2.5.	Elaboración de chocolate	21
2.5.1.	Limpieza y clasificación.....	21
2.5.2.	Tostado	21
2.5.3.	Descascarillado.....	25
2.5.4.	Molienda.....	25

2.5.5.	Refinado	25
2.5.6.	Conchado	25
2.5.7.	Templado	26
2.5.8.	Moldeado	26
2.6.	Evaluación sensorial del chocolate	26
2.6.1.	Aceptabilidad y preferencia.....	26
2.6.2.	Método (Check All That Apply – CATA)	27
2.7.	Metodología de Superficie de Respuesta.....	28
2.7.1.	Etapa I: <i>Screening</i> o eliminación de variables poco significativas	28
2.7.2.	Etapa II: Escalamiento.....	28
2.7.3.	Etapa III: Optimización Final	29
2.7.4.	Respuestas múltiples	30
III.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	31
3.1.	Lugar de ejecución.....	31
3.2.	Materiales y equipos	31
3.2.1.	Materia prima	31
3.2.2.	Materiales	31
3.2.3.	Equipos	33
3.2.4.	Reactivos y soluciones	34
3.3.	Métodos de análisis.....	35
3.3.1.	Análisis al grano de cacao fermentado y seco.....	35
3.3.2.	Análisis al grano de cacao tostado óptimo	46
3.3.3.	Análisis al chocolate elaborado con el tratamiento óptimo.....	46
3.4.	Metodología experimental	48
3.4.1.	Obtención de trozos de cacao (<i>nibs</i>).....	48
3.4.2.	Obtención del chocolate	51
3.5.	Diseño experimental	53
3.5.1.	Superficie de Respuesta.....	53
3.6.	Análisis estadístico	55
3.6.1.	Análisis del método de superficie de respuesta	55

3.6.2.	Análisis de comparación.....	55
3.6.3.	Análisis de Mann Whitney para prueba de aceptabilidad	55
3.6.4.	Análisis de Chi-cuadrado ajustado para prueba de preferencia.....	55
3.6.5.	Prueba Q de Cochran	56
IV.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	57
4.1.	Caracterización del grano de cacao fermentado y seco	57
4.1.1.	Análisis físico	57
4.1.2.	Análisis fisicoquímico	61
4.1.3.	Análisis químico	62
4.1.4.	Análisis microbiológico.....	68
4.2.	Optimización del proceso	69
4.2.1.	Optimización por tostador en estufa.....	69
4.2.2.	Optimización por tostador tambor rotatorio	87
4.3.	Caracterización de los tratamientos óptimos	105
4.3.1.	Análisis físico	105
4.3.2.	Análisis fisicoquímico	107
4.3.3.	Análisis químico.....	109
4.3.4.	Análisis microbiológico.....	113
4.4.	Caracterización de los chocolates con los tratamientos óptimos	114
4.5.	Evaluación sensorial de los chocolates	117
4.5.1.	Aceptabilidad.....	117
4.5.2.	CATA	119
4.5.3.	Análisis de preferencia	124
V.	CONCLUSIONES	126
VI.	RECOMENDACIONES	128
VII.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	129
VIII.	ANEXOS	168

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Lista de los productos de cacao y derivados exportados por el Perú	5
Tabla 2: Diferencias entre cacao chuncho u otros cacaos	8
Tabla 3: Estándares nacionales de clasificación de granos de cacao	36
Tabla 4: Factores y sus niveles para el método de Superficie de Respuesta.....	53
Tabla 5: Diseño experimental del método de Superficie de Respuesta aplicado para el tostado en estufa y tambor rotatorio	54
Tabla 6: Características físicas del grano de cacao chuncho fermentado y seco	58
Tabla 7: Análisis fisicoquímico del grano de cacao chuncho fermentado y seco	61
Tabla 8: Análisis de pH y porcentaje de acidez del grano de cacao chuncho fermentado y seco	63
Tabla 9: Contenido de polifenoles totales y capacidad antioxidante del grano de cacao chuncho fermentado y seco	64
Tabla 10: Análisis microbiológico del grano de cacao chuncho fermentado y seco	68
Tabla 11: Resultados experimentales del diseño factorial de tres niveles y dos factores (3^2) con tres puntos centrales, respectivo al método de superficie de respuesta, correspondientes a polifenoles totales y capacidad antioxidante (FRAP y DPPH) del cacao chuncho tostado en estufa (TE)	70
Tabla 12: Deseabilidad máxima del tratamiento con respecto a los polifenoles totales y capacidad antioxidante (FRAP y DPPH) por TE	86
Tabla 13: Valor estimado y experimental para el TE bajo las condiciones óptimas recomendadas por el modelo	86
Tabla 14: Resultados experimentales del diseño factorial de tres niveles y dos factores (3^2) con tres puntos centrales, respectivo al método de superficie de respuesta, correspondientes	

a polifenoles totales y capacidad antioxidante (FRAP y DPPH) del cacao chuncho tostado en tambor rotatorio (TR).....	88
Tabla 15: Deseabilidad máxima del tratamiento con respecto a los polifenoles totales y capacidad antioxidante (FRAP y DPPH) por TR	103
Tabla 16: Valor estimado y experimental para el TR bajo las condiciones óptimas recomendadas por el modelo	104
Tabla 17: Análisis del color del cacao tostado óptimo.....	106
Tabla 18: Análisis fisicoquímico del cacao tostado óptimo.....	108
Tabla 19: Análisis de pH y acidez de los tratamientos óptimos.....	110
Tabla 20: Contenido de polifenoles y capacidad antioxidante del cacao tostado óptimo	112
Tabla 21: Análisis microbiológico del cacao tostado óptimo	114
Tabla 22: Contenido de polifenoles totales y capacidad antioxidante de los chocolates .	115
Tabla 23: Prueba de Mann Whitney para los atributos sensoriales de los chocolates evaluados sensorialmente	118
Tabla 24: Tabla de contingencia de los datos de los chocolates y veinte atributos CATA	119
Tabla 25: Valores-p de la prueba Q de Cochran para cada atributo sensorial	123
Tabla 26: Análisis de datos de la prueba de preferencia por el método Chi-cuadrado (X^2)	124

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Variedades de cacao a. Criollo, b. Forastero, c. Trinitario	7
Figura 2: Diversidad de cultivares de cacao “chuncho” del Cusco.....	9
Figura 3: Reacción del ensayo de FRAP.....	12
Figura 4: DPPH (2,2-Difenil-1-picrilhidrazil)	12
Figura 5: Principales polifenoles que se encuentran en los granos de cacao	14
Figura 6: Tostador estufa o bandejas.....	23
Figura 7: Tostador por lotes de semillas de cacao Tornado RSX de Barth (Bühler AG). (1) entrada de semillas de cacao crudo; (2) salida de semillas de cacao tostado; (3) tambor para asar; (4) cámara de quemador; (5) entrada de aire caliente para calentamiento por convección; (6) expulsar el aire del interior del tambor; (7) expulsar el aire del exterior del tambor; (8) puerto para inyección de agua, vapor y otros ingredientes; (9) más fresco.	24
Figura 8: Flujograma de la obtención de trozos de cacao o <i>nibs</i>	50
Figura 9: Flujograma de la obtención de chocolate al 75 por ciento	52
Figura 10: Superficie de respuesta del contenido de polifenoles totales del grano de cacao en función a la temperatura y el tiempo, tostado en tostador estufa (TE).....	72
Figura 11: Contorno de la superficie de respuesta estimada para los polifenoles totales en función a la temperatura y el tiempo, tostado en TE.....	72
Figura 12: Perturbación para la respuesta de polifenoles totales (para A: temperatura, B: tiempo), en tostador estufa (TE). X: Desviación del punto de referencia (unidades codificadas); Y: Polifenoles totales (mg EAG/g b.s)	75
Figura 13: Superficie de respuesta del contenido de capacidad antioxidante por el método de FRAP del grano de cacao en función a la temperatura y el tiempo, tostado en tostador estufa (TE).....	78

Figura 14: Contorno de la superficie de respuesta estimada para capacidad antioxidante por el método FRAP en función a la temperatura y el tiempo, tostado en TE	78
Figura 15: Perturbación para la respuesta de capacidad antioxidante por el método FRAP (para A: temperatura, B: tiempo), tostado en tostador estufa (TE). X: Desviación del punto de referencia (unidades codificadas); Y: FRAP ($\mu\text{mol Eq. Trolox/g b.s}$).....	80
Figura 16: Superficie de respuesta del contenido de capacidad antioxidante por el método de DPPH del grano de cacao en función a la temperatura y el tiempo, tostado en tostador estufa (TE).....	83
Figura 17: Contorno de la superficie de respuesta estimada para capacidad antioxidante por el método DPPH en función a la temperatura y el tiempo, tostado en TE.....	83
Figura 18: Perturbación para la respuesta de capacidad antioxidante por el método DPPH (para A: temperatura, B: tiempo), tostado en tostador estufa (TE). X: Desviación del punto de referencia (unidades codificadas); Y: DPPH ($\mu\text{mol Eq. Trolox/g b.s}$).....	85
Figura 19: Superficie de respuesta del contenido de polifenoles totales del grano de cacao en función a la temperatura y el tiempo, tostado en tostador tambor rotatorio (TR)	91
Figura 20: Contorno de la superficie de respuesta estimada para los polifenoles totales en función a la temperatura y el tiempo, tostado en TR.....	91
Figura 21: Perturbación para la respuesta de polifenoles totales (para A: temperatura, B: tiempo), tostado en tostador tambor rotatorio (TR). X: Desviación del punto de referencia (unidades codificadas); Y: Polifenoles totales (mg EAG/g b.s).....	93
Figura 22: Superficie de respuesta del contenido de capacidad antioxidante por el método de FRAP del grano de cacao en función a la temperatura y el tiempo, tostado en tostador tambor rotatorio (TR)	96
Figura 23: Contorno de la superficie de respuesta estimada para capacidad antioxidante por el método FRAP en función a la temperatura y el tiempo, tostado en TR	96
Figura 24: Perturbación para la respuesta de capacidad antioxidante por el método FRAP (para A: temperatura, B: tiempo), tostado en tostador tambor rotatorio (TR). X: Desviación del punto de referencia (unidades codificadas); Y: FRAP ($\mu\text{mol Eq. Trolox/g b.s}$).....	98

Figura 25: Superficie de respuesta del contenido de capacidad antioxidante por el método de DPPH del grano de cacao en función a la temperatura y el tiempo, tostado en tostador tambor rotatorio (TR)	101
Figura 26: Contorno de la superficie de respuesta estimada para capacidad antioxidante por el método DPPH en función a la temperatura y el tiempo, tostado en tostador TR	101
Figura 27: Perturbación para la respuesta de capacidad antioxidante por el método DPPH (para A: temperatura, B: tiempo), tostado en tostador tambor rotatorio (TR). X: Desviación del punto de referencia (unidades codificadas); Y: DPPH ($\mu\text{mol Eq. Trolox/g b.s}$).....	102
Figura 28: Puntaje promedio de los chocolates.....	118
Figura 29: Gráfico de barras del número de deducciones para cada chocolate, agrupados por atributo de olor	121
Figura 30: Gráfico de barras del número de deducciones para cada chocolate, agrupados por atributo de sabor	121
Figura 31: Porcentaje de preferencia de los chocolates	125

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1: Datos de las características físicas del grano de cacao chuncho fermentado y seco	169
Anexo 2: Datos del análisis fisicoquímico del grano de cacao chuncho fermentado y seco	170
Anexo 3: Datos de análisis de pH y porcentaje de acidez del grano de cacao chuncho fermentado y seco	171
Anexo 4: Datos del contenido de polifenoles totales y capacidad antioxidante del grano de cacao chuncho fermentado y seco	172
Anexo 5: Ecuaciones de curvas estándar empleadas para los polifenoles totales y capacidad antioxidante (FRAP y DPPH)	173
Anexo 6: Datos del contenido de polifenoles totales obtenidos mediante el tostador estufa (TE).....	174
Anexo 7: Datos del contenido de capacidad antioxidante (FRAP) obtenidos mediante el tostador estufa (TE)	175
Anexo 8: Datos del contenido de capacidad antioxidante (DPPH) obtenidos mediante el tostador estufa (TE)	176
Anexo 9: Ecuaciones de optimización del tostado de cacao en tostador estufa (TE) para retención de polifenoles y capacidad antioxidante	177
Anexo 10: Análisis de varianza para el modelo cuadrático de la metodología de superficie de respuesta correspondiente a polifenoles totales para TE	178
Anexo 11: Análisis de varianza para el modelo cuadrático de la metodología de superficie de respuesta correspondiente a capacidad antioxidante (FRAP) para TE	179
Anexo 12: Análisis de varianza para el modelo cuadrático de la metodología de superficie de respuesta correspondiente a capacidad antioxidante (DPPH) para TE.....	180

Anexo 13: Datos del contenido de polifenoles totales obtenidos mediante el tostador tambor rotatorio (TR).....	181
Anexo 14: Datos del contenido de capacidad antioxidante (FRAP) obtenidos mediante el tostador tambor rotatorio (TR)	182
Anexo 15: Datos del contenido de capacidad antioxidante (DPPH) obtenidos mediante el tostador tambor rotatorio (TR)	183
Anexo 16: Ecuaciones de optimización del tostado de cacao en tostador tambor rotatorio (TR) para retención de polifenoles y capacidad antioxidante	184
Anexo 17: Análisis de varianza para el modelo cuadrático de la metodología de superficie de respuesta correspondiente a polifenoles totales para TR	185
Anexo 18: Análisis de varianza para el modelo cuadrático de la metodología de superficie de respuesta correspondiente a capacidad antioxidante (FRAP) para TR.....	186
Anexo 19: Análisis de varianza para el modelo cuadrático de la metodología de superficie de respuesta correspondiente a capacidad antioxidante (DPPH) para TR.....	187
Anexo 20: Datos del análisis físico de los tratamientos óptimos.....	188
Anexo 21: Datos del análisis físicoquímico de los tratamientos óptimos.....	189
Anexo 22: Datos del análisis de pH y acidez de los tratamientos óptimos.....	190
Anexo 23: Datos del contenido de polifenoles y capacidad antioxidante de los tratamientos óptimos	191
Anexo 24: Datos del contenido de polifenoles y capacidad antioxidante de los chocolates elaborados con granos de cacao que fueron tostados con tratamientos óptimos.....	192
Anexo 25: Tarjeta de prueba de aceptabilidad	193
Anexo 26: Datos de la prueba de aceptabilidad de olor, sabor y apreciación general del chocolate elaborado con cacao tostado en estufa (CH-E)	194
Anexo 27: Datos de la prueba de aceptabilidad de olor, sabor y apreciación general del chocolate elaborado con cacao tostado en tambor rotatorio (CH-R).....	196

Anexo 28: Estadísticos descriptivos y prueba de Mann Whitney para los atributos sensoriales de los chocolates evaluados	198
Anexo 29: Glosario de términos para las evaluaciones de sabor del cacao con los descriptores correspondientes, y ejemplos de notas de referencia u origen para la calibración	199
Anexo 30: Tarjeta de prueba de Check All That Apply (CATA)	202
Anexo 31: Datos de la prueba de CATA del chocolate elaborado con cacao tostado en estufa (CH-E)	203
Anexo 32: Datos de la prueba de CATA del chocolate elaborado con cacao tostado en tambor rotatorio (CH-R)	204
Anexo 33: Tarjeta de prueba de preferencia	205
Anexo 34: Datos de preferencia del CH-E y CH-R por parte de los consumidores	206
Anexo 35: Análisis de datos de la prueba de preferencia por el método Chi-cuadrado (X^2)	208
Anexo 36: Tabla de valores críticos de Chi-cuadrado (X^2)	209
Anexo 37: Galería de fotos del beneficio del cacao chuncho de la “Asociación de Productores del VRAEM”	210
Anexo 38: Galería de fotos del análisis físico del cacao chuncho	211
Anexo 39: Galería de fotos del análisis químico del cacao chuncho	212
Anexo 40: Galería de fotos de los tostadores	213
Anexo 41: Color del cacao tostado óptimo	214
Anexo 42: Galería de fotos de la elaboración de chocolate con grano tostado óptimo	215
Anexo 43: Galería de fotos de la evaluación sensorial del chocolate	216

RESUMEN

El objetivo de la investigación fue optimizar el tostado de cacao chuncho en dos tipos de tostadores, estufa y tambor rotatorio, aplicando el método de superficie de respuesta (MSR) con diseño factorial de tres niveles y dos factores (3^2), con tres puntos centrales. Se maximizó la retención de polifenoles totales y capacidad antioxidante con la combinación de temperaturas (100, 120 y 140 °C) y tiempos (10, 20, 30 min) de tostado que tuvieron efecto significativo ($p < 0,05$). La temperatura y el tiempo óptimos para el tostado en estufa (TE) fueron 130 °C y 11 min, con lo que se obtuvo trozos de cacao (*nibs*) con $63,72 \pm 1,84$ mg EAG/g base seca (b.s.) de polifenoles totales, $267,93 \pm 5,30$ $\mu\text{mol Eq. Trolox/g b.s.}$ de capacidad antioxidante por FRAP y $418,91 \pm 3,86$ $\mu\text{mol Eq. Trolox/g b.s.}$ de capacidad antioxidante por DPPH. La temperatura y el tiempo óptimos para el tostado en tambor rotatorio (TR) fueron 127 °C y 11 min, con lo que se obtuvo trozos de cacao (*nibs*) con, $64,38 \pm 2,10$ mg EAG/g b.s. de polifenoles totales, $260,91 \pm 6,14$ $\mu\text{mol Eq. Trolox/g b.s.}$ de capacidad antioxidante por FRAP y $414,61 \pm 2,62$ $\mu\text{mol Eq. Trolox/g b.s.}$ de capacidad antioxidante por FRAP. Se elaboraron chocolates al 75 por ciento con los granos de cacao tostados con los parámetros óptimos para TE y TR, que tuvieron una aceptabilidad sensorial general de 78,6 y 75 por ciento, respectivamente; y un nivel de preferencia de 48,39 por ciento y 51,61 por ciento, respectivamente. Con el método CATA se encontró diferencias significativas ($p < 0,05$) entre los dos chocolates para los atributos sabor cacao/chocolate, sabor amargo, sabor dulce y sabor frutal.

Palabras clave: cacao chuncho, polifenoles totales, capacidad antioxidante, optimización, superficie de respuesta, tostado, *nibs*, chocolate y evaluación sensorial.

ABSTRACT

The objective of the research was to optimize the roasting of chuncho cacao in two types of roasters, stove and rotary drum, applying the response surface methodology (RSM) with a three-level factorial design and two factors (3^2), with three central points. Total polyphenol retention and antioxidant capacity were maximized with the combination of roasting temperatures (100, 120, and 140 °C) and times (10, 20, 30 min), which had a significant effect ($p < 0.05$). The optimal temperature and time for roasting in the oven (TE) were 130 °C and 11 min, with which cocoa pieces (nibs) were obtained with 63.72 ± 1.84 mg EAG/g dry base (b.s.) of total polyphenols, 267.93 ± 5.30 $\mu\text{mol Eq. Trolox/g b.s.}$ of antioxidant capacity by FRAP and 418.91 ± 3.86 $\mu\text{mol Eq. Trolox/g b.s.}$ of antioxidant capacity by DPPH. The optimum temperature and time for roasting in a rotary drum (RT) were 127 °C and 11 min, with which cocoa pieces (nibs) were obtained with 64.38 ± 2.10 mg EAG/g b.s. of total polyphenols, 260.91 ± 6.14 $\mu\text{mol Eq. Trolox/g b.s.}$ of antioxidant capacity by FRAP and 414.61 ± 2.62 $\mu\text{mol Eq. Trolox/g b.s.}$ of antioxidant capacity using FRAP analysis. Chocolates at 75 percent were made with roasted cocoa beans with the optimal parameters for TE and TR, which had a general sensory acceptability of 78.6 and 75 percent, respectively; and a preference level of 48.39 percent and 51.61 percent, respectively. With the CATA method, significant differences ($p < 0.05$) were found between the two chocolates for the cocoa/chocolate flavor attributes, bitter flavor, sweet flavor and fruit flavor.

Keywords: chuncho cocoa, total polyphenols, antioxidant capacity, optimization, response surface, roasting, nibs, chocolate, and sensory evaluation.

I. INTRODUCCIÓN

El género *Theobroma cacao* L. agrupa un total de 24 especies botánicas. No obstante, el *Theobroma cacao* L. es cultivado únicamente para producir chocolate, uno de los alimentos más populares a nivel mundial (MINAGRI 2016).

El Perú ocupa el noveno lugar entre los principales países productores de cacao en el mundo; el tercer lugar entre los principales países productores y exportadores de cacao fino de aroma; y el segundo país productor de cacao orgánico en el mundo (MINAGRI 2016; ICCO 2017).

En el Perú existe una amplia variabilidad genética, tanto en el carácter morfológico como a nivel de frutos y de semillas. Una de estas variedades de una amplia diversidad genética con características organolépticas propias de los cacaos finos de aroma, es el cacao Chuncho de La Convención (Cusco), el cual es de tipo Forastero del Alto Amazónico. Esta variedad, fue domesticada por nativos “Matsiguengas” que ocupa el 80 por ciento del área cultivada con edades que fluctúan entre 40 - 100 años (Rojas *et al.* 2017).

El cacao tiene una gran demanda en todo el mundo debido a su sabor y aroma único, así como los beneficios potenciales para la salud debido al alto contenido de capacidad antioxidante y polifenoles, en las semillas de cacao (almacenados en los cotiledones) y productos de cacao procesados (Jamison 2004; Porter 2006; Rusconi y Conti 2010). El contenido de polifenoles de los granos de cacao es aproximadamente un seis a diez por ciento, con un contenido graso del 54 por ciento y un seis por ciento de humedad (Wollgast y Anklam 2000).

Los compuestos fenólicos del cacao son responsables de sus propiedades antioxidantes, protector cardiovascular, antitumoral, anti-inflamatoria, antineurodegenerativas, antibacteriano, y propiedades anticancerígenas (Jolic *et al.* 2011; Steinberg *et al.* 2003; Corti *et al.* 2009; Keen *et al.* 2005; Selmi 2008; Rusconi y Conti 2010; Aprotosoie *et al.* 2016; Ferrazzano *et al.* 2009; Nehlig 2013).

Sin embargo, hay que tener en cuenta que, aunque la materia prima de cacao tenga una gran cantidad de polifenoles, no implica necesariamente un elevado contenido en el producto final elaborado, debido a las pérdidas que se producen durante las etapas de procesado. Se estima que el contenido fenólico en el proceso de tostado puede reducirse hasta un 60 por ciento (Oracz *et al.* 2019).

El tostado es la operación tecnológica más importante en el proceso del cacao en grano (Krysiak 2006), ya que determina el sabor, el aroma y la calidad del chocolate. El procedimiento actual de tostado de cacao, (100 - 150 °C durante 5 - 120 min), es suficiente para destruir microorganismos vegetativos, incluidos patógenos como *Salmonella spp.* (Swanson 2011).

La efectividad del tostado no sólo depende del tiempo y la temperatura de exposición de los granos, sino también del tipo y características del horno o tostador empleado (de convección, de conducción, etc.).

El objetivo principal de la presente investigación fue: Optimizar el tostado de cacao chuncho (*Theobroma cacao* L.) del Cusco, en estufa y tambor rotatorio, aplicando superficie de respuesta, para la retención de polifenoles.

Los objetivos específicos fueron:

- Caracterizar física, química, fisicoquímica y microbiológicamente el grano de cacao chuncho del Cusco.
- Determinar los valores de temperatura y tiempo de tostado, en estufa y en tambor rotatorio, que optimizan la retención de polifenoles y capacidad antioxidante, aplicando superficie de respuesta.
- Validar los valores de temperatura y tiempo que optimizan la retención de polifenoles y capacidad antioxidante en el tostado del cacao chuncho del Cusco.
- Caracterizar física, química, fisicoquímica y microbiológicamente el grano de cacao tostado óptimo.
- Caracterizar los polifenoles totales y capacidad antioxidante de los chocolates.
- Determinar la aceptabilidad, preferencia y los descriptores de los chocolates mediante la técnica “Marque todo lo que corresponda” (*Check all that apply* [Siglas en inglés CATA]).

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. CACAO

Estudios más recientes afirman que en la región alta del Amazonas, en una zona comprendida entre los territorios de Perú, Colombia y Ecuador; es el lugar donde se encuentra la mayor diversidad genética del cacao (*Theobroma cacao* L.) y por lo tanto se le considera como su centro de origen (Solano 2008).

En el Perú existe una amplia variabilidad genética, tanto en el carácter morfológico como a nivel de frutos y de semillas. Según Motamayor *et al.* (2008) gran parte del grupo genético silvestre o primitivo de cacao estudiado, es originario de Perú (416 clones, 44 por ciento del total), donde se ubica el supuesto centro de origen de la especie del cacao.

El árbol del cacao se cultiva en las regiones tropicales y es comercialmente cultivada entre 15° al norte y 15° al sur de la línea ecuatorial. Sin embargo, se puede encontrar hasta las latitudes subtropicales entre 23°26' (límite del Trópico de Cáncer) al norte y 23°26' (límite del Trópico de Capricornio) al sur de la línea ecuatorial (Gómez 2014).

Según MINAGRI (2016) se cultiva desde el nivel del mar hasta los 1200 m.s.n.m., siendo el óptimo de 500 a 800 m.s.n.m. Asimismo, necesita humedad relativa anual promedio de entre el 70 y 80 por ciento. En cuanto a las condiciones climáticas de cultivo, necesita entre 1 500 – 2 500 milímetros de precipitación pluvial al año. El rango de temperatura promedio anual va de 23 a 30 °C, siendo el óptimo de 25 °C; requiere de vientos suaves y luminosidad media. Por lo tanto, es recomendable que el cultivo sea manejado en un sistema agroforestal de sombra (Gómez 2014).

En términos de cuota de la producción mundial total, África es la mayor región productora, con un 77 por ciento de la producción total. Las Américas, y Asia y Oceanía se estiman en 17 por ciento y 6 por ciento, respectivamente (MIDAGRI 2021).

2.1.1. Producción y exportación de cacao en el Perú

La producción nacional de cacao en grano viene incrementándose sostenidamente desde hace 10 años, creciendo a una tasa de 12,6 por ciento promedio ponderado anual. A partir del 2010, existe un fuerte proceso de crecimiento de la producción nacional, cuando se registra un volumen de 46,6 mil toneladas; en el 2014, registra una cifra de 81,6 mil toneladas; en el 2016, se ubica en 107,9 mil toneladas; en el 2019, registra una cifra de 135,9 mil toneladas y, en el 2020, registra la cifra récord de 151,6 mil toneladas (MIDAGRI 2021).

Con relación a las regiones donde se produce cacao en grano, destacan básicamente las regiones de San Martín con el 35,6 por ciento; Junín con el 25,5 por ciento, Ucayali con 12,5 por ciento, Huánuco con ocho por ciento y Cusco con siete por ciento. Estas cinco regiones representan alrededor del 84 por ciento de toda la producción nacional (MIDAGRI 2021).

Según el Ministerio de Agricultura y Riego del Perú (MINAGRI), alrededor del 44 por ciento de la producción corresponde a cacao fino (Criollo+Nativo) y el 56 por ciento de la producción es cacao corriente o común (CCN-51+Forastero) (MINAGRI 2016). Cabe destacar que el Perú es considerado uno de los principales productores y proveedores de cacao fino y de aroma. Asimismo, es el segundo productor de cacao orgánico a nivel mundial. Además, el 60 por ciento de la biodiversidad existente de cacao (material genético) se encuentra en nuestro país (MIDAGRI 2021).

Entre los países de destino de los envíos de cacao peruano se encuentran Estados Unidos de América, Países Bajos, Bélgica, Alemania, Indonesia, Italia, Malasia, España, México y Reino Unido (Trade Map 2021).

Cabe mencionar que el Perú ocupa el tercer lugar (75 por ciento) en el mundo como productor que exporta exclusiva y parcialmente cacao fino o de aroma (ICCO 2015).

En cuanto a la participación, cabe destacar que el 80 por ciento de la exportación de cacao corresponde a cacao en grano y manteca de cacao, y la diferencia corresponde al cacao procesado, tales como chocolates, cacao en polvo y pasta de cacao (MIDAGRI 2021).

En la siguiente Tabla 1 se puede observar detalladamente desde el año 2016 al 2020, la cantidad, participación y posición que se encuentra en la lista de productos exportados.

Tabla 1: Lista de los productos de cacao y derivados exportados por el Perú

Descripción del producto	Cantidad exportada (Toneladas)					Participación en el mundo (%)	Posición en el mundo
	2016	2017	2018	2019	2020		
Cacao en grano, entero o partido, crudo o tostado	61,913	58,238	60,101	58,607	53,685	1,3	10
Manteca, grasa y aceite de cacao	8,258	9,305	10,458	14,968	11,999	0,9	14
Cacao en polvo sin adición de azúcar ni otro edulcorante	3,380	3,900	4,596	6,008	8,129	0,7	16
Pasta de cacao, incluido desengrasada	3,189	1,157	1,759	3,822	3,973	0,4	23
Chocolate y demás preparaciones alimenticias que contengan cacao	2,798	3,742	4,401	4,781	4,589	0,1	57
Cáscara, películas y demás desechos de cacao	283	221	83	454	371	0,2	23

Fuente: Adaptado de Trade Map (2021)

El volumen exportado se redujo de 58,6 miles de toneladas en el 2019 a 53,7 miles de toneladas en el 2020, con una tasa negativa de 9,9 por ciento debido al impacto de la pandemia del coronavirus, que ha afectado especialmente los mercados de Indonesia (-44,8 por ciento), Holanda (-29,4 por ciento) y México (-28,0 por ciento) (MIDAGRI 2021).

2.1.2. Características botánicas

El árbol del cacao alcanza una altura de ocho a diez metros. Las flores aparecen en el tronco en forma solitaria o en grupos (“cojines florales”), su diámetro oscila entre 1 - 1,5 cm. Las frutas se desarrollan de las flores en cinco a seis meses (Cienfuegos 2016).

Los frutos son bayas que se denominan comúnmente mazorca, con tamaños que oscilan de 10 a 42 cm de largo, siete a diez cm de diámetro y pesan entre 300 - 400 g. Los frutos son de forma variable (oblonga, elíptica, ovada, abovada, esférica y oblata); de superficie lisa o rugosa, y de color rojo, amarillo o verde al estado inmaduro, que depende de los genotipos. El fruto, está rodeado por un mesocarpio y contiene insertas en una pulpa viscosa agrídulce llamado mucilago de color blanco cremoso con el 10 - 15 por ciento de glucosa y fructosa, entre 20-50 semillas o granos en forma de almendra, de sabor amargo y dispuestas en cinco a ocho filas oblongas, una junto a la otra (Cienfuegos 2016).

Las semillas, o granos son de tamaño variables (1,2 – 3,0 cm), de distintos sabores y aromas (floral, frutal) y grados de acidez, dulzura y astringencia. Al interior del grano están los cotiledones, que pueden ser de color morado, violeta, rosado o blanco, según el genotipo que varía según el tipo de cacao (Cienfuegos 2016).

2.1.3. Variedades del cacao

- a. **Criollo:** El color de su mazorca puede variar del verde al rojo. Las semillas son blancas o ligeramente pigmentadas, de formas cilíndricas y ovales. Son árboles débiles, de lento crecimiento, bajo rendimiento y más susceptibles a enfermedades y plagas que otras variedades. Sin embargo, su fruto se caracteriza por ser dulce y producir un chocolate de menor amargor y de mejor calidad. Su sabor es delicado, suave y complejo, y su aroma es intenso, lo hacen un tipo de cacao exclusivo y demandado en los mercados más exigentes del mundo (García 2014).
- b. **Forastero:** Las mazorcas son en general de color verde, con tonos blanquecinos o rosados tenues. Sus semillas son moradas, triangulares en corte transversal, aplanadas y pequeñas. En base a la cata, este tipo de cacao es fuerte y amargo, ligeramente ácido; con mucho tanino y astringencia. Tiene una gran potencia

aromática, pero sin finura ni diversidad de sabores y se emplea para los chocolates considerados “corrientes”. Sin embargo, tienen un excelente rendimiento, cosecha precoz, árbol vigoroso y resistente a las enfermedades (García 2014).

- c. Trinitario:** Es híbrido entre el Criollo y el Forastero, originario de la isla Trinidad nunca se ha encontrado en estado silvestre; tienen características de mazorcas y semillas casi similares o en la mayor parte intermedias a los dos grupos que le dieron origen (Morales *et al.* 2015). Es más aromático que el Forastero y más resistente que el Criollo (Motamayor 2001). Esta variedad de cacao se caracteriza porque al procesarse desarrolla un sabor a chocolate bastante pronunciado, acompañado en algunos casos de notas sensoriales afrutadas (Sukha 2007).

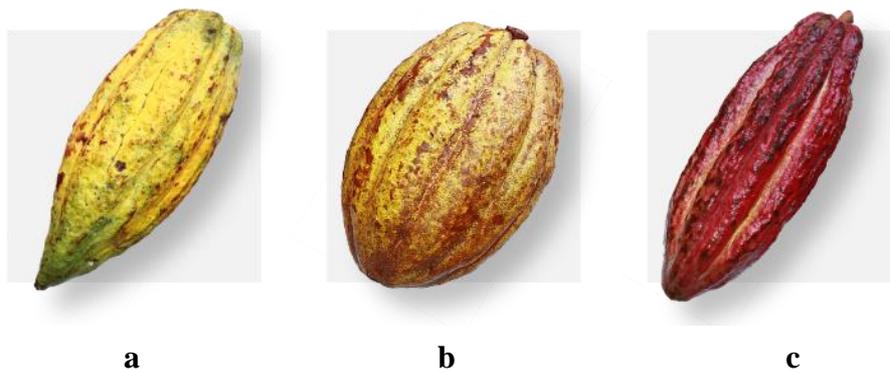


Figura 1: Variedades de cacao a. Criollo, b. Forastero, c Trinitario

Fuente: Gómez (2014)

2.1.4. Cacao chuncho

El cacao “chuncho” es una especie nativa cultivada originariamente por los indígenas Matshiguengas que habitaban lo que ahora se conoce como la región del Cusco. Actualmente dicho cacao se sigue cultivando en la provincia de La Convención, se calcula que la extensión de su cultivo asciende a 11 500 ha, con edad de plantas de 40 a 100 años. El rendimiento promedio anual del cacao chuncho es de 250 kg/ha, siendo el mercado nacional el mayor destino de dicha producción (Rojas *et al.* 2017).

En la siguiente Tabla 2, se resumen las características intrínsecas del cacao “chuncho” y otros cacaos, según las investigaciones realizadas por Rodríguez (2007); citado por Rojas *et al.* (2017).

Tabla 2. Diferencias entre cacao chuncho u otros cacaos

Descriptor	Cacao “chuncho”	Cacao (otros clones)
Color del fruto maduro	Amarillo	Todos los colores
Tamaño de flor	Pequeño a mediano (5 a 7 mm)	Mediano o grande (7 a 9 mm)
Longitud de pedúnculo	Corto (10 a 17 mm)	Mediano a largo (17 a 35 mm)
pH del jugo (“baba”)	4	2 a 3
Fecha de cosecha	Época de lluvias	Época de sequía
Sabor de pulpa	Dulce	Ácida
Número de semillas por fruto	< 40 almendras	> 40 almendras
Disposición de fruto en el tallo	Perpendicular al tallo	No perpendicular (paralelo al tallo principal)
Pubescencia de flor	Pubescente	No pubescente
Astringencia de pulpa	Baja o ausente	Moderada o alta
Sabor de almendras (amargor)	Bajo o ausente	Moderada a alta
Domesticación	Por los Matshiguengas	No hay datos
Relación Cafeína/Teobromina	< 1,5	>1,5
Ubicación	Cusco – Perú	Sudamérica
Nombre nativo	Sariguemineki	No hay datos

Fuente: Rodríguez (2007); citado por Rojas *et al.* (2017)

Según el MINAGRI (2016) “el 44 por ciento de la producción de cacao corresponde a cacao fino de aroma”. Una de las variedades más importantes de cacao peruano con buen perfil de aroma y sabor es el cacao “chuncho” del Cusco, mostrando en la pulpa predominancia el sabor dulce con notas frutales y florales; pero con baja acidez, astringencia y amargor. Dada sus buenas características organolépticas, el cacao chuncho es muy solicitado por chocolateros peruanos y extranjeros para la elaboración de chocolates finos (Rojas *et al.* 2017).



Figura 2: Diversidad de cultivares de cacao “chuncho” del Cusco

Fuente: Rojas *et al.* (2017)

2.1.5. Composición química del cacao

Las semillas de cacao son apreciadas por sus compuestos biológicamente activos (Natsume *et al.* 2000; Wollgast 2004; Hii *et al.* 2009; Schinella *et al.* 2010; Andújar *et al.* 2012; Alean *et al.* 2016; Giacometti *et al.* 2016; Beg *et al.* 2017). En el cacao, se han identificado unos 380 productos químicos conocidos y diez de ellos son compuestos psicoactivos (Andújar *et al.* 2012). Por lo tanto, los granos de cacao son fuentes ricas en polifenoles y su contenido es de aproximadamente seis a ocho por ciento de materia seca total de semillas de cacao (Wollgast 2004; Ferrazzano *et al.* 2009; Żyżelewicz *et al.* 2016). Los ácidos grasos predominantes en la manteca de cacao son saturados (35 por ciento esteárico y 25 por ciento palmítico) y monoinsaturados (35 por ciento oleico); con

un tres por ciento poliinsaturado (linoleico) (Steinberg *et al.* 2003). Los carbohidratos en la pulpa del grano fresco de cacao son ricos en glucosa, fructosa y sacarosa con un contenido total del 10 – 15 por ciento (Aikpokpodion y Dongo 2010). Las proteínas son el segundo componente más abundante del grano de cacao y suponen un 17,5 por ciento; incluyen la albúmina, globulina, prolaminas y glutelina (Jumnongpon *et al.* 2012). La fibra dietética es del 40 por ciento y está constituida por diversos tipos de polisacáridos entre los que están los de carácter péctínolítico (45 por ciento), las celulosas (35 por ciento) y las hemicelulosas (20 por ciento) (Redgwell *et al.* 2003). La teobromina es el principal alcaloide del cacao y se halla en los granos, siendo el contenido de esta en los granos de cacao fermentados y en la cáscara de un 1,2 por ciento y un 1,4 por ciento respectivamente; existe cafeína en cuantía muy escasa (media del 0,2 por ciento) (Belitz y Grosch 1992).

2.2. ANTIOXIDANTES Y CAPACIDAD ANTIOXIDANTE

2.2.1. Antioxidantes

Los antioxidantes son compuestos que inhiben o retardan la oxidación de otras moléculas mediante la inhibición de la iniciación o de la propagación de la oxidación de las reacciones en cadena. Entre las sustancias antioxidantes están los polifenoles, antocianinas y flavonoides. Estos compuestos presentan interés nutricional por su contribución al mantenimiento de la salud humana debido a las propiedades benéficas de su actividad antioxidante (Ruiz *et al.* 2008).

A bajas concentraciones reduce, retrasa o previene la oxidación de un sustrato significativamente. Los antioxidantes son compuestos que prolongan la vida útil de los alimentos, protegiendo contra el deterioro causado por la oxidación. Los antioxidantes inhiben la propagación de radicales libres por eso son utilizados para prevenir el deterioro de los alimentos, evitando la rancidez de las grasas y los cambios de color (Sies 1997; citado por Juarez 2014).

2.2.2. Capacidad antioxidante

La capacidad antioxidante es un índice que describe la habilidad de los antioxidantes presentes en los alimentos para barrer los radicales libres previamente formados. Además de ser importante desde un punto de vista nutricional, la capacidad antioxidante de un

ingrediente alimenticio también es importante desde la perspectiva de ofrecer estabilidad a los alimentos, como los efectos frente a la oxidación de alimentos que a menudo conduce a sabores inaceptables, colores, o la pérdida de nutrientes (Boekel *et al.* 2010; Davis *et al.* 2010).

Antolovich *et al.* (2002) indica que la capacidad antioxidante no puede ser medida directamente, sino más bien mediante los efectos de los antioxidantes en el control del grado de oxidación. Los métodos muestran gran diversidad. Los componentes de una oxidación son un sustrato, un oxidante y un iniciador, productos intermedios y finales; las mediciones de cualquiera de estos pueden ser utilizados para evaluar la actividad antioxidante.

2.2.3. Determinación de la actividad antioxidante

La mayor parte de los ensayos empleados para la determinación de la actividad antioxidante de un alimento se basan en la medición de: (1) la capacidad que tienen los compuestos antioxidantes para reaccionar con un radical libre determinado, o (2) el potencial que tales compuestos tendrían para reducir un complejo formado entre iones Fe (III) y el reactivo TPTZ (2,4,6-tripiridil-s-triazina) (Antolovich *et al.* 2002).

Entre aquellos ensayos que se basan en la medición de la capacidad de los antioxidantes para reaccionar con un radical libre, cabe destacar los siguientes que se realizaron en la investigación:

- **Ensayo FRAP (Ferric Reducing/Antioxidant Power)**

Este método mide el potencial reductor de un antioxidante que reacciona con un complejo de tripiridiltriazina férrica ($Fe^{3+} + TPTZ$) y produce una tripiridiltriazina ferrosa coloreada ($Fe^{2+} + TPTZ$) (Benzie y Strain 1996; citados por Othman *et al.* 2007). Generalmente, las propiedades reductoras están asociadas con la presencia de compuestos, que ejercen su acción rompiendo la cadena de radicales libres mediante la donación de un átomo de hidrógeno (Duh *et al.* 1999; citados por Othman *et al.* 2007).

Esta reacción produce un cambio de color que es monitorizado midiendo la absorbancia a 595 nm durante cuatro minutos, según el método original, aunque este tiempo fue posteriormente ampliado hasta 30 minutos, ya que a los cuatro minutos muchos

compuestos todavía no habían acabado de reaccionar. Los resultados se expresan en equivalente Trolox ($\mu\text{mol Trolox/g}$ o $\mu\text{mol Trolox/L}$) (Pulido *et al.* 2000).

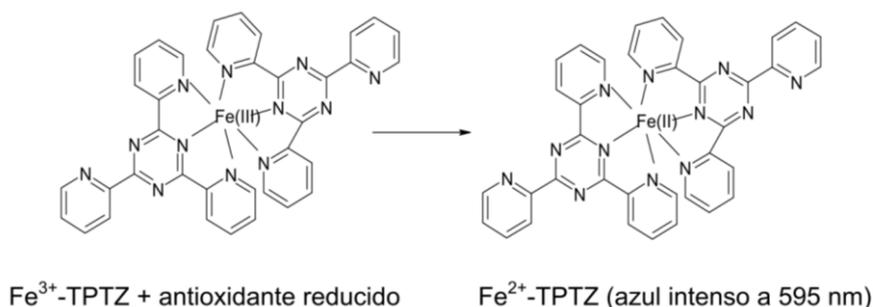


Figura 3: Reacción del ensayo de FRAP

Fuente: Prior *et al.* (2005)

- **Ensayo DPPH (2,2-Difenil-1-picrilhidrazil).**

Este método evalúa la capacidad antioxidante de la muestra mediante la inhibición del radical DPPH. Su mecanismo de acción consiste en que este radical tiene un electrón desapareado y la sustancia presenta color azul-violeta, decolorándose hacia amarillo pálido por la reacción de la presencia de una sustancia antioxidante, siendo medida espectrofotométricamente a 517 nm (Pancardo 2016). La prueba que utiliza la reducción del radical DPPH en presencia de compuestos fenólicos es muy popular en la investigación alimentaria. Esta prueba se basa en la disminución de la absorbancia de la solución de radicales según la reacción DPPH con antioxidantes fenólicos (Othman *et al.* 2007; Brand-Williams *et al.* 1995; Reyes-Munguía *et al.* 2009).

Este ensayo determina la eliminación de especies de radicales estables de DPPH por antioxidantes (Othman *et al.* 2007).

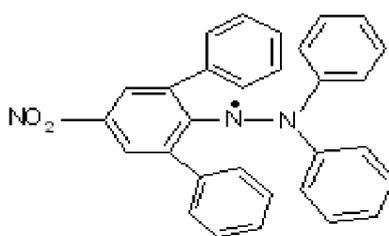


Figura 4: DPPH (2,2-Difenil-1-picrilhidrazil)

Fuente: Pérez (2011)

2.3. POLIFENOLES

Los polifenoles son uno de los grupos de metabolitos secundarios más numerosos y son distribuidos entre las especies vegetales, con más de 8000 estructuras químicas reportadas hasta el momento (Gil 2012). El contenido (cualitativo y cuantitativo) de polifenoles en vegetales varía con las condiciones de crecimiento y los estímulos ambientales; difiere también de una especie a otra, y de un tejido a otro. Sus funciones fisiológicas están relacionadas con la protección frente a la radiación UV y a las condiciones de estrés biótico como herbivoría, infección, parasitismo y patogénesis de las plantas (Rodríguez 2019).

Según Ugartondo (2009), desde el punto de vista químico, los polifenoles se caracterizan por contener un anillo aromático unido a dos o más grupos hidroxilo (grupo fenol); la estructura de los polifenoles varía de moléculas simples, como los ácidos fenólicos, a estructuras complejas, como los taninos condensados. Se clasifican en cuatro familias en función del número de anillos fenólicos y de los elementos estructurales unidos a esos anillos: flavonoides, ácidos fenólicos, estilbenos y lignanos.

La actividad antioxidante de los polifenoles se debe principalmente a sus propiedades redox, el cual les permite actuar como agentes reductores, donadores de hidrógeno y secuestradores de oxígeno singlete; además de tener potencial para quelar metales (Hopia *et al.* 1999; citados por Condezo 2011).

2.3.1. Determinación de polifenoles con el método Folin-Ciocalteu

La determinación cuantitativa de los polifenoles totales en cacao se mide por la formación de compuestos coloreados con el reactivo Folin-Ciocalteu. La determinación se fundamenta midiendo la cantidad de sustancia analizada que se necesita para inhibir la oxidación del reactivo de Folin-Ciocalteu (Morazán 2012; citado por Rodríguez 2019).

El ensayo Folin-Ciocalteu se utiliza como medida del contenido en compuestos fenólicos totales en alimentos. Se basa en que los compuestos fenólicos reaccionan con el reactivo de Folin-Ciocalteu, a pH básico, dando lugar a una coloración azul. La oxidación de los polifenoles presentes en la muestra causa la aparición de una coloración azulada que presenta un máximo de absorción a 765 nm, y que se cuantifica por espectrofotometría en base a una recta patrón de ácido gálico (Fernández 2015).

2.3.2. Polifenoles en el cacao

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 (Osman *et al.* 2004). En los frutos de cacao se pueden distinguir 3 tipos de polifenoles: catequinas o flavan-3-oles (37 por ciento), antocianinas (4 por ciento) y proantocianidinas (58 por ciento). La principal catequina es (-)-epicatequina con un máximo de hasta 35 por ciento del contenido de polifenoles. También se han encontrado en cantidades menores (+)-catequina, (+)-galocatequina y (-) epigalocatequina (Ortega *et al.* 2008; Wollgast y Anklam 2000).

El contenido total de polifenoles en granos de cacao varía de 40,0 a 84,2 mg EAG/g, dependiendo de las variedades de cacao, orígenes geográficos y procesos en funcionamiento en plantaciones (Hii *et al.* 2009; Żyżelewicz *et al.* 2016)

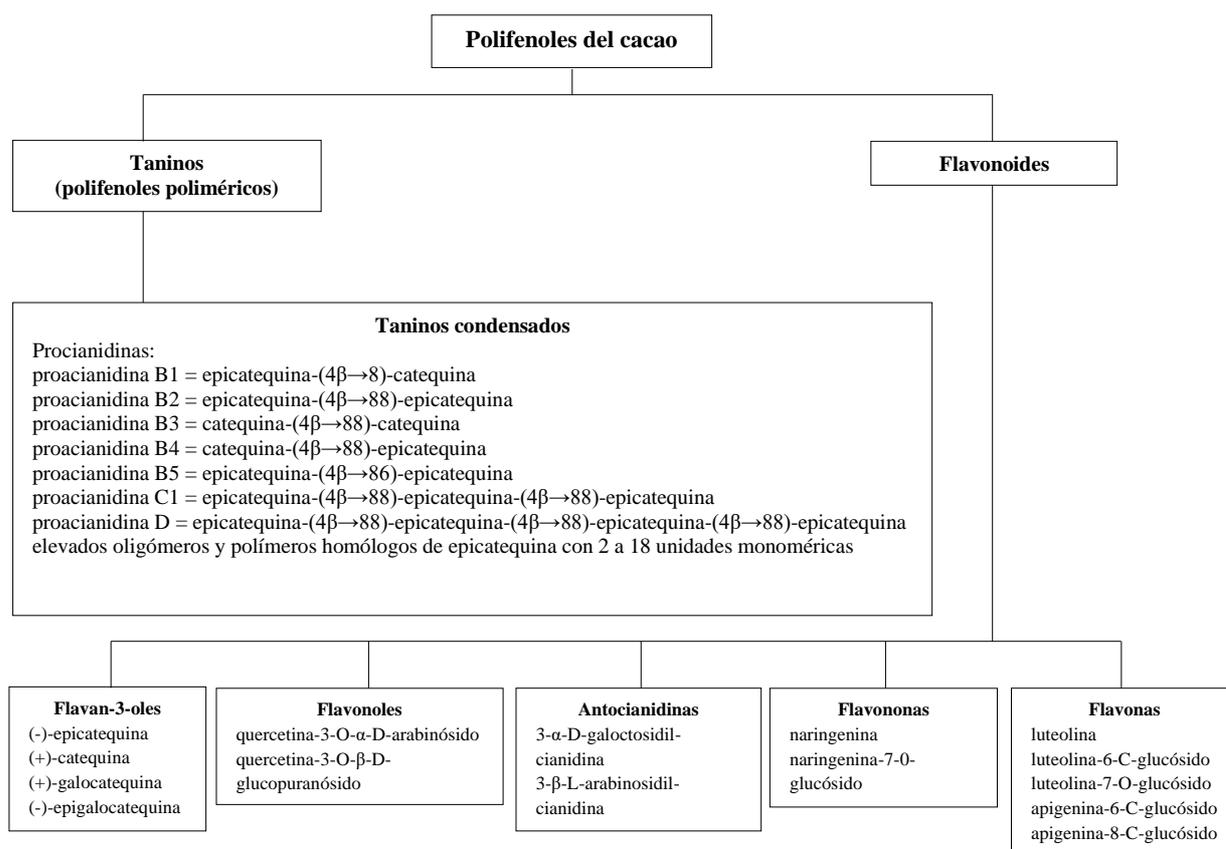


Figura 5: Principales polifenoles que se encuentran en los granos de cacao

Fuente: Sanbongi *et al.* (1998); Sánchez *et al.* (2003); Counet *et al.* (2006)

2.3.3. Polifenoles del cacao en la salud

Los polifenoles del cacao se han estudiado ampliamente en los últimos años y el uso en la dieta humana da resultados favorables para la salud humana (Ferrazzano *et al.* 2009; Hii *et al.* 2009; Schinella *et al.* 2010). Los compuestos fenólicos del cacao tienen propiedades antioxidantes, que dan efectos beneficiosos en varios trastornos patológicos, incluidos enfermedades cardiovasculares, trastornos metabólicos y endocrinos, procesos inflamatorios, problemas con el sistema inmunológico, alergias y cáncer. Por otra parte, los polifenoles en cacao modifican la respuesta glucémica y el perfil lipídico, aumenta la resistencia al estrés oxidativo, y previene o retrasa la resistencia a la insulina (Natsume *et al.* 2000; Ferrazzano *et al.* 2009; Hii *et al.* 2009; FerRimbach *et al.* 2011; Andújar *et al.* 2012; Bernaert *et al.* 2012; Martí *et al.* 2016). Además, los polifenoles del cacao son efectivos contra la adhesión de bacterias en la superficie de los dientes y los flavanoles del cacao tienen características para la salud de la piel (Ferrazzano *et al.* 2009; Andújar *et al.* 2012; Bernaert *et al.* 2012). Del mismo modo, productos derivados del cacao tiene buena influencia en la salud; por ejemplo, el chocolate puede disminuir la presión arterial (Hii *et al.* 2009).

Los mecanismos potenciales de actuación de los polifenoles del cacao en las enfermedades según estudios son:

- a. La inhibición de la oxidación del colesterol LDL, impidiendo su posterior depósito en las arterias del corazón (Khan *et al.* 2014; Hooper *et al.* 2012; Osakabe *et al.* 2004). En concreto, en un estudio publicado por Grassi *et al.* (2005); observaron que el consumo de 100 g de chocolate negro al día (500 mg polifenoles/día y 88 mg catequina y epicatequina/día) producía una disminución del colesterol LDL en individuos hipertensos. Asimismo, Fraga *et al.* (2005), demostraron que el consumo de 105 g de un chocolate con leche al día (168 mg flavanoles/día; 39 mg monómeros y 126 mg polímeros) disminuía el colesterol total y LDL en jóvenes jugadores de fútbol.
- b. La disminución de la agregación plaquetaria, siendo el acontecimiento crítico del inicio de la trombosis coronaria. La capacidad de los flavanoles para reducir la actividad de las plaquetas, explica en parte los efectos beneficiosos de estos compuestos. Se ha publicado que el consumo de cacao rico en flavanoles y

procianidinas causa un incremento en el tiempo de coagulación, pudiendo contribuir a disminuir el riesgo de trombosis (Holt *et al.* 2002; Rein *et al.* 2000).

- c. Mejoran la función vascular endotelial. La ingesta de cacao incrementa la generación de NO (óxido nítrico) que conduce a la vasodilatación y a la reducción de la presión sanguínea (Latham *et al.* 2014; Loffredo *et al.* 2014; Gómez-Juaristi *et al.* 2011). El consumo de una bebida de cacao (100 mL) de alto contenido en flavanoles, (175-185) mg de flavanoles, rápidamente aumentó la concentración de metabolitos del NO, y mejoró la dilatación mediada por flujo (Latham *et al.* 2014). Asimismo, Taubert *et al.* (2007) mostraron que el consumo de 6 gramos de un chocolate negro al día (30 mg de polifenoles, hasta pentámeros), disminuyen la presión sanguínea.
- d. Reducen los marcadores inflamatorios que afectan la respuesta inflamatoria implicados en la aterosclerosis (Khan *et al.* 2014; Andújar *et al.* 2012).
- e. Ayudan a disminuir la presión arterial según Hooper *et al.* (2012), disminuyendo la presión sistólica y diastólica según Grassi *et al.* (2010) y Taubert *et al.* (2007) e incrementando la sensibilidad a la insulina (Fernández-Murga *et al.* 2011; Grassi *et al.* 2005).
- f. Respecto a la actividad protectora frente al cáncer, se ha demostrado que los polifenoles del cacao han mostrado propiedades antimutagénicas en las fases iniciales e interfieren en las fases de iniciación, promoción y progresión tumoral. Así, la prevención del cáncer por consumo de cacao y sus principales componentes, se ha estudiado en diferentes modelos animales, incluyendo cáncer de mama, páncreas, de pulmón, tiroides, próstata, leucemia, cáncer de hígado y colon (Martín *et al.* 2013).
- g. Los polifenoles han sido recientemente estudiados en relación con la salud mental y enfermedades neurodegenerativas. Una serie de alimentos ricos en polifenoles, como frutas, vegetales, café, té, y el cacao, se han asociado con un menor riesgo de trastornos cognitivos, incluidos la enfermedad de Parkinson, la enfermedad de Alzheimer y la depresión (Wu *et al.* 2017; citados por Cienfuegos 2016).

2.4. BENEFICIO DEL CACAO

2.4.1. Quiebre de la mazorca

Según Gómez (2014) recomienda utilizar un palo corto y pesado. Si se utilizan herramientas como cuchillos o machetes, se debe tener cuidado de no herir los granos de cacao. En los granos heridos se facilita la contaminación de la masa, generando sabores a moho y manteca ácida.

Las semillas, al momento de ser extraídas, están envueltas en una pulpa mucilaginosa de color blanco que comprende el 40 por ciento del peso en base húmeda del cacao fresco (Schwan y Wheals 2004).

2.4.2. Fermentación

La fermentación presenta una fase anaerobia y otra fase aerobia, que son reconocidas como fundamentales para el buen desarrollo de las características del cacao.

a. La fase anaerobia

Corresponde a la primera etapa del proceso de fermentación, donde las levaduras actúan sobre los sustratos presentes en el mucílago del cacao. Las levaduras más importantes en el proceso fermentativo, aisladas por Lagunes-Gálvez *et al.* (2007) son *Hanseniaspora guillermondii*, *Hanseniaspora valbyensis*, *Candida glabrata*, *Candida krusei* como productores principales de etanol y *Pichia fermentans*, *Yarrowia lipolytica* y *Candida zeylanoides* como oxidantes del ácido cítrico.

El rol principal de las levaduras es la producción de alcohol mediante la degradación de los azúcares totales presentes en el mucílago. Sin embargo, como las cepas de levaduras presentes son muy abundantes y esta no es su única contribución al proceso; ellas contribuyen al rompimiento del ácido cítrico, presente en el mucílago, permitiendo el incremento del pH de 3,5 a 4,2. Así mismo, el desarrollo de las bacterias, tanto lácticas como acéticas, dan lugar a la producción de ácidos orgánicos (ácido láctico, acético y en menor proporción ácido oxálico, fosfórico, succínico y málico), ácidos volátiles y, algunas cepas de levaduras producen pectinasas, permitiendo la reducción de la viscosidad del mucílago y una mayor aireación de los granos (García-Alamilla 2000).

b. La fase aerobia

Luego del descenso de la población de levaduras, el incremento del pH y la disminución de la viscosidad que tiene lugar durante la fase anaerobia, se forma una masa fermentativa mucho más aireada y en la que se crean las condiciones necesarias para el desarrollo de las bacterias acéticas. Se sabe que estas actúan, estrictamente, en medio aerobio y altamente exotérmica, lo cual genera el aumento de temperatura de la masa del grano que puede llegar hasta los 50 °C; contribuyendo a la eliminación de levaduras y bacterias lácticas (Schwan y Wheals 2004).

La función primordial de este tipo de bacterias es la oxidación del alcohol hasta ácido acético, permitiendo que muchas fracciones de ácido láctico sean oxidadas a dióxido de carbono y agua. La difusión de estos compuestos hacia el cotiledón da lugar a reacciones bioquímicas internas, modificando la composición química de los granos; en particular la formación de los precursores del aroma (Gutiérrez *et al.* 2007).

2.4.3. Secado

El secado de los granos de cacao es una etapa que requiere mucha atención y cuidado para garantizar la calidad final del producto. El objetivo principal es que los granos terminen de desarrollar el sabor a chocolate y eliminar el exceso de humedad de los granos que queda retenida luego de la fermentación, evitando el desarrollo de hongos que afectan su calidad; facilitando su manejo, almacenamiento y comercialización. La reducción de 55 por ciento de humedad aproximadamente debe hacerse hasta un 6 a 7 por ciento y un máximo de 8 por ciento de humedad; pérdidas mayores lo vuelve muy quebradizo al grano (Portillo *et al.* 2005; INACAL 2016a).

Durante este proceso cambian los colores de las almendras, apareciendo el color marrón o pardo, típico del cacao fermentado y secado correctamente. El secado puede ser natural (exposición directa al sol o en sombra) o artificial (empleando calor). Se recomienda el secado natural porque permite eliminar acidez volátil, secar lentamente y desarrollar satisfactoriamente los cambios para lograr un buen sabor y aroma (Nogales *et al.* 2006).

Un secado adecuado es vital para la preservación del buen sabor de los granos, de lo contrario se desarrollarán mohos que impartirán un sabor desagradable que ningún proceso posterior podrá eliminarlo (INACAL 2016a).

2.4.4. Almacenamiento

Las condiciones de almacenaje influyen y juegan un rol importante en la calidad de los granos del cacao. Si luego de concluido el secado aún se encuentran los granos calientes, se dejan enfriar al aire libre, antes de proceder a su ensacado en costales de yute. Se sabe que el cacao absorbe la humedad con suma rapidez, por lo que se dice que es un grano altamente higroscópico. Si su humedad de almacenamiento no supera el 8 por ciento de humedad, pueden mantenerse en buen estado durante cinco meses, cuando la humedad relativa del ambiente es menor del 75 por ciento (Loayza 2014).

El ambiente donde se va a almacenar debe estar libre de olores extraños como los que provienen de pesticidas, combustible, alimentos con olores penetrantes o evitar la contaminación por humo (Loayza 2014).

2.4.5. Prueba de corte del grano de cacao

La prueba de corte es la principal metodología para el control de calidad de los granos de cacao fermentado y seco. La norma técnica peruana NTP – ISO 1114:2016 menciona que consiste en realizar un corte longitudinal de los cotiledones a 300 granos para examinar visualmente y separar los granos defectuosos (mohosos, pizarrosos, germinados, planos, violeta, múltiples, rotos y dañados por insectos) de aquellos que sí cumplen con una fermentación adecuada (INACAL 2016a).

Se describen a continuación la clasificación visual de la prueba de corte de los granos de cacao (Stevenson *et al.* 1993).

- **Granos fermentados (color marrón o café):** Poseen una fermentación muy completa, los ácidos acéticos y lácticos han penetrado totalmente los cotiledones con el fin de matar el embrión y romper las vacuolas de pigmentación, dando lugar a granos muy hinchados y que se separan fácilmente del cotiledón. La calidad del sabor y aroma del grano es superior, muy deseable y óptimo para la elaboración de chocolates gourmet.
- **Granos parcialmente fermentados (color marrón y violeta):** Esta combinación de colores indican una fermentación parcial. Los ácidos no han penetrado totalmente y una porción de las vacuolas de pigmentación está intacta. Los granos pueden estar

hinchados con una pequeña cavidad interior, los cotiledones no son compactos y la testa está relativamente suelta. La calidad del sabor y aroma de este tipo de almendra es regular, pero aprovechable para producir chocolate.

- **Granos sin fermentar (totalmente violetas):** En ellas no se ha dado una fermentación, por lo que no aparecen los efectos de los ácidos procedentes de la pulpa. Los granos no están hinchados y la apariencia interna es compacta. Debido a que hace falta el efecto celular y químico en los cotiledones, no es posible aprovechar el grano para la producción de chocolate. El sabor es muy astringente y amargo, con ausencia de aroma. La calidad no es aceptable para la industria chocolatera, de modo que estos granos solo son útiles para extraer manteca y posibles colorantes.
- **Granos pizarrosos (de color pizarra o gris):** Este color indica que no habrá ningún efecto de fermentación y que los granos son muy compactos. El color pizarra (gris) presenta un defecto muy serio para cualquier procesador de cacao.
- **Granos mohosos:** La presencia de hongos dentro de los cotiledones de cacao destruye totalmente el sabor del grano. Aunque los organismos presentan varios colores (blanco, amarillo, gris y otros), causan el mismo efecto sobre los sabores de chocolate y la manteca. Las condiciones que promueven hongos incluyen germinación, quiebre o corte de granos, entrada de insectos, secado no adecuado (debe llegar a menos del 8 por ciento de humedad) y almacenamiento en humedad relativa superior al 85 por ciento.
- **Granos infestados:** Son todas aquellas con señales de insectos dentro de la testa.
- **Granos germinados:** Estas provienen de mazorcas posiblemente sobre maduras y constituyen un defecto serio. Durante el almacenamiento, hongos e insectos aprovechan la abertura en la semilla para penetrar dentro de ellas.
- **Granos aplanados:** Son inservibles para la producción de chocolate, ya que los granos casi no contienen cotiledones y mucho de su peso es cascarilla. El origen aplanado se debe a la cosecha de mazorcas inmaduras (verdes) y, además, o en su defecto, a una fermentación insuficiente.

2.5. ELABORACIÓN DE CHOCOLATE

2.5.1. Limpieza y clasificación

Los granos de cacao son desecados en el suelo, a menudo contienen arena, piedras, metales, trozos de plantas, etc. Estos materiales deben eliminarse por dos razones. En primer lugar, muchas de estas impurezas son muy duras y podrían dañar a la maquinaria que se utiliza para moler los granos. En segundo lugar, los contaminantes de naturaleza orgánica sufrirán una combustión durante los procesos de tostado y liberarían gases que podrían alterar el flavor del chocolate (Beckett 2000).

La clasificación consiste en separar los granos por tamaño mediante el uso de varias cribas o zarandas de mallas con medidas de orificio de un centímetro cuadrado, que permite pasar los granos más pequeños y retener los de mayor calibre (Sukha y Butler 2006).

2.5.2. Tostado

El tostado es considerado como la operación tecnológica más importante en el procesamiento de los granos de cacao. El tostado en el cacao se realiza por cuatro propósitos: favorecer las reacciones químicas que dan la formación de los compuestos que finalmente determinan el aroma, y color característico del grano de cacao; disminuir la humedad de los granos desde 8,0 a 2,5 por ciento; destruir cualquier microorganismo contaminante, como *Salmonella*, que pueden estar presentes en los granos procedentes de la etapa de secado en el suelo y eliminar compuestos volátiles no deseados (por ejemplo: ácido acético) disminuyendo su acidez, amargor, astringencia (Zapata *et al.* 2015).

Las principales reacciones químicas que se desarrollan durante el tostado son: la reacción de Maillard, la caramelización de los azúcares, la degradación de las proteínas y la síntesis de compuestos azufrados (reacciones menores). La reacción de Maillard en el grano de cacao ocurre entre los azúcares reductores (glucosa y fructosa) y aminoácidos libres o péptidos de cadena corta. Mediante estas reacciones se producen componentes específicos del aroma y sabor del cacao, tales como éteres, fenoles, ácidos, ésteres, aldehídos, cetonas, pirazinas, pirroles, entre otros, los que contribuyen en notas

aromáticas a frutal, floral, nuez, almendra, caramelo, malta y chocolate, dando así una agradable impresión sensorial (Portillo *et al.* 2009; Owusu *et al.* 2011; Beckett 2000).

La etapa de tostado se da lugar a una reducción considerable del contenido de polifenoles totales debido a las altas temperaturas que se emplean que hacen que estos compuestos reaccionan con los aminoácidos e hidrolizados proteicos produciéndose cambios químicos que afectan principalmente a las características sensoriales del chocolate (Lee *et al.* 2001).

Las condiciones de tostado deben seleccionarse con el fin de maximizar el potencial aromático de cada tipo de grano, identificando primeramente el tamaño y porcentaje de humedad del grano, el tipo específico de tostador empleado y, por último, la combinación de temperatura y tiempo (Beckett 2000).

a. Tamaño y porcentaje de humedad del grano

El tamaño del grano y su contenido de humedad con anterioridad al tostado son factores importantes, y puede resultar necesario ajustar las condiciones de tostado para muestras con un contenido de humedad muy bajo (< 6,5 por ciento) o muy elevado (> 8,5 por ciento) con el fin de conseguir un tostado estándar para la evaluación del sabor. También puede ser necesario clasificar los granos por tamaño antes de su tostado. Siempre que el tamaño de grano se encuentre en el rango de 70 – 130 granos/100 g, no deberá ser necesario ajustar las condiciones de tostado (FCC 2016).

b. Equipos para el tostado

En la industria se utilizan comúnmente dos tipos de tostadores en estufa y tambor rotatorio. En el mercado hay muchos sistemas de tostado diferentes que a menudo utilizan conducción y/o convección como mecanismo de transferencia de calor.

b.1. Tostador estufa

El tostador estufa tiene una bandeja de malla de acero inoxidable (preferible) o de acero templado, con una luz de malla lo suficientemente pequeña como para impedir que pasen los granos, pero al mismo tiempo lo suficientemente grande como para optimizar el flujo de aire por los granos. Este tostador produce un rápido movimiento de aire caliente,

facilitando la transmisión del calor directamente al grano (CAOBISCO/ECA/FCC 2015).

En el tostador estufa predomina el mecanismo por convección (transferencia de calor por movimiento de aire caliente inducido hacia el grano) y después por conducción como resultado del calentamiento por contacto con la superficie caliente (Reyes-Pérez y Sosa-Morales 2013).

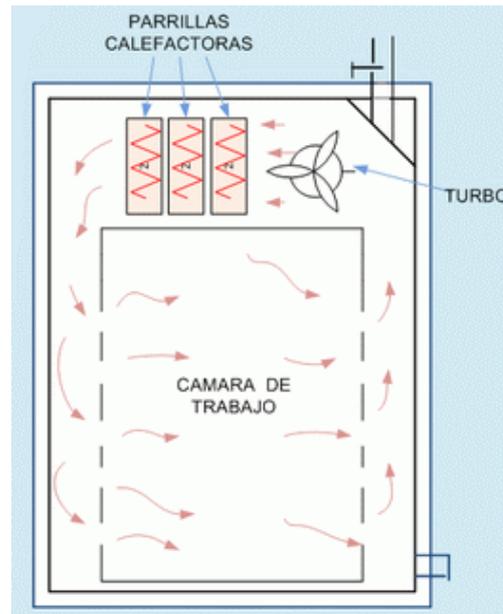


Figura 6: Tostador estufa o bandejas

Fuente: Reyes-Pérez y Sosa-Morales (2013)

b.2. Tostador tambor rotatorio

En tostadores tipo tambor, los granos o frutos secos se mueven desde la tolva de alimentación de cabeza en un tambor cilíndrico que gira para mantener los granos en movimiento constante para un calentamiento uniforme. El tambor puede ser calentado por circulación de aire caliente o con calor radiante de las paredes del tambor, cuyo exterior puede calentarse por contacto con aire caliente, llama de gas o vapor, y el tueste se produce por el calor de la pared del tambor. Durante el proceso, los tambores giran para obtener un tostado uniforme de todos los granos (CAOBISCO/ECA/FCC 2015). Se realiza por aire (convectivo) pero también por contacto con la superficie caliente (conductor) (Reyes-Pérez y Sosa-Morales 2013).

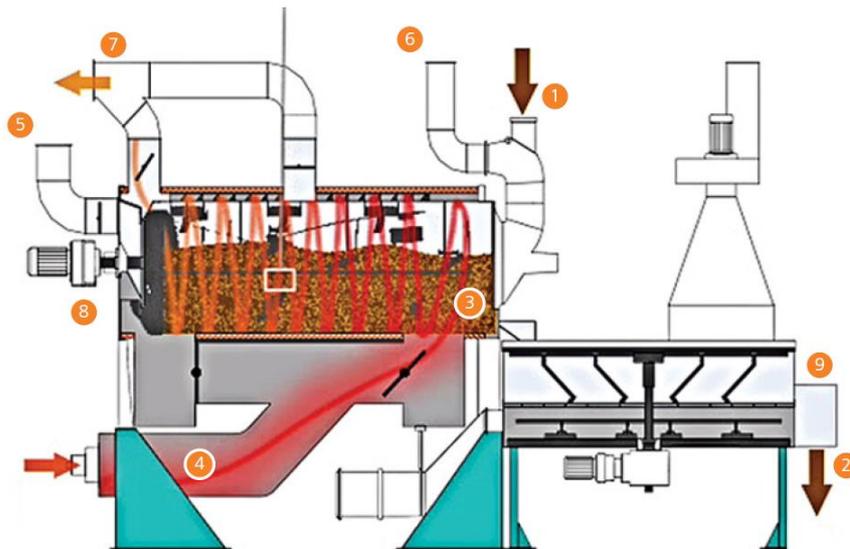


Figura 7: Tostador por lotes de semillas de cacao Tornado RSX de Barth (Bühler AG). (1) entrada de semillas de cacao crudo; (2) salida de semillas de cacao tostado; (3) tambor para asar; (4) cámara de quemador; (5) entrada de aire caliente para calentamiento por convección; (6) expulsar el aire del interior del tambor; (7) expulsar el aire del exterior del tambor; (8) puerto para inyección de agua, vapor y otros ingredientes; (9) más fresco

Fuente: Beckett *et al.* (2017)

c. Tiempo y temperatura del tostado

Las condiciones de tostado deben ser las adecuadas a la variedad de cacao, ya que las altas temperaturas y largo tiempo de tostado eliminan las especificidades aromáticas de los cacaos finos de aroma. En cambio, en el aroma y sabor tienen especial influencia las diferentes temperaturas y tiempos a los que se somete la semilla durante el tostado (Cros 2004).

La combinación recomendada a continuación es la que se suele utilizar, y se sugiere como guía inicial para la selección de condiciones para un tostado individual empleando un horno de convección con bandejas (FCC 2016):

- Tipos Trinitarios: 120 °C durante 25 min
- Tipos Forastero: 130 °C durante 25 min
- Tipos de Criollo Antiguo: 112 °C durante 25 min

2.5.3. Descascarillado

El descascarillado debe realizarse inmediatamente (generalmente, entre 20 y 60 min) después de enfriarse los granos tostados, con el fin de evitar la absorción de sabores indeseados y humedad desde el entorno. El enfriamiento de los granos tostados hasta que alcancen la temperatura ambiente se puede efectuar en una rejilla elevada, o bien utilizando un pequeño ventilador para acelerar el proceso. La zona en la que se prepara la muestra debe tener un olor neutro (CAOBISCO/ECA/FCC 2015).

2.5.4. Molienda

La molienda de los granos se lleva a cabo usando rodillos estriados o molinos y tiene dos etapas, una inicial para convertir la almendra en una pasta fluida, fina y homogénea; y una final en donde se alcanza el tamaño de partícula deseado hasta obtener 18 a 22 micras. Durante la molienda se genera un color café oscuro conocido como licor, que debe su fluidez al rompimiento de la pared celular y posterior liberación de la grasa (Wollgast y Anklam 2000; Miller *et al.* 2008; Lacueva *et al.* 2008; Kealey *et al.* 1998; citados por DNP 2004).

2.5.5. Refinado

Se mezclan los ingredientes, el licor de cacao, azúcar, manteca de cacao y/o leche en polvo, en un procedimiento de amasado. A continuación, se procede al refinado, que consiste en moler la mezcla resultante del amasado, para obtener una pasta fluida y suave de chocolate. Es posible controlar la textura mediante la elección del tamaño de partícula del azúcar, el contenido en grasa y/o la adición de emulsionantes. Un ingrediente añadido frecuentemente es la lecitina, un emulsionante que mejora las propiedades de fluidez del chocolate y, por tanto, permite que se reduzca la cantidad de manteca de cacao. Para impedir que el chocolate se espese absorbiendo humedad y mantener un chocolate fluido de cubrimiento uniforme, suelen utilizarse de 0,5 al 1,0 por ciento de lecitina (Liendo 2005).

2.5.6. Conchado

Después, se somete al procedimiento de conchado, momento en el que la mezcla de chocolate se trabaja mecánicamente para darle al chocolate un aroma más completo, homogéneo y con características reológicas mejoradas. Esto se realiza normalmente a

temperaturas que oscilan entre 75 y 80 °C para el chocolate negro, y aproximadamente a 65 °C para chocolates blanco y con leche. Otros componentes tales como los aromatizantes y la manteca de cacao extra, pueden añadirse en esta etapa si es necesario (Liendo 2005).

2.5.7. Templado

Se enfría el chocolate líquido hasta una temperatura por debajo de su temperatura de solidificación, y entonces se vuelve a calentar para formar la estructura cristalina grasa apropiada para facilitar la cristalización rápida de su contenido en grasas en el enfriamiento (Liendo 2005).

2.5.8. Moldeado

Después de templar el chocolate, se somete a un proceso de moldeado que le proporcionará la forma definitiva en la que va a ser comercializado, bien para destino del consumidor final o para sus usos en la industria de confitería (Liendo 2005).

2.6. EVALUACIÓN SENSORIAL DEL CHOCOLATE

La evaluación sensorial de los productos de cacao requiere definir y comprender de manera uniforme cada uno de los atributos sensoriales seleccionados. Cuando un producto de cacao es evaluado en forma líquida o en polvo; el olor es un primer aspecto clave de la evaluación sensorial cuantitativa por un grupo de consumidores. El sabor generalmente sigue el olor y la pregunta es si hay un equilibrio entre la amargura y la acidez, o si uno de ellos es abrumador. Finalmente, se evalúan todos los sabores, notas y sabores no específicos del cacao (Jinap *et al.* 1995; Kongor *et al.* 2016).

2.6.1. Aceptabilidad y preferencia

Las pruebas afectivas o pruebas orientadas al consumidor incluyen las pruebas de aceptabilidad, pruebas de preferencia y pruebas hedónicas (grado en que gusta un producto). Estas pruebas se consideran pruebas del consumidor, ya que se llevan a cabo con paneles de consumidores no entrenados (Watts *et al.* 1992; citados por Zegarra 2015). La prueba de aceptabilidad sirve según Kemp *et al.* (2009) para determinar el nivel de agrado de un producto en los consumidores.

Por otro lado, Ureña *et al.* (1999) mencionan que es la aceptación como actitud personal del consumidor al admitir o aprobar un alimento para él, o los demás.

La prueba de preferencia según Meilgaard *et al.* (2006) es el objetivo de determinar si existe una diferencia significativa en la preferencia del consumidor hacia los productos que se evalúan. La preferencia nos indicaría cuál de los productos evaluados es elegido sobre el resto. Según Ureña *et al.* (1999) el placer, la complacencia o satisfacción, el grado de gusto o disgusto, el agrado o desagrado, como todo aquello que conlleve a la elección de un alimento sobre los demás.

2.6.2. Método (Check All That Apply – CATA)

La metodología “Marque todo lo que corresponda” (Check All That Apply - CATA), es un formato de preguntas que se ha utilizado para obtener información de productos de manera rápida utilizando consumidores (Meyners y Castura 2014). Consiste en presentar a los consumidores una lista de términos, de la cual deben seleccionar aquellos que consideren apropiados para describir la muestra evaluada (Fernández *et al.* 2015).

El consumidor toma una decisión subjetiva en cada término para cada muestra que se está evaluando. Los términos marcados son claramente percibidos por el consumidor como apropiados para describir la muestra. Por el contrario, términos no marcados podrían indicar que el atributo no fue percibido o podría indicar que el atributo es percibido, pero el término es sin embargo considerado por el consumidor un término inapropiado para caracterizar la muestra (Meyners y Castura 2014). Sin embargo, ha sido reportado que dada la sencillez de la prueba los consumidores dan respuestas rápidas, sin estar seguros de lo que están respondiendo y seleccionando, por lo que, los términos que aparecen primero en la lista son los que más llaman su atención (Krosnick 1999).

Es por ello, que se aplicó una estrategia para que los consumidores se comprometan a marcar todos atributos que ellos consideran de la muestra para así obtener resultados confiables. Lo cual se recomienda aleatorizar los términos en las boletas entre los consumidores (cada consumidor utiliza una pregunta CATA con los términos en diferente orden) y entre las muestras (cada muestra se presenta en diferente orden) (Ares *et al.* 2013). Este tipo de aleatorización compromete obtener una información más confiable, ya que los consumidores tienen que prestar atención a toda la lista de términos cada vez que evalúan una muestra (Varela y Ares 2014).

2.7. METODOLOGÍA DE SUPERFICIE DE RESPUESTA (MSR)

La metodología de superficie de respuesta o MSR es un conjunto de técnicas matemáticas y estadísticas que buscan explorar y modelar la relación que existe entre diversos factores y su influencia sobre una respuesta de interés obtenidos. El objetivo es optimizar esta respuesta, para lo cual se diseña un experimento que proporcione que proporcione valores razonables de la variable respuesta y, a continuación, determinar el modelo matemático que mejor se ajusta a los datos obtenidos (Montgomery 2002).

Según Ayala y Pardo (1995) la optimización de un proceso por medio de diseños experimentales requiere del uso de una metodología o estrategia adecuada, a fin de encontrar los valores óptimos del proceso bajo estudio. Estas etapas fundamentales de optimización son: *Screening* o eliminación de variables poco significativas, escalamiento y optimización final.

2.7.1. Etapa I: *Screening* o eliminación de variables poco significativas

La primera etapa de optimización tiene como objetivo reducir el número de variables iniciales. Esto es conveniente debido a que reduce la cantidad de pruebas experimentales en las etapas posteriores de optimización, siendo ventajoso para la economía de una investigación (Ayala y Pardo 1995).

Según Ayala y Pardo (1995) generalmente al inicio de una investigación no se tiene un buen conocimiento del proceso, esto puede generar que la lista de variables controlables, que podrían influir en las respuestas de un proceso sean muchas, por lo que es necesario identificar aquellas variables que son relevantes, eliminando aquellas variables que resultan poco significativas.

Para el estudio de esta etapa se utilizan, generalmente, diseños experimentales de primer orden, como son: diseño factorial, diseño factorial fraccionado y diseños Plackett y Burman (Ayala y Pardo 1995).

2.7.2. Etapa II: Escalamiento

Cuando la región óptima se encuentra lejos de los experimentos iniciales (Etapa I: *Screening*), se inicia una segunda etapa de optimización denominada de Escalamiento, la que consiste en escalar sucesivamente hacia la región óptima hasta llegar a ubicarla.

Para lograr acercarse, entre otros, los diseños experimentales directos, como el de búsqueda simple (Simple Search) y el de búsqueda múltiple; e indirectos, como el método de pendientes ascendentes o descendentes (Ayala y Pardo 1995).

2.7.3. Etapa III: Optimización final

Según Ayala y Pardo (1995) en la región experimental que encierra el óptimo, los efectos de segundo orden son mayores en valor absoluto a los efectos de primer orden, lo que indica que esta región puede ser descrita apropiadamente mediante modelos matemáticos de segundo orden de la forma:

$$\hat{Y} = b_0 + \sum b_j x_j + \sum b_{uj} x_u x_j + \sum b_{jj} x_j^2 \quad u \neq j$$

Una vez definido el modelo matemático que represente satisfactoriamente la región óptima, se procede a optimizar dicho modelo, lo que supone hallar los valores óptimos de las variables X_j que maximicen o minimicen el modelo matemático estimado. Los diseños experimentales de segundo orden más apropiados incluyen los diseños rotables y los diseños compuestos.

Los diseños para ajustar modelos de segundo orden donde existe curvatura en la superficie de respuesta son:

- Diseños factoriales 3^k

En los diseños factoriales 3^k cada uno de los k factores presenta 3 niveles (-1, 0, 1), de manera que el número de observaciones o corridas experimentales es $N = 3^k$. Este número puede hacerse excesivamente grande, especialmente cuando se están estudiando muchos factores, de manera que en ocasiones conviene más considerar diseños fraccionales 3^{k-m} de los diseños factoriales 3^k . Al igual que en el diseño 2^k , cuando k es grande se puede considerar sólo una fracción de los puntos del diseño (Hernández 2013 y López 2015).

- Diseño compuesto central

El Diseño Compuesto Central (DCC), en un diseño factorial 2^k , al cual se le añade puntos axiales ($2k$) en los ejes de coordenadas, a una distancia $\pm \alpha$ del punto central del diseño. En el DCC, cada factor tiene cinco niveles, lo cual permite una buena predicción del

modelo de segundo orden. Asimismo, el reducido número de puntos experimentales (correspondientes a la suma de los puntos factoriales, puntos axiales y repeticiones en el punto central: $N = 2k + 2k + nc$) lo convierte en un diseño económico en cuanto al uso de recursos (Kuehl 2001 y Montgomery 2002).

2.7.4. Respuestas múltiples

En la mayoría de los problemas de optimización experimental es inusual solo una variable de respuesta que necesite ser optimizada; frecuentemente deben ser consideradas varias respuestas que denotaremos por Y_1, Y_2, \dots, Y_K . La consideración simultánea de respuestas múltiples primero establece un modelo de superficie de respuesta apropiado para cada respuesta y después intenta encontrar un conjunto de condiciones de operación que arroje el mejor resultado deseado para cada respuesta o que al menos las mantenga en los rangos deseados (Montgomery 2002).

Las técnicas de optimización multirespuesta son:

- Optimización gráfica o superposición de superficies

Es un enfoque relativamente directo para optimizar variables de respuesta que funciona muy bien cuando hay variables de proceso y consiste en superponer las gráficas de contorno de cada respuesta. Cuando hay más de tres variables de diseño, se hace muy complicado la superposición de las gráficas de contorno, por ello se tendrá que graficar dos factores a la vez y fijar a los restantes. Situación que obliga a recurrir a métodos más formales de optimización multirespuesta como es el caso de la función de deseabilidad (Gutiérrez y De La Vara 2008).

- Optimización numérica

La optimización numérica busca el espacio de diseño, usando los modelos que se crearon en el análisis para encontrar los ajustes de factores que encuentran los objetivos que se definen. Primero se deben tener modelos buenos y útiles, luego se definen los objetivos para cada objetivo. Existen varios métodos de optimización numérica como el método de la función de deseabilidad, el método de función de pérdidas y el método de la función de distancia (Gutiérrez y De La Vara 2008).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. LUGAR DE EJECUCIÓN

El presente trabajo de investigación se realizó en las siguientes instalaciones:

- Laboratorio de Investigación de la Facultad de Industrias Alimentarias, Universidad Nacional Agraria La Molina.
- Laboratorio de Análisis Fisicoquímico de Alimentos de la Facultad de Industrias Alimentarias, Universidad Nacional Agraria La Molina.
- Laboratorio de Investigación del Instituto Tecnológico de la Producción (ITP) del Ministerio de la Producción.
- Laboratorio de Evaluación Sensorial de Alimentos de la Facultad de Industrias Alimentarias, Universidad Nacional Agraria La Molina.

3.2. MATERIALES Y EQUIPOS

3.2.1. Materia prima

- Se trabajó con granos de cacao “chuncho” de la Asociación de Productores Cacao VRAEM proveniente del distrito de Kimbiri, provincia La Convención, del departamento de Cusco.
- Azúcar blanca marca Dulfina®.

3.2.2. Materiales

Se utilizaron los siguientes materiales:

- Agua destilada
- Agua mineral de 10 L
- Baguetas o varillas de agitación
- Balones Soxhlet

- Balones Kjeldahl
- Barras agitadoras magnéticas
- Bolsas de aluminio trilaminadas de 0,5 y 1 kg
- Buretas de 50 y 100 mL
- Celdas de cuarzo
- Crisoles de porcelana
- Desecador
- Embudo büchner de porcelana
- Fichas de evaluación sensorial
- Fiolas de 10, 25, 50, 100, 250 y 1000 mL
- Frascos de vidrio ámbar de diferentes tamaños
- Gradilla
- Guantes estériles y mascarillas
- Lapiceros y plumón indeleble
- Matraz Erlenmeyer 500 mL
- Matraz Kitasato 500 mL
- Mesa de mármol
- Micropipetas de 10 μ L hasta 5000 μ L
- Moldes para chocolate de cinco centímetros
- Mortero de porcelana con pistilo
- Navaja de corte
- Papel filtro, Whatman® N° 1, 2, 42
- Papel toalla, kraft, aluminio y tissue
- Pinzas de metal
- Pipetas graduadas de 1,5 y 10 mL
- Pizzetas
- Placas Petri
- Probetas graduadas de 10, 100 y 150 mL
- Rejilla de asbesto
- Servilletas y envolturas metalizadas
- Soporte universal
- Tamiz N° 30
- Termómetro
- Tips o puntas para micropipetas

- Tubos de ensayo 10 y 15 mL
- Tubos falcón de centrífuga con tapa rosca de 50 mL
- Vasos precipitados de 10, 50, 100, 250, 400 y 1000 mL
- Vasos y platos descartables

3.2.3. Equipos

Se utilizaron los siguientes equipos:

- Agitador magnético, VELP SCIENTIFICA® Modelo ARE
- Aire acondicionado, CARRIER®
- Balanza analítica, OHAUS DISCOVERY® Modelo DV214C
- Balanza eléctrica, ADAM EQUIPEMET® Modelo CBW-12aH
- Baño María, MEMMERT®
- Bomba de vacío
- Campana Extractora, CHEM GARD® Modelo 1100-6H AD
- Centrífuga, THERMO® Modelo IEC CENTRA CL2
- Cocina eléctrica, ILKO TEBO®
- Colorímetro digital, KONICA MINOLTTA® Modelo CR-400
- Equipo Kjeldahl, GERHARAT® Destilador105
- Equipo Soxhlet, YAMATO® Modelo B5-64
- Espectrofotómetro UV/VIS, PERKIN ELMER® Modelo Lambda 950
- Estufa, MEMMERT®
- Molino de cuchillas, MOLINEX®
- Molino, BONNY® Modelo SIM SERIE S
- Mufla, BARNSTEAD® Modelo F48020
- Potenciómetro, SCHOTT HANDYLAB MAINZ® Modelo D-55014
- Refinadora y conchadora, PREMIER® Chocolate refiner
- Refrigeradora, REVCO®
- Rotador de tubos, DRAGONLAB® Modelo MX-RL-Pro
- Tostador estufa, VENTICELL®
- Tostador tambor rotatorio, GRUPO TRUJILLO®
- Vernier Stainless digital, HARDENED® 10-12 mm

3.2.4. Reactivos y soluciones

Se utilizaron los siguientes reactivos y soluciones:

- Acetato de sodio, FERMONT® (México)
- Acetona, J.T. BAKER®
- Ácido acético glacial 99.8 por ciento, J.T. BAKER®
- Ácido bórico 3 por ciento, MERCK®
- Ácido clorhídrico 37 por ciento, MERCK®
- Ácido gálico 98 por ciento, SIGMA-ALDRICH® (EE.UU)
- Ácido sulfúrico 95-97 por ciento, MERCK®
- Alcohol isoamílico, MERCK®
- Carbonato de sodio, MERCK®
- DPPH (2,2-Diphenil-1-picrilhidrazil) 99 por ciento, SIGMA-ALDRICH® (EE.UU)
- Éter de petróleo 97 por ciento, J.T. BAKER®
- Folin Ciocalteau 2N, MERCK®
- Hidróxido de sodio 98-99 por ciento, MERCK®
- Indicador mixto (rojo de metilo y azul de metileno), MERCK®
- Metanol 99.9 por ciento, SIGMA-ALDRICH® (EE.UU)
- Solución buffer (pH 4,0), HANNA BUFFER® solution HI 7007
- Solución buffer (pH 7,0), HANNA BUFFER® solution HI 7007
- Tableta de catalizador Wieninger, PANREAC®
- TPTZ (2, 4, 6 tripiridil-s triazina) \geq 98 por ciento, FLUKA ANALYTICAL® (EE.UU)
- Tricloruro de hierro hexahidratado, EMSURE®
- Trolox (ácido-6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametil-cromano-2-carboxílico) grado HPLC, FLUKA® (Alemania)

3.3. MÉTODOS DE ANÁLISIS

3.3.1. Análisis al grano de cacao fermentado y seco

a. Análisis físico

- **Dimensiones**

La dimensión de los granos de cacao se midió por medio de un vernier electrónico en el orden de: largo, ancho y espesor siguiendo la metodología empleada por Chire *et al.* (2014). Se registró las dimensiones de 60 granos de cacao por triplicado. Luego se determinó la relación L/e (largo/espesor) para cada grano mediante la fórmula que se presenta a continuación:

$$\text{Relación L/e} = \frac{\text{Largo de grano (mm)}}{\text{Espesor de grano (mm)}}$$

- **Clasificación por tamaño de granos**

Se determinó según INACAL (2016b) la metodología de la NTP- ISO 2451:2016. Se pesó 100 g de grano de cacao y se hizo un recuento, y se expresó como número de granos por 100 g por triplicado. Según las especificaciones actuales se puede clasificar en:

Granos grandes: Recuento de granos de ≤ 100 .

Granos medios: Recuento de entre 101-120 granos.

Granos pequeños: Recuento superior a 120 granos.

- **Índice de grano**

El índice de grano se determinó según INACAL (2016b) la metodología de la NTP- ISO 2451:2016. Se tomaron al azar 100 granos y se pesaron, luego se dividieron entre 100, con la siguiente fórmula:

$$\text{Índice de grano} = \frac{\text{peso de 100 granos (g)}}{100}$$

- **Porcentaje de cáscara**

Siguiendo la metodología de Vera *et al.* (2014) se seleccionó al azar 50 granos de cacao por triplicado, se pesó cada grano entero, se descascaró y finalmente se pesó la cáscara. Se utilizó el registro de pesos para utilizar la siguiente fórmula:

$$\text{Porcentaje de cáscara} = \frac{C}{mf} \times 100$$

Donde:

C: Peso de cáscara.

mf: Peso de grano de cacao.

- **Prueba de corte**

Se realizó un corte longitudinal por la parte central de cada uno de los 300 granos al azar por triplicado, a fin de exponer la máxima superficie de corte de los cotiledones. Se examinó visualmente las dos mitades de cada grano a la luz diurna o bajo una iluminación artificial (lámpara fluorescente). Se contó separadamente los granos defectuosos, es decir aquellos mohosos, pizarrosos, partido, violeta, planos, múltiples, germinados y dañados por insectos; y se verificó los granos fermentados (INACAL 2016b).

Con los datos de la prueba de corte, según la NTP – ISO 2451.2016, se catalogó el grado que pertenecen los granos de cacao, con el siguiente cuadro:

Tabla 3: Estándares nacionales de clasificación de granos de cacao

GRADO	Porcentaje de granos		
	Mohosos	Pizarrosos	Dañados por insectos, germinados o planos
1	3	3	3
2	4	8	6

Fuente: INACAL (2016b)

- **Índice de fermentación**

El índice de fermentación se determinó con la prueba de corte según INACAL (2016b) con la metodología de la NTP – ISO 2451:2016. El valor del grado o índice de fermentación se calculó mediante la relación de granos bien fermentados con respecto al total de granos analizados en la prueba de corte. Este valor se expresa en porcentaje mediante la siguiente ecuación:

$$\text{Índice de Fermentación} = \frac{\text{Granos fermentados}}{\text{granos totales}} \times 100$$

- **Color e índice de blancura**

El color de los granos se determinó usando la metodología de Alegría (2015). Se descascarilló manualmente 20 granos de cacao al azar por triplicado. Los granos descascarillados se trituraron en un molino de cuchillas. Posteriormente se tamizó la muestra con un tamiz N° 30 a fin de reducir las partículas gruesas. Se midió en el colorímetro Konica Minolta CR-400, L*, a*, y b* que se obtuvo a partir del cernido y se utilizó los datos para el cálculo del índice de blancura según la siguiente ecuación:

$$\text{I. B.} = 100 - \sqrt{(100 - L)^2 + a^2 + b^2}$$

b. Análisis fisicoquímico

- **Humedad**

La determinación de humedad de los granos de cacao se realizó según INACAL (2016c) con la metodología descrita por la norma peruana NTP-ISO 2291:2016. Se tomó una muestra de 10 g al azar de grano de cacao, se trituró en partículas gruesas en un mortero para evitar la formación de pasta. Se colocó dos g de la muestra triturada en las placas de vidrio y se llevó a la estufa a 103 ± 2 °C, por un tiempo de 16 horas. Luego se ingresó al desecador dejándolo enfriar por espacio de 40 min, para luego proceder a pesarlo. El procedimiento se realizó por triplicado para una mayor exactitud. La humedad se calculó por diferencia de pesos utilizando la siguiente ecuación:

$$\text{Porcentaje H} = \frac{w1 - w2}{w1 - w0} \times 100$$

Donde:

Porcentaje H: Porcentaje de humedad en base húmeda

W0: Peso de la placa Petri con tapa (g)

W1: Peso de la placa Petri con tapa y muestra húmeda (g)

W2: Peso de la placa Petri con tapa y muestra seca (g)

- **Proteína cruda**

La determinación de proteína se realizó siguiendo la metodología AOAC (2007) 970.22 el cual se basa en el método Kjeldahl - Gunning - Arnold. Se pesó 0,5 g de muestra de grano de cacao molido, se colocó en un balón Kjeldahl, añadiendo una tableta de catalizador y 10 mL de ácido sulfúrico concentrado. La mezcla se llevó al digestor y se calentó alrededor de 3 horas y finalmente se enfrió. Se adicionó 50 mL de agua destilada y 150 mL de NaOH (32 por ciento) y se llevó al destilador, haciendo una destilación por arrastre con vapor. El hidróxido de amonio generado se recibió en 50 mL de ácido bórico conteniendo tres gotas de indicador mixto hasta tener un volumen de destilado de 200 mL (viraje color verde esmeralda) y el destilado se tituló con HCl 0,1N. Este procedimiento se realizó por triplicado y el porcentaje de nitrógeno se obtuvo mediante la siguiente ecuación:

$$\text{Porcentaje N} = \frac{\text{Vg} \times \text{N} \times 14 \times 100}{1000 \times \text{W}}$$

Y finalmente el contenido de proteína se calculará mediante la siguiente ecuación:

$$\text{Porcentaje P} = \text{Porcentaje N (Total)} \times 6,25$$

Donde:

Porcentaje N: Porcentaje de Nitrógeno.

Vg: Volumen de ácido clorhídrico gastado.

N: Normalidad de ácido clorhídrico.

W: peso de la muestra (g)

Porcentaje P: Porcentaje de proteína cruda.

Valor 6,25: Factor de conversión de proteína.

- **Grasa cruda**

Para la determinación de la grasa total para el grano de cacao se empleó la metodología AOAC (2007) 963.15. Se pesó alrededor de cinco gramos de cacao molido y fue sometido a extracción mediante el aparato Soxhlet, añadiendo 150 mL de éter de petróleo. Luego del proceso de extracción, el solvente fue removido por evaporación y el residuo colectado de grasa, se pesó. Este procedimiento se realizó por triplicado y se reportó en porcentaje de grasa con la siguiente ecuación:

$$\text{Porcentaje de G} = \frac{M2 - M1}{M0} \times 100$$

Donde:

Porcentaje G: Porcentaje de grasa en base húmeda.

M0: Peso inicial de la muestra (g)

M1: Peso del balón vacío (g)

M2: Peso del balón con grasa (g)

- **Ceniza**

Se utilizó la metodología AOAC (2007) 972.15 para la determinación de cenizas del grano de cacao. Se pesó dos gramos de muestra en un crisol de porcelana seca y de peso conocido. Se llevó a una mufla a 600 °C por cuatro horas, se dejó enfriar en un desecador por 40 minutos y se pesó. El cálculo del porcentaje de cenizas se realizó a partir de la diferencia de pesos inicial y final mediante la siguiente ecuación:

$$\text{Porcentaje de cenizas} = \frac{\text{Peso final de ceniza}}{\text{Peso inicial de la muestra}} \times 100$$

- **Fibra cruda**

La determinación de fibra cruda se llevó a cabo mediante la metodología AOAC (2007) 930.20. Se trabajó a partir de la muestra desgrasada, colocando dos gramos en un vaso de digestión de 500 mL al cual se le adicionó 100 mL de ácido sulfúrico al 1,25 por ciento y cinco gotas de alcohol isoamílico (antiespumante) y se dejó hervir por 30 min. Luego se filtró al vacío y se lavó con agua destilada caliente hasta pH neutro. Se regresó el residuo obtenido al vaso de digestión y se adicionaron 100 mL de NaOH al 1,25 por ciento y cinco gotas de antiespumante. Se dejó hervir por 30 min y se filtró en papel filtro cuantitativo previamente pesado. Se lavó hasta pH neutro y se llevó a una estufa por dos horas, se dejó enfriar y se pesó (Peso A). El residuo se calcinó en la mufla a 600 °C durante cuatro horas, se dejó enfriar y se pesó (Peso B). El porcentaje de fibra cruda se calculó mediante la siguiente ecuación:

$$\text{Porcentaje de fibra cruda} = \frac{\text{Peso A} - \text{Peso B}}{\text{Peso inicial muestra}} \times 100$$

- **Carbohidratos totales**

El porcentaje de carbohidratos se calculó por diferencia, partiendo de un valor de 100 por ciento y restando los otros componentes (porcentaje de humedad, grasa cruda, proteína cruda y ceniza) que se muestra en la siguiente ecuación (Álvarez *et al.* 2007):

$$\text{Porcentaje de carbohidratos totales} = 100 - (\%H + \%G + \%P + \%C)$$

c. **Análisis químico**

- **pH**

La determinación del pH se realizó utilizando el método AOAC (2007) 970,21. En un vaso de precipitado de 250 mL se pesaron cinco gramos de granos de cacao triturados por un molino. Seguido de ello, se añadieron 45 mL de agua destilada hirviendo y se dejó enfriar. La mezcla fría se filtró al vacío con papel Whatman N°1, con ayuda de una

bomba al vacío. El electrodo, previamente calibrado, se sumergió en el sobrenadante y se esperó hasta que la lectura sea estable. Este procedimiento se realizó tres veces.

- **Acidez titulable**

Se utilizó como referencia el método AOAC (2007) 942,15 el cual es una titulación potenciométrica. Realizado el método descrito en el punto anterior, se procedió a titular el sobrenadante con hidróxido de sodio (NaOH) 0,1N previamente normalizado, hasta llegar a pH 8,2. Durante la titulación la muestra se homogeneizó con un agitador magnético. Al llegar al pH se anotó el volumen de gasto. El proceso se realizó por triplicado. El cálculo de la acidez titulable se realizó reemplazando el volumen gastado en la siguiente ecuación:

$$\text{Porcentaje } \acute{\text{a}}. \text{ acético} = \frac{\text{Vg} \times \text{N} \times \text{F. D.} \times \text{F. E}}{\text{m}} \times 100$$

Donde:

Porcentaje á. acético: Acidez titulable (porcentaje á. Acético)

Vg: Volumen de gasto de Hidróxido de sodio (mL)

N: Normalidad de la solución (eq/L)

m: Peso de la muestra (g)

F.E.: mEq-ácido acético (F.E = 0,06)

F.D.: Factor de dilución de la muestra

- **Polifenoles totales**

Los compuestos fenólicos totales se determinaron con el reactivo de Folin-Ciocalteu el cual se fundamenta en la capacidad que tienen los polifenoles para reducir el Molibdeno (VI) a Molibdeno (V), como resultado de tal reacción, el reactivo de color amarillo adquiere un intenso color azul que se mide en el espectrofotómetro a 750 nm (Singleton y Rossi 1965 citados por Saura-Calixto 2006).

Para determinar la cuantificación de polifenoles se realizó la metodología que se describe a continuación:

- **Preparación de la materia prima**

Los granos de cacao se descascarillaron obteniendo cotiledones o trozos, después se pulverizaron en un molino de laboratorio por diez segundos alcanzando granulometrías finas y homogéneas de 0,5 μm . Se desengrasó según la metodología de Jiménez-Escrig *et al.* (2001) y Saura-Calixto (2006) pesando dos gramos de cacao molido y añadiendo 20 mL de éter de petróleo, llevándolo a agitación constante a 70 rpm durante dos horas a temperatura ambiente. Después se centrifugó a 3000 rpm por 10 min y el precipitado que quedó, se removió y se llevó a la campana extractora por 16 h para facilitar la salida de restos de solvente.

- **Obtención de los extractos fenólicos**

El procedimiento que se hizo para la extracción de polifenoles es según la metodología de Saura-Calixto *et al.* (2007). Se utilizaron dos solventes orgánicos de distinta polaridad para extraer todos los compuestos fenólicos asociados y facilitar la cuantificación. Para este fin se preparó las siguientes mezclas:

Mezcla 1: Metanol (HCl)/agua 50:50, pH 2. Se añadió 8 mL de ácido clorhídrico (HCl 2N) en 900 mL de metanol/agua (50:50). Se agitó y se enrasó a un litro con metanol/agua (50:50).

Mezcla 2: Acetona/agua (70:30)

Para preparar el extracto se utilizó tubos de centrífuga de 50 mL y se pesó 0,5 gramos de muestra (0,5 μm de diámetro aprox.), añadiendo 20 mL de la mezcla 1 (metanol (HCl): agua (50:50), pH 2) y durante una hora a temperatura ambiente en agitación rotatoria. Después, se centrifugó durante 10 min a 3000 rpm y se recogió el primer sobrenadante en una fiola de 50 mL. Sobre el residuo o precipitado se añadieron 20 mL de la mezcla 2 (acetona: agua (70:30)) y se procedió con la agitación y la centrifugación de la misma manera, y por último se obtuvo un segundo sobrenadante que se combinó con el anterior y se enrasó a un volumen de 50 mL con la mezcla 1: mezcla 2 (50:50). Se almacenó el extracto a -20 °C en un frasco ámbar para luego emplearlo para la determinación de polifenoles (Saura-Calixto *et al.* 2007).

- **Determinación de contenido de polifenoles**

Se utilizó la metodología de Saura-Calixto *et al.* (2007) para la determinación de los granos de cacao. Se tomaron dos tubos de ensayo de 10 mL, en el primero se añadió 0,125 mL del extracto fenólico (previa dilución que fue un factor de dilución de cuatro); y en el segundo que fue el blanco, se añadió 0,125 mL de la mezcla 1: mezcla 2 (50:50). A ambos tubos se añadió 0,125 mL del reactivo Folin- Ciocalteu 2N, y se mantuvo en reposo de 3 a 8 min. Se añadió 2,5 mL de carbonato de sodio (75 g/L), luego 3,5 mL de agua destilada y se homogeneizó. Se mantuvo en reposo durante 60 min a temperatura ambiente en oscuridad y se midió las absorbancias en el espectrofotómetro a 750 nm frente al blanco preparado con la mezcla de disolventes.

Para la curva patrón, se disolvió 20 mg de ácido gálico en 50 mL de agua destilada (400 ppm). Las concentraciones que se emplearon para la curva fueron: 50, 100, 150, 200 y 400 ppm (0,05; 0,1; 0,15; 0,2 y 0,4 mg/mL). Para medir en el espectrómetro se tomó 0,125 mL de cada uno y se le adicionó 0,125 mL de Folin- Ciocalteu, se reposó (3-8 min), y se le añadió 3,5 mL de agua destilada y 2,5 mL de carbonato de sodio (7,5 por ciento). Por último, se agitó y se dejó los tubos por 60 min a temperatura ambiente en la oscuridad, y se midió a 750 nm. La ecuación resultante se muestra en el Anexo 5. Los resultados se expresaron en términos de mg de equivalente de ácido gálico en un gramo de cacao o chocolate en base seca (mg EAG/g b.s).

• **Capacidad antioxidante**

La capacidad antioxidante se determinó mediante la actividad antioxidante por dos métodos:

- **Determinación por el método DPPH**

La actividad antioxidante se determinó mediante la metodología 2,2 Difenil-1-picril-hidrazil (DPPH), desarrollada por Brand-Williams *et al.* (1995) y modificada por Kim *et al.* (2002) que se describe a continuación:

Para la preparación del radical DPPH, se pesó 3,9 mg de DPPH en un vaso de precipitación de 50 mL y se disolvió poco a poco en 100 mL de metanol al 80 por ciento, en una fiola aforada. La mezcla se colocó en un frasco de vidrio ámbar como protección contra la luz y se llevó a un agitador magnético por una hora para que la mezcla sea

homogénea, y finalmente se almacenó en refrigeración. La preparación del radical se realizó en el momento del análisis.

El método se realizó por triplicado, se tomó la muestra de los extractos según las concentraciones de polifenoles. Entre la muestra y metanol de 80 por ciento se alcanzó un volumen total de 100 μ L y se adicionó un volumen constante de 2,9 mL del radical DPPH. Luego se esperó 10 min de reposo y se realizó la lectura en un espectrofotómetro de UV/VIS a 517 nm frente al blanco preparado con la mezcla de disolvente y reactivo DPPH.

El porcentaje de atrapamiento de las muestras sobre el radical DPPH se calculó mediante la siguiente ecuación:

$$\% I = \left(1 - \frac{Abs_{Muestra} 517 \text{ nm}}{Abs_{Control} 517 \text{ nm}} \right) \times 100$$

Donde:

Por ciento I o SE (scavenging effect): Es el porcentaje de inhibición o de atrapamiento.

***Abs_{Muestra}*:** Corresponde a la absorbancia de la muestra a 517 nm.

***Abs_{Control}*:** Es la absorbancia inicial de la solución de DPPH.

Para la curva patrón, se disolvió 2,5 mg de Trolox en 10 mL de metanol al 80 por ciento. Las concentraciones que se emplearon para la curva fueron: 50, 100, 250, 500, 750 μ M. Para medir en el espectrómetro se tomó 100 μ L de cada uno y se les adicionó 2,9 mL de la solución DPPH. Se realizó por triplicado para determinar la linealidad de dicha curva (Kim *et al.* 2002). La ecuación resultante se muestra en el Anexo 5. Los resultados se expresaron en términos de μ mol de capacidad antioxidante equivalente de trolox en un gramo de cacao o chocolate en base seca (μ mol Eq. Trolox/g b.s.).

- **Determinación por el método FRAP**

La actividad antioxidante se determinó también mediante la metodología Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP), desarrollada por Benzie y Strain (1996) y revisada por Saura - Calixto (2007).

Se preparó primero las siguientes soluciones:

- **Tampón acetato 0.3 M pH 3,6:** Se pesó 3,1 g de acetato sódico hexahidratado a los cuales se le añadieron 16 mL de ácido acético y la mezcla se aforó a un litro de agua destilada.
- **TPTZ (2,4,6-tripiridil-s-triazina) 10 mM en HCL 40 mM:** Se preparó llevando 824 uL de HCL (37 por ciento) a 250 mL con agua destilada. El TPTZ 10 mM se obtuvo disolviendo 0,0312 g en 10 mL de HCL 40 mM. La solución se guardó en un frasco ámbar protegida de la luz y se preparó a diario.
- **Tricloruro de hierro hexahidratado 20 mM:** Se pesó 0,0541 g y se llevó a 10 mL con agua destilada.

Con excepción del tampón acetato, todos los reactivos fueron preparados cada vez que se requirió.

La preparación del reactivo FRAP, se preparó mezclando en proporción (10:1:1) 25 mL de la solución tampón acetato, añadiendo 2,5 mL de la solución de TPTZ y 2,5 mL de la solución de tricloruro de hierro hexahidratado; en un frasco ámbar hasta su utilización. Se prepararon en el día y se mantuvieron en baño a 37 °C.

El método se realizó por triplicado por cada muestra. Se tomó 90 uL de extracto de la muestra (previa dilución que fue un factor de dilución de cuatro) añadiendo 270 uL de agua destilada más 2,7 mL de reactivo FRAP (capacidad reductora de plasma), se agitó vigorosamente y se mantuvo en oscuridad por 30 min a temperatura ambiente. Luego se realizó la lectura en un espectrofotómetro de UV/VIS a 595 nm frente al blanco preparado con la mezcla de disolvente y reactivo FRAP.

La curva patrón fue construída usando 2,5 mg de Trolox en 10 mL de metanol al 80 por ciento. Las concentraciones que se emplearon para la curva fueron 50, 100, 250, 500, 750 μ M. Se realizó por triplicado para determinar la linealidad de dicha curva (Kim *et al.* 2002). La ecuación resultante se muestra en el Anexo 5. Los resultados se expresaron en términos de μ mol de capacidad antioxidante equivalente de trolox en un gramo de cacao o chocolate en base seca (μ mol Eq. Trolox/g b.s).

d. Análisis microbiológico

Según la recomendación de MINSA (2008) para cacao y derivados se debe determinar bacterias mesófilas aerobias viables, *salmonella*, mohos y levaduras. Por lo tanto, se realizaron los análisis microbiológicos con la metodología ICMSF (2001).

3.3.2. Análisis al grano de cacao tostado óptimo

Se analizó el cacao tostado óptimo para tostador estufa (TE) y tostador tambor rotatorio (TR), que se obtuvo por el método de superficie de respuesta (acápite 3.5).

a. Análisis físico

- Color e índice de blancura. Método Alegría (2015).

b. Análisis fisicoquímico

- Humedad. Método NTP-ISO 2291:2016. INACAL (2016c).
- Análisis proximal. INACAL (2016c), AOAC (2007). Humedad, proteína cruda, grasa cruda, ceniza, fibra cruda, carbohidratos totales (por diferencia).

c. Análisis químico

- pH. Método AOAC (2007) 970.21.
- Acidez titulable. Método AOAC (2007) 942.15.
- Polifenoles totales. Método Folin-Ciocalteu, revisado por Saura-Calixto (2006).
- Capacidad antioxidante. Método de DPPH, desarrollado por Brad-Williams *et al.* (1995) y revisada por Kim *et al.* (2002). Método de FRAP, desarrollado por Benzie y Strain (1996) y revisado por Saura-Calixto (2007).

d. Análisis microbiológico

- Bacterias mesófilas aerobias viables, *salmonella*, mohos y levaduras. Método ICMSF (2001).

3.3.3. Análisis al chocolate elaborado con el tratamiento óptimo

a. Análisis químico

- Polifenoles totales. Método Folin-Ciocalteu, revisado por Saura-Calixto (2006).

- Capacidad antioxidante. Método de DPPH, desarrollado por Brad-Williams *et al.* (1995) y revisada por Kim *et al.* (2002). Método de FRAP, desarrollado por Benzie y Strain (1996) y revisado por Saura-Calixto (2007).

b. Evaluación sensorial del chocolate

Para la evaluación sensorial se elaboró dos tipos de chocolates ambos al 75 por ciento (acápite 3.4.2), tostados los granos de cacao en distintos tipos de tostador, estufa (TE) y tambor rotatorio (TR), con temperaturas y tiempos óptimos; obtenidos por el método de superficie de respuesta.

Se reclutó en total 230 consumidores no entrenados entre el personal administrativo y estudiantes de la UNALM de edades comprendidas entre 15 y 53 años, evaluando 168 personas para las pruebas de aceptabilidad y “CATA”, y 62 personas para la prueba de preferencia de los chocolates. En las cabinas, los chocolates se presentaron, en forma cuadrangular, con un peso de cinco gramos en un plato de plástico libre de olores extraños a temperatura ambiente; respectivamente con un vaso de agua para que beban y se enjuaguen antes de degustar cada muestra. Para cada prueba se les informó sobre los detalles antes de la evaluación (Anexo 43).

• Prueba de aceptabilidad

Se empleó una escala gráfica lineal no estructurada de 10 cm con extremos de “me desagrada mucho” y “me agrada mucho”, (Anexo 25).

Se solicitó a los participantes que prueben la muestra de chocolate y marquen sobre las líneas que correspondan según su opinión sobre el olor, sabor y apreciación general; indicándoles antes que ingerieran un poco de agua para enjuagarse y anular cualquier otro estímulo que pueda sesgar los resultados.

• Prueba Check All That Apply (CATA)

- Elaboración de las tarjetas de evaluación

Los términos incluidos en el cuestionario CATA se generaron por un grupo de consumidores; y por dos jueces entrenados; entregándoles como apoyo un glosario sensorial de cacao (Seguine y Sukha 2015) (Anexo 29). Se obtuvieron en la lista 20

términos (seis para olor y 14 para el sabor), empezando por el olor y después por el sabor. En el Anexo 30 se presenta la tarjeta utilizada para la encuesta.

- **Encuesta**

El día de la prueba, los consumidores fueron seleccionados por su frecuente consumo de chocolates, y por su deseo de participar. Antes de la presentación del chocolate, se realizó una introducción que describe el protocolo experimental, indicándoles que marquen en la tarjeta cuál de los términos es el más apropiado para la muestra, según su experiencia. Además, se pidió a todos los consumidores que revisaran los términos que aparecen en la pregunta CATA, para asegurar que ellos pudieran entender todos los términos y familiarizarse con la encuesta CATA antes de la prueba (Fernández *et al.* 2015; Pramudya y Seo 2018).

Para el análisis se realizó una tabla de contingencia que contiene el recuento del número de consumidores que seleccionaron cada término o atributo correspondiente a cada chocolate. Se elaboró el gráfico de barras para facilitar las comparaciones entre los atributos. En ellos se muestra como una barra el porcentaje o número absoluto de los evaluadores que percibieron un atributo para cualquier muestra evaluada (Varela y Ares 2014).

• **Prueba de preferencia**

Se presentaron a los consumidores dos chocolates simultáneamente, identificados con códigos aleatorios de tres dígitos. La tarea de los consumidores consistió en indicar cuál de las dos muestras era su preferida (Anexo 33).

3.4. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

3.4.1. Obtención de trozos de cacao (*nibs*)

Para la obtención de los trozos de cacao chuncho se utilizó el tostador estufa VENTICELL® y el tostador tambor rotatorio GRUPO TRUJILLO® (Anexo 40), y se siguió para cada uno el diagrama de flujo de operaciones que se muestra en la Figura 8. Se describe a continuación las etapas de elaboración:

a. Fermentado y secado: La fermentación de los granos de cacao chuncho fue en cajas de madera en forma de escalera. Los granos fueron tapados con hojas de plátano para

inocular levaduras, que ayudaron a acelerar la fermentación, la temperatura alcanzó 52 °C. La fermentación se realizó en seis días y hubo cinco volteos en total para la aireación de los granos. Teniendo los granos fermentados se llevaron a secar bajo el sol, en plataformas de madera con malla acerada para dejar pasar el aire, por un periodo de cinco días, removiendo los granos constantemente hasta llegar a una humedad adecuada para su almacenamiento (Anexo 37).

- b. Recepción:** Los granos de cacao chuncho fermentado y seco fueron recibidos en el Laboratorio de Evaluación Sensorial de Alimentos de la UNALM, procedentes de la “Asociación de Productores del VRAEM”, ubicado en el distrito de Quimbiri, provincia La Convención, departamento del Cusco.
- c. Limpieza y selección:** Se seleccionaron los granos de cacao eliminando los defectuosos, múltiples, aplanados, rotos, germinados, mohosos e infestados por insectos.
- d. Clasificación por tamaños:** Se clasificaron los granos de cacao por tamaños con ayuda de un tamiz; separando los granos grandes, medianos y pequeños. Se utilizaron granos medianos que fueron representativos en mayor porcentaje.
- e. Pesado:** Se pesaron los granos de cacao clasificados por tamaños, un kilogramo por tratamiento, los cuales se colocaron en bolsas de polietileno de alta densidad.
- f. Tostado:** Los granos previamente pesados se colocaron en el tostador estufa o en el tambor rotatorio, acondicionados de acuerdo con los parámetros de la Tabla 5. Antes de ingresar los granos, los tostadores se precalentaron por encima de 10 °C de la temperatura fijada, debido a la pérdida de calor al momento de introducir los granos. Una vez los granos de cacao dentro del tostador, se cambió a la temperatura del tratamiento. El tiempo empezó a medirse después de cinco min, a partir del momento en que alcanzaron una temperatura inferior a 2 °C de la temperatura fijada para el tostado.
- g. Enfriado:** Los granos tostados se dejaron enfriar por 30 min a temperatura ambiente.
- h. Descascarillado:** En esta operación se procedió a descascarillar manualmente los granos de cacao tostados con ayuda de una navaja.

i. Empacado: Se empacaron en bolsas de aluminio trilaminadas al vacío y rotuladas indicando el tratamiento al que fue sometido.

j. Almacenamiento: Se almacenaron y conservaron hasta su análisis.

Todas las pruebas de tostado ya sea en el tostador en estufa y tambor rotatorio, fueron realizadas por triplicado. Se les determinó los análisis indicados en el acápite 3.3.

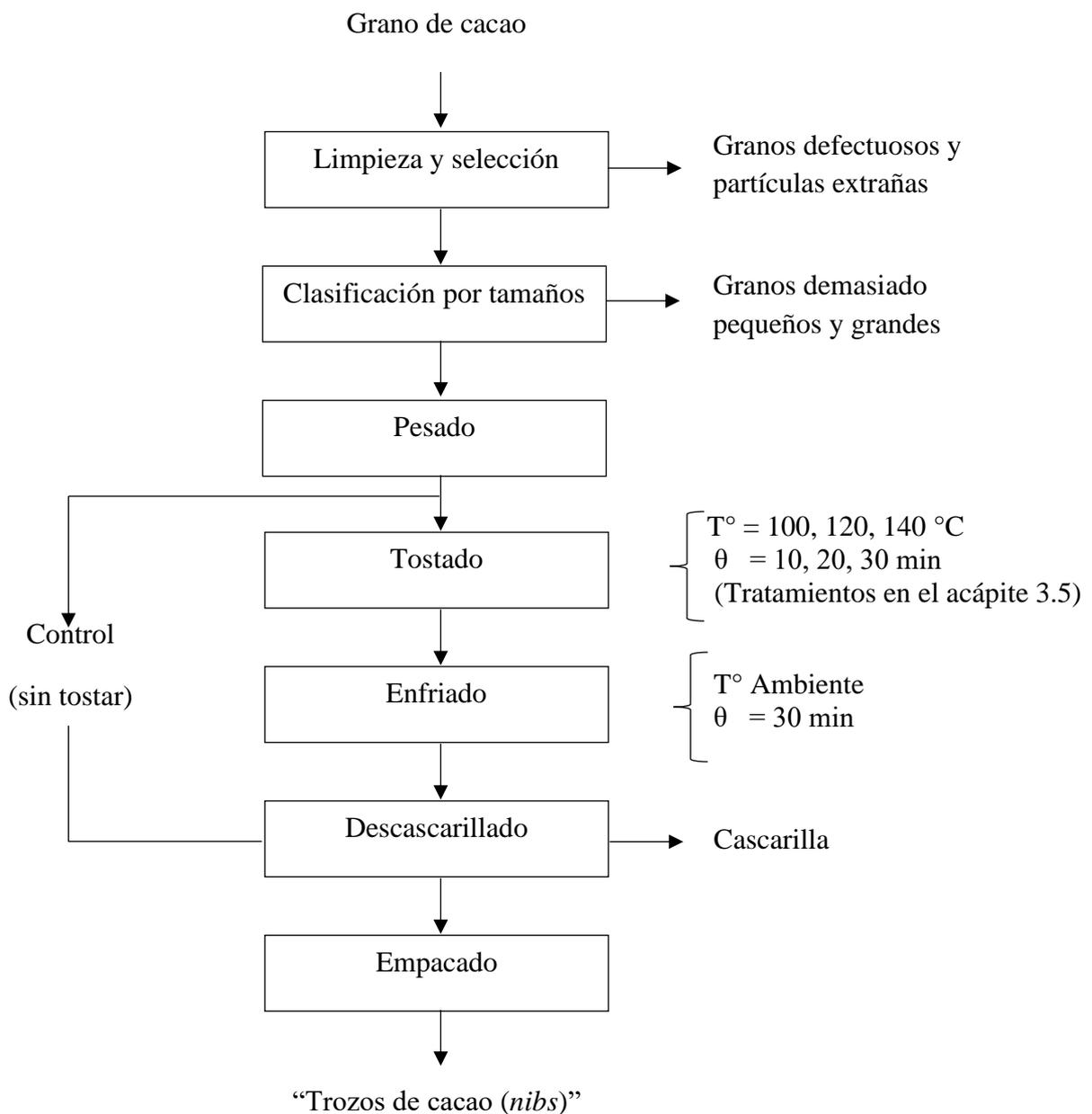


Figura 8: Flujograma de la obtención de trozos de cacao o *nibs*

3.4.2. Obtención del chocolate

Se fabricó dos tipos de chocolates, ambos al 75 por ciento, elaborados con los granos de cacao que fueron tostados en dos tipos de tostador (estufa y tambor rotatorio), con las temperaturas y tiempos óptimos, que fueron obtenidos por el método de superficie de respuesta. Se describe las operaciones realizadas del diagrama de flujo (Figura 9) (Anexo 42):

- a. **Molido:** Se trituraron los trozos de cacao chuncho o *nibs* en un molino Molinex® y se pesaron para la formulación del 75 por ciento, verificando antes, que no exista la presencia de ninguna cascarilla de cacao.
- b. **Refinado:** Una vez molido los trozos de cacao o *nibs* se llevó junto al azúcar (25 por ciento) a una refinadora Premier® de dos rodillos por 15 h para disminuir el diámetro, obteniendo una pasta viscosa con un tamaño de partícula menor a 40 μm . No se añadió en la formulación la manteca de cacao porque el cacao “chuncho” que se utilizó tiene un gran porcentaje de grasa.
- c. **Conchado:** Se quedó en el conchador 13 h, con la finalidad de reducir el contenido de humedad, eliminar ácidos volátiles indeseables (por ejemplo, el ácido acético), reducir la viscosidad (fluido ligero) y formación de algunos componentes del sabor.
- d. **Temperado:** Se retiró el chocolate líquido del conchador a una temperatura de 45 °C. En una mesa de mármol se atemperó el chocolate, enfriando de 45 a 29 °C y se recalentó hasta 31 °C; con el fin de obtener un chocolate en un estado líquido para cristalizar en una forma estable. El objetivo fue darle a la pieza de chocolate: dureza, brillo, contracción, ritmo de solidificación, liberación de sabor, resistencia a la floración de la grasa, tolerancia al calor y resistencia a la migración de grasa extraña.
- e. **Moldeado y enfriado:** Inmediatamente se distribuyó el chocolate líquido a los moldes de policarbonato de presentación de cinco g de forma cuadrangular, agitándolas para eliminar cualquier burbuja de aire que pueda afectar la presentación del chocolate. Se refrigeró a 10 °C por 24 h, solidificándose el chocolate completamente, incluyendo la cristalización de la manteca del cacao.

- f. **Desmoldado y empacado:** En esta etapa, se realizó la separación del chocolate cristalizado de los moldes y se separó automáticamente. El chocolate se envolvió con papel de aluminio como barrera de la humedad.
- g. **Almacenamiento:** El almacenamiento fue a una temperatura de 14 °C para su mayor seguridad, estuvo libre de todo tipo de olores y alejado de la luz solar. Antes de la prueba sensorial se sacó a temperatura ambiente.

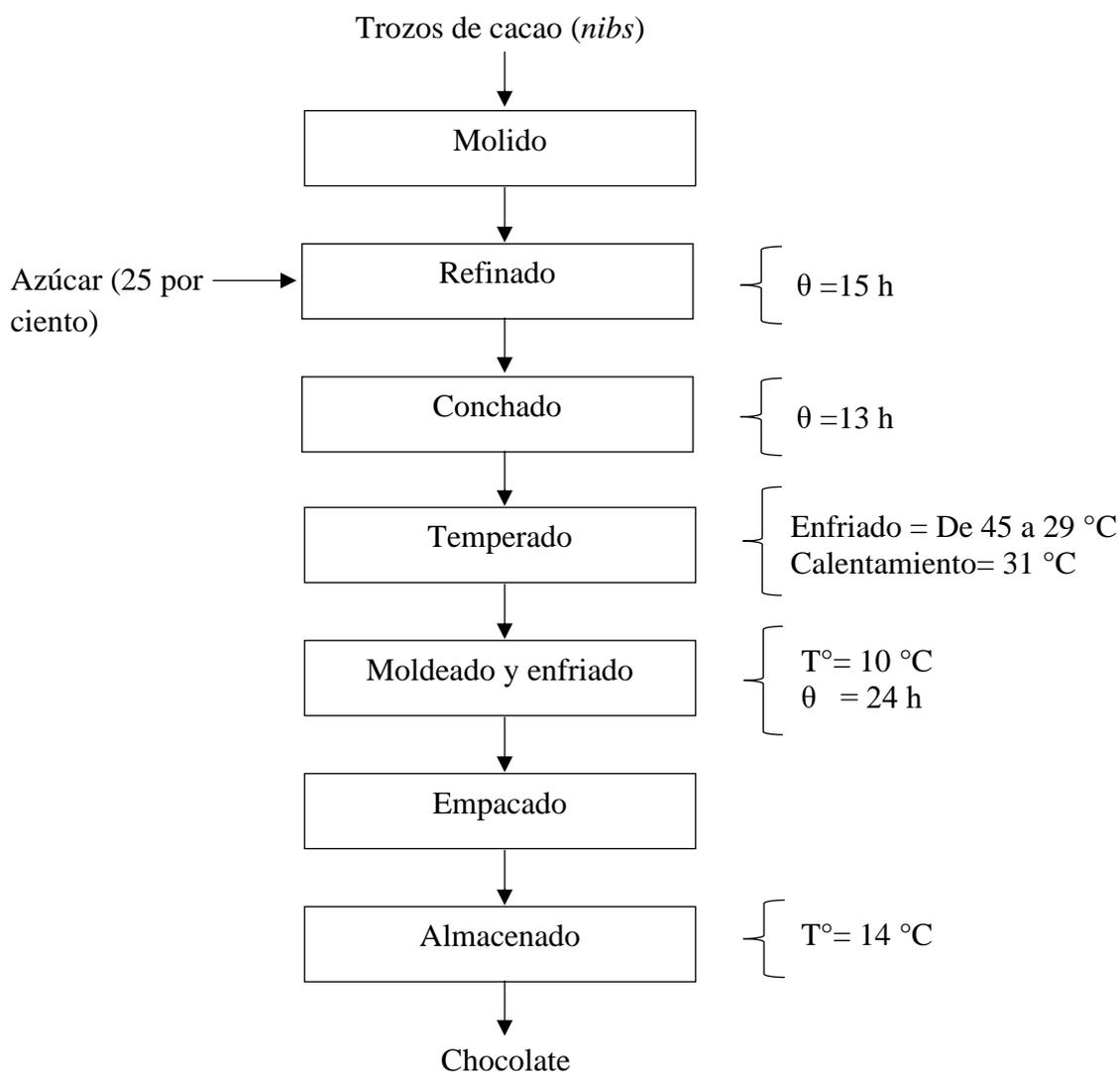


Figura 9: Flujograma de la obtención de chocolate al 75 por ciento

A las muestras de chocolate se les determinó polifenoles totales y capacidad antioxidante indicados en el acápite 3.3.3. Se realizó las pruebas sensoriales de aceptabilidad, preferencia y Check All That Apply (CATA) indicados en el acápite 3.3.4.

3.5. DISEÑO EXPERIMENTAL

3.5.1. Superficie de Respuesta

Se aplicó, para el caso del tostado en estufa y tambor rotatorio, el método de optimización de Superficie de Respuesta (MSR) con diseño factorial de tres niveles y dos factores (3^2), con tres puntos centrales a los factores de temperatura y tiempo de tostado, con nivel mínimo y máximo a ensayarse de ambas variables como se puede ver en la Tabla 4. Se obtuvo para cada modalidad de tostado, 12 tratamientos aleatorizados, y cada tratamiento se realizó por triplicado (Tabla 5).

En la investigación no se realizó screening y escalamiento debido a que se tomó en consideración dos factores significativos en el proceso de tostado: tiempo y temperatura. Se considero estos dos factores debido a los antecedentes de las investigaciones de Oracz *et al.* (2019); Pareja (2018); Aldave (2016); Hu *et al.* (2016); Oracz y Nebesny (2015); Condori (2015); Zapata *et al.* (2015) y Suazo *et al.* (2014).

El tostado es una de las operaciones tecnológicas más importantes en el procesamiento del cacao. Durante el proceso de tostado, condiciones como el tiempo y la temperatura afectan la estabilidad fenólica, así como las características del sabor resultante. Muchos estudios anteriores revelaron que la temperatura y la duración del procesamiento térmico afectaron fuertemente el carácter de los cambios físicos y químicos que ocurren en los granos de cacao durante el tostado (Oracz y Nebesny 2015).

Para el proceso de tostado se trabajó con resultados dados como polifenoles totales y capacidad antioxidante (método FRAP y DPPH).

Tabla 4: Factores y sus niveles para el método de Superficie de Respuesta

Factor	Nivel mínimo	Nivel medio	Nivel máximo
Temperatura (°C)	100	120	140
Tiempo (min)	10	20	30

Tabla 5: Diseño experimental del método de Superficie de Respuesta aplicado para el tostado en estufa y tambor rotatorio

Muestra	Variabes	Parámetros	Tratamientos	Respuestas
Grano de cacao chuncho	Temperatura (°C)	T1= 100	T1 Θ 1	<ul style="list-style-type: none"> - Cuantificación de polifenoles totales - Cuantificación de capacidad antioxidante (FRAP y DPPH)
		T2= 120	T1 Θ 3	
		T3= 140	T2 Θ 2	
			T2 Θ 2	
			T2 Θ 2	
	Tiempo (min)	Θ 1= 10	T3 Θ 3	
		Θ 2= 20	T2 Θ 2	
		Θ 3= 30	T2 Θ 3	
			T2 Θ 1	
			T3 Θ 1	
	T1 Θ 2			
	T3 Θ 2			

Se realizó el diseño experimental para cada tipo de tostador (estufa y tambor rotatorio).

3.6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

3.6.1. Análisis del método de superficie de respuesta

Se siguió la metodología de superficie de respuesta para determinar los parámetros de temperatura y tiempo en el proceso de tostado de cacao chuncho, ya sea en el tostador estufa o tambor rotatorio, con los que se logró optimizar el proceso, consiguiendo mayor valor de polifenoles y capacidad antioxidante en el cacao al finalizar el proceso. La prueba paramétrica incluyó la prueba p como parte del ANVA ($p < 0,05$).

Para el análisis estadístico se empleó el software Design-Expert® Versión 11.

3.6.2. Análisis de comparación

Luego de conseguir los valores de temperatura y tiempo óptimos para el proceso de tostado en estufa y tambor rotatorio, se aplicó la prueba de T de Student para determinar si hay diferencias significativas ($p < 0,05$) en el contenido de polifenoles totales, capacidad antioxidante, como también para el porcentaje de humedad, análisis proximal, acidez, pH y color. Además, se comparó si existen diferencias significativas entre los polifenoles totales y capacidad antioxidante de los chocolates. El software de soporte estadístico es Minitab® 19.1.1.0.

3.6.3. Análisis de Mann Whitney para prueba de aceptabilidad

A los resultados obtenidos en ambas evaluaciones organolépticas se les aplicó la prueba de análisis de varianza y comparaciones de medias con procedimientos estadísticos, utilizando un valor $p < 0,05$ (empleando la escala hedónica y un valor crítico obtenido de tablas para este análisis estadístico). El software utilizado es Minitab® 19.1.1.0.

3.6.4. Análisis de Chi-cuadrado ajustado para prueba de preferencia

Como la pregunta de la investigación durante el análisis sensorial de preferencia fue “cuál de las dos muestras le agrada más”; esto obliga a realizar una prueba estadística de dos colas, porque cualquier respuesta es correcta. Con la cantidad de muestras obtenidas se trabajó con un $p < 0,05$ y la prueba está dado por:

$$\alpha^2 = \frac{(|E - F| + \frac{1}{2})^2}{n}$$

Donde:

E = número de preferencias por la muestra 1.

F = número de preferencias por la muestra 2.

n = cantidad total de pruebas realizadas.

3.6.5. Prueba Q de Cochran

La prueba Q de Cochran permite comprobar el efecto de una variable explicativa (productos) sobre si los consumidores sienten el atributo o no. Un valor p bajo más allá del umbral de significación indica que los productos difieren significativamente entre sí. Si el valor p es significativo, el usuario puede estar interesado en examinar comparaciones múltiples por pares, representadas por pequeñas letras dentro de las celdas de la tabla: dos productos que compartan las mismas letras no difieren significativamente y dos productos que no tengan letras en común difieren significativamente (Ares *et al.* 2014).

Es utilizado ampliamente en un contexto CATA para la inferencia estadística de las diferencias entre productos por atributo. Bajo la hipótesis nula de que no existe ninguna diferencia entre los productos. Si tenemos k productos y n consumidores, necesitamos los totales de columna C_j , los totales de fila R_i y el total general de casillas marcadas para esta palabra o atributo en particular. El estadístico Q de Cochran es asintótico χ^2 -distribuido con $(nk - 1)$ grados de libertad, donde “nk” es el número de productos (Manoukian 1986; citado por Liñan 2019).

Para el análisis estadístico se empleó el software XLStat de Excel.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. CARACTERIZACIÓN DEL GRANO DE CACAO FERMENTADO Y SECO

4.1.1. Análisis físico

En la Tabla 6 (Anexo 1), se muestran los resultados del análisis físico del grano de cacao chuncho, previo al tostado. La dimensión del grano fue en promedio de largo 18,44 mm, ancho 10,59 mm, espesor 7,59 mm y una relación (L/E) de 2,49. Los resultados obtenidos son muy cercanos a lo que reporta Condori (2015) indicando de largo un promedio de 1,9 cm (19 mm) en grano de cacao chuncho. Mientras en la investigación de Lares *et al.* (2012) y Rivera (2018) encontraron dimensiones mayores en granos de cacao híbrido, en promedio mostraron de largo (23,6 mm), ancho (11,8 mm), espesor (12,3 mm) y una relación de (L/E) de 1,92; y para la varietal ICS 6 presentaron de largo (24,18 mm), de ancho (13,25 mm), de espesor (9,35 mm) y una relación (L/E) de 2,61. La diferencia de resultados según Enríquez (1989) citado por Álvarez *et al.* (2010) mencionan que el largo, ancho, espesor de los granos son características altamente heredables y gobernados por genes dominantes de la varietal del cacao. Según Álvarez *et al.* (2010) y Ndukwu *et al.* (2012), las dimensiones de los granos también se ven muy afectadas en el proceso de secado debido a que el volumen y el área superficial de los granos de cacao son afectados de manera significativa, siendo el espesor del grano, la dimensión lineal más vulnerable al cambio. En los resultados de la investigación, el cacao chuncho en estudio se caracteriza por tener una dimensión pequeña y mostró asimismo un espesor menor respecto al largo y ancho del grano. De esta manera, los granos de cacao chuncho se clasificaron como granos de tamaño pequeño, teniendo 141 granos en 100 g de grano de cacao.

En cuanto al índice de grano fue en promedio de 0,82 g/grano, resultados semejantes a 0,85 g/grano que reportaron Rojas *et al.* (2017) en el cacao chuncho común. El cacao chuncho se identifica por tener clasificación pequeña, y tener un índice de grano que va desde 0,75 hasta 1,27 por ser un cacao nativo.

Tabla 6: Características físicas del grano de cacao chuncho fermentado y seco

Características	Grano de cacao chuncho	
Dimensión¹	Largo (mm)	18,44 ± 0,48
	Ancho (mm)	10,59 ± 0,24
	Espesor (mm)	7,59 ± 0,33
	Relación (L/E)	2,49 ± 0,15
Clasificación de tamaño² (grano/100 g)	141 ± 3 (grano pequeño)	
Índice de grano³ (g/grano)	0,82 ± 0,06	
Porcentaje de cáscara⁴ (%)	16,03 ± 2,30	
Prueba de corte⁵	Grado 1	
Índice de fermentación⁶ (%)	75,64 ± 3,47	
Color⁷	L*	32,58 ± 1,61
	a*	12,02 ± 0,73
	b*	10,42 ± 1,93
	I.B	30,71 ± 1,87

¹Promedio ± la desviación estándar de tres repeticiones (60 granos c/u)

²Promedio ± la desviación estándar de tres repeticiones del recuento (100 g c/u)

³Promedio ± la desviación estándar de cinco repeticiones del peso (100 granos c/u)

⁴Promedio ± la desviación estándar de tres repeticiones (50 granos c/u)

^{5 y 6}Promedio ± la desviación estándar de tres repeticiones (300 granos c/u)

⁷Promedio ± la desviación estándar de cuatro repeticiones (20 granos c/u)

En cuanto al porcentaje de cáscara fue de 16,03 por ciento, un promedio elevado a lo que indica INDECOPI (2008), que como máximo debe tener 12 por ciento de cascarilla. En la investigación de Álava (2016) reportó en un cacao nacional fino de aroma un promedio de 17 por ciento de cáscara; y Álvarez *et al.* (2007) y Perea-Villamil *et al.* (2009), encontraron para los granos grandes un 10 por ciento (con variaciones entre el 11 y 12 por ciento); y en los granos medianos y de menor tamaño estuvieron entre 12 y 16 por ciento; valor similar a lo reportado a la investigación. Según Lares (2012) menciona que el porcentaje de cáscara es importante conocerlo,

debido a que provee una relación de las pérdidas que deberá sobrellevar la industria cuando utilice los cotiledones para su procesamiento. Por lo que la industria del cacao suele requerir granos con peso seco superior a un gramo y como máximo 12 por ciento de cáscara, el cual el grano de cacao chuncho en estudio, no cumple, pero es muy valorado en la industria y en el mundo por ser un cacao fino de aroma.

En la Tabla 6, se observa que el grano de cacao chuncho fue de Grado 1, según la clasificación del INACAL (2016b) de la prueba de corte, y nos indica una buena calidad del grano. Respecto al índice de fermentación fue de 75,64 por ciento, donde se fermentó en cajas de madera en forma de escalera, durante 6 días de fermentación; este resultado es similar al obtenido por Rivera (2018), con 75,0 por ciento para la varietal ICS 6, empleando cinco días de fermentación en cajones de madera. En el estudio de Condori (2015) reportó resultados menores con un 59 por ciento para granos de cacao chuncho, con 5,5 días de fermentación. Mientras en la investigación de Aldave (2016), reportó un porcentaje mayor de 93 por ciento en la varietal CCN 51; la fermentación fue en sacos de yute, con un tiempo de fermentación de 6 días. En el estudio de Gutiérrez *et al.* (2007) mencionan que el índice de fermentación adecuada debe ser mayor a 60 por ciento y 75 por ciento respectivamente, lo cual señala que el resultado obtenido en la investigación (75,64 por ciento) es un proceso fermentativo adecuado.

Según Afoakawa *et al.* (2012), Loayza (2014), Rivera *et al.* (2012) y García-Alamilla (2000), indican que la obtención de un buen índice de fermentación depende del proceso poscosecha. Las variables que definen su eficiencia son: aguante de mazorca (tiempo de almacenamiento antes del desgranado); frecuencia de remoción, el cual puede variar cada 24 ó 48 horas; tipo de fermentador, los cuales pueden ser cajas de maderas, sacos, canastas o por montones y por último el tiempo de fermentación, el cual dependerá de la época de cosecha, la procedencia y la varietal de cacao.

Como se puede observar en la Tabla 6, en el color la coordenada a^* fue 12,02, yendo hacía el color rojo, esto se debe al proceso de fermentación que pasa los granos de cacao, según Garzón (2008) al enrojecimiento de las antocianinas, ya que estas macromoléculas sufren un cambio estructural en condiciones ácidas (Cación flavilio

AH-), teniendo como consecuencia un viraje de púrpura (pH cercano al neutro) al color rojo (pH ácido).

La coordenada b^* fue 10,42 que indica la variación del azul (-) y color amarillo (+); este resultado obtenido predomina el color amarillo sobre el azul y se debe al pardeamiento, como consecuencia de la presencia de polifenoles oxidados por acción de la enzima polifenol oxidasa (Afoakawa *et al.* 2012). Los valores obtenidos son mayores a los obtenidos por Rivera (2018), quien registró un valor de a^* de 9,35 y b^* de 6,77 en la varietal de ICS 6, con cinco días de fermentación. La luminosidad (L^*) de la investigación fue de 32,58 y el índice de blancura fue de 30,71 se debe al oscurecimiento de los granos. Este fenómeno es producido por la hidrólisis de las antocianinas y la posterior oxidación de agliconas a compuestos quinónicos, los cuales contribuyen a la formación de compuestos pardos característicos del cacao fermentado y seco (Ortiz *et al.* 2009). Los valores de índice de blancura difieren por Ortiz *et al.* (2009) reportando para el criollo 37,48 y para el forastero 38,21; y por Rivera (2018) valores de 26,93 y 29,23. Los resultados de la luminosidad (L^*) reportados por algunos autores varían, según Chire *et al.* (2016) menciona de 31,36 a 36,7; Rivera (2018), de 27,86 a 30,22; Ortiz *et al.* (2009), de 39,04; Alegría (2015), de 30,81 y Afoakawa *et al.* (2012), de 38,92. Estas diferencias de a^* , b^* , L^* e I.B pueden atribuirse a los distintos métodos de fermentación empleados, la varietal de cacao y la procedencia de los mismos.

Según Alegría (2015), el color de los granos de cacao también obedece al grado de fermentación y al secado. Lemus *et al.* (2002); citados por Ortiz *et al.* (2009), indican que, al fermentar el cacao, el color del grano cambia a una tonalidad parda, que difiere entre los tipos de cacao, el color oscuro es generado por la hidrólisis de la antocianina y la posterior oxidación de las agliconas. Un grano cuyo proceso de fermentación haya sido correcto, tiene un color café oscuro o canela, lo que indicaría que los granos con coloración marrón clara a rojiza tienen escasa fermentación (FNC 2004). Además, Adriazola (2003) menciona que el proceso de oxidación ocurre durante el secado, el oxígeno ingresa a los cotiledones terminando de conferir un color marrón característico. Dicho esto, la diferencia del color de los granos de cacao fermentado no solo se atribuye a la diferencia de varietales o procedencia de las muestras, sino también al proceso poscosecha y a su eficiencia.

4.1.2. Análisis fisicoquímico

En la Tabla 7 (Anexo 2), se observa el contenido de humedad de los granos de cacao con un valor de 5,64 por ciento, encontrándose por debajo al 7,5 por ciento como límite máximo que establece la norma (INACAL 2016c). Lo que las hacen ser consideradas seguras para su almacenamiento y transporte. El valor hallado es cercano a los conseguidos por Pareja (2018) quien reporta una humedad de 5,60 por ciento en el grano de cacao chuncho; y por Rivera (2018) obteniendo una humedad de 5,49 por ciento en el grano de cacao de la varietal ICS 6. Si supera el límite máximo permitido de humedad, el grano de cacao además de pérdidas se tiene un alto riesgo de contaminación por mohos, bacterias e insectos (INACAL 2016c). La actividad de agua fue de 0,54, valor cercano a lo que reportaron Salazar *et al.* (2020) de 0,41 y 0,67 de actividad de agua en grano de cacao. De igual forma Saza y Jiménez (2020) reportaron un rango de actividad de agua entre 0,15 y 0,89, del mismo modo se encuentran nuestro resultado dentro del rango. El valor de la actividad de agua refleja la cantidad de agua disponible metabólicamente para que un microorganismo se desarrolle en un alimento y es un factor determinante para la seguridad y conservación del mismo (Vega y Lara 2006, citados por Saza y Jiménez 2020).

Tabla 7: Análisis fisicoquímico del grano de cacao chuncho fermentado y seco

Análisis*	Base húmeda (%)	Base seca (%)
Humedad	5,64 ± 0,05	-
Actividad de agua	0,54 ± 0,01	-
Ceniza	4,02 ± 0,09	4,26 ± 0,10
Grasa cruda	45,40 ± 0,28	48,12 ± 0,30
Proteína cruda	12,36 ± 0,31	13,10 ± 0,33
Fibra cruda	14,06 ± 0,04	14,90 ± 0,04
Carbohidratos totales	32,57 ± 0,16	34,52 ± 0,20

*Promedio ± la desviación estándar de tres repeticiones

La cantidad de ceniza fue de 4,26 por ciento en base seca el cual difiere a lo obtenido por Pareja (2018), que reportó datos para ceniza de 2,91 por ciento y Rivera (2018) valores de 2,22 por ciento para CCN 51 y 2,41 por ciento para ICS 6. Pero se encuentra

en semejanza con los datos reportados por Ortiz *et al.* (2009) cantidades de ceniza de 3,21 a cuatro por ciento. La diferencia de estos datos se debería a la gran actividad microbiana que se desarrolla en el proceso de fermentación y del requerimiento de sustratos para realizarlo, y también difiere por las variedades analizadas (Pareja 2018).

El valor de grasa cruda fue de 48,12 por ciento en base seca similar al porcentaje encontrado por Pareja (2018) con un 48,27 por ciento en cacao chuncho y por Aldave (2016) expresando un porcentaje de grasa del 45,13 por ciento en la variedad CCN 51. Existe diferencia con los resultados reportados por García (2012), con un porcentaje de grasa del 54 por ciento en los granos de las variedades CCN 51 e ICS 6. La diferencia en los resultados se puede atribuir al genotipo y lugar de origen de las muestras.

En la Tabla 7, el porcentaje de proteína cruda encontrado fue de 13,10 por ciento en base seca, cercano al resultado que reporta Carrillo (2011) con un valor de 13,56 por ciento. Con respecto al contenido de fibra cruda fue de 14,90 por ciento en base seca, superior a los porcentajes reportados por Aldave (2016) con un valor de 9,18 por ciento y por Rivera (2018) de 5,74 por ciento. Por otro lado, el contenido de carbohidratos totales fue de 34,52 por ciento en base seca, encontrándose superior a lo reportado por Álvarez *et al.* (2007), cuyo valor promedio fue de 27 por ciento. Pero hubo cercanía con lo que reportó Aldave (2016) con un porcentaje de 36,78. Estas diferencias en los resultados respecto a otros autores se le atribuyen a la diferencia de variedades evaluadas, a la procedencia de los mismos y al proceso de poscosecha (Ortiz *et al.* 2009).

4.1.3. Análisis químico

En la Tabla 8 (Anexo 3), el pH del grano de cacao chuncho fue de 5,02; este resultado fue igual al de Rivera (2018) quien registró un valor de pH de 5,02 para la variedad CCN 51. Afoakwa *et al.* (2008), postularon que el cacao fermentado con un pH entre 5,5 - 5,8 es considerado como pobremente fermentado, mientras que un cacao con un pH entre 4,7 - 5,2 se considera que ha sido fermentado adecuadamente. Dicho esto, y comparando con los resultados de la investigación, se puede mencionar que los granos tuvieron una fermentación adecuada.

Según Rivera (2018) y García-Alamilla (2000) el tiempo de fermentación tiene un efecto significativo sobre el pH de los granos. El pH inicialmente es casi neutro, el cual

disminuye progresivamente debido a la difusión de los ácidos (mayor representación de ácido acético en un 95 - 98 por ciento y pequeñas concentraciones de ácido láctico) formados en la fermentación de la pulpa externa hasta el cuarto día de fermentación, para luego mantenerse constante y en el último día se verifica un pequeño incremento. Según García *et al.* (2002) el pH de los granos de cacao tiende a aumentar en los últimos días de fermentación, debido a la formación de gradientes de acidez en la estructura del grano. En el secado ocurren pérdidas de ácido acético por volatilización y según Zambrano *et al.* (2010), en el secado los granos de cacao pueden aumentar su pH de 4,6 a 5,1; encontrándose dentro de ese rango el resultado de la investigación.

Tabla 8: Análisis de pH y porcentaje de acidez del grano de cacao chuncho fermentado y seco

Análisis*	Resultado
pH	5,02 ± 0,13
Acidez (ácido acético) (%)	1,14 ± 0,13

*Promedio ± la desviación estándar de tres repeticiones

El porcentaje de acidez fue de 1,14 por ciento de ácido acético, resultados semejantes a valores de 1,22 y 1,39 por ciento reportados por Pareja (2018) y Lares *et al.* (2012), respectivamente. Mientras, Rivera (2018) reporta para la varietal CCN 51 una acidez de 2,04 por ciento de ácido acético, el cual es diferente a los resultados obtenidos, indicando que se obtuvo granos con mayor acidez. Esta diferenciación se debería a que, durante la fermentación tradicional del cacao, se forma una fracción volátil de ácidos orgánicos, principalmente ácido acético y después la superficie del grano pierde acidez por evaporación debido a las altas temperaturas de fermentación, mientras que el centro se mantiene invariable; este ácido también se eliminaría parcialmente durante el secado (Lee *et al.* 2001).

En la investigación de Zambrano *et al.* (2010), mencionan que la acidez de los granos de cacao puede incrementar en el secado, mostrando diferencias significativas antes y después del proceso. Esto se debe a la contracción de la cascarilla, que cierra el grano y dificulta la difusión del ácido acético al exterior, mientras que el agua, por su tamaño molecular puede pasar libremente por la barrera. Sin embargo, Díaz y Pinoargote

(2012), mencionan que este fenómeno ocurre generalmente en el secado mecánico, donde la rapidez del proceso no permite la difusión del ácido acético, obteniéndose un producto ácido y poco deseado para la industria chocolatera. En la investigación, la muestra de cacao chuncho fue secada al sol gradualmente y removidas cada cierto tiempo para la disminución de humedad y acompañada con la eliminación de ácidos orgánicos volátiles, principalmente ácido acético.

En la Tabla 9 (Anexo 4), se puede observar diferencia significativa ($p < 0,05$) en la cantidad de polifenoles totales (PT) sin desengrasar (40,92 mg EAG/g b.s) y desengrasado (57,65 mg EAG/g b.s). Así mismo, Castro *et al.* (2016) reportan resultados similares obteniendo diferencias significativas en los valores de PT en el cacao antes y después del proceso de desengrasado, fluctuando entre 5,39 y 6,26 g EAG/100g (53,9 y 62,6 mg EAG/g); respectivamente. Además, Hu (2016) reportaron que los PT con el proceso de desengrasado aumentaron el doble, teniendo valores sin desengrasar (27,74 mg EAG/g) y desengrasado (55,58 mg EAG/g), en un cacao forastero. Los valores del contenido de polifenoles del cacao beneficiado desengrasado fueron mayores, esto es debido a que existe una disminución de la grasa que interfiere en la cuantificación puesto que los PT se encuentran principalmente en el sólido de cacao sin grasa (Castro *et al.* 2016 y Hu 2016).

Tabla 9: Contenido de polifenoles totales y capacidad antioxidante del grano de cacao chuncho fermentado y seco

Grano de cacao sin tostar*	Polifenoles totales (mg EAG/g b.s)	Capacidad antioxidante	
		FRAP ($\mu\text{mol Eq. Trolox/g b.s}$)	DPPH ($\mu\text{mol Eq. Trolox/g b.s}$)
Sin desengrasar	40,92 \pm 3,44 ^a	180,64 \pm 4,42 ^a	337,01 \pm 5,08 ^a
Desengrasado	57,65 \pm 5,05 ^b	200,92 \pm 6,05 ^a	337,14 \pm 3,44 ^a

^(b.s) Base seca

* Promedio \pm la desviación estándar de tres repeticiones. Letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas ($p < 0,05$) de menor a mayor en orden alfabético

Los granos de cacao chuncho sin tostar tuvieron un contenido alto de polifenoles totales (57,65 mg EAG/g b.s), (Tabla 9), en comparación al reporte de Condori (2015) quien

mostró 1,58 mg EAG/g de PT en cacao chuncho; y en la investigación de Urbańska y Kowalska (2019) reportaron PT en granos de cacao de diferentes regiones del mundo, como en Ecuador (25,42 mg EAG/g), Colombia (37,66 mg EAG/g), Ghana (25,21 mg EAG/g), República Dominicana (19,65 mg EAG/g), Venezuela (10,34 mg EAG/g) y Perú (27,78 mg EAG/g). Mientras los resultados se asemejan a Zapata *et al.* (2013) al encontrar valores de PT de entre 22,58 y 50,23 mg EAG/g, en cinco clones de cacao colombiano; Pedan *et al.* (2017), en 31 muestras de cacao fermentado de diferentes orígenes de Centro y Sudamérica, mostraron valores de PT que fluctúan entre 32,76 y 61,13 mg EAG/g; y Samaniego *et al.* (2020) mostraron en el cacao Nacional desengrasado en 17 cantones tanto de la Costa Pacífica como de la Región Amazónica, un rango de PT de 33,55 a 71,66 mg EAG/g. La diferencia de resultados puede atribuirse a varios factores internos y externos que afectan la cantidad de los polifenoles totales en el cacao, como la diversidad genética (cultivar y origen de la muestra), la región geográfica del cultivo, variables ambientales (temperatura, radiación, altitud), manejo agronómico (condiciones del suelo), cosecha (madurez) y manejo poscosecha (fermentación, secado y almacenamiento) (Acevedo *et al.* 2017; Delgado *et al.* 2018; Samaniego *et al.* 2020; Oracz y Nebesny 2015; Carrillo *et al.* 2013).

La varietal del cacao tiene influencia directa; puesto que el factor genético y factores ecofisiológicos son predominantes en las características del grano, como el tamaño del grano, composición química y propiedades sensoriales (Othman *et al.* 2017; Hernández-Hernández *et al.* 2018; Pedan *et al.* 2017). Por lo tanto, la concentración de polifenoles varía de un genotipo a otro. La literatura informa que los granos de cacao de la variedad forastero contienen mayor cantidad de compuestos fenólicos (Clapperton 1994; Wollgast y Anklam 2000; Jalil y Ismail 2008; Nazaruddin *et al.* 2006) entre 30 y 60 por ciento más que el grupo criollo (De Brito *et al.* 2000). En el presente estudio se observó un alto contenido de polifenoles totales en el cacao chuncho y esto se podría explicar a que pertenece según el catálogo de cultivares de cacao del Perú de García (2014) a un forastero Alto Amazonas.

Además de las variaciones genéticas, un gran efecto sobre la composición de los polifenoles es la fermentación y secado que se lleva a cabo en los países de origen (Pedan *et al.* 2017). Generalmente, durante la fermentación, los microorganismos y enzimas endógenas conducen a una degradación de la pulpa que envuelve los granos

frescos y limita el desarrollo de microorganismos patógenos. Se forman precursores de sabor y los polifenoles experimentan una transformación enzimática y no enzimática. En detalle, los polifenoles se difunden desde las vacuolas a través de los cotiledones y se convierten en sustratos de enzimas que conducen a reacciones de oxidación y polimerización e interactúan covalentemente y no covalentemente con proteínas o polisacáridos (De Brito *et al.* 2002). La oxidación enzimática es catalizada por la polifenol oxidasa que forma compuestos quinónicos, los cuales se condensan y se forman polímeros marrones de alto peso molecular. La oxidación no enzimática está mediada por el oxígeno que difunde al interior del cotiledón durante la remoción de la masa fermentativa (Albertini *et al.* 2015; Wollgast y Anklam 2000; Hansen *et al.* 1998; Efraim *et al.* 2010). Durante el secado continúan las reacciones de oxidación enzimáticas iniciadas en la fermentación acompañadas de una oxidación no enzimática, pero estas van decayendo a medida que el cotiledón pierde humedad (Efraim *et al.* 2010; Kyi *et al.* 2005). En general, la disminución en la cantidad de polifenoles va acompañada de un pardeamiento enzimático y no enzimático que da como resultado polímeros bastante complejos y el aumento de polifenoles puede reflejar una formación de proantocianinas poliméricas (Pedan *et al.* 2017; Niemenak *et al.* 2006). Varios estudios sobre diferentes genotipos de cacao en otros países reportan resultados variados en el contenido de polifenoles por el manejo poscosecha debido a que depende de diferentes parámetros.

En la Tabla 9, la capacidad antioxidante por el método FRAP y DPPH, no hubo diferencia significativa antes y después del desengrasado, pero en el estudio de Castro *et al.* (2016) sí tuvo diferencias significativas para cacao beneficiado desengrasado, que representa el 21,9 por ciento más que el cacao sin desengrasar. Según explica Hu *et al.* (2016) se debe a que los compuestos antioxidantes como los polifenoles y los flavonoides se encuentran principalmente en el sólido de cacao no graso, donde los antioxidantes se concentran esencialmente.

En el presente estudio para la capacidad antioxidante por el método FRAP se obtuvo un valor de 200,92 $\mu\text{mol Eq. Trolox/g b.s.}$, para grano de cacao chuncho desengrasado (Tabla 9). Pancardo (2016) reportó resultados cercanos al nuestro, con un valor de 190 $\mu\text{mol Eq. Trolox/g}$ en un cacao de México, fermentado al 75 por ciento, presentando la mayor actividad antioxidante que a 53 por ciento (138 $\mu\text{mol Eq. Trolox/g}$) y 100 por

ciento (137 $\mu\text{mol Eq. Trolox/g}$) de fermentación. La actividad antioxidante del cacao puede verse afectada por el índice de fermentación, en el caso del grano de cacao chuncho estudiado, tuvo un 75,64 por ciento de índice de fermentación; y Pancardo (2016) indica que un grano fermentado a 75 por ciento presenta fermentación anaerobia y aerobia parcial, esto favorece a la actividad antioxidante, ya que al presentarse dicha fermentación aerobia los compuestos fenólicos sufren hidrólisis, y esto potencializa dicha capacidad antioxidante del cacao.

Se observa en la Tabla 9, la actividad atrapadora del radical DPPH en el cacao chuncho donde fue de 337,14 $\mu\text{mol Eq. Trolox/g b.s. desengrasado}$, y se encuentra dentro del rango de la investigación de Zapata *et al.* (2013) que varió el contenido de capacidad antioxidante entre 253,75 y 464,64 $\mu\text{mol Eq. Trolox/g}$ en los granos fermentados. La actividad de eliminación de radicales libres de DPPH fue mayor al resultado reportado por Ooi *et al.* (2019), fueron de 113,85 a 328 $\mu\text{moles Eq. Trolox/g}$ en cacao de Malasia; y menor a los resultados reportados por Oracz y Nebesny (2015) cuyos valores oscilaron de 323,80 a 1370,07 $\mu\text{mol Eq. Trolox/g}$ en cacao provenientes de Brasil (forastero), Ecuador (Nacional), Papua Nueva Guinea (trinitario), Venezuela (trinitario), Ghana (Alto Amazonas Forastero híbrido), Indonesia (trinitario) y Camerún (trinitario). Estas distintas diferencias pueden atribuirse a la diversidad de variedades y regiones de cultivo de *Theobroma cacao* L., las condiciones climáticas, las manipulaciones poscosecha y las condiciones de almacenamiento pueden afectar las propiedades antioxidantes de los granos de cacao (Wollgast y Anklam 2000; Di Mattia *et al.* 2013).

Los niveles de compuestos fenólicos podrían haber disminuido durante la fermentación y el secado de los granos de cacao. Algunos autores informan que el contenido total de fenoles y la actividad antioxidante fueron mayores en los granos de cacao sin fermentar que en las muestras fermentadas. Esta reducción está relacionada principalmente con la oxidación no enzimática o enzimática de catequinas a o-quinonas, y la condensación de compuestos oxidados con otros polifenoles a sustancias altamente polimerizadas como las proantocianidinas (taninos condensados) (Oracz y Nebesny 2015; Di Mattia *et al.* 2013; Suazo *et al.* 2014). Además, durante la fermentación y el secado, las proantocianidinas pueden formar complejos insolubles con proteínas, aminoácidos, polisacáridos de la pared celular y otros compuestos fenólicos. Por lo contrario, según

el estudio realizado por Batista *et al.* (2015) encontraron un incremento de la actividad de captación de radicales libres de DPPH durante la fermentación.

La diferencia en los hallazgos podría estar relacionada con el uso de la varietal de cacao. La actividad de eliminación de radicales libres DPPH de los granos de cacao también depende en gran medida de la composición de los cultivares de cacao utilizados. Se sabe que varios clones poseen diferentes niveles de polifenoles y antioxidantes. Además, el tipo de condiciones de crecimiento en el cultivo del fruto del cacao, el tiempo de cosecha y las condiciones de secado aplicadas a los granos de cacao también contribuirían a la variación en la capacidad antioxidante (Batista *et al.* 2015; Oracz y Nesbeny 2015).

4.1.4. Análisis microbiológico

En la Tabla 10, se observa el resultado de los análisis microbiológicos sometidos al grano de cacao chuncho, en la que la numeración de bacterias aerobias mesófilas viables fue de 7,01 log UFC/g, la numeración de mohos y levaduras presenta valores menores de 2 log UFC/g y en la detección de *Salmonella sp.* hubo ausencia en 25 gramos; lo cual nos indica que el grano de cacao chuncho se encontró en óptimas condiciones microbiológicas para ser almacenado y procesado. En la investigación de Sinche (2011) y Otárola (2018), obtuvieron resultados similares a estos resultados en el análisis de mohos y levaduras en grano de cacao, donde la población son valores menores a 100 UFC/g (2 log UFC/g) e indica que no representa peligro de formación de aflatoxinas durante el almacenamiento.

Tabla 10: Análisis microbiológico del grano de cacao chuncho fermentado y seco

Análisis	Resultado
Bacterias aerobias mesófilas viables (log UFC/g)	7,01
Número de mohos y levaduras (log UFC/g)	< 2
Detección de <i>Salmonella sp.</i>	Ausencia/25 g

4.2. OPTIMIZACIÓN DEL PROCESO

Para la etapa de optimización, se consideró un diseño factorial de tres niveles y 2 factores; con tres puntos centrales y dos variables fueron evaluadas: temperatura (100, 120 y 140 °C) y tiempo (10, 20 y 30 min) de tostado, para la optimización por tostador en estufa (TE) y tambor rotatorio (TR). El criterio para la optimización fue la cantidad de polifenoles totales y capacidad antioxidante del cacao (por el método poder antioxidante de reducción férrica (FRAP) y método depleción del oxido 2,2-difenil-1-picrilhydrazil (DPPH)), siendo el objetivo maximizarlos.

4.2.1. Optimización por tostador en estufa

a. Polifenoles totales

Los valores experimentales promedios de contenido de polifenoles totales y valores estimados se muestran en la Tabla 11. Los valores obtenidos tanto los experimentales como los estimados de acuerdo con la ecuación de segundo orden indican que existió un adecuado procedimiento de cuantificación.

En los valores experimentales del contenido de polifenoles totales (PT) de la Tabla 11 (Anexo 6), oscilaron entre 39,40 y 63,63 mg EAG/g b.s en cacao chuncho. En la investigación de Quispe (2014) encontró en 10 cultivares de cacao chuncho tostados a 115 °C por 10 min, contenidos de polifenoles totales que variaron de 6,34 a 22,77 mg EAG/g; resultados mucho menores a los obtenidos en el presente estudio. De la misma forma en el estudio de Pancardo (2016) reportó menor cantidad de PT en cacao tostados a una temperatura de 140 °C en un tiempo de 20 y 30 min, oscilando en un rango de 0,63 y 1,46 g EAG/100 g (6,3 y 14,6 mg EAG/g). Mientras, en la investigación de Fernández (2018) indica que el contenido de PT varió de acuerdo a la temperatura del proceso de tostado, teniendo 63,118 mg EAG/g a una temperatura de 90 °C y 24,121 mg EAG/g a 200 °C. Por otro lado, Stanley *et al.* (2018) reportaron en el tostado a una temperatura de 100, 130, 150, 170 y 190 °C durante 40 min, dieron como resultado una disminución en los PT de 9,7; 18,5; 12,5; 29,3 y 39,9 por ciento, respectivamente. Esta variación entre estudios podría depender que existe una variación entre el contenido de polifenoles totales entre los diferentes cultivares de cacao chuncho dado que el genotipo del grano de cacao influye en la cantidad de polifenoles (Gil *et al.* 2021).

Tabla 11: Resultados experimentales del diseño factorial de tres niveles y dos factores (3²) con tres puntos centrales, respectivo al método de superficie de respuesta, correspondientes a polifenoles totales y capacidad antioxidante (FRAP y DPPH) del cacao chuncho tostado en estufa (TE)

Corridas*	Variables independientes		Polifenoles totales (mg EAG/g b.s)		Capacidad antioxidante (μmol Eq. Trolox/g b.s)			
	A: Temperatura (°C)	B: Tiempo (min)	Ȳ ₁ :	Ŷ ₁ :	FRAP		DPPH	
			Experimental	Estimado	Ȳ ₂ : Experimental	Ŷ ₂ : Estimado	Ȳ ₃ : Experimental	Ŷ ₃ : Estimado
1	100	10	54,48 ± 3,68	53,80	207,86 ± 0,78	206,45	335,96 ± 5,16	333,01
2	100	20	59,65 ± 4,99	59,82	227,99 ± 0,47	233,52	368,09 ± 9,05	366,53
3	100	30	58,75 ± 2,26	59,27	241,60 ± 6,05	237,49	353,61 ± 3,14	358,10
4	120	10	60,11 ± 2,67	62,79	260,04 ± 7,61	259,84	391,91 ± 3,16	403,48
5	120	20	63,63 ± 0,05	62,10	262,84 ± 2,46	258,46	421,77 ± 4,37	409,45
6	120	20	63,39 ± 1,13	62,10	260,15 ± 0,60	258,46	416,45 ± 3,18	409,45
7	120	20	63,07 ± 3,13	62,10	259,56 ± 1,63	258,46	414,21 ± 9,71	409,45
8	120	20	61,27 ± 4,93	62,10	256,30 ± 6,46	258,46	393,68 ± 7,86	409,45
9	120	30	54,58 ± 2,70	54,85	228,77 ± 7,99	233,98	376,78 ± 5,47	373,48
10	140	10	61,95 ± 2,09	59,95	270,63 ± 2,39	272,23	422,92 ± 2,77	414,28
11	140	20	49,77 ± 4,58	52,56	242,90 ± 4,53	242,40	382,88 ± 1,64	392,71
12	140	30	39,40 ± 3,76	38,60	190,58 ± 3,48	189,48	330,40 ± 0,34	329,19

*Promedio ± la desviación estándar de tres repeticiones.

- **Evaluación del modelo matemático y análisis de varianza**

La aplicación de la MSR generó un modelo matemático de segundo orden (cuadrático), indicando la relación entre la variable de respuesta polifenoles totales (Y, mg EAG/g b.s) y las variables independientes, temperatura (°C) y tiempo (min), dicha ecuación se muestra en el Anexo 9.

En la evaluación estadística, el análisis de varianza del modelo cuadrático indica que es significativo ($p < 0,05$), representando adecuadamente la relación entre los factores elegidos (Anexo 10). En las variables indica que la temperatura y el tiempo tuvieron efectos significativos, presentando una significancia ($p < 0,05$), es decir, la temperatura y el tiempo tuvieron influencia en la cantidad de polifenoles totales del cacao. Las interacciones AB (temperatura*tiempo), AA (temperatura*temperatura) y BB (tiempo*tiempo) fueron significativos, indicando que tiene efecto curvatura. La falta de ajuste (*lack of fit*) no fue significativo, mostrando que los resultados experimentales se ajustan adecuadamente al modelo para predecir el contenido de polifenoles totales (Tan *et al.* 2014). Con respecto al error puro, se observa que la suma de cuadrados es pequeña en comparación a la suma de cuadrados del total, presentando así una buena reproducibilidad en el punto central (Ayala y Pardo 1995; Quanhong y Caili 2005). El coeficiente de determinación R^2 fue de 0,95; nivel que garantiza un buen ajuste razonable del modelo a los datos experimentales y alto grado de correlación (Firatligil-Durmus y Evranuz 2010).

Al evaluar el coeficiente de variación (CV), se pudo establecer un 3,63 por ciento, lo que indica una buena precisión y alta confiabilidad del experimento realizado. Como regla general, un modelo puede considerarse razonablemente reproducible si su CV no es mayor al 10 por ciento (Irakoze y Sindayigaya 2010).

- **Análisis de superficie de respuesta y comportamiento de perturbación**

Se analizó la influencia de los factores estudiados en la cantidad de polifenoles totales del cacao mediante ploteos de la superficie de respuesta (Figuras 10 y 11) y gráfico de perturbación como se ve en la Figura 12.

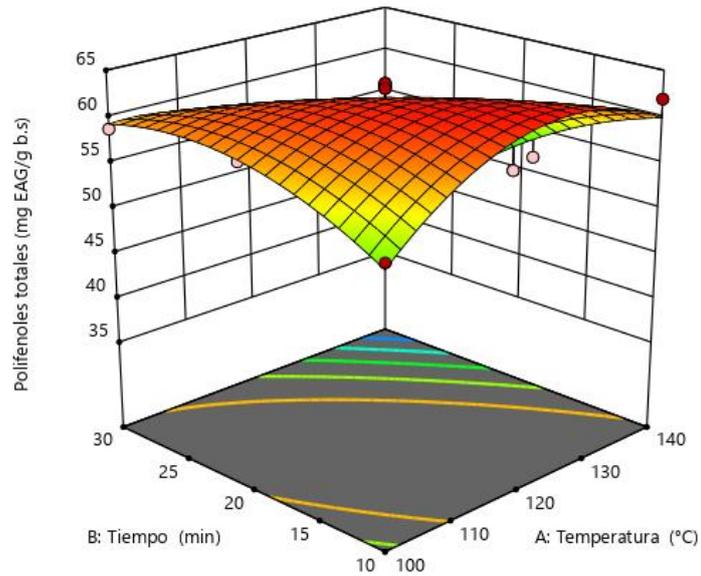


Figura 10: Superficie de respuesta del contenido de polifenoles totales del grano de cacao en función a la temperatura y el tiempo, tostado en tostador estufa (TE)

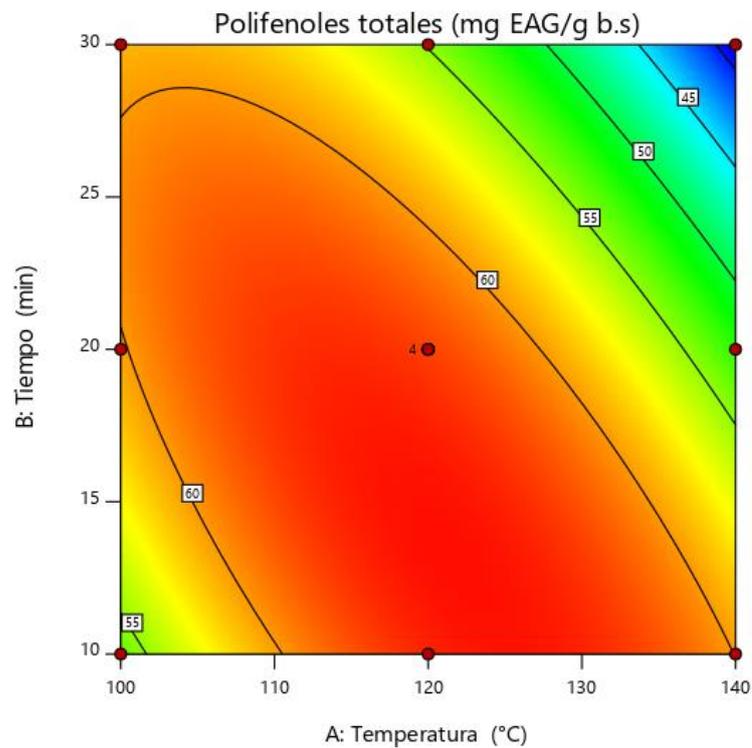


Figura 11: Contorno de la superficie de respuesta estimada para los polifenoles totales en función a la temperatura y el tiempo, tostado en TE

En las Figuras 10 y 11, se observan en las gráficas un comportamiento que va desde el color verde (nivel intermedio), después incrementa a un color rojo (nivel más alto) y desciende hasta el color azul (nivel más bajo). En este caso, la variación de la temperatura y el tiempo en el tostado revelaron que el máximo nivel de contenido de polifenoles (63,63 mg EAG/g b.s) se obtuvo cuando la temperatura fue de 120 °C y el tiempo de 20 min en el tostador estufa. Con respecto a la temperatura se encontró similitud en el estudio de Chávez (2012) alcanzando obtener menor degradación de los polifenoles a una temperatura de tostado de 120 °C con un contenido de polifenoles de 4,036 g EAG/100 g (40,36 mg EAG/g). Por lo contrario, Fernández (2018) encontró las mejores concentraciones de polifenoles totales en temperatura de 130 °C en un tiempo de 10 min. La razón del aumento del contenido de polifenoles en el tostado por tostador estufa se podría explicar debido a que la muestra de cacao chuncho tuvo un 75,64 por ciento de fermentación y el restante fue cacao no fermentado, por lo que no se podrían haber difundido los polifenoles de su celda de almacenamiento durante la fermentación (Suazo *et al.* 2014). Según Kim *et al.* (2006) demostraron que con condiciones de calentamiento aumentaba el contenido fenólico de las semillas de uva, ya que con el calor se liberaban polifenoles de sus celdas de almacenamiento y después con el tiempo la degradación. El aumento de los valores de polifenoles totales también podría ser expuesto por la formación de procianidinas de alto peso molecular, así como la generación de reductonas y melanoidinas como resultado de las reacciones de pardeamiento no enzimático (Reacción de Maillard), que se producen durante el tostado (Acevedo *et al.* 2017). Por ende, indica Payne *et al.* (2010) que a lo largo del tostado incrementan asimismo el nivel de catequina que resultaron casi con certeza el efecto de la epimerización de (-) epicatequina a (-) - catequina a temperaturas de tueste superiores a 70 °C.

Se observa en las Figuras 10 y 11, el valor mínimo de contenido de polifenoles (39,40 mg EAG/g) se obtuvo cuando la temperatura fue de 140 °C y el tiempo de 30 min en el tostador estufa. En la literatura se encontró resultados semejantes en la temperatura, según Di Mattia *et al.* (2013) reportaron que en el tostado de cacao por encima de los 130 °C existe una reducción significativa en el nivel de polifenoles. Además, Pancardo (2016) en su investigación reportó que a una temperatura de 140 °C y 180 °C disminuyen drásticamente los polifenoles totales; y Oracz y Nebesny (2015) indican que a una temperatura de 150 °C conduce también a una disminución considerable del contenido total de fenoles en todos los cultivares de cacao estudiados. Respecto al tiempo, según

Ioannone *et al.* (2015) informaron que durante mucho tiempo durante el tostado, los polifenoles reducen su concentración. Asimismo, Fernández (2018) sometió los granos de cacao criollo a un proceso de tostado y mostró que el contenido de polifenoles totales varió de acuerdo con el tiempo de tostado, en el minuto 10, el contenido de polifenoles fue de 60,897 mg EAG/g y en el minuto 50 el contenido de polifenoles fue de 31,507 mg EAG/g; lo cual coincide en la investigación con dicho fenómeno. Esta disminución se debe al efecto de la temperatura en los compuestos fenólicos, ya que son susceptibles a altas temperaturas y presentan degradaciones que reducen la disponibilidad de éstos (Suazo *et al.* 2014). La disminución de polifenoles totales puede deberse a que durante el tostado se originan reacciones de oxidación de compuestos fenólicos, que conducen al proceso de polimerización y de formación de compuestos insolubles de alto peso molecular. Además, los polifenoles reaccionan con proteínas, lo que contribuye también a su descenso. La disminución de polifenoles totales también puede deberse a la reducción de los flavonoides y procianidinas (Bertazzo *et al.* 2011; Acevedo 2017).

Para analizar detalladamente la influencia de los factores en la respuesta analizada, se aprecia en la Figura 12, el gráfico de perturbación, donde el trazo de temperatura (A), a medida que incrementa la temperatura, el valor de polifenoles incrementa, siendo directamente proporcional hasta llegar al centroide (120 °C), y después el trazo empieza a decrecer a medida que la temperatura de tostado sigue incrementando hasta llegar a un valor mínimo en 140 °C. Como resultado se obtiene una curvatura en el factor (A) y nos demuestra que un cambio en la temperatura puede repercutir en la cantidad de polifenoles totales del cacao. En el factor tiempo (B) en el trazo se observa que, a un menor tiempo de tostado, alcanza mayor valor de polifenoles incrementado ligeramente y manteniéndose constante hasta cierto punto (20 min); y después empieza a descender gradualmente a medida que aumenta el tiempo hasta llegar a un valor mínimo en 30 min. Como resultado se obtiene una curvatura en el factor (B) teniendo un comportamiento casi similar al factor temperatura (A) pero no tan pronunciado, lo que indicaría también que con al menos uno de los tiempos se obtienen resultados diferentes en el contenido de polifenoles totales del cacao.

Por todo lo anterior, se podría decir que en el tostado de cacao en un tostador estufa (TE), las variables que tienen mayor influencia sobre los polifenoles totales es la temperatura (A) y el tiempo (B), y su interacción; y se confirma con el análisis de varianza que estos

factores tienen un efecto significativo. En las investigaciones de Fernández (2018) y Aldave (2016) igualmente demostraron que fueron significativos la temperatura y el tiempo en el tostado de cacao sobre el contenido de polifenoles totales. Por lo que se observó tuvo una evolución no lineal de polifenoles totales durante el tostado, con un aumento, seguido de un descenso en la última fase. Por lo contrario, en la investigación de Gültekin-Özgülven *et al.* (2015) evaluaron los efectos de la temperatura de tueste sobre el contenido total de polifenoles. Descubrieron que un aumento de 115 a 135 °C en la temperatura de tueste disminuyó el contenido de polifenoles en aproximadamente un 14 por ciento. Por otra parte, en el estudio de Quiroz-Reyes y Fogliano (2018) en la etapa inicial de tueste aplicando una temperatura alta (150 °C) con una pérdida de peso del 7,5 por ciento del grano observaron una disminución de polifenoles totales y luego se observó un leve aumento de polifenoles con 12,5 por ciento de pérdida de peso del grano en la última fase de tueste. La diferencia de resultados se debería principalmente por la varietal estudiada, el manejo poscosecha del grano (porcentaje de fermentación y secado) y el rango de parámetros manipulados en el tostado.

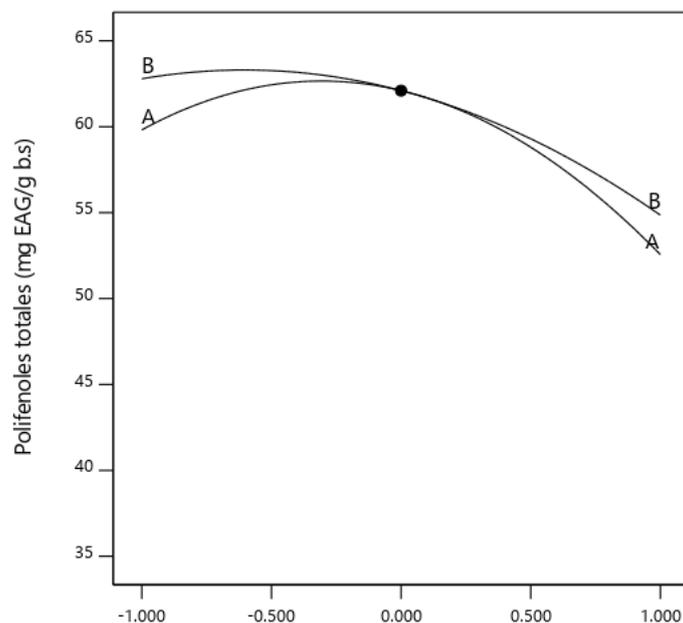


Figura 12: Perturbación para la respuesta de polifenoles totales (para A: temperatura, B: tiempo), en tostador estufa (TE). X: Desviación del punto de referencia (unidades codificadas); Y: Polifenoles totales (mg EAG/g b.s)

b. Capacidad antioxidante por el método FRAP

Los valores experimentales promedios de contenido de capacidad antioxidante y los valores estimados se muestran en la Tabla 11. Los valores obtenidos tanto los experimentales como los estimados de acuerdo con la ecuación de segundo orden indican que existió un adecuado procedimiento de cuantificación.

En la Tabla 11 (Anexo 7), se observan los valores experimentales del contenido de capacidad antioxidante por el método FRAP, variando entre 190,58 y 270,63 $\mu\text{mol Eq. Trolox/g b.s}$ en cacao chuncho. En el estudio de Pancardo (2016) obtuvieron valores de entre 93,29 y 160,1 $\mu\text{mol Eq. Trolox/g}$, para granos de cacao tostados a temperaturas de 140 °C por 20 y 30 min; menores al nuestro. Además, en la investigación de Suazo *et al.* (2014) reportaron a la misma temperatura de 140 °C durante 20 min, valores de 124,1 a 154,2 $\mu\text{mol Eq. Trolox/g}$. Las diferencias de resultados se deberían a que las propiedades antioxidantes del cacao son afectadas por factores como el genotipo, las condiciones agroclimáticas, el proceso de beneficio (fermentación y secado) y el proceso de industrialización (Payne *et al.* 2010; Rodríguez-Campos *et al.* 2011).

• Evaluación del modelo matemático y análisis de varianza

La aplicación de la MSR generó una ecuación de regresión (cuadrático), la cual establece la relación entre capacidad antioxidante (Y, $\mu\text{mol Eq. Trolox/g b.s}$) y las variables evaluadas temperatura (°C) y tiempo (min), se puede observar en el Anexo 9.

En la evaluación estadística, el análisis de varianza del modelo cuadrático indica que es significativo ($p < 0,05$), representando adecuadamente la relación entre los factores elegidos, se muestra en el Anexo 11. En las variables indica que la temperatura y el tiempo tuvieron efectos significativos, presentando una significancia ($p < 0,05$), es decir, la temperatura y el tiempo tuvieron mayor influencia en la cantidad de capacidad antioxidante del cacao. Las interacciones AB (temperatura*tiempo), AA (temperatura*temperatura) y BB (tiempo*tiempo) fueron significativas, indicando que tiene efecto curvatura. La falta de ajuste (*lack of fit*) no fue significativo, mostrando que los resultados experimentales se ajustan adecuadamente al modelo para predecir el contenido de capacidad antioxidante (Tan *et al.* 2014). Con respecto al error puro, se observa que la suma de cuadrados es pequeña en comparación a la suma de cuadrados del total, presentando así una buena reproducibilidad en el punto central (Ayala y Pardo

1995; Morales 2003; Quanhong y Caili 2005). El coeficiente de determinación R^2 fue de 0,98, nivel que garantiza un buen ajuste razonable del modelo a los datos experimentales y alto grado de correlación (Firatligil-Durmus y Evranuz 2010). Al evaluar el coeficiente de variación (CV), se pudo establecer un 1,75 por ciento, lo que indica una buena precisión y alta confiabilidad del experimento realizado.

- **Análisis de superficie de respuesta y comportamiento de perturbación**

En las Figuras 13 y 14, se observan que el mayor valor de cantidad de capacidad antioxidante por el método FRAP es de 270,63 $\mu\text{mol Eq. Trolox/g b.s}$ (color rojo) y el menor nivel es de 190,58 $\mu\text{mol Eq. Trolox/g b.s}$ (color azul). La variación de la temperatura y el tiempo revelaron que el máximo nivel de contenido de capacidad antioxidante por el método FRAP (270,63 $\mu\text{mol Eq. Trolox/g b.s}$) se obtuvo cuando la temperatura fue de 140 °C y el tiempo de 10 min. Este resultado fue cercano a Ioannone *et al.* (2015) quienes encontraron valores más altos de FRAP a una temperatura promedio de tueste de 135 °C y mientras que las otras temperaturas mostraron efectos diferentes en FRAP, dependiendo de la duración del proceso de tostado. Los resultados parecen indicar que en el proceso de tostado aumenta la actividad de antioxidante en el cacao chuncho cuando incrementa la temperatura a un corto tiempo; este resultado estuvo de acuerdo con numerosos estudios que han concluido que el aumento de la actividad antioxidante por las diferentes metodologías coincide con el contenido de polifenoles totales mostrando una posible contribución significativa a su capacidad antioxidante de los granos de cacao. Sin embargo, Pancardo (2016) indicaría que los polifenoles totales sufren degradación en su estructura, pero conservan su capacidad antioxidante, esto ha sido reportado por diversos autores que explicaron el comportamiento a altas temperaturas. Estas tendencias se pueden explicar con lo reportado por Bustamante (2014) que evaluó la capacidad antioxidante por el método de FRAP y describe que durante el procesamiento de los granos los compuestos fenólicos pueden sufrir degradación y poseer mayor capacidad antioxidante, esto sin minimizar su concentración presente. La capacidad antioxidante igualmente puede incrementarse por el desarrollo de nuevos compuestos con potencial antioxidante. Estos compuestos son producto de las reacciones de Maillard, en particular, melanoidinas que contribuyen a la actividad antioxidante (Yamaguchi *et al.* 1981; De Brito *et al.* 2000; Oliviero *et al.* 2009; Suazo *et al.* 2014).

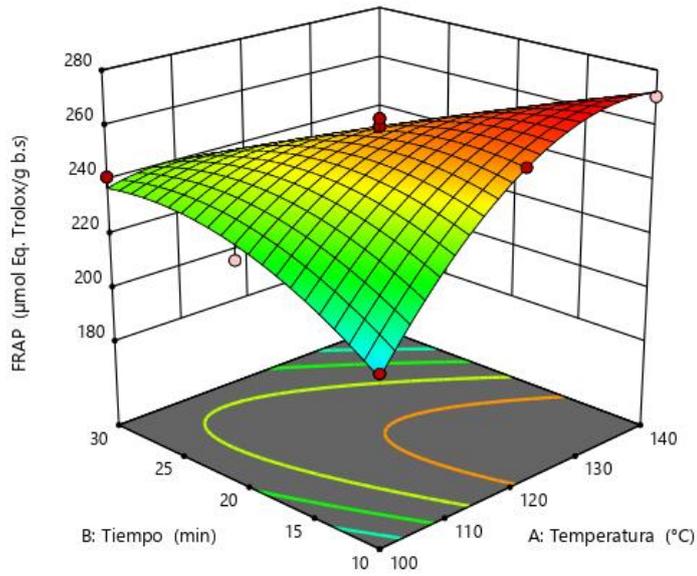


Figura 13: Superficie de respuesta del contenido de capacidad antioxidante por el método de FRAP del grano de cacao en función a la temperatura y el tiempo, tostado en tostador estufa (TE)

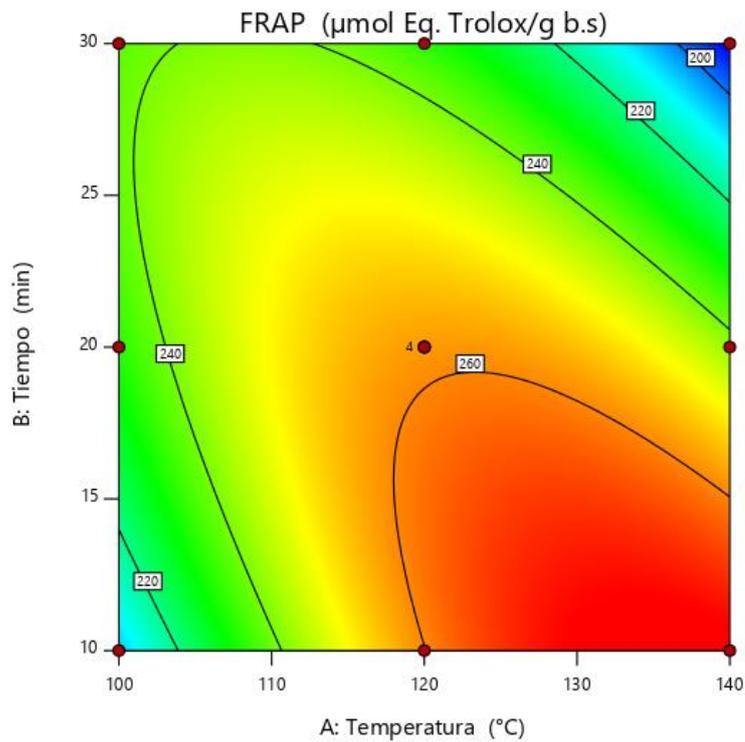


Figura 14: Contorno de la superficie de respuesta estimada para capacidad antioxidante por el método FRAP en función a la temperatura y el tiempo, tostado en TE

En las Figuras 13 y 14, el valor mínimo de contenido de capacidad antioxidante (190,58 $\mu\text{mol Eq. Trolox/g b.s}$) se obtuvo cuando la temperatura fue de 140 °C y el tiempo de 30 min en el tostador estufa. Durante la etapa de tostado, se registra una pérdida sustancial de los componentes polifenólicos presentes en el grano, disminuyendo por ende la capacidad antioxidante del mismo, afectando la funcionalidad del grano, como agente antioxidante (Payne *et al.* 2010; Pallares *et al.* 2016; Schinella *et al.* 2010). Asimismo, reportan Oracz y Nebesny (2015) que la disminución de la actividad antioxidante observada en los granos de cacao tostados puede atribuirse a la degradación oxidativa de los compuestos fenólicos durante el calentamiento en un tiempo prolongado.

Para analizar detalladamente la influencia de los factores en la respuesta analizada, se aprecia en la Figura 15, el gráfico de perturbación, donde el trazo de temperatura (A), a medida que incrementa la temperatura, el valor de capacidad antioxidante incrementa, siendo directamente proporcional hasta cierto punto y después empieza a descender a un valor mínimo, pero se observa la mayor parte del trazo de forma positiva. Como resultado se obtiene una curvatura en el factor (A) y nos demuestra que un cambio en la temperatura puede repercutir en la cantidad de capacidad antioxidante del cacao. En el factor tiempo (B) el trazo se observa que a un menor tiempo (10 min) se tiene mayor capacidad antioxidante hasta cierto punto, y después empieza a decrecer a medida que aumenta el tiempo hasta un valor mínimo en 30 min, teniendo una relación inversamente proporcional. Como resultado se obtiene en la mayor parte del trazo una curvatura decreciente en el factor (B), indicando que a medida que sea mayor el tiempo, disminuye la capacidad antioxidante del cacao.

Por todo lo anterior, se podría decir que en el tostado de cacao en un tostador estufa (TE), las variables que tienen mayor influencia en la capacidad antioxidante por el método FRAP es la temperatura (A) y el tiempo (B), y su interacción; y se confirma con el análisis de varianza que estos factores tienen un efecto significativo. Por lo que se observó un efecto positivo y negativo sobre la actividad antioxidante durante el tostado.

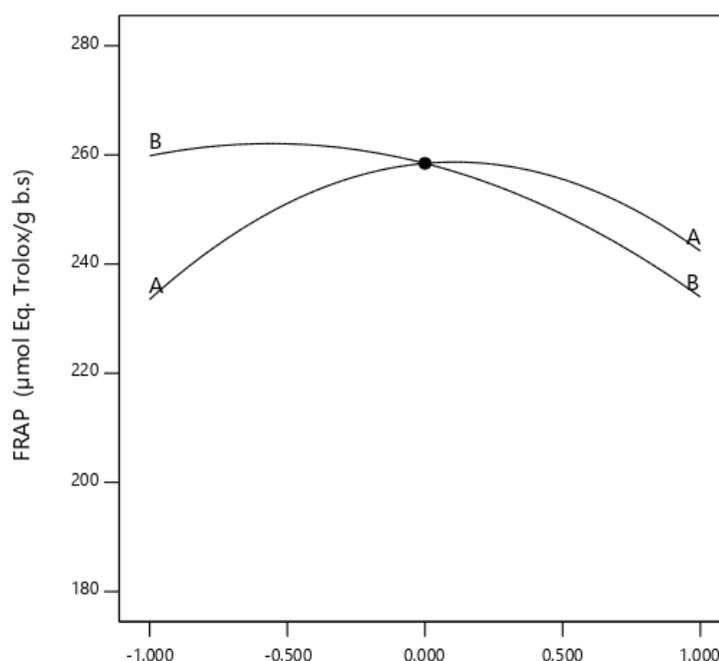


Figura 15: Perturbación para la respuesta de capacidad antioxidante por el método FRAP (para A: temperatura, B: tiempo), tostado en tostador estufa (TE). X: Desviación del punto de referencia (unidades codificadas); Y: FRAP ($\mu\text{mol Eq. Trolox/g b.s}$)

c. Capacidad antioxidante por el método DPPH

Los valores experimentales promedios de contenido de capacidad antioxidante y los valores estimados se muestran en la Tabla 11. Los valores obtenidos tanto los experimentales como los estimados de acuerdo con la ecuación de segundo orden indican que existió un adecuado procedimiento de cuantificación.

En la Tabla 11 (Anexo 8), se observan los valores experimentales del contenido de capacidad antioxidante por el método DPPH, fluctuando entre 330,40 y 422,92 $\mu\text{mol Eq. Trolox/g b.s}$, en cacao chuncho. Estos resultados están dentro del rango de Oracz y Nebesny (2015) informaron que la capacidad antioxidante del DPPH varió de 191,29 a 1395,97 $\mu\text{mol Eq. Trolox/g b.s}$, para los granos de cacao tostados, y depende de la varietal de cacao y las condiciones de procesamiento. Los distintos resultados se deben a que las diferentes estructuras de los fenólicos y sus modificaciones durante el calentamiento pueden explicar tanto la variabilidad de la actividad captadora de radicales

como su unión con proteínas, dicarbonilos, polisacáridos y la incorporación y liberación de melanoidinas de alto peso molecular (Alves y Perrone 2015; Wang *et al.* 2011).

- **Evaluación del modelo matemático y análisis de varianza**

La aplicación de la MSR generó una ecuación de regresión (cuadrático), la cual establece la relación entre capacidad antioxidante (Y, $\mu\text{mol Eq. Trolox/g b.s}$) y las variables evaluadas temperatura ($^{\circ}\text{C}$) y tiempo (min), se puede observar en el Anexo 9.

En la evaluación estadística, el análisis de varianza del modelo cuadrático indica que es significativo ($p < 0,05$), representando adecuadamente la relación entre los factores elegidos, se muestra en el Anexo 12. En las variables indica que la temperatura y el tiempo tuvieron efectos significativos, presentando una significancia ($p < 0,05$), es decir, la temperatura y el tiempo tuvieron mayor influencia en la cantidad de capacidad antioxidante del cacao. Las interacciones AB (temperatura*tiempo), AA (temperatura*temperatura) y BB (tiempo*tiempo) fueron significativas, indicando que tiene efecto curvatura. La falta de ajuste (*lack of fit*) no fue significativo, mostrando que los resultados experimentales se ajustan adecuadamente al modelo para predecir el contenido de capacidad antioxidante (Tan *et al.* 2014).

Con respecto al error puro, se observa que la suma de cuadrados es pequeña en comparación a la suma de cuadrados del total, presentando así una buena reproducibilidad en el punto central (Ayala y Pardo 1995; Morales 2003; Quanhong y Caili 2005). El coeficiente de determinación R^2 fue de 0,93, nivel que garantiza un buen ajuste razonable del modelo a los datos experimentales y alto grado de correlación (Firatligil-Durmus y Evranuz 2010).

Al evaluar el coeficiente de variación (CV), se pudo establecer un 3,05 por ciento, lo que indica una buena precisión y alta confiabilidad del experimento realizado. Como regla general, un modelo puede considerarse razonablemente reproducible si su CV no es mayor al 10 por ciento (Irakoze y Sindayigaya 2010; Parra *et al.* 2014).

- **Análisis de superficie de respuesta y comportamiento de perturbación**

En las Figuras 16 y 17, se observan que el mayor valor de cantidad de capacidad antioxidante por el método DPPH es de 422,92 $\mu\text{mol Eq. Trolox/g b.s}$ (color rojo) y el menor nivel es de 330,40 $\mu\text{mol Eq. Trolox/g b.s}$ (color azul).

La variación de la temperatura y el tiempo revelaron que el máximo contenido de capacidad antioxidante por el método DPPH (422,92 $\mu\text{mol Eq. Trolox/g b.s}$) se obtuvo cuando la temperatura fue de 140 °C y el tiempo de 10 min en cacao chuncho. Esta tendencia se asemeja a lo reportado por Quiroz-Reyes y Fogliano (2018) donde menciona que las muestras de cacao forastero tostados a 150 °C obtuvieron un valor mayor en actividad antioxidante. En el estudio se trabajó también con un cacao chuncho que está clasificado como un forastero de Alto Amazonas y esto podría explicarse según el mismo autor que el cacao forastero tiene una mayor concentración de compuestos poliméricos y fenólicos complejos como las antocianinas los cuales están casi ausentes (granos criollo), sugiriendo que estos compuestos poliméricos podrían descomponerse en sus unidades monoméricas como consecuencia de un tratamiento térmico intenso, lo que provocaría un aumento en la capacidad antioxidante. Diferentes autores han informado que los productos de reacción de Maillard son compuestos heterocíclicos y melanoidinas formadas respectivamente durante las fases intermedias y avanzadas, y demostraron que actúan como contribuyentes predominantes y eficaces a la capacidad antioxidante; y asimismo otros compuestos como metilxantinas (teobromina y cafeína), flavonoides menores y pigmentos pueden influir (Morales *et al.* 2012; Fuster *et al.* 2000; Yanagimoto *et al.* 2004; Arlorio *et al.* 2008).

En las Figuras 16 y 17, la variación de la temperatura y el tiempo revelaron que el mínimo contenido de capacidad antioxidante por el método DPPH (330,40 $\mu\text{mol Eq. Trolox/g b.s}$) se obtuvo cuando la temperatura fue de 140 °C y el tiempo de 30 min en cacao chuncho. En el estudio de Oracz y Nebesny (2015) indicaron que, en el caso de casi todos los cacaos híbridos estudiados, el tostado a temperaturas que oscilan entre 110 y 150 °C conduce a una clara disminución en la capacidad de eliminación de DPPH. Mientras, en Oliviero *et al.* (2009) mostraron que el tostado de grano de cacao a 180 °C durante 10, 30 y 50 min, resultó una disminución considerable de su capacidad antioxidante. Esta tendencia se asemeja a lo reportado por Hii *et al.* (2009) donde mencionan que la capacidad antioxidante puede ser muy afectado por el tostado en tiempos prolongados.

El tostado puede afectar las propiedades antioxidantes de los granos de cacao de diferentes formas según la varietal y las condiciones de tostado (Coghe *et al.* 2006).

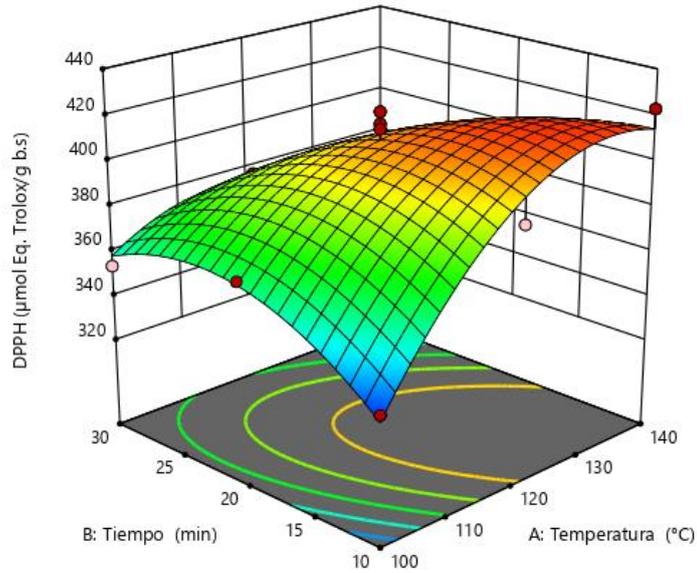


Figura 16: Superficie de respuesta del contenido de capacidad antioxidante por el método de DPPH del grano de cacao en función a la temperatura y el tiempo, tostado en tostador estufa (TE)

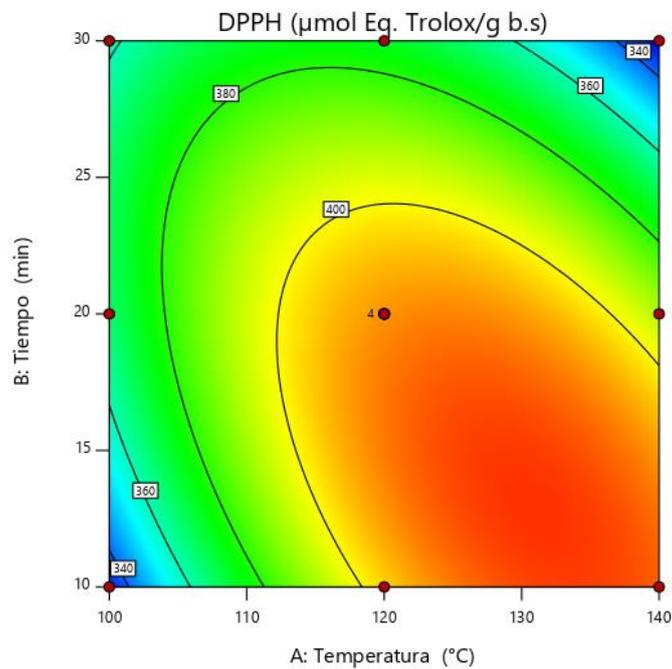


Figura 17: Contorno de la superficie de respuesta estimada para capacidad antioxidante por el método DPPH en función a la temperatura y el tiempo, tostado en TE

Las pérdidas de actividad antioxidante difirieron entre los cultivares analizados, probablemente debido a las características intrínsecas de los granos de cacao. Como se mencionó anteriormente, la disminución de la actividad antioxidante durante el tostado puede deberse a la degradación de compuestos fenólicos altamente termolábiles. Además, algunos autores concluyeron que la formación de pigmentos marrones de alto peso molecular a través de reacciones de polimerización en los pasos avanzados de la reacción de Maillard puede involucrar a los grupos anti radicales, lo que conduce a un agotamiento de la actividad captadora de radicales libres en el procesamiento a alta temperatura (Oracz y Nebesny 2015; Coghe *et al.* 2006)

Para analizar detalladamente la influencia de los factores en la respuesta analizada, se aprecia en la Figura 18, el gráfico de perturbación, donde el trazo de temperatura (A), a medida que incrementa la temperatura, el valor de capacidad antioxidante incrementa, siendo directamente proporcional hasta cierto punto y después empieza a descender ligeramente, pero se observa la mayor parte del trazo de forma positiva. Como resultado se obtiene una curvatura en el factor (A) y nos demuestra que un cambio en la temperatura puede repercutir en la cantidad de capacidad antioxidante del cacao. En el factor tiempo (B) el trazo se observa que a un menor tiempo se tiene mayor capacidad antioxidante y crece ligeramente hasta cierto punto, y después empieza a decrecer rápidamente a medida que aumenta el tiempo hasta un valor mínimo en 30 min, teniendo una relación inversamente proporcional. Como resultado se obtiene en la mayor parte del trazo una curvatura decreciente en el factor (B), lo que indicaría que a medida que sea mayor el tiempo disminuye la capacidad antioxidante del cacao por el método DPPH.

Por todo lo anterior, se podría decir que en el tostado de cacao en un tostador estufa (TE), las variables que tienen mayor influencia en la capacidad antioxidante por el método DPPH es la temperatura (A) y el tiempo (B), y su interacción; y se confirma con el análisis de varianza que estos factores tienen un efecto significativo. Asimismo, nuestros resultados muestran que las propiedades antioxidantes de los granos de cacao chuncho dependen de las condiciones de tostado, como la temperatura y el tiempo.

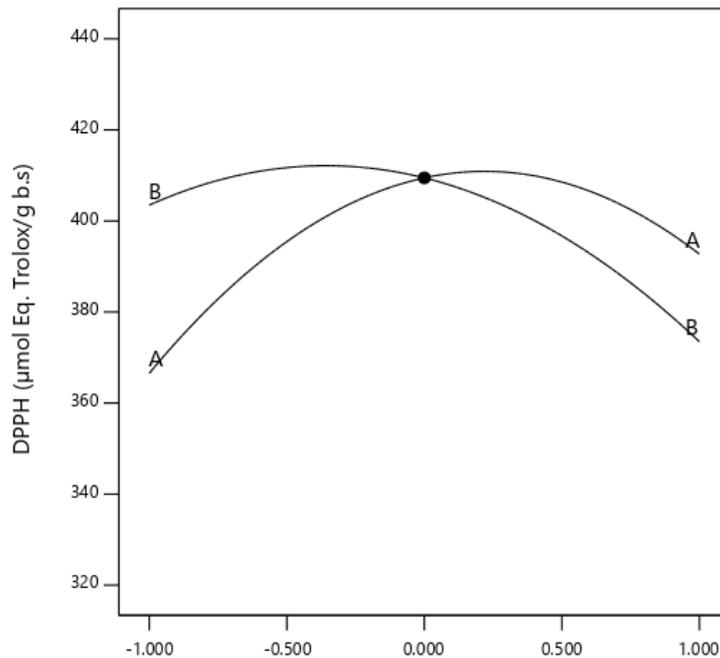


Figura 18: Perturbación para la respuesta de capacidad antioxidante por el método DPPH (para A: temperatura, B: tiempo), tostado en tostador estufa (TE). X: Desviación del punto de referencia (unidades codificadas); Y: DPPH ($\mu\text{mol Eq. Trolox/g b.s}$)

d. Optimización simultánea de variables de respuesta

Como se obtuvieron los modelos matemáticos de las respuestas estudiadas, se procedió a realizar la optimización simultánea. Las condiciones óptimas de polifenoles totales y capacidad antioxidante por el método FRAP y DPPH fueron estimados por el método de deseabilidad, utilizando el programa Design Expert ®. La variable dependiente se fijó al valor máximo de deseabilidad ($d = 1,00$), en la Tabla 12, se observa que el valor de la deseabilidad es de 0,968, el cual se acerca considerablemente al valor máximo que es el valor 1. Las condiciones óptimas obtenidas corresponden a una temperatura de 130 °C, y tiempo de 11 min, obteniéndose polifenoles totales estimado de 62,74 mg EAG/g b.s, capacidad antioxidante por método de FRAP estimado de 270,63 $\mu\text{mol Eq. Trolox/g b.s}$, y por por el método de DPPH estimado de 417,47 $\mu\text{mol Eq. Trolox/g b.s}$.

Tabla 12: Deseabilidad máxima del tratamiento con respecto a los polifenoles totales y capacidad antioxidante (FRAP y DPPH) por TE

Solución	Temperatura (°C)	Tiempo (min)	Polifenoles totales (mg EAG/g b.s)	FRAP (µmol Eq. Trolox/g b.s)	DPPH (µmol Eq. Trolox/g b.s)	Deseabilidad
1	130	11	62,74	270,63	417,47	0,968

e. Validación del modelo

Una vez obtenido el tratamiento óptimo, se procedió a validar el resultado dado por el programa. Los valores de los experimentales, así como los valores estimados por el modelo generado se presentan en la Tabla 13, donde se observa que los valores experimentales son bastante cercanos al estimado y, por lo tanto, están dentro del rango al obtenido por el modelo matemático, lo cual valida los resultados encontrados en polifenoles totales y capacidad antioxidante (FRAP y DPPH).

Tabla 13: Valor estimado y experimental para el TE bajo las condiciones óptimas recomendadas por el modelo

Condiciones óptimas recomendadas por el modelo	Variables de respuesta	Estimado	Experimental*	Rango	Validación (%)
Temperatura: 130 °C Tiempo: 11 min	Polifenoles totales (mg EAG/g b.s)	62,74	63,72 ± 1,84	59,56 - 65,91	98,44
	FRAP (µmol Eq. Trolox/g b.s)	270,63	267,93 ± 5,30	264,15 - 277,11	99,00
	DPPH (µmol Eq. Trolox/g b.s)	417,47	418,91 ± 3,86	399,65 - 435,30	99,66
Promedio					99,03

*Promedio ± la desviación estándar de tres repeticiones

4.2.2. Optimización por tostador tambor rotatorio

a. Polifenoles totales

Los valores experimentales promedios de contenido de polifenoles totales y los valores estimados se muestran en la Tabla 14. Los valores obtenidos tanto los experimentales como los estimados de acuerdo con la ecuación de segundo orden indican que existió un adecuado procedimiento de cuantificación.

En la Tabla 14 (Anexo 13), se observan los valores experimentales del contenido de polifenoles totales, variando entre 36,85 y 64,22 mg EAG/g b.s, en cacao chuncho. Los resultados fueron menores en la investigación de Pareja (2018) variando un promedio total de contenido polifenólico de 0,067 a 0,010 mg EAG/g, tostado a una temperatura de 100, 120, 140 y 160 °C por 5, 10, 15, 20 y 25 min, también en un cacao chuncho. Mientras que en los resultados de Suazo *et al.* (2014) fueron cercanos, encontrando en temperaturas de 110, 130 y 150 °C valores de 39 a 45,41 mg EAG/g de polifenoles totales, en un cacao trinitario. De modo similar, García-Alamilla *et al.* (2017) emplearon en un cacao mexicano, temperaturas de 110, 120, 130, 140 y 150 °C; y tiempos de 5, 14, 30, 46 y 55 min en el tostado; donde los polifenoles totales variaron de 6,26 a 46,9 mg EAG/g. La concentración de polifenoles en los granos de cacao varía de un genotipo a otro porque dependería en gran medida, de factores intrínsecos como el genotipo y factores extrínsecos como el manejo agronómico, las condiciones del suelo, las condiciones climáticas y manejo de la poscosecha (especialmente fermentación y secado de los granos) (Kongor *et al.* 2016). El contenido de varios polifenoles en los granos de cacao está asociado con el grado de fermentación (Brandford 1976; citado por Gil 2012). En los procesos de poscosecha, las reacciones de oxidación, tanto enzimáticas como no enzimáticas, tienen el mayor impacto en la reducción de polifenoles (Macheix *et al.* 1991; citados por Gil 2012).

Además, desde el punto de vista analítico, es importante señalar que la eficiencia de extracción de polifenoles depende de muchos factores, como el genotipo de cacao, el grado de maduración del grano, el solvente utilizado en la extracción y el método de extracción (Azizah *et al.* 1999; citados por Arlorio *et al.* 2008).

Tabla 14: Resultados experimentales del diseño factorial de tres niveles y dos factores (3²) con tres puntos centrales, respectivo al método de superficie de respuesta, correspondientes a polifenoles totales y capacidad antioxidante (FRAP y DPPH) del cacao chuncho tostado en tambor rotatorio (TR)

Corridas*	Variables independientes		Polifenoles totales		Capacidad antioxidante (μmol Eq. Trolox/g b.s)			
	A: Temperatura (°C)	B: Tiempo (min)	(mg EAG/g b.s)		FRAP		DPPH	
			Ȳ ₁ : Experimental	Ŷ ₁ : Estimado	Ȳ ₂ : Experimental	Ŷ ₂ : Estimado	Ȳ ₃ : Experimental	Ŷ ₃ : Estimado
1	100	10	60,22 ± 3,64	59,78	225,76 ± 5,14	219,43	380,31 ± 6,30	378,54
2	100	20	63,75 ± 5,99	64,21	240,96 ± 6,42	245,45	399,36 ± 5,86	394,71
3	100	30	58,60 ± 0,55	58,59	217,91 ± 0,52	219,74	375,25 ± 4,15	381,67
4	120	10	63,55 ± 4,35	64,47	247,63 ± 1,32	258,17	397,55 ± 3,97	408,23
5	120	20	64,22 ± 1,85	63,04	260,66 ± 3,25	256,29	405,15 ± 3,49	398,39
6	120	20	64,16 ± 1,51	63,04	260,18 ± 0,17	256,29	404,31 ± 0,59	398,39
7	120	20	62,96 ± 0,63	63,04	255,17 ± 4,92	256,29	396,50 ± 1,92	398,39
8	120	20	61,82 ± 2,27	63,04	253,91 ± 0,49	256,29	392,59 ± 1,21	398,39
9	120	30	51,51 ± 5,43	51,57	208,46 ± 5,09	202,68	365,04 ± 1,40	359,34
10	140	10	61,87 ± 2,13	61,39	265,19 ± 0,27	260,97	410,40 ± 1,90	400,49
11	140	20	53,60 ± 0,65	54,12	230,91 ± 1,36	231,19	355,01 ± 1,23	364,64
12	140	30	36,85 ± 0,46	36,80	145,74 ± 0,58	149,68	300,28 ± 0,91	299,56

*Promedio ± la desviación estándar de tres repeticiones

- **Evaluación del modelo matemático**

La aplicación de la MSR generó un modelo matemático de segundo orden (cuadrático), indicando la relación entre la variable de respuesta polifenoles totales (Y, mg EAG/g b.s) y las variables independientes, temperatura (°C) y tiempo (min), dicha ecuación se muestra en el Anexo 16.

En la evaluación estadística, el análisis de varianza del modelo cuadrático indica que es significativo ($p < 0,05$), representando adecuadamente la relación entre los factores elegidos, se muestra en el Anexo 17. En las variables indica que la temperatura y el tiempo tuvieron efectos significativos, presentando una significancia ($p < 0,05$), es decir, la temperatura y el tiempo tuvieron mayor influencia en la cantidad de polifenoles totales del cacao. Las interacciones AB (temperatura*tiempo), AA (temperatura*temperatura) y BB (tiempo*tiempo) fueron significativas, indicando que tiene efecto curvatura. La falta de ajuste (*lack of fit*) no fue significativo, mostrando que los resultados experimentales se ajustan adecuadamente al modelo para predecir el contenido de polifenoles totales (Tan *et al.* 2014). Con respecto al error puro, se observa que la suma de cuadrados es pequeña en comparación a la suma de cuadrados del total, presentando así una buena reproducibilidad en el punto central (Ayala y Pardo 1995; Morales 2003; Quanhong y Caili 2005). El coeficiente de determinación R^2 fue de 0,99, nivel que garantiza un buen ajuste razonable del modelo a los datos experimentales y alto grado de correlación (Firatligil-Durmus y Evranuz 2010).

Al evaluar el coeficiente de variación (CV), se pudo establecer un 1,69 por ciento, lo que indica una buena precisión y alta confiabilidad del experimento realizado. Como regla general, un modelo puede considerarse razonablemente reproducible si su CV no es mayor al 10 por ciento (Irakoze y Sindayigaya 2010; Parra *et al.* 2014).

- **Análisis de superficie de respuesta y comportamiento de perturbación**

Se analizó la influencia de los factores estudiados en la cantidad de polifenoles totales del cacao mediante ploteos de la superficie de respuesta (Figuras 19 y 20) y gráfico de perturbación como se ve en la Figura 21.

En las Figuras 19 y 20, se observan en las gráficas un comportamiento que va desde el color rojo (nivel más alto), después a un color verde (nivel intermedio) y desciende hasta

el color azul (nivel más bajo). En este caso, la variación de la temperatura y el tiempo en el tostado revelaron que el máximo nivel de contenido de polifenoles (64,22 mg EAG/g b.s) se obtuvo cuando la temperatura fue de 120 °C y el tiempo de 20 min en el tostador tambor rotatorio. A diferencia de Pareja (2018) obtuvieron a una temperatura de 100 °C y un tiempo de cinco min una mayor concentración de compuestos fenólicos (0,069 mg EAG/g). Mientras que en el estudio de Hu *et al.* (2016) el tostado se realizó a 190 °C durante 15 min utilizando un tostador tambor rotatorio y los polifenoles totales fueron de 36,21 mg EAG/g en un cacao forastero. Se puede observar en la literatura respecto a la presente investigación, una semejanza en el tiempo de tostado, y se confirmó que a menores tiempos de tostado se conservan mejor los compuestos fenólicos. En las Figuras 19 y 20, hubo una evolución en la cantidad de polifenoles, teniendo un aumento y pérdida de estos. El aumento en el contenido de polifenoles totales en la investigación podría explicarse por la degradación de la estructura celular del grano durante el tratamiento térmico y, en consecuencia, la liberación de los compuestos fenólicos que estaban unidos con las proteínas y/o polisacáridos de la pared celular por el proceso de fermentación y secado que se dio anteriormente (Oracz y Nebesny 2015). Además, el aumento también se podría explicar por la posible formación de nuevos compuestos polifenólicos, provenientes de la epimerización (epicatequina a catequina) y la condensación (Kothe *et al.* 2013). Los autores Oracz y Nebesny (2015) revelan que el ensayo Folin-Ciocalteu se basa en la reacción de oxidación/reducción, y el contenido de fenoles medido por este método puede verse alterado por la presencia de otros compuestos reductores no fenólicos, como carbohidratos, pigmentos y productos de reacción de Maillard.

Por lo tanto, también la formación de reductonas y melanoidinas en la reacción de Maillard entre los aminoácidos y los azúcares reductores podría contribuir al aumento del contenido fenólico total tras el tratamiento térmico. Sobre la conservación de los polifenoles en el tostado se podría atribuir por la mayor presencia de manteca en los granos de cacao debido a que esta grasa forma una capa protectora que protege los granos contra la oxidación excesiva o la creación de otras conexiones, por ejemplo, proteínas, carbohidratos y productos de reacción de Maillard (Żyżelewicz *et al.* 2016).

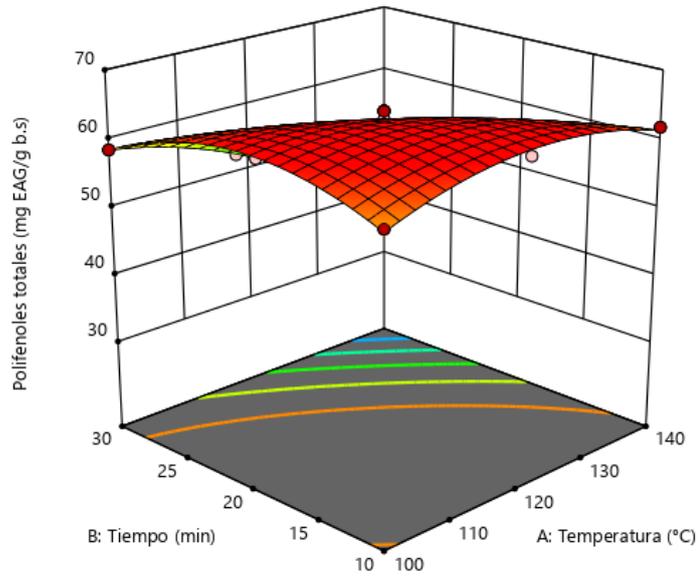


Figura 19: Superficie de respuesta del contenido de polifenoles totales del grano de cacao en función a la temperatura y el tiempo, tostado en tostador tambor rotatorio (TR)

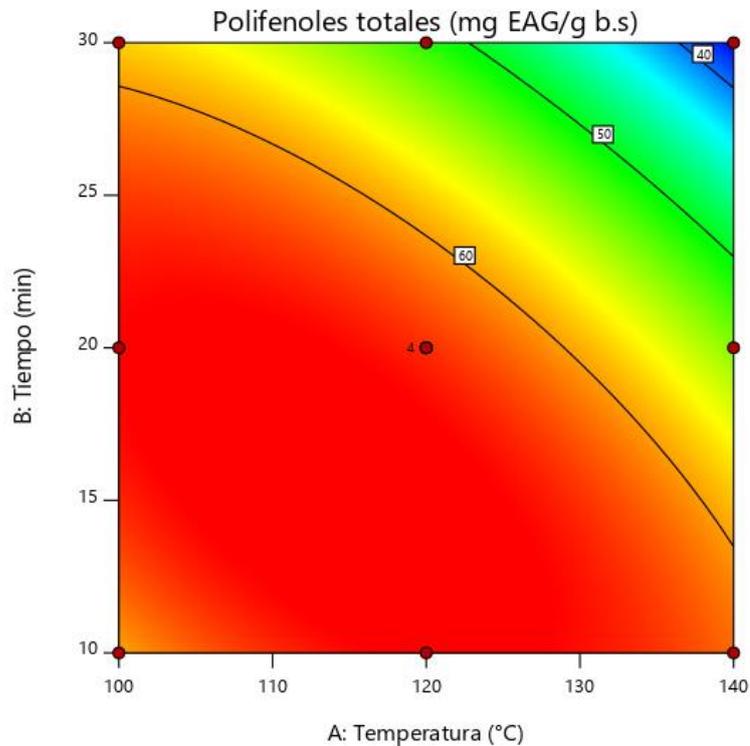


Figura 20: Contorno de la superficie de respuesta estimada para los polifenoles totales en función a la temperatura y el tiempo, tostado en TR

En las Figuras 19 y 20, el valor mínimo de contenido de polifenoles (36,85 mg EAG/g) se obtuvo cuando la temperatura fue de 140 °C y el tiempo de 30 min en el tostador tambor rotatorio. En la investigación de Pareja (2018) reportó que a las temperaturas de 140 y 160 °C por 25 min en el tostado de cacao chuncho igualmente tuvieron las menores concentraciones de polifenoles totales respecto a otras temperaturas (100 y 120 °C). Según la literatura explican generalmente que los tostados más intensos (especialmente altas temperaturas y tiempos prolongados) resultan una mayor degradación de polifenoles debido a la alta actividad redox de los polifenoles en esas condiciones (Wollgast y Anklam 2000). Además, la reducción de polifenoles después del proceso de tostado se podría deber a la disminución del contenido de antocianinas que son inestables a las altas temperaturas, causando una pérdida del azúcar glicosilante en la posición 3 de la molécula y una apertura del anillo con la consecuente producción de chalconas incoloras; e indican igualmente el descenso de epicatequina y procianidinas B1, B2 y B5 principalmente a temperaturas de 100 a 140 °C (Kothe *et al.* 2013; Zapata *et al.* 2015). La pérdida del contenido de polifenoles en el cacao es el resultado de la oxidación de compuestos fenólicos a las quinonas correspondientes, lo que permite la polimerización y formación de compuestos insolubles de alto peso molecular. Asimismo, su reacción con proteínas contribuye a la disminución del contenido total de polifenoles (Irina y Mohamed 2012; Arlorio *et al.* 2008).

Para analizar detalladamente la influencia de los factores en la respuesta analizada, se aprecia en la Figura 21, el gráfico de perturbación, donde el trazo de temperatura (A), se observa que a menor temperatura tiene mayor valor de polifenoles e incrementa ligeramente y se mantiene constante hasta cierto punto (120 °C), y a medida que sigue aumentando la temperatura, empieza a descender hasta un valor mínimo en 140 °C. Como resultado se obtiene una curvatura en el factor (A) y nos demuestra que un cambio en la temperatura puede repercutir en la cantidad de polifenoles totales del cacao. En el factor tiempo (B) se observa que a menor tiempo también tiene mayor valor de polifenoles y el trazo incrementa ligeramente hasta cierto punto (20 min), y después empieza a decrecer hasta un valor mínimo a un tiempo de 30 min. Como resultado se obtiene una curvatura en el factor (B) teniendo un comportamiento similar al factor de temperatura (A), lo que indicaría también que con al menos uno de los tiempos se obtienen resultados diferentes en el contenido de polifenoles totales del cacao.

Por todo lo anterior, se podría decir que en el tostado de cacao en un tostador tambor rotatorio (TR), las variables que tienen mayor influencia sobre los polifenoles totales es la temperatura (A) y el tiempo (B), y su interacción; y se confirma con el análisis de varianza que estos factores tienen un efecto significativo. Se ha demostrado también en el estudio de Pareja (2018) que las condiciones de temperatura y tiempo aplicadas durante el proceso de tostado de los granos de cacao presentaron una respuesta significativa para el contenido de polifenoles totales. Por lo que se observó en el estudio del cacao una evolución no lineal de polifenoles totales durante el tostado, con un aumento, seguido de un descenso en la última fase.

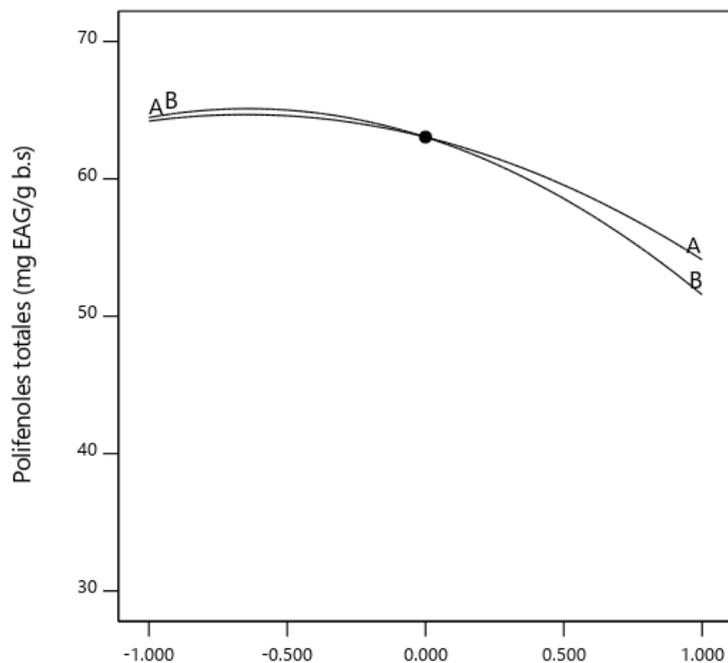


Figura 21: Perturbación para la respuesta de polifenoles totales (para A: temperatura, B: tiempo), tostado en tostador tambor rotatorio (TR). X: Desviación del punto de referencia (unidades codificadas); Y: Polifenoles totales (mg EAG/g b.s)

b. Capacidad antioxidante por el método FRAP

Los valores experimentales promedios de contenido de capacidad antioxidante y los valores estimados se muestran en la Tabla 14. Los valores obtenidos tanto los

experimentales como los estimados de acuerdo con la ecuación de segundo orden indican que existió un adecuado procedimiento de cuantificación.

En la Tabla 14 (Anexo 14), se observan los valores experimentales del contenido de capacidad antioxidante por el método FRAP, variando entre 145,74 y 265,19 $\mu\text{mol Eq. Trolox/g b.s.}$ En el reporte de Oracz *et al.* (2019) los valores varían entre 110,14 - 200,40 $\mu\text{mol Eq. Trolox/g}$ en el tostado a diferentes temperaturas; obteniendo resultados menores al nuestro. En los antecedentes se han observado descensos de la actividad antioxidante durante el tostado de cacao tanto a temperaturas moderadas de 100 - 130 °C como a temperaturas muy elevadas de 180 °C (Suazo *et al.* 2014). En la investigación se tuvo una evolución positiva en la cantidad de capacidad antioxidante a medida que transcurre la temperatura y el tiempo, donde se explica en el análisis de superficie de respuesta. La diferencia de resultados se debe a que las propiedades antioxidantes del cacao son afectadas por factores como el genotipo, las condiciones agroclimáticas, el proceso de beneficio (fermentación y secado) y el proceso de industrialización (Schinella *et al.* 2010; Rodríguez-Campos 2011).

- **Evaluación del modelo matemático y análisis de varianza**

La aplicación de la MSR generó una ecuación de regresión (cuadrático), la cual establece la relación entre capacidad antioxidante (Y, $\mu\text{mol Eq. Trolox/g b.s.}$) y las variables evaluadas temperatura (°C) y tiempo (min), se puede observar en el Anexo 16.

En la evaluación estadística, el análisis de varianza del modelo cuadrático indica que es significativo ($p < 0,05$), representando adecuadamente la relación entre los factores elegidos, se muestra en el Anexo 18. En las variables indica que la temperatura y el tiempo tuvieron efectos significativos, presentando una significancia ($p < 0,05$), es decir, la temperatura y el tiempo tuvieron mayor influencia en la cantidad de capacidad antioxidante del cacao. Las interacciones AB (temperatura*tiempo), AA (temperatura*temperatura) y BB (tiempo*tiempo) fueron significativas, indicando que tiene efecto curvatura. La falta de ajuste (*lack of fit*) no fue significativo, mostrando que los resultados experimentales se ajustan adecuadamente al modelo para predecir el contenido de capacidad antioxidante (Tan *et al.* 2014). Con respecto al error puro, se observa que la suma de cuadrados es pequeña en comparación a la suma de cuadrados del total, presentando así una buena reproducibilidad en el punto central (Ayala y Pardo

1995; Morales 2003; Quanhong y Caili 2005). El coeficiente de determinación R^2 fue de 0,98, nivel que garantiza un buen ajuste razonable del modelo a los datos experimentales y alto grado de correlación (Firatligil-Durmus y Evranuz 2010). Al evaluar el coeficiente de variación (CV), se pudo establecer un 2,93 por ciento, lo que indica una buena precisión y alta confiabilidad del experimento realizado.

- **Análisis de superficie de respuesta y comportamiento de perturbación**

En las Figuras 22 y 23, se observan que el mayor valor de cantidad de capacidad antioxidante por el método FRAP es de 265,19 $\mu\text{mol Eq. Trolox/g b.s}$ (color rojo) y el menor nivel es de 145,74 $\mu\text{mol Eq. Trolox/g b.s}$ (color azul). La variación de la temperatura y el tiempo revelaron que el máximo contenido de capacidad antioxidante por el método FRAP (265,19 $\mu\text{mol Eq. Trolox/g b.s}$) se obtuvo cuando la temperatura fue de 140 °C y el tiempo de 10 min. En la investigación de Suazo *et al.* (2014) encontraron un efecto positivo sobre la actividad antioxidante en granos de cacao tostados a 150 °C al comparar con diferentes temperaturas. Este estudio evidencia que el contenido mayor de capacidad antioxidante en el tostado se da a una temperatura alta. El incremento de la capacidad antioxidante en la investigación se podría indicar que determinados productos son generados durante el tostado, fruto probablemente de la degradación de los polifenoles (oxidación y condensación de polifenoles simples a taninos complejos); y se ha comprobado que los taninos tienen un mayor poder depurativo que los compuestos fenólicos simples, y por esta razón contribuyen al aumento de la actividad antioxidante (Hagermanet *et al.* 1998; citados por Suazo *et al.* 2014). Por otro lado, el incremento de la capacidad antioxidante según varios estudios ha demostrado que las reacciones de Maillard durante el tostado generan una variedad de productos, intermediarios y pigmentos marrones (formación de melanoidinas), compensando la degradación de los monómeros polifenólicos y equilibrando o contribuyendo a la actividad antioxidante que son superiores al de los compuestos de partida (Kothe *et al.* 2013; Vignoli *et al.* 2011). Además, Rice-Evans *et al.* (1997); citados por Othman *et al.* (2007) informaron que los compuestos fenólicos tienen propiedades redox, que les permiten actuar como agentes reductores, donantes de hidrógeno y extintores de oxígeno singlete.

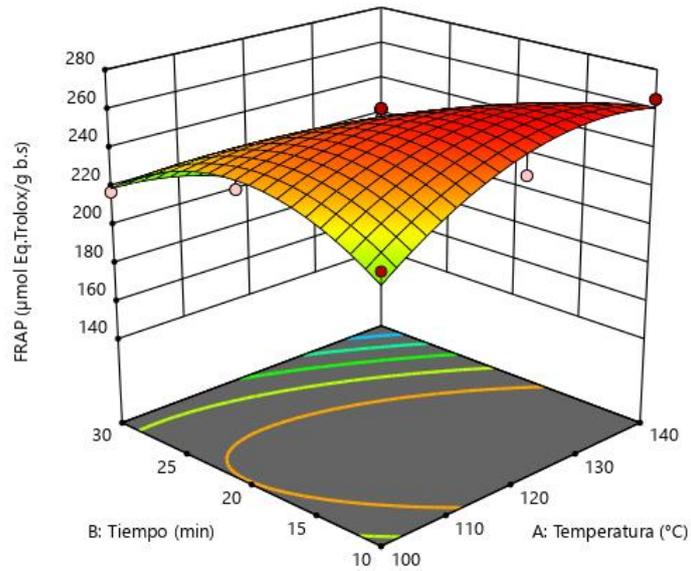


Figura 22: Superficie de respuesta del contenido de capacidad antioxidante por el método de FRAP del grano de cacao en función a la temperatura y el tiempo, tostado en tostador tambor rotatorio (TR)

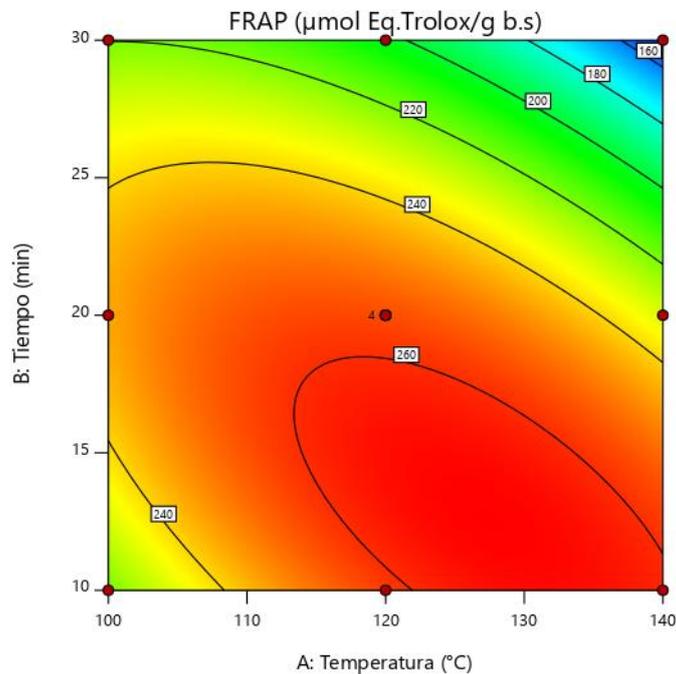


Figura 23: Contorno de la superficie de respuesta estimada para capacidad antioxidante por el método FRAP en función a la temperatura y el tiempo, tostado en TR

En las Figuras 22 y 23, el valor mínimo de contenido de capacidad antioxidante (145,74 $\mu\text{mol Eq. Trolox/g b.s}$) se obtuvo cuando la temperatura fue de 140 °C y el tiempo de 30 min en el tostador tambor rotatorio. El tostado provoca una reducción significativa de polifenoles totales y por lo tanto el contenido de moléculas antioxidantes en función a la temperatura y el tiempo; este fenómeno se debe principalmente a procesos oxidativos cuando se incrementa los parámetros hasta valores elevados (Alean *et al.* 2016). Otra razón para el descenso de la capacidad antioxidante según Oliviero *et al.* (2009) es debido a que las catequinas se degradan al tostar.

Para analizar detalladamente la influencia de los factores en la respuesta analizada, se aprecia en la Figura 24, el gráfico de perturbación, donde el trazo de temperatura (A), a medida que incrementa la temperatura, el valor de capacidad antioxidante incrementa, siendo directamente proporcional hasta cierto punto y después empieza a descender ligeramente, pero se observa la mayor parte del trazo de forma positiva. Como resultado se obtiene una curvatura en el factor (A) y nos demuestra que un cambio en la temperatura puede repercutir en la cantidad de capacidad antioxidante del cacao. En el factor tiempo (B) se observa que el trazo a menor tiempo tiene mayor capacidad antioxidante (10 min) y crece hasta cierto punto, y después se observa claramente que empieza a decrecer progresivamente a medida que va incrementando el tiempo hasta llegar a un valor mínimo en 30 min, teniendo una relación inversamente proporcional. Como resultado se obtiene en la mayor parte del trazo una curvatura decreciente en el factor (B), lo que indicaría que, a mayor tiempo, disminuye la capacidad antioxidante del cacao.

Por todo lo anterior, se podría decir que en el tostado de cacao en un tostador tambor rotatorio (TR), las variables que tienen mayor influencia en la capacidad antioxidante por el método FRAP es la temperatura (A) y el tiempo (B), y su interacción; y se confirma con el análisis de varianza que estos factores tienen un efecto significativo. Por lo cual, la prevalencia de la actividad antioxidante depende de las características fisicoquímicas y concentración de compuestos bioactivos (es decir, compuestos fenólicos) en granos de cacao y su incorporación o interacción de melanoidinas como consecuencia del proceso de tostado aplicado (Quiroz-Reyes y Fogliano 2018).

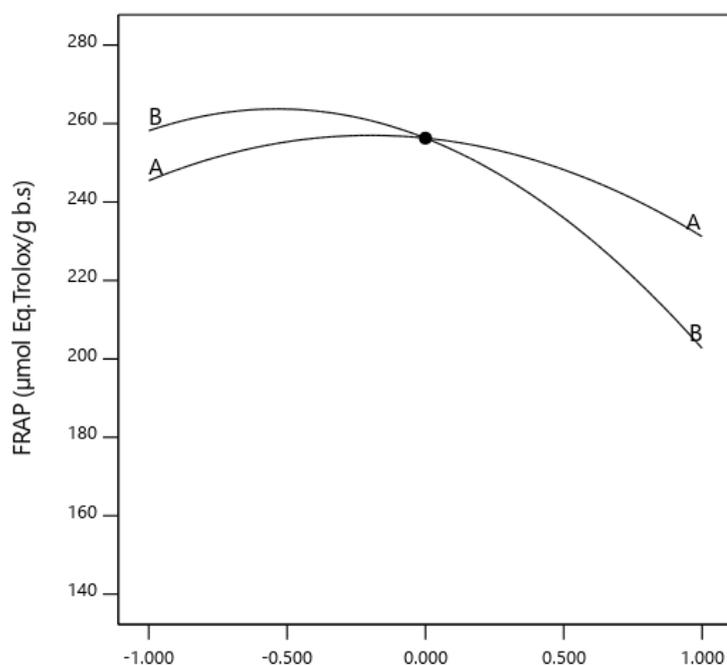


Figura 24: Perturbación para la respuesta de capacidad antioxidante por el método FRAP (para A: temperatura, B: tiempo), tostado en tostador tambor rotatorio (TR). X: Desviación del punto de referencia (unidades codificadas); Y: FRAP ($\mu\text{mol Eq. Trolox/g b.s}$)

c. Capacidad antioxidante por el método DPPH

Los valores experimentales promedios de contenido de capacidad antioxidante y los valores estimados se muestran en la Tabla 14. Los valores obtenidos tanto los experimentales como los estimados de acuerdo con la ecuación de segundo orden indican que existió un adecuado procedimiento de cuantificación.

En la Tabla 14 (Anexo 15), se observan los valores experimentales del contenido de capacidad antioxidante por el método DPPH, variando entre 300,28 y 410,40 $\mu\text{mol Eq. Trolox/g}$ en b.s (70,64 y 85,61 por ciento de inhibición), en cacao chuncho. Esta tendencia se asemeja a lo reportado por García-Alamilla *et al.* (2017) donde mencionan que variaron desde 82,91 a 84,95 por ciento de inhibición, empleando temperaturas de 110,120,130,140,150 y tiempos de 5, 14, 30, 46, 55 min. Los resultados fueron mayores en comparación con Pareja (2018) donde el rango de la capacidad de inhibición del

radical DPPH fue de 20,42 - 52,07 por ciento, en temperaturas de 100, 120, 140 y 160 °C por 5, 10, 15, 20 y 25 min en cacao chuncho. Por lo tanto, el efecto general del tostado sobre el contenido de actividad antioxidante de los granos de cacao, difieren en sus resultados, ya que los clones muestran comportamientos diferentes.

- **Evaluación del modelo matemático y análisis de varianza**

La aplicación de la MSR generó una ecuación de regresión (cuadrático), la cual establece la relación entre capacidad antioxidante (Y, $\mu\text{mol Eq. Trolox/g b.s}$) y las variables evaluadas temperatura (°C) y tiempo (min), se puede observar en el Anexo 16.

En la evaluación estadística, el análisis de varianza del modelo cuadrático indica que es significativo ($p < 0,05$), representando adecuadamente la relación entre los factores elegidos, se muestra en el Anexo 19. En las variables indica que la temperatura y el tiempo tuvieron efectos significativos, presentando una significancia ($p < 0,05$), es decir, la temperatura y el tiempo tuvieron mayor influencia en la cantidad de capacidad antioxidante del cacao. Las interacciones AB (temperatura*tiempo), AA (temperatura*temperatura) y BB (tiempo*tiempo) fueron significativas, indicando que tiene efecto curvatura. La falta de ajuste (*lack of fit*) no fue significativo, mostrando que los resultados experimentales se ajustan adecuadamente al modelo para predecir el contenido de capacidad antioxidante (Tan *et al.* 2014). Con respecto al error puro, se observa que la suma de cuadrados es pequeña en comparación a la suma de cuadrados del total, presentando así una buena reproducibilidad en el punto central (Ayala y Pardo 1995; Morales 2003; Quanhong y Caili 2005). El coeficiente de determinación R^2 fue de 0,95, nivel que garantiza un buen ajuste razonable del modelo a los datos experimentales y alto grado de correlación (Firatligil-Durmus y Evranuz 2010).

Al evaluar el coeficiente de variación (CV), se pudo establecer un 2,44 por ciento, lo que indica una buena precisión y alta confiabilidad del experimento realizado. Como regla general, un modelo puede considerarse razonablemente reproducible si su CV no es mayor al 10 por ciento (Irakoze y Sindayigaya 2010; Parra *et al.* 2014).

- **Análisis de superficie de respuesta y comportamiento de perturbación**

En las Figuras 25 y 26, se observan que el mayor valor de cantidad de capacidad antioxidante por el método DPPH es de 410,40 $\mu\text{mol Eq. Trolox/g b.s}$ (color rojo) y el menor nivel es de 300,28 $\mu\text{mol Eq. Trolox/g b.s}$ (color azul).

La variación de la temperatura y el tiempo revelaron que el máximo contenido de capacidad antioxidante por el método DPPH (410,40 $\mu\text{mol Eq. Trolox/g b.s}$) se obtuvo cuando la temperatura fue de 140 °C y el tiempo de 10 min en cacao chuncho. En la investigación de Oracz y Nebesny (2015) en el caso del cacao forastero de Brasil, el tostado a temperaturas de 110 a 135 °C y en el cacao nacional de Ecuador a 110 y 120 °C, provocó un aumento gradual en la capacidad de captación de radicales DPPH; la diferencia de resultados se debe al tipo de varietal utilizada. Esto parece concordar con Summa *et al.* (2006) donde informaron que la eliminación de radicales DPPH aumenta significativamente después del proceso de tostado, relacionándose principalmente a la liberación de compuestos fenólicos unidos de la matriz celular o la formación de nuevos antioxidantes, como los productos de reacción de Maillard. Además, se sabe que los compuestos fenólicos en un estado intermedio de oxidación pueden exhibir un mayor potencial de eliminación de radicales que los polifenoles no oxidados.

La variación de la temperatura y el tiempo revelaron que el mínimo contenido de capacidad antioxidante por el método DPPH (300,28 $\mu\text{mol Eq. Trolox/g b.s}$) se obtuvo cuando la temperatura fue de 140 °C y el tiempo de 30 min en cacao chuncho. Estos estudios evidencian que la disminución de la capacidad antioxidante se daría por el aumento del tiempo en el tostado y las condiciones de temperatura; mencionando de manera similar García-Alamilla *et al.* (2017) donde trabajaron con 110, 120, 130, 140 y 150 °C a 5, 14, 30, 46 y 55 min; respectivamente. Por lo que, Othman *et al.* (2007); Arlorio *et al.* (2008) y Summa *et al.* (2006) mencionan que la capacidad de radicales DPPH se ve afectada por otros compuestos como metilxantinas, flavonoides y pigmentos, además del cultivar, poscosecha, métodos de extracción, solventes y concentración de extracto. Según Quiroz-Reyes y Fogliano (2018) indicaron que a mayor temperatura disminuyó la capacidad antioxidante en las variedades criollo y forastero, esta disminución mencionó que podría deberse por la reducción de proantocianidinas y flavonoides.

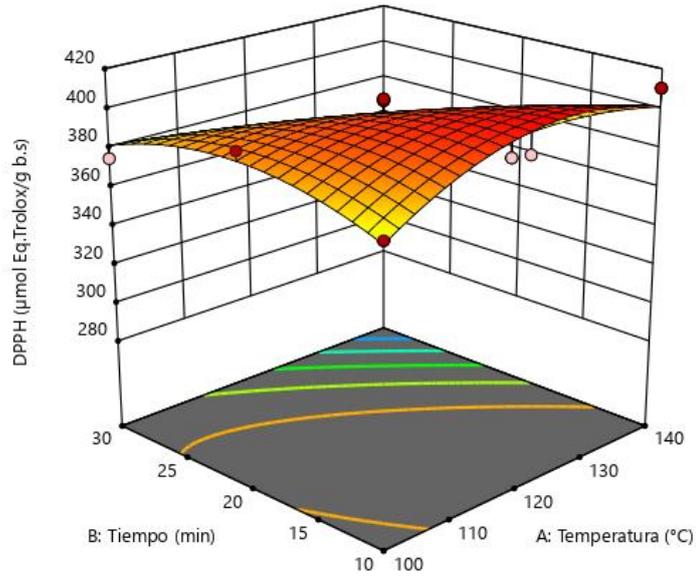


Figura 25: Superficie de respuesta del contenido de capacidad antioxidante por el método de DPPH del grano de cacao en función a la temperatura y el tiempo, tostado en tostador tambor rotatorio (TR)

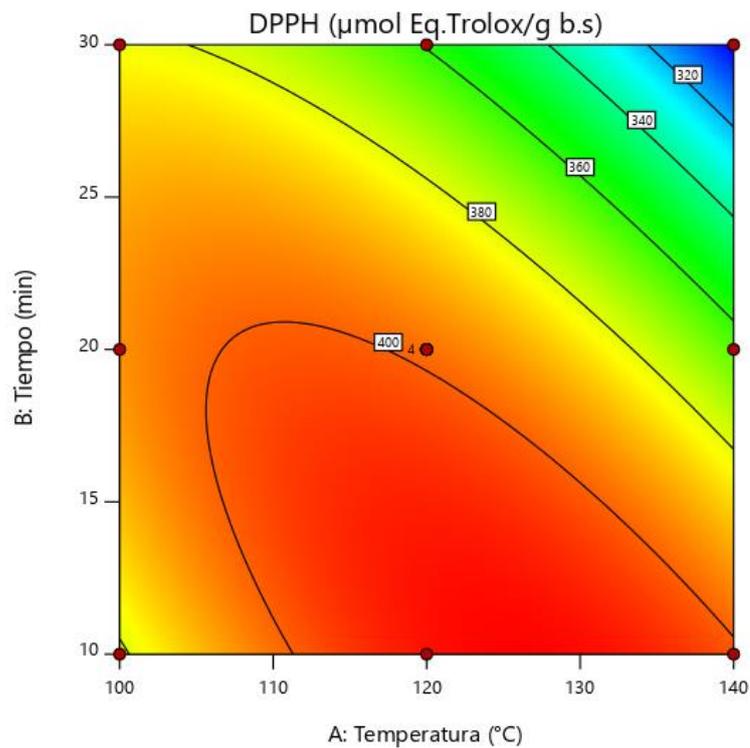


Figura 26: Contorno de la superficie de respuesta estimada para capacidad antioxidante por el método DPPH en función a la temperatura y el tiempo, tostado en tostador TR

Para analizar detalladamente la influencia de los factores en la respuesta analizada, se aprecia en la Figura 27, el gráfico de perturbación, donde el trazo de temperatura (A), a medida que incrementa la temperatura, el valor de capacidad antioxidante por DPPH incrementa, siendo directamente proporcional hasta cierto punto y después empieza a descender ligeramente, pero se observa la mayor parte del trazo de forma positiva. Como resultado se obtiene una curvatura en el factor (A) y nos demuestra que un cambio en la temperatura puede repercutir en la cantidad de capacidad antioxidante del cacao. En el factor tiempo (B) se observa que a un menor tiempo (10 min) se tiene mayor capacidad antioxidante hasta cierto punto, y después empieza a decrecer inmediatamente hasta un valor mínimo en 30 min, teniendo una relación inversamente proporcional. Como resultado se obtiene en la mayor parte del trazo una curvatura decreciente en el factor (B), lo que indicaría que a medida que el tiempo sea mayor, disminuye la capacidad antioxidante del cacao.

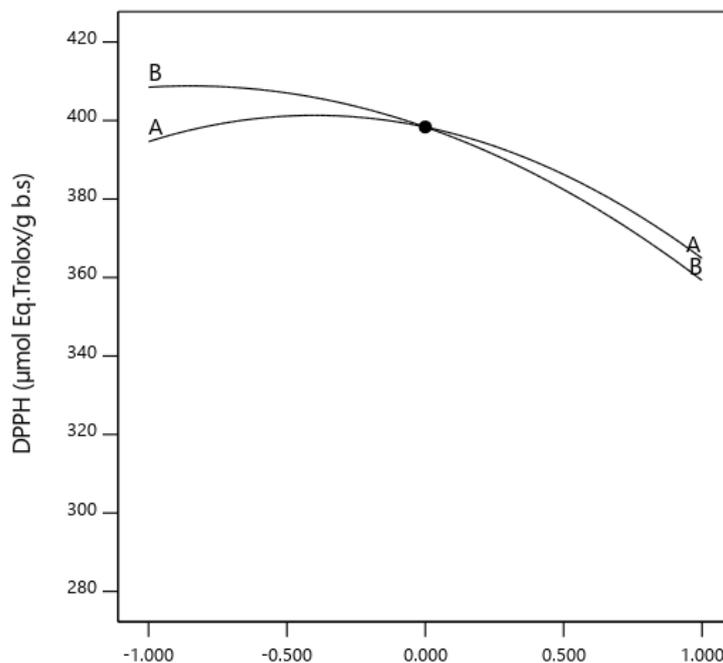


Figura 27: Perturbación para la respuesta de capacidad antioxidante por el método DPPH (para A: temperatura, B: tiempo), tostado en tostador tambor rotatorio (TR). X: Desviación del punto de referencia (unidades codificadas); Y: DPPH (µmol Eq. Trolox/g b.s)

Por todo lo anterior, se podría decir que en el tostado de cacao en un tostador tambor rotatorio (TR), las variables que tienen mayor influencia en la capacidad antioxidante por el método DPPH es la temperatura (A) y el tiempo (B), y su interacción; y se confirma con el análisis de varianza que estos factores tienen un efecto significativo. De manera similar, Pareja (2018) y García-Alamilla *et al.* (2017) encontraron diferencias significativas en función al tiempo y temperatura en el tostado, sobre la capacidad antioxidante del grano de cacao.

d. Optimización simultánea de variables de respuesta

Como se obtuvieron los modelos matemáticos de las respuestas estudiadas, se procedió a realizar la optimización simultánea de estas. Las condiciones óptimas de polifenoles totales y capacidad antioxidante por el método FRAP y DPPH fueron estimados por el método de deseabilidad, utilizando el programa Design Expert®. La variable dependiente se fijó al valor máximo de deseabilidad ($d = 1,00$), en la Tabla 15, se observa que el valor de la deseabilidad es de 0,995, el cual se acerca mucho al valor máximo que es el valor 1. Las condiciones óptimas obtenidas corresponden a una temperatura de 127 °C, y tiempo de 11 min, obteniéndose polifenoles totales estimado de 64,36 mg EAG/g b.s, capacidad antioxidante por método de FRAP estimado de 264,46 $\mu\text{mol Eq. Trolox/g b.s}$, y por el método de DPPH estimado de 409,52 $\mu\text{mol Eq. Trolox/g b.s}$.

Tabla 15: Deseabilidad máxima del tratamiento con respecto a los polifenoles totales y capacidad antioxidante (FRAP y DPPH) por TR

Solución	Temperatura (°C)	Tiempo (min)	Polifenoles totales (mg EAG/g b.s)	FRAP ($\mu\text{mol Eq. Trolox/g b.s}$)	DPPH ($\mu\text{mol Eq. Trolox/g b.s}$)	Deseabilidad
1	127	11	64,36	264,46	409,52	0,995

e. Validación del modelo

Una vez obtenido el tratamiento óptimo, se procedió a validar el resultado dado por el programa. Los valores experimentales, así como los valores estimados por el modelo generado se presentan en la Tabla 16, donde se observa que los valores experimentales son bastante cercanos al estimado y, por lo tanto, están dentro del rango al obtenido por el modelo matemático, lo cual valida los resultados encontrados en polifenoles totales y capacidad antioxidante (FRAP y DPPH).

Tabla 16: Valor estimado y experimental para el TR bajo las condiciones óptimas recomendadas por el modelo

Condiciones óptimas recomendadas por el modelo	Variabes de respuesta	Estimado	Experimental*	Rango	Validación (%)
Temperatura: 127 °C Tiempo: 11 min	Polifenoles totales (mg EAG/g b.s)	64,36	64,38 ± 2,10	63,20 - 66,07	99,97
	FRAP (µmol Eq. Trolox/g b.s)	264,46	260,91 ± 6,14	254,03 - 273,97	98,66
	DPPH (µmol Eq. Trolox/g b.s)	409,52	414,61 ± 2,62	396,08 - 423,16	98,76
Promedio					99,13

*Promedio ± desviación estándar de tres repeticiones

Este resultado estuvo de acuerdo con Ioannone *et al.* (2015) quienes indican que el tostado a alta temperatura y tiempo corto (HTST) conserva mejor el contenido de polifenoles que lo hace a baja temperatura y tiempo largo (LTLT). Dado que la biodisponibilidad de los polifenoles y la función del metabolismo en humanos ha sido ampliamente investigada y su bioeficacia es generalmente aceptada, los procesos HTST son recomendables para preservar las propiedades funcionales del cacao al tostarlo.

4.3. CARACTERIZACIÓN DE LOS TRATAMIENTOS ÓPTIMOS

4.3.1. Análisis físico

En la Tabla 17 (Anexo 20), se puede observar el color donde los parámetros L^* , a^* , b^* y el índice de blancura (I.B), no tuvieron diferencias significativas en los granos tostados por TE y TR, esto se podría deber a que las condiciones de temperaturas fueron semejantes y los tiempos fueron iguales en la torrefacción óptima (TE: 130 °C por 11 min; TR: 127 °C por 11 min). Para el parámetro L^* se obtuvieron valores para TE de 31,14 y para TR de 32,53; encontrándose dentro del rango del estudio de García-Alamilla *et al.* (2017) donde informaron para el parámetro L^* , valores de 26,51 - 34,36 en un rango de temperatura de 110 - 150 °C y tiempo de 5 - 55 min en un tostador rotatorio; asimismo, Żyżelewicz *et al.* (2016) cuyo valor L^* fue de 32,43 - 37,20; a una temperatura de 135 - 150 °C en un sistema de tostado por convección (estufa). En los resultados del estudio, el valor de L^* disminuyó el brillo con respecto al valor inicial (cacao sin tostar) en un 4,42 por ciento para TE y 0,15 por ciento para TR; por su parte, Oracz y Nebesny (2018) reportaron valores de L^* para tres variedades de cacao (criollo, forastero, trinitario) disminuyeron de 6,2 a 23,8 por ciento con un aumento de temperatura de 110 a 150 °C. Esto nos demuestra que la disminución del parámetro L^* puede explicarse por el resultado de las reacciones de Maillard y la caramelización, que son procesos de ennegrecimiento no enzimáticos durante el tostado.

En cuanto al verde - rojo dado por a^* , se encontró para los granos tostados por TE (14,41) y para TR (14,34). Estos resultados están dentro del rango a lo reportado por Pareja (2018) donde oscilaron entre 8,99 y 109,39; tostados a 100, 120, 140 y 160 °C por 5, 10, 15 y 25 min, en grano de cacao chuncho; y fueron mayores en comparación con el estudio de García-Alamilla *et al.* (2017) donde encontraron para el parámetro a^* valores de entre 6,21 y 11,96. Con respecto a la muestra de cacao sin tostar los valores de a^* incrementaron en el tostado en un 19,88 y 19,30 por ciento para TE y TR, respectivamente. Según reportaron los distintos autores, el parámetro a^* incrementa con el tostado y este cambio está asociado al enrojecimiento del grano de cacao chuncho por la formación de pigmentos marrones debido al pardeamiento enzimático y la degradación de los fosfolípidos (García-Alamilla *et al.* 2017; Pareja 2018).

Tabla 17: Análisis del color del cacao tostado óptimo

Color*	Tostador estufa (TE)	Tostador tambor rotatorio (TR)
L*	31,14 ± 0,10 ^a	32,53 ± 0,07 ^a
a*	14,41 ± 0,06 ^a	14,34 ± 0,03 ^a
b*	14,24 ± 0,05 ^a	14,18 ± 0,05 ^a
I.B	28,22 ± 0,10 ^a	29,57 ± 0,08 ^a

*Promedio ± la desviación estándar de tres repeticiones. Letras diferentes indican diferencia significativa ($p < 0,05$) entre el tostado de cacao por TE y TR

Para el parámetro azul - amarillo dado por b*, dió un valor para el grano tostado por TE (14,24) y para TR (14,18). Los resultados obtenidos son mayores a los indicados por Pareja (2018) encontrando valores para b* que oscilan de 2,82 – 11,75 en cacao chuncho; y menores con respecto a Oracz y Nebesny (2018) que reportaron un rango de 21,00 – 23,83 y para García-Alamilla *et al.* (2017) valores para b* de entre 22,94 – 32,67. La diferencia de resultados se da porque el color del cacao depende en gran medida tanto de la varietal como de las condiciones de procesamiento adicionales (Misnawi *et al.* 2003; Suazo *et al.* 2014; Di Mattia *et al.* 2011; Krysiak *et al.* 2013). Con respecto al cacao sin tostar igualmente los valores de b* incrementaron en el tostado en un 36,66 y 39,54 por ciento para TE y TR, respectivamente; y muestra el amarillamiento del grano de cacao chuncho porque están asociados con la formación de pigmentos marrones debido a la condensación y reacciones de polimerización en el tostado (García-Alamilla *et al.* 2017).

El índice de blancura (I.B) según indica la Tabla 17, los valores para TE y TR fueron 28,22 y 29,57; respectivamente. Según los valores de García-Alamilla *et al.* (2017) reportaron un I.B que oscilaron entre 22,76 - 25,71; por lo que indicaron que disminuyeron en el tostado en un rango de temperatura de 110 - 150 °C y tiempo de 5 - 55 min. De igual manera en el tostado del cacao chuncho los valores de I.B tuvieron un descenso en un porcentaje de 8,17 y 3,77 por ciento para TE y TR, respectivamente. Es comprensible la disminución del parámetro I.B, ya que se relaciona con las escalas de L*, a* y b*, como resultado se debe a la disminución de la luminosidad y mayor oscurecimiento (color marrón) de los granos de cacao chuncho por consecuencia de la reacción de Maillard por efecto del tostado.

En el presente estudio (Tabla 17), los parámetros a^* y b^* aumentaron con respecto al cacao sin tostar, mientras la escala L^* y el índice de blancura (I.B) disminuyeron. Este fenómeno se le atribuye a la torrefacción del cacao que conlleva un aumento de pigmentos marrones debido a la deshidratación de las moléculas de carbohidratos, lo que da como resultado, reacciones de Maillard (melanoidinas) y caramelización, a medida que aumenta la temperatura y disminuye la humedad del grano de cacao. Otro factor que contribuye el aumento de la tonalidad del color podría ser también la condensación de polifenoles, además, otros fenómenos, como la oxidación de polifenoles, podrían tener lugar durante el tostado (Hii *et al.* 2009; Sacchetti *et al.* 2009; Ioannone *et al.* 2015, Suazo *et al.* 2014).

Según García-Alamilla *et al.* (2017) diferentes métodos de tostado del cacao en grano aumentan o disminuyen los parámetros de color L^* , a^* y b^* , que son función de la concentración de pigmentos del grano de cacao, y también dependen de la degradación durante la fermentación y proceso de secado.

4.3.2. Análisis fisicoquímico

En la Tabla 18 (Anexo 21), el contenido de humedad y fibra cruda mostró estadísticamente diferencias significativas para grano de cacao chuncho tostado en TE y TR; sin embargo, las diferencias en los valores promedios no son mayores a 0,16 y 1,10 unidades para humedad y fibra cruda, respectivamente; esto se explicaría debido a que las temperaturas y tiempos fueron semejantes para TE (130 °C por 11 min) y TR (127 °C por 11 min). Mientras los valores de ceniza, grasa cruda, proteína cruda y carbohidratos totales, no tuvieron diferencias significativas, es decir tuvieron igual valor en los granos de cacao chuncho tostados en TE y TR por la cercanía de los parámetros óptimos.

El contenido de humedad en grano de cacao chuncho tostado reportó un valor para TE (2,85 por ciento) y TR (2,69 por ciento). Por su parte Hu *et al.* (2016) obtuvieron un porcentaje de humedad de 0,43 por ciento en un cacao tostado a 190 °C durante 15 min en un tostador tambor rotatorio; valor diferente al encontrado en la investigación debido a que se utilizó una menor temperatura y también depende mucho de la humedad inicial del cacao. Varios autores indican que existe un efecto de la temperatura y el tiempo de tueste sobre el contenido de humedad; se confirmó en el presente estudio que estos

parámetros influyen en el tostado, en tal sentido, disminuyeron en 49,47 y 52,30 por ciento para TE y TR, respectivamente. Según Afoakwa (2016) y Rodriguez (2019), el impacto del tostado en los cambios estructurales dentro del grano, por lo cual, la gran pérdida de humedad finalmente hace que el grano sea friable, acompañado de una matriz suelta y porosa; y sea segura para su almacenamiento (limitante al crecimiento de microorganismos siempre que se mantengan a esas condiciones de humedad) y respectivo procesamiento.

Tabla 18: Análisis fisicoquímico del cacao tostado óptimo

Análisis*	Tostador estufa (TE)		Tostador tambor rotatorio (TR)	
	Base húmeda (%)	Base seca (%)	Base húmeda (%)	Base seca (%)
Humedad	2,85 ± 0,04 ^b	-	2,69 ± 0,05 ^a	-
Ceniza	3,20 ± 0,07 ^a	3,30 ± 0,07 ^a	3,01 ± 0,10 ^a	3,09 ± 0,10 ^a
Grasa cruda	47,03 ± 0,32 ^a	48,41 ± 0,33 ^a	47,69 ± 0,27 ^a	49,01 ± 0,28 ^a
Proteína cruda	13,69 ± 0,26 ^a	14,10 ± 0,27 ^a	13,19 ± 0,32 ^a	13,55 ± 0,33 ^a
Fibra cruda	9,76 ± 0,06 ^a	10,05 ± 0,06 ^a	10,85 ± 0,03 ^b	11,15 ± 0,03 ^b
Carbohidratos totales	33,23 ± 0,15 ^a	34,20 ± 0,14 ^a	33,42 ± 0,13 ^a	34,35 ± 0,14 ^a

*Promedio ± la desviación estándar de tres repeticiones. Letras diferentes indican diferencia significativa ($p < 0,05$) entre el tostado de cacao por TE y TR

En la Tabla 18, se observa el análisis proximal en base seca para los granos chunchos, tostados con los parámetros óptimos para los dos tipos de tostador, obteniendo un porcentaje para ceniza (TE= 3,30 y TR= 3,09); grasa cruda (TE= 48,41 y TR= 49,01); proteína cruda (TE= 14,10 y TR= 13,55); fibra cruda (TE= 10,05 y TR= 11,15) y carbohidratos totales (TE= 34,20 y TR= 34,35). Esta tendencia se asemeja a lo reportado por Aldave (2016) donde menciona para los granos de cacao de la varietal CCN 51 e ICS 6, tostados a 130 °C por un tiempo de 50 min, reportando para ceniza (CCN 51= 2,85 y ICS 6= 3,20); grasa cruda (CCN 51= 47,83 y ICS 6= 47,76); proteína cruda (CCN 51= 13,61 y ICS 6= 14,16); fibra cruda (CCN 51= 7,76 y ICS 6= 8,99) y carbohidratos totales (CCN 51= 35,71 y ICS 6= 34,93). En el estudio todos los componentes disminuyeron por el efecto del tostado tanto para TE y TR, excepto la grasa cruda y la proteína cruda. Diferentes autores indicaron que la grasa disminuye en el tostado debido a la degradación

de ácidos grasos de cadena larga en ácidos grasos de cadena corta y ácidos grasos libres o conversión de lípidos en polienos y productos de aroma ácido durante el inflado o tostado; sin embargo, en la investigación fue diferente y se podría deber a que no se transfirió la grasa del grano de cacao a la cáscara de cacao y por lo tanto algunos ácidos grasos no se transformaron en ácidos poliénicos (Krysiak 2011).

En los estudios de Oracz y Nebesny (2015) y Krysiak (2011) indican que durante el tostado las altas temperaturas y el aire húmedo que se presenta en el medio ambiente reducen la pérdida de grasa tan eficientemente como a las temperaturas bajas. El efecto de la humedad elevada puede explicarse por el aflojamiento de la estructura de la cáscara por el agua contenida en el aire que permite su separación del núcleo. Por lo tanto, el aire húmedo proporciona la formación de espacio libre entre el núcleo y la cáscara que impide la absorción de grasa por la cáscara.

Con respecto a la proteína, incrementó en el tostado en un 7,63 por ciento para TE y en un 3,44 por ciento para TR, en comparación con el cacao sin tostar. Por lo tanto, durante el tostado no se produce una disminución de la fracción de albúmina, proteína total y aminoácidos libres (Rodriguez 2019; Caligiani *et al.* 2016).

4.3.3. Análisis químico

En la Tabla 19 (Anexo 22), se puede observar en el pH diferencias significativas en los granos de cacao tostados por los dos tipos de tostador; teniendo mayor valor en el TE que en el TR de 5,14 y 5,03; respectivamente. Esta diferencia se puede explicar a que se empleó distintas temperaturas de tostado en el TE (130 °C) y en el TR (127 °C), pero la diferencia es pequeña; esto nos muestra que con un mínimo aumento o disminución de temperatura influye en el pH. Ambas muestras de cacao tostado por TE y TR, incrementaron la concentración de pH en 2,39 y 0,20 por ciento, respectivamente; comparándolos con la muestra de cacao sin tostar; este fenómeno se atribuye a la disminución de compuestos ácidos durante el proceso de tostado (Hu *et al.* 2016). En comparación con Quiroz-Reyes y Fogliano (2018) los datos de la investigación fueron diferentes; informaron que los granos de cacao en estudio disminuyeron 0,2 a 0,3 unidades de pH durante el tostado (forastero 5,4; criollo 6,0) en comparación con los granos de cacao crudos e indica que se atribuye por la formación de reductonas.

El efecto del pH ha sido evaluado en estudios de modelos, encontrando una estrecha relación con la formación de compuestos volátiles; por ejemplo, un pH bajo (≤ 5) favorece la formación de pirazinas y un pH más alto favorece a las metilpirazinas. En estudios de tostado que mantienen el pH a 5,0, se promueve la formación de muchos compuestos nitrogenados como pirroles y piridinas (Apriyantono y Ames 1993; citados por García-Alamilla *et al.* 2017). En el presente estudio, el rango de valores de pH fue de 5,03 – 5,14, favoreciendo la formación de compuestos volátiles como metilpirazinas, pirroles y piridinas.

Tabla 19: Análisis de pH y acidez de los tratamientos óptimos

Análisis*	Tostador estufa (TE)	Tostador tambor rotatorio (TR)
pH	5,14 \pm 0,01 ^b	5,03 \pm 0,01 ^a
Acidez (ácido acético) (%)	0,95 \pm 0,04 ^a	0,92 \pm 0,05 ^a

*Promedio \pm la desviación estándar de tres repeticiones. Letras diferentes indican diferencia significativa ($p < 0,05$) entre el tostado de cacao por TE y TR

El resultado de porcentaje de acidez encontrado en el TE fue de 0,95 por ciento y en el TR fue de 0,92 por ciento de ácido acético; no tuvieron diferencias significativas. En comparación con García-Alamilla *et al.* (2017), los datos de la investigación fueron diferentes; informaron que la acidez varió desde 1,09 - 1,95 por ciento de ácido acético, empleando temperaturas de 110, 120, 130, 140, 150 y tiempos de 5, 14, 30, 46, 55 min; indicando que disminuyó la acidez con el tostado. La diferencia de los resultados se podría explicar por el genotipo del cacao y el manejo de poscosecha (porcentaje de acidez después de la fermentación y el secado). Con respecto al cacao sin tostar, las muestras de cacaos tostados también disminuyen la acidez en TE (16,67 por ciento) y TR (19,30 por ciento). Esta tendencia es reportada por Frauendorfer y Schieberle (2006) donde encontraron que durante el tostado la concentración de ácido acético disminuyó aproximadamente el 70 por ciento. La disminución de acidez se atribuyó a la liberación y eliminación de ácidos orgánicos volátiles, principalmente ácido acético; mientras aumenta el tiempo y la temperatura en el proceso de tostado (Abballe *et al.* 2021; García-Alamilla *et al.* 2017).

Además, los resultados mostraron una relación inversamente proporcional entre acidez y pH; cuanto menores son los valores de acidez, mayores son los valores de pH; lo cual coincide con lo reportado en el trabajo de Abballe *et al.* (2021) sobre muestras tostadas a 120 - 150 °C y por un tiempo de 5 - 120 min.

El ácido acético es el principal ácido presente en los granos de cacao y se forma durante la fermentación del cacao por oxidación del etanol. Como es un ácido volátil, se espera una disminución de la concentración durante las etapas de secado y tostado (Fowler 2008). Por tanto, cuanto mayor sea el tiempo de secado o tostado, menor será la concentración de ácido acético y, en consecuencia, menor la acidez total y mayor el pH.

En la Tabla 20 (Anexo 23), se puede observar que las muestras de granos de cacao chuncho tostados en TE y TR, no tuvieron diferencias significativas para el contenido de polifenoles totales y capacidad antioxidante (FRAP y DPPH); es decir que en cualquiera de estos tostadores se obtiene un mismo resultado, y esto podría ser porque los tratamientos óptimos son semejantes (TE= 130 °C por 11 min y TR=127 °C por 11 min) y otra razón sería puesto que el mecanismo de transferencia de calor en ambos tostadores tendría una misma combinación de convección y conducción hacia el grano de cacao.

El contenido de polifenoles en el cacao chuncho tostado se observa en la Tabla 20, valores comprendidos entre 63,72 mg EAG/g b.s y 64,38 mg EAG/g b.s para TE y TR, respectivamente; por lo que estos valores fueron los que incrementaron en el tostado en un 10,53 por ciento en TE y 11,67 por ciento en TR, respecto a la muestra del grano sin tostar. Esta tendencia se asemeja a lo reportado por Ioannone *et al.* (2015) donde encontraron que a mayor temperatura y tiempo corto (HTST) conserva mejor el contenido de polifenoles que a baja temperatura y tiempo largo (LTLT), mostrando así en su investigación una mayor retención de polifenoles a 145 °C; y por lo que Fernández (2018) y Żyżelewicz *et al.* (2016) mostraron también que a mayor temperatura y mayor tiempo de tostado existe una mayor pérdida de compuestos polifenólicos y observaron una mínima degradación de estos a 135 °C por 15 min. En comparación con Arlorio *et al.* (2008) los datos de la investigación fueron diferentes; informaron que los polifenoles totales en la torrefacción a una temperatura de 130 °C descienden entre el 32,63 por ciento (granos de cacao de Ecuador) y el 54,74 por ciento (granos de cacao de Ghana); y en otro estudio de Quiroz-Reyes y Fogliano (2018) reportaron que se degradaron los polifenoles totales entre 28 y 38 por ciento, y 12 y 40 por ciento para cacao criollo y

forastero, respectivamente; en un rango de temperatura de tueste de 130 – 150 °C. En la investigación se maximizó la cantidad de polifenoles totales a condiciones óptimas de temperatura y tiempo de tueste, llevando a cabo a 130 °C durante 11 min y 127 °C durante 11 min para TE y TR, respectivamente. Las diferencias entre los resultados presentados por varios autores pueden atribuirse al uso de diferentes métodos de tostado o al diverso tipo y varietal de granos de cacao (Oracz y Nebesny 2015).

Tabla 20: Contenido de polifenoles y capacidad antioxidante del cacao tostado óptimo

Análisis*	Tostador estufa (TE)	Tostador tambor rotatorio (TR)
Polifenoles totales (mg EAG/g b.s)	63,72 ± 1,84 ^a	64,38 ± 2,10 ^a
FRAP (µmol Eq.Trolox/g b.s)	267,93 ± 5,30 ^a	260,91 ± 6,14 ^a
DPPH (µmol Eq.Trolox/g b.s)	418,91 ± 3,86 ^a	414,61 ± 2,62 ^a

*Promedio ± la desviación estándar de tres repeticiones. Letras diferentes indican diferencia significativa ($p < 0,05$) entre el tostado de cacao por TE y TR

Este estudio mostró que el nivel de contenido fenólico total del cacao chuncho incrementó durante el tostado tanto para TE y TR; la explicación del aumento durante el tratamiento térmico se le podría atribuir a la liberación de los polifenoles de la celda almacenamiento del cotiledón del grano de cacao que no fue fermentado y así mismo los que están unidos con las proteínas o polisacáridos de la pared celular del grano (Oracz y Nebesny 2015; Fernández 2018). En el tostado se producen compuestos derivados (reductonas y melanoidinas) de las reacciones entre azúcares reductores y aminoácidos, conocido comúnmente como las reacciones de Maillard o pardeamiento no enzimático; y por lo tanto encontraron que la degradación de estos compuestos (azúcares reductores y aminoácidos) se debe a que aumenta la concentración de polifenoles (Ioannone *et al.* 2015).

En la Tabla 20, se observa el contenido de capacidad antioxidante por el método FRAP en cacao chuncho tostado con valores comprendidos de 267,93 y 260,91 µmol Eq. Trolox/g b.s para TE y TR, respectivamente. Por lo que, aumentaron en el tostado respecto al grano sin tostar en un 33,35 y 29,86 por ciento para TE y TR, respectivamente. Este resultado estuvo de acuerdo con Suazo *et al.* (2014) donde

observaron un ascenso durante el tostado de cacao a 130 °C tras 20 min, para volver de nuevo a los valores iniciales a los 40 y 60 min. Para el contenido de capacidad antioxidante por el método DPPH en el grano de cacao chuncho tostado comprenden valores de 418,91 y 414,61 $\mu\text{mol Eq. Trolox/g b.s}$ para TE y TR, respectivamente. El contenido de capacidad antioxidante por el método DPPH en el grano de cacao chuncho aumentaron en el tostado respecto al grano sin tostar en un 24,25 y 22,98 por ciento para TE y TR, respectivamente. De manera similar Oracz y Nebesny (2015) encontraron un ligero aumento en la actividad de captación de radicales DPPH (de 0,5 a 1,9 por ciento del valor inicial) en el caso de cacao forastero de Brasil a un rango de tueste de 110 a 135 °C, mientras se observó una disminución del procesamiento a 150 °C en comparación a las muestras sin tostar. Las discrepancias en los resultados podrían explicarse por varios contenidos iniciales de compuestos antioxidantes en granos de diferentes cultivares de cacao que son afectados por factores como el genotipo, las condiciones agroclimáticas, el proceso de beneficio (fermentación y secado) y las condiciones de tostado (tiempo y temperatura) (Oracz y Nebesny 2015; Payne *et al.* 2010; Rodríguez-Campos 2011).

Se a verificado en la investigación que los contenidos de capacidad antioxidante del cacao chuncho determinados por ambos métodos mostraron un incrementó en el tostado, tanto para TE y TR; este hecho podría deberse principalmente a la liberación de compuestos fenólicos unidos de la matriz celular y/o la formación y acumulación de nuevos antioxidantes, como las melanoidinas como consecuencia de la reacción de Maillard. Esto sugirió que un aumento en el contenido de melanoidinas también puede contribuir a la mejora observada de la actividad antioxidante de los granos de cacao tostados porque producen sustancias fuertemente reductoras, que son responsables de su actividad captadora de radicales libres. Además, se sabe que los compuestos fenólicos en un estado intermedio de oxidación pueden exhibir un mayor potencial de eliminación de radicales que los polifenoles oxidados (Suazo *et al.* 2014; Dorta *et al.* 2012; Quiroz-Reyes y Fogliano 2018; Yamaguchi *et al.* 1981; citados por Oliviero *et al.* 2009).

4.3.4. Análisis microbiológico

En la Tabla 21, se observa el resultado de los análisis microbiológicos del grano de cacao chuncho que fue tostado por los tratamientos óptimos en los tostadores TE (130 °C por 11 min) y TR (127 °C por 11 min), donde se encontró en la numeración de bacterias

aerobias mesófilas viables valores de 3,95 log UFC/g y 3,90 log UFC/g para TE y TR, respectivamente; la numeración de mohos y levaduras presentaron valores menores de 2 log UFC/g y en la detección de *Salmonella sp.* hubo ausencia en 25 gramos, tanto para TE y TR. Los resultados nos mostraron que el grano de cacao chuncho tostado cumple con los criterios microbiológicos según indica MINSA (2008), y se encuentran en óptimas condiciones microbiológicas para el proceso del chocolate y siendo así aptas para el consumo humano. En el estudio de Cooperativa Naranjillo (2008); citado por Sinche (2011), obtuvieron resultados semejantes al nuestro dónde reportó para aerobios mesófilos viables $5,0 \times 10^3$ UFC/g (3,70 log UFC/g); mohos y levaduras menores a 100 UFC/g (2 log UFC/g) y *Salmonella sp.* presentó ausencia en 25 g.

Tabla 21: Análisis microbiológico del cacao tostado óptimo

Análisis	Tostador estufa (TE)	Tostador tambor rotatorio (TR)
Bacterias aerobias mesófilas viables (log UFC/g)	3,95	3,90
Número de mohos y levaduras (log UFC/g)	< 2	< 2
Detección de <i>Salmonella sp.</i>	Ausencia/25 g	Ausencia/25 g

4.4. CARACTERIZACIÓN DE LOS CHOCOLATES CON LOS TRATAMIENTOS ÓPTIMOS

En la Tabla 22 (Anexo 24), se observa la cantidad de polifenoles totales y la capacidad antioxidante por el método FRAP y DPPH en los chocolates elaborados con cacao tostado en estufa y tambor rotatorio, y estadísticamente tuvieron diferencias significativas. A pesar de que se tuvo la misma cantidad de polifenoles y capacidad antioxidante en el cacao tostado óptimo por TE y TR (Tabla 20), se observa claramente que se reduce significativamente los compuestos en el proceso del chocolate, teniendo mayor descenso en el chocolate elaborado con cacao tostado en estufa respecto al chocolate elaborado con cacao tostado en tambor rotatorio.

La disminución del contenido de polifenoles y capacidad antioxidante se puede explicar a la oxidación de los polifenoles por la aplicación de calor por períodos prolongados,

como 24 h en el refinado y conchado, pero a menores temperaturas, lo que puede ocasionar cambios en la composición (Acevedo *et al.* 2017; Efraim *et al.* 2011). Según la investigación de Di Mattia *et al.* (2013) y Acevedo *et al.* (2017) reportaron que la actividad antioxidante y la concentración de polifenoles del chocolate se redujeron significativamente por el efecto de la temperatura del conchado. En el presente estudio se realizó a cabo en un tiempo de 28 horas en el refinado y conchado (llegando a 50 °C) para la elaboración de los dos chocolates y esto parece concertar con lo descrito en la bibliografía donde el procesamiento incide en el descenso del contenido de polifenoles y capacidad antioxidante. Sin embargo, aún existen pocos estudios que hayan evaluado la influencia de pasos específicos en la fabricación de chocolate sobre los compuestos fenólicos.

Tabla 22: Contenido de polifenoles totales y capacidad antioxidante de los chocolates

Compuesto*	Chocolate elaborado con cacao tostado en estufa (CH-E)	Chocolate elaborado con cacao tostado en tambor rotatorio (CH-R)
Polifenoles totales (mg EAG/g b.s)	54,93 ± 1,00 ^a	64,31 ± 0,33 ^b
FRAP (µmol Eq.Trolox/g b.s)	193,21 ± 0,83 ^a	210,14 ± 0,82 ^b
DPPH (µmol Eq.Trolox/g b.s)	385,01 ± 1,43 ^a	406,24 ± 2,14 ^b

*Promedio ± la desviación estándar de tres repeticiones. Letras diferentes indican diferencia significativa ($p < 0,05$) entre los chocolates elaborados con cacao tostado en tostador estufa y tambor rotatorio

A pesar que disminuyeron estos compuestos en la elaboración de chocolate, tuvieron una buena cantidad de polifenoles totales en chocolate elaborado con cacao tostado en estufa (54,93 mg EAG/g) y chocolate elaborado con cacao tostado en tambor rotatorio (64,31 mg EAG/g) respecto a los valores reportados por otros autores como, Todorovic *et al.* (2015) en chocolates oscuros del 65 al 75 por ciento de cacao, obtuvieron de 7,21 a 12,65 mg EAG/g; y según Calva-Estrada *et al.* (2020) en chocolate al 74 por ciento de cacao encontraron 8,96 mg EAG/g de polifenoles totales. Mientras se encontró resultados semejantes en el reporte de Nara *et al.* (2016) donde informaron para un chocolate al 70 por ciento de cacao y 30 por ciento de azúcar, sus valores fueron comprendidos desde 47,17 a 57,16 mg EAG/g para el contenido de polifenoles totales; y según Perea-Villamil

et al. (2009) en chocolate amargo presentó un contenido de polifenoles totales de 46,46 mg EAG/g.

En la Tabla 22, el contenido de capacidad antioxidante por el método FRAP se observa para el chocolate elaborado con cacao tostado en estufa (193,21 $\mu\text{mol Eq. Trolox/g b.s}$) y chocolate elaborado con cacao tostado en tambor rotatorio (210,14 $\mu\text{mol Eq. Trolox/g b.s}$), cantidades mayores a los resultados de Todorovic *et al.* (2015) donde reportaron valores comprendidos de entre 130,3 y 151,4 $\mu\text{mol Eq. Trolox/g}$ para chocolates oscuros del 65 al 75 por ciento de cacao; y menores a los resultados reportados por Perea-Villamil *et al.* (2009) cuyo valor promedio fue 260,29 para chocolate amargo.

Por su parte, para el contenido de capacidad antioxidante por el método DPPH, en la Tabla 22, se observa para el chocolate elaborado con cacao tostado en estufa (385,01 $\mu\text{mol Eq. Trolox/g}$) y chocolate elaborado con cacao tostado en tambor rotatorio (406,24 $\mu\text{mol Eq. Trolox/g}$). Estos hallazgos difieren con lo reportado por Todorovic *et al.* (2015) quienes observaron valores que fluctuaron entre 54,7 y 90,9 $\mu\text{mol Eq. Trolox/g}$ para chocolates elaborados con el 65 al 75 por ciento de cacao y para la categoría de chocolate con leche con un contenido del 27 al 29 por ciento de cacao, reportaron valores del 12,0 a 14,9 $\mu\text{mol Eq. Trolox/g}$; pero los resultados obtenidos en la investigación fueron semejantes para la muestra de cocoa (100 por ciento de cacao) con un rango de 236,5 y 242,3 $\mu\text{mol Eq. Trolox/g}$ en DPPH.

En general, la variación que se evidencian entre chocolates en el contenido de polifenoles y capacidad antioxidante depende, entre otros, de ocho factores: (i) la cantidad de cacao empleada de la fracción no grasa, dado que esta fracción tiene el mayor contenido de polifenoles; (ii) el uso de diversos ecotipos de cacao con perfiles y sabores bioactivos que se clasifican como granos de alta calidad; (iii) los pasos de la producción de chocolate, dado que el tostado, es el paso más crítico en la reducción de polifenoles (debido a la polimerización e hidrólisis, así como a las interacciones de proteínas y reacciones de Maillard); (iv) la cantidad de cacao presente en las formulaciones de chocolate negro o chocolate con leche (bajas concentraciones de cacao); (v) la falta de estandarización de los procedimientos de extracción de compuestos fenólicos, así como el uso de solventes con polaridades que no pueden recuperar el contenido máximo de polifenoles; (vi) el uso de diferentes compuestos fenólicos para calibrar la curva estándar en procedimientos colorimétricos, y la presencia de compuestos reductores que

interfieren con la prueba; (vii) interferencias del método colorimétrico, que también se traducen en una subestimación de los valores reales de TPC; y (viii) una baja concentración de ciertos compuestos fenólicos y sus complejos flavonoides-proteína-azúcar que dificultan la valoración total de polifenoles (Gil *et al.* 2021).

4.5. EVALUACIÓN SENSORIAL DE LOS CHOCOLATES

4.5.1. Aceptabilidad

Se observa en la Tabla 23 (Anexos 26 y 27) y Figura 28, entre los chocolates elaborados con cacao tostado en estufa y tambor rotatorio, para el atributo olor, sabor y apreciación general, estadísticamente no existen diferencias significativas (Anexo 28), por lo tanto, los dos chocolates tienen el mismo puntaje de aceptabilidad para los distintos tipos de atributos, teniendo en cada uno de ellos una aceptación positiva por los consumidores.

Para el atributo del olor, el valor promedio obtenido de una escala de 0 a 10 fue para el chocolate elaborado con cacao tostado en estufa ($6,67 \pm 1,93$) y para el chocolate elaborado con cacao tostado en tambor rotatorio ($6,45 \pm 2,12$), indicando una calificación promedio de “me agrada”; logrando de esta manera alcanzar un 60,7 y 54,8 por ciento de aceptación en el atributo olor para los chocolates elaborados con cacao tostado en estufa y tambor rotatorio, respectivamente.

Para el atributo del sabor, el valor promedio obtenido de una escala de 0 a 10 fue para el chocolate elaborado con cacao tostado en estufa ($7,12 \pm 2,44$) y para el chocolate elaborado con cacao tostado en tambor rotatorio ($6,80 \pm 2,54$), indicando una calificación promedio de “me agrada”; logrando de esta manera alcanzar un 84,5 y 76,2 por ciento de aceptación en el atributo sabor para los chocolates elaborados con cacao tostado en estufa y tambor rotatorio, respectivamente. En el reporte de Álava (2016) obtuvo mejor aceptabilidad sensorial en un chocolate donde sus granos de cacao fueron tostados a una temperatura de 115 °C durante 50 min, debido a que se formaron sabores y aromas más intensos. Por lo que indica Stanley *et al.* (2018) la temperatura de tostado del cacao influye de forma significativa en el sabor y aroma final del chocolate, por ello es importante establecer la temperatura en que debe ser tostado el grano. En la presente investigación, se tostaron los granos de cacao chuncho a 130 °C por 11 min y 127 °C por

11 min para los chocolates elaborados con cacao tostado en estufa y tambor rotatorio, respectivamente; y tuvieron una buena aceptabilidad en el olor y sabor.

Para la apreciación general de los chocolates, el valor promedio obtenido de una escala de 0 a 10 fue para el chocolate elaborado con cacao tostado en estufa ($6,99 \pm 2,13$) y para el chocolate elaborado con cacao tostado en tambor rotatorio ($6,93 \pm 2,28$), indicando una calificación promedio de “me agrada”; logrando de esta manera alcanzar un 78,6 y 75 por ciento de aceptación en el atributo apreciación general para los chocolates elaborados con cacao tostado en estufa y tambor rotatorio, respectivamente. En la investigación de Chire (2019) la aceptabilidad sensorial general promedio fue de 69,6 por ciento de consumidores nacionales y extranjeros, en una formulación óptima de chocolate oscuro al 70 por ciento de cacao, conformada por la mezcla de 10 partes de la varietal CCN 51 con 90 de ICS 6.

Tabla 23: Prueba de Mann Whitney para los atributos sensoriales de los chocolates evaluados sensorialmente

Atributos sensoriales*	Chocolate elaborado con cacao tostado en estufa (CH-E)	Chocolate elaborado con cacao tostado en tambor rotatorio (CH-R)
Olor	$6,67 \pm 1,93^a$	$6,45 \pm 2,12^a$
Sabor	$7,12 \pm 2,44^a$	$6,80 \pm 2,54^a$
Apreciación general	$6,99 \pm 2,13^a$	$6,93 \pm 2,28^a$

*Promedio \pm la desviación estándar. Letras diferentes en la misma fila indican diferencias significativas entre chocolates por la prueba de Mann-Whitney ($p < 0,05$)

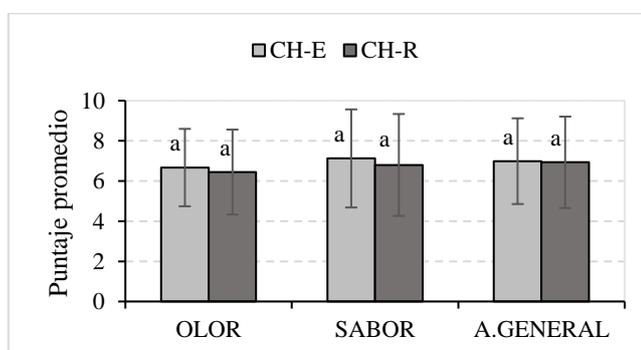


Figura 28: Puntaje promedio de los chocolates

4.5.2. CATA

a. Tabla de contingencia

El cuestionario CATA se aplicó utilizando 20 descriptores sensoriales, de los cuales describieron seis el olor y catorce el sabor. Para resumir los datos del cuestionario CATA se creó una tabla de contingencia (Tabla 24).

Tabla 24: Tabla de contingencia de los datos de los chocolates y veinte atributos CATA

		Chocolate elaborado con cacao tostado en estufa (CH-E)	Chocolate elaborado con cacao tostado en tambor rotatorio (CH-R)
ATRIBUTOS			
OLOR	Cacao/chocolate	69	68
	Ácido	10	8
	Frutal	9	13
	Floral	5	7
	Quemado	6	5
	Extraño	2	7
SABOR	Cacao/chocolate	51	36
	Ácido	22	25
	Amargo	51	35
	Astringencia	6	7
	Dulce	13	25
	Nuez	8	7
	Frutal	10	21
	Floral	3	3
	Quemado	17	9
	Extraño	2	7
	Fruta fresca	1	2
	Fruta seca	18	15
	Herbal	3	6
	Especiado	3	4

La Tabla 24 (Anexos 31 y 32), contiene el recuento del número de consumidores que seleccionaron cada característica sensorial correspondiente para cada muestra de chocolate. Para el chocolate elaborado con cacao tostado en estufa, los atributos más comunes citados fueron: presencia de olor a cacao/chocolate (69), sabor a cacao/chocolate (51), sabor amargo (51), sabor ácido (22), sabor fruta seca (18), sabor

quemado (17) y sabor dulce (13). Para el chocolate elaborado con cacao tostado en tambor rotatorio se seleccionaron con mayor frecuencia: presencia de olor cacao/chocolate (68), sabor cacao/chocolate (36), sabor amargo (35), sabor ácido (25), sabor dulce (25), sabor frutal (21) y sabor fruta seca (15). Este resultado estuvo de acuerdo con algunos atributos de Álava (2016) quien encontró sabores de cacao, amargor, acidez, caramelo, frutal, floral y nuez; en pasta de cacao elaborado con un cacao fino de aroma de Ecuador. En la investigación de Condori (2015) en el análisis sensorial de 24 pastas de cacao chuncho indicó que presentaron atributos positivos de sabor a cacao, acidez cítrica y frutal en intensidades moderadas, así como intensidades leves en los atributos floral y nuez; y atributos negativos más elevados fueron acidez acética, astringencia y amargor.

En las Figuras 29 y 30, se visualizan los datos seleccionados para las características sensoriales presentadas en el cuestionario CATA. Se observa en la Figura 29, que la mayoría de los consumidores caracterizan los chocolates elaborados con cacao tostado en estufa y tambor rotatorio, el atributo del olor cacao/chocolate. Mientras para los atributos del sabor en la Figura 30, se observa que los más representativos fueron: cacao/chocolate, amargo y ácido; para ambos chocolates.

La causa más importante del olor y sabor cacao/chocolate según Kothe *et al.* (2013) se debería a las pirazinas, además de ser los compuestos más formados durante el tostado, indican que, de 100 g de granos de cacao, cerca de un gramo de aminoácidos y azúcares son consumidos vía reacción de Maillard, pero solamente 142 - 698 ug de pirazinas son formadas; sin embargo, el aroma producido es extremadamente importante. El atributo sabor ácido se origina por la presencia de ácidos volátiles (ácido acético) y no volátiles (ácido cítrico) desarrollados en la fermentación del cacao y puede ser muy intensa o no (Solórzano *et al.* 2015). Sin embargo, también hay evidencia de la formación adicional de ácido acético durante la reacción de Maillard a través de escisiones hidrolíticas y oxidativas del α -dicarbonilo intermedio durante la fragmentación del azúcar del producto Amadori (Parker 2015).

Con respecto al atributo sabor amargo, según Luna *et al.* (2002) y Misnawi *et al.* (2005) se atribuyen a los polifenoles junto con los alcaloides teobromina y cafeína, además de aminoácidos, péptidos, pirazinas y dicetopiperazinas, también presentes de forma natural en productos derivados. Esto se explica porque las dos muestras de chocolates tuvieron

una buena proporción de polifenoles totales y capacidad antioxidante, debido a que se optimizó el tostado para su maximización de estos compuestos.

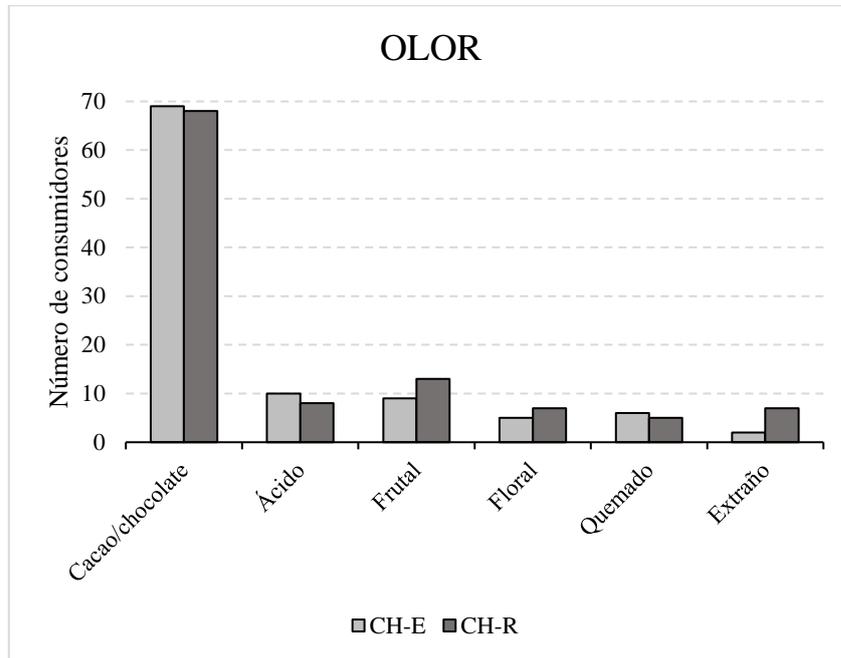


Figura 29: Gráfico de barras del número de deducciones para cada chocolate, agrupados por atributo de olor

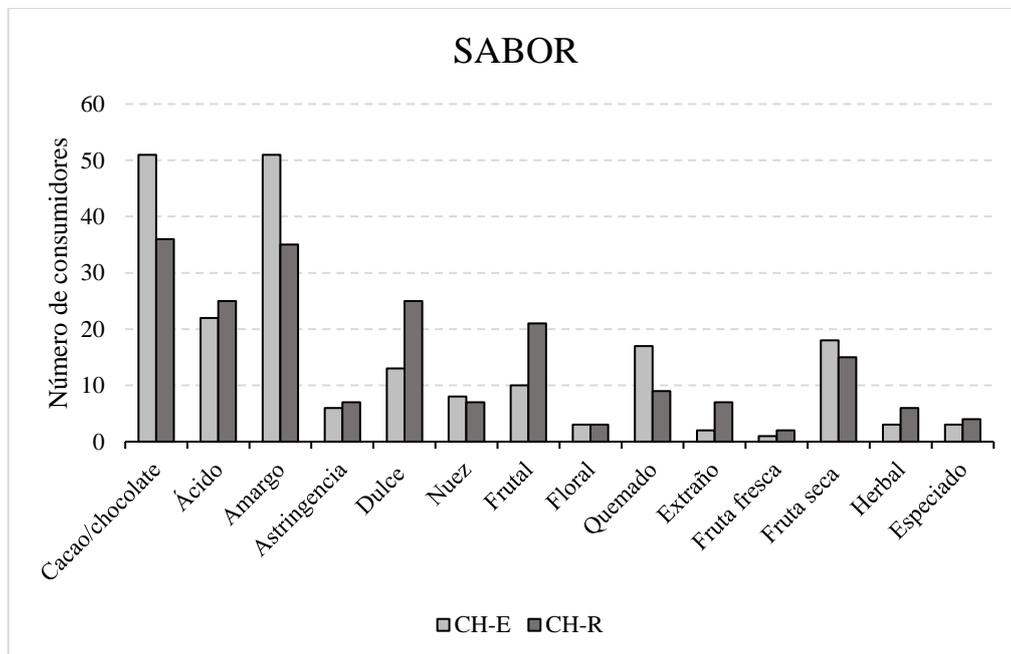


Figura 30: Gráfico de barras del número de deducciones para cada chocolate, agrupados por atributo de sabor

b. Prueba Q

La prueba Q de Cochran se utilizó para identificar diferencias significativas entre muestras de chocolate para cada uno de los términos sensoriales. En la Tabla 25 se presentan los resultados de los valores p basados en la prueba Q de Cochran.

Según la prueba Q de Cochran las diferencias significativas ($p < 0,05$) en cuatro de los 20 términos de las preguntas CATA que se utilizaron para describir las muestras de chocolates, surgieron que los consumidores percibieron diferencias en las características sensoriales de los chocolates evaluados (Tabla 25). Las muestras difieren en cuatro atributos donde fueron sabor cacao/chocolate, sabor amargo, sabor dulce y sabor frutal.

En el atributo sabor cacao/chocolate y sabor amargo se obtuvieron mayor valor para el chocolate elaborado con cacao tostado en estufa con respecto al chocolate elaborado con cacao tostado en tambor rotatorio. Esto se podría deber según diversos estudios por la concentración de compuestos fenólicos, la presencia de ciertos aminoácidos y complejización de péptidos con metilxantinas, que son responsables del sabor característico del chocolate y amargor (Efraim *et al.* 2011). Los aminoácidos libres son relevantes ya que son precursores de la reacción de Maillard que tiene lugar durante el tostado, dando lugar al característico sabor a chocolate; y los aminoácidos libres que quedan en el chocolate contribuyen a las características del sabor (Adeyeye *et al.* 2010; Castro-Alayo *et al.* 2019; John *et al.* 2016). Según Cadena y Herrera (2008) el contenido de polifenoles es una variable que puede afectar el perfil sensorial del chocolate ya que está relacionado con propiedades organolépticas del grano como astringencia, aroma, acidez, amargor y presencia de alcaloides como la teobromina. En el presente estudio el chocolate elaborado con cacao tostado en estufa a pesar que tuvo menor cantidad de polifenoles comparado al chocolate elaborado con cacao tostado en tambor rotatorio, presentó mayor amargor, esto se podría explicar a la pequeña diferencia de temperatura del tostado del grano de cacao de 130 °C y 127 °C para los chocolates elaborados con cacao tostado en estufa y tambor rotatorio, respectivamente. Este comportamiento indicaría que se formaron nuevos compuestos en el tostado o se redujeron levemente el atributo de notas amargas.

Mientras, para el sabor dulce y sabor frutal se obtuvieron mayor valor para el chocolate elaborado con cacao tostado en tambor rotatorio en comparación con el chocolate

elaborado con cacao tostado en estufa. La razón podría ser por la mayor formación de compuestos volátiles como las pirazinas y los aldehídos que dan un sabor frutal predominante (Solórzano *et al.* 2015). Además, los aminoácidos libres contribuyen al sabor dulce en un 18,8 por ciento (Deus *et al.* 2020). En la investigación de Luna *et al.* (2002) indicó que los polifenoles totales aparte de ser responsables de las sensaciones amargas y astringentes, el polifenol también contribuía a los sentidos verdes y afrutados en la pasta de cacao.

En general la variación entre estudios podría depender de los precursores de sabor y olor contenidos en el grano de cacao, y están muy relacionadas al origen constitutivo (propias del genotipo) y adquirido en la poscosecha (bioquímico y térmico) (Portillo *et al.* 2009; Rodríguez-Campos *et al.* 2012).

Tabla 25: Valores-p de la prueba Q de Cochran para cada atributo sensorial

ATRIBUTOS		p-valor	Chocolate elaborado con cacao tostado en estufa (CH-E)	Chocolate elaborado con cacao tostado en tambor rotatorio (CH-R)
OLOR	Cacao/chocolate	0,841	0,821 (a)	0,810 (a)
	Ácido	0,637	0,119 (a)	0,095 (a)
	Frutal	0,394	0,107 (a)	0,155 (a)
	Floral	0,564	0,060 (a)	0,083 (a)
	Quemado	0,763	0,071 (a)	0,060 (a)
	Extraño	0,059	0,024 (a)	0,083 (a)
SABOR	Cacao/chocolate*	0,032	0,607 (b)	0,429 (a)
	Ácido	0,631	0,262 (a)	0,298 (a)
	Amargo*	0,024	0,607 (b)	0,417 (a)
	Astringencia	0,782	0,071 (a)	0,083 (a)
	Dulce *	0,028	0,155 (a)	0,298 (b)
	Nuez	0,796	0,095 (a)	0,083 (a)
	Frutal*	0,028	0,119 (a)	0,250 (b)
	Floral	1,000	0,036 (a)	0,036 (a)
	Quemado	0,088	0,202 (a)	0,107 (a)
	Extraño	0,096	0,024 (a)	0,083 (a)
	Fruta fresca	0,564	0,012 (a)	0,024 (a)
	Fruta seca	0,564	0,214 (a)	0,179 (a)
	Herbal	0,317	0,036 (a)	0,071 (a)
	Especiado	0,705	0,036 (a)	0,048 (a)

*Significativo entre las muestras según la prueba Cochran Q. Los chocolates que comparten las mismas letras no difieren significativamente. Los chocolates que no tengan letras en común, difieren significativamente

Los atributos no discriminatorios para el olor fueron: cacao/chocolate, ácido, frutal, floral, quemado, extraño; para el sabor fueron: ácido, astringente, nuez, floral, quemado, extraño, fruta fresca, fruta seca, herbal y especiado, de acuerdo a la Tabla 25. Por lo tanto, tales atributos, fueron catalogados como características indiferentes para los consumidores, es decir no se encontró diferencias significativas en estos atributos para los chocolates elaborados con cacao tostado en estufa y tambor rotatorio.

4.5.3. Análisis de preferencia

En la Tabla 26 (Anexo 34), hay evidencia estadística para afirmar que no existe una diferencia significativa entre las preferencias para las muestras de chocolates elaborados con cacao tostado en estufa y tambor rotatorio, según el valor del chi-cuadrado (0,101) con grado de libertad uno, es menor que 3,84 (según Anexos 35 y 36). Por lo tanto, los dos chocolates poseen el mismo nivel de preferencia.

Tabla 26: Análisis de datos de la prueba de preferencia por el método Chi-cuadrado (X^2)

Muestra	Número de consumidores*	Preferencia (%)
Chocolate elaborado con cacao tostado en estufa (CH-E)	30 ^a	48,39
Chocolate elaborado con cacao tostado en tambor rotatorio (CH-R)	32 ^a	51,61

*Letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre chocolates por el método Chi-cuadrado

En la Figura 31, se presenta el porcentaje de consumidores que prefirieron cada una de las muestras. En ella se observa que, en la población administrativa y estudiantil de la Universidad Nacional Agraria La Molina, la muestra de chocolate elaborado con cacao tostado en estufa tuvo preferencia (48,39 por ciento) y la muestra de chocolate elaborado con cacao tostado en tambor rotatorio (51,61 por ciento), estadísticamente tuvieron igual preferencia. Según el género de consumidores, para el chocolate elaborado con cacao tostado en estufa prefirieron 36,67 por ciento de varones y 63,33 por ciento de mujeres; y para el chocolate elaborado con cacao tostado en tambor rotatorio eligieron 34,38 por ciento de varones y 65,63 por ciento de mujeres.

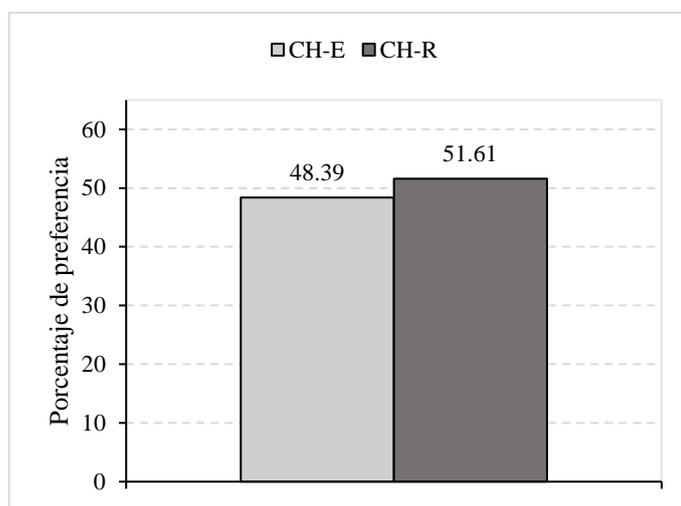


Figura 31: Porcentaje de preferencia de los chocolates

V. CONCLUSIONES

1. La temperatura y tiempo óptimos de tostado en estufa que maximizan la retención de polifenoles totales y capacidad antioxidante (FRAP y DPPH) en el grano de cacao chuncho fueron 130 °C por 11 min, y para el tostado en tambor rotatorio 127 °C por 11 min. En el tostado en estufa se retuvo 63,72 mg EAG/g b.s. como polifenoles totales y como capacidad antioxidante 267,93 $\mu\text{mol Eq. Trolox/g b.s.}$ (FRAP) y 418,91 $\mu\text{mol Eq. Trolox/g b.s.}$ (DPPH); y para el tostador tambor rotatorio 64,38 mg EAG/g b.s. para polifenoles totales, 260,91 $\mu\text{mol Eq. Trolox/g b.s.}$ (FRAP) y 414,61 $\mu\text{mol Eq. Trolox/g b.s.}$ (DPPH).
2. El grano de cacao chuncho fermentado y seco presentó una dimensión y clasificación pequeña, pesando en promedio cada grano 0,82 gramos, con un porcentaje de cáscara de 16,03 por ciento. En la prueba de corte obtuvo un Grado 1, lo que indica una buena calidad del grano, y un índice de fermentación de 75,64 por ciento. Por la fermentación y el secado presentó un color en la coordenada a^* (12,02); b^* (10,42); L^* (32,58), y 30,71 de índice de blancura; presentando los granos tonalidades marrones.
3. El grano de cacao chuncho fermentado y seco tuvo 5,64 por ciento de humedad, 0,54 de actividad de agua y, en base seca, 4,26 por ciento de ceniza; 48,12 por ciento de grasa cruda; 13,10 por ciento de proteína cruda; 14,90 por ciento de fibra cruda y 34,52 por ciento de carbohidratos totales. El pH del grano fue de 5,02 y un porcentaje de acidez de 1,14 por ciento de ácido acético por la formación y difusión de ácidos (mayor representación ácido acético) que se producen en la fermentación del grano.
4. El contenido de polifenoles totales del grano de cacao chuncho fermentado y seco desengrasado fue 57,65 mg EAG/g b.s., teniendo 200,92 $\mu\text{mol Eq. Trolox/g b.s.}$ de

capacidad antioxidante por el ensayo FRAP y 337,14 $\mu\text{mol Eq. Trolox/g b.s.}$ por el ensayo DPPH. El cacao chuncho se encontró en condiciones microbiológicas aptas para ser almacenado y procesado.

5. Se validó las condiciones óptimas recomendadas por el modelo que maximizan los polifenoles totales y capacidad antioxidante en el grano de cacao chuncho, obteniendo para el tostador en estufa y tambor rotatorio un promedio de 99,03 por ciento y 99,13 por ciento de validación, respectivamente.
6. El cacao con tostado óptimo en estufa y tambor rotatorio se caracterizó y comparó, encontrándose diferencias significativas ($p < 0,05$) en pH, humedad y fibra cruda. En ambos casos los granos de cacao tostados cumplieron con los criterios microbiológicos según MINSA para su procesamiento y consumo.
7. Entre los chocolates al 75 por ciento de cacao tostado en estufa y tambor rotatorio existen diferencias significativas ($p < 0,05$) en polifenoles totales y capacidad antioxidante, siendo mayor la disminución en el elaborado con cacao tostado en estufa; sin embargo, ambos contienen una alta cantidad de estos compuestos según literatura revisada.
8. Los chocolates elaborados con granos de cacao tostados en estufa y tambor rotatorio tuvieron una aceptabilidad sensorial general de 78,6 y 75 por ciento, y preferencia de 48,39 y 51,61 por ciento, respectivamente.
9. Aplicando CATA (*Check all that apply*) se encontró diferencias significativas ($p < 0,05$) en los atributos sabor cacao/chocolate, sabor amargo, sabor dulce y sabor frutal, entre los chocolates elaborados con granos de cacao tostados en estufa y tambor rotatorio.

VI. RECOMENDACIONES

1. Optimizar el tostado con diferentes accesiones de cacao chuncho provenientes de otras regiones y otros genotipos de cacao, utilizando otros parámetros para maximizar la retención de polifenoles y capacidad antioxidante aplicando superficie de respuesta.
2. Realizar estudios sobre el efecto del proceso (refinado, conchado y templado) en la disminución de polifenoles totales y capacidad antioxidante en el chocolate.
3. Realizar estudios sobre los efectos del tostado de cacao chuncho a temperaturas menores a 100 °C para conocer las propiedades antioxidantes.
4. Determinar la vida útil del producto, con el fin de evaluar su adaptación y tolerancia a diferentes condiciones de almacenamiento.
5. Validación funcional del chocolate oscuro con alto contenido de polifenoles totales y capacidad antioxidante, mediante ensayos *in vivo*.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abballe, C; Leme, F; Dezembro, B; Ferreira de Oliveira, AP; Berto, MI; Efraim, P; Verdiani, SA. 2021. Cocoa beans and derived products: Effect of processing on polycyclic aromatic hydrocarbons levels. *Lwt* 135:1–9. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110019>.

Acevedo, LK; Mejía, D; Acosta, EV; Valencia, WG; Penagos, L. 2017. Efecto de la temperatura del conchado sobre los polifenoles en un chocolate semi-amargo (en línea). *Alimentos Hoy* 25(41):31–50. Disponible en https://acta.org.co/acta_sites/alimentoshoy/index.php/hoy/article/view/447/365.

Adeyeye, E; Akinyeye, R; Ogunlade, I; Olaofe, O; Boluwade, J. 2010. Effect of farm and industrial processing on the amino acid profile of cocoa beans. *Food Chemistry* 118(2):357–363. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.04.127>.

Adriazola, J. 2003. Producción del alimento de los dioses (*Theobroma cacao* L.). Universidad Nacional Agraria de la Selva. p. 6-65.

Afoakawa, E; Paterson A; Fowler M. 2008. Flavor formation and character in cocoa and chocolate. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* (45):1-18.

Afoakwa, EO. 2016. Chocolate science and technology. 2 ed. Ltd, UK: John Wiley & Sons.

Afoakawa, E; Simpson, A; Takrama, J; Firibu, K. 2012. Influence of pulp-preconditioning and fermentation on fermentative quality and appearance of Ghanaian cocoa. *International Food Research Journal* 19(1):127-133.

Aikpokpodion, PE; Dongo, LN. 2010. Effects of fermentation intensity on polyphenols and antioxidant capacity of cocoa beans. *International Journal of Sustainable Crop Production* 5:66-70.

Álava, L. 2016. Efecto tiempo-temperatura de tostado del cacao fino de aroma, en sus características fisicoquímicas y organolépticas. s.l., Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí. 78 p.

Albertini, B; Schoubben, A; Guarnaccia, D; Pinelli, F; Della Vecchia, M; Ricci, M; Blasi, P. 2015. Effect of fermentation and drying on cocoa polyphenols. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 63: 9948–9953.

Aldave, GJ. 2016. Efecto de la temperatura y tiempo de tostado en los caracteres sensoriales y en las propiedades químicas de granos de cacao (*Theobroma cacao* L.) procedente de Uchiza, San Martín – Perú para la obtención de NIBS. s.l., Universidad Nacional Mayor De San Marcos. 112 p.

Alean, J; Chejne, F; Rojano, B. 2016. Degradation of polyphenols during the cocoa drying process. *Journal of Food Engineering* 189:99-105. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2016.05.026>

Alegría, E. 2015. Evaluación de tratamientos previos al proceso de tostado de semillas de cacao para el diseño del área de producción de pasta de cacao (*Theobroma cacao* L.). Tesis Ing. Quito, Ecuador, Escuela Politécnica Nacional.

Álvarez, C; Pérez, E; Lares, MC. 2007. Caracterización física y química de las almendras de cacao fermentadas, secas y tostadas cultivadas en la región de Cuyagua, estado de Aragua. *Agronomía Trop* 57(4):249-256.

Álvarez, C; Tovar, L; García, H; Morillo, F; Sánchez, P; Girón, C; De Farías, A. 2010. Evaluación de la calidad comercial del grano de cacao (*Theobroma cacao* L.) usando dos tipos de fermentadores. *UDO Agrícola* 10(1):76-87.

Alves, G; Perrone, D. 2015. Breads enriched with guava flour as a tool for studying the incorporation of phenolic compounds in bread melanoidins. *Food Chemistry* 185:65-74.

Andújar, M; Recio, MC; Giner, RM; Ríos, JL. 2012. Cocoa polyphenols and their potential benefits for human health. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. p. 1-23.

Antolovich, M; Prenzler, P; Patsalides, E; Mcdonald, S; Robards, K. 2002. Methods for testing antioxidant activity. The Royal Society of Chemistry. *The Analyst* 127:183-198.

AOAC (American Organization of Analytical Chemists International). 2007. *Official Methods of Analysis*. 16 ed. Gaithersbur, Estados Unidos.

Apriyantono, A; Ames, JM. 1993. Xylose-lysine model systems: the effect of pH on the volátil reaction products. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 61(4):477–484.

Aprotosoiaie, AC; Luca, SV; Miron, A. 2016. Flavor Chemistry of Cocoa and Cocoa Products - An Overview. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 15:73-91.

Ares, G; Dauber, C; Fernández, E; Giménez, A; Varela, P. 2014. Penalty analysis based on CATA questions to identify drivers of liking and directions for product reformulation. *Food Quality and Preference* 32:65-76.

Ares, G; Jaeger, S. 2013. Check-all-that-apply questions: Influence of attribute order on sensory product characterization. *Food Quality and Preference* 28:141–153.

Arlorio, M; Locatelli, M; Travaglia, F; Coisson, JD; Grosso, E Del; Minassi, A; Appendino, G; Martelli, A. 2008. Roasting impact on the contents of clovamide (N-caffeoyl-L-DOPA) and the antioxidant activity of cocoa beans (*Theobroma cacao* L.). *Food Chemistry* 106(3):967–975. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.07.009>.

Ayala, J; Pardo, R. 1995. Optimización por diseños experimentales con aplicación en ingeniería. Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología. Lima, Perú. 261 p.

Batista, NN; Ramos, CL; Ribeiro, DD; Pinheiro, ACM; Schwan, RF. 2015. Dynamic behavior of *Saccharomyces cerevisiae*, *Pichia kluyveri* and *Hanseniaspora uvarum* during spontaneous and inoculated cocoa fermentations and their effect on sensory

characteristics of chocolate (en línea). *Lwt* 63(1):221–227. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.03.051>.

Beckett, S. 2000. *La ciencia del chocolate*. Zaragoza, España, Editorial Acribia. 201 p.

Beckett, S; Fowler, M; Ziegler, G. 2017. *Beckett's industrial chocolate manufacture and use*. 5 ed. Hoboken, Wiley. 760 p.

Beg, MS; Ahmad, S; Jan, K; Bashir, K. 2017. Status, supply chain and processing of cocoa - a review. *Trends in Food Science & Technology* 66: 108–116.

Belitz, HD; Grosch, W. 1992. *Cacao y Chocolate*. *Química de los Alimentos*. 2 ed. España, Editorial Acribia S.A. p. 1035-1046.

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

Bernaert, H; Blondeel, I; Allegaert, L; Lohmueller, T. 2012. Industrial treatment of cocoa in chocolate production: health implications. In: Paoletti, R. (ed.), *Chocolate and Health*. Springer-Verlag, Italia. p. 17–31.

Bertazzo, A; Agnolin, F; Comai, S; Zancato, M; Costa, CVL; Seraglia, R; Traldi, P. 2011. The protein profile of *Theobroma cacao* L. seeds as obtained by matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry. *Rapid Commun. Mass Spectrom* 25 (14):2035-2042. DOI: <https://doi.org/10.1002/rcm.5080>.

Boekel, M; Fogliano, V; Pellegrini, N; Staton, C; Scholz, G; Lalljie, S; Somoza, V; Knorr, D; Jasti, P; Eisenbrand, G. 2010. A review on the beneficial aspects of food processing. *Molecular Nutrition & Food Research* 54(9):1215-1247.

Brand-Williams, W; Cuvelier, ME; Berset, C. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology* 28(1):25–30. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5).

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

Cadena, T; Herrera, Y. 2008. Evaluación del efecto del procesamiento del cacao sobre el contenido de polifenoles y su actividad antioxidante. s.l., Universidad Industrial de Santander. 66 p.

Caligiani, A; Marseglia, A; Palla, G. 2016. Cocoa: Production, Chemistry, and Use (en línea). 1 ed. Italy, Elsevier Ltd. 185–190 p. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384947-2.00177-X>.

Calva-Estrada, SJ; Utrilla-Vázquez, M; Vallejo-Cardona, A; Roblero-Pérez, DB; Lugo-Cervantes, E. 2020. Thermal properties and volatile compounds profile of commercial dark-chocolates from different genotypes of cocoa beans (*Theobroma cacao* L.) from Latin America (en línea). *Food Research International* 136:1–65. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109594>.

CAOBISCO-ECA-FCC. 2015. Cocoa Beans: Chocolate and Cocoa Industry Quality Requirements. End, MJ; Dand, R (ed.).

Carrillo, B. 2011. Influencia del tiempo de fermentado y método de secado solar en la calidad sensorial del licor de cacao (*Theobroma cacao* L.) clon CCN-51. s.l., Universidad Nacional Agraria De La Selva. 100 p.

Carrillo, LC; Londoño-Londoño, J; Gil, A. 2013. Comparison of polyphenol, methylxanthines and antioxidant activity in *Theobroma cacao* beans from different cocoa-growing areas in Colombia (en línea). *Food Research International* 60:273–280. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.06.019>.

Castro, M; Hernández, JA; Marcilla, S; Córdova, JS; Solari, FA; Chire, GC. 2016. Efecto del contenido de grasa en la concentración de polifenoles y capacidad antioxidante de *Theobroma cacao* L. “Cacao”. *Ciencia e Investigación* 19(1):19–23. DOI: <https://doi.org/10.15381/ci.v19i1.13623>.

Castro-Alayo, EM; Idrogo-Vásquez, G; Siche, R; Cardenas-Toro, FP. 2019. Formation of aromatic compounds precursors during fermentation of Criollo and Forastero cocoa. *Heliyon* 5:11-57. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e01157>.

Chávez, R. 2012. Polifenoles totales, antocianinas y capacidad antioxidante (DPPH y ABTS) durante el procesamiento del licor de cacao y polvo de cacao (en línea). s.l., Universidad Nacional Agraria De La Selva. 1–119 p. Disponible en <http://repositorio.unas.edu.pe/bitstream/handle/UNAS/200/FIA122.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.

Chire, G; Orosco, P; Valdivia, R; Ureña, M. 2014. Determinación de las propiedades Físicas, Químicas y Termofísicas de diferentes granos de cacao del Perú. *CIBIA, Congreso Iberoamericano de Ingeniería de Alimentos* 3(9): 545-551.

Chire, G; Verona, P; Guzman, J. 2016. Cambios en el color durante el beneficio del grano de cacao de Piura (*Theobroma cacao* L.) peruano procedente de Piura. Ciencia e Investigación 19(1):29-34.

Chire, GC. 2019. Mejora de propiedades físicas y su efecto en el contenido de ácidos grasos en el chocolate peruano aplicando superficie de respuesta (en línea). s.l., Universidad Nacional Agraria La Molina. 172 p. Disponible en <https://repositorio.lamolina.edu.pe/handle/UNALM/4098>.

Cienfuegos, E. 2016. Estudio del contenido de compuestos bioactivos del cacao y su aplicación en la obtención en un ingrediente rico en polifenoles para el diseño de un chocolate enriquecido. s.l., Universidad de Murcia. p. 19-31.

Clapperton, J; Yow, S; Chan, J; Lim, D; Lockwood, R; Romanczyk, L; Hammerstone, J. 1994. The contribution of genotype to cocoa (*Theobroma cacao* L.) flavour. Tropic. Agric 71:303-308.

Coghe, S; Gheeraert, B; Michiels, A; Delvaux, F. 2006. Development of Maillard reaction related characteristics during malt roasting. Journal of the Institute of Brewing 12(2):148-156.

Condezo, O. 2011. Polifenoles totales, antocianinas y capacidad antioxidante (DPPH y PEROXILO) en granos de cacao comercial de Tingo María y Tocache. s.l., Universidad Nacional Agraria de la Selva. 96 p.

Condori, D. 2015. Optimización del manejo poscosecha del cacao proveniente de La Convención (Cusco) para el mejoramiento de su calidad organoléptica y del contenido

de fitoquímicos benéficos para la salud. s.l., Universidad Peruana Cayetano Heredia. 1–121 p.

Corti, R; Visioli, F; Bernaert, H; Ferri, C; Heptinstall, S; Molinari, E; Poli, A; Serafini, M; Smit, HJ; Vinson, JA; Violi, F; Paoletti, R. 2009. Chocolate, lifestyle, and health. *Crit Rev Food Sci Nutr* 49:299–312.

Counet, C; Callemien, D; Collin, S. 2006. Chocolate and cocoa: New sources of trans-resveratrol and trans-piceid. *Food Chemistry* 98(4):649–657. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.06.030>.

Cros, E. 2004. Factores que afectan el desarrollo del sabor a cacao, bases bioquímicas del perfil aromático. Taller Internacional de Calidad Integral de cacao. Nov. 15-17, 2004. Quevedo EC. 20 p.

Davis, J; Dean, L; Price, K; Sanders, T. 2010. Roast effects on the hydrophilic and lipophilic antioxidant capacities of peanut flours, blanched peanut seed and peanut skins. *Food Chemistry* 119(2): 539-547.

De Brito, ES; García, NHP; Amancio, AC. 2002. Effect of polyphenol oxidase (PPO) and air treatments on total phenol and tannin content of cocoa nibs. *Ciência e Tecnologia de Alimentos* 22:45-48.

De Brito, ES; Pezoa, NH; Gallão, MI; Cortelazzo, AL; Fevereiro, PS; Braga, MR. 2000. Structural and chemical changes in cocoa (*Theobroma cacao* L.) during fermentation, drying and roasting. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 81(2):281-288.

Delgado, J; Mandujano, J; Reátegui, D; Ordoñez, E. 2018. Development of dark chocolate with fermented and non- fermented cacao nibs: total polyphenols, anthocyanins, antioxidant capacity and sensory evaluation. *Scientia Agropecuaria* 9(4):543–550. DOI: <https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2018.04.10>.

Deus, VL; Bispo, ES; Franca, AS; Gloria, MBA. 2020. Influence of cocoa clones on the quality and functional properties of chocolate – Nitrogenous compounds (en línea). *Lwt* 134:110–202. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110202>.

Di Mattia, C; Martuscelli, M; Sacchetti, G; Scheirlinck, L; Beheydt, B; Mastrocola, D; Pittia, P. 2013. Effect of Fermentation and Drying on Procyanidins, Antiradical Activity and Reducing Properties of Cocoa Beans. *Food Bioprocess Technol* 6:3420-3432. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11947-012-1028-x>.

Di Mattia, CD; Sacchetti, G; Neri, L; Martuscelli, M; Mastrocola, D; Pittia, P. 2011. Technological parameters and antioxidant activity of cocoa powders. *Prog. Nutr* 13:39-47.

Díaz, S; Pinoargote, M. 2012. Análisis de las Características Organolépticas del Chocolate a partir de cacao CCN-51 tratado enzimáticamente y tostado a diferentes temperaturas. Tesis Ing. Guayaquil, Ecuador, Escuela Superior Politécnica del Litoral.

DIGESA (Dirección General de Salud Ambiental). 2003. Norma sanitaria que establece los criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos y bebidas de consumo Humano (en línea). Perú, MINSA. 18 p. Disponible en http://www.digesa.minsa.gob.pe/norma_consulta/Proy_RM615-2003.pdf.

DNP (Departamento Nacional de Planeación: Azúcar, confitería y chocolatería). 2004. Estudio sobre cadenas productivas: Estructura, comercio internacional y protección. Bogotá D.C.

Dorta, E; Lobo, M; González, M. 2012. Using drying treatments to stabilise mango peel and seed: Effect on antioxidant activity. *LWT- Food Science and Technology* 45:261-268.

Efraim, P; Barreto, A; Pereira, D. 2011. Revisão: Polifenóis em cacau e derivados: teores, fatores de variação e efeitos na saúde. *Brazilian Journal of Food Technology* 14(03):181–201. DOI: <https://doi.org/10.4260/bjft2011140300023>.

Efraim, P; Pezoa-García, NH; Calil, D; Jardim, P; Nishikawa, A; Haddad, R; Eberlin, MN. 2010. Influência da fermentação e secagem de amêndoas de cacau no teor de compostos fenólicos e na aceitação sensorial Influence of cocoa beans fermentation and drying on the polyphenol content and sensory acceptance. *Ciencia e Tecnologia De Alimentos* 30:142–150.

FCC (Federation of cocoa commerce). 2016. Cacao en grano: requisitos de calidad de la industria del chocolate y del cacao. Consultado el 26 de may. del 2020. Disponible en http://www.cocoaquality.eu/data/Cacao%20en%20Grano%20Requisitos%20de%20Calidad%20de%20la%20Industria%20Apr%202016_es.pdf.

Fernández, E. 2018. Degradación de polifenoles del cacao (*Theobroma cacao* L.) criollo de Amazonas durante el tostado. s.l., Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas. 54 p.

Fernández, E; Rodríguez, J; Vila, J. 2015. Comparación de nuevas técnicas de caracterización sensorial utilizando consumidores. España, Universidad de Valladolid.

Fernández, I; Fuentes, A; García, E. 2015. Determinación de polifenoles totales por el método de Folin-Ciocalteu. Universidad Politécnica de Valencia. p. 4-7.

Fernández-Murga, L; Tarín, JJ; García-Perez, MA; Cano, A. 2011. The impact of chocolate on cardiovascular health. *Maturitas* 69:312-321.

Ferrazzano, GF; Amato, I; Ingenito, A; De Natale, A; Pollio, A. 2009. Review: Anticariogenic effects of polyphenols from plant stimulant beverages (cocoa, coffee, tea). *Fitoterapia* 80: 255-262.

FerRimbach, G; Egert, S; De Pascual-Teresa, S. 2011. Chocolate: (un)healthy source of polyphenols? *Genes and Nutrition* 6:1-3.

Firatligil-Durmus, E; Evranuz, O. 2010. Response surface methodology for protein extraction optimization of red pepper seed (*Capsicum frutescens*). *LWT-Food Science and Technology* (43):226-231.

FNC (Federación Nacional de Cacaoteros - Fondo Nacional del Cacao). 2004. El beneficio y características físico químicas del cacao (*Theobroma cacao* L.). Colombia, Ministerio de Agricultura y desarrollo rural, Editorial Produmedios. 8 p.

Fowler, M. 2008. Cocoa beans: From tree to factory. 1 ed. Beckett, S (ed.). New York, Hoboken. 10-47 p.

Fraga, CG; Actis-Goretta, L; Ottaviani, JI; Carrasquedo, F; Lotito, SB; Lazarus, S; Schmitz, HH; Keen, CL. 2005. Regular consumption of a flavanol-rich chocolate can improve oxidant stress in young soccer players. *Clinical and Developmental Immunology* 12(1):11–17. DOI: <https://doi.org/10.1080/10446670410001722159>.

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

Fuster, MD; Mitchell, AE; Ochi, H; Shibamoto, T. 2000. Antioxidative activities of heterocyclic compounds formed in brewed coffee. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 48:5600-5603.

García, L. 2012. Catálogo de Cultivares de Cacao del Perú. Ministerio Nacional de Agricultura. Perú. Dirección General de Competitividad Agraria. Lima, Perú.

García, L. 2014. Catálogo de cultivares de cacao del Perú (en línea). 2 ed. MINAGRI (ed.). Perú, Ministerio de Agricultura y Riego - DEVIDA. 112 p. Disponible en <http://www.minag.gob.pe/portal/sector-agrario/agricola/cultivos-de-importancia-nacional/espárragos/generalidades-del-producto17>.

García, P; Urrieta, J; Morales, R; García, M. 2002. Perfiles de concentración interna de acidez y temperatura a través de la fermentación de cacao. Memorias in extensor del III Encuentro Internacional de Biotecnología UPIBI2002. Querétaro, Qro. 107-116 p.

García-Alamilla, P. 2000. Caracterización microbiana, bioquímica y cinética del proceso de fermentación durante el beneficio de cacao. s.l., Universidad Autónoma Metropolitana. 87 p.

García-Alamilla, P; Lagunes-Gálvez, LM; Barajas-Fernández, J; García-Alamilla, R. 2017. Physicochemical changes of cocoa beans during roasting process. *Journal of Food Quality* 2017(2):11. DOI: <https://doi.org/10.1155/2017/2969324>.

Garzón, G. 2008. Las antocianinas como colorantes naturales y compuestos bioactivos. *Acta Biológica* 13(3):27-36.

Giacometti, J; Muhvic, D; Pavletic, A; Dudaric, L. 2016. Cocoa polyphenols exhibit antioxidant, anti-inflammatory, anticancerogenic, and anti-necrotic activity in carbon tetrachloride-intoxicated mice. *Journal of Functional Foods* 23: 177–187.

Gil, JA. 2012. Extracción y actividad antioxidante de catequinas presentes en cacaos colombianos durante los procesos de pre-industrialización (en línea). s.l., Universidad de Antioquia. 119 p. DOI: <https://doi.org/10.5334/ai.1615>.

Gil, M; Uribe, D; Gallego, V; Bedoya, C; Arango-Varela, S. 2021. Traceability of polyphenols in cocoa during the postharvest and industrialization processes and their biological antioxidant potential (en línea). *Heliyon* 7(8):38–77. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e07738>.

Gómez R.; Garcia R.; Tong F.; Gonzalez C. 2014. Paquete tecnológico del cultivo del cacao. Oficina de las Naciones Unidas contra la Droga y el Delito para el Perú y Ecuador.

Gómez-Juaristi, M; González-Torres, L; Bravo, L; Vaquero, MP; Bastida, S; Sanchez-Muñiz, FJ. 2011. Efectos beneficiosos del chocolate en la salud cardiovascular. *Nutrición Hospitalaria* 26:289-292.

Grassi, D; Necozione, S; Lippi, C; Croce, G; Valeri, L; Pasqualetti, P; Desideri, G; Blumberg, JB; Ferri, C. 2005. Cocoa reduces blood pressure and insulin resistance and improves endothelium-dependent vasodilation in hypertensives. *Hypertension* 46(2):398–405. DOI: <https://doi.org/10.1161/01.HYP.0000174990.46027.70>.

Gültekin-Özgülven, M; Berktaş, I; Özçelik, B. 2015. Influence of processing conditions on procyanidin profiles and antioxidant capacity of chocolates: Optimization of dark chocolate manufacturing by response surface methodology. *LWT - Food Science and Technology* 66:252–259. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.10.047>.

Gutiérrez, H; De La Vara, R. 2008. *Análisis y diseño de experimentos*. 3 ed. Hill, MG (ed.). México, s.e. 483 p.

Gutiérrez, M; Alcóser, H; Bacalla, Ll. 2007. Efecto de la frecuencia de remoción y tiempo de fermentación en cajón cuadrado, sobre la temperatura e Índice de fermentación del *Theobroma cacao* L. Morropón, Asociación de pequeños productores de cacao Piura.

Hansen, CE; Del Olmo, M; Schmitz, HH. 1998. Enzyme activities in cocoa beans during fermentation. *J Sci Food Agr.* 77:237-281.

Hernández, C. 2013. *Superficies de Respuesta: Métodos y Diseños*. 1-12 p.

Hernández-Hernández, C; Viera-Alcaide, I; Morales-Sillero, AM; Fernández-Bolaños, J; Rodríguez-Gutiérrez, G. 2018. Bioactive compounds in Mexican genotypes of cocoa cotyledon and husk (en línea). *Food Chemistry* 240:831–839. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.08.018>.

Hii, CL; Law, CL; Suzannah, S; Cloke, M. 2009. Polyphenols in cocoa (*Theobroma cacao* L.). *Asian Journal of Food and Agro-Industry* 2(4): 702–722.

Holt, RR; Lazarus, SA; Sullards, MC; Zhu, QY; Schramm, DD; Hammerstone, JF; Keen, CL. 2002. Procyanidin dimer B2 [epicatechin-(4b-8)-epicatechin] in human plasma after the consumption of a flavanol-rich cocoa. *American Journal of Clinical Nutrition* 76(4): 798–804.

Hooper, L; Colin, K; Andelhamid, A; Kroon, PA; Cohn JS; Rimm EB; Cassidy A. 2012. Effects of chocolate, cocoa, and flavan-3-ols on cardiovascular health: a systematic review and meta-analysis of randomized trials. *American Journal of Clinical Nutrition* 95: 740-51.

Hu, SJ; Kim, BY; Baik, MY. 2016. Physicochemical properties and antioxidant capacity of raw, roasted and puffed cacao beans (en línea). *Food Chemistry* 194:1089–1094. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.08.126>.

ICCO (Organization International Cocoa, Costa de Marfil). 2015. Report by the chairman on the meeting of the ICCO Ad Hoc Panel on fine or flavour cocoa. London.

ICCO (Organization International Cocoa, Costa de Marfil).2017. Fine or Flavour Cocoa (en línea, sitio web). Consultado 9 may. 2021. Disponible en <https://www.icco.org/about-cocoa/fine-or-flavour-cocoa.html>.

ICMSF (International Commission on Microbiological Specifications for Foods). 2001. Microorganismos de los Alimentos 6: Ecología microbiana de los productos alimentarios. Acribia, Zaragoza.

INACAL (Instituto Nacional de Calidad). 2016a. NTP – ISO 1114:2016 Granos de cacao. Prueba de corte. Lima, Perú. 95 p.

INACAL (Instituto Nacional de Calidad). 2016b. NTP – ISO 2451:2016 Granos de cacao: Especificaciones. Lima, Perú.

INACAL (Instituto Nacional de Calidad). 2016c. NTP-ISO-2291:2016 Granos de cacao: Determinación del contenido de humedad (método de rutina). Lima, Perú.

INDECOPI (Instituto Nacional de Defensa de la Competencia y de la Protección de la Propiedad Intelectual). 2006. NTP-ISO-2292-Muestreo: determinación del contenido de humedad. Lima - Perú.

Ioannone, F; Di Mattia, CD; De Gregorio, M; Sergi, M; Serafini, M; Sacchetti, G. 2015. Flavanols, proanthocyanidins and antioxidant activity changes during cocoa (*Theobroma cacao* L.) roasting as affected by temperature and time of processing (en línea). Food Chemistry 174:256–262. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.11.019>.

Irakoze, P; Sindayigaya, E. 2010. Optimization of malted sorghum protein extraction by response Surface methodology. *Journal Food Science and Technology* 6(4):53-58.

Irina, I; Mohamed, G. 2012. Biological Activities and Effects of Food Processing on Flavonoids as Phenolic Antioxidants. In Petre, M (ed.). Francia, InTech. p. 101–124
DOI: <https://doi.org/10.5772/30690>.

Jalil, AMM; Ismail, A. 2008. Polyphenols in cocoa and cocoa products: ¿Is there a link between antioxidant properties and health? *Molecules* 13:2190-2219.

Jamison, P. 2004. Chocolate. *Complem. Med.* 9: 36–39.

Jiménez-Escrig, A; Rincón, M; Pulido, R; Saura-Calixto, F. 2001. Guava fruit (*Psidium guajava* L.) as a new source of antioxidant dietary fiber. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49 (11): 5489-9316.

Jinap, S; Dimick, PS; Hollender, R. 1995. Flavor evaluation of chocolate formulated from cocoa beans from different countries. *Food Control* 6(2): 105–110.

John, W; Kumari, N; Böttcher, NL; Koffi, KJ; Grimbs, S; Vrancken, G; D’Souza, RN; Kuhnert, N; Ullrich, MS. 2016. Aseptic artificial fermentation of cocoa beans can be fashioned to replicate the peptide profile of commercial cocoa bean fermentations. *Food Research International* 89:764–772. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2016.10.011>.

Jolic, SM.; Redovnikovic, IR.; Markovic, K.; Sipusic, DI. y Delonga, K. 2011. Changes of phenolic compounds and antioxidant capacity in cocoa beans processing. *International Journal of Food Science & Technology* 46:1793- 1800.

Juarez, B. 2014. Evaluación de la capacidad antioxidante de extractos acuosos y etanólicos de diversas variedades de maíz del estado de México, sobre ABTS Y peróxido de hidrógeno como especie reactiva de oxígeno. s.l., Universidad Autónoma del Estado de México. 15–23 p.

Jumnongpon, J; Chaiseri, S; Hongsprabhas, P; Healy, JP; Meade, SJ; Gerrard, JA. 2012. Cocoa protein crosslinking using Maillard chemistry. *Food Chemistry* 134: 375-380.

Keen, CK; Holt, RR; Oteiza, PI; Fraga, CG; Schmitz, HH. 2005. Cocoa antioxidants and cardiovascular health. *Am J Clin Nutr* 81: 298S–303S.

Kemp, S; Hollowood, T; Hort, J. 2009. *Sensory Evaluation: Time dependent measures of perception*. Editorial Wiley Blackwell. Oxford, UK. 456 p.

Khan, N; Khymenets, O; Urpí-Sardà, M; Tulipani, S; Garcia-Aloy, M; Monagas, M; Mora-Cubillos, X; Llorach, R; Andres-Lacueva, C. 2014. Cocoa polyphenols and inflammatory markers of cardiovascular disease. *Nutrients* 6: 844-880.

Kim, JK; Noh, JH; Lee, S; Choi, J; Suh, H; Chung, HY; Song, Y; Choi, W. 2002. The first total synthesis of 2,3,6-tribromo-4,5- dihydroxybenzyl methyl ether (TDB) and its antioxidant activity, *Bull. Korean Chem. Soc.* 23(5): 661-662.

Kim, S; Jeong, S; Park, W; Nam, KC; Ahn, DU; Lee, S. 2006. Effect of heating conditions of grape seeds on the antioxidant activity of grape seed extracts. *Food Chem* 97:472-479.

Kongor, JE; Hinneh, M; De Walle, D Van; Afoakwa, EO; Boeckx, P; Dewettinck, K. 2016. Factors influencing quality variation in cocoa (*Theobroma cacao*) bean flavour profile - A review (en línea). *Food Research International* 82:44–52. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2016.01.012>.

Kothe, L; Zimmermann, BF; Galensa, R. 2013. Temperature influences epimerization and composition of flavanol monomers, dimers and trimers during cocoa bean roasting (en línea). *Food Chemistry* 141(4):3656–3663. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.06.049>.

Krosnick, J. 1999. Survey research. *Annual Review of Psychology* 50: 537–567.

Krysiak, W. 2006. Influence of roasting conditions on coloration of roasted cocoa beans. *Journal of Food Engineering* 77(3): 449–453.

Krysiak, W. 2011. Effects of convective and microwave roasting on the physicochemical properties of cocoa beans and cocoa butter extracted from this material. *Grasas y Aceites* 62(4):467–478. DOI: <https://doi.org/10.3989/gya.114910>.

Krysiak, W; Adamski, R; Zyzelewicz, D. 2013. Factors affecting the color of roasted cocoa bean. *J. Food Qual* 36:21-31.

Kuehl, RO. 2001. Diseño de experimentos: principios estadísticos para el diseño y análisis de investigaciones. 2 ed. México, International Thomson. 663 p.

Kyi, TM; Wan, WR; Mohammad, AB; Samsudin, MW; Kadhum, AM; Meor, MZ. 2005. The kinetics of polyphenol degradation during the drying of Malaysian cocoa beans. *Inter J Food Sci Tech* 40:323-331.

Lacueva, C; Monagas, M; Khan, N; Izquierdo-Pulido, M; Urpi-Sarda; M; Permanyer, J; Lamuela-Racentós, RM. 2008. Flavonol and flavonol contents of cocoa powder products: Influence of the manufacturing process. *J. Agric. Food Chem* 56: 3111-3117.

Lagunes-Gálvez, S; Loiseau, G; Paredes, JL; Barel, M; Guiraud, JP. 2007. Study on the microflora and biochemistry of cocoa fermentation in the Dominican Republic. *International Journal of Food Microbiology* 114(1):124–130. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2006.10.041>.

Lares, M; Gutiérrez, R; Pérez, E; Álvarez, C. 2012. Efecto del tostado sobre las propiedades físicas, fisicoquímicas, composición proximal y perfil de ácidos grasos de la manteca de granos de cacao del estado Miranda, Venezuela. *Revista Científica UDO Agrícola* 12(2):439–446.

Latham, LS; Hensen, ZK; Minor, DS. 2014. Chocolate- Guilty pleasure or healthy supplement. *Journal of Clinical Hypertension* 16: 101-106.

Lee, SY; Yoo, SS; Lee, MJ; Kwon, IB; Pyun, YR. 2001. Optimization of Nibs Roasting in Cocoa Bean Processing with Lotte-Better Taste and Color Process. *Food Science and Biotechnology* 10: 286-293.

Liendo, R.J. 2005. Procesamiento del cacao para la fabricación de chocolate y sus subproductos. INIA Divulga 1-4.

Liñan, JF. 2019. Aplicación de los métodos Kano y Cata para el desarrollo de brownie libre de gluten (en línea). s.l., Universidad Nacional Agraria La Molina. 135 p. Disponible en <https://repositorio.lamolina.edu.pe/handle/UNALM/4060>.

Loayza, W. 2014. Influencia de la frecuencia de remoción, durante la fermentación, en la calidad sensorial del cacao (*Theobroma cacao*, L.) de Satipo (en línea). s.l., Universidad Nacional Mayor de San Marcos. 1–87 p. Disponible en <http://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/cybertesis/3877>.

Loffredo, L; Perri, L; Catasca, E; Pignatelli, P; Brancorsini, M; Nocella, C; De Falco, E; Bartimoccia, S; Frati, G; Carnevale, R; Violi, F. 2014. Dark Chocolate acutely improves walking autonomy in patients with peripheral artery disease. *Journal of the American Heart Association* 3:1-9.

López, A. 2015. Optimización estadística del tiempo de vida de anaquel del litchi y el nopal. Tesis Mag. Sc. México, Universidad Autónoma Metropolitana.

Luna, F; Crouzillat, D; Cirou, L; Bucheli, P. 2002. Chemical composition and flavor of Ecuadorian cocoa liquor. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50(12):3527–3532. DOI: <https://doi.org/10.1021/jf0116597>.

Martí, R; Rosello, S; Cebolla-Cornejo, J. 2016. Tomato as a source of carotenoids and polyphenols targeted to cancer prevention. *Cancers* 58: 1–28.

Martín, MA; Goya, L; Ramos, S. 2013. Potential for preventive effects of cocoa and cocoa polyphenols in cáncer. *Food and Chemical Toxicology* 56: 336-351.

Meilgaard, M; Civille, G; Carr, T. 2006. *Sensory evaluation techniques*. Editorial Boca Ratón. New York. 354 p.

Meyners, M; Castura, J. 2014. *Check All That Apply Questions. Novel Techniques in Sensory Characterization and Consumer Profiling*. New York: CRC Press.

MIDAGRI (Ministerio de Desarrollo Agrario y Riego del Perú). 2021. *Observatorio de commodities de cacao*. Lima, Perú, s.e. 46–49 p.

Miller, KB; Hurst, WJ; Payne, MJ; Stuart, DA; Apgar, J; Sweigart, DS; Ou, B. 2008. Impact of Alkalization on the antioxidant and flavonol content of commercial cocoa powders. *J Agric Food Chem* 56(18): 8527-8533.

MINAGRI (Ministerio de Agricultura y Riego). 2016. *Estudio del cacao en el Perú y en el mundo*. Primera ed. Ministerio de Agricultura y Riego (ed.). Lima, Perú. 90 p.

MINSA (Ministerio de Salud). 2008. *Norma Sanitaria que establece los Criterios Microbiológicos de Calidad Sanitaria e Inocuidad para los Alimentos y Bebidas de Consumo Humano*. Lima, Perú.

Misnawi, J; Jinap, S; Jamilah, B; Nazamid, S. 2003. Effects of incubation and polyphenol oxidase enrichment on colour, fermentation index, procyanidins and astringency of unfermented and partly fermented cocoa beans. *International Journal of*

Food Science and Technology 38(3):285–295. DOI: <https://doi.org/10.1046/j.1365-2621.2003.00674.x>.

Misnawi; Jinap, S; Jamilah, B; Nazamid, S. 2005. Changes in polyphenol ability to produce astringency during roasting of cocoa liquor. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 85(6):917–924. DOI: <https://doi.org/10.1002/jsfa.1954>.

Montgomery, D. 2002. *Diseño y análisis de experimentos*. 2 ed. Editorial Limusa, S.A. de C.V. México D.F, México. 686 p.

Morales, E. 2003. Optimización de los parámetros físicoquímicos para la extracción alcalina de proteínas de hígado de bovino, aplicando el método de superficie de respuesta. Tesis Ing. Lima, Perú. UNALM. 128p.

Morales, FJ; Somoza, V; Fogliano, V. 2012. Physiological relevance of dietary melanoidins. *Amino Acids* 42(4):1097-1109.

Morales, O; Borda, A; Argandoña, A; Farach, R; Garcia, L; Lazo, K. 2015. *La Alianza Cacao Perú y la cadena productiva del cacao fino de aroma*. 1 ed. ESAN Ediciones. 18 p.

Motamayor, J. 2001. *Estudio de la diversidad genética y de la domesticación de cacaoteras del grupo Criollo con la ayuda de marcadores moleculares (tesis doctoral)*. Universidad de Paris XI Orsay, Aragua.

Motamayor, JC; Lachenaud, P; Da Silva E Mota, JW; Loor, R; Kuhn, DN. 2008. Geographic and Genetic Population Differentiation of the Amazonian Chocolate Tree (*Theobroma cacao* L.) (en línea). PLoS ONE 3(10):1–8. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0003311>.

Nara, N; Pereira, D; Lacerda, C; Ribeiro, D; Freitas, R. 2016. Antioxidant capacity of cocoa beans and chocolate assessed by FTIR (en línea). Food Research International 90:313–319. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2016.10.028>.

Natsume, M; Osakabe, N; Yamagishi, M; Takisawa, T; Nakamura, T; Miyatake, H; Yoshida, T. 2000. Analyses of polyphenols in cacao liquor, cocoa, and chocolate by normal-phase and reversed-phase HPLC. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry 64 (12): 2581–2587.

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

Ndukwu, M; Simonyan, K; Ndirika, V. 2012. Investigation of the structural changes of cocoa beans (with and without seed coat) during convective drying. International Journal of Agricultural and Biological Engineering 5(3):75-81.

Nehlig, A. 2013. The neuroprotective effects of cocoa flavanol and its influence on cognitive performance. British Journal of Clinical Pharmacology 75: 716-727.

Niemenak, N; Rohsius, C; Elwers, S; Omokolo Ndoumou, 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. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2005.02.006>.

Nogales, J; Graziani de Fariñas, N; Ortiz de 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 Trop* 56(1):5-20.

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. DOI: <https://doi.org/10.1021/jf802250j>.

Ooi, TS; Ting, ASY; Siow, LF. 2019. Influence of selected native yeast starter cultures on the antioxidant activities, fermentation index and total soluble solids of Malaysia cocoa beans: A simulation study (en línea). *Lwt* 122:1–17. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108977>.

Oracz, J; Nebesny, E. 2015. Antioxidant Properties of Cocoa Beans (*Theobroma cacao* L.): Influence of Cultivar and Roasting Conditions. *International Journal of Food Properties* 19(6):1242–1258. DOI: <https://doi.org/10.1080/10942912.2015.1071840>.

Oracz, J; Nebesny, E. 2018. Effect of roasting parameters on the physicochemical characteristics of high-molecular-weight Maillard reaction products isolated from cocoa beans of different *Theobroma cacao* L. groups (en línea). *European Food Research and Technology* 245(1):111–128. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00217-018-3144-y>.

Oracz, J; Nebesny, E; Żyżelewicz, D. 2019. Identification and quantification of free and bound phenolic compounds contained in the high-molecular weight melanoidin fractions derived from two different types of cocoa beans by UHPLC-DAD-ESI-HR-MSn. *Food Research International* 115(3):135–149. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.08.028>.

Ortega, N; Romero, MP; MacIà, A; Reguant, J; Anglès, N; Morelló, JR; Motilva, MJ. 2008. Obtention and characterization of phenolic extracts from different cocoa sources. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 56(20):9621–9627. DOI: <https://doi.org/10.1021/jf8014415>.

Ortiz, L; Graziani, L; Rovedas, G. 2009. Influencia de varios factores sobre características del grano de cacao fermentado y secado al sol. *Agronomía Tropical* 56(2):119–127.

Osakabe, N; Yamagishi, M; Natsume, M; Yasuda, A; Osawa, T. 2004. Ingestion of Proanthocyanidins Derived from Cacao Inhibits Diabetes-Induced Cataract Formation in Rats. *Experimental Biology and Medicine* 229(1):33-39. DOI: <https://doi.org/10.1177/153537020422900104>.

Osman, H; Nasarudin, R; Lee, SL. 2004. Extracts of cocoa (*Theobroma cacao* L.) leaves and their antioxidation potential. *Food Chemistry* 86(1):41–46. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2003.08.026>.

Otárola, A. 2018. Efecto de la enzima pectolítica y levadura (*Saccharomyces cerevisiae*) en la fermentación y calidad del cacao var. criollo (*Theobroma cacao*) (en línea). s.l., Universidad Nacional Federico Villareal. 1–202 p. Disponible en <http://repositorio.unfv.edu.pe/handle/UNFV/2412>.

Othman, A; Ismail, A; Abdul Ghani, N; Adenan, I. 2007. Antioxidant capacity and phenolic content of cocoa beans. *Food Chemistry* 100(4):1523–1530. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.12.021>.

Owusu, M; Petersen, M; Heimdal, H. 2011. Effect of fermentation method, roasting and conching conditions on the aroma volatiles of dark chocolate. *J Food Process Preserv* 1-11.

Pallares, PA; Estupiñán, A; Perea, M; López, L. 2016. Impacto de la fermentación y secado sobre el contenido de polifenoles y capacidad antioxidante del clon de cacao CCN-51. *Revista ION* 29(2):7-21.

Pancardo, A. 2016. Efecto del procesamiento del cacao (*Theobroma cacao* L.) en la capacidad antioxidante durante la obtención de licor y cocoa. s.l., Universidad Veracruzana. 108 p.

Pareja, A. 2018. Estudio de la cinética de degradación de la actividad antioxidante y fenoles en el tostado de cacao (*Theobroma cacao* L.) variedad chuncho. s.l., Universidad Peruana Unión. 1–83 p.

Parker, JK. 2015. Thermal generation of aroma (en línea). In Parker, J; Elmore, S; Methven, L (eds.). United Kingdom, Elsevier Ltd. p. 151–185 DOI: <https://doi.org/10.1016/b978-1-78242-103-0.00008-4>.

Payne, MJ; Hurst, WJ; Miller, KB; Rank, C; Stuart, DA. 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. DOI: <https://doi.org/10.1021/jf102391q>.

Pedan, V; Fischer, N; Bernath, K; Hühn, T; Rohn, S. 2017. Determination of oligomeric proanthocyanidins and their antioxidant capacity from different chocolate manufacturing stages using the NP-HPLC-online-DPPH methodology (en línea). *Food Chemistry* 214:523–532. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.07.094>.

Perea-Villamil, JA; Cadena-Cala, T; Herrera-Ardila, J. 2009. El cacao y sus productos como fuente de antioxidantes: Efecto del procesamiento. *Salud UIS* 41(2):128–134.

Pérez, J. 2011. Metodología para la evaluación de ingredientes funcionales antioxidantes: efecto de fibra, antioxidante de uva en status antioxidante y parámetros de riesgo cardiovascular en humanos (en línea). Tesis Dr. Universidad Autónoma de Madrid. 272 p. Disponible en https://repositorio.uam.es/bitstream/handle/10486/1671/6494_perez_jimenez_jara.pdf?sequence=1.

Porter, LL. 2006. Benefits of cocoa polyphenols. *Manu. Conf.* 86(6): 49–53.

Portillo, E; Graziani De Fariñas, L; Cros, E. 2005. Efecto de los tratamientos post-cosecha sobre la temperatura y el índice de fermentación en la calidad del cacao criollo porcelana (*Theobroma cacao* L.) en el sur del lago de Maracaibo. *Rev Fac Agron (LUZ)* 22: 388-399.

Portillo, E; Labarca, M; Grazziani, L; Cros, E; Assemat, S; Davrieux, F; Boulanger, R; Marcano, M. 2009. Formación del aroma del cacao Criollo (*Theobroma cacao* L.) en

función del tratamiento poscosecha en Venezuela. *Revista UDO Agrícola* 9(2): 458-468.

Pramudya, RC; Seo, HS. 2018. Using Check-All-That-Apply (CATA) method for determining product temperature-dependent sensory-attribute variations: A case study of cooked rice. *Food Research International* 105: 724–732. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.11.075>

Prior, R; Wu, X; Schaich, K. 2005 Standardized Methods for the Determination of Antioxidant Capacity and Phenolics in Foods and Dietary Supplements. En: *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53 (10): 4290 - 4302.

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

Quanhong, L; Caili, F. 2005. Application of response surface methodology for extraction optimization of germinant pumpkin seeds protein. *Food Chemistry* (92):701-706.

Quiroz-Reyes, CN; Fogliano, V. 2018. Design cocoa processing towards healthy cocoa products: The role of phenolics and melanoidins (en línea). *Journal of Functional Foods* 45(4):480–490. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jff.2018.04.031>.

Quispe, Y. 2014. Polifenoles, antocianinas y caracterización sensorial de nibs y licor de cacao chuncho, clon SHU-1 fermentados tradicionalmente y por microfermentación (en línea). s.l., Universidad Nacional Agraria De La Selva. 91 p. Disponible en

<http://repositorio.unas.edu.pe/bitstream/handle/UNAS/615/T.FRS-219.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.

Redgwell, R; Trovato, V; Merinat, S; Curti, D; Hediger, S; Manez, A. 2003. Dietary fibre in cocoa shell: characterisation of component polysaccharides. *Food Chemistry* 81: 103-112.

Rein, D; Paglieroni, TG; Wun, T; Pearson, DA; Schmitz, HH; Gosselin, R; Keen, CL. 2000. Cocoa inhibits platelet activation and function. *American Journal of Clinical Nutrition* 72:30–35.

Reyes-Munguía, A; Azúara-Nieto, E; Beristain, CI; Cruz-Sosa, F; Vernon-Carter, EJ. 2009. Propiedades antioxidantes del maguey morado (*Rhoeo discolor*). *CYTA -Journal of Food* 7(3):209–216. DOI: <https://doi.org/10.1080/19476330903010177>.

Reyes-Pérez, M.; Sosa-Morales, M. 2013. Mecanismos de transferencia de calor que ocurren en tratamientos térmicos de alimentos (en línea). *Temas selectos de Ingeniería de Alimentos* 7(1):37–47. Disponible en <https://termoaplicadaunefm.files.wordpress.com/2009/02/guia-tecnica-electiva1.pdf>.

Rivera, D; Mecías, F; Guzmán, A; Peña, M; Medina, H; Casanova, L; Barrera, A; Nivelá, P. 2012. Efecto del tipo y tiempo de fermentación en la calidad física y química del cacao (*Theobroma cacao* L.) tipo nacional. *Ciencia y Tecnología* 5(1):7-12.

Rivera, J. 2018. Correlación de la porosidad con el grado de fermentación del grano de cacao peruano (en línea). s.l., Universidad Nacional Agraria La Molina. 79–86 p. Disponible en <http://repositorio.lamolina.edu.pe/handle/UNALM/3843>.

Rodríguez, N. 2019. Caracterización cualitativa y cuantitativa de polifenoles en semillas crudas de ocho accesiones de diferentes genotipos de *Theobroma Cacao* L. en El Salvador. s.l., Universidad De El Salvador. 1–130 p.

Rodríguez-Campos, J; Escalona-Buendia, H; Orozco-Avila, I; Lugo-Cervantes, E; Jaramillo-Flores, M. 2011. Dynamics of volatile and non-volatile compounds in cocoa (*Theobroma cacao* L.) during fermentation and drying processes using principal components analysis. *Food Research International* 132(1):277-288.

Rodríguez-Campos, J; Escalona-Buendía, HB; Contreras-Ramos, SM; Orozco-Avila, I; Jaramillo-Flores, E; Lugo-Cervantes, E. 2012. Effect of fermentation time and drying temperature on volatile compounds in cocoa. *Food Chem* 132:277-288.

Rojas, R; Rodríguez, C; Ruiz, C; Portales, R; Neyra, E; Patel, K; Mogrovejo, J; Salazar, G; Hurtado, J. 2017. Cacao Chuncho del Cusco. Rojas, R (ed.). Lima, Perú, Universidad Peruana Cayetano Heredia. 12–48 p.

Ruiz, N; Rincón, F; Hernández, V; Figueroa, J; Loarca, G. 2008. Determinación de compuestos fenólicos y su actividad antioxidante en granos de maíz. Sociedad Mexicana de Fitogenética, A.C. Chapingo, México. *Revista Fitotecnia Mexicana* 31(3).

Rusconi, M; Conti, A. 2010. *Theobroma cacao* L., the food of the Gods: A scientific approach beyond myths and claims. *Pharmacol. Res.* 61(1): 5-13.

Sacchetti, G; Di Mattia, C; Pittia, P; Mastrocola, D. 2009. Effect of roasting degree, equivalent thermal effect and coffee type on the radical scavenging activity of coffee

brews and their phenolic fraction. *Journal of Food Engineering* 90(1):74–80. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2008.06.005>.

Salazar, E; Valenzuela, R; Aguilar, M; Aranda, N; Sotelo, A; Chire-Fajardo, GC; Ureña, M. 2020. Physicochemical properties and microbial group behavior of postharvest peruvian cocoa bean (*Theobroma cacao* L.). *Enfoque UTE* 11(4):48–56. DOI: <https://doi.org/10.29019/enfoqueute.v11n4.602>.

Samaniego, I; Espín, S; Quiroz, J; Ortiz, B; Carrillo, W; García-Viguera, C; Mena, P. 2020. Effect of the growing area on the methylxanthines and flavan-3-ols content in cocoa beans from Ecuador. *Journal of Food Composition and Analysis* 88(2):1–33. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2020.103448>.

Sanbongi, C; Osakabe, N; Natsume, M; Takizawa, T; Gomi, S; Osawa, T. 1998. Antioxidative polyphenols isolated from *Theobroma cacao*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 46(2):454–457. DOI: <https://doi.org/10.1021/jf970575o>.

Sánchez-Rabaneda, F; Jáuregui, O; Casals, I; Andrés-Lacueva, C; Izquierdo-Pulido, M; Lamuela-Raventós, RM. 2003. Liquid chromatographic/electrospray ionization tandem mass spectrometric study of the phenolic composition of cocoa (*Theobroma cacao*). *Journal of Mass Spectrometry* 38(1):35–42. DOI: <https://doi.org/10.1002/jms.395>.

Saura-Calixto, F; Goñi, I. 2006. Antioxidant capacity of the Spanish Mediterranean diet. *Food Chemistry* 94(3): 442-7.

Saura-Calixto, F; Serrano, J; Goñi, I. 2007. Intake and bioaccessibility of total polyphenols in a whole diet. *Food Chemistry* 101(2):492-501.

Saza, JN; Jiménez, JA. 2020. Determinación de condiciones ambientales para la conservación de granos de cacao (*Theobroma cacao* L) deshidratado durante el almacenamiento. Rev Sist Prod Agroecol 11(1):97–125.

Schinella, G; Mosca, S; Cienfuegos-Jovellanos, E; Pasamar, MÁ; Muguerza, B; Ramón, D; Ríos, JL. 2010. Antioxidant properties of polyphenol-rich cocoa products industrially processed. Food Research International 43(6):1614–1623. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.04.032>.

Schwan, R; Wheals, A. 2004. The microbiology of cocoa fermentation and its role chocolate quality. Critical Reviews in Food Science and Nutrition (44) 205 – 221.

Seguine, E; Sukha, D. 2015. Coex ed. Consultado el 7 de dic. del 2021. Disponible en https://static1.squarespace.com/static/56680247841abadb3a819e1c/t/57f4e4ca15d5dbf58860d7fb/1475667150735/glossary_espanol.pdf

Selmi, C; Cocchi, CA; Lanfredini, M; Keen, CL; Gershwin, ME. 2008. Chocolate at heart: The anti-inflammatory impact of cocoa flavanols. Molecular Nutrition of Food Research 52: 1340-1348.

Sinche, E. 2011. Evaluación del tiempo de fermentación del grano de cacao criollo (*Theobroma cacao* L.) para la obtención de la pasta (en línea). s.l., Universidad Nacional del Centro del Perú. 53 p. Disponible en <http://repositorio.uncp.edu.pe/handle/UNCP/1890>.

Solano, S. 2008. Embriogénesis somática en clones superiores de cacao (*Theobroma cacao* L.). Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE), Turrialba, Costa Rica.

Solórzano, E; Amores, F; Jiménez, J; Nicklin, C; Barzola, S. 2015. Comparación sensorial del cacao (*Theobroma cacao* L.) Nacional fino de aroma cultivado en diferentes zonas del Ecuador. *Ciencia y Tecnología* 8(1):37. DOI: <https://doi.org/10.18779/cyt.v8i1.198>.

Stanley, TH; Van Buiten, CB; Baker, SA; Elias, RJ; Anantheswaran, RC; Lambert, JD. 2018. Impact of roasting on the flavan-3-ol composition, sensory-related chemistry, and in vitro pancreatic lipase inhibitory activity of cocoa beans (en línea). *Food Chemistry* 255(2):414–420. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.02.036>.

Steinberg, FM; Bearden, MM; Keen, CL. 2003. Cocoa and chocolate flavonoids: implications for cardiovascular health. *Journal of the American Dietetic Association* 103: 215-223.

Stevenson, C; Corven, J; Villanueva, G. 1993. Manual para análisis de cacao en laboratorio. Costa Rica, IICA-Procacao. p. 68.

Suazo, Y; Davidov-Pardo, G; Arozarena, I. 2014. Effect of fermentation and roasting on the phenolic concentration and antioxidant activity of cocoa from Nicaragua. *Journal of Food Quality* 37(1):50–56. DOI: <https://doi.org/10.1111/jfq.12070>.

Sukha, D; Butler, D. 2006. Trends in flavour profiles of the common clones for the CFC/ICCO/INIAP Flavour Project. In: Annual report 2005. St. Augustine. Trinidad y Tobago. Cocoa Research Unit. The University of the West Indies. p. 55- 61.

Sukha, D; Butler, D; Amores, F; Jimenez, J; Ramos, G. 2007. Project to determine the physical, chemical and organoleptic parameters differentiate between fine and bulk cocoa. ICCO. p. 1-10.

Summa, C; Raposo, FC; McCourt, J; Lo, R; Heinz, W; Elmadfa, I; Anklam, E. 2006. Effect of roasting on the radical scavenging activity of cocoa beans. *European Food Research and Technology* 222(3-4):368–375.

Swanson, K. 2011. *Chocolate, Cocoa and Confectionery In Micro-Organisms in Foods*. 8 ed. Londres, Inglaterra, Blackie Academic & Professional.

Tan, E; Ngoh, Y; Gan, CH. 2014. A comparative study of physicochemical characteristics and functionalities of pinto bean protein isolate (PBPI) against the soybean protein isolate (SPI) after the extraction optimization. *Food Chemistry* (152):447-455.

Taubert, D; Roesen, R; Lehmann, C; Jung, N; Schömig, E. 2007. Effects of low habitual cocoa intake on blood pressure and bioactive nitric oxide. A randomize control trial. *JAMA* 298:49-60.

Todorovic, V; Redovnikovic, IR; Todorovic, Z; Jankovic, G; Dodevska, M; Sobajic, S. 2015. Polyphenols, methylxanthines, and antioxidant capacity of chocolates produced

in Serbia (en línea). *Journal of Food Composition and Analysis* 41:137–143. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2015.01.018>.

Trade Map. 2021. Exportación de cacao y derivados por Perú (en línea, sitio web). Disponible en <https://www.trademap.org/Index.aspx>.

Ugartondo, C. 2009. Caracterización de derivados polifenólicos obtenidos de fuentes naturales. Citotoxicidad y capacidad antioxidante frente a estrés oxidativo en modelos celulares. España, Universidad de Barcelona, Facultad de Farmacia. 48 p.

Urbańska, B; Kowalska, J. 2019. Comparison of the total polyphenol content and antioxidant activity of chocolate obtained from roasted and unroasted cocoa beans from different regions of the world. *Antioxidants* 8(8):1–13. DOI: <https://doi.org/10.3390/antiox8080283>.

Ureña, M; D' Arrigo, M; Girón, O. 1999. Evaluación Sensorial de los Alimentos- Aplicación Didáctica. Perú, Universidad Agraria La Molina. 199 p.

Varela, P; Ares, G. 2014. *Novel Techniques in Sensorial Characterization and Consumer Profiling*. CRC Press Taylor & Francis Group. Boca Ratón USA 1:1-5.

Vera, J; Vallejo, C; Párraga, D. 2014. Atributos físicos-químicos y sensoriales de las almendras de quince clones de cacao nacional (*Theobroma cacao* L.) en el Ecuador. *Revista Ciencia y Tecnología* 7(2):21-34.

Vignoli, JA; Bassoli, DG; Benassi, MT. 2011. Antioxidant activity, polyphenols, caffeine and melanoidins in soluble coffee: The influence of processing conditions and raw material. *Food Chem* 124:863-868.

Wang, HY; Qian, H; Yao, WR. 2011. Melanoidins produced by the Maillard reaction: Structure and biological activity. *Food Chemistry* 128(3):573-584.

Wollgast, J. 2004. The contents and effects of polyphenols in chocolate qualitative and quantitative analyses of polyphenols in chocolate and chocolate raw products as well as evaluation of potential implications of chocolate consumption in human health. Ph.D. thesis. (Gießen).

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. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0963-9969\(00\)00068-5](https://doi.org/10.1016/S0963-9969(00)00068-5).

Yamaguchi, N; Koyama, Y; Fujimaki, M. 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.

Yanagimoto, K; Ochi, H; Lee, K; Shibamoto, T. 2004. Antioxidative activities of fractions obtained from brewed coffee. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52: 592-596.

Zambrano, A; Gómez, A; Ramos, G; Romero, C; La cruz, C; Rivas, E. 2010. Caracterización de parámetros físicos de calidad en almendras de cacao criollo, trinitario, y forastero durante el proceso de secado. *Agronomía Tropical* 60(4):389-396.

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

Zapata, S; Tamayo, A; Rojano, B. 2013. Efecto de la fermentación sobre la actividad antioxidante de diferentes clones de cacao colombiano (en línea). *Revista Cubana de Plantas Medicinales* 18(3):391–404. Disponible en <http://scielo.sld.cu>.

Zegarra, S. 2015. Optimización de la formulación de una galleta enriquecida con hidrolizado de anchoveta (*Engraulis ringens*) aplicando metodología de superficie de respuesta. s.l., Universidad Nacional Agraria La Molina. 127–134 p. DOI: <https://doi.org/10.17268/agroind.science.2016.01.15>.

Żyżelewicz, D; Krysiak, W; Oracz, J; Sosnowska, D; Budryn, G; Nebesny, E. 2016. The influence of the roasting process conditions on the polyphenol content in cocoa beans, nibs and chocolates (en línea). *Food Research International* 89(3):918–929. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2016.03.026>.

VIII. ANEXOS

Anexo 1: Datos de las características físicas del grano de cacao chuncho fermentado y seco

Análisis físico	Repeticiones		Promedio
Largo (mm)	R1	18,099	18,44
	R2	18,985	
	R3	18,239	
Ancho (mm)	R1	10,588	10,59
	R2	10,832	
	R3	10,352	
Espesor (mm)	R1	7,965	7,59
	R2	7,360	
	R3	7,448	
L/E (mm)	R1	2,332	2,49
	R2	2,630	
	R3	2,511	
Clasificación de tamaño	R1	143	141
	R2	142	
	R3	137	
Índice de grano	R1	0,912	0,82
	R2	0,826	
	R3	0,842	
	R4	0,754	
	R5	0,781	
Porcentaje de cáscara	R1	17,656	16,03
	R2	13,399	
	R3	17,024	
Índice de fermentación	R1	73,986	75,64
	R2	73,315	
	R3	79,631	
L*	R1	31,355	32,58
	R2	33,053	
	R3	34,648	
	R4	31,255	
a*	R1	11,723	12,02
	R2	12,028	
	R3	11,315	
	R4	13,029	
b*	R1	9,803	10,42
	R2	9,113	
	R3	9,500	
	R4	13,280	
I.B	R1	29,675	30,71
	R2	31,373	
	R3	32,998	
	R4	28,782	

Anexo 2: Datos del análisis fisicoquímico del grano de cacao chuncho fermentado y seco

Análisis fisicoquímico	Repeticiones	b.h (%)	b.s (%)	Promedio
Humedad	R1	5,602	-	5,64
	R2	5,691		
	R3	5,619		
Actividad de agua	R1	0,528	-	0,54
	R2	0,542		
	R3	0,549		
Ceniza	R1	4,025	4,266	4,26
	R2	3,926	4,161	
	R3	4,120	4,366	
Grasa cruda	R1	45,714	48,446	48,12
	R2	45,314	48,022	
	R3	45,178	47,877	
Proteína cruda	R1	12,146	12,872	13,10
	R2	12,215	12,945	
	R3	12,723	13,483	
Fibra cruda	R1	14,094	14,936	14,90
	R2	14,016	14,854	
	R3	14,071	14,912	

Anexo 3: Datos de análisis de pH y porcentaje de acidez del grano de cacao chuncho fermentado y seco

Análisis químico	Repeticiones		Promedio
pH	R1	4,893	5,02
	R2	5,003	
	R3	4,998	
	R4	5,203	
Acidez (%)	R1	1,286	1,14
	R2	1,055	
	R3	1,204	
	R4	0,996	

Anexo 4: Datos del contenido de polifenoles totales y capacidad antioxidante del grano de cacao chuncho fermentado y seco

Polifenoles totales

Grano de cacao sin tostar	Repeticiones	Peso (g)	MS (%)	Absorbancia	mg EAG/g b.s	Promedio
Sin desengrasar	R1	0,588	94,567	0,189	38,411	40,92
	R2	0,574		0,190	39,518	
	R3	0,529		0,198	44,843	
Desengrasado	R1	0,586	94,567	0,304	62,021	57,65
	R2	0,581		0,253	52,120	
	R3	0,501		0,247	58,822	

Capacidad antioxidante por el método FRAP

Grano de cacao sin tostar	Repeticiones	Peso (g)	MS (%)	Absorbancia	FRAP (μmol Eq. Trolox/g b.s)	Promedio
Sin desengrasar	R1	0,588	94,567	0,665	176,594	180,64
	R2	0,574		0,662	179,971	
	R3	0,529		0,627	185,362	
Desengrasado	R1	0,586	94,567	0,773	205,452	200,92
	R2	0,581		0,757	203,259	
	R3	0,501		0,623	194,045	

Capacidad antioxidante por el método DPPH

Grano de cacao sin tostar	Repeticiones	Peso (g)	MS (%)	Absorbancia	Inhibición (%)	DPPH (μmol Eq. Trolox/g b.s)	Promedio
Sin desengrasar	R1	0,588	94,567	0,280	72,414	333,417	337,01
	R2	0,574		0,277	72,708	342,819	
	R3	0,529		0,354	65,098	334,794	
Desengrasado	R1	0,586	94,567	0,281	72,314	333,827	337,14
	R2	0,581		0,272	73,158	340,701	
	R3	0,501		0,386	61,954	336,894	

Anexo 5: Ecuaciones de curvas estándar empleadas para los polifenoles totales y capacidad antioxidante (FRAP y DPPH)

Componente		Ecuación	R²
Polifenoles totales		Y = 1,77237X – 0,000361 Dónde: X (mg EAG /mL); Y (Absorbancia)	0,9998
Capacidad antioxidante	FRAP	Y= 1,36821X – 0,00671 Dónde: X (μmol Eq. Trolox/mL); Y (Absorbancia)	0,9996
	DPPH	Y= 81,53239X – 3,152996 Dónde: X (μmol Eq. Trolox/mL); Y (% Inhibición)	0,9999

R² = Coeficiente de correlación

Anexo 6: Datos del contenido de polifenoles totales obtenidos mediante el tostador estufa (TE)

Tratamiento	Repeticiones	Peso (g)	MS (%)	Absorbancia	EAG mg/g b.s	Promedio
100°C por 10 min	R1	0,559	95,930	0,249	52,515	54,48
	R2	0,578		0,288	58,722	
	R3	0,550		0,244	52,201	
100°C por 20 min	R1	0,494	96,125	0,233	55,392	59,65
	R2	0,599		0,332	65,144	
	R3	0,569		0,283	58,422	
100°C por 30 min	R1	0,553	96,416	0,289	61,301	58,75
	R2	0,584		0,284	56,970	
	R3	0,575		0,285	57,991	
120°C por 10 min	R1	0,488	95,996	0,259	62,553	60,11
	R2	0,468		0,228	57,264	
	R3	0,523		0,269	60,515	
120°C por 20 min	R1	0,533	96,701	0,290	63,591	63,63
	R2	0,544		0,297	63,685	
	R3	0,506		0,275	63,610	
120°C por 20 min	R1	0,503	96,701	0,268	62,290	63,39
	R2	0,514		0,284	64,542	
	R3	0,522		0,283	63,351	
120°C por 20 min	R1	0,511	96,701	0,265	60,562	63,07
	R2	0,506		0,288	66,581	
	R3	0,491		0,261	62,073	
120°C por 20 min	R1	0,500	96,701	0,279	65,070	61,27
	R2	0,522		0,249	55,701	
	R3	0,501		0,270	63,033	
120°C por 30 min	R1	0,484	97,008	0,235	56,574	54,58
	R2	0,451		0,199	51,511	
	R3	0,525		0,251	55,652	
140°C por 10 min	R1	0,509	97,190	0,262	59,911	61,95
	R2	0,496		0,274	64,082	
	R3	0,503		0,267	61,854	
140°C por 20 min	R1	0,531	98,311	0,215	46,532	49,77
	R2	0,512		0,245	55,012	
	R3	0,521		0,217	47,772	
140°C por 30 min	R1	0,517	98,444	0,165	36,543	39,40
	R2	0,504		0,192	43,661	
	R3	0,511		0,169	38,002	

Anexo 7: Datos del contenido de capacidad antioxidante (FRAP) obtenidos mediante el tostador estufa (TE)

Tratamiento	Repeticiones	Peso (g)	MS (%)	Absorbancia	μmol Eq. Trolox/g b.s	Promedio
100°C por 10 min	R1	0,559	95,930	0,759	208,753	207,86
	R2	0,578		0,779	207,311	
	R3	0,550		0,743	207,530	
100°C por 20 min	R1	0,494	96,125	0,733	227,572	227,99
	R2	0,599		0,893	228,501	
	R3	0,569		0,846	227,892	
100°C por 30 min	R1	0,553	96,416	0,899	248,110	241,60
	R2	0,584		0,903	236,142	
	R3	0,575		0,906	240,543	
120°C por 10 min	R1	0,488	95,996	0,854	268,704	260,04
	R2	0,468		0,776	254,412	
	R3	0,523		0,876	257,011	
120°C por 20 min	R1	0,533	96,701	0,913	261,102	262,84
	R2	0,544		0,949	265,650	
	R3	0,506		0,870	261,761	
120°C por 20 min	R1	0,503	96,701	0,858	259,691	260,15
	R2	0,514		0,880	260,832	
	R3	0,522		0,891	259,922	
120°C por 20 min	R1	0,511	96,701	0,876	261,430	259,56
	R2	0,506		0,858	258,411	
	R3	0,491		0,834	258,840	
120°C por 20 min	R1	0,500	96,701	0,865	263,381	256,30
	R2	0,522		0,859	250,710	
	R3	0,501		0,838	254,822	
120°C por 30 min	R1	0,484	97,008	0,757	237,912	228,77
	R2	0,451		0,662	223,120	
	R3	0,525		0,778	225,281	
140°C por 10 min	R1	0,509	97,190	0,918	273,362	270,63
	R2	0,496		0,881	268,941	
	R3	0,503		0,894	269,593	
140°C por 20 min	R1	0,531	98,311	0,850	239,690	242,90
	R2	0,512		0,848	248,084	
	R3	0,521		0,838	240,922	
140°C por 30 min	R1	0,517	98,444	0,671	194,541	190,58
	R2	0,504		0,632	188,024	
	R3	0,511		0,644	189,181	

Anexo 8: Datos del contenido de capacidad antioxidante (DPPH) obtenidos mediante el tostador estufa (TE)

Tratamiento	Repeticiones	Peso (g)	MS (%)	Absorbancia	Inhibición (%)	μmol Eq. Trolox/g b.s	Promedio
100°C por 10 min	R1	0,559	95,930	0,289	71,514	341,802	335,96
	R2	0,578		0,286	71,855	332,011	
	R3	0,550		0,317	68,752	334,060	
100°C por 20 min	R1	0,494	96,125	0,303	70,134	378,280	368,09
	R2	0,599		0,187	81,586	361,013	
	R3	0,569		0,221	78,225	364,971	
100°C por 30 min	R1	0,553	96,416	0,272	73,237	351,192	353,61
	R2	0,584		0,214	78,873	357,162	
	R3	0,575		0,238	76,552	352,483	
120°C por 10 min	R1	0,488	95,996	0,281	72,335	395,522	391,91
	R2	0,468		0,322	68,260	389,671	
	R3	0,523		0,236	76,793	390,533	
120°C por 20 min	R1	0,533	96,701	0,138	86,453	426,701	421,77
	R2	0,544		0,136	86,567	418,370	
	R3	0,506		0,196	80,673	420,242	
120°C por 20 min	R1	0,503	96,701	0,213	78,995	414,204	416,45
	R2	0,514		0,183	81,968	420,091	
	R3	0,522		0,180	82,258	415,061	
120°C por 20 min	R1	0,511	96,701	0,178	82,439	425,313	414,21
	R2	0,506		0,222	78,116	407,343	
	R3	0,491		0,242	76,152	409,972	
120°C por 20 min	R1	0,500	96,701	0,270	73,378	388,120	393,68
	R2	0,522		0,206	79,708	402,672	
	R3	0,501		0,264	73,954	390,261	
120°C por 30 min	R1	0,484	97,008	0,304	70,062	382,751	376,78
	R2	0,451		0,373	63,242	372,014	
	R3	0,525		0,256	74,823	375,571	
140°C por 10 min	R1	0,509	97,190	0,176	82,709	426,093	422,92
	R2	0,496		0,207	79,622	420,952	
	R3	0,503		0,195	80,809	421,721	
140°C por 20 min	R1	0,531	98,311	0,215	78,771	384,741	382,88
	R2	0,512		0,251	75,222	381,652	
	R3	0,521		0,236	76,706	382,240	
140°C por 30 min	R1	0,517	98,444	0,350	65,533	330,791	330,40
	R2	0,504		0,369	63,645	330,183	
	R3	0,511		0,360	64,503	330,233	

Anexo 9: Ecuaciones de optimización del tostado de cacao en tostador estufa (TE) para retención de polifenoles y capacidad antioxidante

Compuesto		Ecuación de regresión
Polifenoles totales (EAG mg/g b.s)		Polifenoles T. = $-214,75836 + 4,03874 * \text{Temperatura } (^\circ\text{C}) + 4,93924 * \text{Tiempo (min)} - 0,033530 * \text{Temperatura } (^\circ\text{C}) * \text{Tiempo (min)} - 0,014790 * \text{Temperatura } (^\circ\text{C}) * \text{Temperatura } (^\circ\text{C}) - 0,032810 * \text{Tiempo (min)} * \text{Tiempo (min)}$
Capacidad antioxidante	FRAP ($\mu\text{mol Eq. Trolox/g b.s}$)	FRAP = $-867,85183 + 15,36615 * \text{Temperatura } (^\circ\text{C}) + 20,39449 * \text{Tiempo (min)} - 0,142247 * \text{Temperatura } (^\circ\text{C}) * \text{Tiempo (min)} - 0,051247 * \text{Temperatura } (^\circ\text{C}) * \text{Temperatura } (^\circ\text{C}) - 0,115442 * \text{Tiempo (min)} * \text{Tiempo (min)}$
	DPPH ($\mu\text{mol Eq. Trolox/g b.s}$)	DPPH = $-1127,49170 + 21,30866 * \text{Temperatura } (^\circ\text{C}) + 23,41583 * \text{Tiempo (min)} - 0,137714 * \text{Temperatura } (^\circ\text{C}) * \text{Tiempo (min)} - 0,074583 * \text{Temperatura } (^\circ\text{C}) * \text{Temperatura } (^\circ\text{C}) - 0,209751 * \text{Tiempo (min)} * \text{Tiempo (min)}$

Anexo 10: Análisis de varianza para el modelo cuadrático de la metodología de superficie de respuesta correspondiente a polifenoles totales para TE

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p	Sig.
Modelo	5	529,48	105,90	24,36	0,0006	*
A: Temperatura	1	79,03	79,03	18,18	0,0053	*
B: Tiempo	1	94,45	94,45	21,73	0,0035	*
AB	1	179,88	179,88	41,38	0,0007	*
AA	1	93,33	93,33	21,47	0,0036	*
BB	1	28,71	28,71	6,60	0,0424	*
Falta de ajuste	3	22,64	7,55	6,57	0,0781	n.s
Error puro	3	3,44	1,15			
Total	11	555,57				
R ²	0,95	C.V. (%)	3,63			

*Significancia a un valor de $p < 0,05$; n.s = No significativo; CV = Coeficiente de variabilidad

Anexo 11: Análisis de varianza para el modelo cuadrático de la metodología de superficie de respuesta correspondiente a capacidad antioxidante (FRAP) para TE

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p	Sig.
Modelo	5	6492,36	1298,47	71,80	0,0001	*
A: Temperatura	1	118,32	118,32	6,54	0,0430	*
B: Tiempo	1	1002,89	1002,89	55,46	0,0003	*
AB	1	3237,48	3237,48	179,02	0,0001	*
AA	1	1120,52	1120,52	61,96	0,0002	*
BB	1	355,39	355,39	19,65	0,0044	*
Falta de ajuste	3	86,84	28,95	4,01	0,1420	n.s
Error puro	3	21,67	7,22			
Total	11	6600,86				
R ²	0,98	C.V. (%)	1,75			

*Significancia a un valor de $p < 0,05$; n.s = No significativo; CV = Coeficiente de variabilidad

Anexo 12: Análisis de varianza para el modelo cuadrático de la metodología de superficie de respuesta correspondiente a capacidad antioxidante (DPPH) para TE

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p	Sig.
Modelo	5	10653,81	2130,76	15,57	0,0022	*
A: Temperatura	1	1028,14	1028,14	7,51	0,0337	*
B: Tiempo	1	1349,83	1349,83	9,86	0,0201	*
AB	1	3034,42	3034,42	22,17	0,0033	*
AA	1	2373,37	2373,37	17,34	0,0059	*
BB	1	1173,22	1173,22	8,57	0,0264	*
Falta de ajuste	3	365,97	121,99	0,804	0,5690	n.s
Error puro	3	455,19	151,73			
Total	11	11474,96				
R ²	0,93	C.V. (%)	3,05			

*Significancia a un valor de $p < 0,05$; n.s = No significativo; CV = Coeficiente de variabilidad

Anexo 13: Datos del contenido de polifenoles totales obtenidos mediante el tostador tambor rotatorio (TR)

Tratamiento	Repeticiones	Peso (g)	MS (%)	Absorbancia	EAG mg/g b.s	Promedio
100°C por 10 min	R1	0,546	96,722	0,300	64,281	60,22
	R2	0,589		0,289	57,250	
	R3	0,551		0,279	59,124	
100°C por 20 min	R1	0,464	97,025	0,278	69,802	63,75
	R2	0,501		0,249	57,822	
	R3	0,527		0,288	63,623	
100°C por 30 min	R1	0,496	97,053	0,247	58,063	58,60
	R2	0,567		0,288	59,161	
	R3	0,519		0,261	58,582	
120°C por 10 min	R1	0,557	96,943	0,328	68,522	63,55
	R2	0,572		0,297	60,470	
	R3	0,520		0,275	61,651	
120°C por 20 min	R1	0,511	97,395	0,292	66,253	64,22
	R2	0,482		0,260	62,642	
	R3	0,497		0,273	63,771	
120°C por 20 min	R1	0,555	97,395	0,300	62,753	64,16
	R2	0,507		0,288	65,761	
	R3	0,541		0,298	63,970	
120°C por 20 min	R1	0,530	97,395	0,286	62,521	62,96
	R2	0,509		0,279	63,681	
	R3	0,519		0,281	62,673	
120°C por 20 min	R1	0,570	97,395	0,316	64,410	61,82
	R2	0,514		0,266	60,211	
	R3	0,509		0,267	60,832	
120°C por 30 min	R1	0,502	97,478	0,206	47,672	51,51
	R2	0,528		0,263	57,722	
	R3	0,529		0,224	49,143	
140°C por 10 min	R1	0,514	97,741	0,268	60,352	61,87
	R2	0,504		0,280	64,306	
	R3	0,509		0,268	60,952	
140°C por 20 min	R1	0,574	98,369	0,266	53,133	53,60
	R2	0,561		0,265	54,342	
	R3	0,568		0,263	53,320	
140°C por 30 min	R1	0,538	98,897	0,172	36,524	36,85
	R2	0,506		0,165	37,371	
	R3	0,522		0,167	36,652	

Anexo 14: Datos del contenido de capacidad antioxidante (FRAP) obtenidos mediante el tostador tambor rotatorio (TR)

Tratamiento	Repeticiones	Peso (g)	MS (%)	Absorbancia	$\mu\text{mol Eq. Trolox/g b.s}$	Promedio
100°C por 10 min	R1	0,546	96,722	0,829	231,644	225,76
	R2	0,589		0,859	222,121	
	R3	0,551		0,809	223,512	
100°C por 20 min	R1	0,464	97,025	0,758	248,320	240,96
	R2	0,501		0,780	236,542	
	R3	0,527		0,825	238,024	
100°C por 30 min	R1	0,496	97,053	0,710	217,542	217,91
	R2	0,567		0,816	218,505	
	R3	0,519		0,743	217,691	
120°C por 10 min	R1	0,557	96,943	0,914	249,151	247,63
	R2	0,572		0,930	246,884	
	R3	0,520		0,845	246,851	
120°C por 20 min	R1	0,511	97,395	0,893	264,373	260,66
	R2	0,482		0,824	258,351	
	R3	0,497		0,851	259,262	
120°C por 20 min	R1	0,555	97,395	0,955	260,070	260,18
	R2	0,507		0,873	260,371	
	R3	0,541		0,931	260,092	
120°C por 20 min	R1	0,530	97,395	0,914	260,793	255,17
	R2	0,509		0,847	251,641	
	R3	0,519		0,869	253,083	
120°C por 20 min	R1	0,570	97,395	0,958	254,081	253,91
	R2	0,514		0,860	253,350	
	R3	0,509		0,855	254,291	
120°C por 30 min	R1	0,502	97,478	0,679	204,862	208,46
	R2	0,528		0,748	214,282	
	R3	0,529		0,720	206,243	
140°C por 10 min	R1	0,514	97,741	0,904	264,981	265,19
	R2	0,504		0,888	265,501	
	R3	0,509		0,896	265,090	
140°C por 20 min	R1	0,574	98,369	0,892	232,442	230,91
	R2	0,561		0,861	229,831	
	R3	0,568		0,874	230,462	
140°C por 30 min	R1	0,538	98,897	0,527	146,391	145,74
	R2	0,506		0,491	145,263	
	R3	0,522		0,508	145,570	

Anexo 15: Datos del contenido de capacidad antioxidante (DPPH) obtenidos mediante el tostador tambor rotatorio (TR)

Tratamiento	Repeticiones	Peso (g)	MS (%)	Absorbancia	Inhibición (%)	µmol Eq. Trolox/g b.s	Promedio
100°C por 10 min	R1	0,546	96,722	0,201	80,196	387,510	380,31
	R2	0,589		0,161	84,165	375,851	
	R3	0,551		0,214	78,920	377,563	
100°C por 20 min	R1	0,464	97,025	0,311	69,359	395,014	399,36
	R2	0,501		0,230	77,354	406,022	
	R3	0,527		0,208	79,546	397,041	
100°C por 30 min	R1	0,496	97,053	0,290	71,393	379,870	375,25
	R2	0,567		0,200	80,320	371,832	
	R3	0,519		0,268	73,594	374,041	
120°C por 10 min	R1	0,557	96,943	0,165	83,756	394,742	397,55
	R2	0,572		0,125	87,710	402,092	
	R3	0,520		0,221	78,252	395,821	
120°C por 20 min	R1	0,511	97,395	0,219	78,402	402,361	405,15
	R2	0,482		0,252	75,196	409,063	
	R3	0,497		0,239	76,493	404,024	
120°C por 20 min	R1	0,555	97,395	0,142	86,056	404,982	404,31
	R2	0,507		0,221	78,193	403,863	
	R3	0,541		0,166	83,678	404,091	
120°C por 20 min	R1	0,530	97,395	0,196	80,729	398,692	396,50
	R2	0,509		0,237	76,687	395,142	
	R3	0,519		0,219	78,428	395,671	
120°C por 20 min	R1	0,570	97,395	0,148	85,446	391,692	392,59
	R2	0,514		0,232	77,168	393,961	
	R3	0,509		0,243	76,044	392,111	
120°C por 30 min	R1	0,502	97,478	0,310	69,441	364,052	365,04
	R2	0,528		0,266	73,760	366,641	
	R3	0,529		0,270	73,383	364,430	
140°C por 10 min	R1	0,514	97,741	0,190	81,328	412,572	410,40
	R2	0,504		0,213	79,028	409,063	
	R3	0,509		0,204	79,928	409,564	
140°C por 20 min	R1	0,574	98,369	0,214	78,945	356,421	355,01
	R2	0,561		0,239	76,489	354,140	
	R3	0,568		0,228	77,530	354,472	
140°C por 30 min	R1	0,538	98,897	0,387	61,856	299,492	300,28
	R2	0,506		0,423	58,319	301,271	
	R3	0,522		0,406	60,023	300,074	

Anexo 16: Ecuaciones de optimización del tostado de cacao en tostador tambor rotatorio (TR) para retención de polifenoles y capacidad antioxidante

Compuesto		Ecuación de regresión
Polifenoles totales (EAG mg/g b.s)		Polifenoles T. = $-123,85483 + 2,66192 * \text{Temperatura } (^{\circ}\text{C}) + 4,87616 * \text{Tiempo (min)} - 0,029257 * \text{Temperatura } (^{\circ}\text{C}) * \text{Tiempo (min)} - 0,009704 * \text{Temperatura } (^{\circ}\text{C}) * \text{Temperatura } (^{\circ}\text{C}) - 0,050250 * \text{Tiempo (min)} * \text{Tiempo (min)}$
Capacidad antioxidante	FRAP (μmol Eq. Trolox/g b.s)	FRAP = $-730,55229 + 13,21471 * \text{Temperatura } (^{\circ}\text{C}) + 24,30952 * \text{Tiempo (min)} - 0,139489 * \text{Temperatura } (^{\circ}\text{C}) * \text{Tiempo (min)} - 0,044923 * \text{Temperatura } (^{\circ}\text{C}) * \text{Temperatura } (^{\circ}\text{C}) - 0,258631 * \text{Tiempo (min)} * \text{Tiempo (min)}$
	DPPH (μmol Eq. Trolox/g b.s)	DPPH = $-505,67904 + 13,03917 * \text{Temperatura } (^{\circ}\text{C}) + 19,09063 * \text{Tiempo (min)} - 0,131325 * \text{Temperatura } (^{\circ}\text{C}) * \text{Tiempo (min)} - 0,046484 * \text{Temperatura } (^{\circ}\text{C}) * \text{Temperatura } (^{\circ}\text{C}) - 0,144829 * \text{Tiempo (min)} * \text{Tiempo (min)}$

Anexo 17: Análisis de varianza para el modelo cuadrático de la metodología de superficie de respuesta correspondiente a polifenoles totales para TR

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p	Sig.
Modelo	5	698,93	139,79	143,08	0,0001	*
A: Temperatura	1	152,62	152,62	156,22	0,0001	*
B: Tiempo	1	249,39	249,39	255,27	0,0001	*
AB	1	136,96	136,96	140,19	0,0001	*
AA	1	40,18	40,18	41,13	0,0007	*
BB	1	67,34	67,34	68,92	0,0002	*
Falta de ajuste	3	1,98	0,6594	0,5093	0,7033	n.s
Error puro	3	3,88	1,29			
Total	11	704,80				
R ²	0,99	C.V. (%)	1,69			

*Significancia a un valor de $p < 0,05$; n.s = No significativo; CV = Coeficiente de variabilidad

Anexo 18: Análisis de varianza para el modelo cuadrático de la metodología de superficie de respuesta correspondiente a capacidad antioxidante (FRAP) para TR

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p	Sig.
Modelo	5	11941,40	2388,28	50,71	0,0001	*
A: Temperatura	1	305,09	305,09	6,48	0,0438	*
B: Tiempo	1	4618,32	4618,32	98,05	0,0001	*
AB	1	3113,14	3113,14	66,09	0,0002	*
AA	1	861,04	861,04	18,28	0,0052	*
BB	1	1783,74	1783,74	37,87	0,0008	*
Falta de ajuste	3	247,09	82,36	6,96	0,0727	n.s
Error puro	3	35,52	11,84			
Total	11	12224,01				
R ²	0,98	C.V. (%)	2,93			

*Significancia a un valor de $p < 0,05$; n.s = No significativo; CV = Coeficiente de variabilidad

Anexo 19: Análisis de varianza para el modelo cuadrático de la metodología de superficie de respuesta correspondiente a capacidad antioxidante (DPPH) para TR

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p	Sig.
Modelo	5	9926,72	1985,34	22,85	0,0008	*
A: Temperatura	1	1326,79	1326,79	15,27	0,0079	*
B: Tiempo	1	3635,51	3635,51	41,84	0,0006	*
AB	1	2759,40	2759,40	31,76	0,0013	*
AA	1	921,93	921,93	10,61	0,0173	*
BB	1	559,35	559,35	6,44	0,0442	*
Falta de ajuste	3	409,62	136,54	3,67	0,1571	n.s
Error puro	3	111,69	37,23			
Total	11	10448,03				
R ²	0,95	C.V. (%)	2,44			

*Significancia a un valor de $p < 0,05$; n.s = No significativo; CV = Coeficiente de variabilidad

Anexo 20: Datos del análisis físico de los tratamientos óptimos

Tostador	Color	Repeticiones		Promedio
Estufa	L*	R1	30,714	31,14
		R2	29,992	
		R3	32,711	
	a*	R1	14,247	14,41
		R2	14,362	
		R3	14,631	
	b*	R1	14,374	14,24
		R2	13,390	
		R3	14,950	
	I.B	R1	27,819	28,22
		R2	27,291	
		R3	29,534	
Tambor rotatorio	L*	R1	32,756	32,53
		R2	30,664	
		R3	34,172	
	a*	R1	14,892	14,34
		R2	13,898	
		R3	14,215	
	b*	R1	15,087	14,18
		R2	12,926	
		R3	14,536	
	I.B	R1	29,493	29,57
		R2	28,114	
		R3	31,104	

Anexo 21: Datos del análisis físicoquímico de los tratamientos óptimos

Tostador	Análisis físicoquímico	Repeticiones	b.h (%)	b.s (%)	Promedio
Estufa	Humedad	R1	2,841	-	2,85
		R2	2,813		
		R3	2,887		
	Ceniza	R1	3,172	3,265	3,30
		R2	3,152	3,244	
		R3	3,283	3,379	
	Grasa cruda	R1	47,002	48,379	48,41
		R2	47,363	48,751	
		R3	46,724	48,093	
	Proteína cruda	R1	13,675	14,076	14,10
		R2	13,964	14,373	
		R3	13,442	13,836	
Fibra cruda	R1	9,744	10,030	10,05	
	R2	9,824	10,112		
	R3	9,712	9,997		
Tambor rotatorio	Humedad	R1	2,682	-	2,69
		R2	2,651		
		R3	2,741		
	Ceniza	R1	3,013	3,096	3,09
		R2	3,105	3,191	
		R3	2,914	2,995	
	Grasa cruda	R1	47,671	48,989	49,01
		R2	47,971	49,298	
		R3	47,432	48,744	
	Proteína cruda	R1	13,173	13,537	13,55
		R2	13,512	13,886	
		R3	12,872	13,228	
	Fibra cruda	R1	10,824	11,123	11,15
		R2	10,880	11,181	
		R3	10,845	11,145	

Anexo 22: Datos del análisis de pH y acidez de los tratamientos óptimos

Tostador	Análisis químico	Repeticiones		Promedio
Estufa	pH	R1	5,143	5,14
		R2	5,130	
		R3	5,148	
	Acidez (%)	R1	0,942	0,95
		R2	0,948	
		R3	0,955	
Tambor rotatorio	pH	R1	5,044	5,03
		R2	5,020	
		R3	5,038	
	Acidez (%)	R1	0,975	0,92
		R2	0,831	
		R3	0,951	

Anexo 23: Datos del contenido de polifenoles y capacidad antioxidante de los tratamientos óptimos

Polifenoles totales

Óptimo	Repeticiones	Peso (g)	MS (%)	Absorbancia	mg EAG/g b.s	Promedio
Estufa	R1	0,501	97,153	0,267	61,994	63,72
	R2	0,509	97,153	0,278	63,500	
	R3	0,504	97,153	0,285	65,661	
Tambor rotatorio	R1	0,504	97,309	0,279	64,351	64,38
	R2	0,503	97,309	0,270	62,302	
	R3	0,507	97,309	0,290	66,492	

Capacidad antioxidante por el método FRAP

Óptimo	Repeticiones	Peso (g)	MS (%)	Absorbancia	FRAP (μmol Eq. Trolox/g b.s)	Promedio
Estufa	R1	0,501	97,153	0,885	267,721	267,93
	R2	0,509	97,153	0,882	262,737	
	R3	0,504	97,153	0,909	273,328	
Tambor rotatorio	R1	0,504	97,309	0,869	260,798	260,91
	R2	0,503	97,309	0,888	267,107	
	R3	0,507	97,309	0,854	254,832	

Capacidad antioxidante por el método DPPH

Óptimo	Repeticiones	Peso (g)	MS (%)	Absorbancia	Inhibición (%)	DPPH (μmol Eq. Trolox/g b.s)	Promedio
	R1	0,501	97,153	0,209	79,416	415,875	418,91
	R2	0,509	97,153	0,181	82,138	423,249	
	R3	0,504	97,153	0,201	80,190	417,608	
Tambor rotatorio	R1	0,504	97,309	0,208	79,553	413,503	414,61
	R2	0,503	97,309	0,211	79,200	412,722	
	R3	0,507	97,309	0,194	80,868	417,594	

Anexo 24: Datos del contenido de polifenoles y capacidad antioxidante de los chocolates elaborados con granos de cacao que fueron tostados con tratamientos óptimos

Polifenoles totales

Óptimo	Repeticiones	Peso (g)	MS (%)	Absorbancia	mg EAG/g b.s	Promedio
CH-E	R1	0,506	98,970	0,240	54,244	54,93
	R2	0,504	98,970	0,240	54,467	
	R3	0,502	98,970	0,247	56,082	
CH-R	R1	0,508	98,990	0,285	64,112	64,31
	R2	0,508	98,990	0,285	64,136	
	R3	0,508	98,990	0,288	64,692	

Capacidad antioxidante por el método FRAP

Óptimo	Repeticiones	Peso (g)	MS (%)	Absorbancia	FRAP (µmol Eq.Trolox/g b.s)	Promedio
CH-E	R1	0,506	98,970	0,658	194,095	193,21
	R2	0,506	98,970	0,652	192,445	
	R3	0,506	98,970	0,655	193,101	
CH-R	R1	0,508	98,990	0,713	209,324	210,14
	R2	0,508	98,990	0,719	210,966	
	R3	0,508	98,990	0,716	210,143	

Capacidad antioxidante por el método DPPH

Óptimo	Repeticiones	Peso (g)	MS (%)	Absorbancia	Inhibición (%)	DPPH (µmol Eq.Trolox/g b.s)	Promedio
CH-E	R1	0,506	98,970	0,249	75,488	385,282	385,01
	R2	0,506	98,970	0,253	75,118	383,473	
	R3	0,506	98,970	0,247	75,693	386,287	
CH-R	R1	0,508	98,990	0,198	80,499	408,251	406,24
	R2	0,508	98,990	0,202	80,138	406,488	
	R3	0,508	98,990	0,207	79,626	403,989	

Anexo 26: Datos de la prueba de aceptabilidad de olor, sabor y apreciación general del chocolate elaborado con cacao tostado en estufa (CH-E)

Consumidores	Sexo	Edad	Olor	Sabor	General
1	M	19	9,8	8	8,6
2	M	19	5	8,7	7,9
3	H	19	5	5	5
4	M	21	9,1	9,4	9,3
5	M	18	10	10	10
6	H	18	8,3	7,4	7,8
7	M	20	4,3	3,2	5
8	H	20	5	10	10
9	M	21	9,1	9,8	9,5
10	H	19	5	6,5	5,5
11	M	20	5	7,5	6,1
12	H	20	10	9,9	10
13	M	23	10	8,5	7,7
14	M	20	6,5	5,5	7
15	M	24	5	10	10
16	M	20	5	8	7,9
17	M	21	5,7	4,8	5
18	M	27	7,7	10	10
19	M	19	5	10	5
20	H	19	5	5,1	5,2
21	M	18	4,4	3	4
22	M	18	8,3	10	8,8
23	H	18	7,2	0	1,7
24	M	19	7	6,5	7,5
25	M	17	5	6,2	6,1
26	H	49	9,1	8,5	8,6
27	M	17	8	6,5	7,5
28	H	22	5,1	1,2	1,1
29	M	18	8,3	7,4	7,5
30	H	44	6,5	6,6	6,5
31	M	19	7,9	9,3	8,4
32	H	19	10	10	10
33	H	35	8,5	8,5	9
34	H	20	7,5	7,9	8
35	H	45	7,4	7,5	8
36	M	20	5	9,9	9,9
37	M	20	6,8	5,9	6,1
38	H	21	7,9	5,5	6,9
39	H	28	6,5	7,5	6,5
40	H	30	5	7	4,9
41	M	25	5	6,9	5,6
42	M	23	9	8	8,5
43	H	19	5	6,5	6
44	H	30	5	0	1

45	M	23	9	8	8
46	M	47	5	7,5	7,7
47	H	49	9,5	7,4	8,1
48	M	20	6,8	5	7,1
49	M	19	5	5	5
50	H	20	0	0	0
51	H	19	5	5,8	7,2
52	M	21	5	0	5
53	H	22	7,3	6,7	7,7
54	M	46	5	10	5,2
55	H	13	5	10	5
56	H	19	7,5	5	5
57	H	20	5	7,4	6
58	M	22	7,5	5,5	7
59	M	42	6,5	7	8,5
60	H	21	5,3	7,5	7
61	M	17	10	10	10
62	M	20	5,5	7	6,5
63	M	19	5	6,1	6,5
64	H	18	7,4	5,8	8,2
65	M	19	6,9	6,1	5
66	H	20	5	8,7	8,8
67	M	29	5	8	7,5
68	M	22	7,5	5,5	6
69	M	18	8	8	8
70	M	19	5	10	10
71	M	43	5,6	6,4	6,9
72	M	24	8,5	9	9,1
73	M	19	9,1	8	5
74	M	21	6,2	7,5	6,9
75	M	18	8,6	7,4	8,4
76	M	22	5	8	7,7
77	H	26	8,3	8,5	8
78	H	19	5	5	4,5
79	H	28	5,8	8,2	6
80	M	18	5	6,2	5,4
81	M	14	5	10	5
82	M	26	9	9	10
83	M	15	9,9	9,9	9,8
84	M	48	8,6	8,7	7,7
Promedio			6,67	7,12	6,99

Anexo 27: Datos de la prueba de aceptabilidad de olor, sabor y apreciación general del chocolate elaborado con cacao tostado en tambor rotatorio (CH-R)

Consumidores	Sexo	Edad	Olor	Sabor	General
1	H	19	10	10	10
2	M	19	6,5	7	7
3	H	44	4,5	5,4	5,3
4	M	21	9,2	8,5	9,2
5	M	19	5	5	7,6
6	H	20	5	10	10
7	H	19	5	7	6,2
8	M	21	9	9	9,5
9	M	20	8,4	4,7	4,6
10	M	24	8	7,5	7,5
11	H	27	5,5	5,9	6,6
12	M	22	8	9,7	9,8
13	H	18	7,3	8,5	7,6
14	M	25	6,5	8,3	7
15	M	43	3,8	3,7	3,3
16	H	30	5	6,5	5
17	H	48	7,5	6,2	6,3
18	H	26	5,5	8,5	8,5
19	H	20	5	10	10
20	M	27	5	5	5
21	M	20	9,1	9,1	9
22	M	21	5	2,7	3,7
23	H	20	8,4	10	9,5
24	M	29	5	7	8
25	M	28	10	10	10
26	M	19	5	5	5
27	M	20	5	7,5	7,2
28	H	19	5	6,5	5,5
29	M	34	5	5,5	6
30	M	25	5	5	5
31	M	23	7,6	5	7,9
32	H	21	6	8,5	8,1
33	H	20	5	8,5	9,5
34	M	42	5	4	2,5
35	M	23	10	9	10
36	M	22	7	7,5	8
37	M	22	10	6,5	7
38	H	22	5	7,2	8,2
39	H	30	5	0	0,8
40	M	46	5	10	5
41	M	21	0	0	5
42	H	13	5	10	10
43	H	19	4,5	6	5,5
44	M	20	8,1	7,8	7,7

45	M	19	8,5	9,2	8,9
46	H	20	5	0	2,4
47	H	19	7,4	6	6
48	M	47	5	7,6	8,4
49	M	18	7,5	8	8
50	H	19	5	5	5
51	M	18	10	5	5
52	M	21	8,4	9,5	9,1
53	M	18	7,4	7,4	7,3
54	H	19	5,5	5,5	6,2
55	M	22	10	8,2	7,8
56	M	17	6,5	6	6,5
57	M	19	10	7,5	8,5
58	M	18	5	4,3	4,6
59	M	26	7,3	7	9
60	H	49	7,2	9,4	8,6
61	M	14	9,7	5	5
62	H	26	8	8	8
63	H	28	3,9	5,8	5,8
64	H	19	5	2,4	2,7
65	M	19	8	9	8,5
66	M	17	10	7,2	7,5
67	M	19	5	10	10
68	M	20	6,5	9	7,5
69	M	19	5	8,4	8,4
70	H	22	0	0,2	0,1
71	H	18	6,8	0	1,7
72	M	17	4,4	5	5
73	M	18	5	7,5	6,9
74	M	20	6,2	3,8	4,5
75	H	28	8,5	8,5	8,5
76	M	19	5	8,1	8,5
77	H	18	7,9	7,4	8,3
78	H	21	5	8,4	7,8
79	M	20	5	9,9	9,8
80	M	20	5	5,4	5
81	M	18	5	8,3	7,3
82	M	19	10	8,8	9
83	H	20	8,8	8,8	8,9
84	H	45	6,7	6	6,2
85	H	35	6,5	6,4	6,4
Promedio			6,45	6,80	6,93

Anexo 28: Estadísticos descriptivos y prueba de Mann Whitney para los atributos sensoriales de los chocolates evaluados

Pares de tratamientos	Valor W	Valor p	Sig.
CH-E vs CH-R (Olor)	7349,50	0,414	n.s
CH-E vs CH-R (Sabor)	7365,50	0,396	n.s
CH-E vs CH-R (Apreciación general)	7092,50	0,987	n.s

*Significancia a un valor de $p < 0,05$; n.s= No significativo

Anexo 29: Glosario de términos para las evaluaciones de sabor del cacao con los descriptores correspondientes, y ejemplos de notas de referencia u origen para la calibración

Descriptor del sabor	Descriptores correspondientes con comentarios
Cacao	Describe el sabor típico de los granos bien fermentados, tostados y libres de defectos - Barras de chocolate, cacao fermentado/tostado.
Acidez	<p>Ácido cítrico - Frutas</p> <p>Ácido acético - Vinagre (se puede oler en la muestra)</p> <p>Ácido láctico - Como vómito, leche agria o melaza</p> <p>Ácido mineral - Gusto metálico</p>
Amargor	Por lo general, se debe a la falta de fermentación; es percibido en la parte posterior de la lengua/garganta - cafeína (café), cerveza, pomelo.
Astringencia	Por lo general, se debe a la falta de fermentación; sensación de sequedad en la boca y/o efecto de fruncimiento de los labios que aumenta la producción de saliva; es percibida entre la lengua y el paladar o en la parte posterior de los dientes delanteros. – Cáscaras de frutos secos crudos, piel de plátano, algunos vinos.
Dulce	Describe los licores con un sabor característico a jugo de caña caramelizada sin refinar (Panela). - Caramelo, azúcar moreno, dulce de azúcar.
Fruta Fresca	Amplia gama de frutas frescas: <p>Bayas - pasas, frambuesas no totalmente maduras.</p> <p>Fruta cítrica - esencia de cítricos.</p> <p>Fruta tropical - plátano, maracuyá, naranja; casi siempre se aprecia alguna nota cítrica.</p>
Frutas Marrones	<p>Frutas de árbol oscuras - ciruela, cereza oscura.</p> <p>Fruta seca - albaricoque seco, banano, etc., caramelización del azúcar de la fruta, la esencia de una fruta que ha sufrido el proceso de secado, con notas de azufre y también de frutos secos.</p> <p>Fruta demasiado madura - comienzo de la sobrefermentación, fruta excesivamente madura como paso hacia la sobrefermentación.</p> <p>Fruta marrón - ciruelas pasas o dátiles.</p>

Frutos Secos	<p>Frutos secos - frutos secos sin cáscara.</p> <p>Cáscara/piel de frutos secos - asociado con alguna sensación astringente como las pieles de almendras y cacahuetes etc.</p>
Floral	<p>Amplia gama desde pastos/césped/hierbas verdes hasta flores y notas perfumadas:</p> <p>Floral - procedentes del entorno natural, se puede percibir dando un paseo por el jardín, verde terroso, herbal y amaderado.</p> <p>Hierba Floral -el verde de la hierba recién cortada, hierba muy fresca, hojas jóvenes (verde floral).</p> <p>Verde floral vegetativo (verde oscuro) - verde vegetativo, hoja vieja de cacaoero triturada, notas de color verde oscuro. Judías verdes, pimientos cocinados (verduras de color verde oscuro)</p> <p>Amaderado floral (genérico) - Plantas ya transformadas en aceite esencial seco, bases estructurales, paseos en el bosque antes del invierno, flores secas.</p> <p>Floral setas - setas, carnosos, sabroso, MSG.</p> <p>Floral terroso - bosque después de la lluvia, el olor a humedad que sube del suelo del cacaoal.</p> <p>Floral herbal - Especies secas envejecidas. Común a todas las hierbas secas y vinculado a veces con la astringencia.</p> <p>Floral Perfumado - una intensidad que perdura como cuando se añaden fijadores (por ejemplo, vainilla) a un perfume para que persista.</p> <p>Floral flores - Se respira una vez, y en seguida desaparece. Diferencia entre la mayoría de las rosas y una rosa muy fragante como la Mister Lincoln.</p> <p>Floral azahar - es esencialmente floral-flores, pero con sabor específico a azahar.</p>
Madera	<p>Madera clara - fresno, haya, arce, pino blanco, cacaoero cortado.</p> <p>Madera oscura - roble, nogal, teca.</p> <p>Madera resinosa - pinotea, bálsamo de resinas de árboles oscuros o claros.</p>

Especiado	<p>Especiado a tabaco - El especiado a tabaco es el aroma en la puerta de la tienda de tabaco, no ceniciento ni sucio, sino más bien como el tabaco de pipa, dulce.</p> <p>Especiado picante - especiado, picante, salado.</p>
Sabores Indeseados	<p>Jamón - carnes en lonjas, jamón, fermentación inadecuada.</p> <p>Ahumado - sucede cuando se quema materia vegetal (madera, hierba, corteza de cacao, etc.). Otros sabores extraños - cacao contaminado con gases de diesel.</p> <p>Cuero - no recién curtido en una tienda de cuero, sino más como el cuero con el sudor y la orina, como sillas de montar.</p> <p>Estiércol sobre-fermentado - patio de la granja, estiércol.</p> <p>Sobre-fermentación pútrida - Heces.</p> <p>Carácter sucio - molesto, como los utensilios sucios, a menudo asociado con la calidad astringente; si aumentó la astringencia = aumentó el sabor sucio, etc. Función de polvo.</p> <p>Corteza de madera - no es bueno, por lo general desagradable, seco y polvoriento, maloliente, no un olor a limpio. Baja fermentación, astringencia, crudo, cuero, sucio; suelen estar asociados también a la corteza de madera.</p>
Intensidad del Atributo	Significado
0	No está presente.
1	Sólo trazas, y puede que no se encuentre en una segunda cata.
2	Presente en la muestra
3 - 5	Claramente característico de la muestra
6 - 8	Dominante
9 - 10	El máximo que haya experimentado

Fuente: Seguine y Sukha (2015)

Anexo 30: Tarjeta de prueba de Check All That Apply (CATA)

¡GRACIAS POR SU PARTICIPACIÓN!

Por favor marque lo que corresponda: Mujer () Hombre () EDAD:

Instrucciones:

Deguste la muestra de chocolate que se le presenta y marque con una “X” sobre el cuadradito de todo aquello que encuentra en ella. Después, marque sobre las líneas que correspondan según su opinión sobre el olor, sabor y la apreciación global.

Recuerde: “no hay buenas ni malas respuestas, lo importante es su opinión.

<input type="checkbox"/> Olor cacao/chocolate	<input type="checkbox"/> Sabor a nueces
<input type="checkbox"/> Olor ácido	<input type="checkbox"/> Sabor frutal
<input type="checkbox"/> Olor frutal	<input type="checkbox"/> Sabor floral
<input type="checkbox"/> Olor floral	<input type="checkbox"/> Sabor quemado
<input type="checkbox"/> Olor quemado	<input type="checkbox"/> Sabor extraño
<input type="checkbox"/> Olor extraño	<input type="checkbox"/> Sabor a fruta fresca
<input type="checkbox"/> Sabor cacao/chocolate	<input type="checkbox"/> Sabor a fruta seca
<input type="checkbox"/> Sabor ácido	<input type="checkbox"/> Sabor herbal
<input type="checkbox"/> Sabor amargo	<input type="checkbox"/> Sabor especiado
<input type="checkbox"/> Sensación astringente	<input type="checkbox"/> Otro olor ¿Cuál?
<input type="checkbox"/> Sabor dulce	<input type="checkbox"/> Otro sabor ¿Cuál?

Anexo 31: Datos de la prueba de CATA del chocolate elaborado con cacao tostado en estufa (CH-E)

	Atributos	Recuento	Porcentaje
Olor	Cacao/ch	69	82,14
	Ácido	10	11,90
	Frutal	9	10,71
	Floral	5	5,95
	Quemado	6	7,14
	Extraño	2	2,38
Sabor	Cacao/ch	51	60,71
	Ácido	22	26,19
	Amargo	51	60,71
	Astringencia	6	7,14
	Dulce	13	15,48
	Nuez	8	9,52
	Frutal	10	11,90
	Floral	3	3,57
	Quemado	17	20,24
	Extraño	2	2,38
	Fruta fresca	1	1,19
	Fruta seca	18	21,43
	Herbal	3	3,57
	Especiado	3	3,57

Anexo 32: Datos de la prueba de CATA del chocolate elaborado con cacao tostado en tambor rotatorio (CH-R)

	Atributos	Recuento	Porcentaje
Olor	Cacao/ch	68	80,00
	Ácido	8	9,41
	Frutal	13	15,29
	Floral	7	8,24
	Quemado	5	5,88
	Extraño	7	8,24
Sabor	Cacao/ch	36	42,35
	Ácido	25	29,41
	Amargo	35	41,18
	Astringencia	7	8,24
	Dulce	25	29,41
	Nuez	7	8,24
	Frutal	21	24,71
	Floral	3	3,53
	Quemado	9	10,59
	Extraño	7	8,24
	Fruta fresca	2	2,35
	Fruta seca	15	17,65
	Herbal	6	7,06
	Especiado	4	4,71

Anexo 33: Tarjeta de prueba de preferencia

¡GRACIAS POR SU PARTICIPACIÓN!

Por favor marque lo que corresponda: **Mujer** () **Hombre** () **EDAD:**

Instrucciones:

Deguste por separado las dos muestras de chocolate codificadas que se le presentan y escriba los códigos completando la frase según su opinión. Por favor, enjuague y beba un poco de agua antes de degustar cada muestra.

Recuerde: “no hay buenas ni malas respuestas, lo importante es su opinión.

Frase:

La muestra con código _____ me agrada más que la que tiene el código _____

Anexo 34: Datos de preferencia del CH-E y CH-R por parte de los consumidores

Consumidores	Sexo	Edad	Preferencia
1	H	20	CH-E
2	M	22	CH-E
3	M	20	CH-E
4	M	14	CH-E
5	M	23	CH-E
6	H	20	CH-E
7	M	19	CH-E
8	H	26	CH-E
9	M	43	CH-E
10	M	22	CH-E
11	M	29	CH-E
12	M	47	CH-E
13	M	22	CH-E
14	M	21	CH-E
15	H	20	CH-E
16	H	21	CH-E
17	M	53	CH-E
18	M	24	CH-E
19	H	29	CH-E
20	H	21	CH-E
21	H	18	CH-E
22	M	35	CH-E
23	M	31	CH-E
24	H	26	CH-E
25	M	24	CH-E
26	M	24	CH-E
27	M	25	CH-E
28	M	37	CH-E
29	H	25	CH-E
30	H	29	CH-E
31	M	29	CH-R
32	M	15	CH-R
33	M	12	CH-R
34	M	19	CH-R
35	M	23	CH-R
36	H	22	CH-R
37	M	18	CH-R
38	M	23	CH-R
39	M	21	CH-R
40	H	21	CH-R
41	H	19	CH-R
42	H	23	CH-R
43	H	21	CH-R
44	M	21	CH-R
45	M	19	CH-R

46	H	21	CH-R
47	M	20	CH-R
48	M	25	CH-R
49	H	42	CH-R
50	M	19	CH-R
51	M	26	CH-R
52	H	23	CH-R
53	M	23	CH-R
54	M	27	CH-R
55	M	21	CH-R
56	M	20	CH-R
57	H	19	CH-R
58	M	34	CH-R
59	H	21	CH-R
60	H	30	CH-R
61	M	15	CH-R
62	M	48	CH-R

Anexo 35: Análisis de datos de la prueba de preferencia por el método Chi-cuadrado (X^2)

Tratamiento	Preferencia pareada
Muestras en total	62
Chocolate elaborado con cacao tostado en estufa (CH-E)	30
Chocolate elaborado con cacao tostado en tambor rotatorio (CH-R)	32
Grados de libertad (n -1)	1
X^2	0,101
Sig.	n.s

n.s= No significativo

Anexo 36: Tabla de valores críticos de Chi-cuadrado (X^2)

Grados de libertad	Niveles de significación					
	0.20	0.10	0.05	0.025	0.01	0.005
1	1.64	2.71	3.84	5.02	6.63	7.83
2	3.22	4.61	5.99	7.38	9.21	10.6
3	4.64	6.25	7.81	9.35	11.3	12.8
4	5.99	7.78	9.49	11.1	13.3	14.9
5	7.29	9.24	11.1	12.8	15.1	16.7
6	8.56	10.6	12.6	14.4	16.8	18.5
7	9.8	12.0	14.1	16.0	18.5	20.3
8	11.03	13.4	15.5	17.5	20.1	22.0
9	12.24	14.7	16.9	19.0	21.7	23.6
10	13.44	16.0	18.3	20.5	23.2	25.2
11	14.63	17.3	19.7	21.9	24.7	26.8
12	15.81	18.5	21.0	23.3	26.2	28.3
13	16.98	19.8	22.4	24.7	27.7	29.8
14	18.15	21.1	23.7	26.1	29.1	31.3
15	19.31	22.3	25.0	27.5	30.6	32.8
16	20.46	23.5	26.3	28.8	32.0	34.3
17	21.62	24.8	27.6	30.2	33.4	35.7
18	22.76	26.0	28.9	31.5	34.8	37.2
19	23.9	27.2	30.1	32.9	36.2	38.6
20	25.04	28.4	31.4	34.2	37.6	40.0
21	26.17	29.6	32.7	35.5	38.9	41.4
22	27.3	30.8	33.9	36.8	40.3	42.8
23	28.43	32.0	35.2	38.1	41.6	44.2
24	29.55	33.2	36.4	39.4	43.0	45.6
25	30.68	34.4	37.7	40.6	44.3	46.5
26	31.8	35.6	38.9	41.9	45.6	48.3
27	32.91	36.7	40.1	43.2	47.0	49.6
28	34.03	37.9	41.3	44.5	48.3	51.0
29	35.14	39.1	42.6	45.7	49.6	52.3
30	36.25	40.3	43.8	47.0	50.9	53.7

Ref: Witting de Penna E. Evaluación Sensorial, Una metodología actual para la tecnología de alimentos. Biblioteca digital de la Universidad de Chile, 2001.

Lawlees HT, Heymann H. Sensory evaluation of food. Principles and practices. Kluwer Academic/Plenum Publishers. New York, London, Dordrecht, Boston, 1998.

Anexo 37: Galería de fotos del beneficio del cacao chuncho de la “Asociación de Productores del VRAEM”



Mazorcas de cacao “Chuncho”



Quiebre de mazorcas



Fermentación en cajas tipo escalera



Secado al sol y almacenado

Anexo 38: Galería de fotos del análisis físico del cacao chuncho



Dimensión



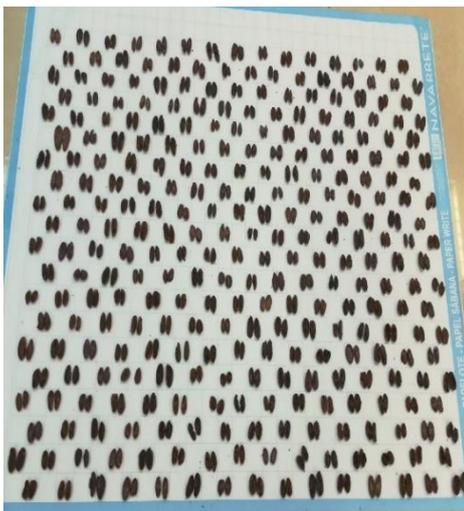
Clasificación de tamaño



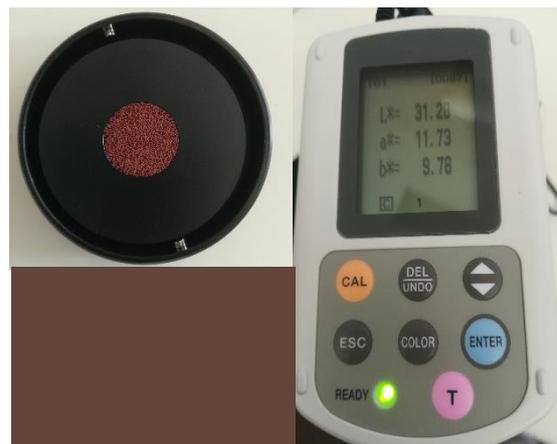
Índice de grano



Porcentaje de cáscara



Prueba de corte



Color

Anexo 39: Galería de fotos del análisis químico del cacao chuncho

pH - Acidez



Polifenoles totales y capacidad antioxidante



Anexo 40: Galería de fotos de los tostadores

Tostador estufa (TE)

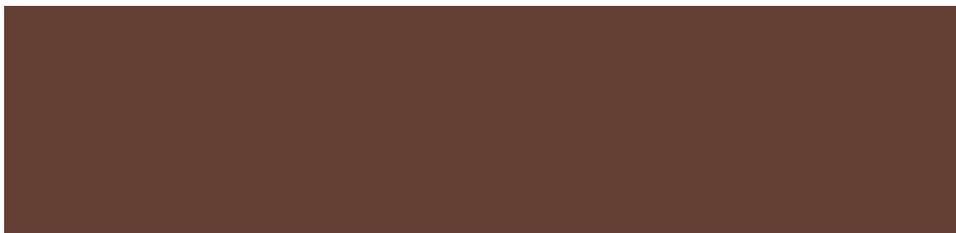


Tostador tambor rotatorio (TR)

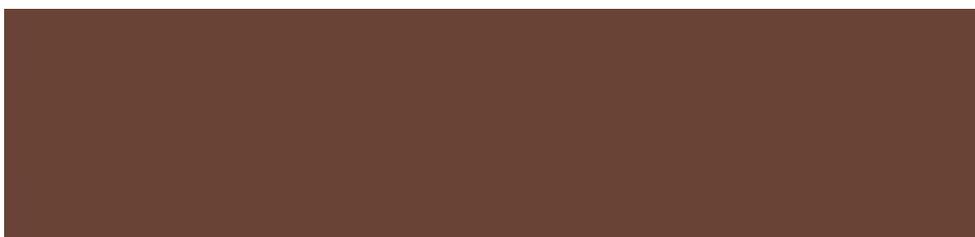


Anexo 41: Color del cacao tostado óptimo

a. Cacao tostado óptimo en tostador estufa (TE)



b. Cacao tostado óptimo en tostador tambor rotatorio (TR)



Anexo 42: Galería de fotos de la elaboración de chocolate con grano tostado óptimo



Trozos de cacao o *nibs*



Molido



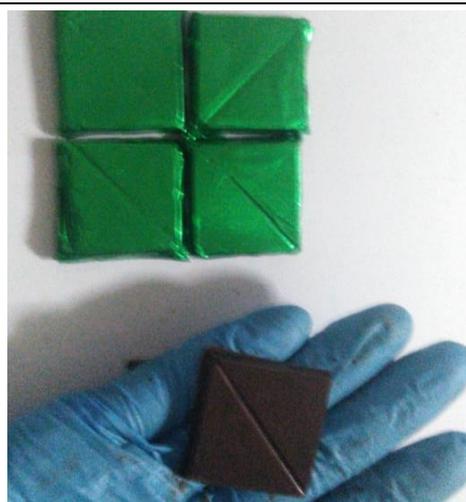
Refinado



Conchado



Temperado



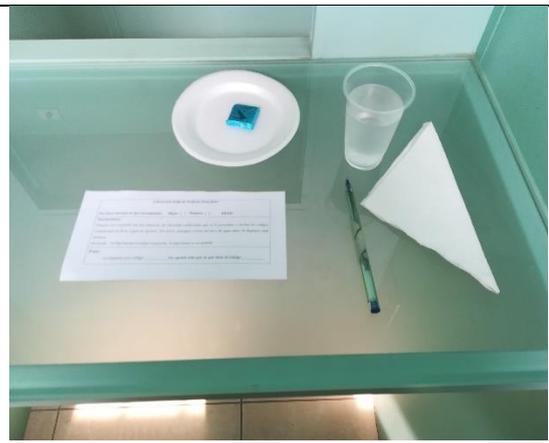
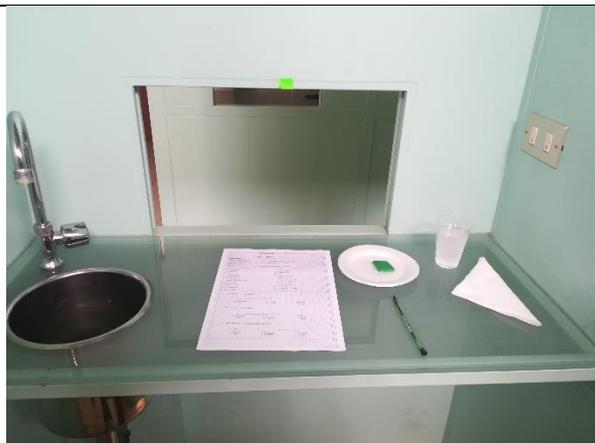
Moldeado, enfriado y empacado

Anexo 43: Galería de fotos de la evaluación sensorial del chocolate

Cabinas



Prueba de aceptabilidad, CATA y prueba de preferencia



Consumidores

